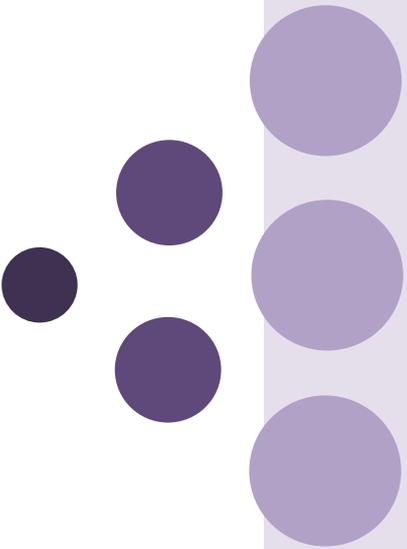




PROTOCOLO DE CRIBADO NEONATAL DEL DÉFICIT DE BIOTINIDASA



Grupo de trabajo de cribado neonatal.

Ponencia de cribado Poblacional

febrero-2020



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE SANIDAD

Elaboración del documento:

Grupo de trabajo de protocolos de cribado neonatal de la Ponencia de cribado poblacional de la Comisión de Salud Pública:

Ministerio de Sanidad

Unidad de Programas de Cribado

María Vicenta Labrador Cañadas

Marta Navarro Gómez

Expertos externos

Elena Dulín Iñiguez

Comunidades y ciudades autónomas

Comunidad autónoma de Andalucía

Isabel María Ródenas Luque

Comunidad autónoma de Aragón

Yolanda González Irazabal

Principado de Asturias

Eva García Fernández

Comunidad autónoma de Canarias

Patricia Carrillo Ojeda

Comunidad autónoma de Cantabria

Ana María Eguiraun Sande

Comunidad autónoma de Castilla La

Mancha

Rosa Arizmendi González

M^a Ángeles Fuentes Guillén

Comunidad autónoma de Castilla y

León

Pedro Redondo Cardeña

Comunidad autónoma de Cataluña

José Luis Marín Soria

Comunidad autónoma de Murcia

Inmaculada González Gallego

Comunidad autónoma de Extremadura

Jesús María Remón Álvarez-Arenas

Comunidad autónoma de Galicia

Ramón Vizoso Villares

Comunidad autónoma de Las Islas

Baleares

María del Carme Medà Bolunya

Comunidad autónoma de La Rioja

Yolanda Ruiz del Prado

Comunidad autónoma de Madrid

Sara Santos Sanz

María Dolores Lasheras Carbajo

Comunidad autónoma de Navarra

Nieves Ascunce Elizaga

Comunidad autónoma del País Vasco

Antonio Arraiza Armendáriz

Mercedes Espada Sáenz-Torre

Comunidad autónoma Valenciana

Dolores Salas Trejo

MSCBS-INGESA

María Antonia Blanco Galá

Sociedades Científicas

Asociación Española de errores congénitos del metabolismo

Mari Luz Couce Pico

Sociedad Española de Epidemiología

Raquel Zubizarreta Alberdi

Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

Daisy Castiñeiras Ramos

Revisión y aprobación del documento:

Ponencia de cribado poblacional: febrero-2020

Comisión de Salud Pública Fecha: septiembre-2020

La información contenida en este documento deberá referenciarse en caso de utilización

Referencia sugerida:

Grupo de trabajo de protocolos de cribado neonatal de la Ponencia de cribado poblacional. Protocolo de cribado neonatal del déficit de biotinidasa. Ministerio de Sanidad, 2020.

1. Introducción

La deficiencia de biotinidasa (DB) es una enfermedad metabólica hereditaria autosómica recesiva que conduce a un descenso de los niveles séricos de biotina (1,2). La biotina es una vitamina hidrosoluble del complejo B que actúa como cofactor esencial de cuatro carboxilasas que intervienen en la regulación del metabolismo energético: en el catabolismo de aminoácidos ramificados (propionil-CoA carboxilasa y 3-metilcrotonil-CoA carboxilasa), síntesis de ácidos grasos (acetil-CoA carboxilasa) y en la gluconeogénesis (piruvato carboxilasa) (3,4). La DB se clasifica en función de la actividad enzimática residual que presente la biotinidasa. De esta forma, cuando presenta una actividad inferior al 10 % la deficiencia es considerada total o grave, mientras que si se encuentra entre un 10-30 % se considera parcial o leve (5-7).

La incidencia de la enfermedad se ha estimado, a nivel mundial, en 1:60.000 recién nacidos vivos mientras que en Europa su incidencia se estima en 1:47.486 (8,9). Los datos existentes en España a través del Programa para la detección precoz de enfermedades endocrino-metabólicas en período neonatal de Galicia arrojaron una incidencia de 1:72.930 entre los años 1987-2015 (10).

Los signos clínicos de esta enfermedad se presentan entre la primera semana de vida y la adolescencia aunque la mayoría de síntomas se manifiestan entre los 3 y 6 meses (9).

Los pacientes con DB grave o severa pueden presentar cuadros clínicos variables e inespecíficos aunque principalmente pueden ser clasificados en: afecciones neurológicas (convulsiones, hipotonía, ataxia, atrofia óptica, sordera neurosensorial y retraso del desarrollo psicomotor y mental), afecciones dermatológicas (eccemas, caída del cabello y alopecia) y afecciones infecciosas (1,11,12). La mayoría de los individuos con DB parcial permanecen asintomáticos, no obstante se han descrito casos en los que pueden desarrollar algunos de los síntomas anteriormente descritos durante períodos de estrés por enfermedad o ayuno (4,13).

El tratamiento precoz de esta patología previene la aparición de alteraciones bioquímicas así como de las manifestaciones clínicas comentadas. La administración oral de biotina libre de manera precoz es fundamental en algunos pacientes ya que, aunque el tratamiento resuelve la mayoría de los síntomas clínicos, algunos de ellos como la hipoacusia, atrofia óptica y afectación neurológica son irreversibles (8,12).

El objetivo de este documento es definir un marco dentro del SNS que permita abordar en todas las comunidades autónomas, de manera homogénea y de acuerdo a criterios de calidad, el proceso de cribado del déficit de biotinidasa.

Actualmente son 7 las enfermedades que forman parte del Programa poblacional de cribado neonatal de enfermedades endocrino-metabólicas de la cartera común de servicios del Sistema Nacional de Salud (SNS). La DB cumple con los requisitos específicos para ser incluida en dicho Programa. En 2018 se aprobó la propuesta de incluir la DB en la Ponencia de Cribado Poblacional de la Comisión de Salud Pública y posteriormente se aprobó en la Comisión de Salud Pública del Consejo Interterritorial del SNS y en la Comisión de Prestaciones, Aseguramiento y Financiación del SNS.

2. Objetivo del cribado

El objetivo del cribado de DB es la detección precoz, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los recién nacidos con esta patología para evitar las lesiones y las discapacidades asociadas a la enfermedad.

3. Proceso de Cribado

3.1. Prueba de cribado

La prueba de cribado consiste en la medida de la actividad de biotinidasa en una muestra de sangre seca impregnada en papel, utilizando para ello un ensayo enzimático cualitativo o semicuantitativo.

Respecto a las muestras es importante señalar que deben estar totalmente secas antes de su envío al laboratorio porque la humedad provoca una pérdida significativa de la actividad enzimática, lo que provocaría falsos positivos. Aproximadamente el 50 % de los falsos positivos se deben a un mal manejo de las muestras por su exposición a unas condiciones excesivas de calor o humedad (13).

3.1.2. Técnicas utilizadas para realizar la prueba de cribado

Actualmente los programas de cribado utilizan bien un ensayo colorimétrico semicuantitativo o cualitativo o bien un ensayo fluorimétrico semicuantitativo para medir la actividad de la biotinidasa en las muestras de sangre seca impregnada en papel:

- **Colorimétrico:** se realiza inicialmente una hidrólisis enzimática del sustrato biotinil ácido-p-aminobenzoico (BPABA), por la biotinidasa presente en la muestra, en ácido p-amino-benzoico (PABA). Posteriormente se realiza la detección de PABA a partir de la

formación de un complejo de color púrpura que absorbe a 546 nm (reacción colorimétrica) (14).

- Fluorimétrico: la biotinidasa presente en la muestra hidroliza la biotinil 6-aminoquinolina (BAQ) utilizado como sustrato, en un producto fluorescente, el 6-aminoquinolina (6-AQ) que se mide con un fluorímetro utilizando una longitud de onda de excitación/emisión de 355 nm/460 nm (15).

Ambas técnicas de cribado son válidas si bien el método fluorimétrico puede ser ligeramente más específico y sensible que el método colorimétrico (15).

La actividad de la biotinidasa, en los métodos semicuantitativos utilizados, se expresa en unidades enzimáticas (U) donde 1U es igual a 1nmol del producto final formado en 1 minuto y en 1 decilitro de sangre. 1 U= 1 nmol/min/dL de sangre (16).

Los laboratorios de cribado deben trabajar con unos estándares de calidad elevados por lo que se recomienda la acreditación bajo la norma ISO 15189 aplicable a los laboratorios clínicos.

3.1.3. Percentil y/o valor analítico para considerar el resultado como positivo/negativo/requiere solicitud de nueva muestra

Recomendaciones:

- Se recomienda que antes de iniciar las pruebas, cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia y que sean reevaluados periódicamente. Para ello se aconseja medir la actividad de la biotinidasa en una muestra de individuos normales así como de individuos con deficiencias totales o graves y parciales o leves (4).
- Se recomienda que el límite de decisión se obtenga por cálculo de percentiles y aplicando dicho percentil al resultado obtenido (absorbancia, unidades de fluorescencia o unidades enzimáticas). Se recomienda establecer como límite de decisión el percentil 0.5.
- Las muestras con una actividad biotinidasa superior al punto de corte establecido serán consideradas negativas.
- Cuando se produce un resultado alterado, inferior al punto de corte establecido, se repite el ensayo sobre la misma muestra por duplicado. En función del resultado obtenido se tomará la decisión de solicitar una segunda muestra o bien remitirlo a la Unidad Clínica de Seguimiento cuando la actividad enzimática sea inferior al 10 % del valor medio de la población de referencia.

- Cuando sea necesario solicitar una segunda muestra se solicitará ese mismo día y sobre ella se realizará la misma determinación y con los mismos equipos.
- Se considera un resultado posible positivo cuando los resultados obtenidos en la primera muestra y en segunda muestra, si se requiere, presenten una actividad enzimática inferior a los límites de decisión establecidos para las muestras consideradas normales.
- Pueden darse falsos positivos en recién nacidos prematuros, así como en aquellos casos que presenten hiperbilirrubinemia, ya que la actividad enzimática puede ser inferior a la población normal (17).
- Pueden darse falsos negativos en recién nacidos que hayan recibido una transfusión (plasma u otros componentes sanguíneos que afecten de forma transitoria la actividad de la biotinidasa).

4. Confirmación Diagnóstica

4.1. Requisitos generales

El Programa de cribado neonatal de DB debe contar con las Unidades Clínicas de Seguimiento que sean necesarias para poder atender a la población

Así mismo debe contar con un laboratorio de diagnóstico diferencial que lleve a cabo la confirmación diagnóstica.

Los laboratorios de confirmación y diagnóstico de la enfermedad (DB) deberán al menos estar sometidos a programas de evaluación externa de la calidad, así como disponer de valores de referencia de actividad de biotinidasa propios.

4.2. Criterios para la definición de “caso” en deficiencia de biotinidasa

Se define “caso” de deficiencia de biotinidasa como aquel recién nacido con una actividad enzimática de la biotinidasa inferior al 30 % del valor medio de la población de referencia (si se encuentra entre un 10-30 % se considera déficit parcial y profundo cuando es inferior al 10 %).

4.3. Pruebas de confirmación diagnóstica de los posibles positivos (positivos en el proceso de cribado) y secuencia de priorización

Pruebas de confirmación diagnóstica:

Muestra	Ensayo
---------	--------

Suero	Actividad de biotinidasa mediante ensayo cuantitativo, expresada la actividad enzimática en unidades enzimáticas: 1U=1nmol/min/mL de suero
Orina	Determinación de ácidos orgánicos en orina mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas.

Secuencia de priorización de dichas pruebas:

<i>Prioridad de las pruebas de confirmación</i>	
1º	Actividad de biotinidasa en suero mediante ensayo cuantitativo
2º	Determinación de ácidos orgánicos en orina mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas.

Otras pruebas complementarias:

<i>Muestra</i>	<i>Ensayo</i>
Sangre	Gasometría venosa, lactato/piruvato sangre
Sangre/EDTA	Estudio molecular mutaciones o secuenciación del gen
	Estudio molecular de mutaciones en progenitores y hermanos si se considera para consejo genético

Recomendaciones:

- La prueba de confirmación diagnóstica se basa en la determinación de la actividad enzimática de la biotinidasa en suero mediante método colorimétrico o fluorimétrico, siempre cuantitativo.
- Cada laboratorio debería establecer sus valores de referencia, idealmente con la mayor cantidad de pacientes por actividad enzimática y grupo de edad (los nacidos a término tienen entre 50-70 % de actividad de biotinidasa de un adulto). Los laboratorios, además, deben verificar y actualizar periódicamente sus rangos de referencia a medida que se analicen muestras adicionales de recién nacidos y se identifiquen aquellos con deficiencia (4).

- El estudio molecular del gen de la biotinidasa para la detección de mutaciones es a menudo útil, pero no es necesario en todos los casos. El diagnóstico molecular, mediante el análisis de mutaciones específicas o la secuenciación completa del gen de biotinidasa, es útil para diferenciar entre sí a niños con déficit profundo de biotinidasa, con déficit parcial y portadores de déficit profundo.
- La actividad enzimática se medirá en unidades enzimáticas (U). 1 U = 1 nmol de producto final que se forma durante un minuto y en un mililitro de suero (1 nmol/min/mL en suero).

Valores analíticos para considerar el resultado como positivo.

El Colegio Americano de Genética y Genómica Médica (ACMG) en su documento de guías y normas técnicas facilitó unos valores orientativos de actividad de biotinidasa en suero:

Tabla 1: Referencia de actividades de biotinidasa reportada por ACMG (4)

Población	Actividad Biotinidasa media \pm SD (nmol/min/mL suero) (n)
Individuos normales	7.57 \pm 1.41 (100)
Heterocigotos	3.49 \pm 0.72 (21)
Individuos con DB sintomáticos	0.12 \pm 0.18 (23)
Individuos con DB profunda	0.19 \pm 0.16 (41)
Individuos con DB parcial	1.47 \pm 0.41 (23)

n: número de individuos cribados; SD: Desviación estándar

Algunas CCAA han establecido valores de referencia:

CCAA	Valores de referencia actividad biotinidasa en suero
País Vasco,	7,8-13,5 nmol/min/mL de suero
Navarra	
Galicia	6.6 \pm 1.7 nmol/min/mL suero
Baleares	7-15 nmol /min/mL suero
Murcia	6.6 \pm 1.7 nmol/min/mL suero

5. Tratamiento

Los recién nacidos pueden recibir suplementos de biotina en dosis farmacológicas de 10- 40 mg/día. Las recomendaciones generales establecen dosis de 5-10 mg/día en pacientes con DB

total o grave y de 1-5 mg/día en aquellos con DB parcial o leve aunque dependerá en último término del profesional sanitario y de las necesidades del paciente (3,5,8).

Se recomienda el tratamiento de todos los recién nacidos con deficiencia grave independientemente de que presentasen síntomas el momento del diagnóstico(5).

Si bien no es necesario que los pacientes sigan una dieta especial, es recomendable que se evite el consumo de huevo crudo ya que contiene avidina, una proteína capaz de unirse a la biotina disminuyendo su biodisponibilidad (3).

Los pacientes con DB deben realizar controles periódicos en las unidades de referencia establecidas incluyendo exámenes auditivos, oftalmológicos, dermatológicos y neurológicos.

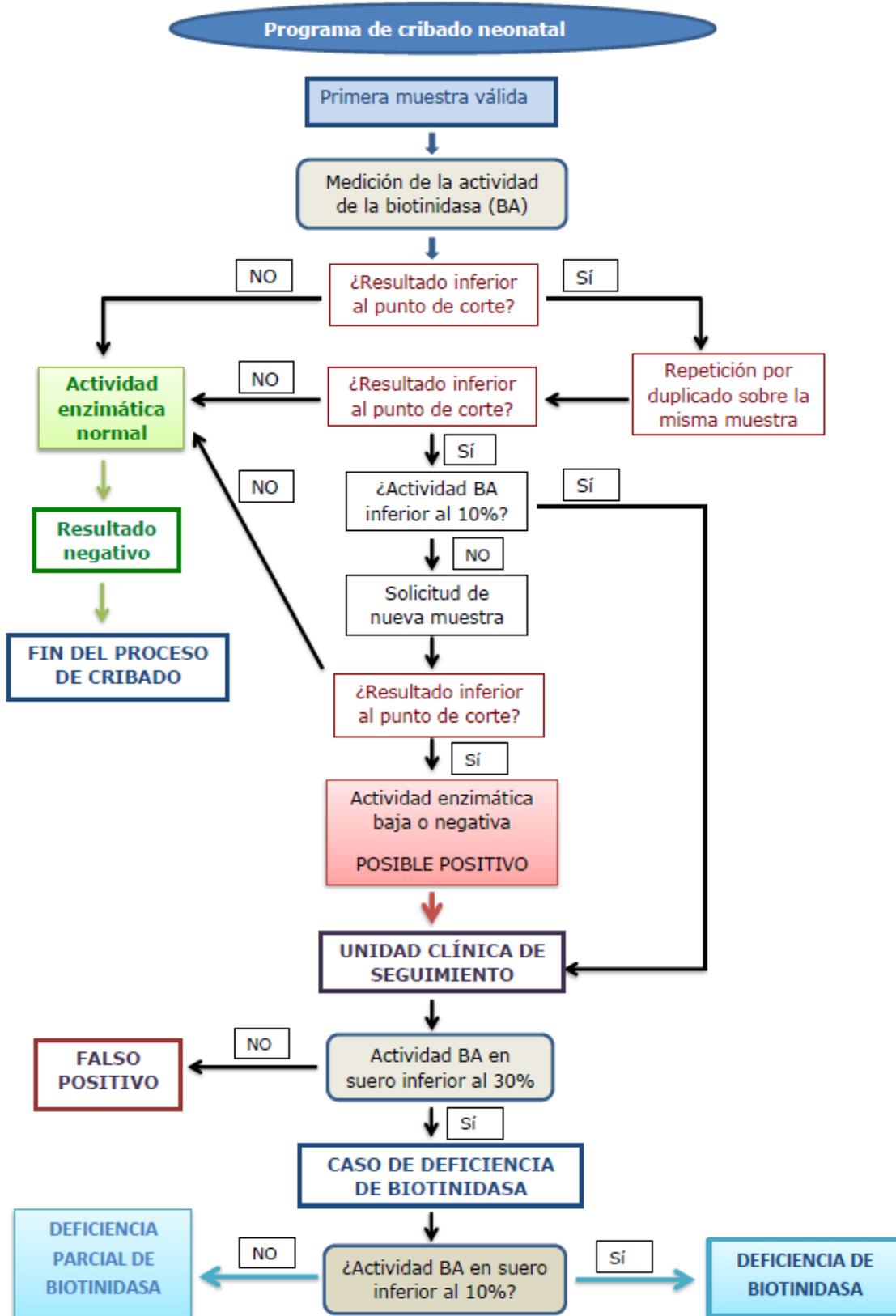
6. Evaluación de resultados en salud

En los resultados positivos confirmados, el Programa debe lograr prevenir la aparición de la posible clínica asociada a dicha enfermedad. Si bien es cierto que algunos pacientes pueden permanecer asintomáticos y que parte de la sintomatología puede resolverse con la administración de biotina, la importancia del cribado de esta enfermedad reside en prevenir la aparición de problemas irreversibles como la hipoacusia, la atrofia óptica o el retraso del desarrollo (8).

Variable/s relevante/s en el seguimiento de los casos que se utilizan para evaluar los resultados en salud

En líneas generales se recomienda controles auditivos y visuales periódicos (5).

Anexo I. Algoritmo de cribado de deficiencia de biotinidasa



Bibliografía

1. Couce ML, Pérez-Cerdá C, García Silva MT, García Cazorla A, Martín-Hernández E, Castiñeiras D, et al. Hallazgos clínicos y genéticos en pacientes con deficiencia de biotinidasa detectados en el cribado neonatal o selectivo de sordera o de enfermedades metabólicas hereditarias. *Med Clínica*. 2011;137(11):500-3.
2. Pintos-Morell G. Déficit de biotinidasa: las dos caras del cribado metabólico. *Med Clínica*. 2011;137(11):497-9.
3. Asociación para el Estudio de Errores Congénitos del Metabolismo (AECOM). Protocolos de diagnóstico y tratamiento de los Errores Congénitos del Metabolismo. 2ª Edición. Ed. Gil; 2018.
4. Strovel ET, Cowan TM, Scott AI, Wolf B. Laboratory diagnosis of biotinidase deficiency, 2017 update: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med Off J Am Collage Med Genet [Internet]*. 2017 [citado 15 de octubre de 2019];19(10). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28682309>
5. UK National Screening Committee. Newborn screening for biotinidase deficiency. External review against programme appraisal criteria for the UK National Screening Committee (UK NSC). 2012.
6. Vallejo L, Castilla I, Cuéllar L, Couce ML, Pérez C, Martín E, et al. Coste-efectividad del cribado neonatal de deficiencia de biotinidasa [Internet]. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del SNS. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud (SESCS); 2013 [citado 15 de octubre de 2019]. Disponible en: <https://www3.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs/contenidoGenerico.jsp?idDocument=d4cae6c9-a933-11e3-87a8-b75a262fb22d&idCarpeta=993a9b1d-7aed-11e4-a62a-758e414b4260>
7. Wolf B. Clinical issues and frequent questions about biotinidase deficiency. *Mol Genet Metab*. 2010;100(1):6-13.
8. Seoane D, Queiro T, Atienza G, López-García M. Cribado neonatal del déficit de biotinidasa. [Internet]. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías y Prestaciones del SNS. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Galicia (avalía-t); 2014 [citado 15 de octubre de 2019]. Disponible en: https://www.sergas.es/docs/Avalia-t/avalia_t201307Cribadodeficitbiotinidasa.pdf
9. Küry S, Ramaekers V, Bézieau S, Wolf B. Clinical utility gene card for: Biotinidase deficiency—update 2015. *Eur J Hum Genet [Internet]*. 2016 [citado 15 de octubre de 2019];24(7). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5070897/>
10. Xunta de Galicia, Consellería de Sanidade y Dirección Xeral de Saúde Pública. Programa Galego para a detección precoz de enfermidades endócrinas e metabólicas en período neonatal. Evolución e resultados 2015. [Internet]. 2016 [citado 15 de octubre de 2019].

Disponible en: <https://www.sergas.es/Saude-publica/Documents/517/DEFINITIVOMetas15.pdf>

11. Gannavarapu S, Prasad C, DiRaimo J, Napier M, Goobie S, Potter M, et al. Biotinidase deficiency: Spectrum of molecular, enzymatic and clinical information from newborn screening Ontario, Canada (2007-2014). *Mol Genet Metab Rep.* 2015;116(3):146-51.
12. Porta F, Pagliardini V, Celestino I, Pavanello E, Pagliardini S, Guardamagna O, et al. Neonatal screening for biotinidase deficiency: A 30-year single center experience. *Mol Genet Metab Rep.* 2017;13:80-2.
13. Cowan TM, Blitzer MG, Wolf B, Working Group of the American College of Medical Genetics Laboratory Quality Assurance Committee. Technical standards and guidelines for the diagnosis of biotinidase deficiency. *Genet Med Off J Am Coll Med Genet.* 2010;12(7):464-70.
14. González EC, Diaz L, Frómata A, Herrera D, Montenegro A. Quantitative assay to determine the hydrolytic activity of biotinidase. *Biomédica.* 2001;21(4):360-8.
15. Özlem S. Comparison of spectrophotometric and fluorimetric methods in evaluation of biotinidase deficiency. *J Med Biochem.* 2016;35(2):7.
16. VanVleck N, Wolf B, Seeterlin M, Monaghan KG, Stanley E, Hawkins H, et al. Improved Identification of Partial Biotinidase Deficiency by Newborn Screening Using Age-Related Enzyme Activity Cutoffs: Reduction of the False-Positive Rate. *Int J Neonatal Screen.* junio de 2015;1(1):45-56.
17. Wayne, PA. Newborn Screening for Preterm, Low Birth Weight, and Sick Newborns; Approved Guideline. CLSI document NBS03-A. [Internet]. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009. Disponible en: https://clsi.org/media/1491/nbs03a_sample.pdf