

## Artículo original

## Factores que afectan algunas de las pruebas del tamiz neonatal

Beatriz Cedillo Carvalho,\* Roberto A. Estrada Gómez,\* Vanesa Jonguitud Díaz,\* Israel Parra Ortega\*

### RESUMEN

**Introducción:** los métodos analíticos del tamiz metabólico, adaptados al estudio de sangre impregnada en un papel filtro, pueden afectarse por factores externos que alteran falsamente los resultados.

**Objetivo:** identificar los factores que afectan las pruebas y el control de calidad del tamiz neonatal.

**Material y métodos:** se realizó análisis retrospectivo y observacional, desde junio del 2002 hasta octubre del 2004, y se estudió el tamiz neonatal de 632 pacientes para identificar los factores que alteran los resultados y determinar cuáles son las pruebas más susceptibles. Se evaluó la calidad de la muestra, y las condiciones de almacenamiento y transporte.

**Resultados:** entre los 632 estudios, en 42 pacientes (6.6%) estuvieron alterados uno o varios de los analitos; en 11 de estos últimos (1.7% del total y 26% de los estudios con resultados anormales) se comprobó un defecto metabólico y en los restantes 31 alguna interferencia. Las pruebas más susceptibles al efecto de la interferencia fueron glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (13 casos), uridil galactosa transferasa (nueve casos) y tripsinógeno inmunoreactivo (cinco casos). Las causas más frecuentes de interferencia fueron muestras mal conservadas y administración de medicamentos anticonvulsivantes (ácido valproico).

**Discusión:** la elevada frecuencia de resultados falsos positivos en el tamiz neonatal hace imperativo establecer acciones preventivas para disminuir el número de muestras rechazadas y obliga a descartar las fuentes comunes de interferencia antes de emitir algún diagnóstico presuntivo.

**Palabras clave:** tamiz neonatal, interferencia analítica, errores innatos del metabolismo.

### ABSTRACT

**Introduction:** Analytical laboratory methods used for neonatal screening for inborn errors of metabolism collected from dried blood spot samples on filter paper, are frequently affected by external factors which end up showing confusing results.

**Objectives:** To establish the factors which have an effect on the neonatal screening tests and their quality control.

**Methods:** A retrospective and observational analysis of the results from neonatal screening tests performed from June-2002 to October-2004 was done. The aim of the study was to identify the external factors that were capable to alter the results and to determine which tests are most susceptible. The quality of the dried blood spot sample and the storage and transportation conditions were evaluated as well.

**Results:** A total of 632 test results were analyzed; in 42 of them (6.6%) abnormal results of either one or several tests were obtained, but in only 11 cases (1.7% of all tests and 26% of those yielding an abnormal initial result) a metabolic disease was indeed present, while in the remaining 31 cases the abnormality of the test resulted from external interference. The most susceptible tests were: glucose-6-phosphate dehydrogenase in 13, galactose uridyl transferase in 9 and immunoreactive trypsinogen in 5. The most common sources of interference were inadequate sample storage and drug administration to the patients, mainly anticonvulsants (valproic acid).

**Discussion:** When neonatal screening tests are not done with care, the diagnosis of patients with inborn errors of metabolism is delayed. Also, unnecessary retesting is done, which increases the cost. So, the number of rejected samples due to bad quality (clinical or pharmacological interference) should be kept to a minimum.

**Key words:** Neonatal screening, analytical interference, inborn errors of metabolism.

\* Laboratorios Clínicos de Puebla.

Correspondencia: QC. Israel Parra Ortega. Laboratorios Clínicos de Puebla. Blvd. Díaz Ordaz núm. 808, colonia Anzures. C.P. 72530, Puebla, Pue., México. Tel.: 01 (222) 243-8100, fax: 01 (222) 243-8428. E-mail: [i\\_parra29@hotmail.com](mailto:i_parra29@hotmail.com)

Recibido: octubre, 2006. Aceptado: diciembre, 2006.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

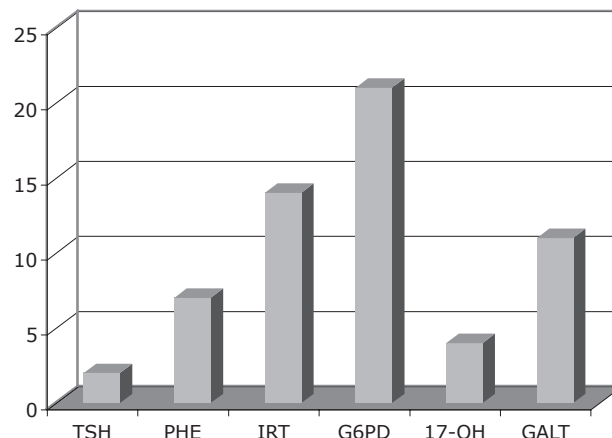
El tamiz neonatal es un conjunto de pruebas de laboratorio que se utiliza para la detección temprana de los errores innatos del metabolismo.<sup>1</sup> Es un estudio que debe practicarse a todos los recién nacidos con el propósito de identificar y establecer el diagnóstico oportuno de enfermedades graves e irreversibles.<sup>2</sup> Sirve de apoyo en la medicina preventiva,<sup>3</sup> y su

elaboración debe establecerse con excelente control de calidad para que los resultados expedidos sean confiables.

Los métodos analíticos, adaptados al estudio de sangre impregnada en papel filtro, son susceptibles de ser afectados por factores externos que alteran falsamente los resultados. Dichos factores, algunas veces considerados de manera inadecuada, son de gran trascendencia para interpretar los resultados.<sup>4</sup> Los problemas que ocurren con mayor frecuencia en la realización de las pruebas de laboratorio se relacionan con: régimen dietético, obtención y conservación de las muestras, e interferencias analíticas ocasionadas por los fármacos.<sup>5,6</sup> Las muestras de los pacientes que permanecen en tratamiento afectan los resultados (el laboratorio debe conocer el tratamiento que recibe cada individuo).<sup>4</sup> Los fármacos que afectan con mayor frecuencia los estudios de laboratorio son los anticoagulantes, anticonvulsivos, antihipertensivos, antimicrobianos, hipoglucemiantes orales, vitaminas, hormonas y sustancias psicoactivas.<sup>7</sup> Es importante la conservación, el traslado y la distribución de la muestra; las variantes en este proceso son de gran valor en la calidad del ensayo analítico.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó análisis retrospectivo y observacional, entre junio del 2002 y octubre del 2004, donde se estudió el tamiz neonatal de 632 pacientes mediante las siguientes determinaciones o cuantificaciones: hormona estimulante del tiroides (TSH), hidroxilasa de la fenilalanina (PHE), inmunotripsinógeno (IRT), deshidrogenasa de la glucosa-6-fosfato (G6PD), 17- $\alpha$ -hidroxiprogesterona (17-OH) y transferasa de la uridil galactosa-1-fosfato (U-GALT), en muestras de sangre impregnadas en papel filtro (Laboratorios Clínicos de Puebla, figura 1). Se evaluó la calidad en la toma de las muestras: características de cantidad y dispersión de las gotas de sangre, registradas en la tarjeta de datos clínicos, además de anexar la historia clínica y farmacológica, las condiciones de almacenamiento y transporte de las muestras (en caso de las muestras referidas por otros laboratorios u hospitales).



**Figura 1.** Número de pruebas positivas en el tamiz neonatal durante el periodo de estudio (Laboratorios Clínicos de Puebla).

## RESULTADOS

Entre 632 muestras se encontraron 42 (6.6%) con resultados positivos anormales en una o más de las determinaciones realizadas; 11 (1.7%) muestras tuvieron alteraciones en más de un analito. La repetición del análisis demostró que sólo 11 de los 42 casos tuvieron un error innato del metabolismo y los 31 (73%) restantes alguna interferencia clínica (el resultado inicial fue falso positivo).

Las pruebas con mayor susceptibilidad a interferencias fueron la de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (13 casos), transferasa de la uridil galactosa-1-fosfato (9 casos), inmunotripsinógeno (5 casos), hidroxilasa de la fenilalanina (3 casos) y 17- $\alpha$ -hidroxiprogesterona (1 caso); en la hormona estimulante del tiroides no se identificaron interferencias.

Las causas relacionadas con mayor riesgo de obtener resultados falsos positivos son:

1) Obtención de la muestra: extracción insuficiente de la muestra, contaminación del papel filtro durante o después de la obtención de la muestra, gotas de sangre que no traspasan el reverso del papel filtro y muestras sobresaturadas (cuadro 1).

2) Conservación y transporte: un estudio de 35 muestras, referidas por otras instituciones que llegaron al laboratorio varios días después de su obtención, sin mantener el control adecuado en la temperatura y humedad durante su traslado, demostró sólo la

**Cuadro 1.** Causas más frecuentes de la obtención inadecuada de la muestra en papel filtro

Causa	Numero de casos
Muestra de sangre insuficiente	4
Contaminación del papel filtro durante o después de la obtención de la muestra	3
La gota de sangre no traspasó la cara reversa del papel filtro	6
Muestra sobresaturada	2

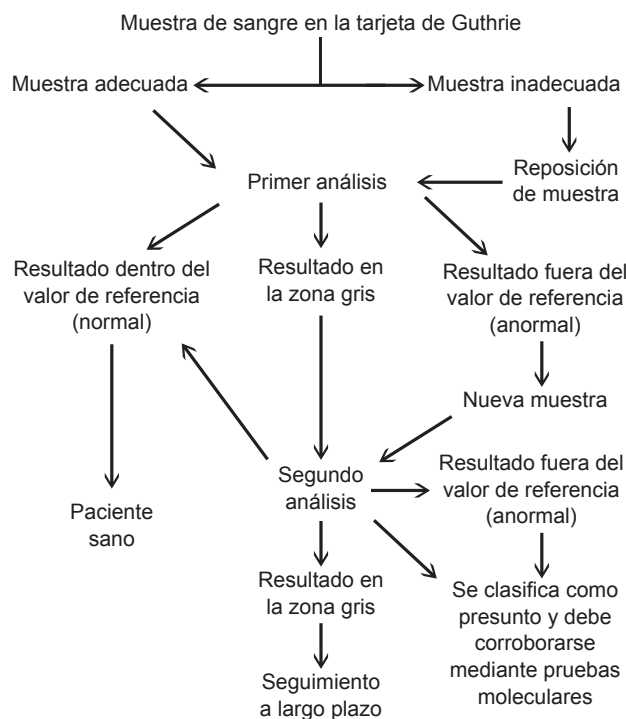
alteración en las pruebas de G6PD y U-GALT de dos pacientes.

3) Interferencia farmacológica: se ha demostrado en varias muestras, cuyos resultados son positivos en el tamizaje, la identificación de alguna sustancia farmacológica. Los medicamentos identificados con mayor frecuencia son: ácido valproico, risperidona, cefalosporinas, dimecotina, benzodicepinas, diuréticos de asa y metoclopramida.

En este estudio se identificaron tres pacientes con interferencia a los fármacos, ocasionada por el ácido valproico, en las determinaciones de la G6PD, U-GALT y PHE. En dichos pacientes se realizó la obtención de una segunda muestra, en la cual se evitó la administración previa de los medicamentos.

## CONCLUSIONES

Para realizar el tamiz neonatal, adecuado y confiable, no basta con impregnar manchas de sangre en una tarjeta, sino que debe realizarse un procedimiento más complejo. En éste deben reducirse las interferencias clínicas y farmacológicas para proporcionar resultados útiles.<sup>8-10</sup> La primera consideración al tener un resultado positivo debe ser la repetición de la prueba con una nueva muestra de sangre. En condiciones óptimas, la muestra debe obtenerse entre una y dos horas después de la ingestión de alimentos (posprandial) y sin administración previa de medicamentos (anticonvulsivantes) que interfieran con el resultado de los ensayos analíticos.<sup>1</sup> El tamiz neonatal no debe considerarse una prueba aislada de laboratorio, sino enfocarse como un programa de identificación de padecimientos, control de tratamiento y seguimiento de la evolución de los pacientes (figura 2) con la ayuda de un equipo médico multidisciplinario.<sup>11</sup> Es necesario



**Figura 2:** Realización de un tamiz neonatal, modificado de Velázquez A, Vela AM.<sup>2</sup>

tener un estricto control de calidad para las pruebas de tamiz neonatal.<sup>12</sup> Las variables implicadas en este proceso son: tipo de papel filtro utilizado, estabilidad de los calibradores, tamaño de las manchas de sangre, condiciones de almacenamiento y secado de la muestra.<sup>4,6,13</sup> Los factores externos (tiempo que transcurre desde su obtención hasta el análisis en el laboratorio, temperatura y almacenamiento de la muestra) pueden alterar la actividad y el resultado de los analitos en los diferentes ensayos;<sup>13</sup> por lo tanto, se proponen las siguientes consideraciones: 1) capacitar al personal para que realice la obtención adecuada de las muestras (la finalidad es reducir el número de muestras rechazadas por mala calidad), 2) realizar la historia clínica y farmacológica para establecer la relación entre los resultados de laboratorio y la sospecha de algún fenómeno de interferencia farmacológica, como los identificados por la administración de ácido valproico, 3) proporcionar a las instituciones que realizan el estudio de tamiz neonatal el material necesario para la conservación de las muestras (disminuir el daño de las mismas y conservar adecuadamente los analitos a

investigar), y 4) reducir el tiempo entre la obtención de la muestra y la práctica del ensayo analítico. Las muestras obtenidas con el papel filtro constituyen una fuente valiosa de información; sin embargo, su confiabilidad depende de la estabilidad de la sustancia en las muestras almacenadas.<sup>14</sup> Cuando no se realiza con cautela alguno de los puntos mencionados, se retrasa el diagnóstico de los pacientes con presunto error innato del metabolismo o se realizan pruebas confirmatorias de forma innecesaria y de costo elevado.<sup>15-18</sup> Este informe muestra la experiencia adquirida en la identificación de los factores que ocasionan interferencias en las pruebas de tamiz neonatal.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Sánchez AFJ. Enfermedades metabólicas hereditarias. En: Ruiz RG. Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio. 1ª ed. México: Editorail Panamericana, 2004;pp:321-38.
2. Velázquez AA, Vela AM. Adelantándose al daño: el tamiz neonatal. Bol Med Hosp Infant Mex 2003;60:102-10.
3. Velázquez AA. El nuevo tamiz neonatal: una revolución en la pediatría preventiva. Bol Med Hosp Infant Mex 1998;55:311-3.
4. Cortés M, Alsina MJ, Ricos CRF, Navarro JM. Garantía de calidad. En: González SF, Rodríguez SS. Bioquímica clínica, semiología y diagnóstico: interpretación de los datos de laboratorio. 1ª ed. Barcelona: Barcanova, 1994;pp:51-64.
5. Kazmierczak SC, Catrou PG. Analytical interference. More than just a laboratory problem. Am J Clin Pathol 2000;113:9-11.
6. Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analyses. Clin Chem 1994;40:1996-2005.
7. Ruiz RG. Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio. 1ª ed. México: Editorial Panamericana, 2004;pp:27-36.
8. Dámaso OB. Participación del personal de enfermería en la toma de tamiz neonatal para la detección de hipotiroidismo congénito. Bol Med Hosp Infant Mex 2001;58:755-61.
9. Canto de Cetina TE, Polanco RL, Ballote ZM, Fernández GV, et al. Tamiz neonatal para hipotiroidismo congénito. Experiencia en el Laboratorio Regional del Sureste. Bol Med Hosp Infant Mex 1997;54:364-8.
10. Damaso OB, San Pedro Suarez MC, Figueroa DR, López GR. Examen de tamiz neonatal para el diagnóstico de hipotiroidismo congénito. Experiencia en el Instituto Nacional de Perinatología. Bol Med Hosp Infant Mex 1995;52:244-8.
11. Barba EJR. Tamiz Neonatal: una estrategia en la medicina preventiva. Rev Mex Patol Clin 2004;51:130-44.
12. Velázquez A, Vela AM, Taylor EW, Chace DH. Resultados del tamiz neonatal ampliado, como nueva estrategia para la prevención de los defectos al nacimiento. Rev Mex Pediatr 2000;67:206-13.
13. Frómata SA, Marrero GN, González RE, Lugo-Vallejo E, et al. Estudio comparativo de los tres papeles de filtro en los ensayos UMELISA para el tamizaje neonatal de hipotiroidismo congénito y fenilcetonuria. Rev Biomed 2002;13:241-7.
14. Dezateux C. Evaluating newborn screening programmers based on dried blood spots: future challenges. Br Med Bull 1998;54:877-90.
15. Zytkovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D, Larson CA, 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.
16. Young A, Andrews E. Parents' experience of universal neonatal hearing screening: a critical review of the literature and its implications for the implementation of new UNHS programs. J Deaf Stud Deaf Educ 2001;6:149-60.
17. Lord J, Thomason MJ, Littlejohns P, Chalmers AA, et al. Secondary analysis of economic data: a review of cost-benefit studies of neonatal screening for phenylketonuria. J Epidemiol Community Health 1999;53:179-86.
18. Wang D, Wood T, Sadilek M, Scout CR, et al. Tandem mass spectrometry for the direct assay of enzymes in dried blood spots: application to newborn screening for mucopolysaccharidosis II (Hunter disease). Clin Chem 2007;53:137-40.