



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA**

**"CUANTIFICACIÓN DE LA 17  $\alpha$  HIDROXIPROGESTERONA POR  
FLUOROMETRÍA EN NEONATOS DE MICHOACÁN"**

**TESIS PROFESIONAL**

**QUE EN CUMPLIMIENTO PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**QUÍMICA FARMACOBIOLOGA**

**PRESENTA**

**ANAHÍ VIRIDIANA GARCÍA CAMPOS**

**ASESORA**

**Q.F.B. REBECA ELIZABETH COYOLI BOTELLO**

**ASESOR ESTADÍSTICO**

**L.M. CARLOS GÓMEZ ALONSO**

**MORELIA MICHOACÁN, SEPTIEMBRE 2013**

## **Agradecimientos**

En este momento en que comienza mi camino en el mundo profesional, deseo expresar mi gratitud a todas aquellas personas que me han permitido llegar hasta aquí.

Agradezco principalmente a Dios por lo que fui, lo que soy y por lo que llegaré a ser, porque con Dios en mi corazón todo lo puedo, porque no dejaste que me rindiera en los momentos más difíciles y nunca dejará de luchar por mis sueños. Porque me diste la fortaleza necesaria para llegar hasta donde estoy.

### **A mi padre**

Por ser mi mayor inspiración, por nunca dejarme caer y siempre motivarme a salir adelante, por ser ese padre que con ese carácter me formó como persona, por enseñarme que por mas difícil que sean las cosas siempre hay una solución y un motivo para seguir, porque a pesar de todas las dificultades y sacrificios siempre se sale adelante, porque detrás de mi éxito está todo su esfuerzo y porque simplemente sin él no hubiera llegado hasta donde hoy estoy. Por confiar en mí, le agradezco a Dios porque mejor padre no me pudo dar.

### **A mi madre**

Por darme la vida, por tus cuidados, por la paciencia que has tenido para mí, por enseñarme que hay que salir adelante por más difícil que sean las cosas y que siempre debemos de encontrar cosas que nos motiven a salir adelante aunque estas sean nulas. La quiero mucho ma.

## **A mi hermano**

Fidel gracias por ser el hermano con el que puedo contar, confiar y apoyarme cuando tengo una situación difícil, por enseñarme a salir adelante con los medios que se nos presenten aunque muchas veces no sean los que deseamos, por jugar conmigo cuando éramos niños y siempre cuidarme y defenderme. Por lo que ahora eres ya con tu familia, cuida y valora lo que ahora tienes. Gracias a Leti por llegar a formar parte de la familia y por darme a mi hermosa sobrina Camila que amo con todo mi corazón, porque en esa pequeñita encuentro toda mi fortaleza para salir adelante y mi alegría cuando me siento triste. Los quiero mucho.

## **A mi hermana**

Güera no tengo palabras para agradecerte todo lo que me has brindado, si bien agradezco a dios por que más que una hermana me dio una amiga y hasta más que eso mi segunda madre haha, que siempre tiene un consejo para mí, una palabra de aliento o un regaño cuando no entiendo razón. Porque siempre has caminado a mi lado en los momentos más felices y difíciles y que gracias a eso descubrí la gran persona que eres, es un gran orgullo ser tu hermana y aunque ahora tienes nuevos proyectos, una familia, no me has dejado sola, te quiero mucho mi güerita chula que dios te me bendiga siempre.

A mis sinodales, gracias por darme la oportunidad y por el tiempo que me han dedicado para leer este trabajo.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más importantes de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

***“Tesis apoyada por el Consejo Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación del Estado de Michoacán”.***

## **COLABORADORES**

### **Q.F.B. Rebeca Elizabeth Coyoli Botello**

Laboratorio Estatal de Salud Pública. Jefa del laboratorio de Tamiz Neonatal.

### **Matemático Carlos Gómez Alonso**

Instituto Mexicano del Seguro Social, Analista del Centro de Investigación Biomédica de Michoacán.

### **M.C. Gloria Alicia Figueroa Aguilar**

Directora del Laboratorio Estatal de Salud Pública de Michoacán

### **M.C. Dafne Vanessa García Chávez**

Laboratorio Estatal de Salud Pública, Laboratorio de Biología Molecular y Profesora de la Facultad de Químico Farmacobiología.

### **Biólogo Juan Luis Jaime Sánchez**

Laboratorio Estatal de Salud Pública. Jefe del departamento de bacteriología.

### **M.C. Sandra Ma. Suárez Moreno**

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Profesora de la Facultad de Químico Farmacobiología.

### **D.C. Irvin Eduardo Jácome Galarza**

Laboratorio Estatal de Salud Pública. Coordinador de Biología Molecular.



## ÍNDICE

1. ÍNDICE DE TABLAS .....	3
2. ÍNDICE DE GRÁFICAS .....	4
3. ÍNDICE DE FIGURAS.....	5
4. ABREVIACIONES .....	6
5. RESUMEN.....	7
6. INTRODUCCIÓN .....	8
7. ANTECEDENTES.....	9
7.1 ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO.....	11
7.2 TAMIZAJE NEONATAL.....	12
7.3 HISTORIA DE TAMIZ EN MEXICO.....	13
7.4 HISTORIA DEL TAMIZ EN MICHOACÁN .....	14
7.5 ESTABLECIMIENTO DE VALORES DE REFERENCIA .....	15
8. HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA (HSC).....	16
8.1 GLÁNDULAS SUPRARRENALES .....	18
8.2 PARTES DE LAS GLÁNDULAS SUPRARRENALES.....	19
8.3 CLASIFICACIÓN DE HSC.....	20
8.4 DIFERENTES GRADOS DE VIRILIZACIÓN SEGÚN PRADER.....	22
8.5 FISIOPATOLOGÍA.....	23
8.6 DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS DE HSC.....	24
8.7 BIOSÍNTESIS DE HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA .....	25
8.8 EPIDEMIOLOGÍA.....	27
8.9 DIAGNÓSTICO .....	28
8.10 TRATAMIENTO.....	29
9. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	30
10. JUSTIFICACIÓN.....	31
11. HIPÓTESIS.....	32
12. OBJETIVO GENERAL.....	33



---

<b>12.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>33</b>
<b>13. TIPO DE ESTUDIO .....</b>	<b>34</b>
<b>14. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>35</b>
<b>15. RESULTADOS .....</b>	<b>48</b>
<b>16. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>59</b>
<b>17. CONCLUSIONES.....</b>	<b>62</b>
<b>18. ANEXOS.....</b>	<b>63</b>
<b>19. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>76</b>



## 1. ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Frecuencia de tamiz neonatal por jurisdicción.

**Tabla 2.** Tabla de contingencia de jurisdicción sanitaria por tamiz de interpretación.

**Tabla 3.** Pruebas de chi cuadrado.

**Tabla 4.** Porcentaje de sospechosos reportados como prematuros.

**Tabla 5.** Total de casos confirmados según su variante.

**Tabla 6.** Valores de referencia por percentiles calculados.

**Tabla 7.** Establecimiento de valor de referencia por percentiles calculados.

**Tabla 9.** Preparación del reactivo.

**Tabla 10.** Cantidades a utilizar para la preparación del conjugado.

**Tabla 11.** Cantidades a utilizar para la preparación del sustrato.



## 2. ÍNDICE DE GRÁFICAS

**Gráfica 1.** Muestra el porcentaje de muestras procesadas de cada una de las jurisdicciones Morelia, Zamora, Zitácuaro, Pátzcuaro, Uruapan, La Piedad, Apatzingán, Lázaro Cárdenas.

**Gráfica 2.** Muestra la frecuencia y el porcentaje de los resultados obtenidos tanto normales como sospechosos para las jurisdicciones del estado de Michoacán.

**Gráfica 3.** Muestra el porcentaje de casos sospechosos reportados prematuros y de termino gestacional.

**Gráfica 4.** Histograma de frecuencias logarítmico de valores de 17 OHP en recién nacidos Michoacanos.



### 3. ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Médico Inglés Sir Archibald Garrod.

**Figura 2.** Dr. Robert Guthrie.

**Figura 3.** Glándulas suprarrenales.

**Figura 4.** Partes de las Glándulas Suprarrenales.

**Figura 5.** Estadios de Prader.

**Figura 6.** Recién nacido con genitales ambiguos. Estadios de Prader 4.

**Figura 7.** Recién nacido con genitales ambiguos. Estadios de prader 2.

**Figura 8.** Síntesis de aldosterona, cortisol y testosterona (Esteroidogenesis Suprarrenal).

**Figura 9.** Principios básicos de inmunofluorescencia para la determinación de la concentración de una enzima.

**Figura 10.** Papel filtro específico para la toma de muestra (whatman 903).

**Figura 11.** Tarjeta Guthrie.

**Figura 12.** Lugar adecuado a puncionar para la toma de la muestra en el recién nacido.

**Figura 13.** Muestra inadecuada.

**Figura 14.** Muestra adecuada.



#### 4. ABREVIACIONES

**17  $\alpha$  OH progesterona:** 17 alfa hidroxiprogestero

**ACTH:** Hormona Adrenocorticotropina

**CDC:** Control de Enfermedades de Atlanta

**CRF:** Factor de liberación de corticotropina

**CNEGySR:** Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva

**EIM:** Errores innatos del metabolismo

**HSC:** Hiperplasia Suprarrenal Congénita

**LESP:** Laboratorio Estatal de Salud Pública

**RN:** Recién Nacido

**RNV:** Recién Nacido Vivo

**STAR:** Proteína Reguladora de la Esteroidogénesis

**TSH:** Hormona Estimulante de la Tiroides



## 5. RESUMEN

La hiperplasia suprarrenal congénita incluye un grupo de trastornos congénitos que producen un déficit de una de las 5 enzimas que participan en la síntesis del cortisol.<sup>1</sup>El cuadro clínico varía de acuerdo a la enzima comprometida y a la severidad del déficit enzimático. La incidencia de HSC varía de acuerdo a la región geográfica y características étnicas, se considera que en México la HSC en su forma clásica se presenta en 1 de cada 12,000 nacidos. Es detectable a través del tamiz neonatal con la cuantificación de la 17 OH progesterona para enfermedades metabólicas, su estudio se realizó por primera vez en 1973, fue hasta el año 1995 en que se estableció con carácter obligatorio en la NORMA Oficial Mexicana NOM-034-SSA2-2002 para la prevención y control de los defectos al nacimiento.<sup>2,3</sup>El tamiz neonatal en México ha sido un programa óptimo para la detección oportuna de recién nacidos portadores de alguna patología a consecuencia de errores innatos del metabolismo antes de que la enfermedad se manifieste lo que ayuda a la prevención de alguna discapacidad física, mental o incluso la muerte, por lo que es indispensable la estandarización de valores de referencia para la población en el estado de Michoacán.

**OBJETIVO.** Estandarizar un valor de referencia específico para HSC de la población de recién nacidos en el Estado de Michoacán a través del tamizaje neonatal con la cuantificación de la 17 hidroxiprogesterona por fluoroinmunoensayo competitivo. **MATERIAL Y METODOS.** En el Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Michoacán se analizaron 48188 muestras de sangre seca depositadas en papel filtro de septiembre del 2011 a febrero del 2013 por fluoroinmunoensayo competitivo para la determinación de la 17  $\alpha$  OH progesterona, obtenidas por punción de talón de recién nacidos provenientes de las 8 diferentes jurisdicciones sanitarias del Estado de Michoacán como prueba de tamizaje neonatal, con apoyo del programa SPPS Inc Pasw 18.0 con percentiles, histogramas logarítmicos y R2, estudios confirmatorios y clínica.

**RESULTADOS.** En el Estado de Michoacán uno de cada 6023 recién nacidos (1:6023 R/N), presenta alguna de las formas de Hiperplasia Suprarrenal Congénita. Con el valor de referencia establecido (30.0 ng/ mL) para la población en el Estado de Michoacán, se logra la detección oportuna de casos sospechosos y disminución de secuelas de dicha patología.



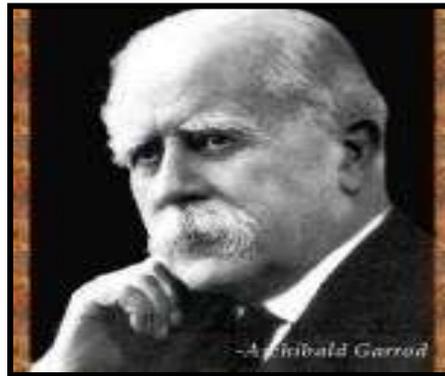
## 6. INTRODUCCIÓN

La hiperplasia suprarrenal congénita incluye un grupo de trastornos genéticos que producen un déficit de una de las 5 enzimas que participan en la síntesis del cortisol. El cuadro clínico varía de acuerdo a la enzima comprometida y a la severidad del déficit enzimático. Las variedades clínicas de hiperplasia suprarrenal congénita se clasifican en formas clásicas, habitualmente las más severas que pueden dar características de ambigüedad en genitales o muerte por shock hipovolémico, y en formas no clásicas, que son generalmente leves y de inicio tardío con pubertad precoz en varones y clitoromegalia en mujeres. Los primeros casos de Hiperplasia Suprarrenal Congénita se describieron en 1887, su estudio se ha profundizado desde 1950 cuando Wilkins y colaboradores demostraron que la cortisona suprimía la excesiva producción de andrógenos y era útil en el tratamiento de estos enfermos.<sup>4</sup>

El tamizaje neonatal en México ha sido un programa óptimo para la detección oportuna de recién nacidos portadores de alguna patología endocrina o errores del metabolismo antes de que la enfermedad se manifieste lo que ayuda a la prevención de alguna discapacidad física, mental o inclusive la muerte. Por lo que es indispensable la estandarización de valores de referencia para la población del estado de Michoacán que nos permita establecer de manera personalizada un umbral detectable para un paciente sano de uno que no lo es.

## 7. ANTECEDENTES

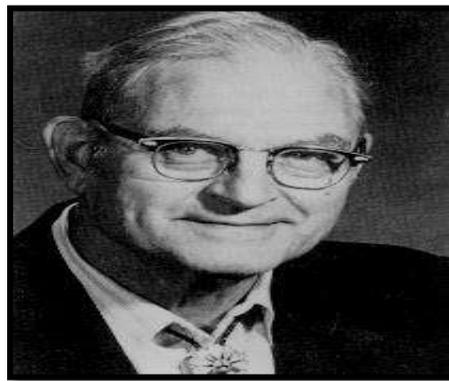
Es grandioso e impresionante, que la casi totalidad de las células de los seres vivos comparten los mismos tipos de reacciones químicas. La selección natural ha observado a través de la evolución biológica las vías metabólicas que en forma más eficiente permiten a los seres vivos adaptarse al entorno que los rodea. La historia de los recién nacidos para identificar errores del metabolismo inició con las ideas del Médico Inglés Sir Archibald Garrod (Fig. 1) en el año 1902, quien señaló la posibilidad de la herencia de defectos químicos específicos en el metabolismo.<sup>5,6.</sup>



**Fig. 1** Médico Inglés Sir Archivald Garrod

Fuente: <http://www.whodiscoveredit.com/who-discovered-albinism.html> consultada 18 de junio del 2013 a las 13:59 horas.

En 1961, el Dr. Robert Guthrie (Fig. 2) desarrolló la prueba de tamiz mediante la recolección de gotas de sangre en papel filtro para la detección de fenilcetonuria. La prueba fue basada en un ensayo de inhibición bacteriana, utilizando un antimetabolito análogo de la fenilalanina. Posteriormente, el mismo principio fue empleado para identificar otras anomalías del metabolismo de histidina y aminoácidos como: metionina, lectina y tirosina.<sup>5,6,7.</sup>



**Fig. 2** Dr. Robert Guthrie

Fuente: [http://www.isns-neoscreening.org/htm/guthrie\\_award.htm](http://www.isns-neoscreening.org/htm/guthrie_award.htm) Consultada 18 de junio del 2013 a las 14:56 horas.

En el año de 1963, Guthrie y Susi reportaron los resultados del diagnóstico de errores congénitos del metabolismo en la etapa perinatal con el uso de un método rápido que se podría utilizar como prueba de escrutinio. A raíz de estos hallazgos, tomó interés la implementación de las pruebas de tamizaje neonatal. La prueba de tamiz neonatal se inició en los Estados Unidos de Norteamérica ese mismo año.<sup>6</sup>



En el año de 1865 en Italia se publicó el primer caso de HSC; se trataba de una persona con genitales aparentemente masculinos, aunque con hipospadias de primer grado, en el que se descubrió la existencia de trompas de falopio, ovarios, así como un agrandamiento de ambas suprarrenales. Por ello mucho tiempo se les denominó síndromes adrenogenitales.<sup>8</sup>

## 7.1 ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO

Los errores innatos del metabolismo son un conjunto de enfermedades causadas por una mutación genética que produce una alteración en la estructura o en la función de una enzima. Los avances en los conocimientos de las bases bioquímicas de los EIM han permitido un mayor número de diagnósticos y la posibilidad de iniciar tratamientos precoces, sobre todo en la infancia.<sup>37</sup> Muchos de los errores congénitos comportan consecuencias clínicas y patológicas que son consecuencia directa de una alteración bioquímica específica, pero la importancia de estos procesos en el estudio de la biología humana, trasciende considerablemente en su impacto clínico. El estudio de determinados errores congénitos del metabolismo ha sido imprescindible para definir las vías y mecanismos bioquímicos normales.<sup>16</sup>



## 7.2 TAMIZAJE NEONATAL

El Tamiz Neonatal para la detección de Errores Innatos del Metabolismo (IEM) es una medida de salud pública dirigida a identificar de manera temprana los trastornos en el recién nacido aparentemente sano, antes de que se manifieste una enfermedad y establecer el diagnóstico oportuno de enfermedades graves o irreversibles.<sup>12, 35,36</sup> Tamiz significa “colar” o “filtrar” en una población con el objeto de separar a los individuos que presentan alguna característica distinta a los demás. Se practica en gotas de sangre capilar, usualmente obtenidas del talón y colectadas en papel filtro específico llamado “Tarjeta de Guthrie”. Ha sido efectivo para el diagnóstico precoz de enfermedades que cursan con retraso mental y otras manifestaciones graves como: Hipotiroidismo Congénito, Fenilcetonuria, Galactosemia e Hiperplasia Suprarrenal Congénita.<sup>12</sup>

Los métodos analíticos adaptados al estudio de sangre impregnada en papel filtro, son susceptibles de ser afectados por factores externos que alteran los resultados. Los problemas que ocurren con mayor frecuencia en la realización de las pruebas de laboratorio se relacionan con: obtención y conservación de las muestras e interferencias analíticas ocasionadas por los fármacos de las muestras de los pacientes que permanecen en tratamiento afectan el resultado (el laboratorio debe de conocer el tratamiento que recibe cada individuo). Es importante la conservación, el transporte y la distribución de las muestras; las variantes en este proceso son de gran valor en la calidad del ensayo analítico.



### 7.3 HISTORIA DE TAMIZ EN MEXICO

El estudio para 17a-hidroxiprogesterona se encuentra disponible desde 1977. En México, el tamiz neonatal para enfermedades metabólicas se realizó por primera vez en 1973. Inicialmente estaba dirigido para la detección neonatal de fenilcetonuria, galactosemia, enfermedad de orina de jarabe de maple, homocistinuria y tirosinemia. Este programa fue cancelado en 1977, a pesar de que se demostró su factibilidad y de que tuvo como resultado el descubrimiento y tratamiento oportuno de varios niños con estas enfermedades. Se establece un nuevo programa en 1986, esta vez dirigido a la detección de hipotiroidismo congénito y fenilcetonuria. A partir de 1988, la Secretaria de Salud emitió la norma técnica que estableció la prevención del retraso mental causado por hipotiroidismo congénito a través de la realización del examen de tamiz a todos los recién nacidos, y quedo incorporada con carácter de obligatoriedad en la Norma Oficial Mexicana en 1995 NOM-034-SSA2-2002 Para la prevención y control de los defectos al nacimiento.<sup>2,5,10.</sup>



## 7.4 HISTORIA DEL TAMIZ EN MICHOACÁN

En 1993 inicia programa piloto en el Estado de Michoacán, tomando muestras y enviándolas al Instituto Nacional de Pediatría (México, D.F.). En 1994 se establece como programa de prevención de la discapacidad causada por errores innatos del metabolismo, para el año de 1998 se inicia el proceso de análisis de muestras en el Estado, en el Hospital Infantil de Morelia para la Prueba de TSH. En el año 2008 inicia funciones el Laboratorio Estatal de Salud Pública, incorporando el Laboratorio de Tamiz Neonatal como parte de su estructura (TSH) y fue en el año 2010 cuando se inició con las pruebas para detección de fenilcetonuria, hiperplasia suprarrenal congénita y galactosemia únicamente con el financiamiento estatal, ya en el 2011 se continúa con los cuatro marcadores con financiamiento federal del CNEGySR.<sup>9</sup>

Dada la importancia del diagnóstico oportuno de los IEM, para reducir la morbilidad y prevenir la presencia de retraso mental, en la mayoría de los países desarrollados lleva a cabo programas de Tamizaje Neonatal.<sup>11</sup>



## 7.5 ESTABLECIMIENTO DE VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia pueden definirse como los valores de una variable obtenidos de un grupo de individuos en un determinado estado de salud. El proceso de obtención de valores de referencia incluye: 1) definición de la población de sujetos, 2) selección de sujetos, 3) obtención, procesamiento y evaluación de especímenes y 4) análisis estadístico de datos.<sup>40</sup>

Los valores de corte nos hacen estar al tanto de riesgos de dichas evaluaciones.<sup>13</sup>

Para evitar un número elevado de falsos positivos es necesario ajustar los niveles de corte a las variables de edad del recién nacido, tiempo de llegada al laboratorio, calidad de la muestra y peso al nacer.<sup>14, 15.</sup>

El punto de corte dependerá de la técnica utilizada. El punto de corte de cada laboratorio se obtiene por la evaluación estadística con el cálculo de los percentiles 97 (muestra menor o igual a 1000 recién nacidos tamizados) y 99 (muestra mayor a 1000 recién nacidos tamizados) de los grupos analizados. El estudio de las muestras fue llevado a cabo mediante controles de calidad internos del laboratorio, el cual está adscrito a los Programas de Control y Aseguramiento de la Calidad para tamiz neonatal del Centro de Control de Enfermedades de Atlanta (CDC), que evalúa cada cuatro y seis meses a los laboratorios participantes y por el Programa de evaluación externa de calidad de argentina (PEEC).<sup>10</sup>



## 8. HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA (HSC)

La hiperplasia suprarrenal congénita es un conjunto de trastornos genéticos en que las glándulas suprarrenales no funcionan correctamente, las glándulas suprarrenales, ubicadas encima de cada riñón, producen hormonas esenciales para las funciones corporales.<sup>3</sup>

La HSC es una enfermedad hereditaria que se transmite con carácter recesivo autosómico.<sup>10,18.</sup> ofrece el primer ejemplo de error congénito del metabolismo heredado por el feto.<sup>12,34</sup> Es un conjunto de enfermedades cuya característica común es un defecto enzimático en la vía de biosíntesis de cortisol.<sup>1</sup> La disminución en la producción de cortisol determina un aumento en la secreción de ACTH y la consecuente hiperplasia de la corteza suprarrenal, junto con hiperproducción de todos los esteroides cuya síntesis no está bloqueada. La HSC se manifiesta clínicamente por distintos grados de ambigüedad y/o alteraciones hidroeléctricas.<sup>19</sup>

La 17-Hidroxiprogesterona (17-OH progesterona o 17OHP) es una hormona esteroidea producida en la glándula adrenal y gónadas durante la síntesis de glucocorticoides y esteroides sexuales. Esta hormona es precursora del cortisol y de las hormonas sexuales testosterona y estradiol. No se ha definido su papel excepto como una molécula precursora. Los niveles de suero 17 $\alpha$  -OHP son dependientes de la edad. La 17 $\alpha$ -hidroxiprogesterona es el marcador bioquímico más utilizado para el diagnóstico y monitoreo de la Hiperplasia Suprarrenal Congénita debida a la deficiencia en la actividad de la enzima 21-hidroxilasa. Los prematuros, especialmente los menores de 31 semanas, tienen concentraciones muy elevadas de 17-OHP sin alteración en la biosíntesis de esteroides que se debe a una expresión retardada de la enzima 11-beta-hidroxilasa.<sup>20</sup>



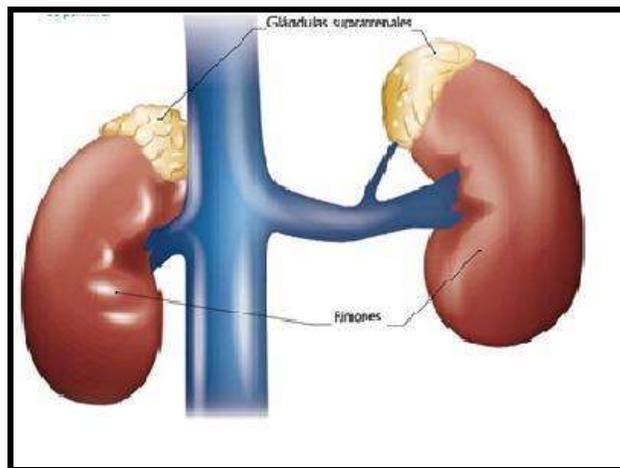
Cortisol es la principal hormona glucocorticoide humana producida por la corteza suprarrenal, es esencial para el mantenimiento de la vida. El cortisol es un esteroide con un peso molecular de 363,5 Dalton, es el glucocorticoide humano más importante.<sup>21</sup>

Los glucocorticoides intervienen regulando en procesos importantes fisiológicos del metabolismo de hidratos de carbono, proteínas y lípidos, los glucocorticoides juegan un papel importante en reacciones de estrés del cuerpo humano.<sup>22</sup>

## 8.1 GLÁNDULAS SUPRARRENALES

Aunque las glándulas suprarrenales habían sido claramente descritas por Eustaquio en 1552, no se estableció ninguna correlación entre estos órganos y la salud hasta la descripción de Addison en 1855 sobre los efectos clínicos de la insuficiencia suprarrenal.<sup>23</sup>

Las glándulas suprarrenales son órganos que ocupan la parte superior y posterior de la cavidad abdominal, situados encima del riñón como su nombre lo indica. El aspecto de las suprarrenales varía según la edad pero en términos generales es el de una gruesa coma o de un gorro frívolo dispuesto en la parte superior del borde interno del riñón (Fig. 1). Miden por término medio 30 milímetros de altura por 25 de anchura y 7-8 milímetros de espesor<sup>24</sup> tienen un peso de unos 4 gramos. Las glándulas suprarrenales son esenciales para la supervivencia, sin ellas las alteraciones del metabolismo electrolítico y de carbohidratos producen la muerte por colapso circulatorio y coma hipoglucémico.<sup>25</sup>

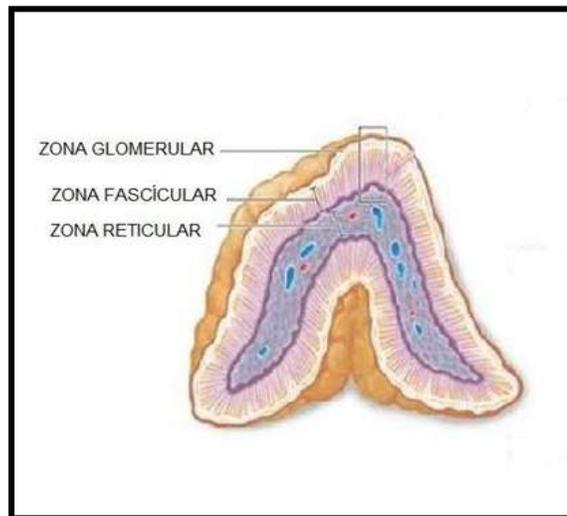


**Fig. 3** Glándulas Suprarrenales

**Fuente:** <http://www.icarito.cl/herramientas/despliegue/laminas/2009/12/376-605522-3-glandulas-suprarrenales.html> Consultada 18 de junio del 2013 a las 13:40 horas.

## 8.2 PARTES DE LAS GLÁNDULAS SUPRARRENALES

La glándula suprarrenal sintetiza a partir del colesterol tres tipos de hormonas: Glucocorticoides (zona fascicular), mineralcorticoides (zona glomerular) y andrógenos (zona reticular). En esta síntesis participan una serie de enzimas, algunas de las cuales son comunes y otras específicas de cada una de ellas.<sup>5,16.</sup>



**Fig. 4** Partes de las Glándulas Suprarrenales

**Fuente:** <http://drako062.blogspot.mx/2013/03/corteza-suprarrenal.html> consultada 18 de junio del 2013 a las 13:50 horas.



### 8.3 CLASIFICACIÓN DE HSC

- Variedad perdedora de sal
- Variedad simple
- Virilización prenatal
- Virilización posnatal
- Forma tardía “no clásica”

#### **Variedad perdedora de sal**

Ocurre en el 66-75% de los casos afectados por la forma clásica. La insuficiencia suprarrenal se puede presentar desde los primeros días de vida, pero es más común en la segunda semana, el cuadro clínico es de pérdida de peso, vómitos, diarrea y shock hipovolémico, de no tratarse conduce a la muerte, en productos femeninos los genitales externos anormales son el indicio para el diagnóstico, en los niños varones es difícil debido a que presentan genitales normales por lo que en ellos la mortalidad es mayor.

#### **Variedad simple**

Es la otra forma clásica, en la cual no se presenta pérdida de sal, los productos femeninos muestran grados variables de virilización de genitales externos y en los varones el diagnóstico es más difícil debido a que la presencia de síntomas es tardío, hasta varios años cuando el exceso de andrógenos produce signos de virilización.



### **Virilización prenatal**

Las dos formas clásicas perdedoras de sal y virilizante simple en productos femeninos se manifiesta con genitales ambiguos por la presencia de andrógenos en exceso desde la etapa fetal temprana. El grado de masculinización de los genitales externos es variable, las estructuras genitales internas son normales.

### **Virilización postnatal**

Constituye el cuadro clínico predominante de las formas clásicas en ambos sexos. El hiperandrogenismo se manifiesta por crecimiento rápido o lento y maduración óseas aceleradas, aparición de vello sexual y acné, a pesar de presentar estas características durante la infancia la fusión prematura de la epífisis determina una estatura final corta.

### **Forma tardía o “no clásica”**

Ocurre cuando el déficit enzimático es leve y se manifiesta en la infancia o pubertad. En las niñas no hay ambigüedad de genitales externos, pero existen datos clínicos de hiperandrogenismo progresivo leve a moderado, como hirsutismo, acné, edad ósea acelerada e hipertrofia discreta del clitoris<sup>39</sup>.

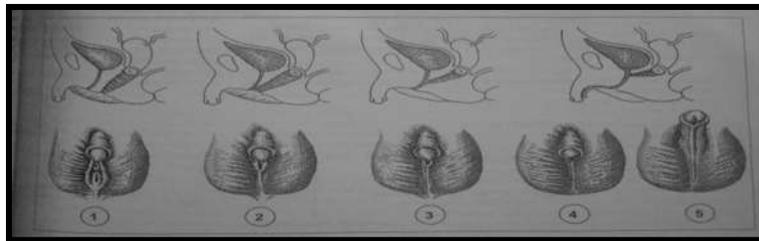
La variedad más frecuente en la etapa neonatal, es la forma clásica perdedora de sal. La forma clásica representa los casos más severos de este déficit.<sup>22</sup>

Los avances científicos actuales permiten la posibilidad de llevar a cabo una detección temprana de la patología mediante la prueba de tamiz neonatal, principalmente en aquellos pacientes que no manifiestan en forma evidente la enfermedad.<sup>26</sup>

#### 8.4 DIFERENTES GRADOS DE VIRILIZACIÓN SEGÚN PRADER

El grado de ambigüedad puede ser clasificado de acuerdo a los 5 estadios de Prader:

1. Clitoromegalia
2. Clitoromegalia y fusión labial posterior
3. Mayor grado de clitoromegalia con fusión labial casi completa y presencia de un seno urogenital
4. Clítoris con apariencia fálica, orificio uretral ubicado en la base del mismo y fusión labial completa
5. Fenotipo masculino son gónadas en bolsa



**Fig. 5** Estadios de Prader.<sup>27, 28.</sup>



**Fig.6** Recién nacido con genitales ambiguos. Estadios de Prader 4.<sup>29</sup>



**Fig.7** Recién nacido con genitales ambiguos. Estadios de prader 2.<sup>29</sup>



## 8.5 FISIOPATOLOGÍA

Las manifestaciones clínicas de la HSC son una consecuencia de deficiencias en cualquiera de las enzimas que intervienen en la transformación del colesterol a cortisol.

El déficit de cortisol consecuentemente incrementa la producción de hormona adrenocorticotropina (ACTH) y secundariamente, se produce una hiperestimulación de la corteza adrenal, aumentando el tamaño de las glándulas suprarrenales (hiperplasia) y provocando un incremento en la producción de precursores de los esteroides previos al bloqueo enzimático.

Enzimas implicadas en la patogénesis de la HSC:

- STAR (proteína esencial para el transporte del colesterol al interior de la mitocondria y su posterior transformación en pregnenolona).
- 17 alfa hidroxilasa (17 $\alpha$ -OH).
- 3 beta hidroxisteroide deshidrogenasa (3 $\beta$ -HSD).
- 21 hidroxilasa (21-OH).
- 11 beta hidroxilasa (11 $\beta$ -OH).

En el caso de deficiencia de 21-hidroxilasa, el bloqueo ocurre a nivel de la progesterona y de la 17-hidroxi progesterona, desviando la ruta metabólica hacia un incremento de los precursores para la producción de andrógenos.<sup>10</sup>



## 8.6 DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS DE HSC

Defecto Enzimático	Clínica en niños	Clínica en niñas
<b>21-hidroxilasa (Forma clásica perdida de sal)</b>	-Genitales normales -Síndrome perdida de sal en periodo neonatal -Posible infertilidad	-Genitales ambiguos -Síndrome perdida de sal en periodo neonatal
<b>21-hidroxilasa( Forma clásica virilizante simple)</b>	-Genitales normales -Pene alargado -Aceleración del crecimiento y edad ósea -Posible infertilidad	-Genitales ambiguos -Aceleración del crecimiento y edad ósea -Posible infertilidad
<b>21-hidroxilasa (forma no clásica de presentación tardía)</b>	-Genitales normales -Adrenarquia prematura -Posible infertilidad	-Genitales normales -Clitoromegalia -Adrenarquia prematura -Posible infertilidad
<b>3-β hidroxisteroide deshidrogenasa</b>	-Genitales ambiguos -Síndrome perdida de sal	-Genitales ambiguos -Síndrome perdida de sal
<b>11-β hidroxilasa</b>	-Hipertensión -Pene alargado -Aceleración del crecimiento y edad ósea	-Genitales ambiguos -Hipertensión -Adrenarquia prematura -Posible infertilidad
<b>17α hidroxilasa 17-20 liasa</b>	-Genitales ambiguos o de aspecto completamente femenino -Hipertensión -Hipopotasemia	-Pubertad retrasada -Amenorrea primaria -Hipertensión -Hipopotasemia
<b>Hiperplasia lipoidea: Star ( steroidogenic acute regulatory pretein)</b>	-Genitales ambiguos o de aspecto completamente femenino -Síndrome perdida de sal	-Síndrome perdida de sal -Retraso puberal y amenorrea primaria



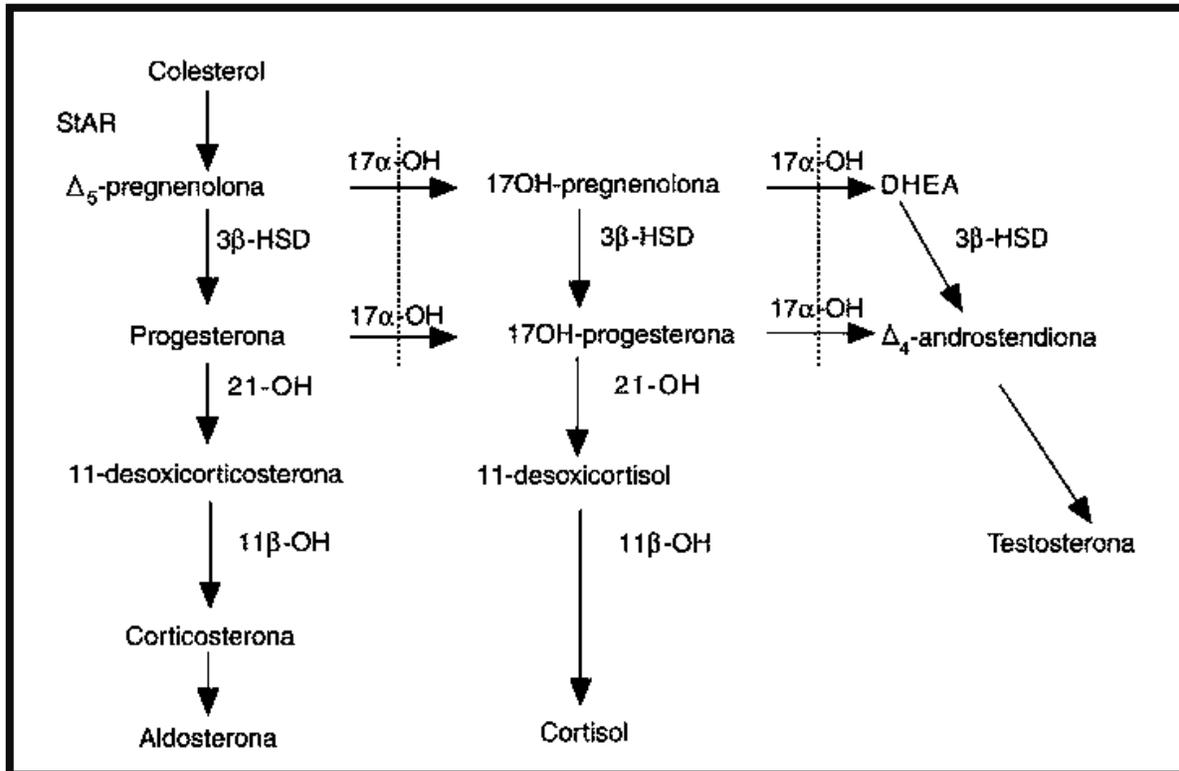
## 8.7 BIOSÍNTESIS DE HIPERPLASIA SUPRARRENAL CONGÉNITA

El hipotálamo secreta el factor de liberación de corticotropina, que actúa sobre la adenohipófisis liberando corticotropina (ACTH). Esta hormona controla la esteroidogénesis en la glándula suprarrenal; ya que estimula las diferentes enzimas implicadas en la síntesis de cortisol y aldosterona. Por otra parte, el cortisol regula la secreción de CRF y ACTH a través de un mecanismo de retroalimentación, actuando tanto en hipotálamo como en hipófisis.

El bloqueo en la acción de alguna de las enzimas implicadas produce una disminución de la síntesis del cortisol y, secundariamente, un aumento de la secreción de ACTH. Este aumento intenta compensar la deficiente producción de cortisol y, paralelamente, activa al resto de enzimas funcionantes, estimulando la síntesis de otros esteroides que darán lugar a diversas manifestaciones clínicas.

El defecto en un determinado paso se manifestará clínicamente, no sólo por la falta de producción de cortisol y aldosterona, sino también porque se producirá un exceso de precursores. Estos precursores se acumulan y buscan vías metabólicas alternativas que, fundamentalmente, conducirán a la síntesis de andrógenos.<sup>27</sup>

**Fig. 8** Síntesis de aldosterona, cortisol y testosterona (Esteroidogénesis Suprarrenal).<sup>23</sup>





## 8.8 EPIDEMIOLOGÍA

La experiencia de estudios multinacionales basados en el tamiz neonatal de HSC realizados en Francia, Italia, Japón, Nueva Zelanda, Escocia y Estados Unidos; estima que la incidencia de la forma clásica de HSC es de 1: 14,199 RNV, la incidencia de la variante perdedora de sal es de 1:18,850 RNV y la de la forma virilizante simple de 1:57,543. Evidenciando que la variante perdedora de sal es 3 veces más frecuente que la forma virilizante simple.<sup>18</sup>

Otro estudio de incidencia de casos por tamiz que incluye a Canadá y Brasil reporta una incidencia de 1:15,000 nacidos vivos para la forma clásica, la variante perdedora de sal correspondió a 67% de los casos y la de la variante no perdedora de sal, un 33%.<sup>18</sup>

La incidencia de HSC varía de acuerdo a la región geográfica y características étnicas. Las tasas más altas de HSC se han observado en dos poblaciones particulares y aisladas geográficamente: Esquimales Yupic de Alaska (1:282) y la isla francesa de la Reunión (1:2141).<sup>18</sup>

Se considera que en México la HSC en su forma clásica se presenta en 1 de cada 12,000 nacidos vivos.<sup>18</sup>

En otro estudio de reporte de incidencia de casos en el estado de Sonora de 100,433 egresos en 20 años del Hospital Infantil de dicho estado, se reporta una incidencia estimada de 1.9:10,000 RNV, con una predominancia mayor en mujeres.<sup>18</sup>



## 8.9 DIAGNÓSTICO

La sospecha diagnóstica de la HSC se establece por los signos clínicos y por la prueba de tamiz neonatal, confirmándose mediante pruebas de laboratorio que utilizan otras técnicas analíticas y genéticas como la Espectrometría de Masas en Tándem, Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución y la Biología Molecular.<sup>18</sup>

Se realiza por la presencia de signos y síntomas resultantes de la deficiencia enzimática.<sup>10</sup>



## 8.10 TRATAMIENTO

El tratamiento tiene como finalidad sustituir los esteroides faltantes derivados de las deficiencias enzimáticas.

- Aporte de glucocorticoides en dosis de estrés:

Deberá administrarse un bolo intravenoso inicial de 100mg/m<sup>2</sup> por dosis de hidrocortisona, para continuar con 50-80 mg/m<sup>2</sup> al día en goteo continuo (lo más deseable) o dividido cada 6 u 8 horas durante uno o dos días.

Después de la fase aguda es necesario iniciar el tratamiento sustitutivo que debe incluir glucocorticoides y mineralocorticoides,

- El tratamiento es para toda la vida y tiene los siguientes objetivos :

1. Mantener las concentraciones de esteroides en rangos fisiológicos altos.

2. Frenar la hipersecreción de ACTH y el hiperandrogenismo concomitante:

3. Evitar la pérdida salina:

La aldosterona se suple con la administración de la fludrocortisona vía oral en una dosis diaria de 0.1 a 0.3 mg por día en menores de un año, posteriormente la dosis requerida varía de 0.05 a 0.2 mg diarios. Se debe considerar que la hidrocortisona por vía intravenosa a dosis de 50 mg/m<sup>2</sup> al día, también proporciona la cantidad de mantenimiento de mineralocorticoide requerido.

4. Seguimiento y control médico.

El paciente con diagnóstico confirmado de hiperplasia suprarrenal congénita debe ser idealmente valorado clínica y bioquímicamente, controlado y observado por un especialista en endocrinología.<sup>10,18</sup>



## 9. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el laboratorio de tamiz neonatal del LESP Michoacán se inició el diagnóstico de 17 OHP con un valor de referencia (punto de corte) de 20.0 ng/mL de sangre seca en papel filtro, sin embargo se encontraban un gran número de casos falsos positivos al ser confirmados por masas tamdem, por lo que se ve la necesidad de evaluar estadísticamente los resultados a través de percentiles para el establecimiento de un valor específico de referencia en la población de recién nacidos en el Estado de Michoacán conforme a él lineamiento técnico de EIM.



## 10. JUSTIFICACIÓN

El presente proyecto se justifica principalmente por la demanda y necesidad del sistema sanitario implicado con los programas de prevención de la discapacidad causada por los errores innatos del metabolismo (EIM), para estandarizar y proponer un valor de referencia para la población michoacana detectando oportunamente la hiperplasia suprarrenal congénita y se dé inicio al tratamiento en edades tempranas evitando secuelas irreversibles o la muerte, además de disminuir los resultados falsos sospechosos.

Debido a la inexistencia de un valor de referencia exclusivo para la población Mexicana, en este caso, específicamente a la población en el Estado de Michoacán y con apoyo de estudios médicos realizados en los recién nacidos nos vemos en la necesidad de elevar el valor de referencia a 30 ng/mL, ya que utilizando el valor límite sugerido por el proveedor se reportaba un número elevado de recién nacidos falsos sospechosos.

Lo anterior repercute en un costo económico importante para las diferentes instituciones de salud y para el país en general por lo que representa a nivel social, familiar e individual.

Con esta intervención se espera la eliminación de los costos multifactoriales de la discapacidad y los gastos que genera en las familias y en los servicios de salud los conceptos por estancia hospitalaria, atención de las secuelas y la rehabilitación; coadyuvando también de forma directa en la disminución de la morbilidad y la mortalidad neonatal en el Estado de Michoacán.<sup>30, 31</sup>



## 11. HIPÓTESIS

Al proponer un valor de referencia en la población del estado de Michoacán en el diagnóstico de 17OHP de 30 ng/mL de sangre seca en papel filtro, para la detección precoz de hiperplasia suprarrenal congénita en edades tempranas se evitarán secuelas irreversibles o la muerte



## **12. OBJETIVO GENERAL**

Estandarizar un valor de referencia específico para HSC de la población de recién nacidos en el Estado de Michoacán a través del tamizaje neonatal con la cuantificación de la 17 hidroxiprogesterona por fluoroinmunoensayo competitivo.

### **12.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Detectar las zonas con mayor frecuencia de recién nacidos tamizados.
2. Localizar las zonas con mayor frecuencia de casos sospechosos.
3. Detectar los casos de recién nacidos de término y prematuros con elevadas concentraciones de 17 hidroxiprogesterona.
4. Generar un análisis estadístico de chi cuadrada y percentiles que nos permitan establecer un valor de referencia para 17 OHP.
5. Detectar oportunamente los casos probables a Hiperplasia Suprarrenal Congénita y disminución de mortalidad así como las complicaciones secundarias a esta patología.



### **13. TIPO DE ESTUDIO**

El presente es un estudio longitudinal, experimental y retrospectivo que fue realizado en la ciudad de Morelia Michoacán en el Laboratorio Estatal de Salud Pública, el universo de trabajo se incluyen muestras de enero del 2011 a febrero del 2013.

#### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN:**

Muestras de recién nacidos de población abierta provenientes de las 8 diferentes jurisdicciones de Estado de Michoacán.

#### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:**

Muestras inadecuadas y que no eluyeron.

#### **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:**

Muestras de recién nacidos tomadas antes de 72 horas de nacimiento.

#### **Fuentes de información utilizada:**

Base de datos electrónicas y bitácoras de análisis del laboratorio tamiz neonatal.

### **METODOLOGIA ESTADISTICA**

Se realizó un estudio estadístico y la captura de datos con los programas

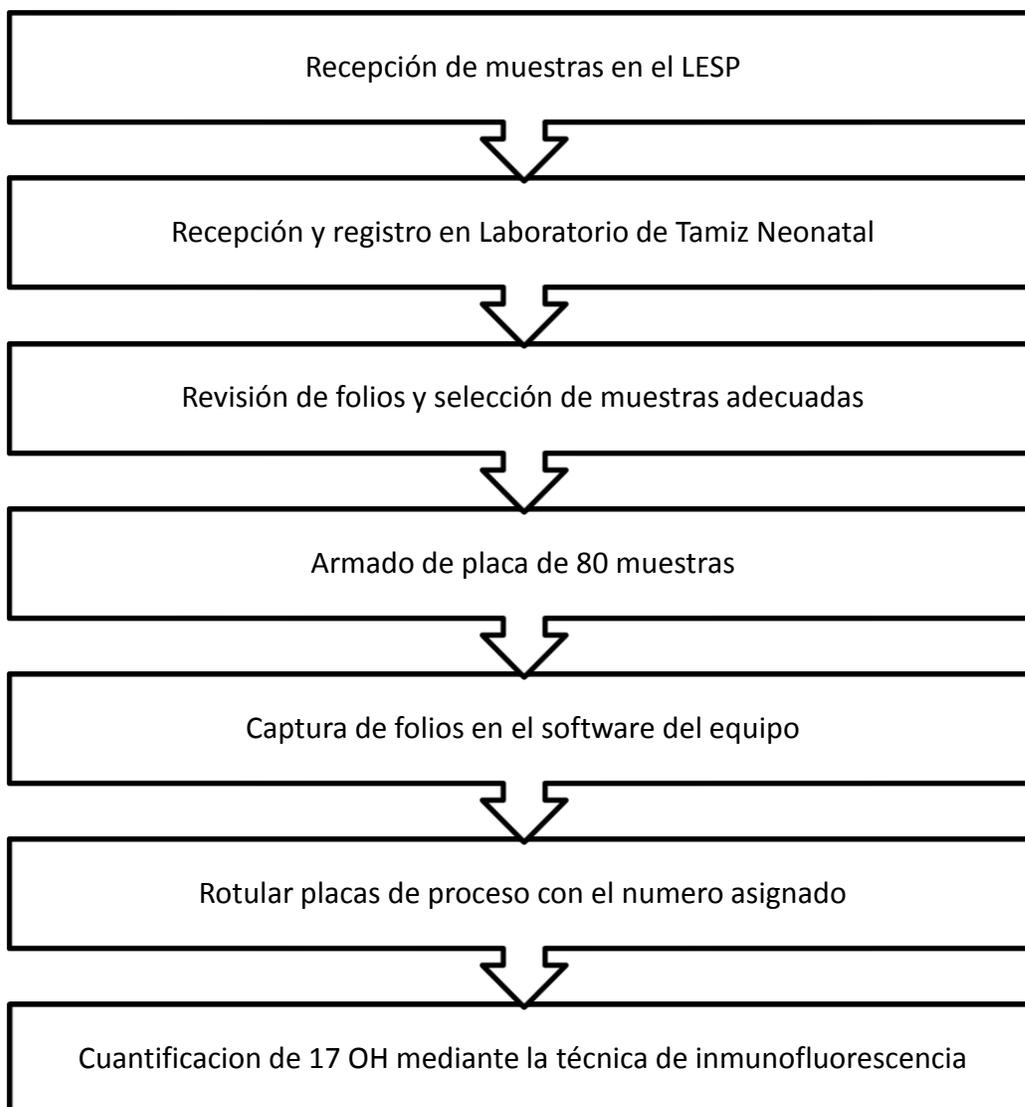
- Microsoft Excel: Captura de base de datos y resultados.
- SPSS inc Pasw 18.0: Análisis Estadístico de percentiles, histogramas logaritmicos y R2.



## 14. MATERIAL Y MÉTODOS

En el Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Michoacán se recibieron muestras de sangre seca depositadas en papel filtro, para la cuantificación de 17  $\alpha$  hidroxiprogesterona, obtenidas por punción del talón de recién nacidos provenientes de las 8 jurisdicciones del estado de Michoacán.

### DIAGRAMA DE ACTIVIDADES





## **CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS**

### **Toma de muestra**

La muestra es obtenida por punción de talón de recién nacido, realizado por el personal de las unidades de salud del Estado de Michoacán y capacitado para este procedimiento. Las muestras se toman a partir de la porción media lateral de la superficie de la planta del talón. No se debe utilizar sitios previos de punción o la curvatura del talón.<sup>19</sup>

### **Transporte de muestras**

El transporte de las muestras se realiza colocando las muestras en papel dextrasa o en su defecto hoja de papel bond, en una bolsa de cierre hermético que contiene sobres desecantes a una temperatura aproximada de 2-8 °C, las muestras no deben de colocarse únicamente en contenedores herméticamente sellados debido a que la carencia de intercambio de aire en el medio ambiente interno de un contenedor sellado causa incremento de calor y acumulación de la humedad. El calor, la luz directa, la humedad y la condensación son dañinos para estabilizar las manchas de sangre seca y recuperar el analito.<sup>19</sup>

### **Selección de muestras**

Las muestras se reciben en el área de recepción de muestras del Laboratorio Estatal y se entregan al Laboratorio de Tamiz Neonatal en donde se procede a su revisión y clasificación en muestras adecuadas e inadecuadas. Las muestras adecuadas se procesan. Las inadecuadas se rechazan avisando de manera inmediata para que se tome una nueva muestra.



---

## **MATERIAL REQUERIDO PARA EL PROCEDIMIENTO DE LA TÉCNICA**

- Cubre bocas
- Guantes
- Microplaca (96 pocillos cada una)
- Perforador de discos con un diámetro de 3 mm para cortar discos de papel de sangre seca de los controles, calibradores y muestras (ponchador DBS)
- Agitador-incubador de microplacas
- Lavador de microplacas
- Dispensador automático (multidrop)
- Bomba de vacío
- Fluorómetro de microplaca
- Matraz erlenmeyer
- Probetas graduadas de 50mL
- Frascos para almacenar los reactivos (sobrantes)
- Toallas de papel o papel absorbente
- Cronometro
- Cubiertas de plástico
- Agua destilada o desionizada
- Solución de hipoclorito de sodio

## **REACTIVOS UTILIZADOS EN EL PROCESO**

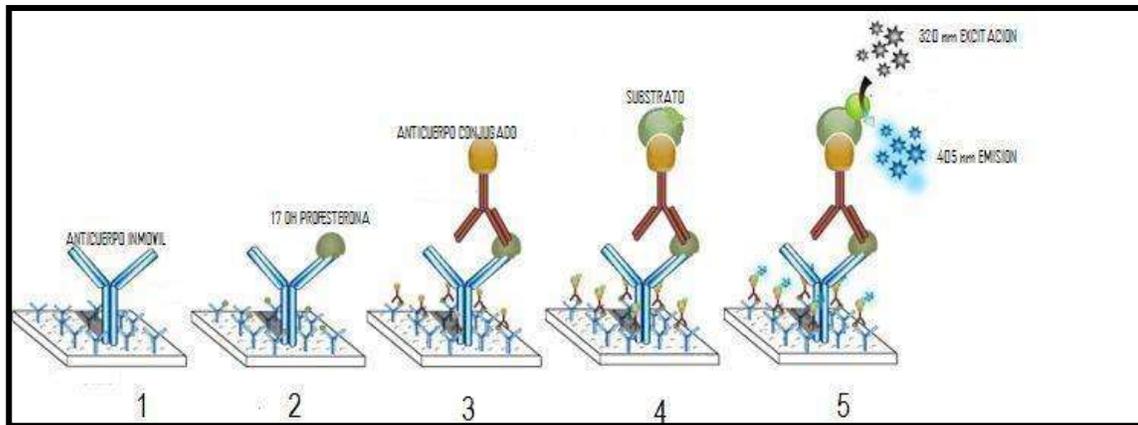
- Conjugado (peroxidasa de rábano picante, libera la hormona al lisis de los eritrocitos)
- Diluyente conjugado
- Fluorógeno HPPA
- Diluyente para HPPA-Fluorógeno
- Solución de parada (estabiliza la reacción)
- Solución de lavado



## FUNDAMENTO DEL ENSAYO

Se basa en un fluoroinmunoensayo competitivo para la determinación de 17-OH-Progesterona a partir de muestras de sangre seca en papel filtro tomada del talón del recién nacido como prueba principal para la detección de Hiperplasia Suprarrenal Congénita.

La figura 8 muestra los compuestos básicos del método, que suele hacerse en microplacas de plástico que contienen 96 pocillos. Cada pocillo está sensibilizado por un anticuerpo monoclonal inmóvil específico de la hormona a estudiar (1). En cada pocillo se colocan las muestras impregnadas con sangre seca en papel filtro (2), después se añade un segundo anticuerpo del conjugado, también específico de la hormona (3) que va a competir con la 17-OH-Progesterona de la muestra del paciente para el enlace al anticuerpo específico anexo a la superficie de la microplaca. La muestra residual del paciente y el conjugado no ligado se eliminan mediante lavado. Por último un sustrato de enzima incolora que contiene HPPA de fluorógeno se agrega (4). La reacción de la enzima con el fluorógeno resulta en un producto final fluorógeno incoloro. La formación del producto se determina agregando una solución búffer de glicina y se mide la fluorescencia en cada uno de los pocillos con fluorómetro de microplaca (5).



**Fig. 9** Principios básicos de inmunofluorescencia para la determinación de la concentración de una enzima

La cantidad de enzima (17 HOP) existente en la muestra o en la referencia será proporcional a la cantidad del producto formado.

## PROCEDIMIENTO

1. Llevar los reactivos a temperatura ambiente (+20 °C a +25°C)



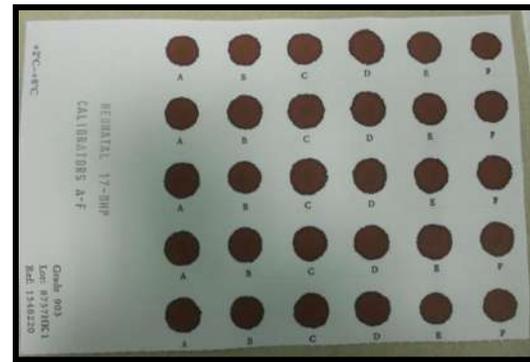
2. Rotular placas (96 pocillos cada una) con el numero asignado de proceso



3. Perforar los discos de 3mm de controles y calibradores de sangre en la placa con el ponchador DBS.

CONTROLES

CALIBRADORES



CALIBRADORES



CONTROLES



4. Perforar discos de 3mm de las muestras de los pacientes en la placa con el ponchador DBS en su pocillo y placa correspondiente.

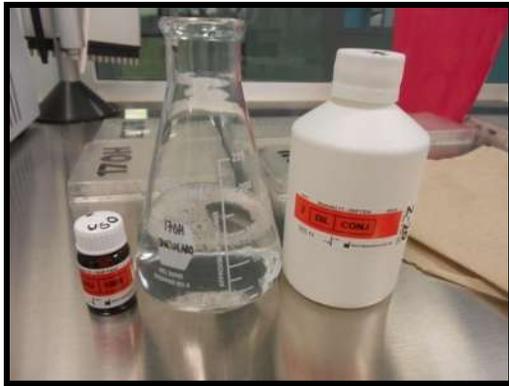


El proceso de inmunofluorescencia se realiza en dos días.

➤ **PRIMER DÍA**

- Añadir 200  $\mu$ L de conjugado para liberar la enzima del papel filtro.

(Asegurar que los discos estén bien empapados apropiadamente)



- C

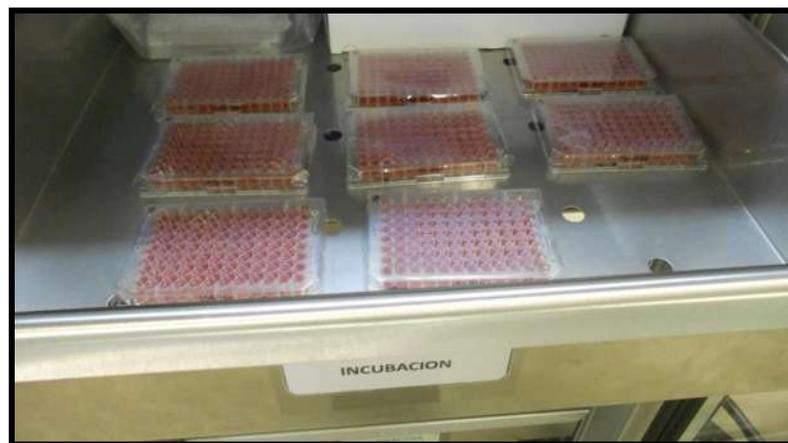
abrir la placa para evitar contaminación



- Agitar 60 minutos, 25 °C, 900 rpm en el agitador de placas



- Incubar durante 18 horas sin agitación en refrigerador 2-4°C con el fin de una mayor elución de la muestra.

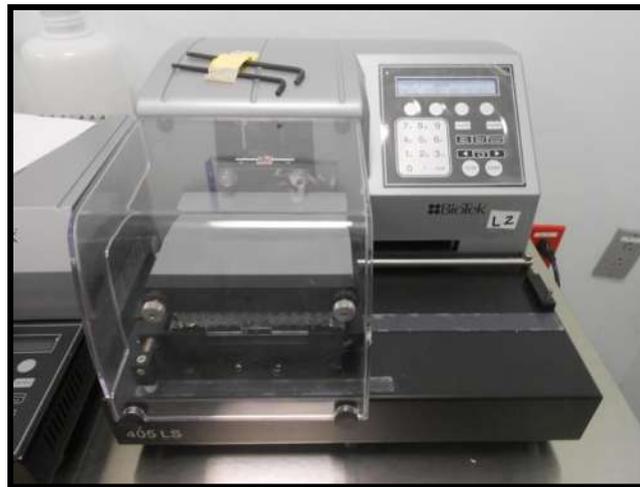


➤ **SEGUNDO DÍA**

- Retirar los discos de papel filtro con la bomba de vacío para realizar los lavados correspondientes.



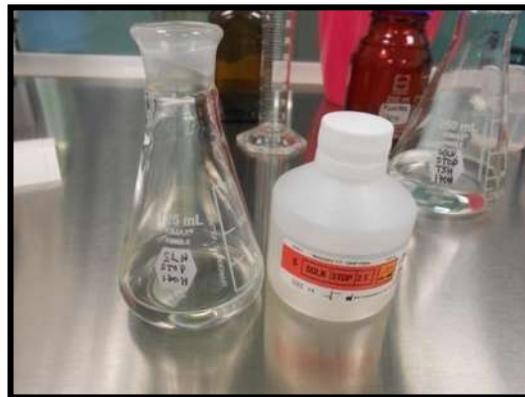
- Lavar 5 veces con 300  $\mu$ L de la solución de lavado en el lavador de placas, con esto eliminamos el exceso de perturbadores que afecten la prueba.



- Agregar 200  $\mu$ L de sustrato e incubar durante 1 hora a 2-3° C (medir la reacción de unión)



- Agregar 100  $\mu$ L de solución de parada (detener la reacción)





- Medir inmediatamente la fluorescencia a una excitación de onda de 320 y una emisión de 405 nanómetros



- Impresión de resultados
- Registro y selección de muestras normales y casos sospechosos
- Sellar fichas con las fechas de análisis y responsable de laboratorio, agregar observaciones y poner resultados

**Fuente de fotos: LESP MICHOACÁN ÁREA TAMIZ NEONATAL**



## EMISIÓN DE RESULTADOS

Los resultados del Laboratorio Estatal de Salud Pública normales se envían junto con las muestras a la unidad en que fue tomada la muestra por paquetes dentro de un sobre bolsa con su oficio correspondiente

Reporte de resultados probables y/o sospechosos se corrobora el resultado por duplicado y se notifica por correo electrónico, fax, teléfono y oficio al responsable estatal y a la jurisdicción o unidad correspondiente para su seguimiento, el cual consiste en valoración clínica y toma de muestra para realizar pruebas confirmatorias.

Reporte de muestras inadecuadas se reportan por correo electrónico y fax al responsable estatal y a la jurisdicción o unidad correspondiente para una segunda toma de muestra.



## 15. RESULTADOS

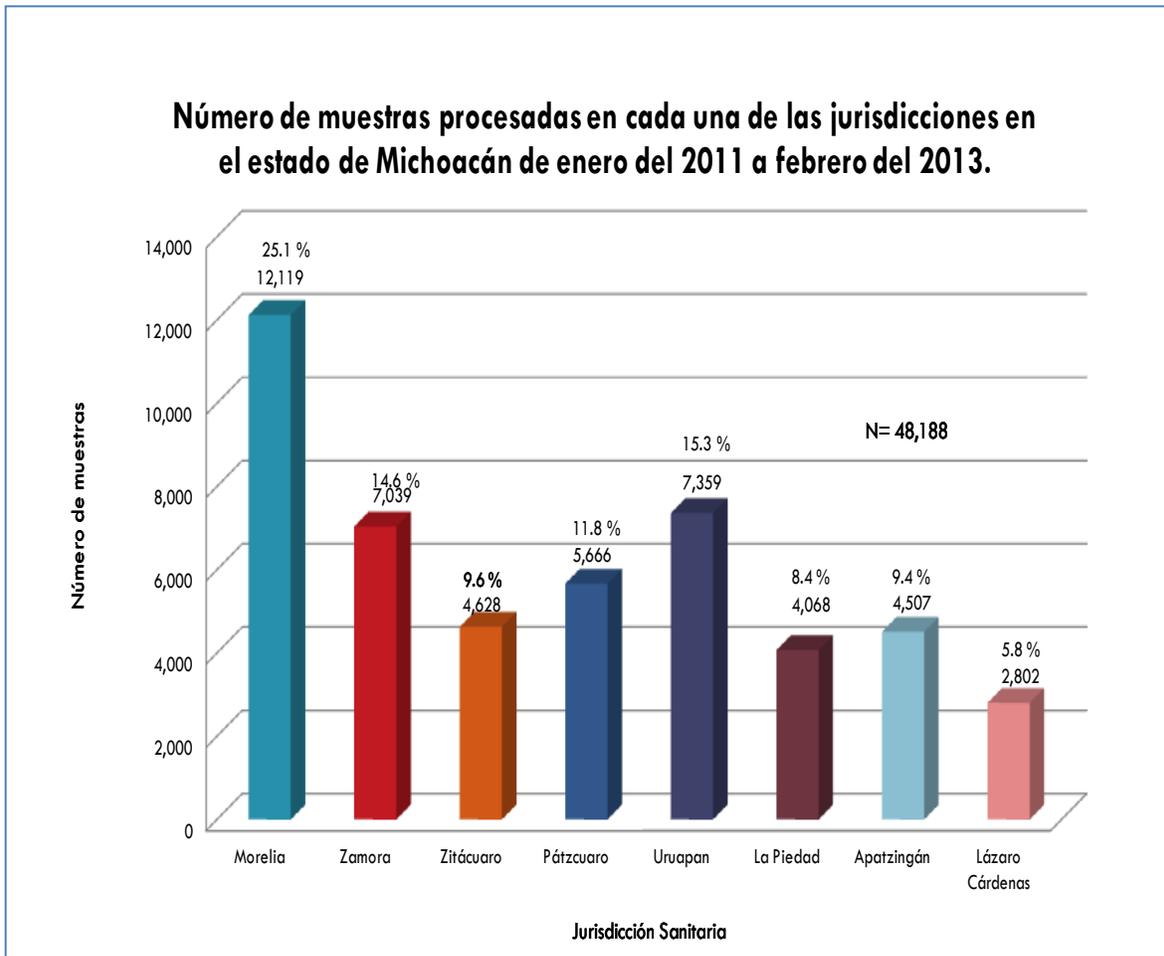
**Tabla 1.** Frecuencia de tamiz neonatal por jurisdicción sanitaria.

JURISDICCION SANITARIA		
	Frecuencia	Porcentaje
Morelia	12,119	25.1 %
Zamora	7,039	14.6 %
Zitácuaro	4,628	9.6 %
Pátzcuaro	5,666	11.8 %
Uruapan	7,359	15.3 %
La Piedad	4,068	8.4
Apatzingán	4,507	9.4
Lázaro Cárdenas	2,802	5.8
<b>Total</b>	<b>48,188</b>	<b>100.0 %</b>

En la tabla 1 podemos observar la frecuencia de las 48,188 muestras tomadas por las distintas jurisdicciones sanitarias de enero del 2011 a febrero del 2013 de las cuales Morelia tiene el número más elevado con un porcentaje de 25.1 % (12,119) seguido de Uruapan con un porcentaje de 15.3 % (7,359) siendo Lázaro Cárdenas el de menor porcentaje con 5.8% (2,802).



**Grafica 1.** Porcentaje de muestras procesadas en cada una de las jurisdicciones en el estado de Michoacán de enero del 2011 a febrero del 2013.



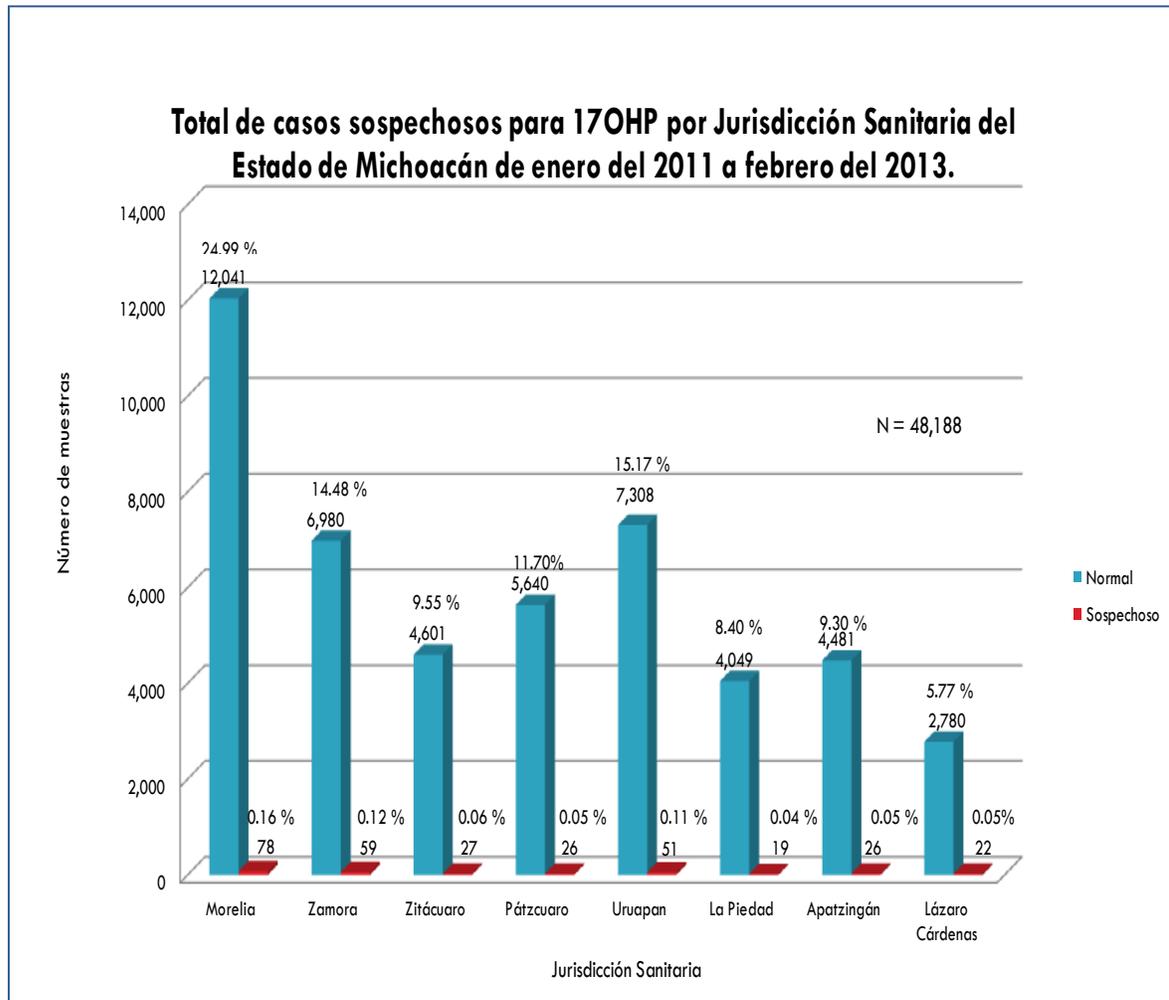


**Tabla 2.** Tabla de contingencia de jurisdicción sanitaria por tamiz de interpretación.

TOTAL DE CASOS SOSPECHOSOS PARA 17OHP POR JURISDICCIÓN SANITARIA					
		Interpretación del Tamiz Neonatal			
			Normal	Sospechoso	Total
Jurisdicción Sanitaria	Morelia	Frecuencia	12,041	78	12,119
		% del Total	24.99%	0.16%	25.15%
	Zamora	Frecuencia	6,980	59	7,039
		% del Total	14.48%	0.12%	14.61%
	Zitácuaro	Frecuencia	4,601	27	4,628
		% del Total	9.55%	0.06%	9.60%
	Pátzcuaro	Frecuencia	5,640	26	5,666
		% del Total	11.70%	0.05%	11.76%
	Uruapan	Frecuencia	7,308	51	7,359
		% del Total	15.17%	0.11%	15.27%
	La Piedad	Frecuencia	4,049	19	4,068
		% del Total	8.40%	0.04%	8.44%
	Apatzingán	Frecuencia	4,481	26	4,507
		% del Total	9.30%	0.05%	9.35%
	Lázaro Cárdenas	Frecuencia	2,780	22	2,802
		% del Total	5.77%	0.05%	5.81%
<b>Total</b>		<b>Frecuencia</b>	<b>47,880</b>	<b>308</b>	<b>48,188</b>
		<b>% del Total</b>	<b>99.36%</b>	<b>0.64%</b>	<b>100.00%</b>

En la tabla de contingencia de jurisdicción sanitaria por tamiz de interpretación muestra la frecuencia y porcentaje de resultados normales y sospechosos en el cual Morelia tiene una frecuencia de 1,2041 casos normales y 78 sospechosos, Zamora tiene una frecuencia de 6,980 casos normales y 59 sospechosos, Uruapan su frecuencia es de 7,308 casos normales y 51 casos sospechosos y el de menor frecuencia La Piedad con un total de normales de 4,049 casos normales y 19 casos sospechosos.

**Grafica 2.** Muestra la frecuencia de normales y sospechosos en las distintas jurisdicciones.





**Tabla 3.** Prueba de chi-cuadrado.

PRUEBA DE CHI-CUADRADO			
	Valor	gl	Sig. Asintómatocos (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	10.970 <sup>a</sup>	7	.140
Razón de verosimilitudes	11.033	7	.137
Asociación lineal por lineal	.543	1	.461
No. de casos válidos	48,188		

**a. 0 casillas (.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5.  
La frecuencia mínima esperada es 17.91**

La tabla 2 muestra la prueba chi cuadrada la cual indica valores altos debido a la gran cantidad de muestras procesadas, el resultado es una chi cuadrada mayor a 0.05 lo que significa que no es estadísticamente significativa por ser valores naturales.



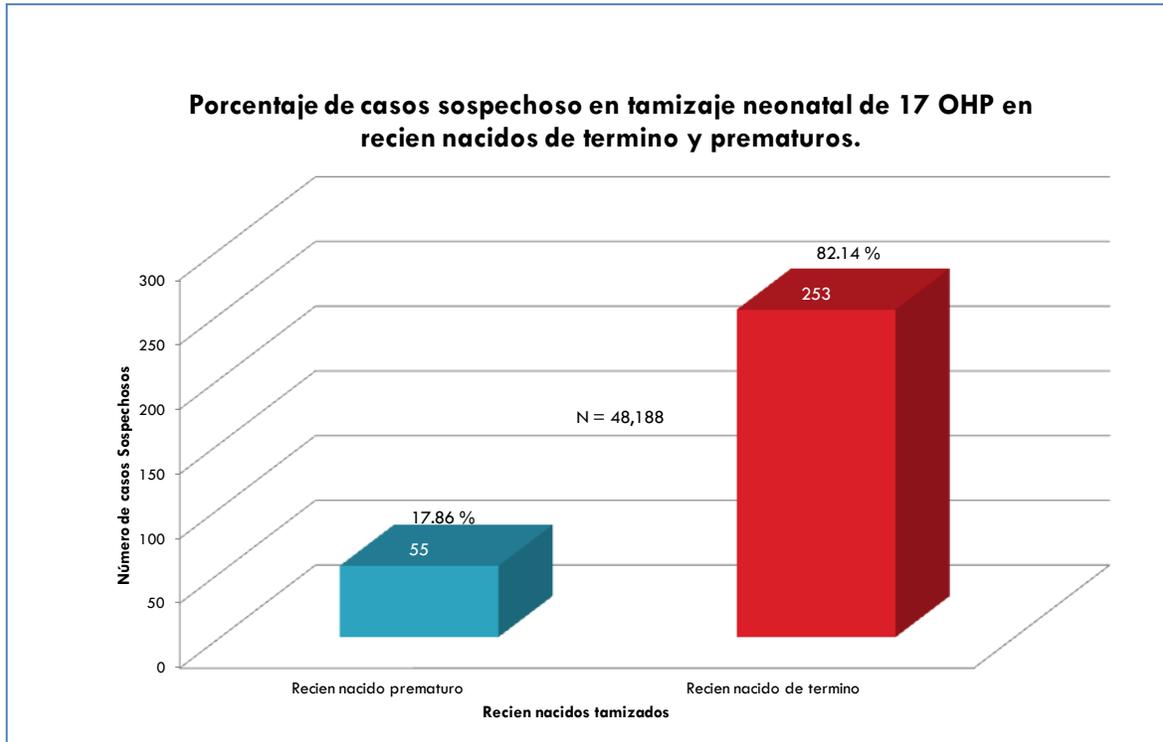
**Tabla 4.** Muestra el porcentaje de casos sospechosos reportados como prematuros 17.86 % (55) y términos gestacionales 82.14% (253).

PORCENTAJE DE CASOS SOSPECHOSOS EN TAMIZAJE NEONATAL DE 17OHP EN RECIEN NACIDOS DE TERMINO Y PREMATURO		
	Frecuencia	Porcentaje
Recién nacido prematuro	55	17.86 %
Recién nacido Termino	253	82.14 %
Total	308	100.0 %
<b>Total de Muestras</b>	<b>48,188</b>	<b>-</b>

Se observa un gran número de casos prematuros lo cual indica un elevado de casos falsos sospechosos (los prematuros tienen valores normales más altos).<sup>33</sup>



**Grafica 3.** Muestra el porcentaje de casos sospechosos reportados de término y prematuros, observándose que para casos prematuros contienen resultados elevados para la 17 OHP.





**Tabla 5.** Muestra el total de casos confirmados según su variante de los cuales fueron 8 casos positivos.

Total de casos confirmados para 17 OHP	
	Frecuencia
Total sospechosos	308
Recién Nacidos con resultado falso positivo	300
Positivos Confirmados:	8
Masas Tándem	5
Cariotipo/Clínica	3

En la tabla 5 se muestra el total de sospechosos según su variante. De los 308 casos sospechosos se enviaron segundas muestras a confirmatorias siendo 51 en papel filtro y 13 para fluorometría en tiempo real, el resto de las muestras sospechosas fueron descartadas en reproceso dentro del LESP o por ser casos prematuros.



**Tabla 6.** Valores de referencia por percentiles calculados.

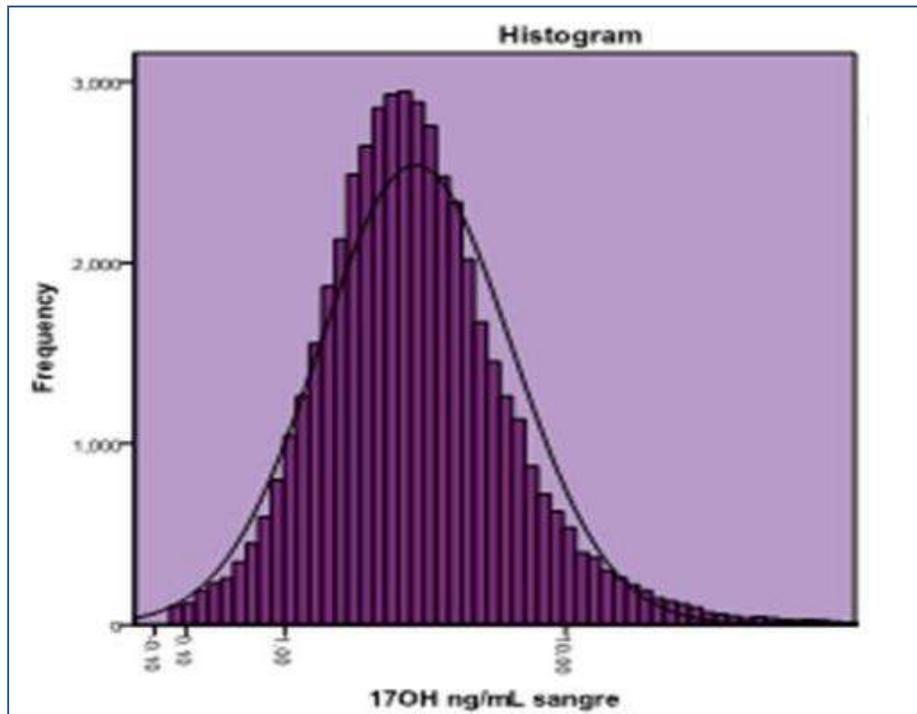
Valores de referencia por percentiles calculados	
N	48,188
Media	4.45
Error estándar de la media	0.03
Mediana	3.22
Moda	1.71
Desviación estándar	6.42

Percentil	Valor de Referencia
98.0	17.15
98.5	19.54
99.0	23.52
99.1	24.72
99.2	26.27
99.4	30.50
99.5	34.57
99.6	37.54
99.7	43.08
99.8	51.29

La tabla 6 muestra los percentiles y los valores de referencia para el establecimiento del punto de corte dentro del laboratorio de Tamiz Neonatal, los valores de importancia son a partir de la percentil 99.0 con un valor de referencia de 23.52.

**Grafica 4.** Histograma poblacional logarítmico de valores de 17 OHP en recién nacidos Michoacanos.



Media: 4.45  
Desviación estándar: 6.42  
N = 48,188

Muestra la distribución poblacional en base logarítmica de recién nacidos tamizados en el Estado de Michoacán para 17OHP con un porcentaje de confiabilidad del 95%. A partir de los valores de la grafica se obtuvieron la media y la desviación estándar para las concentraciones de 17OHP y se establecieron los valores de referencia. El valor de la media indica que la mayoría de nuestros valores se obtienen en concentraciones de 4.45 ng/mL y los resultados de 3 desviaciones estándar se manejaran como alertas.



**Tabla 7.** Establecimiento del valor de referencia por percentiles calculados.

ESTABLECIMIENTO DEL VALOR DE REFERENCIA POR MEDIO DE PECENTILES					
Percentil	Valor de Referencia	No. de RN de termino		No. De RN prematuros	
		Casos	Caso Positivo	Casos	Caso Positivo
98.0	17.1	0	0	0	0
98.5	19.5	245	0	0	0
99.0	23.5	45	0	0	0
99.1	24.7	51	0	0	0
99.2	26.2	48	0	0	0
99.3	28.0	29	0	19	0
99.4	30.5	45	0	3	0
99.5	34.56	36	1	13	0
99.6	37.53	44	1	3	0
99.7	43.08	41	1	8	0
99.8	51.29	42	1	6	0
99.9	>71.52	43	4	5	0
<b>Total</b>		<b>251</b>	<b>8</b>	<b>38</b>	<b>0</b>

La tabla 7 muestra los percentiles y los valores de referencia para el establecimiento del punto de corte dentro del laboratorio de Tamiz Neonatal en la cual se observa que el mayor número de valores de concentración de 17OHP en sangre seca, cae en la percentil 98.5 con 245 valores de referencia, 45 casos caen en la percentil 99; 51 en la percentil 99.1; 48 en la percentil 99.2; 29 en la percentil 99.3; 45 en la percentil 99.4 y 36 en la percentil 99.5, notándose que es en esta percentil donde se reporta el primer caso positivo a HSC. En el caso de los prematuros de observa que los valores obtenidos caen en percentiles elevadas reiterando el caso de prematuros con altas concentraciones de 17 OHP de los cuales no se reporta ningún caso positivo. Utilizando el valor de referencia del inserto de obtienen un elevado número de sospechoso lo que reitera el establecimiento del valor de referencia 17 OHP de 30 ng/mL de sangre seca en papel filtro.



## 16. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se analizaron 48188 muestras de sangre seca en papel filtro en donde se presentan los resultados obtenidos para 17OHP en el estado de Michoacán pertenecientes a las Jurisdicciones N°1 Morelia, N°2 Zamora, N°3 Zitácuaro, N°4 Pátzcuaro, N°5 Uruapan, N°6 La Piedad, N°7 Apatzingán y N°8 Lázaro Cárdenas las cuales fueron procesadas de Enero del 2011 a febrero del 2013 en el Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Michoacán en el departamento de Tamiz Neonatal.

De acuerdo a la sumatoria de muestras procesadas se observó un mayor número de muestras de recién nacidos tamizados en la J.S. N° 1 Morelia, seguido de J.S. N° 5 Uruapan y por ultimo J.S. N° 2 Zamora. En la obtención del número de sospechosos los cuales fueron 308 se encuentra Morelia con el mayor numero, con un total de 78 sospechosos, seguido de Zamora con 59 sospechosos y Uruapan con 51 sospechosos, la jurisdicción con menor casos es La Piedad con 19 casos.

Se observó una elevación de la 17 OHP cercanos al valor de referencia en los casos prematuros sin embargo se descartó la patología, de los 308 casos sospechosos; 55 fueron prematuros y 253 de termino, siendo un porcentaje muy elevado, por lo que se sugiere se mantengan con vigilancia médica para descartar dicha patología, disminuyendo los costos de búsqueda, angustia de los padres y estudios confirmatorios.

De los 308 casos sospechosos se enviaron segundas muestras a confirmatorias siendo 51 en papel filtro y 13 para fluorometria en tiempo real, el resto de las muestras sospechosas fueron descartadas en reproceso dentro del LESP o por ser casos prematuros.



Se inició con un punto de corte de 20 ng/ml de 17OHP en sangre el cual era sugerido por el inserto del fabricante, reportándose un gran número de casos falsos positivos, descartándose en las confirmatorias.

En el departamento de tamiz neonatal se establecieron 3 rangos de, en primer lugar los valores obtenidos de la concentración de 17OHP menor o igual a 29,9 ng/mL se consideraran como normal, en segundo lugar las concentraciones de 30,0 a 35,0 ng/mL, a las muestras con resultados dentro de estos valores se considerara que se encuentran dentro de una zona de ambigüedad (zona gris) lo que significa que son casos probables a HSC y en tercer lugar los resultados obtenidos con un valor mayor o igual a 36,0 ng/mL se consideraran como sospechosos.

Las muestras con resultados dentro de la zona gris y sospechosos se procesan nuevamente por duplicado y aquellas con valores consistentemente mayores o iguales a 30 ng/mL se reportaran como sospechosos y son canalizados con las autoridades sanitarias para su seguimiento.

Realizado el análisis de las 48188 muestras recolectadas como parte del programa de Tamiz Neonatal se establece un valor de referencia de 30.0 ng/mL ubicada en la percentil 99.4, en el estado de Michoacán. Así, cuando el laboratorio de Tamiz Neonatal se obtenga un resultado de 17OHP mayor o igual a 30,0 ng/mL se da notificación electrónica y vía fax a la coordinación estatal de tamiz neonatal con copia a la jurisdicción sanitaria responsable de la toma, para búsqueda del paciente y seguimiento del caso con el médico especialista o endocrinólogo quien realiza la evaluación clínica del paciente.

La incidencia de HSC varía de acuerdo a la región geográfica y características étnicas. Las tasas más altas de HSC se han observado en poblaciones particulares y aisladas geográficamente.



Estudios multinacionales basados en el tamiz neonatal de HSC estiman que la incidencia de la forma clásica de HSC es de 1: 14,199 RNV y de la forma virilizante simple de 1: 57,543.<sup>23</sup>

Se considera que en México la HSC en su forma clásica se presenta en 1 de cada 12,000 nacidos vivos.<sup>23</sup>

En otro estudio de reporte de incidencia de casos en el estado de Sonora de 100,433 egresos en 20 años del Hospital Infantil de dicho estado, se reporta una incidencia estimada de 1.9:10,000 RNV, con una predominancia mayor en mujeres.<sup>23</sup>

En el estado de Nuevo León estudios realizados en tamiz metabólico neonatal por espectrometría de masas en tándem se halló que la frecuencia calculada para los EIM es de 1:5000 recién nacidos.

De las 48188 muestras procesadas 47880 son normales lo que corresponde a un 99.36 % y los casos sospechosos 308 lo que equivale al 0.63% de la población, encontrando que en el Estado de Michoacán la frecuencia es 1:6023 recién nacidos pueden desarrollar una de las formas de Hiperplasia Suprarrenal Congénita.



## 17. CONCLUSIONES

Se determina que el valor de referencia que se reportará como sospechoso de 17 OHP para neonatos en Michoacán con probable HSC será de 30 ng/ml de sangre en muestras de sangre de papel filtro.

La jurisdicción con mayor número de muestras procesadas y sospechosas es la J.S. N° 1 Morelia

Para los casos de recién nacidos prematuros menores a 37 semanas de gestación y peso menor a 2.5 kg., serán reportados pero se manejarán con vigilancia médica, si el médico lo requiere en su valoración clínica se le tomará una segunda muestra para su análisis. Disminuyendo así el número de casos reportados, costos de búsqueda de casos, estudios confirmatorios y la angustia de los padres mientras esperan el resultado de confirmación.

Establecido el valor de referencia nos permitió la detección temprana e intervención oportuna de los casos positivos por lo que es importante el apoyo de un equipo multidisciplinario y especialistas para detectar los casos con HSC evitando secuelas irreversibles o la muerte de los pacientes.



## 18. ANEXOS

### Contenido del kit

- 10 microplacas recubiertas con anticuerpo
- Conjugado, 1.2ml/2.4ml 100x concentrado 17OH-Progesterona conjugado para la peroxidasa de rabano contiene Metilisotiazolona como conservador
- Diluyente del conjugado, 130ml/250ml solución salina búffer que contiene Bronidox como conservador
- Substrato HPPA, 2x50ml/4x50ml 3-(p-Hidroxifenilo) acido propionico en solución búffer que contiene Kathon como conservador
- Diluyente para susbtrato –HPPA- 45 ml de la solución H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- Solución de paro 150ml 2x búffer de glicina concentrado
- Solución de lavado 130ml/220ml 10x concentrado, solución búffer que contenga Bronidox como conservador
- Calibradores de la A-F filtro de papel grado 903 1 hoja, listo para utilizar calibradores, 5 juegos, contiene Bronidox como conservador
- Controles C1-C2, filtro de papel grado 903, 1 hoja, listo para utilizar controles, 5 conjuntos, contiene Bronidox como conservador
- Cubiertas de plástico 5 piezas/10 piezas
- Hoja con valores para controles y calibradores 1 pieza



**Tabla 8.** Preparación del reactivo

REACTIVO	PREPARACION	ESTABILIDAD DE REACTIVOS
microplacas cubiertas	Listas para usarse	1 mes *
Conjugado 17OHP-HRP		1 mes
Diluyente del conjugado		1 mes
*Solución del conjugado	Ver tabla 9	Deseche cualquier solución de conjugado no utilizada
4a Fluorógeno HPPA		10 meses
4b Diluyente para fluorógeno HPPA		6 meses
*Solución sustrato	Ver tabla 10	10 meses
solución de lavado	Diluir 1:10 con agua destilada o desionizada	6 meses
Calibradores Controles	Listos para usarse	3 meses
Solución de parada	Diluir la solución de parada 1:2 con agua destilada	Desechar solución de parada no utilizada



**Tabla 9.** Cantidades a utilizar para la preparación del conjugado de acuerdo al número de placas que se están procesando.

No de placa	Conjugado 17OHP-HRP	Diluyente conjugado
1	0.24	24
2	0.42	42
3	0.62	62
4	0.82	82
5	1.00	100
6	1.20	120
7	1.38	138
8	1.58	158
9	1.76	176
10	2.0	200

**Tabla 10.** Cantidades a utilizar para la preparación del sustrato de acuerdo al número de placas a procesar

No de placa	Fluorógeno de HPPA (4a) mL	Diluyente (4b)mL
1	20	4
2	37.5	7.5
3	55	11
4	70	14
5	85	17
6	100	20
7	117.5	23.5
8	135	27
9	150	30
10	170	34



Los resultados se presentan como valores cuantitativos. Los calibradores se preparan a partir de sangre humana con un valor de hematocrito de 50% a 55% y calibrados de la siguiente manera:

Calibradores    Valores en sangre

A	0,3
B	10,1
C	24,9
D	69,2
E	130,0
F	285,0

### Valores de control de calidad

Los valores esperados para los controles son:

Controles	Valores en sangre	Rangos en sangre
C1	-	<9,2
C2	38,7	21,3-56,1

Los resultados de las pruebas solo se aceptarán si se alcanzan los valores esperados para los controles.

### Valores esperados e interpretación de resultados

La discriminación entre sujetos normales y presuntos positivos para hipotiroidismo congénito se basa en un valor límite para 17OH 30 ng/mL.



---

### **Material a utilizar para la toma de la muestra en tamiz neonatal**

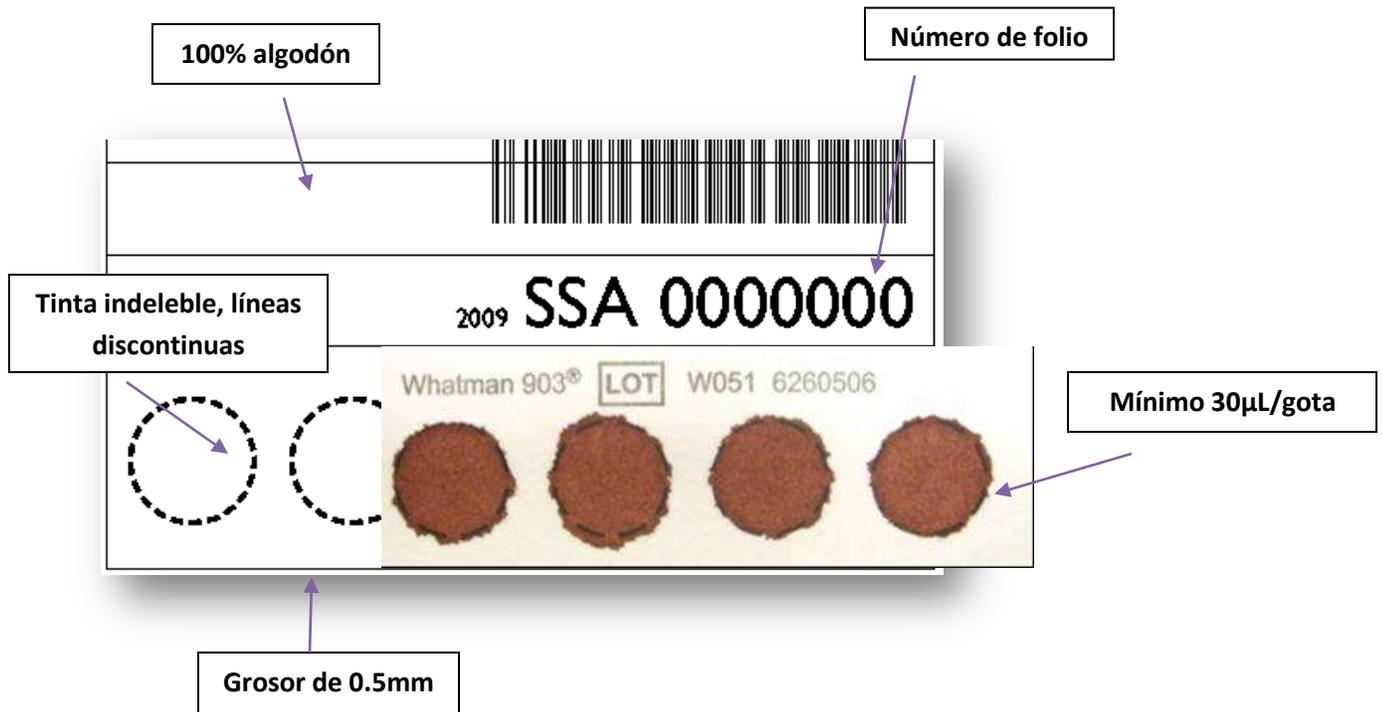
- Alcohol etílico al 70%
- Guantes
- Lanceta estéril
- Algodón estéril
- Papel filtro whatman 903

### **PROCEDIMIENTO**

- Inmovilizar el pie
- Limpiar el área a puncionar (se selecciona el área lateral ya que es una zona con numerosos capilares que aporta buena cantidad de sangre, además se evita lesionar el hueso calcáneo).
- Introducir la punta de la lanceta con un sólo movimiento rápido y seguro
- La gota de sangre debe ser suficiente, uniforme e impregne la cara posterior de la tarjeta de papel filtro
- Colocar la gota de sangre en el círculo del papel filtro, evitando el contacto con el talón del bebe
- Esperar que caigan las nuevas gotas de sangre para llenar los círculos faltantes
- Al término, levantar el pie del bebe por arriba del nivel del corazón y presionar el área de la punción con un algodón limpio y seco.
- Dejar secar la muestra por 3 horas a temperatura ambiente, no exponer a calor directo ni utilizar medios físicos.
- Evitar tocar con las manos las gotas de sangre para evitar contaminar el papel y la muestra.
- Envolver las muestras en papel dextraza y/o papel cebolla.
- Utilizar desecantes para proteger las muestras de la humedad.
- Empacarlas en un sobre bien identificado para su envío al laboratorio.

## CARACTERÍSTICAS DEL PAPEL FILTRO

Desde los primeros estudios del Dr. Guthrie en 1963 y durante las últimas tres décadas, el papel filtro es 100% algodón puro de calidad controlada para absorción (peso básico 185 g/m<sup>2</sup>, grosor 0.545 mm., absorción en agua 4.7 mL/100cm<sup>2</sup>, cenizas 0.06%, densímetro 3.0 seg., y superficie medio suave), utilizado para recolección uniforme de las muestras de gotas de sangre, ha sido seleccionado en casi todos los países como el medio ideal para este fin. El papel debe cumplir con estas características y estar registrado en la SSA<sup>22</sup>. figura 8.



**Fig. 10** Papel filtro específico para la toma de muestra (whatman 903)



### Ficha de identificación

La figura 9 muestra los datos que la madre debe proporcionar para el llenado de la ficha de identificación del recién nacido al que se le tomaran las muestra de sangre en la Tarjeta Guthrie.

**SECRETARIA DE SALUD TAMIZ NEONATAL** PROGRAMA PARA LA DETECCIÓN DE ERRORES METABÓLICOS AL NACIMIENTO

2009 **SSA 0000000**

Nombre de la unidad donde se toma la muestra: \_\_\_\_\_ Jurisdicción: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_

**Datos del recién nacido**

Fecha y hora de nacimiento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ (24hrs) Sexo:  1. Masculino  2. Femenino  3. Ambigüedad de genitales

Edad Gestacional:  1. Pre-término < 37 SDG  2. Término 37-41.9 SDG  3. Post-término > 42 SDG

Producto:  1. Único  2. No. de gemelos

Peso (gr): \_\_\_\_\_ Talla (cm): \_\_\_\_\_

Malformaciones congénitas:  1. No  2. Si Cual: \_\_\_\_\_

Condiciones del RN al momento de la toma:  1. Sano  2. Enfermo  3. Cuidados Intensivos

Alimentación del RN:  1. Leche Materna  2. Fórmula Láctea  3. Mixta  4. Ayuno

**Datos de la Madre**

Nombre completo de la madre: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Enfermedad Tiroidea o Metabólica:  1. No  2. Si Cual: \_\_\_\_\_

Apellido paterno: \_\_\_\_\_ Apellido materno: \_\_\_\_\_ Nombre(s): \_\_\_\_\_

Domicilio (u otra dirección para su localización): \_\_\_\_\_ Geeta: \_\_\_\_\_

Calle: \_\_\_\_\_ No. Int/Ext: \_\_\_\_\_ Colonia o Localidad: \_\_\_\_\_ Municipio o Delegación: \_\_\_\_\_

Entidad Federativa (Estado): \_\_\_\_\_ Código Postal: \_\_\_\_\_ Teléfono (con país): \_\_\_\_\_

**Datos de la Muestra**

Técnico de toma: \_\_\_\_\_ Nombre del responsable de la toma: \_\_\_\_\_

Talón  Cordon

**Reporte de Laboratorio**

Calidad de la muestra:  1. Adecuada  2. Inadecuada

TSH	17-OH	Gal	PKU
<input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> Sospechoso			
Valor	Valor	Valor	Valor

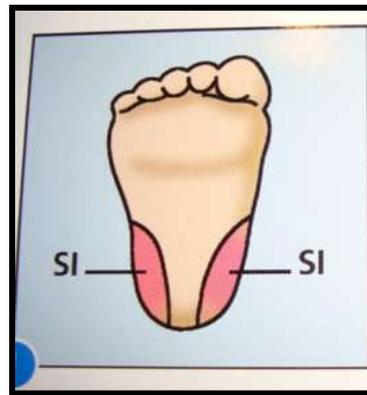
Responsable del Laboratorio que avala el resultado: \_\_\_\_\_ Nombre: \_\_\_\_\_

2009 **SSA 0000000**

Fig. 11 Tarjeta Guthrie

## TOMA DE LA MUESTRA

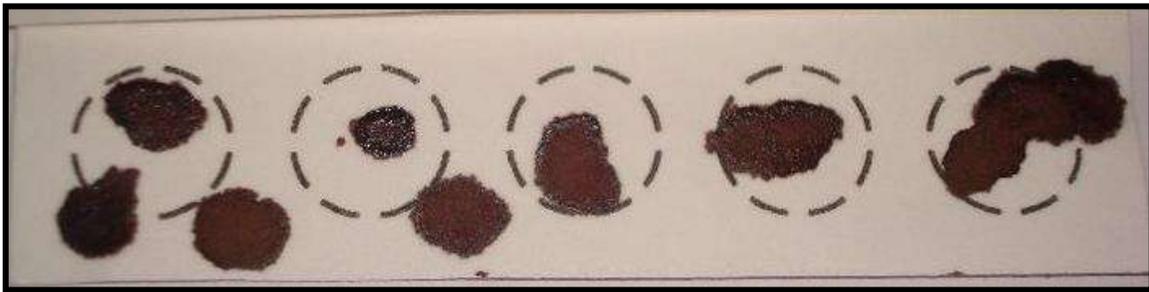
Se utilizan muestras de sangre total seca (gotas) obtenidas de la punción de talón (fig. 10), que son colocadas en papel filtro para su transporte al laboratorio, la toma de la muestra debe realizarse en un periodo de 72 horas después del nacimiento ya que en este lapso de tiempo el recién nacido a obtenido una alimentación completa y esto nos va a ayudar a la identificación de analitos presentes en la muestra.<sup>39</sup>



**Fig. 12** Lugar adecuado a puncionar para la toma de la muestra en el recién nacido.

### Muestras inadecuadas

- Son aquellas muestras que no cumplen con los estándares de calidad y por consiguiente no es apropiada para analizarla (fig.11), una muestra inadecuada puede causar retraso en la detección y tratamiento de los niños afectados. Las razones porque se puede considerar que la muestra es inadecuada son:
  - ✓ Muestra insuficiente
  - ✓ Muestra saturada
  - ✓ Muestra diluida o contaminada
  - ✓ Muestras con anillos de suero
  - ✓ Muestra coagulada
  - ✓ Muestras deshidratadas que no eluyen
  - ✓ Muestras con mala absorción
  - ✓ Muestras con doble gota

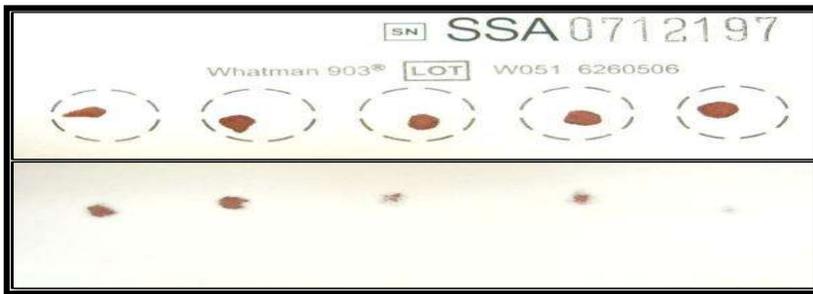


**Fig.13** Muestra inadecuada

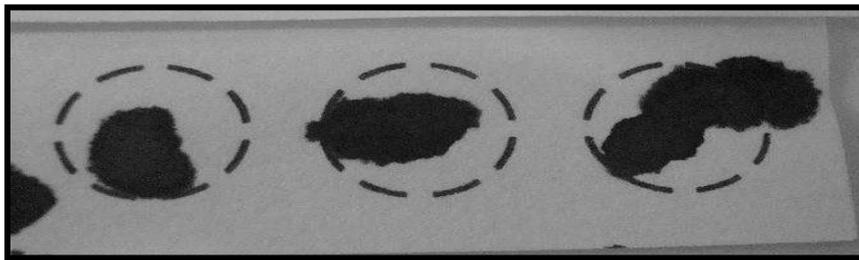
## MUESTRA INSUFICIENTE

### Causas:

- 1.- Se quitó el papel filtro antes de que la sangre llenara por completo el círculo o antes de que se absorbiera hasta el segundo lado.
- 2.- Se aplicó la sangre con un tubo capilar.
- 3.- Antes o después de la obtención de la muestra de sangre, el papel filtro entró en contacto con las manos o con sustancias tales como loción para las manos o talco.



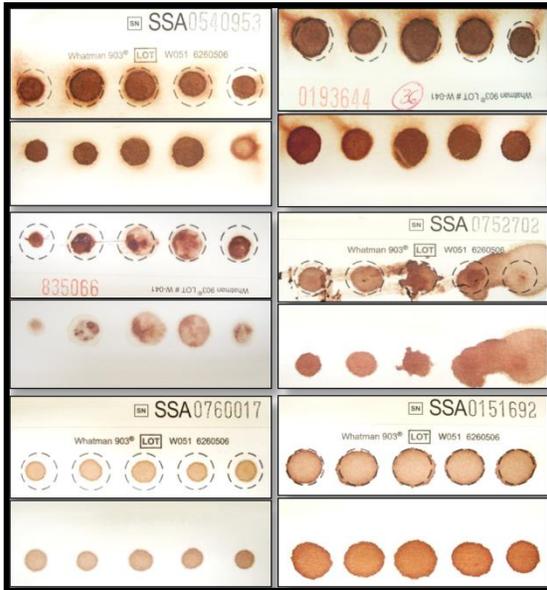
## MUESTRA SATURADA



### CAUSAS:

- 1.- El mismo círculo del papel filtro entró en contacto con gotas de sangre más de una vez.
- 2.- Se aplicó sangre a ambos lados del papel filtro.

## Muestra contaminada o diluida



## CAUSAS:

- 1.- Se apretó la zona que rodea el área de punción.
- 2.- Antes o después de la obtención de la muestra, el papel entró en contacto con las manos o sustancias tales como alcohol, soluciones antisépticas, agua, loción para las manos, talco, etc.
- 3.- Las manchas de sangre se expusieron al calor directo.

## Muestras con anillos de suero

### CAUSAS:

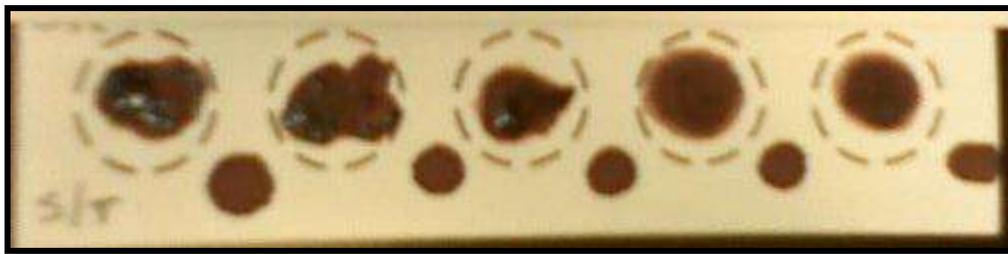
- 1.- No se secó el alcohol del área de punción antes de la punción.
- 2.- El papel filtro entró en contacto con alcohol, loción, etc.
- 3.- Se apretó excesivamente la zona que rodea el área de punción.
- 4.- La muestra no se secó correctamente.
- 5.- Se utilizó un tubo capilar para aplicar la sangre al papel filtro.



## Muestra con coágulos

### Causas:

Se aplico sangre al papel filtro probablemente con un dispositivo no adecuado (jeringa o tubo capilar).



### Muestras adecuadas

Son aquellas muestras que tiene iguales características y composición que la sangre del recién nacido, es representativa, reúne todos los aspectos para su análisis correspondiente y q nos garantiza la obtención de resultados precisos (fig. 13).



**Fig. 14** Muestra adecuada

La correcta aplicación de los procedimientos de toma de muestra asegura la obtención de resultados confiables en los métodos de laboratorio, (la finalidad es reducir el número de muestras rechazadas por mala calidad) <sup>19</sup>.

**Fuente fotográfica: LESP área Tamiz Neonatal.**



## 19. BIBLIOGRAFÍA

1. Andreina Cttani., María Loreto Reyes., Marta Azócar., Julia Soto., Eliana Romeo., Ligia Valdivia., et al. Medición de 17- OH progesterona sanguínea en recién nacidos chilenos: Antecedentes para implementar un programa de detección neonata de hiperplasia suprarrenal congénita. Rev. Méd. Chile v. 128 n.10 Santiago oct.2000.
2. Velázquez A et al. Tamiz neonatal para hipotiroidismo congénito y fenilcetonuria. Sal Pub Mex. 249-256.
3. Patricia A. Donohoue, Merrily Poth and Phyllis W. Speiser. J. Clin. Endocrinology Metabolism, The Endocrine Society.
4. Rafael Oliva, Franciaca Ballesta Josep, Oriola Joan Clària, Genética Médica 3ª edición Edicions Universitat Barcelona, 2003.
5. Alicia Yolanda Dorantes Cuéllar, Endocrinología Clínica 2ª edición. Editorial El Manual Moderno.
6. .Dámaso-Ortiz Bet al. Examen de tamiz neonatal para el diagnostico de hipotiroidismo congénito
7. Banta SA et al. Tandem mass spectrometry in newborn screening: A primer for neonatal and perinatal nurses J Perinat Neonat Nurs 2004; 18 (1): 41-59.
8. B. Moreno Estaban, M. A. Gargallo Fernández. Diagnostico y Tratamiento en Endocrinología, Ediciones Días de Santos.
9. Laboratorio Estatal de Salud Pública (LESP), Departamento de Tamiz Neonatal.



10. Secretaria de salud 2010. Tamiz Neonatal. Detección, Diagnostico , Tratamiento y Seguimiento de los Errores Innatos del Metabolismo. Lineamiento Técnico. Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva
11. María del Rosario Torres-Sepúlveda, QCB, Laura E Martínez-de Villareal, MC, Carmen, MC, Rogerio Gonzalez-Alanis, Consuelo Ruiz Herrera, QCB, Alejandra Sánchez-Peña, Lic. En Nutr, José Alberto Mendoza-Cruz, MC, Jesús Z Villareal-Pérez, MC Tamiz Metabólico Neonatal por Espectrometría de Masas en Tándem: dos años de experiencia en Nuevo León México. Salud Pública Mex 2008; 50:200.206
12. Antonio Velázquez, Marcela Vela-Amieva, Edwin W Naylor, Donald H Chace, Revista Mexicana de Pediatría Volumen 67, numero 5. Resultados de tamiz neonatal ampliado como nueva estrategia para la prevención de los defectos del nacimiento.
13. Anastasi Anne, Urbina Susana, Test psicológicos. Pearson Educación. 7ª edición.
14. Coto Rodeiro Remigio., Varona Sánchez Joel A., Borrego López Julio A., Formoso Martin Luis Ernesto. Resultados de la pesquisa de hiperplasia adrenal congénita en recién nacidos. Aprobado 10 de febrero de 2011. La Habana, Cuba.
15. Ochetti M, Sobrero G, Silvano L, Nieva V, Dipoi M, Tkalenko N, Signorino M, Martín S, Testa G, Muñoz L, Miras M. Pesquisa Neonatal de Hiperplasia Adrenal Congénita: Niveles de Corte de 17 OH-Progesterona en una Población de Córdoba Argentina. Hospital de Niños de la Santísima Trinidad. Córdoba.
16. Philip K. MD, Duncan, Enfermedades del Metabolismo Tomo I. Genética y Metabolismo, Salvat Editores, S.A.



17. Gorndon B. Avery Mary Ann Flechter. Neonatología Fisiopatología y Manejo del Recién Nacido Ed. Medica Panamericana.
18. Dr. William Jubiz, Endocrinología clínica, Editorial el Manual Moderno
19. Marta colombo C., Verónica cornejo E., Erna Raiman B. Errores Innatos en el Metabolismo, Editorial Universitaria 2003.
20. Gebara Enrique., A. Fernández Mariel., Rojas Enrique., Amin Armando., R. Lopez Maria. Hiperplasia Suprarrenal Congénita perdedora de sal en varones durante el periodo neonatal. ¿Es posible adelantarse a la emergencia metabólica? Arch Argent Pediatr 2009;107(4):369-373/369.
21. Orth, D.N., et al., Williams textbook of endocrinology, (S.D. Wilson and D.W. Foster eds.), Philadelphia: Saunders, 1992.
22. Millares García Jose M., De Leiva Hidalgo Alberto. Enfermedades del Sistema Endócrino y de la Nutrición. Ediciones Universidad Salamanca. 2001.
23. L. Soriano Guillén, M. Velázquez de Cuéllar Paracchi Hiperplasia suprarrenal congénita Unidad de Endocrinología Infantil. Servicio de Pediatría. Fundación Jiménez Díaz. Madrid
24. Maldonado., Jiménez. Biología Molecular en Medicina, Colección Textos Politécnicos.
25. Beatriz Gal Iglesias, Meritxell López Ana, Bases de la fisiología 2ª edición, Editorial Tébar.
26. Fernando Flores Lozano, Endocrinología, 5º edición, Méndez Editoriales
27. Jara Albarran Antonio, Endocrinología, Editorial el Médica Panamericana.



28. Toublanc JE. Comparison of epidemiological data on congenital hypothyroidism in Europe with those of other parts in the worl. Horm res. 1992:38 (5-6): 230-5
29. HAYES DORADO, Juan Pablo, EID DE POMMIER, Martha y MONTERO JUSTINIANO, Walter. Hiperplasia suprarrenal congénita por déficit de 21 hidroxilasa. Rev. bol. ped., jun. 2005, vol.44, no.2, p.93-96. ISSN 1024-0675.
30. X. Fuentes Arderiu. Bioquímica Clínica y Patología Molecular Volumen II, Segunda edición, editorial reverté S. A.
31. Carballo Martínez Fabiola, Cuantificación de la Hormona Estimulante de la Tiroides en Recién Nacidos por Inmunofluorometría en el Estado de Michoacán, Tesis Profesional.
32. Revista chilena de pediatría. Versión impresa ISSN 0370-4106 Rev. Chil. Pediatr. v.72 n.5 Santiago set. 2001.
33. Ceriani Cernadas, Neonatología Practica, 4ª edición, Editorial Panamericana.
34. Hernán Vélez A., William Rojas M. Jaime Borrero R. Jorge Restrepo M. †, Endocrinología. 6ª edición Corporación para Investigaciones Biológicas.
35. Beatriz Cedillo Carballo, Robert A. Estrada Gómez, Vanessa Jonguitud Díaz, Israel Parra Ortega, Revista medica mexicana. Factores que afectan algunas de las pruebas de tamiz neonatal.



36. W. Harry Hannon, Ph.D., Ronald J. Whitley, PhD., Brad David, Paul Ferhoff, MD, FAAP, FACMG, Tuija Halonen, MSc, Marcia Lavochkin, RN, BSN, Julie Miller, BS, Jelili Ojodu, MPH, Bradford L. Therrell, Jr., Ph.D. Instituto de Estandarización de Clínicos y Laboratorios (CLSI). Colección de sangre en papel filtro para programas de tamiz neonatal-Quinta edición. Documento CLSI LA4-A5 (ISBN 1.56238.644.1). Instituto de estandarización de Laboratorios y clínicos 940 West Valley Road, Suite 1400 Wayne, Pennsylvania 19807-1988 USA, 2007.
37. Gil Hernández Ángel, Tratado de nutrición clínica Tomo IV. Editorial Panamericana.
38. Richar E. Behrman, MD, Robert M. Kliegman, Hal B. Jenson, Nelson Tratado de Pediatría Volumen II, 16a edición, Mc Graw Will Interamericana
39. Toublanc JE. Comparison of epidemiological data on congenital hypothyroidism in Europe with those of other parts in the worl. Horm res. 1992:38 (5-6): 230-5
40. Todd Sanford. Diagnostico clínico por el laboratorio. Editorial Salvat.
41. Insertos de la guía metodológica Anilabsystem, Vantaa, Finlandia