

ANALISIS DE DATOS DE UN GRUPO DE PACIENTES PARA:
ESTABLECER VALORES DE REFERENCIA PARA TSH Y T4
Y COMPARACION DE DOS MÉTODOS PARA PKU

Autores: Manzanel, H.N.; Pérez, J. L.; Castro, J.A.;
Duven A.L.; Palacios, C.N.
Establecimiento Asistencial "Dr. Lucio Molas" Santa Rosa, La Pampa,
República Argentina
Año 2001

INTRODUCCION:

La pesquisa de enfermedades congénitas que se transmiten en forma autosómica recesiva, entre ellas el hipotiroidismo congénito primario y la fenilcetonuria, producen en los recién nacidos, si no son detectadas a tiempo y tratadas en breve, un daño irreversible en el sistema nervioso, afectando tanto a la familia como a la sociedad. Ambas deben entonces cuidar en forma especial a este niño que, con un tratamiento adecuado evitaría este grave problema.

En nuestro país, en todas las maternidades e instituciones donde se produzcan nacimientos es obligatorio la realización de una prueba de rastreo para la detección precoz de hipotiroidismo congénito primario y la fenilcetonuria y posterior tratamiento si son detectada. Esto, es establecido por ley nacional número 24438 (enero 1995) y la Provincia de La Pampa adhiere a esta sancionando la ley 1637 de junio de 1995.

El diagnóstico de la mayoría de las enfermedades endócrinas juveniles requieren un muy atento pediatra un pequeño consultorio y un gran laboratorio⁽⁹⁾. El diagnóstico de certeza se basa en el dosaje hormonal que confirma o no la orientación clínica. Es muy importante conocer la fisiología tiroidea y las variaciones "fisiológicas" que se reflejan en los dosajes hormonales en los distintos momentos de la vida. Esto evitaría diagnósticos equivocados, subdiagnósticos o sobrediagnósticos innecesarios que afectan al paciente y a su familia⁽⁹⁾.

La fenilcetonuria es una patología que se transmite en forma autosómica recesiva que si no es detectada y tratada en un tiempo precoz ocasiona un daño neurológico al paciente conocido como oligofrenia-fenilpiruvica.

PALABRAS CLAVES

TSH: tirotrófina

T4: tiroxina

SUMA: test comercial ultra microanalítico para la cuantificación de fenilalanina

SIGMA: test comercial para determinar fenilalanina por la técnica de inhibición bacteriana

PERCENTILO: puntos estimativos de una distribución de frecuencias que ubican un porcentaje dado de individuos por debajo o por encima de ellos.

PKU: fenilcetonuria

OBJETIVOS:

- ◆ Presentar los datos de pacientes recién nacidos a los que se les realizaron las prácticas correspondientes para la detección de hipotiroidismo congénito y fenilcetonuria durante 8 meses (octubre 2000 a mayo 2001)
- ◆ Tratar de establecer un valor de corte para T4y TSH en los diferentes días de vida de los recién nacidos hasta la primer semana
- ◆ Comparar los resultados en la detección de PKU utilizando las técnicas de UMTEST PKU (sistema ultra micro analítico) y Guthrie (test de inhibición bacteriana).

MATERIALES Y METODOS

Se trabajó con 726 pacientes recién nacidos en el Establecimiento Asistencial “Dr. Lucio Molas” de Santa Rosa, La Pampa, desde el primero de octubre de 2000 al 31 de mayo de 2001, representando aproximadamente el 80% de los nacimientos anuales. Se tomó esta selección porque a partir de esa fecha se comenzó a utilizar para la determinación de hormonas un equipo Elecsys 2010,

de electroquimioluminiscencia, y para la determinación de fenilalanina se trabajó con dos métodos: durante los meses de octubre a febrero se utilizó Guthrie o inhibición del crecimiento bacteriano-(SIGMA); desde marzo a mayo se usó UMTEST PKU (método espectrofluorométrico), comparándose ambos en el periodo Diciembre/Enero.

La muestra, que se utilizó para determinar TSH y T4 fue suero o plasma de los pacientes, obtenida por punción venosa.

En el test Elecsys TSH (ECLIA) se emplea un anticuerpo monoclonal específico de la TSH humana con anticuerpo de captura y un anticuerpo marcado con quelato de rutenio en forma de anticuerpo quimérico (ratón – hombre) para evitar interferencias producidas por anticuerpos humano anti-ratón (HAMA). El principio del test es una técnica sándwich con una duración total de 18 min. e incubación con micropartículas recubierta por estreptavidina; en la célula de lectura se fijan a la superficie del electrodo, se eliminan los elementos no fijados; al aplicar una corriente eléctrica definida, se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador y los resultados se obtienen a partir de una curva de calibración con dos puntos y una curva master incluida en el código de barra del reactivo. El test no se ve afectado por: ictericia, hemólisis, lipemia. El intervalo de medición es de 0,005 a 100,0 uU/ml. Los valores de referencia para adultos son de 0,27 a 4,2 uU/ml que equivalen a los percentilos 2,5 y 97,5 de voluntarios de ambos sexos.

En el caso de la determinación de T4 (Tiroxina) en suero, el test Elecsys T4 se basa en un principio de test competitivo empleando un anticuerpo dirigido específicamente contra la T4. La T4 endógena liberada por ácido 8-anilino-1 – naftalensulfónico (ANS) reacciona con los derivados T4 biotinilados añadidos de manera exógena para ocupar los puntos de fijación de los anticuerpos marcados con quelato de rutenio. El test no se ve afectado por ictericia, hemólisis lipemia biotina. El intervalo de medición es de 0,42 a 24,86 ug/dl gracias a esto las muestras no requieren ninguna dilución. El intervalo de referencia para adultos eutiroideos y que corresponde a los percentilos 2,5 a 97,5 es de 4,8 a 14,4 ug/dl.

Para la determinación cuantitativa de fenilalanina se utilizó una porción de 5 mm de diámetro, de una gota de sangre seca sobre papel de filtro S&S 903 y el

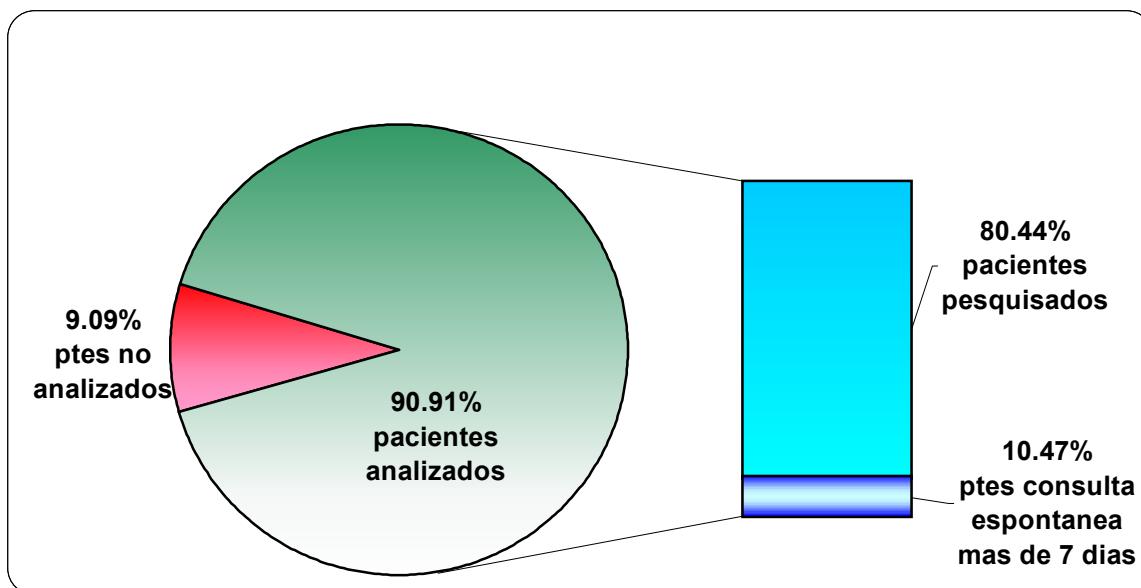
método es un ultramicroensayo fluorescente UMTEST PKU (SUMA), que se basa en la reacción de la fenilalanina presente en la muestra con la ninhidrina, en condiciones óptimas de pH y temperatura, formando un complejo poco fluorescente. Con la adición de iones cobre, se produce la amplificación de la fluorescencia, aumentando su intensidad por la previa adición de L-leucil-L-alanina a la mezcla de reacción. La intensidad de la fluorescencia emitida es proporcional a la concentración de fenilalanina en la mezcla. El valor máximo aceptado es de 4 mg% y todo aquellas muestras que lo superaron fueron repetidas para confirmar el resultado. Para el método de Guthrie, inhibición del crecimiento bacteriano, se utilizó el equipo comercial de Sigma Diagnostics y las tarjetas provista para tal fin donde también se tomó una porción de 6 mm de diámetro de una gota de sangre seca y se comparó el desarrollo del crecimiento bacteriano alrededor de la muestra con los observados en los discos testigos correspondientes tomando como punto de corte en este laboratorio, el desarrollo que se observó en el disco testigo que tiene una concentración de 2 mg% de fenilalanina.

Las determinaciones de este laboratorio están sometidas a control de la siguiente manera: en todas las tandas de reacciones se ejecutan los controles indicados por el fabricante, controles con dos niveles, bajo y alto para las hormonas y para el caso de la fenilalanina en el test de SIGMA los controles correspondiente y para el test de SUMA un control de ensayo (CB). En forma mensual se realiza el control de calidad externo (CEMIC), cuyos valores de TSH, T4 y fenilalanina se encuadran dentro de los niveles esperados.

RESULTADOS:

De todos los pacientes nacidos (726) en el lapso mencionado, se logra que a 660 (90,91%) se les realicen las determinaciones establecidas. En los primeros 7 días de vida, únicamente 584 (80.44%) fueron pesquisados. El resto 76 (10.47%) se les hizo "a posteriori". La mayor cantidad de pacientes se concentró en la primer semana de vida y el pico de extracciones fue al tercer día. A 66 (9.09%) pacientes no se les realizó ningún tipo de análisis por no-concurrencia.

Gráfico 1: Total de pacientes nacidos en la maternidad del Hospital “Dr. Lucio Molas” en el periodo octubre de 2000 a mayo de 2001 a los cuales se les realizaron las practicas para screening de hipotiroidismo congénito primario y fenilcetonuria



Datos de nacimientos ocurridos en el periodo en estudio obtenido a través del sistema de red de informática del Hospital

Se tomaron los valores de TSH y T4 de 656 recién nacidos y sus repeticiones, algunas de ellas más de dos veces en un lapso variable. Los cuatro pacientes que faltan se les repiten las determinaciones después de los 7 días de vida por ser escasa muestra. Se observó el descenso del valor de TSH y se obtuvieron los datos expresados en la siguiente tabla para los primeros siete días de vida:

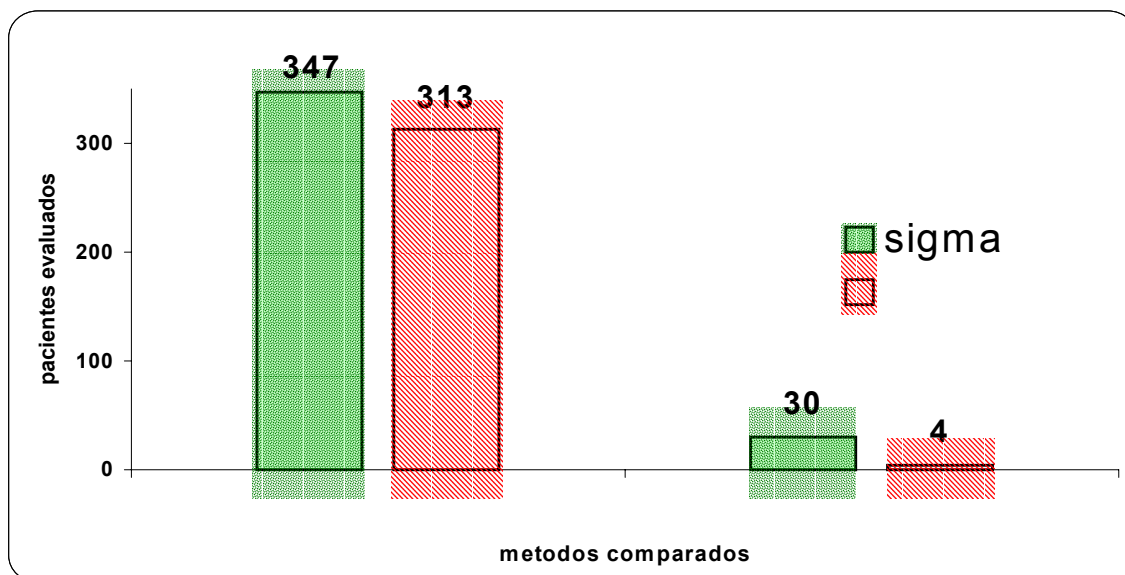
Tabla: Percentil obtenido para TSH y T4 de pacientes nacidos en la maternidad del Hospital “Dr. Lucio Molas”, hasta 7 días de vida, en el periodo octubre de 2000 a mayo de 2001.

Días de vida	Pacientes (n)	TSH (uUI/ml) percentil 97,5	TSH (uUI/ml) percentil 95	T4 (ug/dl) percentil 2.5	T4 (ug/dl) percentil 5
2	107	16.00	14.31	7.4	8.64
3	193	14.32	11.59	6.85	7.43
4	114	14.63	12.58	6.18	6.90
5	85	12.38	10.77	6.87	7.06
6	43	7.90	7.59	6.67	6.81
7	26	8.34	<u>7.75</u>	5.06	<u>6.96</u>

Establecido por consenso que hasta los siete días de vida la detección de estas patologías se considera pesquisa, se observa en la tabla los valores de TSH para los percentil 95 y 97,5; y para T4 los percentil expresados en 2,5 y 5.

Para la determinación de fenilalanina se utilizaron los métodos: ultramicroensayo fluorescente (SUMA) e inhibición bacteriana (SIGMA), surgiendo los siguientes resultados: de los 726 nacimientos son analizaron 660 pacientes por primera vez, de estos 347 (52,57%) se realizaron por SIGMA ; resultando con valor mayor que el establecido para el corte 30 pacientes, que debieron ser enviados para su confirmación a un centro de mayor complejidad. Por el método de SUMA fueron analizados 313 (47,43%) pacientes, 4 de ellos enviados para su confirmación al mismo centro. Posteriormente se recibieron los informes de todos los pacientes derivados, los valores de fenilalanina estuvieron comprendidos en el rango de referencia normal para ese laboratorio.

Gráfico 2: Pacientes recién nacidos en la maternidad del Hospital “Dr. Lucio Molas” analizados para pesquisar fenilcetonuria y comparar los resultados por dos métodos diferentes en el periodo octubre de 2000 a mayo de 2001



Durante los meses de Diciembre 2000 y Enero de 2001 se compararon ambos métodos con 92 pacientes, de donde surgió que en los procesados por SIGMA

9 de ellos estuvieron por encima del valor de corte y por el método de SUMA solamente 3 muestras fueron dudosas en la concentración final de fenilalanina.

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

- ◆ Los pacientes presentados en este lapso surgen por la implementación y cambio de metódica, tanto para detección de TSH y T4, como para determinar la concentración de fenilalanina. (PKU).
- ◆ Los niveles de corte en los percentilos 97,5 y 95 para TSH y 2,5 y 5 para T4 respectivamente, son para los pacientes recién nacidos y hasta los siete días de vida, ya que en ese lapso se considera pesquisa y como las repeticiones no se acordaron hacerlas en un día determinado para los valores supuestamente alterados de TSH, los pacientes concurren a la consulta correspondiente y se los citó para corroborar si el valor de la misma perduraba elevado o no.
- ◆ Comparando los métodos para la determinación de fenilalanina vimos que el test de inhibición de crecimiento bacteriano tiene un porcentaje mayor de falsos positivos que el fluorométrico, y por ende se adopta este último a partir de ahora para realizar la pesquisa de PKU en este centro.
- ◆ Se observa en el desarrollo del trabajo que al 9,09% de los pacientes no se les realizó las prácticas. Por esto debemos hacer hincapié en la campaña de concientización de las madres a fin de que a todos los recién nacidos se les practiquen estas determinaciones.
- ◆ En función del ingreso de nuevos pacientes al colectivo en referencia se harán las correcciones pertinentes, en caso necesario, en forma anual para el ajuste de estos percentilos.

DEDICATORIAS:

A nuestros familiares directos, esposas, esposos e hijos, a los cuales les robamos tiempo y dedicación.

AGRADECIMIENTOS:

A la Dra. Vivían Cimardi

A Rosa Krahn, nuestra administrativa

A Andrea Vazquez, programadora del sistema de computación del CE.SI.DA

Al personal del Laboratorio de Establecimiento Asistencial Dr. Lucio Molas

Al personal de bacteriología

A todos los que colaboraron desinteresadamente para realizar este trabajo

BIBLIOGRAFIA:

1. Nelson, Tratado de pediatría, 13^a edición, Richard E. Beharman, Victor C Vaughan, Interamericana. Mc Graw-Hill (1989)
2. Menegelo, Pediatría 4^a edición, J. Menegelo, E. Fanta, E. Paris, J. Rosselot, Editorial Mediterraneo, (1991)
3. Leonard Sinclair, Enfermedades metabólicas en la infancia. Leonar Sinclari, Editorial Espaxs (1981)
4. Gradwohl, Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico, 8^a edición Sonnenwirth, Jarett Editorial Panamericana (1983)
5. Kaplan-Pesce, Química Clínica, Técnicas del laboratorio, Fisiopatología métodos de análisis, teoría análisis y correlación Lawrence A Kaplan, Amadeo J. Pesce Editorial medica Panamericana (1986)
6. Pesce/Kaplan, Química clínica, Métodos, Amadeo J. Pesce, Lawrence A Kaplan, Edotiral Medica Panamericana (1990)
7. Diccionario Terminologico de Ciencias medica Editorial Salvat S.A. (1980)
8. Fundación de Endocrinología Infantil, (FEI) Trabajo sobre pesquisa neonatal de hipotiroidismo congénito (HC) experiencia y perspectiva.
9. Sonia Iorkanki; Tiroideopatias infanto-juveniles, Pronap 99 (1999)
10. Lejarraga Horacio; Que son los perceptivos? Revista del Hospital de Niños (1994)
11. Richard K. Riegelman, Robert P. Hirsch; Como estudiar un estudio y probar una prueba: lectura critica de la literatura medica. Richard k. Riegelman, Robert P. Hirsch. Organización panamericana de la salud, Publicación científica 531 Washington, DC, 20037, EUA, (1992)
12. R. Beaglehole; Epidemiologia Basica; Rbeaglehole, R Bonita, T Kjellstrom, Organización Panamericana de la Salud, Washington, D.C. (1994)

13. Nic Christofidess, Ph,D, Chris Sheehan, PhD; Chalengues in the measurement of free thyroide hormones. Ortho Clinical Diagnostics a Johnson&Johnson company Thyroid Infromation service.
14. Insertos de TSH, T4 de Roche Diagnostics
15. Inserto de SUMA, UMTEST-PKU
16. Inserto de SIGMA LABORATORY

DATOS CURRICULARES DE LOS AUTORES

Apellido: Manzanel

Nombre: Héctor Nicolás

Título: Licenciado en Bioquímica.

DNI: 12.282.889

Lugar de Trabajo: Laboratorio Central del Establecimiento Asistencial “Dr. Lucio Molas” de Santa Rosa. (L.P.) Jefe de Servicio. A cargo del sector hormonas

Dirección particular: Escalante 141 TE: 54–2954–430064

e-mail: manzanel@cpenet.com.ar

Localidad: Santa Rosa

Provincia: La Pampa

País: República Argentina

Apellido: Pérez

Nombre: Jorge Lino

Título: Licenciado en Bioquímica.

Lugar de Trabajo: Laboratorio Central del Establecimiento Asistencial “Dr. Lucio Molas” de Santa Rosa. (L.P.) A cargo del sector hematología y fenilalanina

DNI: 6.814.610

Dirección particular: Lorenzini 288 TE: 54-2954-437823

e-mail: lino@cpenet.com.ar

Localidad: Santa Rosa

Provincia: La Pampa

País: República Argentina

Apellido: Castro

Nombre: José Alberto

Título: Licenciado en Bioquímica

Lugar de Trabajo: Laboratorio Central del Establecimiento Asistencial “Dr. Lucio Molas” de Santa Rosa, (LP), Jefe de División, A cargo del sector marcadores tumorales y virales

L.E.: 7.870.808

Dirección particular: Victorica 1575 TE 54-2954-430269

e-mail: jcastro@cpenet.com.ar

Localidad: Santa Rosa

Provincia: La Pampa

País: República Argentina

Apellido: Doven

Nombre: Adriana Luján

Título: Técnica Superior de Laboratorio

Lugar de trabajo: Laboratorio Central del Establecimiento Asistencial “Dr. Lucio Molas “ de Santa Rosa. (L.P.) Sección hormonas.

DNI: 14.942.584

Dirección particular: Jorge Newbery 716 TE: 54-0954-436461

Localidad: Santa Rosa

Provincia: La Pampa

País: República Argentina

Apellido: Palacios

Nombre: Claudia Nora

Título: Técnica de Laboratorio

Lugar de Trabajo: Laboratorio Central del Establecimiento Asistencia “ Dr. Lucio Molas” de Santa Rosa (LP) Sección Hematología y Fenilalanina

D.N.I.: 12.762.445

Dirección particular: Córdoba 749

Localidad: Santa Rosa

Provincia: La Pampa

País: República Argentina

ANALISIS DE DATOS DE UN
GRUPO DE PACIENTES PARA:
ESTABLECER VALORES DE
REFERENCIA PARA TSH Y T4
Y COMPARACION DE DOS
MÉTODOS PARA PKU

Autores: Manzanel, H. N.; Pérez, J. L.; Castro, J. A.;

Duven, A. L; Palacios, C. N.

AÑO 2001