

Técnica de toma de sangre del cordón umbilical para tamiz neonatal

DRA. MARCELA VELA *, BIOL. BLANCA E. AGUIRRE *, DR. ALEJANDRO M. ZAMUDIO **, BIOL. SALVADOR GAMBOA *, DR. GUSTAVO VON SCHMELLING *, DR. ANGEL CATALÁN *, DR. GREGORIO PÉREZ PALACIOS *

INTRODUCCIÓN

El primer programa de tamiz neonatal fue creado por Guthrie en 1963¹. Desde entonces la muestra de sangre que se deposita en el papel filtro o "tarjeta de Guthrie" se ha obtenido mediante la punción del talón del neonato de dos o tres días de vida². Este método se sigue empleando en la mayoría de los países desarrollados cuyos sistemas de salud y educación y han motivado a los padres a llevar a sus hijos para realizar la prueba de tamiz en el tiempo adecuado, entre los tres y los siete días de vida³. En contraste, en países donde dicha prueba no es muy conocida por la población y los egresos de las maternidades son muy tempranos (antes de las 24 horas) se requieren otras estrategias para que todos los recién nacidos se sometieran al tamiz⁴.

La muestra por punción del talón después de 48 horas de vida, tiene enormes ventajas, especialmente para identificar errores innatos del metabolismo (EIM), tales como trastornos de los aminoácidos, ácidos orgánicos y ácidos grasos⁵. Sin embargo, en unidades médicas donde se puede "perder" al recién nacido por egreso temprano de la madre y debido a dificultades geográficas, económicas y culturales para regresar a la unidad médica una buena alternativa es la toma de la muestra por punción del cordón umbilical⁴.

Debemos señalar que las muestras obtenidas por punción del cordón umbilical sólo sirven para la detección oportuna de pocas enfermedades tales como

hipotiroidismo congénito, hiperplasia suprarrenal congénita, toxoplasmosis congénita y fibrosis quística, pero no son útiles para detectar otros padecimientos como los trastornos de los aminoácidos y de los ácidos orgánicos, ya que su diagnóstico correcto depende de la ingesta del neonato de leche materna o maternizada. Actualmente algunos países cuentan con técnicas analíticas muy especializadas (espectrometría de masas en tandem)⁶ que permiten detectar los EIM aún en muestras tomadas en forma muy temprana; sin embargo, a este tipo de tamiz sólo puede acceder un pequeño porcentaje de la población.

Para el hipotiroidismo congénito existe la ventaja de que como demuestran los estudios de Fisher^{7,8} se puede tomar la muestra en la primera media hora de vida del neonato, antes de que ocurra la secreción de tirotrópina (TSH) secundaria al estrés del parto, que alcanza su máximo nivel entre los 60 minutos y las 72 horas de vida. Independientemente de que la muestra sea de talón o de cordón, el manejo y su envío debe seguir los lineamientos que recomienda el Center for Disease Control and Prevention (CDC) de Atlanta, Georgia, EUA.⁹ entre los que destacan:

- 1º. La muestra de sangre debe depositarse en papel filtro Schleicher & Schuell 903TM (tarjeta de Guthrie) y debe dejarse secar cuando menos tres horas a temperatura ambiente, sin exponerla a cambios bruscos de temperatura.
- 2º. Cada muestra debe ir separada de la otra por papel bond de buena calidad; la ficha de identificación puede servir para este propósito.
- 3º. Una vez que las muestras estén secas, se forman paquetes que se envuelven en un papel grueso de buena calidad (papel Kraft) para que el envío sea más seguro y para evitar contaminación.

* Unidad de Genética de la Nutrición del Instituto Nacional de Pediatría, Dirección General de Salud Reproductiva. SSA

** Hospital General de Huixtla, Servicios de Salud del Estado de Chiapas

Correspondencia: Dra. Marcela Vela. Unidad de Genética. Instituto Nacional de Pediatría. Insurgentes Sur 3700 C. Col. Insurgentes Cuicuilco. México D.F. 04530

Recibido: Marzo, 2000. Aceptado: Agosto, 2000.

- 4°. Las muestras de sangre en papel filtro no deben ser empacadas en bolsas de plástico herméticas, puesto que eso favorece el aumento de temperatura y de humedad, lo que puede afectar los resultados analíticos.
- 5°. La presencia de agentes infecciosos en la sangre colectada en papel filtro suele considerarse rara e incidental. Si uno de los especímenes de sangre contiene el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), éste se destruirá si la muestra se seca adecuadamente antes de su envío. El virus de la hepatitis "B" puede sobrevivir por más tiempo en la sangre seca, pero no es transmisible en esta forma. Para que una persona se infecte con alguno de estos virus se requiere una rara combinación de circunstancias, por ejemplo: la sangre tiene que contener cantidades elevadas de virus viables; el virus debe haber sobrevivido a la desecación; algún líquido debe penetrar el sobre y mojar las muestras; la muestra húmeda y contaminada debe entrar directamente al torrente sanguíneo de la persona que manipula el papel filtro a través de una herida abierta Todas estas eventualidades pueden evitarse con un manejo y envoltura adecuadas de las muestras ¹⁰.

DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

A. Material necesario

Tarjeta de papel filtro, ficha de identificación, dos pinzas fuertes, una jeringa de 1, 3 o 5 mL con aguja # 21.

B. Características del papel filtro para el tamiz neonatal (tarjeta de Guthrie)

Durante más de tres décadas, el papel filtro Schleicher & Schuell 903TM utilizado para recolectar las muestras de sangre en casi todos los países es el ideal para el tamiz neonatal; algunas de las características y ventajas de este papel son que está manufacturado con 100% de algodón y especialmente diseñado para la absorción uniforme de la sangre (con una media de 1.24 µL de absorción de sangre total en un círculo de 3 mm). Cuando la sangre se ha depositado y secado en el papel, la mayoría de los metabolitos de la muestra

se estabilizan y pueden transportarse por correo, para su análisis.

C. Técnica (Figs. 1, 2)

1. Pinzar el cordón umbilical, con dos pinzas fuertes, una cerca de la madre y otra cerca del niño (1a).
2. Se corta el cordón umbilical entre las pinzas, procurando hacer el corte cerca de la pinza de la madre, de manera que quede la parte más larga del cordón con el recién nacido; se lleva al niño a la cuna térmica donde se iniciarán los cuidados de rutina (1b).
3. Estando el niño en la cuna térmica, se forma una asa con el cordón umbilical, rotando su cabo terminal a una distancia de 10 cm y se cierra el asa con la misma pinza (1c).
4. Se realiza la ligadura del cordón en forma tradicional con cinta de algodón o con pinza desechable ("clamp" umbilical) y se corta el asa, separándola del recién nacido (1d).
5. Se hace punción venosa del asa y se extraen con la jeringa de 0.5 a 1 mL de sangre (1e).
6. Una vez extraída la sangre, se retira la aguja de la jeringa (1f) y se pone una gota de sangre, que se absorbe en cada uno de los círculos impresos en el papel filtro (1g).
7. Las gotas de sangre deben impregnar hasta la cara posterior de la tarjeta de papel filtro (1h).
8. Se deja secar la tarjeta por tres horas a temperatura ambiente (Fig. 2).
9. Se llena la ficha de identificación del paciente.
10. Se envía al laboratorio para la cuantificación de TSH.

D. Evaluación de las muestras.

1. *Muestras bien tomadas.*
Una muestra bien tomada es en la que las gotas de sangre llenan por completo los círculos marcados en el papel filtro, tanto por el derecho como por el revés (Fig. 1h).
2. *Muestras mal tomadas* (Fig. 3).
 - a) En ocasiones las muestras pueden estar **sobresaturadas**, cuando la gota de sangre invade al círculo vecino (3a) o cuando se depositan varias gotas de sangre sobre un mismo círculo (3b). b) Las muestras pueden ser **insuficientes** por dos



Fig. 1a



Fig. 1d



Fig. 1b

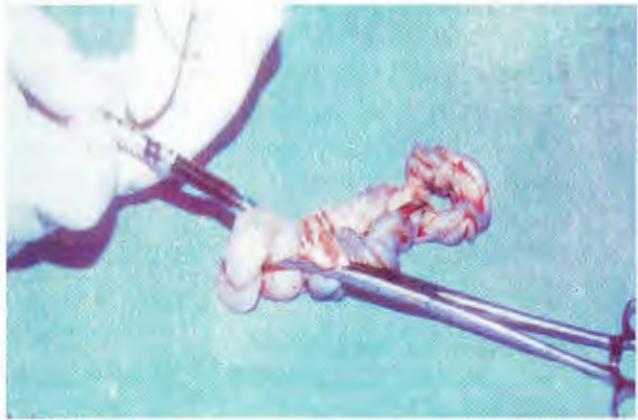


Fig. 1e



Fig. 1c



Fig. 1f



Fig. 1g



Fig. 2



Fig. 1h

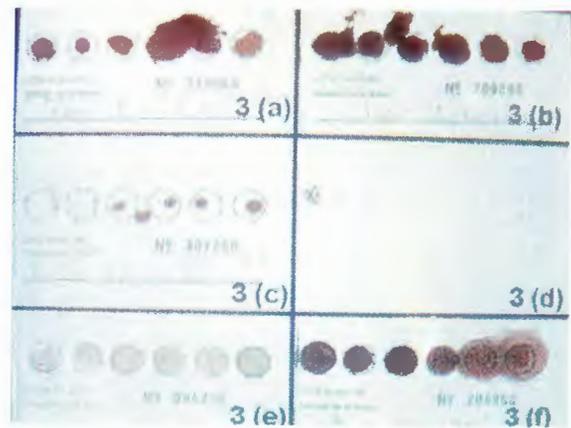


Fig. 3

causas: la gota de sangre es muy pequeña (3c) o la gota de sangre no impregna la parte posterior de la tarjeta de papel filtro (3d). c) Algunas veces las muestras están **diluidas** y descoloridas (3e), especialmente cuando el tiempo transcurrido entre la formación del asa del cordón umbilical y la extracción de la sangre para el depósito en el papel es mayor de 15 minutos; esto propicia la coagulación de la sangre del cordón umbilical y lo que se deposita en el filtro será solamente suero.

3. *Muestra contaminada*

En ocasiones la tarjeta de papel filtro con la muestra de sangre se contamina con otros líquidos o con microorganismos (3f).

CONCLUSIÓN

La incorporación de la toma de muestra sanguínea para tamiz neonatal mediante la punción del cordón umbilical ha significado un avance importante en la cobertura de recién nacidos tamizados en México, especialmente en lugares con alto número de egresos tempranos del binomio madre-hijo. Esta técnica en la que se forma una asa con una sola pinza, permite tomar la muestra para el tamiz neonatal sin necesidad de material quirúrgico extra como el que se destina ordinariamente para atención de un parto en unidades médicas de la Secretaría de Salud. Otra ventaja de esta técnica es que en ningún momento se invade al recién nacido y

se evita así cualquier contaminación que pudiese significar algún riesgo para el mismo.

Aun cuando en la actualidad el número de enfermedades que se pueden diagnosticar por el análisis de los metabolitos en las muestras de sangre del cordón umbilical es limitado, los nuevos avances indican que el futuro del tamiz neonatal será el análisis directo del DNA¹², que se podrá realizar a partir de muestras depositadas en papel filtro con técnicas similares a la descrita.

Agradecimiento: Agradecemos al Dr. Carlos Vargas García, Director General del Centro de Investigación Materno Infantil CIMIGen, las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics* 1963;32:338-43
- Therrell BL. Laboratory methods for neonatal screening. Washington: American Public Health Association 1993;p264
- Dussault JH. The impact of systematic screening for congenital hypothyroidism. In Farrioux JP, Dhondt JL Eds. *New Horizons in Neonatal Screening*. Elsevier Science BV Amsterdam 1994;pp123-9
- Vela M, Gamboa S, Loera-Luna A, Aguirre BE, Pérez-Palacios G, Velázquez A. Neonatal screening for congenital hypothyroidism in México: experience, obstacles, and strategies. *J Med Screening* 1999;2:77-9
- Velázquez A. El nuevo tamiz neonatal; una revolución en la pediatría preventiva. *Bol Med Hosp. Infant Mex* 1998;55:313-5
- Naylor EW. Recent developments in neonatal screening. *Semin Perinatol* 1985;232-49
- Fisher DA, Klein AH. Thyroid development and disorders of thyroid function in the newborn. *N Engl J Med* 1981;304:702
- Fisher DA. Estados eutiroides de tiroxina (T4) y triyodotironina (T3) bajas en prematuros y neonatos enfermos. En Mahoney CP Ed. *Endocrinología Pediátrica y de Adolescentes*. Interamericana McGraw-Hill Clin Ped Norte Am 1990;6:1357-72
- Knudsen RC, Slasky WE, Richmond JY, Hannon WH. Guidelines for the shipment of dried blood spot specimens. *Safety & Health Monograph U.S. Department of Health & Human Services Center for Disease Control and Prevention Atlanta, GA* 1993
- Federal Register. 42 CFR part 72. Interstate shipment of etiologic agents. 1980;45:48626-7
- American Academy of Pediatrics. Newborn screening for congenital hypothyroidism recommended guidelines. *Pediatrics* 1993;91:1203-9
- Dobrowolski SF, Banas RA, Naylor EW, Powdrill T, Thakkar D. DNA microarray technology for neonatal screening. *Acta Paediatr* 1999;88suppl 432:61-4