

**MANUAL OPERATIVO**  
**PARA LA EJECUCIÓN DEL PROGRAMA NACIONAL**  
**DE**  
**PESQUISA NEONATAL**

## INDICE

	Pagina
<b>I.- Introducción</b>	4
I.1.-Objetivo General	
I.2.-Objetivos específicos	
<b>II.- Definiciones</b>	6
II.1.-Comisión Nacional de Pesquisa Neonatal	
II.2.-Laboratorio de Pesquisa Neonatal	
II.3.-Laboratorio de Referencia Nacional	
II.4.-Red de Pesquisa Neonatal	
<b>III.- Diseño de las Normas Generales del Programa</b>	7
III.1.-Marco Legal	
III.2.-Estructuración del Programa de Pesquisa Neonatal	
III.2.a.-Condiciones para la creación de un laboratorio de Pesquisa Neonatal	8
III.2.a.1.-Procesos Pre-analíticos	
III.2.a.2.-Procesos Analíticos	
III.2.b.-Procedimiento de Pesquisa Neonatal	8
III.2.b.1.-Toma de la muestra	
III.2.b.2.-Procedimiento de toma de la muestra	9
III.2.b.2.1.- Preparación de las condiciones	
III.2.b.2.2.- Localización del sitio de punción	10
III.2.b.2.3.- Punción del talón	
III.2.b.2.4.- Recolección de la sangre en el papel de filtro	
III.2.b.3.-Puntos importantes a considerar con el papel de filtro	11
III.2.b.3.1.- Muestra satisfactoria	
III.2.b.3.2.- Muestra parcialmente satisfactoria	13
III.2.b.3.3.- Muestra insatisfactoria	
III.2.b.4.-Responsable del Procedimiento de Pesquisa en el Centro Asistencial	13
III.2.b.5.-Envío de la muestra al laboratorio de Pesquisa Neonatal	14
III.2.b.6.-Identificación y registro de la muestra	
III.2.b.7.-Conducta a seguir con muestras rechazadas	

	Pagina
III.2.b.8.-Procesamiento de la muestra	16
III.2.b.8.1.-Punto de corte	17
III.2.b.9.-Causas de error en los resultados de la Pesquisa	18
III.2.b.10.-Información de resultados dudosos o sospechosos	19
III.2.b.11.-Descarte o confirmación de la sospecha diagnóstica	19
III.2.b.11.1.- Hipotiroidismo Congénito	
III.2.b.11.2.- Fenilcetonuria Clásica.	
<b>IV.- Distribución geográfica de los Laboratorios de Pesquisa Neonatal</b>	<b>20</b>
Distribución de Laboratorios de Salud Pública.	21
Flujogramas de Toma de Muestra.	22
Flujogramas de Pesquisa de Hipertiroidismo Congénito.	23
Flujogramas de Pesquisa de Fenilcetonuria Clásica.	24

## **I.- INTRODUCCION**

Los programas de Pesquisa Neonatal son programas de salud pública esencialmente preventivos, que permiten detectar precozmente e identificar inequívocamente una patología que puede llevar potencialmente a un problema de salud catastrófico, como es el retardo mental.

En su inicio, que tuvo lugar en 1961, estos programas estuvieron dirigidos a identificar los niños con Fenilcetonuria Clásica (PKU), a tiempo para instituir una dieta baja en fenilalanina y así prevenir los efectos devastadores de la enfermedad no tratada. Ya para 1972 habían sido desarrolladas distintas pruebas que podían ser aplicadas a una misma muestra seca de sangre impregnada en papel, para detectar un mayor número de enfermedades congénitas. Desde entonces la evidencia acumulada no deja duda alguna sobre la eficacia del tratamiento temprano para algunas de ellas, como sucede con el Hipotiroidismo Congénito (HC), la PKU y las galactosemias.

Ante el éxito que tuvieron estos programas en los países con mayor desarrollo social, varios países latinoamericanos han instaurado con carácter de obligatoriedad la Pesquisa Neonatal de PKU e HC, alcanzando en corto tiempo una amplia cobertura nacional, como es el caso de Cuba, Chile, Uruguay, México y Costa Rica. En tanto que en Brasil, Argentina, Venezuela, Bolivia y Colombia, la Pesquisa Neonatal cubre un ámbito más reducido al nivel local o regional, lo cual determina que el efecto preventivo alcance apenas a una fracción del total de los casos realmente presentes en la población.

La evidencia actualmente disponible en Venezuela tanto sobre los efectos devastadores del Hipotiroidismo Congénito y la Fenilcetonuria Clásica, en el caso de la enfermedad no tratada, como sobre los beneficios de la aplicación temprana del tratamiento en los casos que han sido detectados por Pesquisa Neonatal a tiempo para aplicar el tratamiento específico y prevenirlas, hace urgente y necesario el establecer la Pesquisa Neonatal de estas dos enfermedades como práctica obligatoria de rutina, con carácter gratuito, para todos los recién nacidos de la población.

### **I.1 OBJETIVO GENERAL**

Establecer un programa que permita a través del tamizaje de todos los recién nacidos, prevenir los efectos devastadores del Hipotiroidismo Congénito, de la Fenilcetonuria Clásica y otros Errores Innatos del Metabolismo sobre el desarrollo normal del niño, en Venezuela.

### **I.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Reactivar a la Comisión Nacional para la detección del Hipotiroidismo Congénito e incluir a la Fenilcetonuria Clásica.
2. Promover el establecimiento mediante Resolución Ministerial de la obligatoriedad y gratuidad de la Pesquisa Neonatal del Hipotiroidismo Congénito y la Fenilcetonuria Clásica, como práctica de rutina dentro de la atención integrada de salud para todos los recién nacidos de la población, como parte de las actividades preventivas del Ministerio de Salud y Desarrollo Social.

3. Establecer normas y pautas nacionales de orden técnico sobre la estructuración y funcionamiento de la red de Pesquisa Neonatal.
4. Informar, educar y capacitar el recurso humano requerido para establecer e insertar un Laboratorio de Pesquisa Neonatal, en cada uno de los Laboratorios de Salud Pública seleccionados al efecto para integrar la Red.
5. Desarrollar y mantener Centros de Estudios de Errores Innatos del Metabolismo y Pesquisa Neonatal, como laboratorios de referencia y coordinar la red de Laboratorios de Pesquisa Neonatal, subsidiaria de la Red de Diagnóstico en Apoyo a la Salud Pública.
6. Establecer un banco de alimentos y productos especiales, para el tratamiento específico oportuno de los casos detectados y confirmados positivos, que asegure la disponibilidad de los mismos en el país.
7. Contribuir a establecer la obligatoriedad de referir los casos detectados y confirmados positivos a los Centros de Desarrollo Infantil (CDI), dependientes del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, que se encuentren vinculados a la red de Pesquisa Neonatal, para asegurar la atención integral temprana, el tratamiento, control y seguimiento de los mismos.
8. Promover la provisión y asignación de recursos presupuestarios por parte del Ejecutivo Nacional para la instalación, dotación y funcionamiento ininterrumpido de la red de Pesquisa Neonatal.
9. Asegurar una cobertura de Pesquisa Neonatal superior al 90%.
10. Establecer un sistema sólido de información que permita realizar seguimiento, evaluación y control de las actividades generadas en el programa y determinar potenciales factores de riesgos en la población.
11. Asegurar un adecuado sistema de control de calidad en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de los casos.

La meta de la Pesquisa Neonatal es hacer el diagnóstico específico de una enfermedad congénita asintomática durante el período neonatal, con el propósito de brindarle atención integral temprana al paciente, para evitar sus efectos sobre el desarrollo normal del niño. La Pesquisa Neonatal revela a menudo que la frecuencia de la enfermedad es mayor de lo que se conocía, y permite descubrir formas leves o variantes de la enfermedad. Los efectos benéficos de la detección y atención integral temprana, se traducen en una relación costo/beneficio altamente favorable a la prevención, ya a que el tratamiento garantiza un desarrollo completamente normal.

## **II.- DEFINICIONES**

Para los fines propios del presente Manual Operativo, se han adoptado y utilizado las siguientes definiciones:

### **II.1 COMISIÓN NACIONAL PARA LA DETECCIÓN DE HIPOTIROIDISMO CONGÉNITO Y FENILCETONURIA CLÁSICA**

Es un sólido equipo técnico administrativo, con amplios conocimientos de gestión, capaz de establecer una óptima efectividad, eficiencia y eficacia, que favorezcan la calidad, organización y desarrollo de la Pesquisa Neonatal como componente obligatorio de la integración de salud. Está constituido por profesionales expertos en programas de salud pública y de detección neonatal, tanto en el área técnica, como administrativa. Su principal función es estudiar y proponer pautas de orden técnico sobre la Pesquisa Neonatal, que permitan su adecuado funcionamiento, distribución de los recursos y colaborar a su vez en las materias que le sean consultadas.

### **II.2 LABORATORIO DE PESQUISA NEONATAL**

Es el establecimiento público con suficiente grado de complejidad que le permite realizar la búsqueda masiva de enfermedades congénitas tratables de interés público, en apoyo a la prevención de sus efectos devastadores entre los cuales se encuentra el retardo mental irreversible, a través de la detección precoz.

### **II.3 LABORATORIO DE REFERENCIA NACIONAL**

El Laboratorio de Referencia Nacional es aquel que vinculado directamente al Instituto Nacional de Higiene, cuente con mayor capacidad científica tecnológica de experticia que le permita coordinar, supervisar, evaluar y servir como control de calidad externo a la Red de Laboratorios de Pesquisa Neonatal. En su origen le corresponderá al laboratorio del Instituto de Estudios Avanzados esta función y en la medida que el proceso de Pesquisa Neonatal se desarrolle se implementarán y desarrollaran nuevos Laboratorios de Referencia Nacional.

### **II.4 RED DE PESQUISA NEONATAL**

El conjunto de Laboratorios de Pesquisa Neonatal, jerarquizados de acuerdo a su capacidad resolutive, constituyen la Red de Pesquisa Neonatal la cual estará conectada mediante un subsistema técnico especializado integrado a la Red de Diagnóstico en Apoyo a la Salud Pública.

Este subsistema técnico tiene su centro operativo en el Instituto Nacional de Higiene y sus funciones son:

- Coordinar la creación y funcionamiento de los Laboratorios de Pesquisa Neonatal.
- Informar, educar y capacitar el recurso humano para los Laboratorios de Pesquisa Neonatal.
- Evaluar los resultados y alcances de la Pesquisa Neonatal.
- Supervisar el adecuado funcionamiento de los laboratorios de Pesquisa Neonatal.
- Crear y mantener la base de datos de la información obtenida mediante el procedimiento de Pesquisa Neonatal.

### **III.- DISEÑO DE NORMAS GENERALES DEL PROGRAMA**

#### **III.1 MARCO LEGAL**

Se aprobó un Programa de Detección Precoz de Hipotiroidismo Congénito y Fenilcetonuria Clásica bajo la responsabilidad de la Dirección de Salud Poblacional del Ministerio de Salud y Desarrollo Social, el cual entró en vigencia en Enero del año 2000.

Existe una Comisión Nacional para la detección del Hipotiroidismo Congénito creada por resolución del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social publicada en la Gaceta Oficial N° 33.595 del 11 de noviembre de 1986. En la actualidad se requiere reactivar el funcionamiento de ésta Comisión e incluir a la Fenilcetonuria Clásica y otras enfermedades metabólicas dentro de sus objetivos de trabajo.

Por otra parte, se requiere de una Resolución Ministerial otorgándole carácter de obligatoriedad y gratuidad a la Pesquisa Neonatal del Hipotiroidismo Congénito y la Fenilcetonuria Clásica como práctica de rutina en la atención integral de salud.

#### **III.2 ESTRUCTURACIÓN DEL PROGRAMA DE PESQUISA NEONATAL**

La Coordinación del Programa de Pesquisa Neonatal a nivel Nacional es responsabilidad del Instituto Nacional de Higiene apoyado por la asesoría de la Comisión Nacional para la detección de Hipotiroidismo Congénito, la Fenilcetonuria Clásica y otras enfermedades metabólicas.

La creación de los Laboratorios de Salud Pública, cuyos objetivos son fundamentalmente el diagnóstico de enfermedades infecciosas, brindó la oportunidad de integrar a los Laboratorios de Pesquisa Neonatal a ese mismo sistema y desarrollar de forma paralela el proceso de Pesquisa Neonatal. Con éste objetivo el Ministerio de Salud y Desarrollo Social adquirió los equipos, reactivos e insumos para desarrollar las pruebas de selección masiva neonatal. Sin embargo es necesario que cada laboratorio cuente con características especiales para implementar su funcionamiento como Laboratorio de Pesquisa Neonatal.

### **III.2.a Características o condiciones requeridas para la creación de un laboratorio de pesquisa neonatal**

#### **III.2.a.1 Procesos pre-analíticos**

- Personal:
  - Coordinador Local del procedimiento.
  - 2 Bioanalistas para realizar las pruebas.
  - 1 Auxiliar de laboratorio.
  - 1 secretaria.
  - Capacitación del Personal.
- Diseño adecuado de gestión de muestras.
- Difusión de información a las instituciones de salud y a la población dentro de su área de influencia.
- Sistema informatizado de ingreso de datos demográfico, hospitales y laboratorio.
- Sistema de transmisión de información técnica y consultas a la Red.

#### **III.2.a.2 Procesos analíticos:**

- Realización de las Pruebas especiales y de referencia.
- Control de Calidad Externo.
- Confirmación o canalización de la confirmación de la sospecha diagnóstica.
- Sistema de ubicación y recuperación de neonatos con resultados alterados de las pruebas.
- Sistema de referencia de muestras de casos positivos, para confirmación externa y control de calidad.

### **III.2.b PROCEDIMIENTO DE PESQUISA NEONATAL**

#### **III.2.b.1 Toma de la muestra:**

Se practicará la toma de la muestra mediante punción de talón a todo niño recién nacido vivo al momento del egreso del centro asistencial. Esta muestra no debe tomarse antes de las 24 horas de vida post-natal y en ella se realizará la determinación de los niveles de concentración de la hormona estimulante de tiroides (TSH), para descarte de **Hipotiroidismo Congénito Primario (HC)** y el nivel de fenilalanina en sangre para la detección de la **Fenilcetonuria Clásica**.

En aquellos casos de pacientes que deban ser trasladados a otro centro debe tomarse la muestra en el centro Asistencial donde nació independientemente de la edad postnatal, los niños que deben permanecer hospitalizados en el centro deben ser analizados antes de cumplir los siete días de edad postnatal independientemente de su estado metabólico o nutricional.

No existe límite superior de edad para la exclusión del procedimiento de screening neonatal pero los objetivos de prevención de la minusvalía se alcanzan en un 100% cuando el tratamiento es suministrado de forma efectiva antes de los 10 días de edad post-natal, tanto para el Hipotiroidismo como para la Fenilcetonuria Clásica.

En aquellos casos de sospecha clínica de hipotiroidismo, deben solicitarse todas las pruebas de función tiroidea y no la pesquisa neonatal, puesto que se perdería tiempo en el inicio de la terapéutica. En el caso de sospecha clínica de Fenilcetonuria Clásica, debe solicitarse una cromatografía de aminoácidos en sangre en capa fina.

En caso de los niños prematuros con edad gestacional inferior a las 35 semanas, se tomará la muestra a los 7 días de vida extrauterina, y se deberá repetir al día 22 de vida para el descarte de Hipotiroidismo Congénito.

### Procedimiento de Vigilancia

El objetivo de la Pesquisa Neonatal es analizar a la totalidad de los recién nacidos, por esto es necesario implementar mecanismo de control se ha sugerido:

- Como práctica transitoria, en todo recién nacido ó lactante menor que sea objeto de vacunación de BCG o de evaluación en la primera consulta de salud, se debe constatar si ha sido sometido a las pruebas de pesquisa neonatal del HC y la PKU. Ya que de no ser así, se le deberán aplicar de inmediato, independientemente de su estado actual de salud.
- Incluir dentro del Interrogatorio de la Historia clínica la información referente a si fue o no practicado la toma de muestra para screening neonatal

### **III.2.b.2 Procedimiento de Toma de la Muestra**

#### **III.2.b.2.1 Preparación de las condiciones:**

Prepare todos los elementos que necesitan para la toma de la muestra: Lanceta estéril, Isopropanol al 70% o Metanol al 90% y algodón. Tarjeta de papel filtro, Recipientes para desechar el material corto-punzante.

La tarjeta de identificación de la muestra debe ser llenada, sin omitir información alguna antes de proceder a la toma de la muestra.

### **III.2.b.2.2 Localización del sitio de punción**

- Los sitios ideales y recomendados internacionalmente son las áreas laterales mediales de la superficie plantar del TALÓN del neonato.
- La punción del pie no debe ser realizada en sitios previamente punzados, áreas edematosas o inflamadas ni en el área central del arco del pie, porque puede afectar nervios, tendones o cartílagos.
- Utilizar algodón y alcohol (isopropanol 70% o metanol 90%) nunca usar alcohol yodado. Debe retirarse el exceso de alcohol con algodón seco y dejar que el pie termine de secarse al aire. Los residuos de alcohol pueden contaminar la muestra, causar hemólisis o dilución y alterar los resultados de la misma.

### **III.2.b.2.3 Punción del talón**

- Cargar al niño contra el pecho, como para sacarle gases, con las piernas libres y los pies desnudos Masajear el talón del niño con cariño, para calentar la piel.
- Frotar el talón con un algodón humedecido con alcohol antiséptico.
- Secar el talón con otro algodón sin alcohol.
- La punción debe hacerse con un solo movimiento continuo con lanceta estéril de 2 a 2.4 milímetros de profundidad para no lastimar el hueso del bebe.
- Eliminar la primera gota de sangre limpiando con un algodón, pues usualmente ésta contiene líquidos de los tejidos que invalidan la muestra.
- Deje que se forme una segunda gota de sangre grande presionando y soltando suavemente el sitio de punción. Nunca exprima esta área: ello puede producir hemólisis y contaminar la muestra con líquido intersticial.

### **III.2.b.2.4 Recolección de la sangre en el papel filtro**

- Esperar que se forme la gota grande de sangre y tocarla con el papel dejando que se impregne bien, para que lo traspase completamente.
- Si el flujo de sangre disminuye y los círculos no pueden llenarse, hay que repetir el procedimiento usando un sitio de punción diferente.
- Recoger el mayor numero (5,6) posible de gotas separadas. No coloque una gota sobre otra.
- El pie debe elevarse sobre el cuerpo y con un algodón seco debe presionarse el sitio de punción hasta que cese el sangrado. No se recomienda vendar la piel puncionada del recién nacido.
- Deseche y bote en lugar seguro la lanceta, no la use para otro niño.

- Deje secar la muestra al aire libre, lejos de la luz del sol o de cualquier fuente de calor.
- Guárdela en el sobre para su envío al Laboratorio de Pesquisa Neonatal.
- El responsable de la toma de muestras en cada centro de salud rural ó urbano es a la vez responsable de asegurar su traslado.

### **III.2.b.3 Puntos importantes a considerar con la tarjeta de papel de filtro.**

Esta actividad es una de las más importantes del programa, debe ser realizada correctamente para evitar una muestra insuficiente o no útil.

- Una muestra insuficiente será rechazada por el Laboratorio Pesquisa Neonatal, requiriéndose una segunda muestra, lo que ocasionará un trauma extra al recién nacido, mayor angustia a los padres, un potencial retraso en el diagnóstico o condicionar un resultado falso negativo.
- La tarjeta recolectora tiene 4 círculos, que deben ser llenados, de manera que ambas caras del papel queden impregnados de sangre.
- Una vez depositadas las gotas de sangre en la tarjeta, colocar la misma separadamente, suspendidas y de forma horizontal, para evitar el contacto con superficies (mesetas) y lograr una difusión homogénea de la gota de sangre (ver anexo).
- Después de haber tomado la muestra, almacenar en lugar limpio, alejados de soluciones antisépticas u otro material que pudiera contaminarla.
- Secar de forma independiente cada tarjeta, a temperatura ambiente (entre 18 y 25 °C), lejos del sol. Las tarjetas no deben ser secadas en hornos microondas, estufas u otro medio artificial de energía.
- No apilar las tarjetas. Evitar que una tarjeta toque con otra, en el lugar donde se deposita la sangre, ya que se produce contaminación cruzada.
- Una vez seca la sangre en el papel, colocar las tarjetas 180° una respecto a la otra, para evitar que las manchas de sangre de diferentes tarjetas estén en contacto, ya que puede producir contaminación cruzada.
- Guardar en sobre de papel, debidamente clasificadas. Es recomendable para las muestras almacenadas en neveras (2 a 8°C) o durante su transporte sean protegidas por una bolsa plástica que contenga desecante para evitar que se mojen en caso de rotura de la nevera o por accidente durante su traslado.
- Guardar las tarjetas sin uso, en un lugar limpio, resguardadas del polvo para evitar contaminaciones.
- El programa nacional utiliza papel de filtro SS 903, para la confección de la tarjeta el cual tiene propiedades físico-químicas especiales que permiten una adecuada capacidad de absorción, retención y homogeneidad. Estos parámetros son esenciales para obtener resultados confiables en la prueba.

## TOMA DE LA MUESTRA



Preparación del material



Limpieza del área



Punción del talón



Esperar la gota de sangre



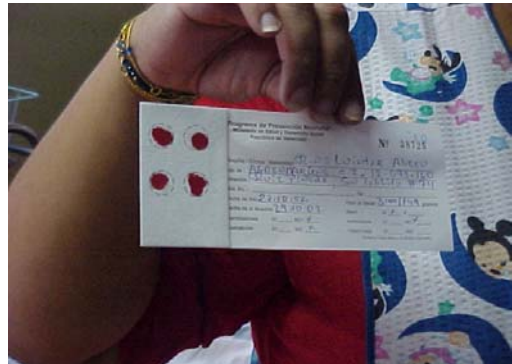
Aplicar el papel sobre la gota de sangre



Ver que se impregna por ambas caras



Limpieza y cura compresiva



Muestra bien identificada e impregnada

### **III.2.b.3.1 Muestra satisfactoria**

Es aquella que ha sido colectada de acuerdo al procedimiento, la mancha de sangre tenga un centímetro de diámetro aproximadamente, la sangre este distribuida de forma homogénea en ambas cara del papel, no halla coágulos de sangre, rayados o coloración inadecuada y estén llenos los cuatro círculos.

### **III.2.b.3.2 Muestras parcialmente satisfactoria**

La mancha de sangre tiene un diámetro menor de un centímetro aproximadamente, pero suficiente para realizar un corte de 5 mm de la zona central de la mancha, tiene sólo dos círculos o los restantes círculos no están homogéneos, se observa rayones en su textura, coloración inadecuada, contaminación visible o datos incompletos. Se pueden utilizar los círculos que cumplen con los requerimientos mínimos de calidad.

### **III.2.b.3.3 Muestras insatisfactorias**

Es la que ha sido tomada, manipulada y/o transportada al laboratorio inadecuadamente y que el laboratorio no puede procesar porque el resultado no sería confiable (insuficiente, contaminada, almacenadas incorrectamente, etc.).

### **III.2.b.4 Personal responsable del procedimiento de Pesquisa en el Centro Asistencial.**

- Cada centro asistencial designara una persona responsable de la toma de muestras, escogida dentro de su personal medico, de referencia, paramédico, auxiliar o personal calificadas de la comunidad,
- Cada centro de salud, con el apoyo que requiera del LPN, capacitara al recurso humano con que cuente para la toma de la muestra.
- Toda muestra recogida debe ser enviada al Laboratorio de Pesquisa Neonatal por la vía más expedita y al menos dos veces por semana.
- En cada centro de salud rural ó urbano debe llevarse al día un registro permanente del número de muestras enviadas, responsable del traslado y fecha de envío.
- En cada LPN debe llevarse al día un registro permanente del número de muestras recibidas, origen de cada remesa, y fecha de recepción.

### **III.2.b.5 Envío de la muestra al Laboratorio Pesquisa Neonatal**

- El envío de las muestras desde el centro asistencial hasta el Laboratorio de Pesquisa Neonatal debe realizarse **diariamente**,
- En aquellos casos, donde no sea posible realizar un envío diario (ya sea por razones de costo, mensajería inapropiada o el número de nacimiento sea tan bajo que no justifique el envío diario) las muestras se almacenarán de forma apropiada en bolsas plásticas, con desecante, a un temperatura entre 2 y 8°C y deberán ser transportadas en un periodo no mayor de tres días. Esto es válido para los días festivos o fines de semanas.
- El envío se realizará mediante servicios de mensajería. Este envío se hará colocando cada tarjeta dentro de su sobre blanco para garantizar que no coincidan las muestras de sangre de una tarjeta con la otra.
- Los sobres con las tarjetas debidamente dispuestas se colocan primero en una bolsa plástica sellada, preferiblemente con desecante y después en un sobre de manila adecuadamente rotulado con la dirección del laboratorio y responsable de recibir las muestras, incluyendo en este último la hoja de remisión.
- El laboratorio debe enviar constancia de las muestras recibidas con el portador, en el caso de que la entrega sea personal o mediante FAX cuando se utilice mensajeros o correo postal.

### **III.2.b.6 Identificación y registro de la muestra**

- A cada muestra y tarjeta de identificación recibidas, el LPN asignara un mismo numero correlativo para su identificación inequívoca en lo sucesivo.
- La información contenida en cada tarjeta de identificación debe ser transcrita a la base de datos antes de consignar al laboratorio la muestra correspondiente. Para ello el laboratorio debe tener un sistema de registro de datos específicos que permita almacenar la información mínima necesaria para cumplir con los requisitos de un programa de pesquisa neonatal.
- Los datos serán obtenidos de la tarjeta que acompaña a la muestra u otra información suministrada colateralmente por interés profesional.

#### Datos a considerar

- Nombre de la madre y del recién nacido (fecha de nacimiento, fecha de la toma de muestra, dirección completa con sitio de referencia, teléfono, raza, sexo).
- Procedencia de la tarjeta (Municipio, Hospital, Ambulatorio).
- Día de ingreso de la tarjeta al laboratorio.

- Registro de resultados elevados primera determinación.
- Registro de resultados elevados segunda determinación.
- Tipo de muestra (talón, edad de toma de muestra).
- Registro de resultados elevados en segunda muestras.
- Registro de niños recitados y causa (primera muestra elevada, dudosa o rechazada).
- Registro de muestras rechazadas y su causa.
- Casos confirmados (pruebas realizadas, TSH, T4).
- Edad y fecha de inicio de tratamiento.

Observaciones: Cualquier información o condición que resulte de interés para el diagnóstico o etiología de la enfermedad. (tipo de parto, ictericia neonatal, índice Apgar, prematuridad, antecedente familiar de HC o metabolopatías, etc).

El control de calidad de la muestra obliga a descartar aquellas que no llenen los requisitos establecidos, dejando constancia de ello en la base de datos y emitiendo una solicitud de nueva muestra. La muestra será rechazada en el proceso de recepción por:

- Muestra insuficiente.
- Muestra contaminada.
- Muestra visiblemente sobresaturada.

Cada muestra aceptada para ser procesada debe ser incorporada al correspondiente protocolo de análisis. La muestra será rechazada durante la ejecución de la prueba cuando la muestra no eluye o eluye parcialmente. Transcurrido el tiempo de dilución, el eluato se mantiene incoloro o con una coloración tenue en dependencia del grado de desnaturalización de la hemoglobina, y el disco de sangre mantiene un color oscuro. Generalmente se produce por inadecuada conservación al someterse la muestra a altas temperaturas durante su secado, almacenamiento o traslado al laboratorio o contaminación por alcohol.

### **III.2.b.7 Conducta a seguir con muestras rechazadas**

1. Será responsabilidad del Laboratorio de Pesquisa Neonatal, comunicar al Coordinador del programa en la región o al responsable de citar al niño para tomarse una segunda muestra en papel de filtro, ya sea en su unidad de salud correspondiente o directamente al Laboratorio.

2. El laboratorio de Pesquisa Neonatal debe verificar si las muestras de recitación llegaron y si estas fueron procesadas. Comunicar al Coordinador del programa de la situación y contactar con el responsable del programa en la unidad de servicio para solicitar las causas del retraso y agilizar su envío.
3. Si es imposible localizar al niño enviar constancia al coordinador del programa.

**“Todas las muestras de recitados deben ser consideradas de prioridad máxima y procesadas inmediatamente, para no retardar el diagnóstico”.**

El sistema de comunicación entre el Laboratorio de Pesquisa Neonatal y el profesional a cargo del programa, responsable de la toma de muestra, debe ser ágil y expedito. Es importante mantener una información frecuente y fluida de resultados normales, dudosos, elevados o insuficientes entre el laboratorio y demás partes integrantes del programa. El éxito del programa depende de la eficiencia del trabajo individual de cada integrante del equipo de pesquisa.

### **III.2.b.8 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA**

- La detección del Hipotiroidismo Congénito Primario se hará mediante la determinación del nivel de concentración de hormona estimulante del tiroides (TSH), presente en la muestra seca de sangre periférica impregnada en papel absorbente calibrado. La detección de la Fenilcetonuria Clásica se hará mediante la determinación del nivel de Fenilalanina en sangre, presente en la muestra seca de sangre periférica impregnada en papel absorbente.
- El procedimiento a ser utilizado para esa determinación deberá estar validado por el Laboratorio Nacional de Referencia (CNR), antes de ser aplicado a la Pesquisa Neonatal.
- Los LPN utilizarán el procedimiento UMELISA – TSH. para Hipotiroidismo Congénito y Umelisa Test-PKU para Fenilcetonuria Clásica (Centro de Inmunoensayo, La Habana, Cuba).
- Las muestras, los controles y los calibradores, deben ser manipuladas durante el ensayo como material potencialmente infectante, y los equipos y accesorios que se hayan puesto en contacto directo con las muestras y reactivos, como contaminados.
- Todos los reactivos deben mantenerse bajo refrigeración (2-8°C), hasta su uso. Se debe prestar atención a la fecha de vencimiento indicada por el fabricante en cada estuche y al lapso de estabilidad (2 meses) estimado para el consumo de cada estuche abierto.
- Siga cuidadosamente el procedimiento técnico descrito en el instructivo del estuche comercial, sin introducir modificación alguna que no haya sido previamente validada por el Centro Nacional de Referencia, e Incorporada ó anexada a este manual.

- Cada ensayo debe incluir el montaje de una curva de calibración, con los calibradores por duplicado, y cada conjunto de Tiras en un mismo soporte debe incluir el control por duplicado, utilizando micropozos al azar.

### **III.2.b.8.1 Punto de Corte**

En concordancia con la práctica internacionalmente aceptada, para la interpretación de los resultados de las determinaciones, cada laboratorio de pesquisa neonatal, debe establecer y ajustar periódicamente su propio nivel de corte.

El punto de corte se establece con base en la distribución de valores obtenidos en un número suficiente de determinaciones (alrededor de 20.000). Es necesario ajustar el nivel de corte al menos cada seis (6) meses y necesariamente cada 20.000 nuevas determinaciones.

Como medida temporal con base en el estudio de validación del procedimiento UMELISA-TSH Neonatal realizado en el Laboratorio Nacional de Referencia, el valor de corte a ser utilizado inicialmente por los Laboratorios de Pesquisa Neonatal es de 10 mUI/L. El cambio del nivel de corte se realizará previo estudio de cada laboratorio y la aprobación de Comité Nacional de Screening Neonatal.

#### Criterios para el cálculo del punto de corte

Antes de fijar el punto de corte es necesario tomar en cuenta las siguientes consideraciones: La prueba de screening neonatal está diseñada para detectar a tiempo los casos de hipotiroidismo congénito primario. En todo caso los hipotiroideos detectados no deben ser menores al 97% del total existente en la población, ya que se conoce a nivel internacional que es posible que un 3% de hipotiroideos se escapen a la detección.

- Si el punto de corte es muy bajo, se produce un número de rellamadas muy elevado, lo cual produce un excesivo nivel de falsa alarma en la población. Esto incidirá negativamente en el desarrollo del programa.
- Si el punto de corte es muy alto, permitirá que se escapen de la detección un número de hipotiroideos mayor al 3% del total de los mismos.

Los criterios utilizados para la fijación del punto de corte son los siguientes:

- El punto de corte debe fijarse por debajo de todos aquellos valores que habiéndose considerado como sospechosos en el screening, resultaron falsos positivos en la confirmación.
- Del mismo modo el punto de corte debe situarse por encima de los valores que resultaron negativos en la confirmación.

- El número de rellamadas que genere el punto de corte debe ser lo suficientemente baja para no producir excesiva molestia en los clientes y usuarios del servicio.

#### Cálculo del punto de corte por el método UMELISA

- Agrupar los datos producidos por el análisis de algo mas de 2.000 muestras, con base a la frecuencia de valores de TSH obtenidos en la prueba de pesquisa.
- Calcular el percentil 99.9, para fijar a este nivel el punto de corte que en ningún caso puede ser mayor de 15  $\mu$ UI/ml.
- Adoptar provisionalmente este valor de corte basándose en el hecho de que el número de muestras analizadas no son lo suficientemente representativas del total de la población a analizar.
- Este valor de corte corresponde al percentil 99.9 y la tasa de rellamadas estará en 0.05%, la cual se encuentra por encima del 0.02% recomendada en la literatura internacional, sin embargo se mantendrá hasta una nueva evaluación, con el fin de compensar la poca experiencia que se tiene en el uso del método.

#### **III.2.b.9 CAUSAS DE ERROR EN LOS RESULTADOS DE LA PESQUISA**

Aunque muchos factores pueden incidir en la ocurrencia de errores, realmente la frecuencia de los mismos y su repercusión en la pérdida de casos afectados es baja. En Estados Unidos la frecuencia de casos no detectados por errores del pesquiseaje es de 1:500 000. Dentro de las fuentes de errores más frecuentes se encuentran las siguientes:

##### Problemas en la fase de recolección de las muestras:

- Mala técnica de punción del talón
- Identificación inadecuada o recolección de datos en la tarjeta incompleta
- Recién nacidos no analizados, sobre todo las muestras de prematuros o recién nacidos que por algún problema de salud permanecen en el hospital o son trasladados a otros centros. En algunos casos los familiares se niegan a la toma de la muestra.
- Muestras que no llegan al laboratorio.
- Problemas durante el procesamiento de la muestra en el laboratorio:
  - Errores de lectura
  - Errores de transcripción de datos
  - Cambios de muestra
  - Otros, que escapan al sistema de control de calidad del laboratorio
  - Problemas para la localización del sospechoso
  - Inadecuada recepción de los resultados
  - Deficiencia en los mecanismos de localización de los casos positivos

### **III.2.b.10 INFORMACIÓN DE RESULTADOS DUDOSOS O ELEVADOS:**

Todo resultado dudoso o positivo en la primera muestra será comunicado urgentemente al Coordinador del Programa, para en el caso de Hipotiroidismo congénito sea referido al Endocrinólogo y en caso de la Fenilcetonuria Clásica.

La responsabilidad de citar al niño con una muestra dudosa o positiva dentro del plazo estipulado por las normas del programa será del Laboratorio de Pesquisa Neonatal.

Una vez establecido el diagnóstico, deberá enviarse la información al Coordinador del Programa Regional, al Laboratorio de Pesquisa Neonatal.

### **III.2.b.11 DESCARTE Y CONFIRMACION DE LA SOSPECHA DIAGNOSTICA**

#### **III.2.b.11.a Hipotiroidismo Congénito**

- Todo niño con sospecha de hipotiroidismo debe ser evaluado con carácter de urgencia por una consulta de Endocrinología Pediátrica o Pediatría con experiencia para decidir si inicia el tratamiento, previo toma de la muestra confirmatoria o espera los resultados de la muestra confirmatoria.
- A toda muestra de suero con sospecha de HC se le aplica las pruebas confirmatorias de TSH y T4 libre, por métodos de alta especificidad y eficiencia basados en el uso de anticuerpos monoclonales.
- Cada consulta de Endocrinología Pediátrica o Pediatría con experiencia esta en la obligación de notificar al Laboratorio de Pesquisa Neonatal la confirmación o el descarte del diagnóstico.
- El Laboratorio de Pesquisa Neonatal esta en al obligación de solicitar la información y transmitir a la Red de Pesquisa la confirmación o el descarte del diagnóstico.

#### **III.2.b.11.b Fenilcetonuria Clásica**

- Toda muestra que de un valor de Fenilalanina por encima del nivel de corte establecido ó en uso en el LPN, obliga a localizar de inmediato al recién nacido del cual fue obtenida.
- Evaluar su edad gestacional, condición clínica, tipo de alimentación y aporte proteico. En caso de recién nacido pretérmino con aporte dietético proteico alto, con nivel de fenilalanina en sangre inferior a 10 mg% se procederá a tomar nueva muestra de sangre impregnada en papel. Si persiste elevado el nivel pero inferior a 10 mg% se disminuirá el aporte dietético de proteína para repetir la determinación de niveles de fenilalanina en sangre impregnada en papel.
- En aquellos recién nacidos independientemente de su edad gestacional que presenten nivel de fenilalanina en sangre superior a 10 mg% notificar de inmediato al Instituto Nacional de Higiene

- En recién nacidos a término con nivel elevado de fenilalanina en sangre independientemente del nivel se procederá a la toma de las muestras confirmatorias. En caso de dudas solicitar asesoría inmediata vía telefónica.
- Para la confirmación e inicio de la terapéutica es necesario establecer contacto inmediato con el Instituto Nacional de Higiene.

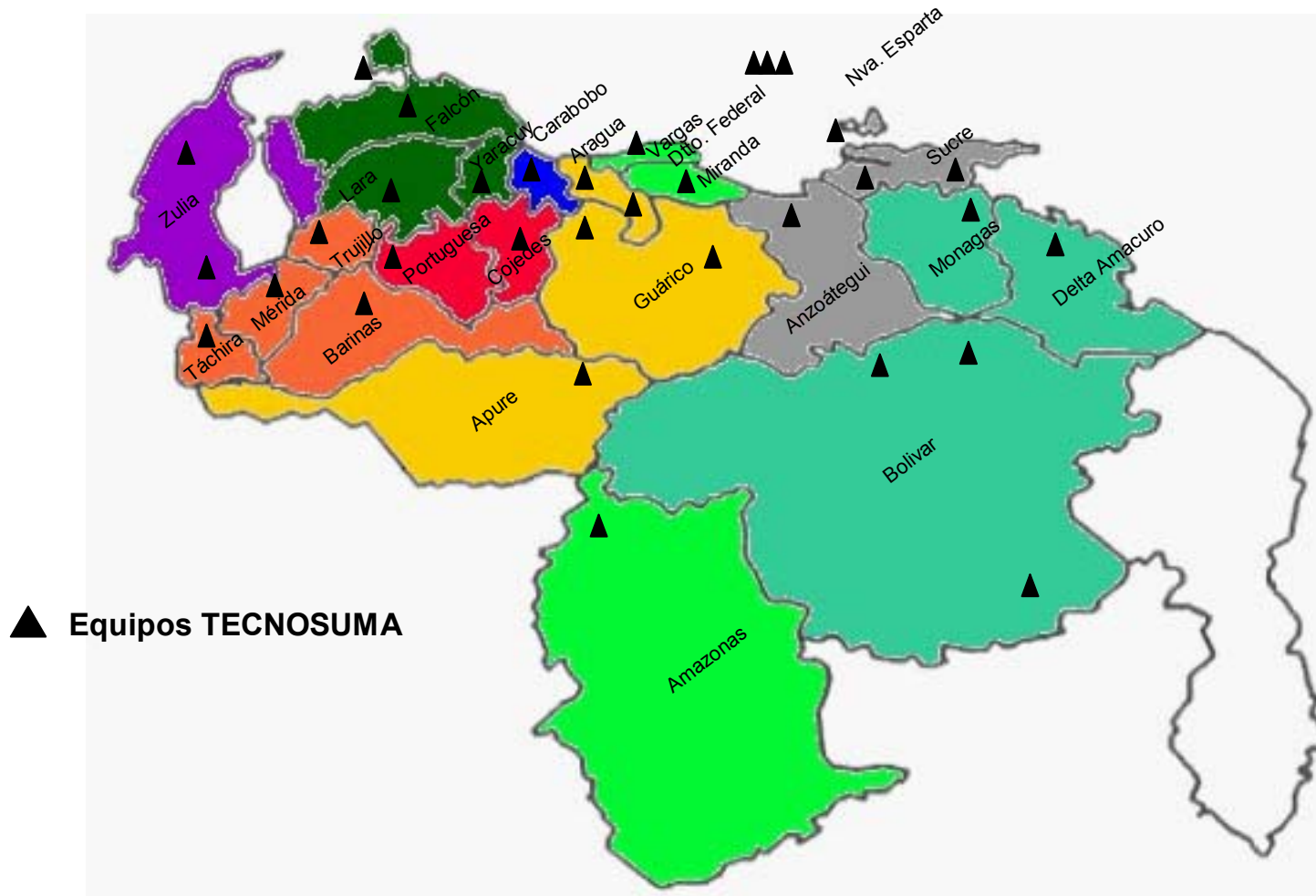
#### **IV. DISTRIBUCION DE LOS LABORATORIOS**

La experiencia acumulada por otros países en cuanto al desarrollo de la Pesquisa neonatal ha sugerido establecer un número idóneo de análisis por año, con el fin de disminuir de forma significativa el costo y garantizar la mayor sensibilidad de la prueba. En este sentido se considera que la más eficiente y efectiva estrategia de laboratorio es aquella donde se analice al menos 30.000 muestras por año. Un número inferior, trae un costo mayor al duplicar el personal altamente entrenado y reactivos, así como la mayor probabilidad de falsos negativos por analizar un número pequeño de muestras. Como no todos los Estados tienen el número de recién nacidos vivos mínimos para cubrir las expectativas de un laboratorio de Pesquisa Neonatal, es recomendable la centralización de los laboratorios para obtener la mejor relación costo/beneficio. Para ello se ha sugerido la siguiente regionalización:

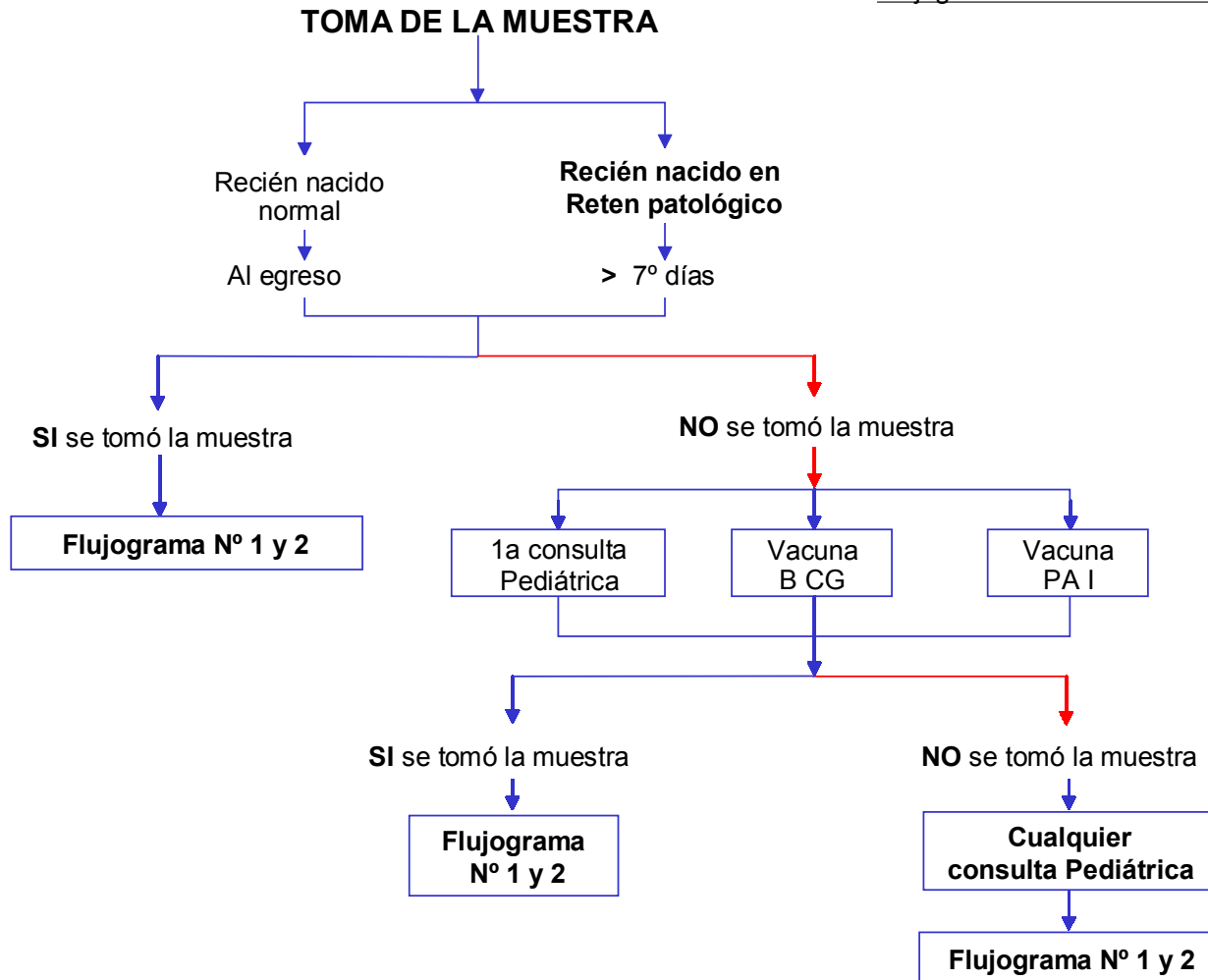
1. Distrito Capital: Distrito Capital, Vargas y Miranda.
2. Aragua: Aragua, Guárico y Apure.
3. Yaracuy: Yaracuy, Falcón y Lara
4. Mérida: Mérida, Barinas, Táchira y Trujillo.
5. Zulia: Zulia
6. Carabobo: Carabobo.
7. Portuguesa: Portuguesa y Cojedes.
8. Anzoátegui: Anzoátegui, Sucre y Nueva Esparta.
9. Monagas: Monagas, Bolívar y Delta Amacuro.
10. Amazonas: Enviaría a Distrito Capital.

Cada Estado se encargaría de la toma de la muestra y del envío al laboratorio de Salud Pública del Estado. En los casos en que corresponda al laboratorio de Pesquisa Neonatal Regional se procederá al análisis. En aquellos que constituyan los laboratorios satélites, el laboratorio procederá al envío de las muestras al Laboratorio de Pesquisa Regional. La distribución sugerida puede ser objeto de cambio en función de la dinámica de relación entre los laboratorios.

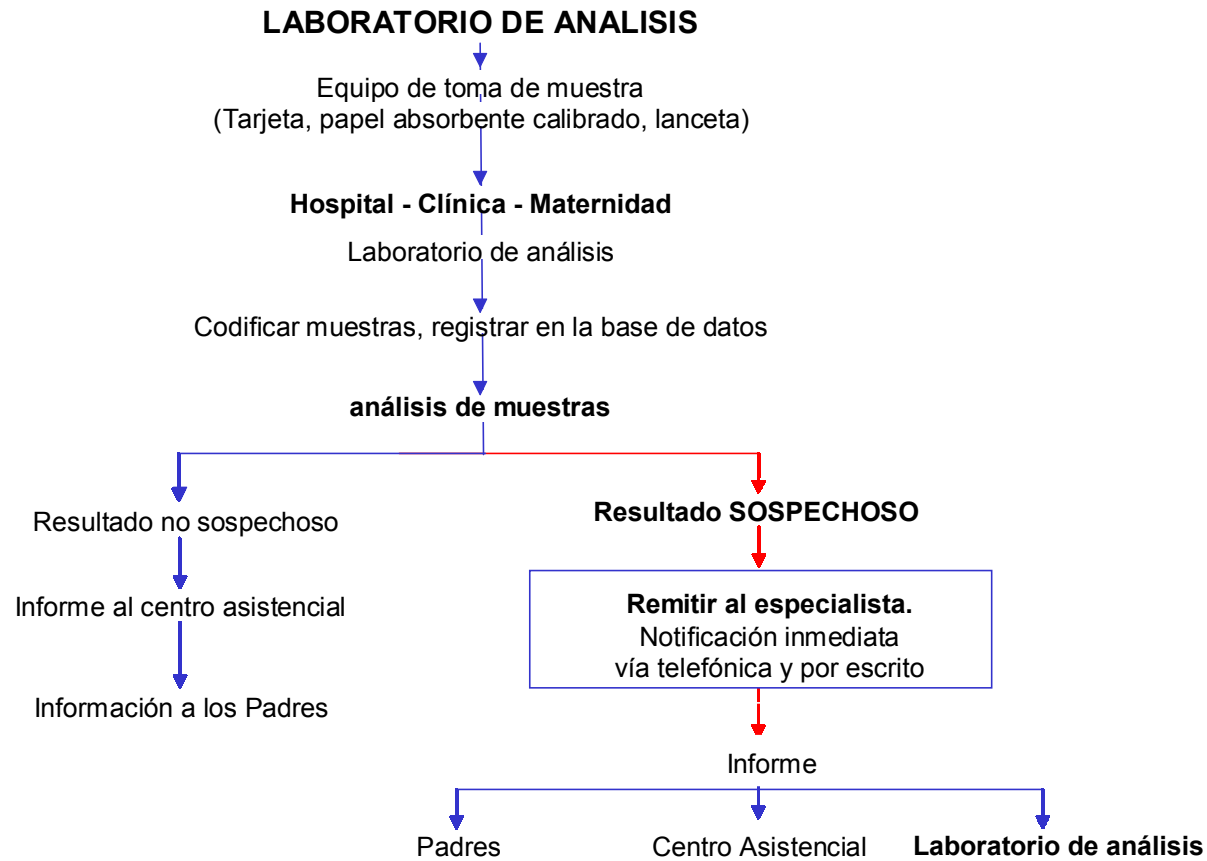
**RED NACIONAL DE DIAGNOSTICO DE SALUD PUBLICA  
DISTRIBUCION DE EQUIPOS TECNOSUMA  
VENEZUELA 2.002**



Flujograma de Toma de Muestra



Flujograma de Pesquisa Hipotiroidismo



## LABORATORIO DE ANALISIS

## Flujograma de Pesquisa Fenilcetonuria

