



Original

El hematocrito: ¿una variable incontrolable en el cribado neonatal?

Hematocrit: an uncontrollable variable in newborn screening?

Alejandro Mario Vilche Juárez¹, Gustavo Dratler², Silvia Marino², Sofía Coniglio¹,
Florencia Tommasi², Silvia Quiroga¹

¹Laboratorio de Endocrinología. Hospital Universitario. Centro de Educación Médica e Investigación Clínica Dr. Roberto Quirno (CEMIC). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. ²Laboratorio de pesquisa neonatal. Hospital de Pediatría SAMIC Prof. Dr. Juan Pedro Garrahan. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Recibido: 15/10/2021
Aceptado: 12/05/2022

Correspondencia: Alejandro Mario Vilche Juárez. Laboratorio de Endocrinología. Hospital Universitario. Centro de Educación Médica e Investigación Clínica Dr. Roberto Quirno (CEMIC). C/ Galván, 4102. C1431 Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
e-mail: vilchejuarez@gmail.com

Palabras clave:

Hematocrito. Cribado neonatal. Valor de corte. Tirotropina. Tripsina inmunorreactiva. 17-hidroxiprogesterona.

RESUMEN

Introducción: las gotas de sangre en papel de filtro (GSPF) son muestras valiosas para el laboratorio de cribado neonatal. Los valores de corte para las determinaciones del cribado neonatal están basados en un valor de hematocrito promedio (55 %). Los recién nacidos que superan el valor de corte de las determinaciones se citan de nuevo para una toma de muestra confirmatoria.

Objetivo: desarrollar una técnica de laboratorio que permita conocer el valor del hematocrito en la GSPF del cribado neonatal. Estudiar el impacto de la variable del hematocrito en los resultados del cribado neonatal.

Material y métodos: se analizaron 1124 muestras de dos laboratorios de cribado neonatal. El hematocrito en las GSPF se estimó utilizando el reactivo lauril sulfato de sodio (1,7 g/L). Se realizaron determinaciones de tirotropina (TSH), tripsina inmunorreactiva (IRT) y 17-hidroxiprogesterona (17-OHP). Los resultados fueron evaluados con y sin corrección del hematocrito teniendo en cuenta el valor estimado.

Este trabajo se presentó en el Congreso de la Sociedad Latinoamericana de Errores Innatos del Metabolismo y Pesquisa Neonatal 2019, celebrado del 12 al 15 de mayo de 2019 en Buenos Aires (Argentina), y obtuvo el Premio a la Mejor Comunicación Oral Pesquisa Neonatal.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00106

Vilche Juárez AM, Dratler G, Marino S, Coniglio S, Tommasi F, Quiroga S. El hematocrito: ¿una variable incontrolable en el cribado neonatal? Rev Med Lab 2022;3(2):46-54

Resultados: 183 muestras (sin corrección) superaron el valor límite propuesto por cada laboratorio: 49 para TSH, 44 para IRT y 90 para 17-OHP. Utilizando la estimación del hematocrito, 18 recién nacidos (36,7 %) superaron el valor de corte de la TSH, 25 (56,7 %) en la medición de IRT y 39 (43,3 %) con 17-OHP. Si se hubiera utilizado la corrección del paquete globular en las GSPF, solo hubieran tenido que ser citados de nuevo el 44,8 % de los 183 recién nacidos.

Conclusión: la estimación del hematocrito permitiría la corrección del volumen en la muestra GSPF, que es muy sencilla de calcular. Sugerimos el uso de la estimación del hematocrito para muestras que excedan el valor de corte. Al bajar el porcentaje de solicitudes de nuevas muestras evitaríamos la angustia que causa a la familia.

Keywords:

Hematocrit. New-born screening. Cut-off. Thyrotropin. Immunoreactive trypsin. 17-OH progesterone.

ABSTRACT

Introduction: dried blood spots (dbs) are valuable samples for the newborn screening laboratory. Cut-off values for neonatal screening determinations are based on an average hematocrit value (55 %). New-borns that exceed the cut-off value of the determinations are cited again for a confirmatory sample collection.

Objective: to develop a laboratory technique that allows knowing the value of the hematocrit in the dbs samples of neonatal screening and to study the impact of the hematocrit variable on the results of neonatal screening.

Material and methods: 1124 samples from two neonatal screening laboratories were analysed. The hematocrit in the DBS samples was estimated using the sodium lauryl sulphate reagent (1.7 g/L). Thyrotropin (TSH), immunoreactive trypsin (IRT), and 17-hydroxyprogesterone (17-OHP) were determined. The results were evaluated with and without hematocrit correction considering the estimated value.

Results: 183 samples (without correction) exceeded the cut off value proposed by each laboratory: 49 for TSH, 44 for IRT, and 90 for 17-OHP. Using the hematocrit estimation, 18 (36.7 %) new-borns exceeded the TSH cut-off value, 25 (56.7 %) in the IRT measurement and 39 (43.3 %) in 17-OHP determination. If the correction of the packed red cell had been used in the DBS samples, only 44.8 % of the 183 new-borns would have had to be cited again.

Conclusion: the estimation of the hematocrit would allow the correction of the volume in the DBS samples. We suggest the use of hematocrit estimation for samples that exceed the cut-off value. By lowering the percentage of requests for new samples we would avoid the anguish that it causes in the family.

INTRODUCCIÓN

El estudio neonatal de enfermedades congénitas comenzó en los años sesenta del siglo xx, cuando el microbiólogo Robert Guthrie y el bioquímico Louis Woolf desarrollaron un análisis sencillo y sensible para la detección de fenilcetonuria. En 1968, Wilson y Jungner publicaron los criterios para evaluar los programas de cribado. Establecieron que estos deben componerse de “un proceso continuo y no una prueba puntual” (1).

El cribado neonatal (CN) permite el diagnóstico de enfermedades que en su evolución natural comprometerían la vida o el desarrollo intelectual de los bebés afectados, con un alto coste social y psicológico para los sujetos, las familias y la sociedad. Estas enfermedades constituyen una carga económica muy importante por la dependencia y el consumo de recursos sociales y sanitarios (2,3). La incidencia de cada uno de los trastornos es baja, pero su impacto es global para la salud pública. Los programas de CN son preventivo-asisten-

ciales y esenciales para los sistemas sanitarios. Las estrategias con las que se ejecutan varían por países (4). Una detección adecuada con una intervención en el momento oportuno reduce la morbilidad, la mortalidad y las discapacidades asociadas a dichas enfermedades. Esta intervención tiene un bajo coste y disminuye enormemente la carga económica que supondría no tener un programa de CN tanto para las familias como para los sistemas sanitarios (2).

Los tiempos de detección son claves para efectuar el diagnóstico confirmatorio e instaurar el tratamiento de los casos detectados lo más rápidamente posible, antes de que se manifiesten los síntomas de la enfermedad o se produzcan daños irreparables (2-4).

En Argentina, la ley nacional 26279/2007 establece la detección y el posterior tratamiento de fenilcetonuria, hipotiroidismo congénito, fibrosis quística, galactosemia, hiperplasia suprarrenal congénita, deficiencia de biotinidasa, retinopatía del prematuro, chagas y sífilis. Su realización y su seguimiento son obligatorios en todos los establecimientos públicos de gestión estatal o de la Seguridad Social y privados de la República en los que se atiendan partos o a recién nacidos (5,6).

La muestra utilizada para la realización del CN posee muchas ventajas: volumen mínimo, estabilidad favorable de muchos analitos, costes reducidos asociados con el envío y con el almacenamiento y es menos invasiva que la recolección de muestras venosas (7,8).

La concentración de glóbulos rojos por unidad de volumen de sangre influye en el análisis de las gotas de sangre en papel de filtro (GSPF) (7,9). Una de las principales fuentes de error podría ser el volumen plasmático con respecto al paquete globular. Dicha variable podría estimarse con la realización del hematocrito (a través de la medición de hemoglobina [Hb]). Cuando se aplica sangre al papel de filtro difundirá a diferentes velocidades, en función de la toma de la muestra, variables del recién nacido y del papel del filtro, lo que afecta al tamaño de la mancha de sangre. Al utilizar un tamaño de punzón fijo para el análisis de la muestra el paquete globular podría influir en los resultados de las distintas determinaciones del cribado neonatal. El parámetro del hematocrito se comporta como una variable al momento de analizar los resultados (10). El rango normal del hematocrito para los recién nacidos sanos está entre el 42 % y el 64 %. Un valor anormal puede ser característico de policitemia o anemias, lo que causa un hematocrito extremadamente alto o bajo, respectivamente (11,12). En ocasiones la corrección del volumen podría significar la diferencia entre un resultado positivo y uno negativo (7,11). Dado que los puntos de corte se establecen independientemente del valor del hematocrito, al desconocer los valores de dicha variable aumentan las posibilidades de identificar erróneamente resultados patológicos. Existe la posibilidad de mejorar el valor predictivo positivo de esta prueba (11).

Los objetivos de nuestro trabajo fueron desarrollar una técnica de laboratorio que nos permita conocer el valor del hematocrito en la GSPF del CN, estudiar

la influencia de la variable del hematocrito en los resultados de la tirotrópina (TSH), de la tripsina inmunorreactiva (IRT) y de la 17-hidroxiprogesterona (17-OHP) y analizar el impacto en los resultados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio y muestras empleadas

Estudio retrospectivo de corte transversal. Las muestras se utilizaron una vez terminado el CN obligatorio, entre el 3 de mayo de 2018 y el 29 de enero de 2019. Se analizaron 1124 muestras de 2 laboratorios de CN de recién nacidos pretérmino y a término, con una edad gestacional comprendida entre la semana 24 y la 41, con o sin hospitalización. La toma de muestra para los recién nacidos a término se realizó entre el segundo y el quinto día de vida con al menos 24 horas de alimentación proteica (leche materna o leche de fórmula) antes de que la madre y de que el neonato recibieran el alta. En el caso de los niños prematuros se repitió la extracción a los 15 días o cuando se alcanzaron las 37 semanas. Las muestras se tomaron en el hospital o en la maternidad y, una vez secas, se almacenaron a 4 °C hasta el momento de realizar el test. Se excluyeron las muestras con gotas de sangre de un diámetro inferior a 10 mm, con mala calidad en la toma de la muestra o con los datos de la tarjeta incompletos.

La identificación de la muestra debía incluir todos los datos completos del formulario que acompaña a la tarjeta. Los datos provenientes del neonato fueron necesarios para la interpretación correcta de los resultados, mientras que los de la madre y los del médico responsable permitieron una ágil comunicación de los resultados (2).

En caso de muestra inadecuada, de resultados dudosos o por encima de los puntos de corte establecidos, se repitió el análisis y se solicitó la toma de una nueva muestra, que tuvo carácter urgente en todos los casos (2).

Por otra parte, a 114 niños se les realizó el hemograma completo, pedido por solicitud médica, el mismo día que la extracción de las GSPF. Los valores de los hematocritos provenientes de los hemogramas se utilizaron para realizar un análisis de regresión lineal para validar el método de determinación/estimación del hematocrito en GSPF.

Se incluyeron en el estudio 10 muestras de GSPF provenientes de pacientes adultos (hematocrito, de 29,2 % a 42,0 %) que se estudiaron durante 5 días consecutivos para evaluar su repetitividad.

Estimación del hematocrito

Se utilizó una metodología simple, disponible en cualquier laboratorio de CN. El procedimiento desarrollado se basó en medir la Hb a partir de una muestra

de GSPF y la posterior estimación del porcentaje de hematocrito.

Se realizó una curva estándar de 6 puntos con concentraciones conocidas de Hb utilizando muestras de pacientes tratadas con el mismo procedimiento que las pruebas de interés. Se midió la Hb por triplicado en los calibradores utilizando un autoanalizador Sysmex XE-2100 (Kobe, Japón). Los calibradores se impregnaron en tarjetas Whatman S&S#903 (13) con sangre entera venosa extraída en tubos con EDTA-K3 (tubo Beckton Dickinson vacutainer de plástico, tapa lila, con 5,4 mg EDTA K3 sin separador, Oxford, Reino Unido) y luego se dejaron secar a temperatura ambiente. La curva se utilizó en cada serie para estimar el valor del hematocrito de muestras y de controles. El valor de Hb y del hematocrito del analizador se consideraron como valor verdadero y utilizado como referencia para la realización de la curva y de los controles. La curva consistió en un blanco (cartón sin sangre) y los siguientes puntos de Hb: 4,3 g/dL, 10,1 g/dL, 15,4 g/dL, 21,4 g/dL y 26,9 g/dL (hematocrito: 12,8 %, 29,7 %, 45,4 %, 64,2 % y 80,7 %, respectivamente). Se realizó el mismo proceso con tres niveles de control (bajo, medio y alto) cuyos hematocritos fueron 17,4 %, 40,7 % y 60,7 %, respectivamente (Hb: 5,7 g/dL, 13,5 g/dL y 20 g/dL), también provenientes de muestras de pacientes.

En una placa de reacción (fondo en V), de 96 pocillos se colocó un *punch* (disco) de 3,2 mm de cada una de las muestras, estándares y controles. Los estándares y los controles se incorporaron por duplicado. Luego se adicionó a cada pocillo 200 μ L de lauril sulfato

de sodio (SLS) 1,7 g/L y se incubó a temperatura ambiente durante una hora. Se transfirió el sobrenadante a una placa de lectura, que se incubó durante 10 minutos, lo que evitó que quedaran burbujas que pudieran afectar a la lectura. Utilizando un lector de placa Biotek Elx800 (Vermont, Estados Unidos) a una longitud de onda de 550 nm se midió la absorbancia. Interpolando con la curva se obtuvo la concentración de Hb presente. Este método colorimétrico (espectrofotometría), descrito por Richardson y cols. (12), forma un complejo SLS-Hb que tiene un rango de absorbancia óptica de 500-560 nm. La absorbancia fue lineal en el rango de concentración esperado en las muestras de los pacientes, obedeciendo a la ley de Beer-Lambert (11,12). Las lecturas fueron estables en la placa a temperatura ambiente y protegida de la luz al menos durante 12 horas.

A partir de los datos de hemoglobina calculados se obtuvo la concentración de hematocrito utilizando un factor calculado de 3,0 (relación hematocrito/Hb de la medición de los hemogramas utilizados para realizar nuestra curva), lo que permitió conocer el valor del paquete globular de cada GSPF. La relación del factor dependerá del analizador utilizado y debe calcularse con la realización de una curva nueva (Fig. 1).

Determinación de la tirotrponina, de la tripsina inmunorreactiva y de la 17-hidroxiprogesterona

Las determinaciones del CN se realizaron utilizando las metodologías correspondientes a cada labo-

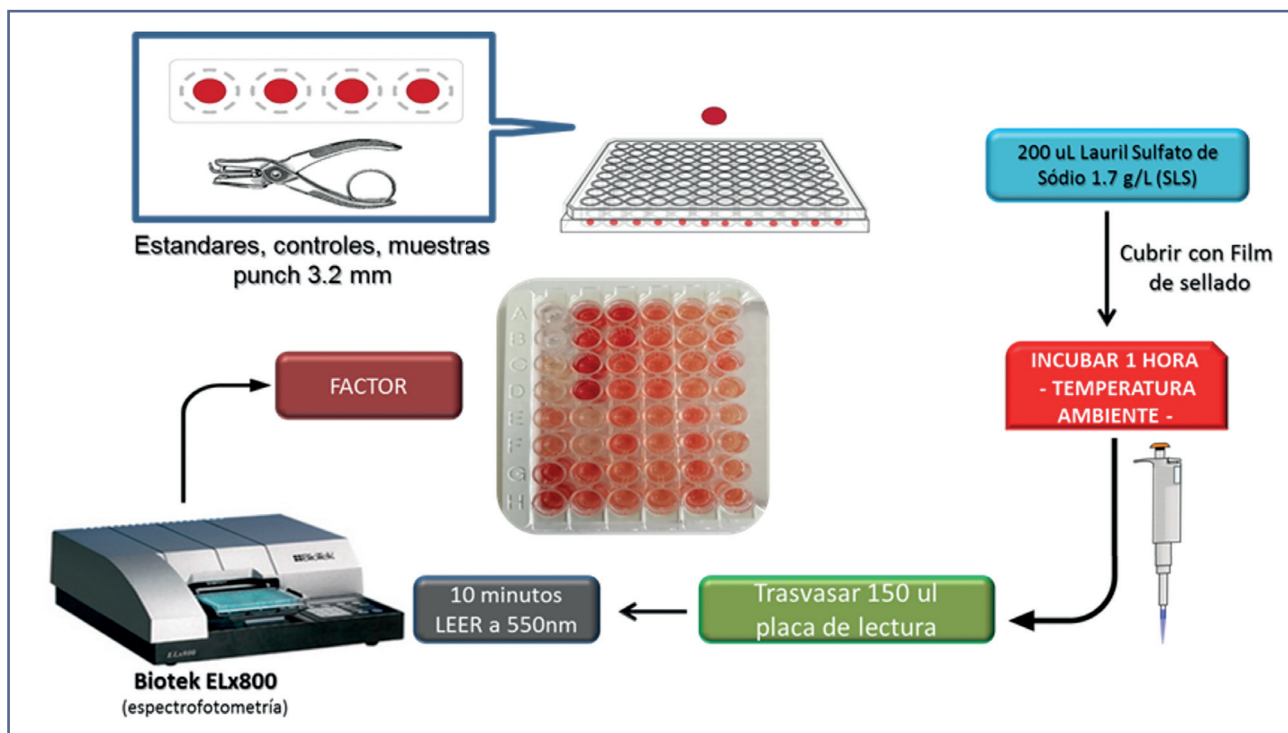


Figura 1 – Esquema de la técnica de estimación del hematocrito.

ratorio. En el primer laboratorio, para la medición de TSH la extracción se realizó con Diluent Universal Roche (Mannheim, Alemania) y la posterior medición de electroquimioluminiscencia, en un COBAS 6000 Roche (Rotkreuz, Suiza). La IRT se realizó con reactivos MP Biomedicals (California, Estados Unidos) y la lectura, en espectrofotómetro Biotek Elx800 (Vermont, Estados Unidos). La determinación de 17-OHP se realizó por radioinmunoensayo en tubo recubierto (MP Biomedicals) con un lector Wallac AN-LKB Dream Gamma-10 (Mount Waverley, Australia). En el segundo laboratorio de CN, se utilizó para 17-OHP el equipo DELFIA Neonatal 17 alfa-OH-Progesterone, de Perkin Elmer (Turku, Finlandia); para IRT, el equipo DELFIA Neonatal IRT (Perkin Elmer) y para TSH, el DELFIA Neonatal hTSH (Perkin Elmer), utilizando para todos un lector Victor 2D 1420 Multilaber Counter (Perkin Elmer).

Análisis estadístico

El análisis de los datos se realizó mediante el programa estadístico IBM SPSS v22 (Nueva York, Estados Unidos). Las funciones estadísticas utilizadas fueron el test de Kolmogorov-Smirnov, la regresión lineal con correlación de Pearson, la correlación de Spearman, la regresión de Deming y el análisis de Bland-Altman. En el estudio de repetitividad se aplicó el coeficiente de variación (CV) y la desviación estándar (DE). Los resultados fueron evaluados con y sin corrección de hematocrito. Se utilizaron pruebas de muestras independientes. La prueba t se realizó para la igualdad de medias y de significancia bilateral. Además, se analizaron las relaciones entre el valor obtenido y el valor de corte de cada determinación.

RESULTADOS

Características generales de los neonatos

Del total de recién nacidos (1124), el 79,5 % (893) fue a término, entre las semanas de gestación 37-41, y el 20,5 % fue pretérmino, ya fuese prematuro (semanas 36-28) o inmaduro (< 27 semanas).

La media del peso al nacer fue de 3083 g, con un mínimo de 620 g y un máximo de 4830 g. La prevalencia estableció que el 81,5 % eran de peso adecuado (> 2500 g); el 17,3 %, de bajo peso (< 2500-1000 g) y el 1,2 %, de peso extremadamente bajo (< 1000 g).

La relación entre ambas variables (peso al nacer y semanas de gestación) reflejó que 866 neonatos (77 %) eran a término y de peso adecuado.

Validación del método de medida del hematocrito

Se realizó un análisis de regresión lineal de los resultados del hematocrito en GSPF con respecto a los he-

matocritos provenientes de los hemogramas, obtenidos ambos el mismo día (n = 114). La variable independiente (x) fue la concentración de hematocrito determinada en la muestra de sangre entera (hemograma) y la variable dependiente (y), el resultado obtenido en GSPF. La media del hematocrito en GSPF fue de 39,6 % (mediana: 38,4 %; mínimo: 19,8 % y máximo: 61,0 %) y de los hemogramas, de 40,7 % (mediana: 39,3 %; mínimo: 22,1 % y máximo: 61,0 %). El test de Kolmogorov-Smirnov indicó que ambos siguen una distribución normal. El coeficiente de correlación de Pearson fue de 0,957 y hubo una asociación lineal entre ambos métodos (p < 0,001). El coeficiente para la regresión de Deming fue de 0,989; la pendiente, de 1,006 (IC 95 %, 0,957-1,056) y la ordenada en el origen, de 0,803 (IC 95 %, -1,292-2,898), lo que demuestra la intercambiabilidad entre ambos métodos. El promedio del CV de los resultados fue del 4,4 %, con una DE de 1,7 %.

El gráfico de Bland-Altman permite analizar la diferencia entre un nuevo método con respecto a uno ya establecido. Al aplicarlo, se obtuvo un sesgo de -1,06, lo que resulta fiable y reproducible con respecto al método de referencia (IC 95 %, de 4,46 a -6,57) (Fig. 2).

En el estudio, de las 10 muestras de GSPF para evaluar su repetitividad se obtuvo un CV promedio de 3,4 % y un DE de 1,2 % (Tabla I).

Efecto de la corrección en las determinaciones del cribado neonatal

Utilizando la estimación del hematocrito de las muestras de GSPF se empleó un valor consenso del 55 % de hematocrito. A los resultados de las determinaciones del CN se les aplicó un factor de corrección con respecto al valor del hematocrito obtenido. Se analizó el impacto del nuevo resultado con respecto al valor de corte (TSH: COBAS Roche: 12 μ UI/ml; Perkin Elmer: 8 μ UI/ml; 17-OHP: MP Biomedicals: 22 ng/ml; Perkin Elmer: 23 nmoles/l; IRT: MP Biomedicals: 130 ng/ml; Perkin Elmer: 60 ng/ml) y la acción que el laboratorio debería tomar (Tabla II).

De las 1124 muestras analizadas sin la corrección del hematocrito, 183 pacientes superaron el valor de corte en el análisis original de alguna de las 3 determinaciones que se analizaron: 49 pacientes para TSH, 90 en el análisis de 17-OHP y 44 valores en el de IRT. Los resultados de los métodos confirmatorios fueron patológicos en 3 pacientes (2 TSH y 1 IRT).

Tiotropina

Las relaciones entre el valor obtenido y el valor de corte (O/C) nos permiten comparar los diferentes métodos y los valores de corte conociendo la relación de positividad. Se detectaron 49 muestras con TSH por encima del valor de corte con una relación O/C de 1,14. Al reevaluar las muestras aplicando el factor

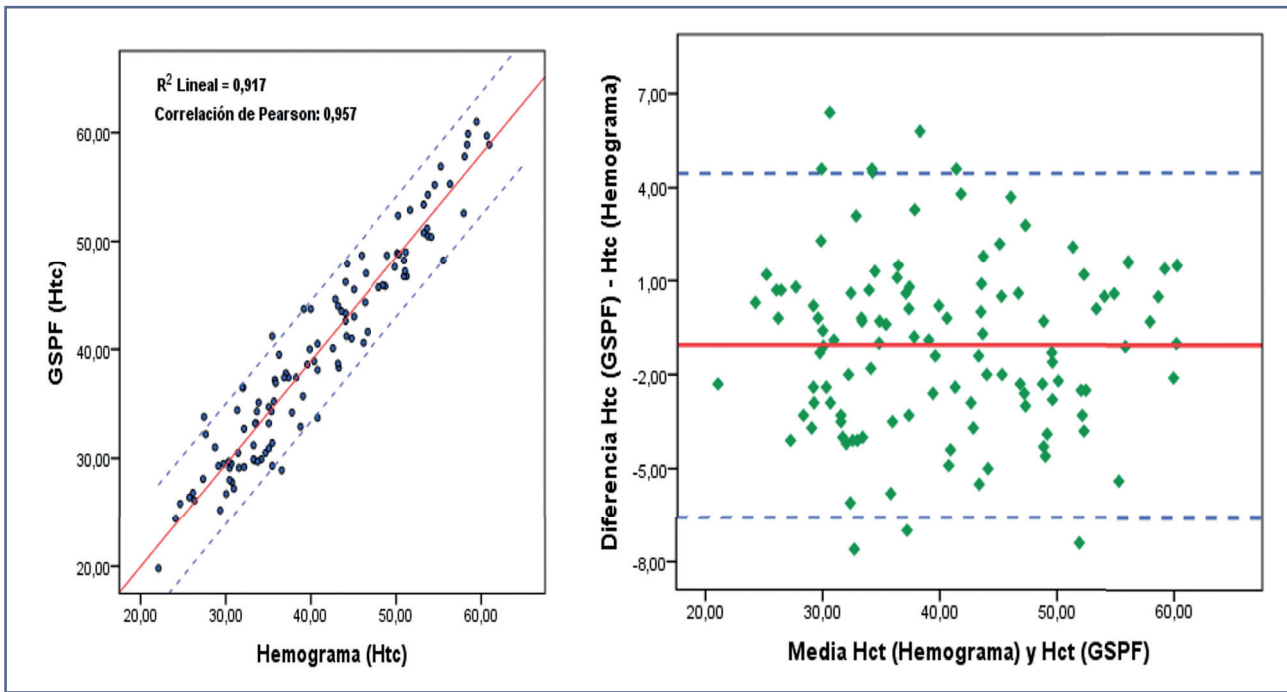


Figura 2 – Comparación mediante regresión lineal y análisis de Bland-Altman de la determinación del hematocrito en hemograma y en gotas de sangre en papel de filtro. GSPF: gotas de sangre en papel de filtro; Hct: hematocrito.

Tabla I.
Análisis de repetitividad del método analítico para la determinación del hematocrito en muestras de pacientes adultos

Paciente	Hemograma (% hematocrito)	Hematocrito GSPF (%) y días de repeticiones					CV (%)	DE (%)	Media
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5			
1	40,9	38,9	42,2	40,4	41,7	40,5	3,17	1,29	40,7
2	39,6	40,6	39,9	39,3	39,6	41,8	2,51	1,01	40,3
3	31,9	28,6	31,4	29,7	29,9	28,1	4,28	1,26	29,6
4	39,6	39,3	36,9	39,4	40,3	40,7	3,77	1,48	39,3
5	42,0	39,1	41,8	39,7	38,9	43,5	4,90	1,99	40,6
6	30,2	28,3	29,4	28,6	28,9	29,8	2,12	0,62	29,0
7	29,2	28,7	28,8	26,9	29,2	28,4	3,12	0,89	28,4
8	32,3	32,3	30,9	30,8	29,8	30,7	2,91	0,90	30,9
9	34,9	35,0	33,6	34,1	32,0	33,5	3,29	1,11	33,7
10	41,1	40,7	39,9	38,6	42,9	39,8	3,95	1,60	40,4

GSPF: gotas de sangre en papel de filtro; CV: coeficiente de variación; DE: desviación estándar.

de corrección del hematocrito, el 63,3 % de los casos se negativizó.

En relación a los valores del hematocrito, la mediana en los casos positivos fue de 48,2 % (relación O/C: 1,08), mientras que en los casos negativos fue del 45,0 % (relación O/C: 0,89).

En dos casos se reclasificaron pacientes con valores normales: 7,8 $\mu\text{UI/ml}$ y 7,9 $\mu\text{UI/ml}$ (valor de corte: 8 $\mu\text{UI/ml}$), que, aplicándoles el factor (hematocrito del 56 % y del 59 %), superaron el corte con resultados de 8,0 $\mu\text{UI/ml}$ y de 8,4 $\mu\text{UI/ml}$ (Tabla III).

Tabla II.
Tabla de aplicación del factor de corrección

Hematocrito en GSPF	Factor	TSH		IRT		17 OH-progesterona	
		(μUI/ml)		(ng/ml)		(ng/ml)	
		Sin factor	Con factor	Sin factor	Con factor	Sin factor	Con factor
12,1 %	0,22	28,0	6,2	52,0	11,4	74,8	16,5
29,5 %	0,54	12,0	6,4	50,4	27,0	28,8	15,4
54,1 %	0,98	11,2	11,0	33,0	32,4	9,3	9,1
66,1 %	1,20	4,9	5,9	21,4	25,7	10,3	12,4

GSPF: gotas de sangre en papel de filtro; TSH: tirotopina; IRT: tripsina inmunoreactiva; 17-OHP: 17-hidroxiprogesterona.

Tabla III.
Número de pacientes que requieren una nueva cita según la aplicación del factor corrector

	Sin corrección		Con corrección		t	p		
	Pacientes recitados sin corrección	O/C sin corrección	Pacientes recitados con corrección	O/C con corrección				
TSH	49	1,14	18	1,08	31	0,89	2,596	0,012
IRT	44	1,46	25	1,39	19	0,88	3,778	< 0,001
17OH	90	1,19	39	1,16	51	0,88	6,653	< 0,001

O/C: valor obtenido / valor de corte; t: prueba t para igualdad de medias; TSH: tirotopina; IRT: tripsina inmunoreactiva; 17-OHP: 17-hidroxiprogesterona.

17-OH-progesterona

Se detectaron 90 muestras con 17-OHP por encima del valor de corte con una relación O/C de 1,19. Al reevaluar las muestras aplicando el factor de corrección del hematocrito, el 56,7 % de los casos se negativizó.

En relación a los valores del hematocrito, la mediana en los casos positivos fue del 49,7 % (relación O/C: 1,16), mientras que en los casos negativos fue del 41,7 % (relación O/C: 0,88). Se reclasificaron 3 pacientes catalogados con valores normales de 21,5 ng/ml, 21,8 ng/ml y 21,2 ng/ml (valor de corte: 22 ng/ml), que superaron el valor de corte al aplicarles el factor del hematocrito (hematocritos: 56 %, 59 % y 58 %, respectivamente). Se obtuvieron los resultados de 22,0 ng/ml, 23,6 ng/ml y 22,3 ng/ml (Tabla III).

Tripsina inmunoreactiva

Se detectaron 44 muestras con IRT por encima del valor de corte con una relación O/C de 1,46. Al reevaluar las muestras aplicando el factor de corrección del hematocrito, el 43,2 % de los casos se negativizó.

Recordemos que este marcador es reactante de fase aguda y varios de los pacientes se encontraban hospitalizados por diversas causas. En relación a los valores del hematocrito, la mediana en los casos positivos fue del 45,8 % (relación O/C 1,39), mientras que en los casos negativos fue del 35,6 % (relación O/C: 0,88). No se reclasificaron resultados normales (Tabla III).

Resultados generales del cribado neonatal

De los 183 pacientes que habían superado el valor de corte sin considerar la variable del hematocrito, al aplicarle la corrección del paquete globular, 82 pacientes siguieron superando el valor de corte, con un hematocrito media de 50,3 %, y de los 101 pacientes que obtuvieron valores normales su media fue de 39,8 % (Tabla IV).

Además, hubo 5 reclasificaciones hacia valores positivos. En todos los casos eran resultados dudosos muy cercanos a los valores de corte que superaban con la estimación del hematocrito. Se obtuvieron un 47,5 % (87) de solicitudes de nueva muestra con respecto a los datos iniciales (183) y se evidenció un descenso de solicitudes del 52,5 % y un total de 96 pacientes menos.

Tabla IV.
Número de muestras que superan el punto de corte según la prueba, el analizador empleado y la aplicación del factor corrector del hematocrito

	Marca	Sin Hct	Con Hct	%
TSH	MP Biomedicals	23	7	30,4
	Perkin Elmer	26	11	42,3
	Subtotal	49	18	36,7
IRT	MP Biomedicals	3	1	33,3
	Perkin Elmer	41	24	58,5
	Subtotal	44	25	56,8
17-OHP	MP Biomedicals	76	34	44,7
	Perkin Elmer	14	5	35,7
	Subtotal	90	39	43,3
Total		183	82	44,8

Hct: hematocrito; TSH: tiotropina; IRT: tripsina inmunorreactiva; 17-OHP: 17-hidroxiprogesterona.

CONCLUSIÓN

La estimación del hematocrito permite la corrección del volumen del paquete globular en la muestra de GSPF. Conociendo el valor de esta variable se normalizan las diferencias en los analitos del cribado neonatal, susceptibles al efecto hematocrito (14,15).

Hemos descrito, analizado y validado un método rápido y simple para medir la Hb y estimar el hematocrito a partir de una muestra de GSPF utilizando equipos que normalmente se encuentran en laboratorios de CN. Aunque el método es destructivo, utiliza un pequeño fragmento de la muestra y deja el resto para otros análisis necesarios. El hematocrito no debería realizarse de rutina, puesto que cada vez se realizan más determinaciones dentro de los programas de CN.

Aunque en el CN los falsos positivos son abundantes, debido a que se intenta que disminuyan al máximo los falsos negativos, estos generan una angustia innecesaria en los padres de los bebés que vuelven a citarse (16-18). Adicionalmente, la realización de nuevas pruebas en estos pacientes alarga los tiempos hasta el diagnóstico certero, que son cruciales para instaurar precozmente el tratamiento y evitar la morbimortalidad de estas enfermedades (19).

Basándonos en los resultados obtenidos, la principal limitación de nuestro estudio es la cantidad de muestras procesadas. Al trabajar con patologías de baja prevalencia es necesario ampliar la investigación para confirmar el comportamiento de las muestras con resultados patológicos y dudosos a la corrección del hematocrito. Además, habría que realizar un análisis con un mayor número de muestras en los pacientes prematuros y de bajo peso al nacer con el fin de utilizar mues-

tras del CN (son muestras valiosas y muy escasas) en la población que necesite la corrección del hematocrito. Otra limitación podría ser la presencia de interferencias analíticas en la medición del complejo SLS-Hb, ya que desconocíamos las condiciones de lipemia e ictericia de nuestras muestras, que podrían afectar a los resultados al tratarse de una técnica colorimétrica.

Por tanto, nuestros resultados muestran que la estimación del hematocrito permitiría la corrección del volumen en la muestra GSPF, que es muy sencilla de calcular. Sugerimos el uso de la estimación del hematocrito para muestras que excedan el valor de corte, resultados dudosos, pacientes prematuros o de bajo peso al nacer. En conclusión, nuestro estudio muestra que sería posible disminuir las solicitudes de nuevas muestras en las patologías estudiadas del CN incorporando una variable que no suele ser utilizada en el laboratorio. La corrección del hematocrito utilizando SLS es una técnica simple que ha demostrado un comportamiento técnico alentador para disminuir la cantidad de falsos positivos.

BIBLIOGRAFÍA

- Hall K. Max Wilson and the Principles and Practice of Screening for Disease. *Int J Neonatal Screen* 2020;6(1):15. DOI: 10.3390/ijns6010015
- Powell CM. What is Newborn Screening? *N C Med J* 2019;80(1):32-6. DOI: 10.18043/ncm.80.1.32
- Marín Soria JL, González de Aledo Castillo JM, Argudo Ramírez A, López Galera RM, Pajares García S, Ribes Rubió A, et al. Inicio, evolución y situación actual de los Programas de Cribado Neonatal en España [Beginnings, evolution and current situation of the Newborn Screening Programs in Spain.]. *Rev Esp Salud Pública* 2021;95:e202102041.

4. la Marca G. La organización del cribado neonatal en Italia: comparación con Europa y el resto del mundo [The Newborn Screening Program in Italy: Comparison with Europe and other Countries.]. *Rev Esp Salud Pública* 2021;95:e202101007.
5. Ley 26279. Detección y tratamiento de determinadas patologías en el recién nacido. Honorable Congreso de la nación Argentina [citado el 12 de junio de 2018]. Boletín oficial (Argentina) 2007;31232(1). Disponible en: <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/verNorma.do?id=131902>
6. Therrell BL, Padilla CD, Loeber JG, Kneisser I, Saadallah A, Borrajo GJ, et al. Current status of newborn screening worldwide: 2015. *Semin Perinatol* 2015;39(3):171-87. DOI: 10.1053/j.semperi.2015.03.002
7. Miller JH, Poston P, Rutan S, Karnes T. An On-card Approach for Assessment of Hematocrit on Dried Blood Spots Which Allows for Correction of Sample Volume. *J Anal Bioanal Techniques* 2013;4:162.
8. Oostendorp M, El Amrani M, Diemel EC, Hekman D, van Maarseveen EM. Measurement of Hematocrit in Dried Blood Spots Using Near-Infrared Spectroscopy: Robust, Fast, and Nondestructive. *Clin Chem* 2016;62(11):1534-6. DOI: 10.1373/clinchem.2016.263053
9. Zhang S, Soller B, Kaur S, Perras K, Vander Salm T. Investigation of Noninvasive in Vivo Blood Hematocrit Measurement Using NIR Reflectance Spectroscopy and Partial Least-Squares Regression. *Applied Spectroscopy* 2000;54(2):294-9. DOI: 10.1366/0003702001949258
10. Denniff P, Spooner N. The effect of hematocrit on assay bias when using DBS samples for the quantitative bioanalysis of drugs. *Bioanalysis*. 2010 Aug;2(8):1385-95. DOI: 10.4155/bio.10.103. Erratum in: *Bioanalysis*. 2011;3(7):818.
11. Mei JV, Alexander JR, Adam BW, Hannon WH. Use of filter paper for the collection and analysis of human whole blood specimens. *J Nutr* 2001;131(5):1631S-6S. DOI: 10.1093/jn/131.5.1631S
12. Richardson G, Marshall D, Keevil BG. Prediction of haematocrit in dried blood spots from the measurement of haemoglobin using commercially available sodium lauryl sulphate. *Ann Clin Biochem* 2018;55(3):363-7. DOI: 10.1177/0004563217726809
13. Li W, Lee MS. *Dried Blood Spots: Applications and Techniques*. 1.^a edición. Nueva York: Wiley; 2014.
14. Wilde H, Montgomery M, Baskin L, Gray D, Lyon M. Impact of patient hematocrit on CF newborn screening results. *J Cyst Fibros* 2008;7(1):15. DOI: 10.1016/S1569-1993(08)60056-9
15. Hall EM, Flores SR, De Jesús VR. Influence of Hematocrit and Total-Spot Volume on Performance Characteristics of Dried Blood Spots for Newborn Screening. *Int J Neonatal Screen* 2015;1(2):69-78. DOI: 10.3390/ijns1020069
16. Schmidt JL, Castellanos-Brown K, Childress S, Bonhomme N, Oktay JS, Terry SF, et al. The impact of false-positive newborn screening results on families: a qualitative study. *Genet Med* 2012;14(1):76-80. DOI: 10.1038/gim.2011.5
17. Gurian EA, Kinnamon DD, Henry JJ, Waisbren SE. Expanded newborn screening for biochemical disorders: the effect of a false-positive result. *Pediatrics* 2006;117(6):1915-21. DOI: 10.1542/peds.2005-2294
18. Tu WJ, He J, Chen H, Shi XD, Li Y. Psychological effects of false-positive results in expanded newborn screening in China. *PLoS One* 2012;7(4):e36235. DOI: 10.1371/journal.pone.0036235
19. Bailey DB. Early intervention and newborn screening: parallel roads or divergenthighways? *Infants Young Child* 2021;1(34):3-16. DOI:10.1097/IYC.0000000000000181