

## DIAGNOSTICO PRECOZ DE FENILCETONURIA EN CUBA. (INFORME PRELIMINAR)

INSTITUTO DE CIENCIAS BASICAS Y PRECLINICAS "VICTORIA DE GIRON"

Dr. Luis Heredero\*, Dr. Gustavo Atencio\*\*, Lic. Jorge L. Vega\*\*\*, Lic. Enna Gutiérrez\*\*\*\* y  
Dra. Astrea Damiani\*\*\*\*\*

Heredero, L. y otros: *Diagnóstico precoz de fenilcetonuria en Cuba. (Informe preliminar).*

Se procesan, con el objetivo de realizar un diagnóstico precoz de fenilcetonuria, y así prevenir el retraso mental por esta causa, 52 988 muestras de sangre de recién nacidos, desde mediados de 1981 hasta octubre de 1984, procedentes de las provincias Pinar del Río, La Habana, Ciudad de La Habana, Matanzas, Villa Clara, Cienfuegos, Sancti Spiritus y Ciego de Avila. Se les aplica el *test* microbiológico de Guthrie-Susi como método de diagnóstico primario. Se utilizan para su confirmación métodos fluorimétricos que registran las concentraciones séricas de fenilalanina y tirosina. Se diagnostica como resultado del trabajo un caso de fenilcetonuria clásica y un caso de hiperfenilalaninemia intermedia, encontrándose ambos bajo tratamiento.

### INTRODUCCION

La fenilcetonuria (PKU) es un error congénito del metabolismo de la fenilalanina, debido al déficit de la enzima fenilalanina hidroxilasa. Se caracteriza por un severo retraso mental de instalación progresiva, desde el nacimiento hasta los 3 años de edad.<sup>1</sup> Constituye del 1 al 2% de todos los retrasados mentales en Europa, EE.UU., Canadá y otros países.<sup>1</sup> En Cuba también existe esta enfermedad.<sup>2</sup>

La instauración de una dieta pobre en fenilalanina en las primeras semanas de vida evita el retraso mental.<sup>3</sup>

Este trabajo tiene como objetivo instaurar en nuestro Sistema de Salud la detección de recién nacidos fenilcetonúricos para prevenir el retraso mental por esta causa.

### MATERIAL Y METODO

Desde septiembre de 1981 hasta octubre de 1984 se han analizado 52 988 muestras de recién nacidos procedentes de policlínicos, hospitales ginecoobstétricos, hospitales rurales y puestos médicos de las provincias Pinar del Río, Habana, Ciudad de La Habana, Isla de la Juventud, Matanzas, Cienfuegos, Villa Clara, Sancti Spiritus y Ciego de Avila. Las provincias se incorporan al envío de muestras según se expresa en la tabla 1.

\* Candidato a Doctor en Ciencias. Especialista de I Grado en Genética Clínica.

\*\* Especialista de I Grado en Bioquímica Clínica.

\*\*\* Licenciado en Bioquímica.

\*\*\*\* Licenciada en Biología.

\*\*\*\*\* Especialista de I Grado en Pediatría. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Hospital Pediátrico de Centro Habana.

Tabla 1. Muestras procesadas por provincias

	Hasta dic./83	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.-sep.
Pinar del Río	—	—	—	—	—	—	—	84	313
La Habana	1 239	446	676	434	342	590	524	430	1 245
Ciudad de La Habana	17 332	1 464	1 352	1 652	1 248	1 379	1 530	1 552	3 287
Isla de la Juventud	—	—	—	—	—	38	84	30	213
Matanzas	—	379	540	421	405	274	487	412	1 342
Villa Clara	1 587	656	758	700	518	802	639	607	1 729
Cienfuegos	—	—	—	—	—	125	262	281	328
Sancti Spiritus	—	—	—	—	—	144	381	371	1 024
Ciego de Avila	—	—	—	—	—	—	—	18	279
	20 158	2 945	3 361	3 207	2 513	3 352	3 907	3 785	9 760
<b>Total</b>									<b>52 988</b>

Se establecieron 2 centros diagnósticos para todo el país, uno en Ciudad de La Habana (Laboratorio de Genética ICBP "Victoria de Girón") y otro en Santiago de Cuba, que aún no está funcionando. El primero atiende el occidente del país, desde Pinar del Río hasta Ciego de Avila. También establecimos un centro de tratamiento único en el Hospital Pediátrico de Centro Habana (figura 1).

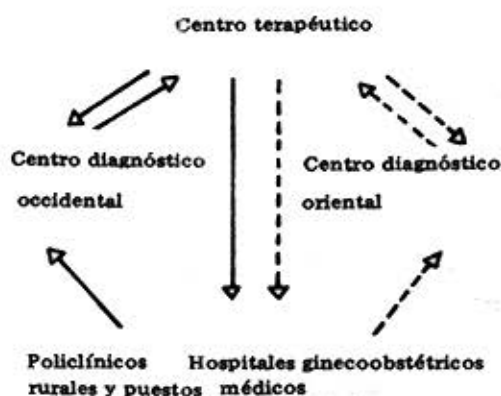


Figura 1. Organización del pesquiasaje.

un hospital pediátrico de la provincia en cuestión, fue enviada por vía directa al CDO.

Para la detección de dudosos y el diagnóstico positivo, utilizamos los métodos de Guthrie<sup>4</sup> en el primer caso, y de Mc Caman<sup>5</sup> y Wong<sup>6</sup> en el segundo.

El procedimiento empleado fue el siguiente: en los casos con niveles de fenilalanina igual o mayor que 4 mg%, se repite la prueba de Guthrie, y si se mantiene el mismo resultado, se determina en una segunda muestra de suero o plasma (2 ml) la concentración cuantitativa de fenilalanina y además tirosina (figura 2).

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción del talón en niños de 5 a 25 días de edad, preferiblemente en la primera consulta de Puericultura, excepto en los casos de permanencia en el hospital de nacimiento por más de 5 días, en que se tomó allí la muestra. Las muestras se colectaron en papel de filtro individualmente y se enviaron por correo al centro diagnóstico de occidente (CDO).

Los casos negativos no se informan, antes de la segunda consulta de Puericultura.

En los casos dudosos, una segunda muestra de suero o plasma tomada en

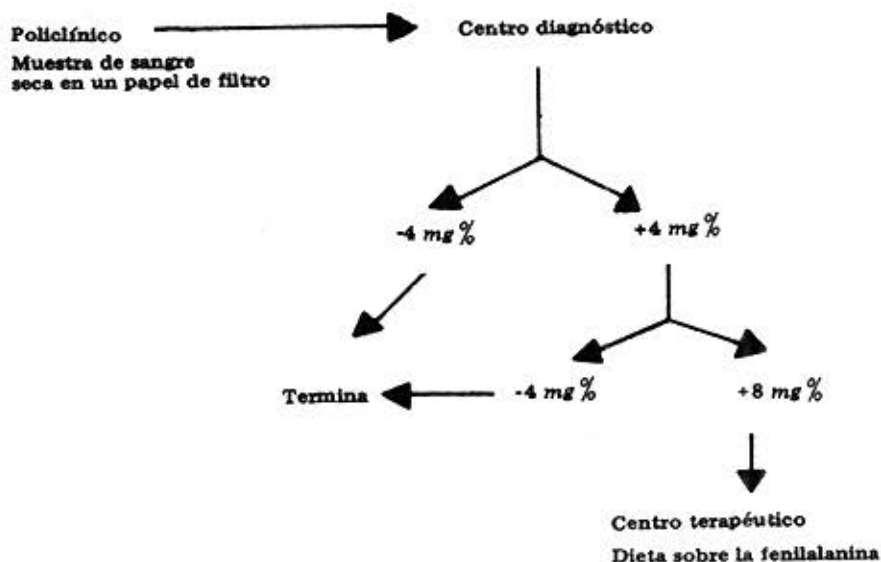


Figura 2. Procedimiento para el diagnóstico.

Instauramos un tratamiento dietético con berlophen (RDA), en todos los casos con cifras persistentes de fenilalanina sobre los 8 mg % en sangre.

La suspensión de la dieta por 24-48 horas y la determinación posterior de la fenilalanina, permite la conformación del diagnóstico, al observarse el retorno a los altos niveles que existían antes del tratamiento.

## RESULTADOS

Como se observa en la tabla 2, en el período de enero a septiembre de 1984 se analizó el 60,6% de todos los recién nacidos en las provincias occidentales hasta Ciego de Avila, lo que representa el 25,1% de todos los nacidos vivos en instituciones del país. El período anterior no fue analizado, ya que la incorporación de las provincias y municipios fue muy irregular y pobre.

De todas las muestras analizadas el 99,9% fue negativo, 65 casos resultaron positivos, 62 con valores entre 4 y 6 mg % de fenilalanina, 2 entre 8 y 12 mg, y 1 con cifras superiores a 20 mg.

El segundo análisis se realizó la semana siguiente. Los casos positivos arrojaron resultados que se observan en la tabla 3. Como podemos observar sólo 2 casos (0,004%) mantuvieron niveles de fenilalanina sobre 8 mg %, y fueron remitidos al centro de tratamiento, donde se les aplicó el mismo.

Los restantes 63 casos resultaron ser falso-positivos, y se encontraron como causas las siguientes: íctero del recién nacido; 4 prematuros; 4 niños alimentados con fórmula basal; 1 anomalía congénita múltiple, incluyendo afectación renal grave; en los 52 restantes casos no fue posible determinar la causa, no obstante, pudieron deberse a situaciones similares a las encontradas o a errores en la toma de muestras, problemas técnicos, contaminación por hongos, aumento de algún aminoácido que interfiera con el método, como la leucina. En resumen, sólo en el 0,16% de falso-positivos se determinó la causa (tabla 4).

Tabla 2. Porcentaje de muestras tomadas contra los nacidos vivos. Enero-septiembre, 1984

Provincia	Muestras tomadas (MT)	Recién nacidos (RN) vivos (en instituciones)	MT/RN X 100
Pinar del Río*	397	2 508	15,8
Habana	4 687	6 141	76,3
Ciudad de La Habana**	13 864	20 066	69,1
Matanzas	4 260	5 988	71,1
Villa Clara	6 409	7 637	83,9
Cienfuegos***	996	3 875	25,7
Sancti Spiritus***	1 920	4 234	45,3
Ciego de Avila*	297	3 686	8,1
Total	32 830	54 135	60,6
Cuba	32 830	116 452	25,1

\* Comenzó julio/84.

\*\* Isla de la Juventud comenzó mayo/84.

\*\*\* Comenzó mayo/84.

Tabla 3. Resultados

Total de muestras	Primera determinación		Método microbiológico	
	0 - 4	4 - 6	8 - 12	(+) de 20
52 988	52 923 (99,9%)	62 (0,1%)	2 (0,004%)	1 (0,002%)
Total de muestras	Segunda determinación		Método fluorimétrico	
	0 - 4	8	31,1	
64	62	1*	1**	

\* Presentó niveles de tirosina de 4,2 mg%.

\*\* Presentó niveles de tirosina inferiores a 1 mg%.

En el 97,34% del total de muestras que fueron tomadas en niños de 5 a 25 días de edad, como puede observarse en la tabla 5, sólo el 0,03% se tomó antes de las 48 horas de nacido, lo que ocurrió en las primeras etapas del trabajo, y el 0,1% se tomó en niños de más de 25 días de edad. En 240 casos (0,45%), no se acotó el dato, esto ocurrió fundamentalmente durante los años 81-82.

En general, 3 982 muestras fueron mal tomadas, lo cual constituye el 7,5% del total. Las causas de muestras mal tomadas fueron las siguientes: toma insuficiente de sangre, el uso de papel de filtro inadecuado y la colección incorrecta de la sangre, al añadirla por ambos lados del papel de filtro, o permitir que la primera gota de sangre coagulase antes de añadir las siguientes, lo que trajo como consecuencia que no se obtuviese una mancha homogénea en ambas caras del papel.

Del total de muestras (52 988), se tomaron mal 3 982, para el 7,5%, cuyas causas son las siguientes:

1. Insuficiente cantidad de sangre.
2. Uso de papel de filtro inadecuado.
3. Colección incorrecta de la muestra.
  - Por añadir la sangre por ambas caras del papel.
  - Por añadir de forma discontinua la sangre, coagulándose antes de atravesar el papel.

Todas las muestras llegaron al centro diagnóstico entre 1 y 7 días posteriores a su envío, con muy raras excepciones.

Tabla 5. Edad del recién nacido al tomársele la muestra

Total de muestras	De 0 a 48 horas	De 48 horas a 5 días	De 5 a 25 días	Más de 25 días	No se anotó el dato
52 988	18 (0,03%)	1 137 (2,147)	51 579 (97,34)	1 (0,122)	240 (0,45)

Tabla 4. Falso-positivos: Posibles causas

Total de muestras	52 988	
Total de falso-positivos	62 (0,1%)	
Causas		
Ictero del recién nacido	1	0,002%
Prematuros	4	0,008%
Dieta artificial	4	0,008%
Anomalías congénitas con grave afección renal	1*	0,002%
Causa desconocida	52	0,098%

\* Falleció antes de la segunda determinación.

## DISCUSION

En el Programa de Detección Masiva de una enfermedad, el aspecto determinante en la calidad del mismo es el porcentaje de captación. En nuestro caso, el 60,6% obtenido es bajo, lo cual se debe fundamentalmente al comienzo reciente del mismo en las 8 provincias estudiadas, ya que 2 de ellas, sólo llevan en el momento de realizarse el trabajo 1 mes, otras 2 comenzaron hace 6 meses, además de la Isla de la Juventud. Aun en el caso de las provincias Habana, Matanzas, Villa Clara y Ciudad de La Habana (sin contar Isla de la Juventud), 1 año en las 3 primeras, y 3 en la última, no es un tiempo suficiente para el logro del engranaje organizativo que permita mayores por cientos de captación. En el transcurso del año 1985 esta cifra debe elevarse considerablemente.

Dado el bajo número de muestras procesadas, no es posible llegar a criterios valederos sobre la incidencia de esta enfermedad.

Sobre los resultados de los análisis, el caso de fenilcetonuria clásica encontrado y, por otro lado, la hiperfenilalaninemia persistente que requiere tratamiento,<sup>1</sup> reafirman la certeza de la existencia de estas afecciones en Cuba y la necesidad del programa.<sup>2</sup>

La determinación de 64 falso-positivos, algunos de ellos con causas posibles demostradas; está acorde con resultados obtenidos en otros países;<sup>1</sup> no obstante, en el futuro, debemos lograr determinar la causa en un mayor número de casos.

La edad en que se tomó el 97,34% de las muestras, y el hecho de que los casos fuera de este grupo se tomaron en gran medida al principio del programa, nos hace prever que en los próximos 6 meses es posible elevar estos resultados, que están acordes con el tiempo óptimo de toma de muestras planteado en la literatura.<sup>1</sup>

En nuestro criterio, el aspecto más negativo del programa trazado se refiere a la mala toma de la muestra; el 7,5% obtenido, es una cifra alta, que puede tener relación con la falta de información correcta al respecto; es éste un aspecto organizativo a superar.

La sensibilidad y especificidad del método microbiológico deben ser analizadas posteriormente mediante estudios en poblaciones con resultados negativos, fundamentalmente en aquéllos con retraso en el desarrollo psicomotor o afectación susceptible de ser producida por la fenilketonuria, aspecto que queda pendiente.

Los casos tratados evolucionan satisfactoriamente hasta la fecha.

Consideramos que este programa debe ser ampliado al resto de las provincias y aumentarse la captación de recién nacidos, dada la importancia de prevenir un tipo de retraso que puede ser erradicado de nuestro medio.

## Agradecimientos

*Reconocemos la cooperación de los doctores G. Cobet y G. Machill, de la Universidad de Greifswald, (RDA), por la donación del bacilo subtilis ATCC 6051 y asesoramiento técnico, así como al Lic. J. Quintana, del Instituto de Higiene y Epidemiología "Carlos J. Finlay", por su ayuda en la producción, mantenimiento del bacilo y asesoramiento técnico.*

## SUMMARY

Herederó, L. et al.: *Early diagnosis of phenylketonuria in Cuba. (Preliminary report).*

In order to perform an early diagnosis of phenylketonuria and to prevent, in that way, mental retardation due to such cause, 52 988 blood samples from newborns were processed since about the middle of 1981 up to October 1984. The samples came from Pinar del Río, Havana, Havana City, Matanzas, Villa Clara, Cienfuegos, Sancti Spiritus and Ciego de Avila Provinces. Guthrie-Susi microbiologic test was applied as primary diagnosis method. Fluorimetric methods capable of recording phenylalanine and thyroxine concentrations in serum are used for verification. As result of this work, a case of classic phenylketonuria and a case of intermediate hyperphenylalaninemia are diagnosed and both are under treatment.

## RÉSUMÉ

Herederó, L. et al.: *Diagnostic précoce de phénylcétonurie à Cuba. (Rapport préliminaire).*

Afin de réaliser un diagnostic précoce de phénylcétonurie et de prévenir ainsi le retard mental dû à cette cause, il a été analysé 52 988 prélèvements de sang de nouveau-nés, provenant des provinces Pinar del Río, La Havane, La Havane-Ville, Matanzas, Villa Clara, Cienfuegos, Sancti Spiritus et Ciego de Avila, dans la période comprise entre la moitié de l'an 1981 et octobre 1984. Les échantillons ont été soumis au test microbiologique de Guthrie-Susi, comme méthode de diagnostic primaire. Pour leur confirmation, il a été utilisé les méthodes fluorimétriques qui enregistrent les taux sériques de phénylalanine et de thyrosine. Il a été diagnostiqué un cas de phénylcétonurie classique et un cas d'hyperphénylalaninémie moyenne, tous les deux étant actuellement sous traitement.

## BIBLIOGRAFIA

1. Knox, W. E.: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. 3rd. ed., New York, Mc Graw-Hill Book Company, 1972.
2. Atencio, G.: *Pesquisaje de la fenilketonuria en poblaciones de recién nacidos y retrasados mentales*. Tesis de Terminación de Residencia, 1982. Pp. 62-63.
3. Bickel, H.: *Influence of phenylalanine intake on phenylketonuria*. *Lancet* 2: 812, 1953.
4. Guthrie, R.; A. Susi: *A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants*. *Pediatrics* 32 (3): 338, 1963.

5. *Mc Caman, M. W.; E. Robins*: Fluorimetric method for the determination of phenylalanine in serum. *J Lab Clin Med* 59: 885, 1962.
6. *Wong, P. W. K.; M. E. O'Flynn; T. Inouye*: Micromethods for measuring phenylalanine and tyrosine in Serum. *Clin Chem* 10 (12): 1098, 1964.

Recibido: 4 de noviembre de 1984. Aprobado: 24 de diciembre de 1984.

Dr. *Luis Heredero*. Departamento de Genética Médica ICBP "Victoria de Girón". Ave. 146 No. 3102 Reparto Cubanacán, Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.

