



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

---

**Instituto Nacional de Perinatología**  
Isidro Espinosa de los Reyes

**Detección de hemoglobinopatías en el tamizaje neonatal**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**ESPECIALISTA EN NEONATOLOGÍA**

**PRESENTA**

**IRINA YUNNUEN MERCADO PAREDES**

**DRA. IRMA ALEJANDRA CORONADO ZARCO**

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE  
ESPECIALIZACIÓN EN NEONATOLOGIA**

**DR. OCTAVIO MARTINEZ VILLEGAS  
DIRECTOR DE TESIS**



INPer

Ciudad de México

AÑO 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AUTORIZACIÓN DE TESIS

“Detección de hemoglobinopatías en el tamizaje neonatal”



---

Dra. Viridiana Gorbea Chávez  
Directora de Educación en Ciencias de la Salud  
Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinoza de los Reyes”



---

Dra. Alejandra Coronado Zarco  
Profesora Titular del Curso de Neonatología  
Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinoza de los Reyes”



---

Dr. Octavio Martínez Villegas  
Director de tesis y asesor metodológico  
Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinoza de los Reyes”

# ÍNDICE

<b>DETECCIÓN DE HEMOGLOBINOPATÍAS EN EL TAMIZAJE NEONATAL.....</b>	<b>3</b>
<b>Resumen: .....</b>	<b>3</b>
<b>Antecedentes .....</b>	<b>4</b>
<b>Tamiz neonatal .....</b>	<b>6</b>
<b>Planteamiento del problema. ....</b>	<b>7</b>
<b>Justificación del proyecto.....</b>	<b>7</b>
<b>Objetivo general:.....</b>	<b>8</b>
<b>Objetivos específicos: .....</b>	<b>8</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODO .....</b>	<b>8</b>
<b>Diseño o procedimiento .....</b>	<b>8</b>
<b>Diagrama de estudio.....</b>	<b>8</b>
<b>Procedimiento:.....</b>	<b>9</b>
<b>Variables de estudio:.....</b>	<b>9</b>
<b>Definiciones operacionales:.....</b>	<b>10</b>
<b>RESULTADOS:.....</b>	<b>12</b>
<b>Patrón de hemoglobinas. ....</b>	<b>14</b>
<b>DISCUSIÓN:.....</b>	<b>15</b>
<b>Bibliografía:.....</b>	<b>17</b>
<b>Aspectos éticos. ....</b>	<b>18</b>
<b>Bioseguridad.....</b>	<b>18</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>19</b>
<b>Anexo 1. Formato de recolección de datos. ....</b>	<b>19</b>
<b>Anexo 2. Consentimiento bajo información .....</b>	<b>20</b>
<b>Anexo 3. Consentimiento para conservación de muestras biológicas ...</b>	<b>22</b>
<b>Anexo 4. Técnica para toma de muestra de sangre por punción de arteria umbilical.....</b>	<b>24</b>

## DETECCIÓN DE HEMOGLOBINOPATÍAS EN EL TAMIZAJE NEONATAL

Dr. Octavio Martínez Villegas<sup>a</sup>, Dra. Irina Yunnuen Mercado Paredes

<sup>a</sup> Investigador en Ciencias Médicas adscrito del servicio Hematología perinatal, <sup>b</sup> Residente de 2do año de Neonatología

### Resumen:

**Introducción.** En el 2006 la Organización Mundial de la Salud, recomendó a los Estado integrantes, la evaluación de los programas de tamizaje del estado de portador de la enfermedad de células falciformes (HbS) y los síndromes talasémicos. Una estrategia exitosa ha sido el tamiz neonatal que incluye diversas condiciones susceptibles de modificarse con esta intervención. A pesar de la recomendación de la OMS, en nuestro país no existen reportes sobre el tamizaje de hemoglobinas anormales en población abierta, ni al nacimiento ni durante otra etapa de la vida. Este hecho ha dificultado establecer su impacto relativo al compararse con otras enfermedades detectadas en el tamiz neonatal.

**Objetivo:** Evaluar la estrategia de diagnóstico temprano de las hemoglobinopatías a través del tamizaje en neonatos de bajo riesgo perinatal..

**Material y Métodos:** Mediante un muestro consecutivo, se incluirán recién nacidos de mediano y bajo riesgo perinatal, de 34.1 a 41.6 semanas de gestación. A partir de muestras de sangre total, se efectuara el tamizaje mediante electroforesis capilar, para la identificación y cuantificación de las variantes de la hemoglobina (HbA, HbA2, HbF, HbS, HbD, HbC y HbE). Los casos reactivos se confirmarán mediante la secuenciación o amplificación de regiones específicas del gen de la Globina.

**Resultados.** En el periodo de estudio 411 muestras cumplieron los criterios de inclusión. Ninguna muestra mostró corrimiento electroforético para HbS, HbD y HbE. Del total de las muestras 68 presentaron HbA2 en un rango de 0.1 – 1.5%, HbC en 63 pacientes con un rango de 0.1 – 1%, los rangos de Hb presentes en ambos casos se consideraron normales; tres pacientes tuvieron Hb Bart, sin embargo todos con una cifra <1%, considerándose no significativa para sospecha para enfermedad de la Hb H.

**Conclusiones.** La electroforesis capilar en sangre de cordón umbilical es un método confiable para la detección de variantes de hemoglobina.

Palabras clave: Neonatal screening. Thalassemia. Abnormal hemoglobins.

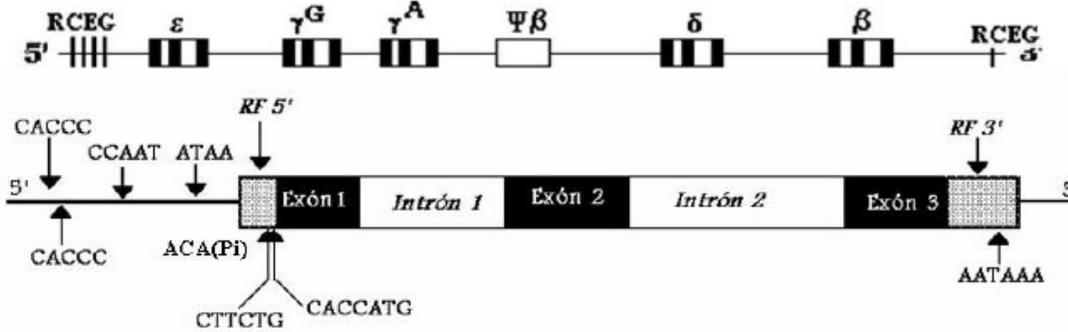
## Antecedentes

La anemia es un problema de salud pública que afecta a países desarrollados y subdesarrollados con consecuencias graves tanto para la salud como para el desarrollo social y económico. Ocurre en todas las etapas de la vida pero tiene mayor prevalencia en las mujeres embarazadas, periodo neonatal y la niñez temprana[1, 2]. De acuerdo a la base global de datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicada en el 2008, la frecuencia de anemia en México de acuerdo a género y grupos etarios fue: niños de 0 a 5 años 23.7%; mujeres de 12 a 14.99 años: 8.2 – 14.4%; mujeres de 15 a 44.99 años: 15.6%; mujeres gestantes: 20.6%; hombres de 15 a 59.99 años: 5.3%[3]. Las causas son multifactoriales, sin embargo una de las principales causas a nivel mundial es la deficiencia de hierro; en el año 2002 fue considerada como uno de los mayores factores contribuyentes de la carga global de enfermedades y generalmente se asume que el 50% de los casos de anemia son debidos a esta, pero la proporción puede variar conforme a los grupos de población y diferentes áreas de acuerdo a las condiciones locales[3]. En un estudio prospectivo realizados en nuestro país se reporta hasta el 78.8% como causa de anemia microcítica y/o hipocrómica la deficiencia de hierro[4]. El resto de las causas de anemia microcítica y/o hipocrómica puede deberse a causas relacionadas a problemas intrínsecos del eritrocito, especialmente las hemoglobinopatías[5]. En el mundo existen más de 270 millones de portadores o enfermos de alguna hemoglobinopatía. El uno por ciento de las mujeres embarazadas están en riesgo de tener un hijo con la enfermedad, resultando aproximadamente 330 000 niños afectados al año[6] ya sea en su estado homocigoto, heterocigoto compuesto para anemia drepanocítica o para algún tipo de talasemia grave[6, 7].

La hemoglobina es el principal transportador de oxígeno, está formada por 4 cadenas globínicas y de acuerdo al tipo de cadenas de globina que contenga en un adulto podemos encontrar los siguientes tipos de hemoglobina: A1 ( $\alpha$  y  $\beta$ ) en un 95%, A2 ( $\alpha$  y  $\delta$ ) en un 3% y Fetal ( $\alpha$  y  $\gamma$ ) en un 1.5%.

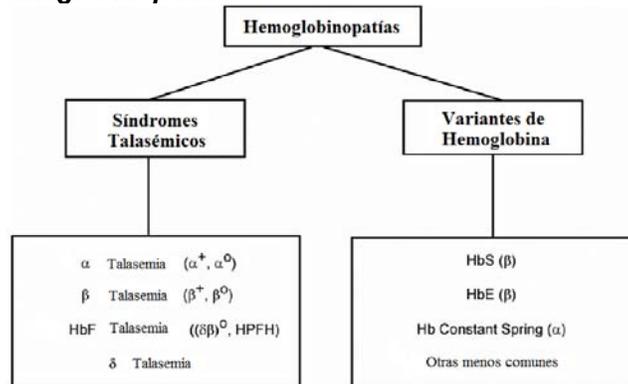
Las mutaciones de los genes que codifican para la globina alteran su producción, ocasionando síndromes talasémicos; por otra parte cuando se producen mutaciones que producen proteínas anormales se llaman variantes de hemoglobina o hemoglobinas anormales[7]. Las  $\beta$ -Talasemias y Hemoglobinopatías son enfermedades monosómicas con alta frecuencia en las poblaciones del área Mediterránea, Medio-Este, Subcontinente Indio, Extremo Oriente, África tropical y el Caribe[1]. Los genes globínicos  $\beta$  se localizan en el cromosoma 11p15.5 tiene una extensión aproximada de 65 kilobases (kb) y consta de 5 genes funcionales:  $\epsilon$ ,  $\gamma^G$ ,  $\gamma^A$ ,  $\delta$ ,  $\beta$  y de un pseudogen llamado  $\Psi\beta$ [8]. Estos genes globínicos tienen una estructura interna similar con una longitud aproximada de 1.6 kb y están constituidos del extremo 5' a 3' (Figura 1).

**Figura 1. Genes globínicos  $\beta$  y estructura del gen.**



De manera inicial las hemoglobinopatías se agrupan en síndromes talasémicos o variantes de hemoglobina. Los síndromes talasémicos se subclasifican basados en el gen envuelto, ya sea alfa o beta talasemias y a su vez se subdividen en  $\alpha^+$ ,  $\beta^+$  o  $\alpha^0$ ,  $\beta^0$  dependiendo si algo (+) o nada (0) de la globina se produce como resultado de una mutación causal. Aparte de la descripción temprana de las variantes de la Hb las cuales tienen una letra alfabética como por ejemplo HbC, HbD, HbE, etc, las variantes de la HbS usualmente se llaman por el sitio en donde fueron descritas, por ejemplo la Hb Constant Spring, Hb Caperdown, Hb Westmead, etc (Figura 2).

**Figura 2. Clasificación de Hemoglobinopatías.**



En las última décadas el constante flujo migratorio han hecho que estas patologías se extiendan mucho más y en consecuencia representando un problema de salud pública[9]. En nuestro país, las primeras observaciones de los síndromes talasémicos se efectuaron a partir de 1950, como resultado de encuestas efectuadas en diversos grupos de población y del estudio de pacientes efectuados de anemia hemolítica[10, 11]. Posteriormente en el año de 1979 se iniciaron estudios sobre las características moleculares de la talasemia  $\alpha$  y  $\beta$ [12, 13]. De acuerdo a diferentes reportes[14], la prevalencia en México del estado portador de  $\beta$  Talasemia no es baja lo que sugiere que esta condición no es infrecuente, además algunos grupos con esta condición se han identificado una prevalencia arriba del 15%, con datos que sugieren que los genes de  $\beta$  talasemia son autóctonos[15] y otros son importados de la zona del Mediterráneo[16]. Con lo que respecta a la  $\alpha$ -talasemia de acuerdo a algunas investigaciones, se ha reportado que es responsable del 1% de las anemias microcíticas-hipocrómicas en México[17]. A la fecha se

han descrito 854 variantes de hemoglobina y talasemia que afectan al gen de la cadena  $\beta$ [18], sin embargo los estudios poblacionales han mostrado que aproximadamente 25 mutaciones representan la mayor parte de los alelos implicados en todas las poblaciones con alta frecuencia de  $\beta$ -Talasemia (7, 8), es por eso que en base a su frecuencia se pueden agrupar en: alelos frecuentes o comunes si se encuentran mayor a 10%; alelos poco frecuentes cuando están entre 5 y 10%; y alelos raros cuando es menor de 5%[19, 20](Cuadro 1).

**Cuadro 1. Alelos observados en diferentes zonas geográficas del mundo[20].**

Frecuencia	Mutaciones	País o Región
Frecuentes	Sin sentido codón 39 C – T IVS1: 1G – A IVS1: 6T – C IVS1:110 G – A	África del Norte, Europa Occidental, Balcanes, Mediterráneo y Medio Oriente
	IVS2: 745 G – C IVS2: 1 G – A	Italia, Grecia, Turquía, Francia, España, Macedonia, Bulgaria
	IVS1: 1 G – T IVS1: 5 G – C DML codón 41/42 – CTTT Delección de 619 pb	Oriente Medio, Asia y Sureste Asiática, Malasia
Poco Frecuentes	-28 A – C	Angola, Turquía, Kurdistán, México
	-87 C – G	Italia, Grecia, Turquía, Francia, Yugoslavia, Bulgaria
	Sin Sentido codón 17 A – T IVS1: 5 G – A	China, Tailandia Italia, Turquía, Grecia, España
Raros	( $\delta\beta$ ) – Talasemia tipo Español DML codón 11 – T	España, México
	( $\delta\beta$ ) – Talasemia tipo Sicilia	Islas de Sicilia y Cerdeña

### Tamiz neonatal

La identificación del estado de portador o enfermo de diversas condiciones hematológicas en el tamiz neonatal es un tema que ha sido sujeto de evaluación constante en términos de su utilidad y eficacia.

Una manera de estimar su posible impacto, es la comparación en la frecuencia de la detección de estas enfermedades hematológicas, comparadas con otras enfermedades habitualmente incluidas en el tamiz neonatal.

El problema en México, es que no existe un reporte documentado acerca de la distribución de los casos de las enfermedades comúnmente detectadas en el tamiz neonatal, como es el caso del hipotiroidismo o fenilcetonuria. Sin embargo, en la experiencia institucional y de nuestro grupo de trabajo, la probabilidad de tener un resultado positivo en la prueba de Coombs al nacimiento es de 1 en 38 neonatos. En ese mismo sentido comparativo, la

probabilidad de encontrar un caso inicialmente reactivo para la deficiencia de G6PD es de 1 por cada 187 neonatos, cifra que es 2.2 veces más común, que para la detección de hipotiroidismo neonatal.

**Estimación comparativa en los casos detectados en el tamiz neonatal.  
Experiencia Institucional y del grupo de trabajo.**

<b>Condición detectada</b>	<b>Casos detectados por 100 000 nacimientos</b>	<b>Probabilidad</b>
Coombs directos	2576	1:38
Deficiencia de G6PD	160	1:187
Hipotiroidismo neonatal	240	1:416
Galactosemia	7	1:15 000
Fenilcetonuria	7	1:15 000
Fibrosis quística	4	1:30 000

**Planteamiento del problema.**

No existe información en nuestro país sobre los resultados en el tamizaje de hemoglobinas anormales en la etapa neonatal o en otra etapa de la vida. Las dificultades se relacionan con las limitaciones de los métodos analíticos existentes, que no permiten establecer la confirmación diagnóstica de estas condiciones.

Con el avance tecnológico en los métodos analíticos de tamizaje y diagnóstico, es posible establecer una estrategia que permita cumplir con los requisitos para evaluar a una prueba de tamizaje (Criterios de Wilson). El incremento migratorio de la población en riesgo ha llevado a la implementación de programas de cribado prenatal y neonatal de hemoglobinopatías a través de Europa y Norte América. En Canadá, Reino Unido y otros países Europeos el diagnóstico prenatal para identificar portadores de hemoglobinopatías está ligado con el diagnóstico neonatal. La estructura de los programas de cribado en estos países, si es prenatal o neonatal o si es universal o selectivo tiene una variación enorme. En nuestro país no existe un programa de cribado para hemoglobinopatías, es por eso que nos surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Mediante el tamizaje y confirmación es posible conocer el impacto en la detección de las variantes de las hemoglobinas en el periodo neonatal?

**Justificación del proyecto**

Se requiere conocer la frecuencia y distribución poblacional de las variantes de las hemoglobinas, mediante una intervención accesible y reproducible bajo el entorno del tamiz neonatal.

Población blanco beneficiada: Recién nacidos con riesgo bajo.

**Objetivo general:**

Evaluar la estrategia de diagnóstico temprano de las hemoglobinopatías a través del tamizaje en neonatos de bajo riesgo perinatal.

**Objetivos específicos:**

1. Reportar la prevalencia de las variantes de hemoglobinas en la población tamizada durante la etapa neonatal.
2. Establecer los intervalos en la distribución de las concentraciones de HbA2 e índices eritrocitarios en el recién nacido con variantes de hemoglobina.

**MATERIAL Y MÉTODO****Diseño o procedimiento**

TIPO DE INVESTIGACION. Observacional

TIPOS DE DISEÑOS. Transversal.

CARACTERISTICAS DEL ESTUDIO.

a) Por la participación del investigador Descriptivo

b) Por temporalidad del estudio Transversal

b) Por la lectura de los datos retrolectivo

d) Por el análisis de datos Descriptivo

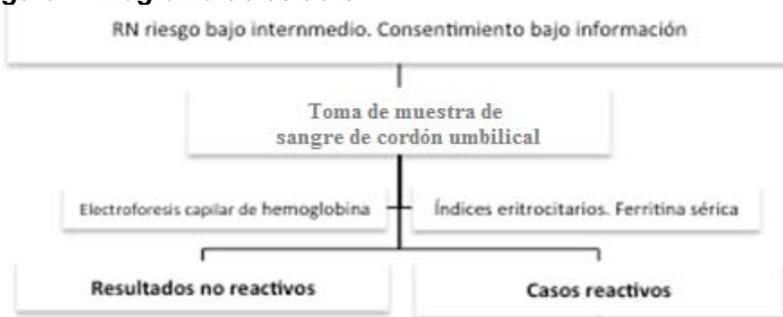
**Diagrama de estudio.**

El universo se compone de toda la población de recién nacidos que son atendidos en el Instituto nacional de Perinatología.

La población muestra son los recién nacidos con riesgo bajo o intermedio que ingresan en la unidad de alojamiento conjunto y/o UCIREN III del mismo instituto.

En el área de toco-cirugía o quirófano, se recolectarán muestras de sangre de cordón umbilical remanente de la placenta expulsada por la madre; se almacenará en tubos de 500ul con EDTA como anticoagulante (Anexo 4). En el laboratorio de hematología perinatal se realizará la identificación de hemoglobinas anormales, HbA y HbF mediante electroforesis capilar; una vez realizada la prueba de electroforesis capilar.

**Figura 1. Diagrama de estudio.**



**Procedimiento:**

**Universo o población:** pacientes en la etapa neonatal con edad gestacional entre 34.1 y 42 semanas de gestación con bajo riesgo perinatal.

**Tamaño de la muestra:** Se analizó la muestra de 415 pacientes.

**Tipo de muestreo estadístico.** Muestreo probabilístico de casos consecutivos de los recién nacidos que ingresen a la sala de alojamiento conjunto y UCIREN III.

**Definición de las unidades de observación:** está constituida recién nacido hombres y mujeres con edad gestacional comprendida entre las 34.1 a 42 semanas de gestación con bajo riesgo perinatal.

**Criterios de inclusión:**

- Pacientes masculinos y femeninos con edad gestacional entre 34.1 a 42 semanas de gestación.
- Pacientes con y sin antecedentes familiares de hemoglobinopatías.

**Criterios de exclusión:**

- Pacientes masculinos y femeninos con edad gestacional menores de 34 y mayores de 42 semanas de gestación.
- Pacientes que ingresen a los servicio de UCIN, UCIREN I y UCIREN II.
- Pacientes inestables o en estado crítico que por su condición clínica imposibilite la toma de muestra.
- Cordón umbilical en malas condiciones.

**Criterios de eliminación:**

- Muestra biológica insuficiente.
- Muestra biológica en malas condiciones.
- Muestras biológicas con mala rastreabilidad y trazabilidad.

**Variables de estudio:**

**A) Independiente:**

Antecedentes étnicos del padre y madre.

Antecedente de familiar directo con anemia hemolítica hereditaria.

Etnicidad declarada.

**B) Dependiente:**

Valores de hemoglobina A2.

Detección de hemoglobinas anormales.

Índices eritrocitarios.

Reserva de hierro.

Ictericia temprana.

Hiperbilirrubinemia significativa.

Ponderación del riesgo de hiperbilirrubinemia, previo al egreso neonatal.

**C) Variables Confusoras**

Genero.

Edad gestacional.

Vía de nacimiento.

Deficiencia de G6PD.

Variantes de UGT1A1.

**Definiciones operacionales:**

**Antecedentes étnicos del padre y a madre.** Variable nominal. Se refiere a la información en los antecedentes de la línea materna o materna sobre su origen étnico.

**Antecedente de familiar directo con anemia hemolítica hereditaria.** Variable dicotómica. Presente, ausente. Se refiere a la evidencia de familiar directo de la madre o el padre de familiar con enfermedad hemolítica hereditaria. No requiere tener la documentación médica sobre el antecedente.

**Etnicidad declarada.** Variable nominal. Se refiere a la autodeclaración de la madre respecto al origen étnico de ella o su pareja sexual.

**Valores de hemoglobina A2 al nacimiento.** Variable nominal. Valores normales ( $HbA2 \leq 2.1$  %), valores aumentados ( $HbA2 > 2.1$ ). Determinada mediante electroforesis capilar.

**Detección de variantes de hemoglobina.** Variable ordinal. Patrón Neonatal normal ( $HbA$  5-10 %  $HbA2 \leq 2.1$  %,  $HbF > 90$  %). Patrón de persistencia de hemoglobina fetal ( $HbA < 1$  %,  $HbA2 < 1$  %,  $HbF > 98$  %). Patrón de hemoglobina S ( $HbA < 5$  %,  $HbS$  presente,  $HbF > 95$  %). Patrón de hemoglobina C ( $HbA < 5$  %,  $HbC$  presente,  $HbF > 95$  %). Patrón de hemoglobina E ( $HbA < 5$  %,  $HbE$  presente,  $HbF > 95$  %).

**Índices eritrociarios.** Variable nominal: normocitosis o Normal (VCM > 100-114 fL); disminuido o disminuidos (VCM < 100), aumentado o marocitosis (VCM > 114 fL).

**Reserva de hierro.** Variable ordinal. Valores de ferritina sérica. Sobre carga de hierro (ferritina sérica > 1000 ug/L), reserva normal de hierro (ferritina sérica 200 – 600ug/L), deficiencia de hierro (ferritina sérica < 200ug/L).

#### ***Formato de recolección de datos (ver anexo)***

#### **Material y Métodos:**

- a. **Obtención de la muestra.** Previo consentimiento informado firmado por los padres solicitado por los médicos de la coordinación de hematología perinatal, del servicio de alojamiento conjunto y/o unidad de cuidados intermedios, en el área de toco-cirugía o quirófano se obtendrá muestra de sangre venosa del cordón umbilical de la placenta expulsada inmediatamente mediante punción de una arteria, almacenándose en dos tubos de 0.5 mL con EDTA como anticoagulante. El médico que estará a cargo de la toma de muestra es el médico Neonatólogo adscrito a la unidad de toco-cirugía y/o médico residente de neonatología que participa en este proyecto como parte de su tesis de posgrado. La toma de muestra se realizará con técnica estéril utilizando gorro, cubrebocas, goggles y guantes. Las muestras se recolectarán durante la jornada matutina. Los tubos identificados correctamente con las muestras recolectadas durante la jornada se colocarán en una gradilla, esta se mantendrá en un contenedor térmico de 4000 cc el cual tendrá un gel refrigerante para mantener una temperatura entre 8° a 10 °C. Una vez concluida la jornada o la colecta de las muestras, se transportarán las muestras en el contenedor a la Coordinación de Hematología Perinatal en la Torre de Investigación, en donde se almacenarán en refrigeración entre 2° a 8°C para su procesamiento.
- b. **Citometría hemática.** La muestra primaria se procesará en el citómetro Act<sup>5diff</sup> (Beckman Coulter, USA) para conocer los valores de Hemoglobina, índices eritrocitarios, la existencia o no de hipocromía, microcitosis.
- c. **Ferritina sérica.** La estimación de la reserva de hierro se realizará mediante la determinación de la concentración de la ferritina en plasma, por el método ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) en el equipo miniVIDAS® (Biomérieux; France).
- d. **Electroforesis de hemoglobina.** Se realizará a partir de un tubo con 500 ul de sangre total con EDTA como anticoagulante utilizando el equipo MINICAP FLEX PIERCING (SEBIA), que permite la separación en medio alcalino (pH9.4) de las hemoglobinas normales (A, F y A2) y la detección de las principales hemoglobinas anormales (Hemoglobina S, C, E y D). Todas las etapas de la electroforesis se realizan de manera automática hasta obtener el perfil de las hemoglobinas para el análisis cualitativo o cuantitativo. Se puede realizar en hemolizado de eritrocitos sedimentados, centrifugados o lavados, a partir de sangre total con EDTA, no es indispensable realizar el lavado de los eritrocitos. La separación se realiza en capilares de sílice fundido, mediante una técnica de separación electrocinética que permite la separación de moléculas cargadas en función de su movilidad electroforética propia, en un tampón de un pH dado, y según el pH del electrolito, con un flujo electroosmótico más o menos importante, la inyección en los capilares de las muestras diluidas

con la solución hemolizante se realiza en el ánodo por aspiración. La separación se realiza a continuación aplicando una diferencia de potencial de varios miles de voltios en los extremos de cada capilar. La detección directa de las hemoglobinas se efectúa a 415 nm en el lado catódico. Con el tampón de pH alcalino usado, el orden de migración de las principales hemoglobinas normales y anormales va del cátodo al ánodo: Hemoglobina A2, C, A2/O-Arab, E, S, D, G-Filadelfia, F, A, Hope, Bart, J, N-Baltimore y H. La detección directa proporciona automáticamente una cuantificación relativa de cada una de las fracciones que representan interés como la hemoglobina A2 en el diagnóstico de las  $\beta$  talasemias. La adecuada separación de las fracciones permite diferenciar entre la hemoglobina S y la hemoglobina D, la hemoglobina E de la hemoglobina C. Previo al procesamiento de la muestra, se debe procesar el control comercial de hemoglobina A2, constituido por una mezcla de sangres humanas normales, estabilizadas y liofilizadas.

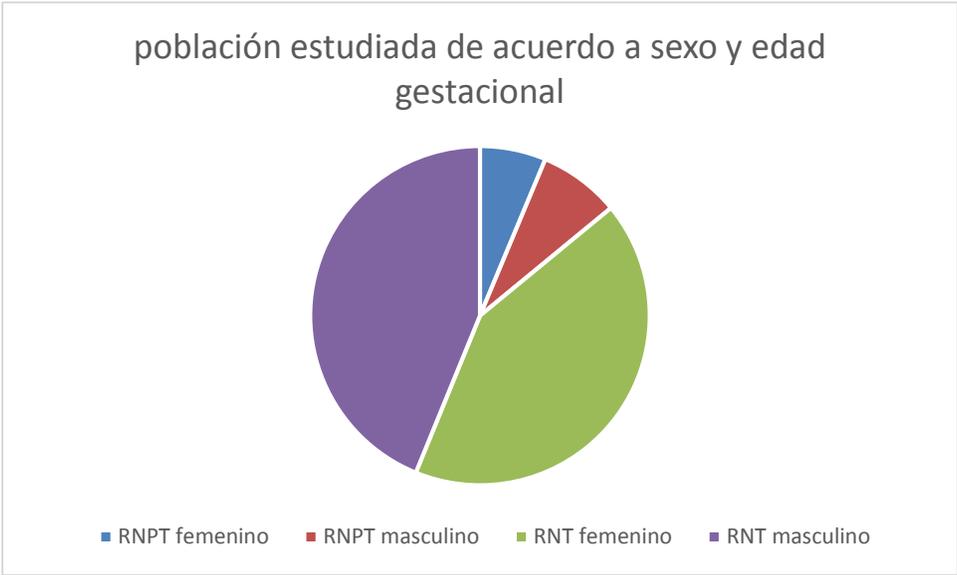
## RESULTADOS:

Se recolectaron 413 muestras de pacientes de bajo riesgo perinatal nacidos en Instituto Nacional de Perinatología en el período de Abril 2016 a Julio 2016 que cumplieron con criterios de inclusión (Tabla 1). La población de recién nacidos pretérmino tardíos constó de 58 pacientes de los cuales 26 fueron femeninos y 32 masculinos (Tabla 2); de pacientes de término 355 pacientes de los cuales femeninos correspondieron a 174 y masculinos a 181 (Grafica 1).

<b>Tabla 1. Población de estudio</b>		
<b>Descripción</b>	<b>Número de casos</b>	<b>Porcentaje de la población</b>
<b>Población con criterios de inclusión</b>	413	100.00%
<b>Con Electroforesis Capilar</b>	411	99.52%
<b>Tamizados para G6PD</b>	367	88.86%
<b>Casos reactivos para deficiencia de G6PD en tamiz</b>	2	0.48%

Tabla 2. Características de la población estudiada.		
	<i>Pretérmino tardío</i>	<i>Termino</i>
Edad materna	29±7	28±7
Primigesta	40%	42%
Cesárea	43 (74%)	213 (60%)
Parto	15 (26%)	142 (40%)
Femenino	26	174
Masculino	32	181
Semanas de gestación	36.1± 0.5	38.6 ± 1.1
Peso en gramos al nacimiento	2,415 ± 423	3,075 ± 414
Porcentaje de la población total de estudio	14% (58)	85.9% (355)

**Grafica 1. Población de acuerdo a sexo y edad gestacional**



Se realizó citometría hemática a las muestras obtenidas de sangre de cordón umbilical (Tabla 3). Los resultados mostraron similitud entre ambos grupos de recién nacidos. En nueve pacientes se encontró un volumen corpuscular medio menor a 100 fL.

Tablas 3. Índices eritrocitarios presentes en muestras de sangre de cordón umbilical.						
	RNPT			RNT		
	Media	Min	Max	Media	Min	Max
Hemoglobina (g/dL)	15.79 ( $\pm$ 2.58)	10.09	22.95	15.51 ( $\pm$ 2.53)	15.68	26.15
Hematocrito (%)	46.04 ( $\pm$ 8.13)	27.95	70.83	45.18 ( $\pm$ 7.48)	33.03	76.99
Ancho de distribución eritrocitario (%)	9.62 ( $\pm$ 1.38)	6.43	14.28	9.20 ( $\pm$ 0.99)	7.29	13.40
Volumen corpuscular medio (fL)	106.5 ( $\pm$ 3.43)	93.9	116.9	108.6 ( $\pm$ 4.18)	97.7	118.8
Concentración media de hemoglobina corpuscular (g/dL)	34.64 ( $\pm$ 1.42)	33.46	43.13	34.24 ( $\pm$ 1.39)	24.35	40.46
<i>RNPT=Recién nacido pre-término (34 – 36.6 sdg)</i> <i>RNT=Recién nacido de término (<math>\geq</math>37 sdg)</i>						

#### Patrón de hemoglobinas.

De acuerdo a la tipo de hemoglobinas que se reportó y al patrón de hemoglobinas que se obtuvieron por electroforesis capilar, nueve casos presentaron un patrón neonatal normal y 402 no se pudieron clasificar dentro de estos patrones definidos, ya que no cumplían con todos los criterios establecidos (Tabla 4).

Tabla 4. Patrón electroforético de hemoglobinas.		
Patrón	Casos	Porcentaje de la población (411)
Neonatal normal	9	2.2%
Persistencia de hemoglobina fetal	0	-
Patrón de hemoglobina S	0	-
Patrón de hemoglobina C	0	-
Patrón de hemoglobina E	0	-
No Clasificados	402	97.8%

Se encontró corrimiento electroforético para HbC en 63 pacientes (0.1% – 0.9%) de los cuales uno solo fue pretermino sin presentar predominio de género. La HbA2 se encontró en 68 pacientes con un rango de 0.1 a 1.5%. Solo 3 pacientes tuvieron corrimiento electroforético para HbBart con valores de 0.1%, 0.7% y 0.9%.

El porcentaje de migración de HbA y HbF por electroforesis capilar en sangre obtenida de cordón umbilical tiene valores muy diferentes a los patrones electroforéticos establecidos previamente (Tabla 5).

Tablas 5. Migración de HbA y HbF en muestras de sangre de cordón umbilical.						
	RNPT			RNT		
	Media	Min	Max	Media	Min	Max
<b>Hemoglobina A</b>	16.46 (±7.9)	9.30	29.1	19.96 (±4.63)	7.6	90.7
<b>Hemoglobina F</b>	23.3 (±9)	46.7	62.1	76.55 (±7.65)	35.7	93
<i>RNPT=Recién nacido pre-término (34 – 36.6 sdg)</i> <i>RNT=Recién nacido de término (≥37 sdg)</i>						

## DISCUSIÓN:

Los diferentes patrones de hemoglobina (Neonatal, Persistencia de HbF, HbS, HbC y HbE) se obtuvieron de electroforesis alcalina realizadas en gel de agarosa que debido a su simplicidad es uno de los métodos más populares y accesibles para el screening de hemoglobinopatías; la electroforesis capilar que se realiza con el instrumento Capillarys-2, utiliza el principio de electroforesis en solución libre, es una técnica de separación electrocinética realizada en un tubo de diámetro interno inferior al 100 µm lleno de un tampón compuesto de electrolitos; la separación de los distintos tipos de hemoglobina se realiza aplicando una diferencia de potencial de varios miles de voltios en los extremos de cada capilar. Las hemoglobinas son detectadas directamente en una burbuja existente en el capilar mediante espectrofotometría de absorción de 415 nm, que es la longitud de onda de absorción específica de las hemoglobinas. El resultado o electroferograma se compone de 300 lecturas consecutivas y se divide en 15 zonas y para facilitar la interpretación los resultados son automáticamente posicionados con respecto a la hemoglobina fetal, además el instrumento posee una biblioteca de hemoglobinas en forma de una lista despegable y enumera todas las hemoglobinas normales y variantes que pueden estar dentro de una zona en particular.

En las 411 muestras de sangre de cordón umbilical que se analizaron 402 no se pudieron clasificar dentro de un patrón específico de hemoglobina y únicamente 9 muestras cumplieron criterios para un patrón neonatal normal. Estos resultados diferentes a los que esperábamos se pueden explicar debido a que la muestra que se procesó fue obtenida directamente de sangre de cordón y procesadas en un instrumento de electroforesis capilar calibrado para este tipo de muestras específicas. Los resultados que obtuvimos respecto a los porcentajes de migración de las diferentes hemoglobinas concuerdan con lo reportado por *Wolff y Cols.* quien realizó un screening de hemoglobinopatías en sangre obtenida de cordón umbilical en un periodo de dos años. En otro estudio realizado por *Gulbis y Cols.*, realizaron un screening de hemoglobinopatías en sangre de cordón umbilical en un periodo

de 10 años obtuvieron porcentajes de corrimiento electroforético de las diferentes hemoglobinas con el presente trabajo.

En 63 muestras se obtuvo un corrimiento electroforético para HbC, sin embargo el porcentaje fue discreto y cabe señalar que este tipo de hemoglobina puede estar presente en sangre de cordón umbilical hasta 1.5% y puede inclusive ser consecuencia de la desnaturalización de la HbF. Ninguno de los resultados mostró un porcentaje mayor a 1.

Tres muestras presentaron pico electroforético en la zona de Hb Bart sin embargo todos con una cifra menor a 1%, y de acuerdo al estudio realizado por *Wolff y Cols.*, para sospechar de enfermedad de la hemoglobina H, el punto de corte debe ser por encima de 10%.

Para la HbA2 hubo corrimiento electroforético en 68 pacientes con un porcentaje máximo de 1.5%, en el trabajo realizado por *Wolff y Cols.*, obtuvo una media de 0.7% con un rango de 0.3% - 2.2%, considerando contaminación por sangre materna cuando existía una cifra mayor a 40%.

Los índices eritrocitarios se mantuvieron constantes con los reportados en la literatura, nueve pacientes tuvieron un VCM menor a 100 fL (microcitosis), *Wolff y Cols.*, definió como microcitosis un VCM <105 fL considerando a estos pacientes sospechosos de alguna hemoglobinopatía. Ninguno de los pacientes con microcitosis presentaron un corrimiento electroforético anormal.

En nuestro país no existe ningún reporte sobre el screening de hemoglobinopatías en sangre de cordón umbilical mediante electroforesis capilar, el presente trabajo forma parte de una primera etapa de una estrategia de detección temprana, ya que el aumento del flujo migratorio de diferentes grupos étnicos da pie al incremento de enfermedades emergentes en este caso, las hemoglobinopatías.

## **CONCLUSIONES.**

- La electroforesis capilar en sangre de cordón umbilical, es un método confiable para identificar variantes de hemoglobina.
- Los resultados obtenidos en el presente trabajo, concuerdan con resultados de otros trabajos realizados por otros autores con la misma muestra, técnica e instrumento.
- Es necesario confirmar con otro método y/o instrumento cuando se presente un corrimiento electroforético anormal.

## Bibliografía:

1. Steiner, L.A. and P.G. Gallagher, *Erythrocyte disorders in the perinatal period*. Semin Perinatol, 2007. **31**(4): p. 254-61.
2. Tolentino, K. and J.F. Friedman, *An update on anemia in less developed countries*. Am J Trop Med Hyg, 2007. **77**(1): p. 44-51.
3. McLean, E., et al., *Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005*. Public Health Nutrition, 2009. **12**(4): p. 444-454.
4. Ruiz-Arguelles GJ, et al., *La frecuencia de las anemias megaloblásticas en la práctica privada en Puebla, México: Experiencia de 17 años*. Medicina Univ 1999. **1**(1): p. 165-67.
5. Wintrobe, M.M. and J.P. Greer, *Wintrobe's clinical hematology*. 12th ed. 2009, Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
6. Modell, B. and M. Darlison, *Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators*. Bull World Health Organ, 2008. **86**(6): p. 480-7.
7. Weatherall, D.J. and J.B. Clegg, *Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem*. Bull World Health Organ, 2001. **79**(8): p. 704-12.
8. Thein, S.L., *Fetal Hemoglobin Induction in Sickle Cell Disease and Thalassemia*. International Journal of Laboratory Hematology, 2014. **36**: p. 15-15.
9. Modell, B. and M. Darlison, *Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators*. Bulletin of the World Health Organization, 2008. **86**(6): p. 480-487.
10. Soto-Allende R, et al., *Un caso de talasemia mayor*. Bol Med Hosp Inf Mex, 1955. **12**(1): p. 637-642.
11. Ruiz-Reyes G, I.-O.S., Suárez-Puerto AM., *Talasemia. Observaciones en una familia*. Medicina, 1962. **42**(1): p. 145-153.
12. Ibarra B, Perea FJ, and H.-C. A., *Aspectos Moleculares de las talasemias alfa y beta*. Arch Invest Med, 1990. **1**(21): p. 357-62.
13. Ibarra Beatriz and P.F. José, *Talasemias: aspectos bioquímicos, moleculares y diagnósticos*. Rev Hematol, 2006. **7**(2): p. 7.
14. G., R.-R., *Los síndromes talasémicos no son infrecuentes en la población mexicana y se subdiagnostican y confunden con deficiencias de hierro*. Medicina Universitaria, 1999. **1**(2): p. 67-73.
15. Reyes-Cruz G, Ruiz-Reyes G, and H.-A. M., *Identificación de un foco de talasemia beta en Tamiahua, Veracruz*. Rev Invest Clin, 1990. **1**(42): p. 189-92.
16. Lisker R, et al., *Características hereditarias de la población mexicana. Estudio de una comunidad de origen italiano*. Rev Invest Clin, 1966. **1**(42): p. 189-92.
17. Ruiz-Arguelles, G.J., B. Lopez-Martinez, and G. Ruiz-Reyes, *Heterozygous beta-thalassemia: not infrequent in Mexico*. Arch Med Res, 2001. **32**(4): p. 293-5.
18. Giardine, B., et al., *Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations*. Nucleic Acids Research, 2014. **42**(D1): p. D1063-D1069.
19. Flint, J., et al., *The population genetics of the haemoglobinopathies*. Baillieres Clin Haematol, 1998. **11**(1): p. 1-51.
20. Hardison, R.C., et al., *Access to a syllabus of human hemoglobin variants (1996) via the World Wide Web*. Hemoglobin, 1998. **22**(2): p. 113-27.
21. Little, J., et al., *Strengthening the reporting of genetic association studies (STREGA): an extension of the STROBE Statement*. Hum Genet, 2009. **125**(2): p. 131-51.

**Aspectos éticos.**

De acuerdo al artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la participación de los pacientes en este estudio con lleva un tipo de riesgo: Riesgo mínimo

**Bioseguridad.**

El manejo de los residuos biológico-infecciosos que se generan durante el proceso analítico: cubeta de reacción con residuos de sangre y solución de enjuague, serán sometidos a disposición y cumplirán con las políticas y procedimientos del comité normativo de bioseguridad ajustándose a lo señalado en los manuales del INPer y a las indicaciones de la Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo, NOM-052-SEMARNAT-2005 Que establece las características, el procedimiento de investigación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos y Norma Manejo CRETIB.

## Anexos.

### Anexo 1. Formato de recolección de datos.

#### Nombre del Proyecto: Detección de hemoglobinopatías en el tamizaje neonatal.

Número de caso

##### Datos Del Recién Nacido

Iniciales nombre RN (AP, AM RN)		Expediente		Edad gestacional (sem)	
---------------------------------	--	------------	--	------------------------	--

Peso (g)		Género (1:Masculino 2:Femenino)		Folio Tamiz	
----------	--	------------------------------------	--	-------------	--

Fecha de nacimiento (dd/mm/aa)	__/__/__	Hora de nacimiento		Vía de nacimiento (1:vaginal, 2: cesárea)	
-----------------------------------	----------	--------------------	--	---	--

Tipo de lactancia (SM/SL/MX)		ABO (A/B/AB/O)		RhD (Pos/Neg)		Coombs directo (Pos/Neg)	
---------------------------------	--	----------------	--	------------------	--	-----------------------------	--

Cefalohematoma (Si/No)		Hermano anterior que haya recibido fototerapia (Si/No)		Color de la Piel	
---------------------------	--	---	--	------------------	--

Ictericia temprana (si/No)		Cifra máxima de bilirrubinas < 24 horas	
Ponderación de riesgo de hiperbilirrubinemia previa a su egreso		Cifra máxima de bilirrubinas a su egreso	
Hiperbilirrubinemia significativa intervenciones:			
1 toma de muestras sanguíneas			
2 Separación de la madre			
3. Prolongación de su estancia hospitalaria			
4. Fototerapia			
5. Manejo farmacológico			

Variable	Resultado	Confirmación molecular	Otros	Resultado
HbA			G6PD (gHb)	
HbA2			Variantes G6PD	
HbF			Variantes UGT1A1	
HbC			Ferritina sérica	
HbS			Volumen corpuscular medio (fL)	
HbD			Hemoglobina (g/dL)	
HbE				
HbH				
HbBart				
8				

##### Datos maternos y paternos

Antecedentes étnicos padre o madre	
Antecedente de familiar directo con anemia hemolítica hereditaria	
Etnicidad declarada	

Edad materna		ABO/RhD materno	
Gestaciones		Rastreo de anticuerpos irregulares	

## **Anexo 2. Consentimiento bajo información**

### **Detección de hemoglobinopatías en el tamizaje neonatal.**

Investigador principal: Dr. Octavio Martínez Villegas.

Institución sede: Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes".

Esta es una invitación para que acepte la participación de su hijo en un protocolo de investigación en el Instituto nacional de Perinatología.

Por favor lea cuidadosamente este documento, puede consultarlo con sus familiares o quién Usted decida, antes de que permita la participación de su hijo, es importante que lea y comprenda adecuadamente la información contenida en este texto, que describe el propósito, los procedimientos, los beneficios, los riesgos, las molestias y las precauciones que se esperan con este protocolo.

Si acepta que su hijo participe, recibirá una copia de este documento para que lo conserve. Pero si usted no acepta que participe su hijo, no se verá afectada la atención médica para su hijo en el Instituto Nacional de Perinatología.

#### **Propósitos del estudio.**

El propósito de este estudio es conocer que tan frecuente son las enfermedades llamadas hemoglobinopatías las cuales causan un tipo de anemia que no responden a la administración de hierro oral.

#### **¿En qué consiste la participación?**

La participación de su hijo en este estudio consistirá en obtener una muestra de sangre aproximadamente 1 ml, obtenida del cordón umbilical que se corta y queda en la placenta que usted expulsa después del nacimiento de su hijo. El procedimiento no interviene en ningún momento con la atención de su hijo durante su nacimiento. A dicha muestra de sangre se le realizará un estudio inicial para detectar hemoglobinopatías, en caso de tener un resultado "reactivo" o "positivo", se realizará una prueba confirmatoria en el DNA obtenido de las células presentes en la muestra de sangre de su hijo, cabe mencionar que en ningún momento se le tomará una nueva muestra de sangre. Su participación también consiste en autorizar la obtención del DNA de las células presentes en el remanente de las muestras utilizadas. Debe saber que las muestras de DNA se almacenarán por los próximos 10 años y se utilizarán para estudios de origen poblacional y la búsqueda de otros posibles genes que pudieran asociarse, pero que en este momento no podemos estudiarlos.

#### **¿Cuáles son los requisitos para participar?**

Primero que desee que su hijo participe y firmar este documento de aceptación, Segundo, que acepte que se le tome la muestra al cordón umbilical de su hijo.

#### **¿Cuáles son los riesgos?**

No existe ningún riesgo para su hijo, ya que la muestra de sangre se recolectará del cordón umbilical remanente que se corta durante el nacimiento de su hijo.

#### **¿Obtendré algún beneficio?**

Es posible que no tenga un beneficio directo, sin embargo se le entregarán los resultados de las pruebas realizadas a su hijo. Mediante una llamada telefónica se le dará el resultado dentro de los primeros 10 días posteriores a la toma de la muestra; en caso de ser positivo se agendará una cita en la consulta externa de Hematología Perinatal en donde recibirá información detallada sobre el resultado. Su hijo será referido a la consulta externa de Hematología del Instituto Nacional de Pediatría o del Hospital Infantil de México o al sistema de atención para la salud al que pertenezca para continuar su atención y seguimiento. Se le proporcionará el documento de referencia hacia otros servicios de salud, así como los resultados de la prueba tamiz y de la prueba confirmatoria.

Debido a que es un estudio que emplea recursos públicos, usted no recibirá compensación económica alguna por permitir que su hijo participe. Los resultados que se obtengan en caso de tener alguna hemoglobinopatía, se le entregarán personalmente y recibirá una amplia explicación por el hematólogo pediatra sobre esta enfermedad.

En algunos casos, los resultados del presente protocolo pudieran ser útiles para sus futuros embarazos. De contemplarse tal posibilidad usted recibirá el consejo genético apropiado por parte del Instituto Nacional de Perinatología.

#### **¿Tiene algún costo el participar?**

El que su hijo participe en este protocolo, no tiene ningún costo adicional para usted.

#### **¿Qué ocurrirá si no deseo participar?**

Absolutamente nada, la atención médica de su hijo en el Instituto Nacional de Perinatología será al igual que los demás pacientes y continuará recibiendo el tratamiento de la manera habitual.

**¿Existe algún reembolso o indemnización por daños?**

Debido a que se trata de un estudio financiado con fondos federales, no existe manera de que usted reciba compensación económica alguna.

Los gastos derivados del seguimiento y atención de su hijo en el Instituto Nacional de Perinatología, serán sufragados por usted.

**Confidencialidad.**

Es el compromiso de los investigadores el ocultar el nombre de su hijo, para impedir su identificación. La muestra de sangre se identificará mediante un número y código de barras, donde no aparecerá el nombre de su hijo o cualquier otro dato que pudiera señalarlo.

Los resultados se mantendrán en secreto estricto, sobre la identidad de la muestra y la confidencialidad sobre el historial de los sujetos que ingresen al estudio.

Aunque Usted se retire del estudio, será imposible destruir su muestra a pesar de su petición, ya que la muestra se encuentra bajo anonimato.

**¿Qué hacer si tengo alguna duda?**

Puede ponerse en contacto con el investigador principal Dr. Octavio Martínez Villegas o con los investigadores asociados en el servicio de Hematología Perinatal (Dra. Fany Rosenfeld Mann, Dra. Rocío Trueba Gómez, Dra. Patricia Bouchán Valencia, Dr. Higinio Estrada Juárez y Biol. Georgina Coeto Barona), ubicado en el primer piso de la torre de Investigación, teléfono 55209900 extensión 323 o 287.

Si Usted no ha recibido la atención adecuada por parte de los investigadores de este protocolo o desea presentar alguna queja o inconformidad, puede comunicarse con el Presidente del Comité de Ética (Dr. Alejandro Martínez) al 55209900 extensión 160, quién le atenderá apropiadamente.

**Declaración y firma del consentimiento voluntario de participación.**

Manifiesto haber leído y entendido completamente el objetivo que tiene el presente estudio, así como el haber tenido la oportunidad de hacer las preguntas necesarias para aclarar mis dudas y he recibido respuestas satisfactorias.

Entiendo la razón por la que se obtiene el consentimiento y he recibido una copia del mismo. He tenido la oportunidad de hacer preguntas que han sido respondidas. Después de reflexionar estoy de acuerdo en permitir la participación de mi hijo en este proyecto de investigación.

México D.F., a \_\_\_\_\_ del mes de \_\_\_\_\_ del 20\_\_\_\_\_.

Nombre del padre, madre o tutor:

Firma \_\_\_\_\_

Investigador

Nombre

Firma \_\_\_\_\_

Nombre                      Testigo                      1 \_\_\_\_\_                      Nombre                      Testigo

2 \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_

Dirección

Firma \_\_\_\_\_

Firma

### Anexo 3. Consentimiento para conservación de muestras biológicas

#### Detección de hemoglobinopatías en el tamizaje neonatal.

Investigador principal: Dr. Octavio Martínez Villegas.

Institución sede: Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes".

Esta es una invitación para que acepte que los investigadores conserven las muestras que obtuvieron de su bebé para futuros estudios de investigación en el Instituto nacional de Perinatología.

Por favor lea cuidadosamente este documento, puede consultarlo con sus familiares o quién Usted decida, antes de que autorice que nosotros guardemos la muestra de su bebé, es importante que lea y comprenda adecuadamente la información contenida en este texto, que describe el propósito, los procedimientos, los beneficios, los riesgos, las molestias y las precauciones que se esperan con este protocolo.

Si acepta que nos quedemos con las muestras, recibirá una copia de este documento para que lo conserve. Por si usted no acepta, las muestras se destruirán inmediatamente y no se hará ningún estudio adicional.

#### Propósitos del estudio.

El propósito de este estudio es guardar las muestras que ya obtuvimos de su hijo a la hora de realizar estudios en las variantes de las hemoglobinas anormales y síndromes talasémicos, así como en un futuro realizar estudios de origen poblacional y la búsqueda de otros posibles genes que pudieran asociarse, pero que en este momento no podemos estudiarlos.

#### ¿En que consiste la participación?

Que Usted autorice que conservemos las muestras de DNA de su hijo, durante los siguientes 10 años o antes si la cantidad de muestra se agota.

Las muestras biológicas serán resguardadas bajo condiciones especiales de conservación (temperatura, seguridad, identificación, etc) en el Instituto Nacional de Perinatología bajo la responsabilidad de la Coordinación de Hematología Perinatal.

Los investigadores declaran el compromiso de decir verdad que sus muestras no serán vendidas, regaladas, transferidas, cedidas o donadas a un tercero y que sólo serán usadas para el estudio genético de las hemoglobinopatías que pudiera hacerse en un futuro, sin la necesidad de solicitarle a Usted un nuevo consentimiento o autorización para llevar a cabo ese posible estudio.

Es importante que se entienda que NO se tomarán nuevas muestras de su bebé.

#### ¿Cuáles son los requisitos para participar?

Que Usted autorice la conservación de las muestras de su hijo.

#### ¿Cuáles son los riesgos?

Ninguno, ya que no se tomarán nuevas muestras

#### ¿Obtendré algún beneficio?

Nuestra petición de conservar las muestras para futuras investigaciones, no establece el compromiso de que Usted o su hijo tengan algún beneficio.

#### ¿Tiene algún costo el participar?

El que Usted autorice la conservación de las muestras de su hijo participe en este protocolo, no tiene ningún costo adicional para usted.

#### ¿Qué ocurrirá si no deseo participar?

Absolutamente nada, la atención médica de su hijo en el Instituto Nacional de Perinatología será al igual que los demás pacientes y continuará recibiendo el tratamiento de la manera habitual.

#### ¿Existe algún reembolso o indemnización por daños?

Debido a que se trata de un estudio financiado con fondos federales, no existe manera de que usted reciba compensación económica alguna.

#### Confidencialidad.

Es el compromiso de los investigadores el ocultar el nombre de su hijo, para impedir su identificación. La muestra de DNA se identificará mediante un número y código de barras, donde no aparecerá el nombre de su hijo o cualquier otro dato que pudiera señalarlo.

Los resultados se mantendrán en secreto estricto, sobre la identidad de la muestra y la confidencialidad sobre el historial de los sujetos que ingresen al estudio.

Si Usted desea retirarse del estudio sus muestras no serán conservadas y serán desechadas como residuos biológicos.

**Compromiso de los investigadores.**

Los investigadores declaran el compromiso de decir verdad que sus muestras no serán vendidas, regaladas, transferidas, cedidas o donadas a un tercero y que sólo serán usadas para el estudio genético de las hemoglobinopatías que pudiera hacerse en un futuro, sin la necesidad de solicitarle a Usted un nuevo consentimiento o autorización para llevar a cabo ese posible estudio.

**¿Qué hacer si tengo alguna duda?**

Puede ponerse en contacto con el investigador principal Dr. Octavio Martínez Villegas o con los investigadores asociados en el servicio de Hematología Perinatal (Dra. Fany Rosenfeld Mann, Dra. Rocío Trueba Gómez, Dra. Patricia Bouchán Valencia, Dr. Higinio Estrada Juárez y Biol. Georgina Coeto Barona), ubicado en el primer piso de la torre de Investigación, teléfono 55209900 extensión 323 o 287.

Si Usted no ha recibido la atención adecuada por parte de los investigadores de este protocolo o desea presentar alguna queja o inconformidad, puede comunicarse con el Presidente del Comité de Ética (Dr. Alejandro Martínez) al 55209900 extensión 160, quién le atenderá apropiadamente.

**Declaración y firma del consentimiento voluntario de participación.**

Manifiesto haber leído y entendido completamente el objetivo que tiene el presente estudio, así como el haber tenido la oportunidad de hacer las preguntas necesarias para aclarar mis dudas y he recibido respuestas satisfactorias.

Entiendo la razón por la que se obtiene el consentimiento y he recibido una copia del mismo. He tenido la oportunidad de hacer preguntas que han sido respondidas. Después de reflexionar estoy de acuerdo en permitir que los investigadores conserven las muestras que obtuvieron de mi hijo.

México D.F., a \_\_\_\_\_ del mes de \_\_\_\_\_ del 20\_\_\_\_\_.

Nombre del padre, madre o tutor:

Firma

Investigador

Nombre

Firma

Nombre Testigo 1 \_\_\_\_\_ Testigo

2 \_\_\_\_\_

Dirección \_\_\_\_\_ Dirección

Firma \_\_\_\_\_ Firma

En base a la ley de protección de datos personales, los datos obtenidos, serán recabados y protegidos e incorporados al Sistema de Datos Personales (SDP), por lo que deberá llenarse el aviso de privacidad.

#### **Anexo 4. Técnica para toma de muestra de sangre por punción de arteria umbilical.**

1. Previa colocación de guantes con técnica estéril, se selecciona porción remanente de cordón umbilical en buenas condiciones físicas.
2. Se identifica una de las dos arterias umbilicales.
3. Se limpia suavemente superficie del cordón umbilical con una gasa estéril humedecida.
4. Con una jeringa de 3 ml estéril se obtiene 1 ml de sangre total.
5. Se vacía la sangre total obtenida de la arteria de cordón umbilical en dos tubos contenedores de 500  $\mu$ L con anticoagulante tipo EDTA.
6. Se almacenan tubos contenedores en refrigeración a una temperatura de 2 a 8°C, hasta su procesamiento.