

# Revista Mexicana de Patología Clínica

Volumen  
Volume **51**

Número  
Number **4**

Octubre-Diciembre  
*October-December* **2004**

*Artículo:*

Influencia de la edad en los resultados del cribado neonatal de hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria y galactosemia

Derechos reservados, Copyright © 2004:  
Federación Mexicana de Patología Clínica, AC

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

*Others sections in this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



**medigraphic.com**

# Influencia de la edad en los resultados del cribado neonatal

## de hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria y galactosemia

**Palabras clave:** Cribado neonatal, hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria, galactosemia, hormona estimulante del tiroides (TSH), tiroxina (T4), fenilalanina (Phe), galactosa (Gal).

**Key words:** Neonatal screening, congenital hypothyroidism, phenylketonuria, galactosemia, thyroid stimulating hormone (TSH), thyroxine (T4), phenylalanine (Phe), galactose (Gal).

Recibido:06/09/2004  
Aceptado:04/10/2004

220

Neivis Marrero-González,\* Ernesto Carlos González-Reyes,\* Amarilys Frómeta-Suárez,\* Arlenys Baloy-Nodarse,\* Elisa Castells-Martínez,\* Pedro Lucio Pérez-Morás,\* Maryel González-Pérez,\* Andrés Pino-Dupote\*\*

\* Laboratorio de Cribado Neonatal, Centro de Inmunoensayo. Ciudad de La Habana, Cuba.

\*\* Servicio de Neonatología, Hospital de Ginecología y Obstetricia "Eusebio Hernández". Ciudad de La Habana, Cuba

Correspondencia:

Msc. Neivis Marrero González  
Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo,  
Centro Nacional de Genética Médica.  
Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana,  
Calle 146 núm. 3102 esq. Ave. 31,  
Playa, Ciudad Habana, CP 11600, Cuba.  
E-mail: neivis@infomed.sld.cu; iqts@cie.sld.cu

## Resumen

Debido a la alta hospitalaria temprana de las maternidades, este trabajo pretende analizar la influencia de la edad de los neonatos en los niveles de hormona estimulante del tiroides (TSH), tiroxina (T4), fenilalanina (Phe) y galactosa (Gal) en el diagnóstico de hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria y galactosemia. Se recogieron 1,038 muestras de sangre de talón en papel de filtro S&S 903. La población se dividió en cinco grupos de acuerdo a la edad de los neonatos ( $\leq 24$ , 25 a 48, 49 a 72, 73 a 168 y  $> 168$  horas). Los niveles de T4 obtenidos fueron de 326.8, 334.5, 299.2, 299.2 y 210.0 nmol/L. En TSH se observó una disminución brusca después de las 24 horas (5.0, 2.3, 1.7, 0.9 y 0.3 mUI/L). Los valores de Phe fueron de 60.7, 57.9, 57.8, 56.8 y 42.2  $\mu$ mol/L, en orden creciente de edad, y las de Gal de 0.03, 0.04, 0.05, 0.07 y 0.04 mmol/L.

## Summary

Due to the early discharge from the hospitals, this article studies the influence of age on thyroid stimulating hormone (TSH), thyroxine (T4), phenylalanine (Phe) and galactose (Gal) levels in the diagnosis of Congenital Hypothyroidism, Phenylketonuria and Galactosemia. One thousand thirty eight heel blood samples were collected on filter paper S&S 903. The population was divided into 5 groups ( $\leq 24$ , 25-48, 49-72, 73-168 y  $> 168$  hours). T4 levels obtained per group were 326.8, 334.5, 299.2, 299.2 and 210.0 nmol/L. It was observed an abrupt decrease of TSH concentrations after 24 hours (5.0, 2.3, 1.7, 0.9 y 0.3 mUI/L). Phe levels were 60.7, 57.9, 57.8, 56.8 and 42.2  $\mu$ mol/L by increasing age. Gal concentrations were 0.03, 0.04, 0.05, 0.07 and 0.04 mmol/L. T4, TSH, Phe and Gal concentrations levels vary according to newborn age at the time of sample collection.

## Introducción

**L**a fenilcetonuria y el hipotiroidismo congénito son las dos enfermedades para las que se realiza el cribado neonatal de forma casi universal; mientras que el diagnóstico para otros trastornos metabólicos, como la galactosemia, se realiza de forma más selectiva.<sup>1</sup>

Hoy, en muchos países, el cribado de recién nacidos ha confrontado la tendencia a la alta hospitalaria temprana, tanto de la madre como del niño, en las maternidades. En los Estados Unidos, 25% de los niños son dados de alta antes de transcurridas 24 horas de haber nacido y 40% al segundo día de vida. Esta alta hospitalaria es también evidente en muchos países de América Latina para reducir los costos médicos y, en el caso de los hospitales públicos maternos, para proporcionar habitaciones adicionales.<sup>2</sup>

Debido a esta realidad, en muchos casos, la colección de las muestras se realiza incluso antes de las 48 horas de vida. Por ello resulta de especial interés conocer las variaciones de concentración de estas determinaciones bioquímicas, las cuales se emplean como marcadores en el diagnóstico neonatal, para establecer los niveles de corte que permitan implementar programas de cribado neonatal con óptima eficiencia y una alta cobertura.

En este estudio analizamos la influencia de la edad del recién nacido, en el momento de toma de muestra sanguínea de talón recogida en papel de filtro, sobre los niveles de concentración de la hormona estimulante del tiroides (TSH), tiroxina total (T4), fenilalanina (Phe) y galactosa total (Gal) para el diagnóstico de hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria y galactosemia.

## Material y métodos

**Población estudiada:** se recogieron 1,038 muestras de recién nacidos en tarjetas de papel de filtro S&S 903 en el Hospital de Ginecología y Obstetricia "Eusebio Hernández", ubicado en el municipio

Marianao de Ciudad de La Habana, por un período de cuatro meses durante el 2001. Previo consentimiento informado de la madre y un acompañante, la sangre se colectó de la porción media o lateral de la superficie plantal del talón del neonato. Las muestras se colocaron en posición horizontal, se dejaron secar durante tres horas a temperatura ambiente (20 a 25 °C), se guardaron en sobres de papel dentro de una bolsa de nailon y se conservaron a -20 °C hasta su análisis.

**Ensayos:** las determinaciones de TSH, T4, Phe y Gal se realizaron empleando los estuches de reactivos UMEELISA® TSH Neonatal, UMEELISA® T4 Neonatal, UMTEST® PKU y UMTEST® GAL, respectivamente, producidos por el Centro de Inmunoensayo.<sup>3-7</sup>

**Equipos y accesorios:** se emplearon los equipos y accesorios de la Tecnología SUMA® (ponchador P-51, lavador MAS 301, lector fluorímetro-fotómetro PR-521 y "Strip Reader software", versión 7.1), producidos por el Centro de Inmunoensayo.

**Edad:** los neonatos tamizados se dividieron para su estudio en cinco grupos: ≤ 24 horas, 25 a 48 horas, 49 a 72 horas, 73 a 168 horas y > 168 horas de nacidos.

**Análisis estadístico:** los datos fueron almacenados y procesados por computadora, empleando la hoja de cálculo Microsoft Excel de Windows XP. Se calcularon la media, el error estándar de la media (EEM), la desviación estándar (DE), el coeficiente de variación (CV) y el porcentaje para las variables estudiadas.

221

## Resultados

Fueron analizadas 1,038 muestras que representan una cobertura de 68.8% de los nacimientos. La edad de los recién nacidos en el momento de la toma de muestra fue de 6 a 960 horas, con un valor promedio de 53.1 horas (EEM ± 2.1). Los valores promedio para la edad gestacional (EG) y el peso al nacer fueron de 39.5 semanas (EEM ± 0.002) y 3027.4 g (EEM

<b>Cuadro I.</b> Datos de los recién nacidos por grupos de edades.					
<b>Grupos por edad (horas)</b>	<b>≤ 42</b>	<b>25 a 48</b>	<b>49 a 72</b>	<b>73 a 168</b>	<b>&gt; 168</b>
n	282	440	199	95	22
Edad (horas)	19.1 (0.3)	40.3 (0.4)	64.8 (0.6)	115.2 (3.2)	370.9 (39.5)
Peso (g)	3091.3 (31.9)	3106.9 (24.4)	3018.5 (44.7)	2719.2 (79.0)	2030.9 (148.0)
EG (semanas)	39.6 (0.1)	40.0 (0.1)	39.5 (0.1)	38.4 (0.3)	35.0 (0.5)
T4 (nmol/L)	326.8 (4.5) <sup>1</sup>	334.5 (3.6) <sup>2</sup>	299.2 (6.0) <sup>3</sup>	299.2 (8.8) <sup>4</sup>	210.0 (13.6)
TSH (mUI/L)	5.0 (0.2)	2.3 (0.2)	1.7 (0.2)	0.9 (0.2)	0.3 (0.1)
Phe ( $\mu$ mol/L)	60.8 (1.4)	57.9 (1.2)	57.8 (1.7)	56.8 (2.6)	42.4 (5.7)
Gal (mmol/L)	0.03 (0.003)	0.04 (0.003)	0.05 (0.004)	0.07 (0.01)	0.04 (0.02)

Valores presentados como la media  $\pm$  error estándar de la media (EEM).  
 Abreviaturas: EG = Edad gestacional. T4 = Tiroxina. TSH = Hormona estimulante del tiroides.  
 Phe = Fenilalanina. Gal = Galactosa.  
<sup>1</sup>n = 262, <sup>2</sup>n = 398, <sup>3</sup>n = 181, <sup>4</sup>n = 94

222

$\pm 6.2$ ), respectivamente. El tiempo promedio entre la toma de la muestra y su procesamiento en el laboratorio fue de 4.4 días (EEM  $\pm 0.02$ ).

El cuadro I resume los datos de los recién nacidos por grupos de edades. Estos resultados muestran que 27.2% de los neonatos tamizados tenían 24 horas o menos en el momento de la toma de muestra, 42.4% entre 25 y 48 horas, 19.2% entre 49 y 72 horas, 9.1% entre 73 y 168 horas y sólo 2.1% más de 168 horas de nacido, con una media de edad por grupo de 19.1, 40.3, 64.8, 115.2 y 370.9, respectivamente. De los niños, 88.7% tenían 72 horas o menos de nacidos, tiempo que se corresponde con el lapso promedio de alta hospitalaria.

También es importante señalar que el peso promedio y la edad gestacional disminuyeron para los grupos de edades de 73 a 168 horas y mayor de 168 horas; sobre todo la edad gestacional, ya que en este último grupo se obtuvo una media de 35

semanas. Esto resulta lógico si tomamos en consideración que cuando comenzamos el cribado muchos niños que eran prematuros y/o tenían bajo peso al nacer con más de 72 horas de nacidos todavía se encontraban hospitalizados y fueron incluidos en el estudio.

Respecto a los niveles de T4, puede observarse que en el grupo que tenía 24 horas de nacido o menos la concentración promedio fue de 326.8 nmol/L; tuvo un aumento ligero a 334.5 nmol/L para el grupo de 25 a 48 horas, mientras que fue de 299.2 nmol/L para los grupos que van de 49 a 168 horas; finalmente, disminuyó a 210.0 nmol/L en los neonatos con más de 168 horas de nacidos. En cuanto a las concentraciones de TSH, se observa una disminución brusca después de las 24 horas y existe una clara tendencia a la disminución de la concentración con la edad, para los cinco grupos evaluados (5.0, 2.3, 1.7, 0.9 y 0.3 mUI/L, respectivamente).

Los resultados de nuestro estudio muestran valores de Phe de 60.7, 57.9, 57.8, 56.8 y 42.2 µmol/L para los grupos evaluados en orden creciente de edad, observándose una disminución apreciable para el último grupo cuya edad sobrepasaba las 168 horas.

Las concentraciones de Gal en los grupos estudiados fue de 0.03, 0.04, 0.05, 0.07 y 0.04 mmol/L en los grupos de < 24, 25 a 48, 49 a 72, 73 a 168 y > 168 horas de vida, respectivamente (*cuadro I*). Estos resultados sugieren un ligero incremento en las concentraciones de este analito con la edad y una posterior disminución en los niños con más de 168 horas de nacido.

## Discusión

Los resultados de TSH y T4 se corresponden con las variaciones fisiológicas reportadas para estas hormonas. La concentración de TSH en suero tiene un pico a los 30 minutos después del nacimiento, decrece rápidamente durante las primeras 24 horas de vida y más lentamente en los siguientes dos o tres días. Las concentraciones de T4 libre y total en suero tienen un pico entre las 24 y 36 horas después del parto y decrescen más lentamente durante las primeras semanas de vida.<sup>8</sup>

Vieira y Urquiza observaron una tendencia a la disminución progresiva de los percentiles 98 y 99 para los valores de TSH en muestras de sangre de talón tomadas a las 48 horas (8.7 y 9.7 mUI/L, respectivamente) y aquéllas tomadas hasta los 14 días (7.2 y 8.2 mUI/L, respectivamente).<sup>9</sup> Mientras Larsson y colaboradores reportaron una media para T4 de 142 nmol/L de plasma (EEM ± 1.7) en una distribución de 19,289 muestras de sangre de talón recogidas al quinto día de vida.<sup>10</sup>

En países como Chile, Costa Rica y Argentina se emplea un nivel de corte para TSH de 20 mUI/L para muestras de sangre de talón tomadas entre el segundo y séptimo días de vida,<sup>11-13</sup> mientras que en Estados Unidos se emplea el nivel de 30 mUI/L para muestras antes de las 24 horas y de 25 mUI/L para aquéllas tomadas a las 24 horas o más.<sup>14</sup>

Aunque no existe consenso sobre la edad ideal para la determinación de los niveles de Phe en muestras de sangre de talón, se acepta como idóneo la toma de la muestra a los cinco días de vida con un margen de 3 a 8 días. En la actualidad, esto se ve afectado por la tendencia a la alta hospitalaria de los recién nacidos de las maternidades antes de las 72 horas de vida;<sup>15</sup> lo que puede contribuir a la aparición de resultados falsos negativos, pues la salida temprana de neonatos afectados con PKU puede ocurrir antes que los niveles de Phe hayan aumentado lo suficiente como para ser detectados en los programas de cribado neonatal. Esta dificultad podría ser más acentuada en aquellos niños afectados con otras formas de hiperfenilalaninemias.

En un estudio de 457 muestras recogidas en sangre del cordón umbilical en papel de filtro, se reportó una media de Phe de 41.6 µmol/L;<sup>16</sup> mientras que en un estudio de muestras recogidas entre el cuarto y el séptimo días, correspondientes a 6,178 recién nacidos, la media de Phe fue de 0.95 mg/dL (57.5 µmol/L).<sup>17</sup>

Los niveles de Phe aumentan progresivamente después del nacimiento en niños con fenilcetonuria.<sup>18</sup> En un estudio que involucró 109 pacientes con fenilcetonuria y 114 sujetos control, McCabe y colaboradores observaron que efectivamente aumentan los niveles de Phe en niños con fenilcetonuria después del nacimiento, mientras que se mantienen prácticamente constantes para los niños normales.<sup>19</sup>

En una población de individuos normales, tal y como ha sido descrito por otros autores, no se producen variaciones importantes en los niveles de Phe durante las primeras horas; pero resulta importante resaltar que se pueden dejar de diagnosticar 70 a 80% de los niños con fenilcetonuria, si se empleara un nivel de corte de 4 mg/dL (242.2 µmol/L).<sup>19</sup> Con el objetivo de eliminar los resultados falsos negativos, algunos autores recomiendan disminuir los niveles de corte para muestras colectadas tempranamente. Sin embargo, la dismi-

nución de los niveles de corte para muestras colectadas antes de las 48 horas de vida de los neonatos puede resultar en un incremento significativo del número de resultados falsos positivos.<sup>20</sup> Se reconoce que el empleo de técnicas más sensibles y la determinación simultánea de Phe y tirosina (Tyr) permite la detección de los recién nacidos afectados antes de las 24 horas de vida, sin que aumente el número de falsos positivos.<sup>21,22</sup>

Un estudio realizado en Argentina, en muestras de talón de recién nacidos, mostró una media de Gal de 1.8 mg/dL (0.101 mmol/L), donde el percentil 99.5 correspondió a 7 mg/dL (0.4 mmol/L).<sup>23</sup> En muestras recogidas entre el cuarto y séptimo días de vida de 34,608 neonatos se empleó un nivel de corte de 8 mg/dL (0.448 mmol/L) y el porcentaje de recitación fue de 0.09.<sup>24</sup>

En el programa de diagnóstico de esta enfermedad en Manitoba, Canadá, se encontró una muestra de un niño con componentes genéticos Duarte/galactosemia (genotipo D/g), con un valor de 0.25 mmol/L a las 48 horas de vida y cuyo valor se incrementó a 0.72 mmol/L cuando se repitió a los cinco días (120 horas). Estos datos sugieren que el niño pudo no haber sido diagnosticado si el cribado se hubiera realizado antes de las 48 horas de vida; sin embargo, no parece que esto pueda ocurrir en los casos de galactosemia clásica porque la elevación de galactosa-1-fosfato es detectable en sangre del cordón umbilical antes de la ingestión de leche.<sup>25</sup>

La tendencia a la alta hospitalaria temprana de los recién nacidos en las maternidades es un problema que enfrentan muchos países que desarrollan programas de cribado neonatal. Ha sido documentada la factibilidad del empleo de muestras de sangre de cordón para el diagnóstico del hipotiroidismo congénito, no siendo así para programas que incluyen enfermedades como la fenilcetonuria y galactosemia. Los resultados de este trabajo muestran que los niveles de concentración de T4, TSH, Phe y Gal, en muestras de sangre de talón en papel de filtro, varían con la edad del recién nacido al

momento de la toma de muestra y, por lo tanto, resulta muy importante definir los valores de corte de acuerdo a la edad para garantizar la eficiencia de estos programas.

## Agradecimientos

A todos los médicos, investigadores y técnicos del Laboratorio de Cribado Neonatal del Centro de Inmunoensayo y del Servicio de Neonatología del Hospital de Ginecología y Obstetricia "Eusebio Hernández" por su valiosa ayuda en la realización de este trabajo.

## Referencias

- Mueller RF, Young ID, Emery AEH. *Genética médica*. 10a ed. Madrid: Marban Libros, 2001.
- Gruñeiro de Papendieck L, Chiesa A, Prieto L, Bengolea S, Pérez A, La Rosa A et al. Early newborn screening for congenital hypothyroidism: TSH levels in the first 48 h of life. *Screening* 1995; 4: 149-154.
- Frómeta A, Lechuga MF, Pérez PL, Marrero N, Urquiza HD, Coto R et al. Desenvolvimento do UMEELISA TSH Neonatal para dosagem de TSH em sangue coletado em papel filtro. *Rev Brasileira An Clin* 1996; 28 (4): 202-204.
- Frómeta A, Marrero N, González E, Lugo E, Fernández L, Doménech M. Estudio comparativo de los tres papeles de filtro en los ensayos UMEELISA para el tamizaje neonatal de hipotiroidismo congénito y fenilcetonuria. *Rev Biomed* 2002; 13: 241-247.
- Marrero N, Frómeta A, González E, Baloy A, Castells E, Lugo E et al. Cribado neonatal piloto para hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria, galactosemia y deficiencia de biotinidasa. *Rev Esp Pediatr* 2002; 58 (5): 356-362.
- Torres E, Baloy A, Frómeta A, Fernández L. Determinación de fenilalanina y galactosa total a partir de una muestra de sangre seca en papel de filtro: aplicación al tamizaje neonatal. *Biomédica* 2002; 22: 22-29.
- Marrero N, Portuondo M, Lardoeyt R, Tassé D, Lantigua A. Cribado de hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria, galactosemia y deficiencia de biotinidasa en una muestra de retrasados mentales de Ciudad de la Habana. *Rev Neurol* 2003; 36 (10): 913-916.
- Fischer DA. Thyroid function in premature infants. Hypothyroxinemia of prematurity. *Clin Perin* 1998; 25 (4): 999-1013.
- Vieira Neto E, Urquiza HD. Distribución de la edad del recién nacido al momento de la toma de muestra y su influencia en el punto de corte en un programa público de pesquisa neonatal de hipotiroidismo congénito en la ciudad de Río de Janeiro. En: Cornejo V, Raimann E, Colombo M (eds). *Libro de resúmenes II Congreso Latinoamericano de Errores Innatos del Metabolismo y Pesquisa Neonatal 1999; 24-27 de octubre Santiago de Chile*. Caupolicán Servicios Gráficos, 1999; 65.
- Larsson A, Ljunggren JG, Ekman K, Nilsson A, Olin P. Screening for congenital hypothyroidism. *Act Paediat Scand* 1981; 70: 141-146.

11. Cuello X, Pérez P, Vivanco X, Lobo G, Pérez A, Bruggendieck B et al. Cintografía tiroidea (CT) con Tc<sup>99m</sup>-pertechnectato en recién nacidos (RN) con hipotiroidismo congénito (HC). *Rev Med Chile* 2003; 131: 283-289.
12. de Céspedes C, Trejos R, Umaña L, Artavia E, Casco T, Rodríguez S et al. Tamizaje neonatal masivo de hipotiroidismo congénito y enfermedades metabólicas hereditarias en Costa Rica: 1990-1995. *Rev Costarr Sal Pub* 1996; 5: 1-2.
13. Gruñeiro L, Pipman V, Bregada I, Gryngarten M, Escobar ME, Cassinelli H et al. Recomendaciones para los programas de pesquisa neonatal de hipotiroidismo congénito. *Arch Argent Pediatr* 2002; 98 (4): 244-246.
14. Sardovia Iyer M, Hamilton B, Little CH, Ayers L, Becker W, Lott J. Benefits of two-tier cut-off for TSH hypothyroidism assay. *Book of abstracts 4th Meeting of the International Society for Neonatal Screening. 1999, June 13-16 Stockholm.* Stockholm Convention Bureau, 1999; 77.
15. Campistol J, Vilaseca MA, Cambra FJ, Lambruschini N. Diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las hiperfenilalaninemias. *Act Nutr* 1998; 24: 22-29.
16. Marrero N, Frómeta A, Coto R, Villegas L. Medición de TSH, T4 y Phe en muestras de sangre del cordón umbilical en papel de filtro: impacto en el cribado neonatal. *Bioméd Colombia* 2000; 20: 30-41.
17. Naruse H, Ohashi YY, Tsuji A, Maeda M, Nakamura K, Fujii T et al. A method of Phenylketonuria screening using phenylalanine dehydrogenase and microplate system. *Screening* 1992; 1: 63-66.
18. Ponzone A, Carbonara C, Spada M. Phenylalanine tolerance and metabolism in phenylketonuria impact on newborn and heterozygote screening. *J Inher Met Dis* 1998; 21 (3): 8-13.
19. McCabe ERB, McCabe L, Mosher GA, Allen RJ, Berman JL. Newborn screening for phenylketonuria: Predictive validity as a function of age. *Ped* 1983; 72: 390-398.
20. Cunningham GC, Lorey F, Arnopp J, Patterson M, Currier R. Early discharge trends and their effect on PKU screening. In: Pass K Levy H (eds). *Early hospital discharge: Impact on newborn screening.* Council of Regional Networks for Genetics Services; March 31, 1995; Washington, 1995; 31-56. Emory University School of Medicine. Atlanta, GA.
21. Chace DH, Millington DS, Terada N, Kahler SG, Row CR, Hofman LF. Rapid diagnosis of phenylketonuria by quantitative analysis for phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1993; 39: 66-71.
22. Chace DH, Sherwin JE, Hillman SL, Lorey F, Cunningham GC. Use of phenylalanine-to-tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry to improve newborn screening for phenylketonuria of early discharge specimens collected in the first 24 hours. *Clin Chem* 1998; 44: 2405-2409.
23. Di Carlo CM, Gómez FR, Lanz MH, Castillo PI, Adam MM, Pistaccio LG, y col. Elaboración y evaluación de un método fluorométrico para galactosa total. En: Cornejo V, Raimann E, Colombo M (eds). *Libro de resúmenes II Congreso Latinoamericano de Errores Innatos del Metabolismo y Pesquisa Neonatal 1999; 24-27 de octubre Santiago de Chile.* Caupolicán Servicios Gráficos, 1999; 93-94.
24. Yamaguchi A, Fukushi M, Mizushima Y, Shimizu Y, Takasugi N, Arashima S, Ohyanagi K. Microassay for screening newborn for galactosemia with use of fluorometric microplate reader. *Clin Chem* 1989; 35 (9): 1962-1964.
25. Cheril R, Greenberg MD, Dilling LA, Thompson R, Ford JD, Sergeant LE et al. Newborn screening for galactosemia: a new method used in Manitoba. *Ped* 1989; 84 (2): 331-335.