

# Garantía de la calidad en el laboratorio de cribado neonatal: recomendaciones

Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC)

Comité Científico

Comisión de Errores Metabólicos Congénitos<sup>1</sup>

Documento B, Fase 3, Versión 1

Preparado por I. Eguileor Gurtubai, M. Espada Sáenz-Torre, E. Dulín Iñiguez, F. Chamorro Ureña

## ÍNDICE

0. Introducción
1. Alcance y objetivos
2. Enfermedades incluidas en los programas de cribado neonatal
3. Elementos críticos del sistema de la calidad
  - 3.1. Organización y personal
    - 3.1.1. Organización. Funciones y responsabilidades
    - 3.1.2. Personal. Requisitos, cualificación y formación
  - 3.2. Documentación y registros
  - 3.3. Muestra
    - 3.3.1. Estrategia de extracción
    - 3.3.2. Obtención de la muestra y procesado
    - 3.3.3. Validación de las muestras de sangre desecada
    - 3.3.4. Antigüedad de la muestra
  - 3.4. Análisis de laboratorio
    - 3.4.1. Métodos analíticos
      - 3.4.1.1. Métodos analíticos para la detección de hipotiroidismo congénito
      - 3.4.1.2. Métodos analíticos para la detección de hiperfenilalaninemias
    - 3.4.2. Instrumentación
    - 3.4.3. Reactivos
    - 3.4.4. Material de calibración
  - 3.5. Evaluación de la calidad analítica
    - 3.5.1. Control interno de la calidad (CIC)
    - 3.5.2. Evaluación externa de la calidad
4. Recomendaciones
5. Anexo 1. Definiciones
6. Bibliografía

## 0. INTRODUCCIÓN

El cribado neonatal es una actividad de Salud Pública dirigida a la identificación precoz de niños afectados por determinadas condiciones, genéticas, endocrinas o infecciosas, que amenazan su vida y salud, para las cuales una intervención médica a tiempo puede conducir a la eliminación o reducción significativa de la morbilidad, mortalidad o discapacidades asociadas.

A fin de preservar los principios éticos de beneficencia, justicia y autonomía, debe garantizarse el acceso equitativo y universal de todos los recién nacidos (cobertura del 100 %), la participación informada de los padres, la protección de la confidencialidad y unos servicios de tratamiento y seguimiento.

<sup>1</sup>Composición de la Comisión: JR Alonso Fernández, D. Castiñeiras Ramos, F. Chamorro Ureña, E. Cortés Castell, E. Dulín Iñiguez (presidenta), I. Eguileor Gurtubai, M. Espada Sáenz-Torre, MC. Fernández Iglesias, J. Remón Álvarez-Arenas, T. Pámpols Ros.

El propósito de los análisis utilizados es identificar a todos los neonatos presuntamente positivos y clasificarlos respecto a su probabilidad de tener un trastorno concreto en una población aparentemente sana, con un mínimo aceptable de resultados falsos positivos. Las pruebas de cribado neonatal no son procedimientos de diagnóstico. Los que den un resultado positivo requerirán procedimientos diagnósticos posteriores.

Los análisis cualitativos y cuantitativos requieren el mismo grado de garantía de calidad y por ello no podrán diferir entre ambos, los mecanismos para establecer y monitorizar los criterios de su adecuado funcionamiento.

La garantía de la calidad es esencialmente un proceso de gestión (1), en el que la fase de control de la calidad es un componente importante de medida y monitorización. El sistema de garantía de la calidad permite que se tomen decisiones correctas relacionadas con la validez y fiabilidad del funcionamiento de un laboratorio de cribado neonatal.

## 1. ALCANCE Y OBJETIVOS

La garantía de la calidad en los programas de cribado neonatal incluye en la fase preanalítica: la cobertura, la obtención, la validez y el transporte de las muestras; la fase analítica: la medición de las magnitudes, y la evaluación de los resultados; y la fase post-analítica: el tiempo de respuesta y la comunicación de resultados. Debe garantizarse la confidencialidad y seguridad en la documentación, junto con una clara identificación de las funciones y responsabilidades del personal involucrado en el proceso. La garantía del seguimiento y tratamiento de los recién nacidos afectados completa el proceso, en el que es imprescindible la colaboración de los centros de detección con los centros de diagnóstico y tratamiento.

Los criterios de funcionamiento de un laboratorio de cribado neonatal deben estar predeterminados e incluidos en el sistema de la calidad documentado.

Así, el cribado neonatal requiere una documentación adecuada junto con la implantación de una sistemática de garantía de la calidad en el laboratorio donde el control y la evaluación de la calidad constituyen una parte, reducida pero significativa, de este proceso complejo.

El objetivo de este documento es establecer las recomendaciones básicas para implantar un sistema que asegure la calidad y fiabilidad de los resultados en los programas de cribado neonatal.

## 2. ENFERMEDADES INCLUIDAS EN LOS PROGRAMAS DE CRIBADO NEONATAL

Se recomienda realizar el cribado neonatal de aquellas enfermedades en las que se haya demostrado claramente el bene-

ficio de la detección precoz para el recién nacido. Son pocas las enfermedades que cumplen con los criterios clásicos establecidos por la Organización Mundial de la Salud (2) para ser objeto de cribado neonatal. Fundamentalmente se resumen en cinco puntos: 1) La enfermedad da lugar a severa morbilidad (mental y física) o mortalidad, si no se diagnostica en periodo neonatal; 2) La enfermedad no se detecta clínicamente por un simple examen físico en periodo neonatal; 3) Existe un tratamiento efectivo disponible; 4) La enfermedad tiene una incidencia relativamente alta (>1 en 10.000-15.000 recién nacidos) y 5) Existe un procedimiento analítico de cribado rápido, fiable y de bajo coste.

El cribado neonatal de hipotiroidismo congénito e hiperfenilalaninemias están incluidas en todos los programas nacionales, con una cobertura actual del 99,8% de los recién nacidos en España.

La recomendación para la introducción de otras enfermedades en el cribado neonatal, dependerá, entre otros aspectos, de su prevalencia en una determinada región y de los resultados previos del estudio piloto que deberá incluir un estudio coste/beneficio.

Actualmente, en algunas Comunidades Autónomas, además de las ya citadas, se realiza la detección de las siguientes enfermedades, cuya cobertura (porcentaje de recién nacidos en España analizados para cada enfermedad) se recoge entre paréntesis:

- hiperplasia suprarrenal congénita, (23%)
- deficiencia de biotinidasa (4,5%)
- fibrosis quística (23%)
- hemoglobinopatías (18%)
- aminoacidopatías (20%)
- otras enfermedades metabólicas hereditarias (4,5% de los recién nacidos) mediante espectrometría de masa en tandem

No se debe iniciar el cribado neonatal de una enfermedad si las ventajas de una detección precoz para el neonato no están claramente definidas y existen garantías de la adecuada provisión por parte del sistema sanitario asistencial de un correcto diagnóstico, seguimiento y tratamiento a todos los casos detectados.

### 3. ELEMENTOS CRÍTICOS DEL SISTEMA DE LA CALIDAD

#### 3.1. Organización y personal

El personal, en todos los niveles, es la base de cualquier organización pero, por las características del trabajo relacionado con el cribado neonatal, es necesario un esfuerzo continuo para consolidar y potenciar el trabajo en equipo de todo el personal técnico, clínico y administrativo (1).

##### 3.1.1. Organización. Funciones y responsabilidades

Las responsabilidades analíticas de los programas de cribado neonatal se dividen habitualmente en diversas secciones. Es necesario que exista un organigrama del laboratorio y de la organización en que se encuadra y debe reflejar las vinculaciones existentes con otras áreas críticas de un programa de cribado como son los centros de obtención de las muestras o las unidades de seguimiento clínico.

Las funciones deben estar claramente definidas, en especial aquellas que se puedan considerar clave, relacionadas con:

- el personal (cualificación, autorización para realizar tareas, formación)
- las muestras (obtención, verificación y aceptación para análisis)
- los procedimientos analíticos (validación, aprobación y ejecución)
- equipamiento, materiales, reactivos (calibración, verificación, establecimiento de especificaciones, criterios de aceptación)
- resultados analíticos: validación, evaluación del control interno de la calidad (CIC) y de la participación en programas de evaluación externa de la calidad (PEEC).
- actuaciones ante análisis no conformes
- control de documentación y registros
- auditorías internas o metodología equivalente para realizar el seguimiento de la correcta implantación del sistema que garantiza la calidad del conjunto del programa de cribado

Las responsabilidades se deberán atribuir de manera cuidadosa al personal que se considere clave para realizar las funciones descritas. Para verificar el correcto funcionamiento de la organización, se estudiarán los posibles solapamientos u omisiones de responsabilidad que pudieran generar ineficiencias e incluso problemas graves de funcionamiento.

Siempre que sea posible deben atribuirse responsabilidades diferenciadas entre los aspectos técnicos y los de mantenimiento y gestión del sistema de la calidad, de forma que no supongan ámbitos diferenciados sino que aporten visiones complementarias para la consecución del objetivo analítico y el mantenimiento de la excelencia organizativa y del sistema de documentación y registro que evidencie el correcto funcionamiento del sistema.

En todo momento ha de preverse la sustitución del personal clave, estando identificadas las personas sustitutas o los criterios para su identificación en caso de ausencia del responsable de alguna de las funciones críticas.

La confidencialidad es un aspecto fundamental de la organización de los programas de cribado neonatal. Por ello, además de los compromisos personales con las salvaguardas que han de establecerse, se debe buscar la máxima eficacia en el control de los datos, incluyendo el control de datos mantenidos en equipos conectados a redes, en los que se deberá implantar el control de acceso con las restricciones correspondientes.

##### 3.1.2. Personal. Requisitos, cualificación y formación

El personal debe tener una dedicación plena, estar bien entrenado en el área del cribado neonatal y su formación debe ser continuada (1).

Es necesario establecer las descripciones de los puestos de trabajo donde consten los requisitos mínimos de conocimientos, experiencia, aptitudes y formación necesarios para desarrollar cada puesto.

El cumplimiento de preceptos legales sobre titulaciones académicas específicas no es condición suficiente para demostrar la competencia en la ejecución de unas tareas concretas, ya que esto debe hacerlo el laboratorio a través del proceso de cualificación.

Asimismo el laboratorio debe tener establecida una sistemática para identificar las necesidades de formación continua y formar al personal.

Con ello se establecerán los procesos de cualificación y autorización del personal para cada tipo de actividad que se

requiera (ejecución de análisis, calibraciones internas, validación, control de documentos).

Un aspecto fundamental es la supervisión adecuada del personal que esté en formación o que se incorpora de manera eventual.

Todos estos aspectos han de registrarse de forma que se dispongan de manera individualizada y actualizados los registros sobre cualificación, experiencia y formación del personal.

El personal que participa en el cribado neonatal ha de estar concienciado del impacto y la importancia de su trabajo y, si es posible, asistir a reuniones con otros centros de cribado, con los responsables del seguimiento así como mantener contactos con los casos detectados y sus familias. Debido a que mucha parte del trabajo en el laboratorio de cribado neonatal es repetitivo el personal debe ser entrenado de manera cruzada y rotar de actividad dentro del mismo laboratorio para evitar al máximo que la ejecución rutinaria de una misma actividad pueda inducir a error.

### 3.2. Documentación y registros

La información relativa a una muestra remitida a un laboratorio de cribado debe ser rastreable a través de todos los registros disponibles en el laboratorio. Asimismo toda la información archivada debe ser suficiente como para permitir disponer de evidencias de las actividades ejecutadas incluyendo, en caso necesario, y de ser factible la repetición del análisis.

Para ello deberá establecerse una cadena de custodia de todos las muestras recibidas junto con la documentación y registros generados desde el análisis hasta la emisión del informe. Deben conservarse evidencias de que el informe de los resultados es adecuado y emitido a tiempo, incluyendo los resultados sobre muestras inaceptables o inadecuadas. Toda la sistemática debe estar descrita en la documentación del sistema de la calidad del laboratorio, donde se indiquen los registros necesarios para documentar las actividades realizadas (1)

El material utilizado para la recogida de datos y obtención de las muestras, deberá constar de los elementos necesarios para asegurar en todo momento la identificación inequívoca y su trazabilidad.

El conjunto mínimo de datos que debe contener un registro se refiere a:

- Datos de la extracción:
  - Identificación del centro
  - Fecha y hora de la extracción
  - Tipo de lactancia
  - Parto múltiple
- Datos personales:
  - Identificación del centro de nacimiento
  - Nombre
  - Primer apellido
  - Segundo apellido
  - Fecha y hora de nacimiento
  - Semanas de gestación
  - Sexo
  - Peso
  - Nombre de la madre
  - Primer apellido de la madre
  - Segundo apellido de la madre
  - Dirección completa (calle, número, piso, puerta, teléfono, código postal, municipio y provincia)

- Datos del laboratorio:
  - Fecha de recepción
  - Registro de incidencias acerca de la calidad de la muestra
  - Fecha resultado = Fecha fin del análisis
  - Resultado
  - Número de identificación o registro
- Otros datos a considerar se refieren a:
  - Tipo de parto
  - Antecedentes de hiperfenilalaninemia, hipotiroidismo
  - Clave o número (código de barras)
  - La extracción
  - Personales o demográficos
  - El laboratorio
  - Observaciones

En el caso de utilizar soportes informáticos o equipos automatizados para la adquisición, el procesamiento, el registro, la publicación, el almacenamiento o la recuperación de datos sobre los análisis, los laboratorios deben utilizar programas correctamente validados y establecer protecciones contra modificaciones indebidas.

Por otra parte, se deberán implantar procedimientos de verificación de la entrada de datos de identificación de muestras y de los informes de resultados asociados como parte del proceso de evaluación de la calidad.

El sistema empleado deberá garantizar en todo momento la integridad y confidencialidad de los datos y todas las sistemáticas establecidas deberán estar descritas dentro de los procedimientos documentados.

El sistema informático utilizado permitirá la conexión con los equipos de medida y la explotación de la base de datos. Se deberán obtener como mínimo los indicadores de calidad siguientes:

- Número de recién nacidos analizados
- Número de muestras no válidas
- Media, mediana, mínimo y máximo de los intervalos entre:
  - fecha de nacimiento-fecha extracción de la muestra
  - fecha extracción de la muestra- fecha de recepción de la muestra
  - fecha de recepción de la muestra -fecha de resultado
  - fecha de nacimiento-fecha de resultado
- Número de casos detectados
- Fecha de nacimiento-fecha de detección
- Número de falsos positivos
- Número de falsos negativos

Asimismo permitirá la interconexión con otros programas de Salud Pública y bases de datos creadas con fines sanitarios como:

- Programa de vacunas
- Programa de prevención de hipoacusia

El contenido de la base de datos deberá disponer de un nivel de protección alto, deberá estar obligatoriamente registrada, y cumplir con los requisitos de accesos, usos y salvaguardas de obligado cumplimiento de acuerdo a la Ley Orgánica de Protección de Datos, (LOPD 15/1999 de 13 de diciembre y reglamento sobre medidas de seguridad de ficheros automatizados RD 994/1999 de 11 de junio).

### 3.3. Muestra

#### 3.3.1. Estrategia de extracción

La estrategia de extracción se deberá planificar de forma que se alcance una cobertura del 100% de los recién nacidos y el tratamiento precoz del 100% de los casos detectados.

Como norma general, se recomienda una extracción única de sangre a partir de 48 horas de vida del neonato, o expresado de otra manera, extracción al tercer día de vida, considerado como día cero el día del nacimiento (3, 5).

#### 3.3.2. Obtención de la muestra y procesado

Las recomendaciones para el procedimiento de obtención de sangre han sido publicadas previamente (3). La recogida de muestras a toda la población neonatal está estandarizada y se realiza sobre papel absorbente fabricado especialmente. Actualmente se recomienda el uso de papel Whatman nº 903, con marcado  $\text{\textcircled{E}}$ , cuya matriz cumple las especificaciones recomendadas por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (4) y aceptado por la Food and Drug Administration (FDA).

La exposición del papel para la recogida de muestras a los lubricantes o a los productos empleados para el acabado de algunos guantes quirúrgicos puede interferir con algún análisis (4).

Se recomienda que, cuando se produzca cambio de lote de papel, los laboratorios comparen y ensayen el nuevo lote de acuerdo con las especificaciones dadas por los NCCLS (4).

El número de lotes de papel absorbente en uso simultáneo debe ser minimizado y se recomienda no tener en circulación más de dos lotes simultáneamente, manteniendo un único lote anual.

#### 3.3.3. Validación de las muestras de sangre desecada

El laboratorio deberá mantener un registro de entrada de muestras no válidas. Cada muestra debe ser evaluada de acuerdo con los siguientes criterios:

- Volumen de sangre adecuado
- Uniformidad de la aplicación
- Grado de saturación
- Exposición a agentes interferentes (agua, alcohol, jabón, colonia, desinfectantes)
- Secado incorrecto
- Excesivo calentamiento (durante el secado o durante el transporte)

#### 3.3.4. Antigüedad de la muestra

Se refiere al tiempo transcurrido entre la recogida de la muestra y su recepción en el laboratorio y que generalmente es menor de 15 días.

Muestras recibidas posteriormente (>15 días), deben considerarse insatisfactorias para el análisis.

En el caso de que se almacenen las muestras sobrantes durante largos periodos, se deberá mantener la precaución de almacenar, en las mismas condiciones, materiales de control de calidad, con objeto de monitorizar la estabilidad de las muestras identificadas para un estudio posterior.

Se deberá establecer así mismo el protocolo y política a seguir para el almacenamiento y usos posteriores de las muestras residuales (6).

### 3.4. Análisis de laboratorio

El control de la calidad analítica consiste en el uso de procedimientos de control para maximizar tanto la calidad como

la productividad del proceso analítico; no es solamente el proceso de monitorizar la consistencia de los resultados de un análisis con una serie de medidas independientes. Aplicando principios del control de la calidad se pueden monitorizar las variables analíticas y en el caso de fallo del sistema establecer una acción correctiva que asegure la viabilidad del proceso analítico y así mejorar el rendimiento del laboratorio.

Los métodos y técnicas aplicados a los análisis para un determinado desorden metabólico varían considerablemente entre los diferentes programas. Sin embargo, en todos los programas de cribado la aplicación de análisis fiables requiere tomar decisiones competentes sobre los elementos básicos del laboratorio: integridad de la muestra, selección del método, instrumentación, calidad de reactivos, calibración y competencia del personal.

La experiencia demuestra que mejorar la exactitud (veracidad y precisión) y los límites de detección de los procedimientos analíticos, permite descubrir nuevos conocimientos bioquímicos y fisiopatológicos que mejoran la comprensión de las enfermedades. En consecuencia, las especificaciones de la calidad (objetivos analíticos) son conceptos importantes que permiten dirigir y optimizar la gestión del laboratorio (7,8).

#### 3.4.1. Métodos analíticos

La elección del método es un tema fundamental influenciado por diferentes factores, entre los que de manera destacada se debe considerar la incidencia / prevalencia del desorden en la población cribada y la selectividad y especificidad del método de análisis. Se deberá valorar así mismo:

- Volumen de la muestra, manipulación de la muestra y preparación
- Tamaño de la serie analítica
- Experiencia técnica requerida
- Seguridad y coste

Otros factores a considerar pueden ser el intervalo analítico de interés así como las posibles fuentes de interferencia y la fiabilidad propuesta del método, precisión, exactitud y relación de recuperación analítica.

La implantación de nuevos procedimientos, o la modificación de los existentes puede requerir una validación en el laboratorio (y la comparación con otros métodos de referencia o aceptados cuando sea apropiado). Para ello, el laboratorio deberá tener definidas sus especificaciones de la calidad analítica, según el objetivo del trabajo, que en el caso de los laboratorios de cribado será proporcionar datos discriminantes.

Las características de fiabilidad marcarán las pautas para los criterios de validación.

A menudo los análisis iniciales sobre nuevos métodos se llevan a cabo en condiciones que son ideales y no en las que habitualmente se emplean en la actividad diaria, por ello se deben utilizar materiales de referencia secundarios que permitan validar los calibradores y asignar valores a los materiales de control de calidad para el método propuesto en rutina (9-11).

El conocimiento de la exactitud del análisis de las muestras de sangre desecada utilizada en los análisis de cribado en recién nacidos es fundamental para la evaluación clínica de los resultados, por ello la determinación y uso de niveles específicos de corte son críticos al implantar la sistemática de calibración.

Es evidente que en los análisis cuantitativos la estimación de la concentración de constituyente se ve afectada por la



exactitud con que se realizan los análisis. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que en los análisis cualitativos la presencia de sesgo afecta al valor crítico utilizado como valor discriminante y por tanto a la fiabilidad con que se clasifica a un recién nacido como «negativo o presunto positivo» y por tanto al fundamento de un programa de cribado neonatal. Este es el caso de la utilización de valor discriminante fijo en análisis cualitativos que ofrecen un valor «positivo» sin indicar su concentración.

Cada laboratorio debe establecer sus valores de referencia. Será especialmente importante evaluar a estos niveles de concentración los objetivos analíticos de precisión definidos por cada laboratorio, que en ningún caso debiera ser superior al 25%, según los datos que se exponen en los puntos siguientes.

Cada método tiene su validez de predicción. Los valores de corte flotantes se basan en una distribución gaussiana de los valores del constituyente en la población cribada. Los calibradores (o estándares) trazables a una fuente de estándar primaria deben utilizarse (con la documentación apropiada) para todos los análisis de cribado en recién nacidos.

#### 3.4.1.1. Métodos analíticos para la detección de hipotiroidismo congénito

Para el cribado del hipotiroidismo congénito se recomienda como prueba primaria la medición de la hormona tirotrópica (TSH), pudiendo realizarse de manera complementaria la medición de tiroxina (T4).

El método analítico elegido deberá cumplir como objetivo de calidad en precisión que su coeficiente de variación a cualquier nivel de concentración no exceda de 10-15%.

Los valores de aceptación ( $\pm 2SD$ ) asignados a los materiales de control comerciales clasificados en 2 niveles de concentración medio y alto suponen un coeficiente de variación (*CV*) de reproducibilidad intralaboratorio (RSDr) de 10% que es por tanto adecuado para la monitorización del cumplimiento de los objetivos de calidad de precisión.

En todos los laboratorios de cribado neonatal españoles se utilizan métodos no isotópicos como el ensayo inmunoenzimático (ELISA) o la inmunofluorescencia que han ido sustituyendo a los procedimientos radiactivos. Desde que en 1986 se introdujo el método no isotópico de fluoroinmunoanálisis, en su versión a tiempo retardado, es el más utilizado en la actualidad (95% del total de los laboratorios en España).

Basados en los consensos internacionales y considerando la metodología actual disponible se sugiere como valor discriminante para la medición de TSH 10  $\mu U/mL$  en sangre (12).

#### 3.4.1.2. Métodos analíticos para la detección de hiperfenilalaninurias

Para la medición de fenilalanina (Phe), se recomienda el empleo de métodos específicos como la fluorimetría que permiten detectar con seguridad concentraciones de 120  $\mu mol/L$  (1,98 mg/dL) de fenilalanina, frente a otros más versátiles, pero no más eficientes, como la cromatografía en capa fina.

El método analítico elegido deberá cumplir como objetivo de calidad en precisión que su coeficiente de variación intralaboratorio no exceda del 15-25% a cualquier nivel de concentración.

Los valores de aceptación ( $\pm 2SD$ ) asignados a los materiales de control comerciales clasificados en 3 niveles de concentración bajo, medio y alto suponen un coeficiente de variación (*CV*) de reproducibilidad intralaboratorio (RSDr) de 15% que

es por tanto adecuado para la monitorización del cumplimiento del objetivo de calidad de precisión.

Basados en los consensos internacionales y considerando la metodología actual disponible se sugiere como valor discriminante para la medición de Phe 150  $\mu mol/L$  (2,47 mg/dL) en sangre.

#### 3.4.2. Instrumentación

La selección de los instrumentos no solamente depende del método seleccionado sino también del coste. La elección debe reflejar el estándar de la práctica establecida para los programas de cribado.

El laboratorio debe disponer de un procedimiento documentado para cada equipo que incluya instrucciones de mantenimiento, calibración y funcionamiento. En estos documentos deberán indicarse los registros necesarios para evidenciar la ejecución de las operaciones de mantenimiento correctivo y preventivo a realizar por el laboratorio o el fabricante con la periodicidad requerida.

La Directiva Europea 98/79/CE (13), obliga a los fabricantes a establecer sistemas de calidad en la producción de equipos que hayan de ser comercializados en los países de la Unión Europea.

#### 3.4.3. Reactivos

El laboratorio debe registrar claramente, para cada serie analítica, los siguientes datos mínimos de los reactivos y otros materiales analíticos empleados: denominación, lote, concentración, fecha de recepción o preparación, fecha de apertura, fecha de caducidad y condiciones de almacenamiento. En los casos en que aplique se incluirá el nombre de las personas responsables de las diferentes operaciones, de manera que se asegure así la trazabilidad de todos los elementos de la serie.

La Directiva (13) mencionada en el punto anterior, en su apartado A) obliga al fabricante a declarar las especificaciones con respecto a sensibilidad analítica, sensibilidad del diagnóstico, especificidad analítica, especificidad diagnóstica, exactitud, repetibilidad, reproducibilidad, incluido el control de las interferencias pertinentes conocidas y los límites de detección de los análisis.

Las especificaciones de la Directiva se refieren a criterios técnicos, la conformidad con los cuales se asegura mediante el control del proceso de fabricación. Ello no implica una garantía de que el producto de diagnóstico cumpla las necesidades de salud y los requisitos médicos, por ello se debe establecer un diálogo entre fabricantes y usuarios ya que 1) el usuario tiene los medios para verificar las especificaciones de la calidad de los «Productos sanitarios para diagnóstico in vitro»; 2) Las asociaciones científicas pueden establecer un diálogo provechoso con los fabricantes que asegure un acuerdo que conduzca al suministro de productos para diagnóstico de mejor calidad 3) Existe un entorno comercial sumamente competitivo, en el cual los productos con prestaciones inaceptables pueden ser rápidamente eliminados del mercado.

#### 3.4.4. Material de calibración

Los materiales de calibración utilizados deberán documentar la trazabilidad hasta un material de referencia adecuado, de exactitud conocida o realizar su validación mediante un método de referencia aceptado.

Cada laboratorio debe establecer sus valores de referencia, en función de sus materiales de calibración y procedimientos analíticos (14).

Deben realizarse estudios de recuperación que garanticen la ausencia de sesgos significativos en el procedimiento de análisis.

Para ello se deben utilizar los estándares internacionales de consenso disponibles en la actualidad. Para fenilalanina, el European Working Standard (EWS) y el WHO 2nd IRP (80/558) para tirotopina (TSH). Su uso permite disponer de datos consenso y una trazabilidad aceptable para conocer su valor y por tanto establecer medidas de control sobre el posible sesgo de las medidas.

Los valores analíticos determinados para muestras de pacientes deben calcularse en base a una comparación con la respuesta analítica de los calibradores y de las muestras.

El laboratorio debe registrar a su recepción todos los calibradores que se utilizan señalando el número de lote y fecha de caducidad, así como las condiciones de almacenamiento requeridas.

### 3.5. Evaluación de la calidad analítica

Las actividades de evaluación de la calidad deben ser acordes con las especificaciones de la calidad establecidas que ha de cumplir un método de análisis para que se considere válido.

#### 3.5.1. Control interno de la calidad (CIC)

El control de la calidad analítica permite:

- Detectar funcionamientos incorrectos en el sistema analítico que puedan afectar al análisis de las muestras de los pacientes
- Cuantificar esa porción de la variabilidad del resultado del análisis causada por el error aleatorio en un análisis en oposición al error debido a las variables preanalíticas o a la variación fisiológica.

El control de la calidad analítica se realiza generalmente analizando materiales estables de concentración conocida en los métodos habituales (de rutina) y calculando los parámetros estadísticos que permiten describir el funcionamiento analítico.

El control interno de la calidad se utiliza para medir el error aleatorio del método, asegurar su precisión adecuada y calcular sus componentes de error inter e intraserie. Así, se puede tomar una acción correctora si el resultado analítico no se ajusta a los criterios especificados.

Se debe definir la frecuencia y los niveles de concentración en que se ha de ejecutar el control. Cada serie analítica debe incorporar sus controles distribuidos de forma aleatoria. Preferiblemente deben de analizarse los controles por duplicado, a diferentes concentraciones y cercanos a los valores discriminantes.

El material de control debe ser:

- Estable
- Trazable
- Realizado en una matriz/soposte de papel igual al empleado para la toma de muestra.

Los criterios de aceptación y rechazo deben estar claramente establecidos. En el caso de evaluar métodos cualitativos con valor umbral de valor discriminante, los controles deben incluir valores negativo (sano), positivo alto (patológico) y positivo bajo (indeterminado o dudoso) próximo al valor umbral.

En el caso de que se utilicen valores discriminantes flotantes basados en la desviación estándar SD debe tenerse en cuenta que esto sólo es válido si la población sigue una distribución normal para esa magnitud. En caso de distribución «no normal» deberán emplearse percentiles.

Para el seguimiento pueden utilizarse tablas de control gráfico de Levey Jennings que pueden incluir reglas múltiples para el rechazo, al objeto de minimizar el riesgo de rechazo de series válidas.

De igual forma es útil el empleo de tablas de control de Shewhart para realizar el seguimiento de las medias y los intervalos.

El hecho de que se encuentren más de 5 valores que superen los límites a un lado del valor diana indica que es necesario realizar un estudio de causas que puedan motivar esa tendencia que apunta a un problema en el sistema analítico, ya que sólo existe un 2% de posibilidades de que sea explicada por el azar.

Por el contrario, el hecho de que no se encuentren valores que salgan fuera de los límites establecidos no quiere decir que el sistema sea estable sino que nuestro control de calidad no detecta inestabilidades.

Por ello asociado al CIC debe de existir un registro para garantizar que toda la serie analítica sea trazable.

Todo este control de la calidad debe ir asociado a una sistemática que identifique los responsables de evaluar el CIC, habiéndose establecido a priori las pautas de actuación ante resultados anómalos incluyendo la responsabilidad de aceptar o rechazar una serie analítica y evaluar el impacto que la detección de problemas tiene sobre la actividad del laboratorio (análisis realizados antes y después de la detección del problema) (15,16).

Este CIC debe incluir el comportamiento de las muestras durante la ejecución del análisis para detectar posibles problemas como la falta de elución (calor excesivo), la presencia de hemoglobina A de adulto (transfusión), restos de alcohol, etc.

#### 3.5.2. Evaluación externa de la calidad

La evaluación externa de la calidad se utiliza para estimar el cumplimiento de especificaciones de exactitud y precisión, evaluar el error sistemático y facilitar las comparaciones entre laboratorios. Esta evaluación de la comparabilidad en el funcionamiento de los laboratorios es el objetivo fundamental de los ejercicios de intercomparación denominados programas de ensayos de aptitud, programas de evaluación externa de la calidad (PEEC), etc.

Aunque no es el objetivo principal de un PEEC, la participación en estos ejercicios permite al laboratorio realizar la evaluación de instrumentos, reactivos, métodos e incluso personal.

El aspecto fundamental de un PEEC es que su organización, muestras, sistemática de evaluación, ha de ser adecuada al uso previsto de los resultados. Basándose en la norma ISO 43 (17) existen una serie de guías y protocolos (18-22) que señalan los diferentes requisitos que debe de cumplir un proveedor de PEEC. Así han de tenerse en cuenta aspectos como:

- Uso de muestras de estabilidad y homogeneidad apropiadas
- Tratamiento estadístico de los resultados de los participantes
- Criterios para el establecimiento del valor asignado (conocido, certificado, referencia, laboratorios expertos o consenso). Influencia de un número reducido de participantes

sobre la incertidumbre del valor asignado cuando éste se realiza por consenso entre los participantes.

- Uso de criterios objetivos de calidad en la dispersión aceptable entre los resultados recibidos. Este es un aspecto fundamental, ya que la utilización del valor de la dispersión obtenida por los propios participantes ofrece simplemente unas evaluaciones «descriptivas sobre la calidad prevalente» y evita que los laboratorios puedan establecer acciones de mejora o conocer su rendimiento comparando los resultados de participación en diferentes PEEC.
- Información a remitir a los participantes

La adecuación de los métodos al cumplimiento de los objetivos de calidad de precisión indicados en los puntos 3.4.1.1 y 3.4.1.2 se evidencia por los resultados obtenidos en los últimos tres años del Programa Externo de Evaluación de la Calidad de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC). En este programa se obtienen datos indicativos de cual es la precisión interlaboratorio para TSH a nivel bajo, medio y alto obtenida por los laboratorios participantes y expresada como CV (RSDR). Los valores obtenidos de 15%, 13% y 11% respectivamente nos dan una idea del estado de la ciencia.

Como objetivo puede sugerirse un valor diana de CV (RDS) interlaboratorio (PEEC) de 15%.

Así mismo, en este programa se obtienen datos indicativos de la precisión interlaboratorio para Phe a nivel bajo, medio y alto obtenida por los laboratorios de cribado expresada como CV (RSDR), obteniéndose valores de 25%, 21% y 12% respectivamente.

Para el caso de Phe, como objetivo puede sugerirse un valor diana de CV (RDS) interlaboratorio (PEEC) de 25%.

#### 4. RECOMENDACIONES

El objetivo primordial de los programas de cribado neonatal es identificar todos los neonatos presuntamente positivos para aquellas enfermedades incluidas en los programas y conseguir el inicio precoz del tratamiento para evitar la morbimortalidad y las posibles discapacidades asociadas. La responsabilidad del laboratorio de cribado neonatal a lo largo de todas las etapas descritas en los puntos anteriores hace necesario la implantación de un sistema de la calidad que asegure el control de todos aquellos elementos críticos, para optimizar la práctica diaria en el laboratorio y alcanzar con éxito su objetivo. Por ello se recomienda:

1. Definir claramente las funciones y responsabilidades de todo el personal relacionado con el laboratorio de cribado neonatal
2. Implantar programas de formación continuada y establecer procesos de cualificación y autorización para cada actividad
3. Disponer de un sistema de gestión de laboratorio que asegure la trazabilidad y el estado de una muestra a través de los registros disponibles en el laboratorio
4. Establecer el conjunto mínimo de datos que debe contener un registro
5. Disponer de un sistema informático capaz de obtener los indicadores de calidad descritos
6. Asegurar el nivel de protección alto de la base de datos y cumplir los requisitos de acuerdo a la Ley Orgánica de Protección de Datos (LOPD 15/1999)

7. Realizar, en los ámbitos en los que sea posible, una única extracción de sangre a partir de las 48 horas de vida del recién nacido
8. Utilizar materiales de calibración trazables a los estándares internacionales de consenso (EWS y WHO)
9. Utilizar análisis cuantitativos capaces de cumplir los objetivos analíticos de precisión definidos anteriormente para TSH y Phe
10. Marcar como objetivo un valor diana de CV (RDS) interlaboratorio (PEEC) de 15% para TSH y de 25% para Phe

#### 5. ANEXO 1. DEFINICIONES

##### Generales

- **programa de cribado neonatal:** actividad de salud pública dirigida a la identificación presintomática de determinados estados genéticos, metabólicos o infecciosos, mediante el uso de pruebas que puedan ser aplicadas a toda la población de recién nacidos.
- **centro de cribado neonatal:** centro de detección y referencia, donde se centraliza la recepción y análisis de las muestras obtenidas a todos los recién nacidos en una determinada región geográfica.
- **prueba de cribado neonatal:** procedimiento analítico realizado a todos los neonatos, para determinar la presencia o la cantidad de un determinado constituyente y detectar aquellos con riesgo suficientemente elevado de padecer una determinada condición que justifique acciones posteriores de seguimiento y procedimientos de pruebas diagnósticas.
- **centro de seguimiento:** unidad clínica de referencia, donde se realiza el seguimiento y tratamiento de aquellos neonatos con riesgo suficientemente elevado de padecer un determinado desorden.
- **prueba diagnóstica:** examen o procedimiento analítico utilizado para clasificar clínicamente los pacientes detectados por el centro de cribado.
- **espécimen:** porción de material original procedente de un sistema dinámico obtenido de un recién nacido (sangre, orina, LCR).
- **muestra:** una porción representativa de un fluido obtenida en un determinado momento.

##### De la muestra

- **muestra de rutina:** muestra obtenida de acuerdo a las recomendaciones de los programas de cribado neonatal. La extracción de una segunda muestra posterior se recomienda en algunos programas.
- **muestra válida:** obtenida de acuerdo a las recomendaciones del programa de cribado neonatal.
- **muestra no válida:** obtenida de forma inapropiada, de baja calidad ó inadecuada para el cribado neonatal.
- **muestra de repetición:** obtenida a petición del laboratorio como consecuencia de una primera muestra no válida, o para determinar la validez de un resultado previo presunto positivo.
- **muestra precoz:** obtenida antes de las 48 horas de vida del neonato.
- **muestra opcional:** no requerida por el programa, y remitida al laboratorio después de un resultado inicial negativo.

### De la prueba

- **prueba inicial:** primer análisis realizado sobre una muestra de una muestra.
- **prueba de confirmación (reanálisis):** análisis realizado sobre la misma muestra.
- **prueba de repetición:** análisis realizado sobre una nueva muestra reclamada, para determinar la validez de un resultado previo presunto positivo.

### Del análisis

- **procedimiento analítico:** conjunto de operaciones descritas específicamente, para la medición de un constituyente de acuerdo con un método dado.
- **sensibilidad:** la relación de verdaderos positivos.
- **especificidad:** la relación de verdaderos negativos.
- **incidencia:** número de nuevos casos ocurridos en un periodo determinado y en una población definida.
- **prevalencia:** proporción de personas que sufren una enfermedad con respecto al total de la población en estudio y en un periodo o momento determinado.
- **frecuencia:** número de casos ocurridos por número de analizados, equivalente a la prevalencia en recién nacidos.
- **valor predictivo positivo:** proporción de individuos verdaderamente afectados con resultado positivo para la condición objeto de cribado.
- **serie analítica:** conjunto de análisis realizados consecutivamente en el intervalo dentro del cual se considera que la inexactitud e imprecisión del sistema de medida son estables.

### De los materiales de referencia, calibradores y controles

- **material de referencia:** sustancia en la que uno o más valores de sus propiedades son homogéneos y de concentración conocida, que permite su uso como material de referencia para la atribución de valores a calibradores.
- **trazabilidad:** propiedad del resultado de una medida o del valor de un calibrador, mediante el cual pueda relacionarse con referencias establecidas nacionales o internacionales, mediante una cadena ininterrumpida de comparaciones, cada una con su incertidumbre calculada.
- **calibrador:** material empleado como referencia para calibrar, trazable a un material de referencia.
- **material de control:** utilizado por el laboratorio para la evaluación continuada de los resultados obtenidos.
- **incertidumbre:** intervalo dentro del cual se espera encontrar el valor real del constituyente que se mide.

### De los métodos analíticos

- **exactitud:** grado de concordancia entre el resultado de una medida y el valor real del mesurando.
- **precisión:** grado de concordancia entre los resultados de análisis independientes obtenidos en condiciones bien definidas.
- **imprecisión:** coeficiente de variación de un conjunto de resultados obtenidos al medir repetidamente un mensurando con un mismo procedimiento de medida.
- **capacidad de detección:** capacidad para detectar pequeñas cantidades de un componente.
- **sensibilidad:** capacidad de un método analítico para diferenciar dos cantidades o dos concentraciones de constituyente muy parecidas.

- **especificidad:** capacidad del análisis para determinar el constituyente objeto de medida.
- **robustez:** capacidad del método de resistir pequeños cambios en las condiciones operativas sin que su funcionamiento se vea alterado.

### De la toma de decisión

- **nivel de decisión o valor discriminante:** valor analítico que establece la división entre resultados que se clasifican como negativos de aquellos clasificados como positivos.

### De los resultados

- **resultado negativo:** indica que el recién nacido no requiere seguimiento.
- **resultado positivo:** indica que el recién nacido tiene riesgo de padecer la condición para la que se realiza el cribado.
- **resultado presunto positivo:** se requiere una nueva muestra para confirmar la condición.
- **resultado falso negativo:** resultado negativo obtenido en la muestra tomada de un recién nacido que tiene la condición para la que se realiza el cribado.
- **resultado falso positivo:** resultado positivo obtenido en la muestra tomada de un recién nacido que no tiene la condición para la que se realiza el cribado.

### De la calidad

- **Garantía de calidad:** Conjunto de características de una entidad que le confieren la aptitud para satisfacer las necesidades establecidas y las implícitas.
- **Control de calidad:** Técnicas y actividades de carácter operativo utilizadas para cumplir los requisitos para la calidad.
- **Control interno de la calidad:** Técnicas y actividades operativas dentro del laboratorio para la evaluación continuada de la fiabilidad de su trabajo y los resultados obtenidos.
- **Evaluación externa de la calidad:** Sistema de comparación objetivo y retrospectivo de los resultados de diferentes laboratorios, realizado por una organización externa.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. ISO 15189:2003 Medical Laboratories. Particular requirements for quality and competence.
2. Wilson JMG, Junger G. Principles and Practice of Screening for Disease. Public Health Papers 34. Geneva: World Health Organization, 1968.
3. Espada M, Dulín E. Procedimiento para la obtención y recogida de muestras de sangre sobre papel de filtro en los programas de detección precoz neonatal de errores congénitos del metabolismo. Sociedad Española de Química Clínica y Patología Molecular. Comité Científico. Comisión de Errores Metabólicos. Quim Clín 2001;20(2): 81-8
4. National Committee for Clinical Laboratory Standard. Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screenings Program; Approved Standard-Fourth Edition. NCCLS document LA4-A4. Vilanova, Pa.: NCCLS, 2003.
5. UK Newborn Screening Programme Centre. Policies and standards for newborn blood spot screening. December 2004 (<http://www.newbornscreening-bloodspot.org.uk/>)
6. Pámpols T, Cortés E, Dulín E. Almacenamiento y uso de las muestras residuales de sangre seca recogida sobre papel absorbente en los programas de cribado neonatal. Sociedad Española de Química Clínica y Patología Molecular. Comité Científico. Comisión de Errores Metabólicos Congénitos. Documento C en Fase 2 Versión 1. www.seqc.es (19.12.2005)
7. Ricós C, Álvarez V, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Jiménez CV, et al. Especificaciones de la calidad analítica en laboratorios



- clínicos con distintos niveles de recursos. Comité de Garantía de la Calidad y Acreditación de Laboratorios. Sociedad Española de Química Clínica y Patología Molecular. Comisión de la calidad Analítica. *Química Clínica* 2000;19 (3): 219-236.
8. Petersen PH, Fraser CG, Kallner A, Kenny D. Estrategias to set global analytical quality specifications in laboratory medicine. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; vol 59:Nº.7. (Traducido al español en la monografía SEQC: Estrategias para establecer especificaciones globales de la calidad analítica en el laboratorio clínico, 1999).
  9. EN ISO 15195:2003. Laboratory medicine-Requirements for reference measurement laboratories.
  10. EN ISO 17511:2003 Metrological traceability of values assigned to control materials.
  11. Ricós C, Álvarez V, Jiménez CV, Hernández A, Minchinela J. Transferibilidad de los resultados producidos en el laboratorio clínico. Comité de Garantía de la Calidad y Acreditación de Laboratorios. Sociedad Española de Química Clínica y Patología Molecular. *Quím Clín* 1996;15(6):442-4.
  12. UK Newborn Screening Programme Centre . Newborn blood spot screening in the UK. Policies and standards. April 2005. (<http://www.newbornscreening-bloodspot.org.uk>)
  13. Directive 98/79/CE of European Parliament of the Council of 27 October 1998 on In vitro Diagnostic Medical Devices. *Offic J Europ Commun* 1998; L331:1-37.
  14. Queraltó Compañó, JM. Teoría de los Valores de Referencia. Sociedad Española de Bioquímica Clínica. Monografía del Comité de Publicaciones de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica.
  15. National Committe for Clinical Laboratory Standard. Control Interno de la calidad: Principios y Definiciones. Approved Guideline: NCCLS Document C24-A, vol 11 nº6. Vilanova, Pa.:NCCLS, 1991. (Traducido al Español por el Comité de Garantía de Calidad y Acreditación de Laboratorios de la SEQC).
  16. Harmonized Guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories, M. Thompson and R. Wood. *Pure Appl. Chem* 1995; vol 67, 649-66.
  17. ISO/IEC Guide 43-1 (1997) Proficiency testing by interlaboratory comparisons-Part 1: Development and operation of proficiency testing schemes. ISO, Geneva.
  18. ILAC-G13 (2000) Guidelines for the requirements for the competence of providers of proficiency testing schemes. International laboratory Accreditation Cooperation (ILAC).
  19. The International Harmonized Protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories. IUPAC Technical Report. M. Thompson, S.L. Ellison and R. Wood, *Pure Appl. Chem.* 78, No 1, pp. 145196 (2006).
  20. IFCC/EMD/CA-Q (draft/2002 reviewed) Guidelines for requirements for the competence of EQAP organizers in Medical Laboratories.
  21. GP27-A Using PT to improve the clinical laboratory.
  22. GP29-Assessment of laboratory test when PT is not available.

Correspondencia:  
SEQC  
Comisión de Errores  
Metabólicos Congénitos  
c/ Padilla, 323, despacho 68  
08025 Barcelona  
[edulin@ipmq.hggm.es](mailto:edulin@ipmq.hggm.es)