

- REVISTA DE -  
**MEDICINA DE  
LABORATORIO**

ISSN (versión papel): 2660-7484

ISSN (versión electrónica): 2660-7638

Vol. 3 Núm. 2 | mayo-agosto 2022 | Págs. 43-91

#### Editorial

Recertificación profesional de los especialistas en Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica en España: pasado, presente y ¿futuro...? ..... 43  
*R. Ferreirós Martínez, M. Pacheco Delgado, A. Rider Pérez*

#### Originales

El hematocrito: ¿una variable incontrolable en el cribado neonatal? ..... 46  
*A. M. Vilche Juárez, G. Dratler, S. Marino, S. Coniglio, F. Tommasi, S. Quiroga*

Hematocrit: an uncontrollable variable in newborn screening? ..... 55  
*A. M. Vilche Juárez, G. Dratler, S. Marino, S. Coniglio, F. Tommasi, S. Quiroga*

#### Revisión

Utilidad del PSA en el cribado del cáncer de próstata en la perspectiva de la medicina personalizada ..... 63  
*X. Filella*

#### Artículo Especial

Modelo de recertificación de las sociedades científico-médicas de España. FACME ..... 74  
*FACME*

#### Casos Clínicos

Hipofisitis ocasionada por nivolumab ..... 79  
*A. N. Baca Yépez, V. Puerto Rumi, M. L. Martínez Triguero, A. Alba Redondo, B. Laiz Marro*

Mieloblastos en sangre periférica de recién nacido con síndrome de Down: ¿leucemia mieloide aguda o mielopoyesis anormal transitoria? ..... 82  
*M. Echeverría Urroz, N. López Barba, L. Martínez González, M. E. Redín Sarasola*

High serum creatinine after intravenous dexamethasone administration ..... 85  
*J. Pereira, A. Leão, L. Araújo, N. Gonçalves, G. Martins*

#### Evaluación Técnica/Equipos

Adaptation and analytical evaluation of urinary ammonium measurement using an automated method for plasma ammonium quantification ..... 87  
*P. Sienes Bailo, N. Goñi Ros, M. Santamaría González, J. L. Bancalero Flores, M. M. Sagrado Arroyo, E. Martínez Morillo*

**AEBM-ML**  
Asociación Española de  
Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio

**AEFA**  
Asociación Española del Laboratorio Clínico

[www.revistamedicinadelaboratorio.es](http://www.revistamedicinadelaboratorio.es)

ARÁN

©AEBM-ML (2022)  
©AEFA (2022)  
©Arán Ediciones, S.L. (2022)

La *Revista de Medicina de Laboratorio* es una revista open access, lo que quiere decir que todo su contenido es accesible libremente sin cargo para el usuario individual y sin fines comerciales. Los usuarios individuales están autorizados a leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o enlazar a los textos completos de los artículos de esta revista sin permiso previo del editor o del autor, de acuerdo con la definición BOAI (Budapest Open Access Initiative) de open access. La reutilización de los trabajos puede hacerse siempre y cuando el trabajo no se altere en su integridad y sus autores sean adecuadamente referenciados o citados en sucesivos usos, y sin derecho a la producción de obras derivadas

Esta revista se publica bajo la licencia CC BY-NC-SA (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)



ISSN electrónico: 2660-7638  
ISSN papel: 2660-7484  
Publicación cuatrimestral  
Depósito legal: M-14367-2022

#### Edición y administración:



Arán Ediciones, S.L.  
Castelló, 128, 1.º  
Tel. +34 91 745 17 29  
28006 Madrid (España)

#### Suscripciones:

##### Tarifa de suscripción anual (España):

Profesionales 95 € + IVA - Instituciones 120 € + IVA

##### Tarifa de suscripción anual (internacional):

250 € + IVA

Arán Ediciones, S.L.  
Castelló, 128, 1.º - 28006 Madrid (España) - Teléfono: +34 91 745 17 29  
Correo electrónico: [suscripc@grupoaran.com](mailto:suscripc@grupoaran.com)

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de recuperación de almacenaje de información, sin la autorización por escrito del titular del Copyright.

La editorial declina toda responsabilidad sobre el contenido de los artículos que aparezcan en esta publicación.

[www.revistamedicinadelaboratorio.es](http://www.revistamedicinadelaboratorio.es)



## Equipo Directivo

### DIRECTOR

Dr. Enrique Rodríguez Borja  
(Hospital Clínico Universitario de Valencia, Valencia)  
enrobor@gmail.com

### EDITORA JEFE

Dra. M<sup>a</sup> del Rosario Caro Narros  
(Complejo Asistencial de Segovia, Segovia)  
rcaro@saludcastillayleon.es

### EDITORES

Dra. Montserrat González Esteche  
(Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid)  
montse@cmtx.net

Dr. Joan Batista Castellví  
(Consultor Senior en Medicina de Laboratorio,  
Tarragona)  
jbatista@tinet.cat

## Editores Asociados

Díaz-Flores Estévez, Felicitas  
(Complejo Hospitalario Universitario de Canarias. San  
Cristóbal de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife)  
fdiazflo@ull.edu.es/fdiaest@gobiernodecanarias.org

Gil Ruiz, María Teresa  
(Hospital General Nuestra Señora del Prado  
de Talavera de la Reina, Toledo)  
tgruiz@sescam.jccm.es

Kabaroglu, Ceyda  
(Department of Clinical Biochemistry. School of  
Medicine. Ege University. Izmir, Turkey)  
ckabaroglu@gmail.com

Laserna Mendieta, Emilio  
(Unidad de Investigación del Hospital General  
de Tomelloso, Ciudad Real. Instituto  
de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario  
de La Princesa, Madrid)  
ejlaserna@gmail.com

López Gómez, Juan Manuel  
(Hospital Univ. de Badajoz, Badajoz)  
lopezhospi@gmail.com

Martínez Triguero, María Luisa  
(Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia)  
martinez\_mlutri@gva.es

Pérez García, Lourdes  
Laboratorio de Análisis Clínicos.  
Complejo Asistencial de Palencia. Palencia

Pineda Tenor, Daniel  
(Hospital de Antequera. Área de Gestión Sanitaria  
Norte de Málaga)  
dpinedatenor@gmail.com

Villalta Robles, Victoria  
(Complejo Asistencial de Segovia, Segovia)  
villaltarobles@gmail.com

## Consejo Asesor

Rui Manuel Amaro Pinto  
Profesor en la Facultad de Farmacia.  
Universidad de Lisboa. Portugal

Adela Castañeda de la Mata  
Especialista en Hematología y Hemoterapia.  
Hospital Universitario de Fuenlabrada.  
Fuenlabrada, Madrid. España

Gilbert C. Faure  
MD, PhD. Laboratoire d'Immunologie.  
Faculté de Médecine.  
Université Lorraine and CHU Nancy. France

Jesús Miguel García-Foncillas  
Director, Translational Oncology Division.  
Research Institute FJD-UAM. Madrid, España

Montserrat González Esteche  
Jefe de Servicio de Bioquímica Clínica.  
Hospital General Universitario Gregorio Marañón.  
Madrid, España

Juan Miguel Guerrero Montávez  
Jefe de Servicio de Bioquímica Clínica. Hospital  
Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. Catedrático  
vinculado a la Universidad de Sevilla. Sevilla, España

Gustav Kovac  
Slovak Medical University: Institute of Chemistry,  
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.  
Bratislava, Slovak Republic

Vesna Kusec  
MD PhD. University Hospital Centre Zagreb. Clinical  
Institute of Laboratory Diagnosis Zagreb. Croatia

Juan Ernesto del Llano-Señaris  
Presidente de la Fundación Gaspar Casal.  
Madrid, España

Franklin Marques  
Profesor de la Facultad de Farmacia. Universidad  
de Porto. Laboratorio de Bioquímica. Porto, Portugal

Luis Nogueira Martins  
Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa.  
Lisboa, Portugal

Leverton Ortiz Cáceres  
Jefe del Laboratorio Clínico. Hospital de la Serena.  
Chile

Wytze Pier Oosterhuis  
Zuyderland Medical Center. Heerlen/Sittard.  
The Netherlands

M.<sup>a</sup> del Carmen Pasquel  
Directora General Revista DIV/RIA/IFCC.  
Asesora Regional de la Fundación Wiener. Ecuador

Patrick Twomey  
Professor. Consultant Chemical Pathologist.  
Head of Department/Laboratory Director for Clinical  
Chemistry. St. Vincent's University Hospital.  
Dublin, Ireland

Roberto Verna  
MD PhD. Professor Faculty of Medicine.  
Sapienza University of Rome. President of World  
Association of Societies of Pathology and  
Laboratory Medicine. President of World Pathology  
Foundation. Rome, Italy



Santiago Prieto Menchero

**Presidente de la Asociación Española  
de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio (AEBM-ML)**



Antonio Rider Pérez

**Presidente de la Asociación Española  
del Laboratorio Clínico**





# - REVISTA DE - MEDICINA DE LABORATORIO

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 3 Núm. 2 | mayo-agosto 2022

## Sumario

### Editorial

Recertificación profesional de los especialistas en Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica en España: pasado, presente y ¿futuro...? ..... 43  
*R. Ferreirós Martínez, M. Pacheco Delgado, A. Rider Pérez*

### Originales

El hematocrito: ¿una variable incontrolable en el cribado neonatal? ..... 46  
*A. M. Vilche Juárez, G. Dratler, S. Marino, S. Coniglio, F. Tommasi, S. Quiroga*

### Revisión

Utilidad del PSA en el cribado del cáncer de próstata en la perspectiva de la medicina personalizada ..... 63  
*X. Filella*

### Artículo Especial

Modelo de recertificación de las sociedades científico-médicas de España. FACME ..... 74  
*FACME*

### Casos Clínicos

Hipofisitis ocasionada por nivolumab ..... 79  
*A. N. Baca Yépez, V. Puerto Rumi, M. L. Martínez Triguero, A. Alba Redondo, B. Laiz Marro*

Mieloblastos en sangre periférica de recién nacido con síndrome de Down: ¿leucemia mieloide aguda o mielopoyesis anormal transitoria? ..... 82  
*M. Echeverría Urroz, N. López Barba, L. Martínez González, M. E. Redín Sarasola*

Creatinina sérica alta después de la administración de dexametasona intravenosa ..... 85  
*J. Pereira, A. Leão, L. Araújo, N. Gonçalves, G. Martins*

### Evaluación Técnica/Equipos

Automatización y evaluación del rendimiento de un método adaptado para la determinación del amonio urinario ..... 87  
*P. Sienes Bailo, N. Goñi Ros, M. Santamaría González, J. L. Bancalero Flores, M. M. Sagrado Arroyo, E. Martínez Morillo*



- REVISTA DE -  
**MEDICINA DE  
LABORATORIO**

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 3 No. 2 | May-August 2022

## Summary

### Editorial

- Professional recertification of specialists in Clinical Analysis and Clinical Biochemistry in Spain: past, present and future...? ..... 43  
*R. Ferreirós Martínez, M. Pacheco Delgado, A. Rider Pérez*

### Originals

- Hematocrit: an uncontrollable variable in newborn screening? ..... 46  
*A. M. Vilche Juárez, G. Dratler, S. Marino, S. Coniglio, F. Tommasi, S. Quiroga*

### Review

- Usefulness of PSA in prostate cancer screening in the perspective of personalized medicine ..... 63  
*X. Filella*

### Special Article

- Recertification model of the Spanish scientific-medical societies. FACME ..... 74  
*FACME*

### Case Reports

- Hypophysitis caused by nivolumab ..... 79  
*A. N. Baca Yépez, V. Puerto Rumi, M. L. Martínez Triguero, A. Alba Redondo, B. Laiz Marro*

- Myeloid blasts in peripheral blood in newborn with Down syndrome, acute myeloid leukemia or transient abnormal myelopoiesis? ..... 82  
*M. Echeverría Urroz, N. López Barba, L. Martínez González, M. E. Redín Sarasola*

- High serum creatinine after intravenous dexamethasone administration ..... 85  
*J. Pereira, A. Leão, L. Araújo, N. Gonçalves, G. Martins*

### Technical Evaluation/Equipments

- Adaptation and analytical evaluation of urinary ammonium measurement using an automated method for plasma ammonium quantification ..... 87  
*P. Sienes Bailo, N. Goñi Ros, M. Santamaría González, J. L. Bancalero Flores, M. M. Sagrado Arroyo, E. Martínez Morillo*



## Recertificación profesional de los especialistas en Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica en España: pasado, presente y ¿futuro...?

### *Professional recertification of specialists in Clinical Analysis and Clinical Biochemistry in Spain: past, present and future...?*

En este número de la *Revista de Medicina de Laboratorio* se publica la propuesta de modelo de recertificación española de las sociedades científico-médicas de España-FACME (1). El documento, desarrollado por el consejo asesor FACME de recertificación, recoge los modelos de desarrollo profesional continuo (DPC) y de recertificación, confeccionados previamente por varias sociedades científicas (SSCC), entre las que se encuentra la Asociación Española de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio (AEBM-ML) (2), tomando también como referencias de cara a una posible convalidación el modelo europeo y el canadiense. En él se han consensado unos requisitos que deben cumplir los modelos específicos de las distintas especialidades en ciencias de la salud para que el proceso sea lo más homogéneo posible para las diferentes especialidades.

### EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE RECERTIFICACIÓN PROFESIONAL EN ESPAÑA

La recertificación profesional, entendida como el proceso mediante el cual se certifica la renovación de las competencias específicas de los profesionales que garantice su capacidad para realizar las actividades de su ejercicio profesional, no es un concepto reciente. De hecho, en España existe desde hace tiempo el marco normativo que avala su implantación. Tanto la Ley 44/2003, de 21 de noviembre, de ordenación de las profesiones sanitarias (LOPS) como la Ley 16/2003, de 28 de mayo, de cohesión y calidad del Sistema Nacional

de Salud recogen la necesidad de que los profesionales sanitarios realicen a lo largo de su vida profesional una formación continuada y acrediten regularmente su competencia profesional (3,4). Sin embargo, a pesar de algunas propuestas en los últimos 20 años, los avances para su puesta en marcha han sido lentos, probablemente debido a la heterogeneidad de las especialidades, a la falta de coordinación entre ellas y con el resto de actores necesariamente implicados y, seguramente también, a las reticencias de algunos profesionales ante las consecuencias que pudieran derivarse de no superar el proceso.

Con la publicación de la Directiva Europea 2013/55, relativa al reconocimiento de cualificaciones profesionales, que anima a los Estados miembros a impulsar el DPC de los profesionales sanitarios, se le da un nuevo impulso a este proceso. Como paso previo a la puesta en marcha de un proceso de valoración del DPC a nivel nacional, la Comisión de Recursos Humanos del Sistema Nacional de Salud aprobó en 2013 un borrador que establecía que la "reacreditación" (recertificación) debería ser voluntaria, realizarse cada seis años y evaluar no solo la actividad profesional en los ámbitos asistencial, formativo, docente e investigador, sino también la ética y el profesionalismo. Este documento implicaba tanto a organizaciones colegiales como a SSCC y, en última instancia, a la Administración sanitaria, como organismo encargado de emitir la recertificación de los profesionales sanitarios (5).

Con vistas a la entrada en vigor de esta normativa europea por RD 581/2017, de 9 de junio, modificado



recientemente por el RD 1129/2021, de 21 de diciembre (6), y con la publicación del RD 589/2022, de 19 de julio, sobre Formación Sanitaria Especializada (FSE) (7), que en sus disposiciones finales segunda y cuarta recuerda la necesidad de acreditación periódica de competencia profesional y su indicación en el Registro Estatal de profesionales sanitarios, han ido surgiendo en España por parte de las organizaciones colegiales diversas propuestas para llevar a cabo la recertificación. La propuesta que se recoge de FACME (1) agrupa en un documento común las de la Organización Médica Colegial (OMC), la de la Sociedad Española de Educación Médica (SEDEM) y las de diversas sociedades científicas.

### **IMPLICACIÓN DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE BIOPATOLOGÍA MÉDICA-MEDICINA DE LABORATORIO (AEBM-ML) Y DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DEL LABORATORIO CLÍNICO (AEFA) EN LA RECERTIFICACIÓN PROFESIONAL DE LOS ESPECIALISTAS EN ANÁLISIS CLÍNICOS Y BIOQUÍMICA CLÍNICA**

Desde la AEBM-ML, con representación en FACME, se entendió la necesidad de abordar esta tarea para las especialidades de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica, que presentan la peculiaridad de ser especialidades multidisciplinares, incluyendo entre sus profesionales no solo a médicos, sino también a biólogos, farmacéuticos y químicos. Así, en 2015 se constituyó el Comité de Recertificación de la AEBM-ML, que inició su andadura recopilando información sobre los modelos de recertificación existentes en otros países para los especialistas en medicina de laboratorio, así como de las herramientas que permitieran evaluar sus competencias para posteriormente, y siguiendo la propuesta básica de la Comisión de Recursos Humanos del SNS, definir un modelo específico de recertificación profesional. Este trabajo se plasmó en la publicación de dos artículos referentes al proceso de recertificación y a las herramientas de evaluación de las competencias profesionales (8,9). A continuación, se procedió a la definición de las competencias de estas especialidades, lo que constituyó una tarea intensa y exhaustiva que implicó la necesidad de contar con el apoyo de diferentes profesionales que desarrollaran cada uno de los dominios competenciales. Se incorporaron también al grupo de trabajo representantes de AEFA, fruto de la colaboración entre ambas sociedades. Finalmente, este proyecto cristalizó en una propuesta de modelo de recertificación adaptada al amplio espectro de profesionales que trabajan en muy diversos campos y entornos laborales y válida tanto para los especialistas de Análisis Clínicos como de bioquímica clínica (2). Esto

permite que la previsible próxima fusión de ambas especialidades no afecte al modelo propuesto.

Paralelamente a este proceso, la AEBM-ML firmó en 2016 un convenio de colaboración con la OMC para validar la capacitación profesional de los especialistas de laboratorio de la licenciatura o del grado en Medicina, que AEFA firmó también en 2019. Asimismo, se han mantenido contactos con los Consejos Generales de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, Químicos y Biólogos para garantizar que los parámetros y los criterios de evaluación, en cuanto a competencias técnicas, sean homogéneos para todos los especialistas, independientemente de la licenciatura o del grado de entrada en la FSE.

Una vez obtenido el modelo teórico de recertificación, elaborado conjuntamente entre AEBM-ML y AEFA, el siguiente paso dentro del convenio de colaboración entre AEBM-ML y la OMC fue hacer un desarrollo real informatizado con el soporte metodológico de la Fundación Educación Médica para que los especialistas tuvieran una plataforma en la que llevar a cabo el proceso de recertificación. Esta plataforma está actualmente en fase de validación.

Además, la AEBM-ML ha tenido representación en el grupo de trabajo de expertos del consejo asesor de FACME, que ha dado lugar al documento consensuado entre todas las sociedades científico-médicas integradas en FACME, que han aunado esfuerzos para obtener el modelo común.

El 8 de abril de 2022 los presidentes de las tres sociedades científicas nacionales de medicina de laboratorio-laboratorio clínico, AEBM-ML, AEFA y la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQCML), firmaron un acuerdo de colaboración en el que se comprometían a trabajar conjuntamente en el modelo y a presentar un proyecto único y consensuado partiendo del documento publicado por el Comité de Recertificación AEBM-ML y por el Grupo de Trabajo AEFA/AEBM-ML. Para ello se constituyó un Comité de Recertificación formado, inicialmente, por dos miembros de cada sociedad.

### **SITUACIÓN ACTUAL DE LA RECERTIFICACIÓN DE LOS ESPECIALISTAS EN ANÁLISIS CLÍNICOS Y BIOQUÍMICA CLÍNICA**

De acuerdo con el modelo propuesto, la recertificación profesional comprende dos procesos: la validación periódica de la colegiación (VPC) y la evaluación de las competencias de los especialistas, que se realiza a través de la evaluación del DP y de la formación continuada. Desde la AEBM-ML y la AEFA defendemos el papel fundamental que desempeñan las SSCC en to-

dos los aspectos relacionados con la evaluación y el reconocimiento de la competencia de los profesionales, al ser las organizaciones profesionales que cubren y garantizan la evaluación por pares, el conocimiento experto y su actualización periódica.

La publicación del modelo común de recertificación de los profesionales en ciencias de la salud, en la que se han consensado los requisitos que han de cumplir los modelos específicos, sienta las bases para que el modelo de recertificación de las diferentes especialidades sea lo más homogéneo posible. Queda por ver, en última instancia, si la Administración sanitaria, como organismo encargado de emitir la recertificación de los profesionales sanitarios, incorpora el modelo propuesto o si realizan modificaciones.

---

*Conflictos de intereses: los autores declaran no tener conflictos de intereses.*

Raquel Ferreirós Martínez<sup>1</sup>,  
María Pacheco Delgado<sup>2</sup>, Antonio Rider Pérez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Presidenta del Comité de Recertificación de AEBM-ML,

<sup>2</sup>Presidenta de AEBM-ML, <sup>3</sup>Presidente de AEFA

---

## BIBLIOGRAFÍA

1. FACME. Modelo de recertificación de las sociedades científico-médicas de España. FACME. Rev Med Lab 2022;3(2):74-8. DOI: 10.20960/revmedlab.00138
2. Recertificación profesional de los especialistas en Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica: estructura, requerimientos y modelo de competencias. Comité de recertificación AEBM-ML. Grupo de trabajo de AEFA AEBM-ML. AEBM-ML 2019. Disponible en: <https://www.aebm.org/images/activos/publicaciones/2019/LIBRO-RECERTIFICACION-FINAL.pdf>
3. Ley 44/2003, de 21 de noviembre, de ordenación de las profesiones sanitarias (LOPS). BOE n.º 280, de 22 de noviembre de 2003. p. 41442-58.
4. Ley 16/2003, de 28 de mayo, de cohesión y calidad del Sistema Nacional de Salud (LCC). BOE n.º 128, de 29 de mayo de 2003, p. 20567-88.
5. Documento técnico. Proceso de evaluación del desarrollo profesional (DP). Comisión de Recursos Humanos del Sistema Nacional de Salud. 2013. [Consultado 05 agosto 2022]. Disponible en: [https://www.secipe.org/docs/2-DP-Documento%20tecnico\\_27-11-2013.pdf](https://www.secipe.org/docs/2-DP-Documento%20tecnico_27-11-2013.pdf)
6. RD 1129/2021, de 21 de diciembre, por el que se modifica el Real Decreto 581/2017, de 9 de junio, por el que se incorpora al ordenamiento jurídico español la Directiva 2013/55/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de noviembre de 2013, por la que se modifica la Directiva 2005/36/CE relativa al reconocimiento de cualificaciones profesionales y el Reglamento (UE) n.º 1024/2012 relativo a la cooperación administrativa a través del Sistema de Información del Mercado Interior (Reglamento IMI), en relación con el procedimiento de reconocimiento de cualificaciones profesionales. BOE n.º 305, de 22 de diciembre de 2021, pp 158664-158675
7. RD 589/2022, de 19 de julio, por el que se regulan la formación transversal de las especialidades en Ciencias de la Salud, el procedimiento y criterios para la propuesta de un nuevo título de especialista en Ciencias de la Salud o diploma de área de capacitación específica, y la revisión de los establecidos, y el acceso y la formación de las áreas de capacitación específica; y se establecen las normas aplicables a las pruebas anuales de acceso a plazas de formación en especialidades en Ciencias de la Salud. BOE n.º 173, de 20 de julio de 2022, pp 102998-103025.
8. Alonso-Cerezo MC, Carbonell Muñoz R, Lorenzo Lozano MC, Hidalgo Calero B, Ferreirós Martínez R y Pallarés Neila L. Recertificación de los especialistas en Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica. Rev Lab Clin 2017;10(4):221-226.
9. Ferreirós-Martínez R, Hidalgo Calero B, Lorenzo Lozano MC, Carbonell Muñoz R y Alonso-Cerezo MC. Herramientas para la evaluación de las competencias profesionales. Rev Lab Clin 2018;11(2):93-6.





## Original

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

## *Hematocrit: an uncontrollable variable in newborn screening?*

Alejandro Mario Vilche Juárez<sup>1</sup>, Gustavo Dratler<sup>2</sup>, Silvia Marino<sup>2</sup>, Sofía Coniglio<sup>1</sup>,  
Florencia Tommasi<sup>2</sup>, Silvia Quiroga<sup>1</sup>

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

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

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

### Palabras clave:

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

### RESUMEN

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

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

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

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

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

DOI: 10.20960/revmedlab.00106

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

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

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

#### Keywords:

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

#### ABSTRACT

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

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

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

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

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

#### INTRODUCCIÓN

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Diseño del estudio y muestras empleadas

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

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

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

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

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

### Estimación del hematocrito

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

de GSPF y la posterior estimación del porcentaje de hematocrito.

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

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

de sodio (SLS) 1,7 g/L y se incubó a temperatura ambiente durante una hora. Se transfirió el sobrenadante a una placa de lectura, que se incubó durante 10 minutos, lo que evitó que quedaran burbujas que pudieran afectar a la lectura. Utilizando un lector de placa Biotek ELx800 (Vermont, Estados Unidos) a una longitud de onda de 550 nm se midió la absorbancia. Interpolando con la curva se obtuvo la concentración de Hb presente. Este método colorimétrico (espectrofotometría), descrito por Richardson y cols. (12), forma un complejo SLS-Hb que tiene un rango de absorbancia óptica de 500-560 nm. La absorbancia fue lineal en el rango de concentración esperado en las muestras de los pacientes, obedeciendo a la ley de Beer-Lambert (11,12). Las lecturas fueron estables en la placa a temperatura ambiente y protegida de la luz al menos durante 12 horas.

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

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

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

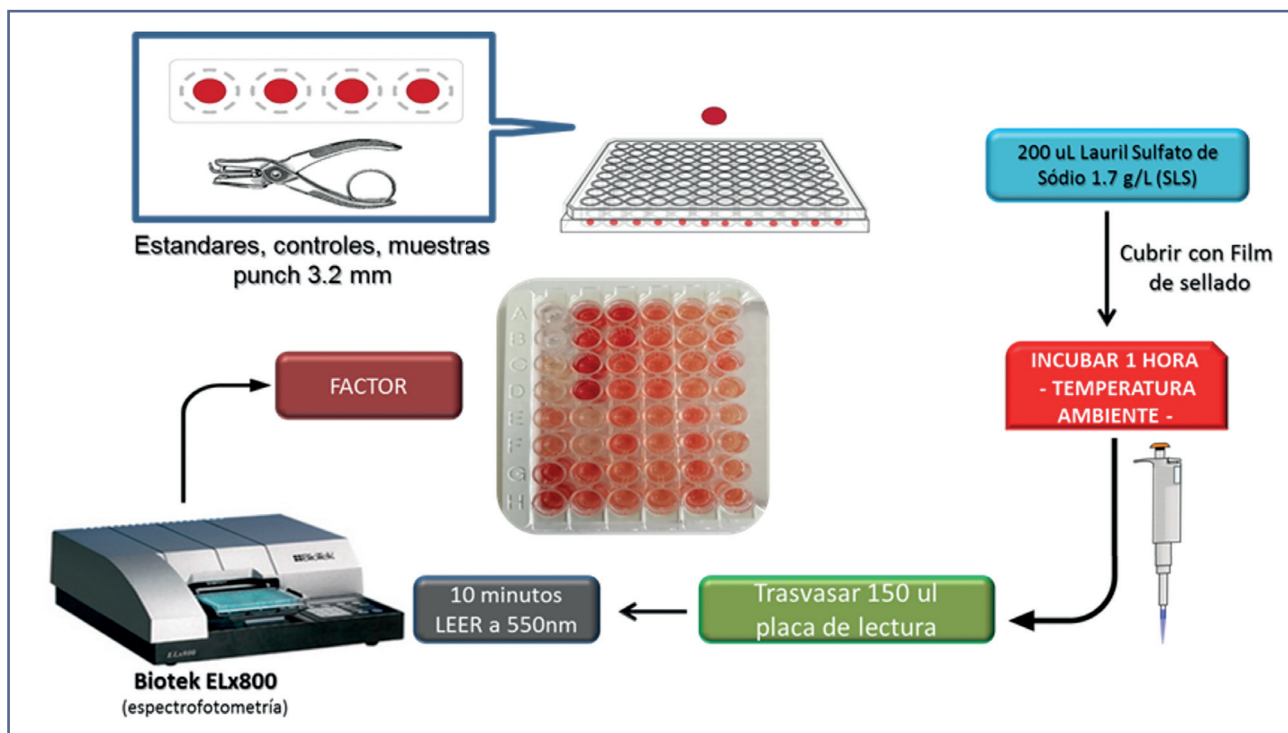


Figura 1 – Esquema de la técnica de estimación del hematocrito.

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

### Análisis estadístico

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

## RESULTADOS

### Características generales de los neonatos

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

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

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

### Validación del método de medida del hematocrito

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

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

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

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

### Efecto de la corrección en las determinaciones del cribado neonatal

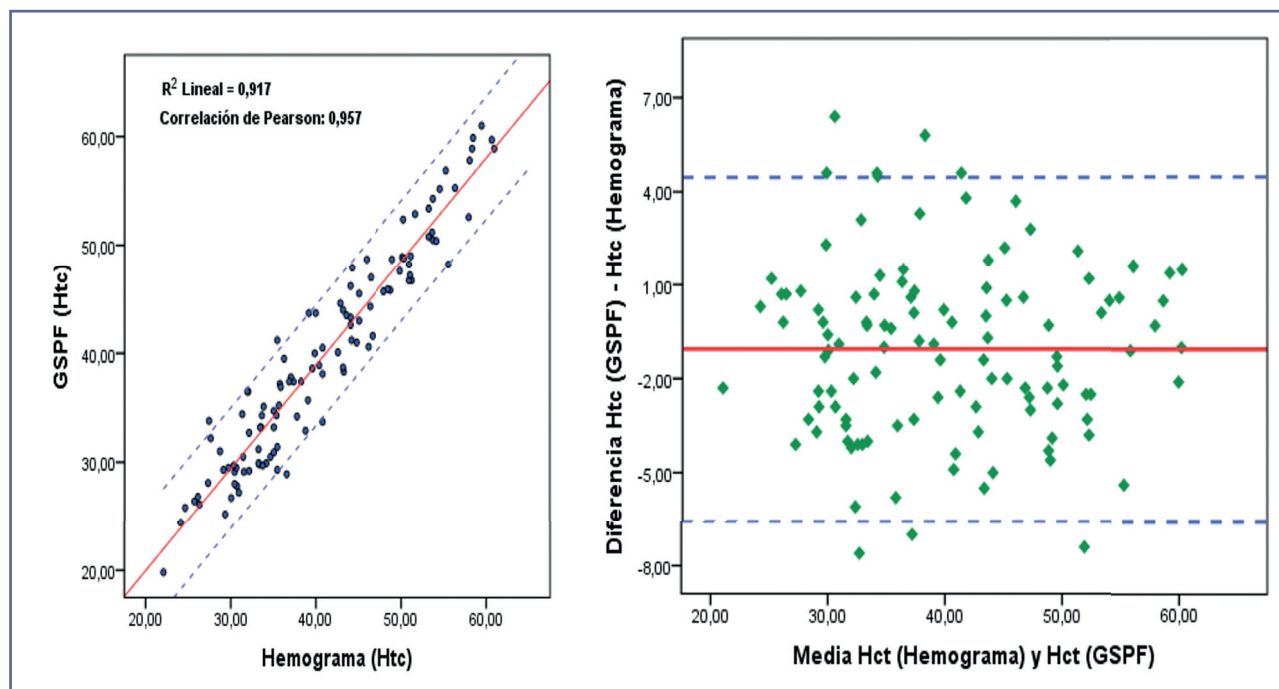
Utilizando la estimación del hematocrito de las muestras de GSPF se empleó un valor consenso del 55 % de hematocrito. A los resultados de las determinaciones del CN se les aplicó un factor de corrección con respecto al valor del hematocrito obtenido. Se analizó el impacto del nuevo resultado con respecto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

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

### Tirotropina

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





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

**Tabla I.**

**Análisis de repetitividad del método analítico para la determinación del hematocrito en muestras de pacientes adultos**

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

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

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

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

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



**Tabla II.**  
Tabla de aplicación del factor de corrección

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

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

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

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

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

### 17-OH-progesterona

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

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

### Tripsina inmunorreactiva

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

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

### Resultados generales del cribado neonatal

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

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

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

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

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

## CONCLUSIÓN

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

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

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

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

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

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

## BIBLIOGRAFÍA

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

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



**Original**

## **Hematocrit: an uncontrollable variable in newborn screening?**

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

*Alejandro Mario Vilche Juárez<sup>1</sup>, Gustavo Dratler<sup>2</sup>, Silvia Marino<sup>2</sup>, Sofía Coniglio<sup>1</sup>,  
Florencia Tommasi<sup>2</sup>, Silvia Quiroga<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Laboratory of Endocrinology. Hospital Universitario. Centro de Educación Médica e Investigación Clínica Dr. Roberto Quirno (CEMIC). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Laboratory of Neonatal Research. Hospital de Pediatría SAMIC Prof. Dr. Juan Pedro Garrahan. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

**Received:** 15/10/2021  
**Accepted:** 12/05/2022

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

**Keywords:**

Hematocrit. Newborn screening. Cut-off. Thyrotropin. Immunoreactive trypsin.

### **ABSTRACT**

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

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

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

*This work was presented at the Congress of the Latin American Society of Inborn Errors of Metabolism and Neonatal Screening 2019, May 12 to 15 in Buenos Aires (Argentina), winner as Best Oral Communication of Neonatal Screening.*

**Conflicts of interest:** the authors declare no conflicts of interests.

DOI: 10.20960/revmedlab.00148

Vilche Juárez AM, Dratler G, Marino S, Coniglio S, Tommasi F, Quiroga S. Hematocrit: an uncontrollable variable in newborn screening? Rev Med Lab 2022;3(2):55-62

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

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

#### Palabras clave:

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

## RESUMEN

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

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

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

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

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

## INTRODUCTION

Newborn screening (NBS) for congenital diseases began in the 1960s when microbiologist Robert Guthrie and biochemist Louis Woolf developed a simple and sensitive test for the detection of phenylketonuria. In 1968, Wilson and Jungner published criteria for evaluating screening programs, stating that they should be "an ongoing process and not a one-time test" (1).

NBS allows for the diagnosis of diseases that in their natural course would be life-threatening and/or compromise the intellectual development of affected infants, with a high social and psychological cost for the patients, their families, and the society. These diseases account for a major economic burden due to the increased use of social and healthcare resources (2,3). Although incidence of each of these disorders is low, their impact on public health is substantial. NBS

programs are preventive and essential for healthcare systems; however, the implementation strategies vary in different countries (4). Adequate detection with timely intervention reduces disease-associated morbidity, mortality, and disability. NBS is low cost and greatly reduces the economic burden related to these conditions for both families and healthcare systems (2).

Detection times are important for confirmatory testing and early treatment initiation in identified cases, before symptoms of the disease appear or irreparable damage is done (2-4).

In Argentina, testing for phenylketonuria, congenital hypothyroidism, cystic fibrosis, galactosemia, congenital adrenal hyperplasia, biotinidase deficiency, retinopathy of prematurity, Chagas disease, and syphilis, followed by treatment in positive cases as well as monitoring of these tests is mandatory in all public, state-run, social security, and private institutions in the country where deliveries take place and/or newborns are seen (National Law 26279/2007) (5,6).

The dried blood spot (DBS) sample used for NS has many advantages: minimal volume, favorable stability of numerous analytes, reduced costs associated with shipping and storage, and is less invasive than venous sample collection (7,8). Nevertheless, the concentration of red blood cells per unit volume of blood influences DBS analysis (7,9). One of the main sources of error is the packed red blood cells-to-plasma ratio. This variable could be determined by estimating the hematocrit level (through the measurement of hemoglobin). When blood is applied to the filter paper, it will diffuse at different rates depending on the sampling technique and variables related to the newborn and the filter paper, affecting the size of the blood spot. By using a fixed punch size for sample analysis, the packed red blood cells could affect the results of the different analytes used for newborn screening. The hematocrit behaves as a variable in the analysis of the results (10). The normal hematocrit range for a healthy newborn is from 42 % to 64 %. Abnormal levels may be characteristic of polycythemia or anemias, which cause an extremely high and low hematocrit, respectively (11,12). In some cases, volume correction could mean the difference between a positive and negative result (7,11). Since the cut-off points are established independently of the hematocrit value, not knowing the hematocrit level may lead to a false positive results. Therefore, determining the hematocrit level may improve the positive predictive value of this test (11).

The aims of our study were to develop a laboratory technique that allows us to determine the hematocrit value in the DBS of the NBS, to assess the effect of the variable hematocrit on the results of thyrotropin (TSH), immunoreactive trypsinogen (IRT) and 17-Hydroxyprogesterone (17OHP), and to analyze its impact on the results.

## MATERIAL AND METHODS

### Study design and samples used

A retrospective, cross-sectional study was conducted. The samples were used once the mandatory NBS was completed, between May 3, 2018 and January 29, 2019. A total of 1124 samples from preterm and term newborns collected by two NBS laboratories were analyzed. Gestational age of hospitalized and non-hospitalized infants ranged from 24 to 41 weeks. Sampling for term newborns was performed between the 2nd and 5th day of life with at least 24 hours of protein feeding (breast milk or formula milk), before the mother and newborn were discharged. In the case of premature infants, the sampling was repeated at 15 days or when they reached the age of 37 weeks. The samples were collected in the hospital or maternity ward and once dry, they were stored at 4 °C until the time of testing. Samples with blood spots with diameters less than 10 mm, poor quality specimens, or incomplete card data were excluded.

The sample had to be accompanied by a complete information card to be properly identified. The data from the newborn were necessary for the correct interpretation of the results, while those from the mother and the responsible physician allowed rapid communication of the results (2).

In case of an inadequate sample, doubtful results, or results above the established cut-off points, a new sample was requested and the analysis was repeated, which was considered urgent in all cases (2).

On the other hand, a complete blood count was performed in 114 children, by medical request, on the same day as the DBS collection. Hematocrit values from the complete blood counts were used to perform a linear regression analysis to validate the method of hematocrit estimation in DBS.

Ten DBS samples from adult patients (hematocrit range, 29.2 % to 42.0 %) were included in the study and were analyzed on 5 consecutive days to evaluate repeatability.

### Hematocrit estimation

A simple technique, available at any NBS laboratory, was used. The procedure was based on measuring hemoglobin (Hb) from a DBS sample and subsequent estimation of the percent hematocrit.

A 6-point standard curve was developed with known hemoglobin concentrations using samples of patients who underwent the same procedure as the study tests. Hb was measured in triplicate in calibrators using a Sysmex XE-2100 autoanalyzer (Kobe, Japan). The calibrators were dispensed on S&S#903 Whatman cards (13) with venous whole blood collected in EDTA-K3 tubes (Beckton Dickinson plastic vacutainer tube lilac capped with 5.4 mg EDTA K3 without separator,



Oxford, UK) and then allowed to dry at room temperature. The curve was used in each series to estimate the hematocrit value of samples and controls. Hb and hematocrit values from the analyzer were considered as the true value and used as a reference for the curve and controls. The curve consisted of a blank (card without blood) and the following hemoglobin points: 4.3 g/dL; 10.1 g/dL; 15.4 g/dL; 21.4 g/dL, and 26.9 g/dL (hematocrit: 12.8 %; 29.7 %; 45.4 %; 64.2 %, and 80.7 %, respectively). The same procedure was performed with 3 control levels - low, medium, and high - with hematocrit levels of 17.4 %, 40.7 %, and 60.7 % (hemoglobin 5.7 g/dL; 13.5 g/dL; 20 g/dL), respectively, also from patient samples.

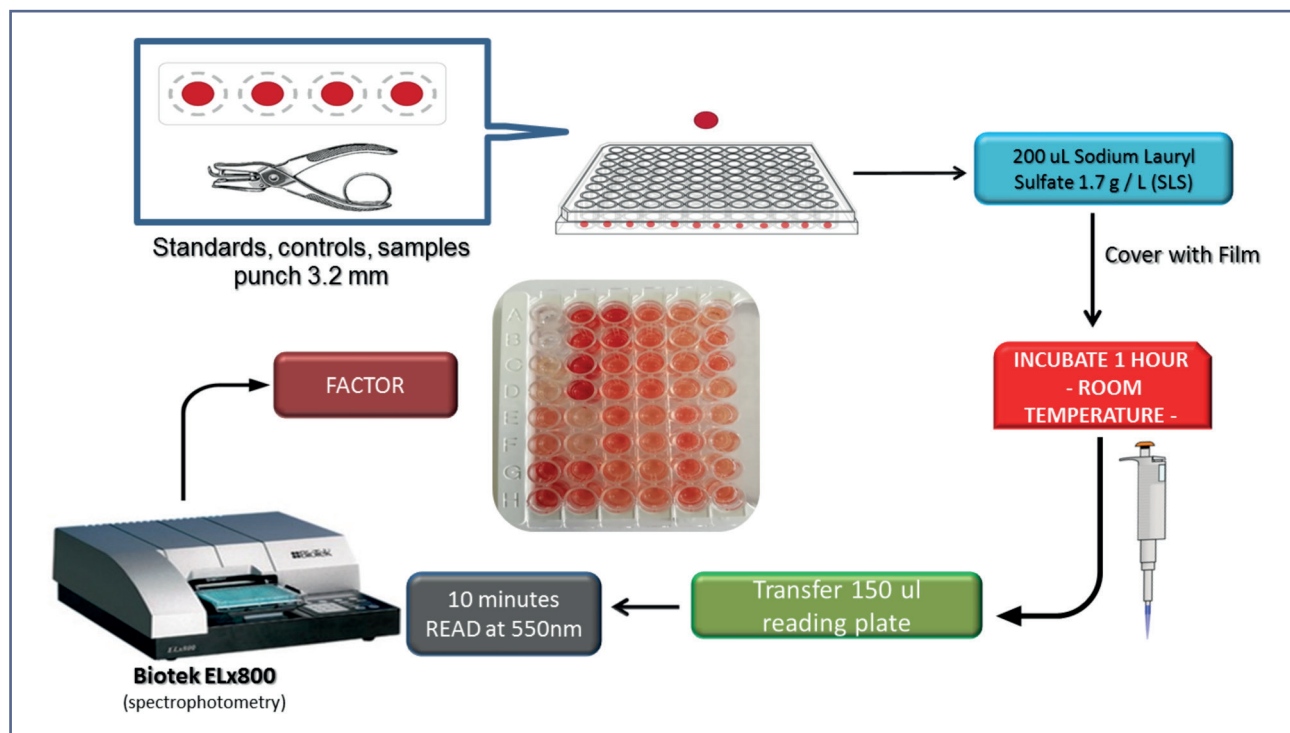
A 3.2 mm punch (disk) of each of the samples, standards and controls, was placed in a 96-well V-bottom reaction plate. Both standard and control samples were added in duplicate. Subsequently, 200  $\mu$ L of 1.7 g/L sodium lauryl sulfate (SLS) was added to each well and incubated at room temperature for 1 hour. The supernatant was transferred to a reading plate and incubated for 10 minutes, avoiding bubbles that could affect the reading. Absorbance was measured using a Biotek ELx800 plate reader (Vermont, United States) at a wavelength of 550 nm and plotted on the curve to determine the hemoglobin concentration. This colorimetric method (spectrophotometry) described by Richardson et al. (12) forms an SLS-Hb complex with an optical absorbance between 500 and 560 nm. The absorbance was linear in the expected concentration range in the patient samples, obeying the Beer-Lambert law (11,12).

The readings were stable on the plate at room temperature and protected from light for at least 12 hours.

From the calculated hemoglobin data, the hematocrit concentration was obtained using a factor of 3.0 (hematocrit/hemoglobin ratio from the measurement of the hemogram used to make the curve) based on which the value of the packed red blood cells of each DBS could be determined. The factor ratio will depend on the analyte used and should be calculated by creating a new curve (Fig. 1).

### Measurement of thyrotropin, immunoreactive trypsinogen, and 17-hydroxyprogesterone

NBS measurements were performed according to the technique used at each laboratory. In the first laboratory, after extraction was performed using Diluent Universal Roche (Mannheim, Germany), TSH levels were determined by electrochemiluminescence using a COBAS 6000 Roche (Rotkreuz, Switzerland). IRT levels were measured with reagents (MP Biomedicals, California, United States) and read in a Biotek ELx800 spectrophotometer (Vermont, United States). 17OHP was determined using a coated tube radioimmunoassay (MP Biomedicals) with a Wallac AN-LKB Dream Gamma-10 reader (Mount Waverley, Australia). In the second NBS laboratory, the DELFIA Neonatal 17  $\alpha$ -OH-Progesterone kit - Perkin Elmer (Turku, Finland) was used for 17OHP, the DELFIA Neonatal IRT kit - Perkin Elmer for IRT, and the DELFIA Neonatal hTSH kit -



**Figure 1** – Schematic diagram of the hematocrit estimation technique.

Perkin Elmer for TSH, while a Victor 2D 1420 Multilaber Counter - Perkin Elmer reader was used for all analytes.

### Statistical analysis

Data analysis was performed using the IBM SPSS v22 statistical program (New York, United States). The statistical methods used were the Kolmogorov-Smirnov test, linear regression with Pearson correlation, Spearman correlation, Deming regression, and Bland-Altman analysis. To assess repeatability, the coefficient of variation (CV) and standard deviation (SD) were determined. Results were evaluated with and without hematocrit correction. The independent samples t-test were performed. The t-test was used to compare means and bilateral significance. In addition, the relationship between the value obtained and the cut-off value was analyzed for each measurement.

## RESULTS

### General characteristics of the newborns

Of the total number of newborns (1,124), 79.5% (893) were term, between 37 and 41 weeks of gestation and 20.5% were either preterm (36-28 weeks) or immature (< 27 weeks).

Mean birth weight was 3083 g (range, 620-4830 g). Overall, 81.5% were adequate weight (> 2500 g), 17.3% low weight (< 2,500-1,000 g), and 1.2% extremely low weight (< 1,000 g).

Correlation between both variables - birth weight and weeks of gestation - showed that 866 (77%) newborns were born full term with an adequate birth weight.

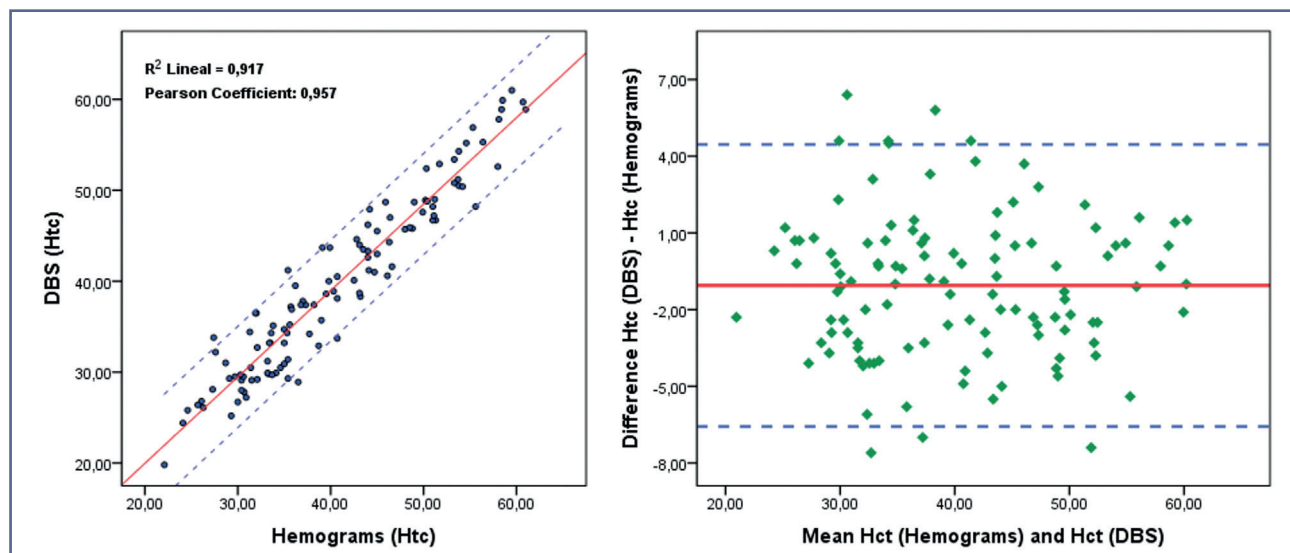
### Validation of the hematocrit measurement method

Linear regression analysis was performed on the hematocrit results in DBS compared to the hematocrit from the hemogram, both obtained on the same day ( $n = 114$ ); the independent variable ( $x$ ) was hematocrit concentration determined in the whole blood sample (hemogram) and the dependent variable ( $y$ ) was the result obtained in DBS. Mean hematocrit was 39.6 % (median 38.4 %; range, 19.8 % to 61.0 %) in the DBS and 40.7 % (median 39.3 %; range, 22.1 % to 61.0 %) in the hemogram. The Kolmogorov-Smirnov test showed that both had a normal distribution. Pearson's correlation coefficient was 0.957 showing a linear association between both methods ( $p < 0.001$ ). The Deming regression coefficient was 0.989, the slope 1.006 (95 % CI, 0.957 to 1.056), and the ordinate at the origin 0.803 (95 % CI, -1.292 to 2.898) demonstrating the interchangeability of the two methods. Mean CV of the results was 4.4 % with a SD of 1.7 %. The Bland-Altman plot, allowing for analysis of the difference between a new method and an established one, identified a bias of -1.06, showing that the new method was reliable and reproducible compared to the reference method (95 % CI, 4.46 to -6.57) (Fig. 2).

In the study of the 10 DBS samples to evaluate repeatability, a mean CV of 3.4% and a SD of 1.2% were obtained (Table I).

### Effect of correction on newborn screening measurements

Considering the hematocrit estimation in the DBS samples, a consensus hematocrit value of 55% was used. Based on this value, a correction factor was applied to the NBS results. The new result was then compared



**Figure 2** – Comparison of hematocrit measurement in hemogram and blood spots on filter paper using linear regression and Bland-Altman analysis. DBS: Dry blood spots on filter paper; Hct: hematocrit.

**Table I.**  
**Repeatability analysis of the method for the determination of hematocrit in adult patient samples**

Patient	Hemogram (% hematocrit)	DBS hematocrit (%) and days of repetitions					CV (%)	SD (%)	Mean
		Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5			
1	40,9	38,9	42,2	40,4	41,7	40,5	3,17	1,29	40,7
2	39,6	40,6	39,9	39,3	39,6	41,8	2,51	1,01	40,3
3	31,9	28,6	31,4	29,7	29,9	28,1	4,28	1,26	29,6
4	39,6	39,3	36,9	39,4	40,3	40,7	3,77	1,48	39,3
5	42,0	39,1	41,8	39,7	38,9	43,5	4,90	1,99	40,6
6	30,2	28,3	29,4	28,6	28,9	29,8	2,12	0,62	29,0
7	29,2	28,7	28,8	26,9	29,2	28,4	3,12	0,89	28,4
8	32,3	32,3	30,9	30,8	29,8	30,7	2,91	0,90	30,9
9	34,9	35,0	33,6	34,1	32,0	33,5	3,29	1,11	33,7
10	41,1	40,7	39,9	38,6	42,9	39,8	3,95	1,60	40,4

DBS: dry blood spots on filter paper; CV: coefficient of variation; SD: standard deviation.

to the cut-off value (TSH: COBAS Roche: 12  $\mu$ UI/ml – Perkin Elmer: 8  $\mu$ UI/ml; 17OHP: MP Biomedicals: 22 ng/ml – Perkin Elmer: 23 nmoles/l; IRT: MP Biomedicals: 130 ng/ml – Perkin Elmer: 60 ng/ml) and its impact as well as the action to be taken by laboratory were evaluated (Table II).

Of the 1124 samples analyzed without hematocrit correction, 183 patients exceeded the cut-off value in the original analysis of any of the 3 analytes tested: 49 patients for TSH, 90 for 17OHP, and 44 for IRT. The results of the confirmatory tests were abnormal in three patients (2TSH and 1 IRT).

off values, and determine the positivity ratio. In 49 samples, TSH was above the cut-off value with an O/C ratio of 1.14. When the samples were reevaluated applying the hematocrit correction factor, 63.3 % of these cases were negative.

The median hematocrit value was 48.2 % (O/C ratio 1.08) in positive and 45.0 % (O/C ratio: 0.89) in negative cases. In two cases, patients with normal values of 7.8  $\mu$ IU/ml and 7.9  $\mu$ IU/ml (cut-off value 8  $\mu$ IU/ml) were reclassified, as they exceeded the cut-off with results of 8.0  $\mu$ IU/ml and 8.4  $\mu$ IU/ml when the correction factor was applied (hematocrit 56 % and 59 %, respectively) (Table III).

### Thyrotropin

The ratio between the value obtained and cut-off value (O/C) allows us to compare the different methods and cut-

### 17-OH-progesterone

Ninety samples with 17OH above the cut-off value and an O/C ratio of 1.19 were detected. When the sam-

**Table II.**  
**Application of the hematocrit correction factor**

Hematocrit in DBS	Factor	TSH		IRT		17 OHP	
		( $\mu$ UI/ml)		(ng/ml)		(ng/ml)	
		Without correction	With correction	Without correction	With correction	Without correction	With correction
12,1 %	0,22	28,0	6,2	52,0	11,4	74,8	16,5
29,5 %	0,54	12,0	6,4	50,4	27,0	28,8	15,4
54,1 %	0,98	11,2	11,0	33,0	32,4	9,3	9,1
66,1 %	1,20	4,9	5,9	21,4	25,7	10,3	12,4

DBS: Dry blood spots on filter paper; TSH, thyrotropin; IRT, immunoreactive trypsinogen; 17OHP, 17-hydroxyprogesterone.

ples were reevaluated applying the hematocrit correction factor, 56.7% of the cases were negative.

The median hematocrit value was 49.7 % ( O/C ratio 1.16) in positive cases and 41.7 % (O/C ratio: 0.88) in negative cases. Three patients with normal values of 21.5 ng/ml, 21.8 ng/ml, and 21.2 ng/ml (cut-off value: 22 ng/ml) were reclassified and exceeded the cut-off value with results of 22.0 ng/ml, 23.6 ng/ml, and 22.3 ng/ml when the hematocrit correction factor was applied (hematocrit: 56 %, 59 %, and 58 %, respectively) (Table III).

### Immunoreactive trypsinogen

Forty-four samples with IRT above the cut-off value with an O/C ratio of 1.46 were detected. When the samples were reevaluated applying the hematocrit correction factor, 43.2 % of the cases showed to be negative.

It should be remembered that this marker is an acute phase reactant and several of the patients were hospitalized for various causes. Median hematocrit value was 45.8% (O/C ratio 1.39) in positive and 35.6 % (O/C ratio: 0.88) in negative cases. No normal results were reclassified (Table III).

### Overall newborn screening results

Of the 183 patients with levels above the cut-off value without hematocrit correction, 82 continued to exceed the cut-off value when the packed red blood cell correction was applied. These patients had a mean hematocrit of 50.3 %, while the remaining 101 patients who obtained normal values had a mean hematocrit of 39.8 % (Table IV).

In addition, five patients were reclassified as positive. In all cases the results were doubtful, and very close

Table III.

Number of patients who had to be recalled after application of the correction factor

	Without correction		With correction		Patients NOT recalled with correction	O/C with correction	t	p-value
	Patients recalled without correction	O/C without correction	Patients recalled with correction	O/C with correction				
TSH	49	1,14	18	1,08	31	0,89	2,596	0,012
IRT	44	1,46	25	1,39	19	0,88	3,778	< 0,001
17OH	90	1,19	39	1,16	51	0,88	6,653	< 0,001

O/C: Value obtained/Cut-off value; t: t-test for equality of means; TSH, thyrotropin; IRT, immunoreactive trypsinogen; 17OH, 17-hydroxyprogesterone.

Table IV.

Number of samples exceeding the cut-off point according to the test used, the analyte, and the application of the hematocrit correction factor

	Brand	Without Hct	With Hct	%
TSH	MP Biomedicals	23	7	30,4
	Perkin Elmer	26	11	42,3
	Subtotal	49	18	36,7
IRT	MP Biomedicals	3	1	33,3
	Perkin Elmer	41	24	58,5
	Subtotal	44	25	56,8
17OH	MP Biomedicals	76	34	44,7
	Perkin Elmer	14	5	35,7
	Subtotal	90	39	43,3
Total		183	82	44,8

Hct, hematocrit; TSH, thyrotropin; IRT, immunoreactive trypsinogen; 17OH, 17-hydroxyprogesterone.

to the cut-off values, which were exceeded when hematocrit correction was considered. There were 47.5 % (87) requests for a new sample compared to 183 based on the initial data, accounting for a decrease in requests of 52.5% and a total of 96 patients less.

## CONCLUSION

Hematocrit estimation allows for correction of the volume of the packed red blood cells in the DBS sample. Knowing the value of this variable the differences in the newborn screening analytes, susceptible to the hematocrit effect, can be normalized (14,15).

Here we describe, analyze, and validate a simple and rapid method to measure hemoglobin and estimate hematocrit in a DBS sample, using equipment that is normally found in the NBS laboratory. Although the method is destructive, it uses a small fragment of the sample, leaving the remainder for other necessary analyses. As more analytes are continuously included in NBS programs, hematocrit should not be routinely measured.

Although false positives are common in NBS due to the attempt to minimize false negative results, the former cause unnecessary distress in the parents of the babies that are recalled (16-18). Moreover, performing new tests in these patients prolongs the time to accurate diagnosis, which is crucial for early treatment initiation to avoid the morbidity and mortality associated with these diseases (19).

The main limitation of our study is the small number of samples processed. Due to the low prevalence of these disorders, further research is needed to confirm the behavior of samples with abnormal or doubtful results when hematocrit is corrected. In addition, a study with larger numbers of samples should be conducted in preterm and low-birth-weight patients, in order to evaluate NBS samples (these are valuable and very scarce samples) in the population that requires hematocrit correction. Another limitation is the possibility of analytical interference in the measurement of the SLS-Hb complex, since we did not know if our patients had lipemia or jaundice, conditions that may have affected the results of this colorimetric technique.

Our results show that hematocrit estimation, which is very easy to calculate, would allow for volume correction in the DBS sample. We suggest the use of hematocrit correction for samples exceeding the cut-off value, those that have doubtful results, and in those of premature and/or low-birth-weight patients.

In conclusion, our study shows requests for a second sample for disorders included in NBS may be reduced by incorporating a variable that is not commonly used in the laboratory. Hematocrit correction using SLS is a simple method with an encouraging technical performance that may be used to reduce the number of false positive results.

## REFERENCES

- Hall K. Max Wilson and the Principles and Practice of Screening for Disease. *Int J Neonatal Screen* 2020;6(1):15. DOI: 10.3390/ijns6010015
- Powell CM. What is Newborn Screening? *N C Med J* 2019;80(1):32-6. DOI: 10.18043/ncm.80.1.32
- Marín Soria JL, González de Aledo Castillo JM, Argudo Ramírez A, López Galera RM, Pajares García S, Ribes Rubió A, et al. Inicio, evolución y situación actual de los Programas de Cribado Neonatal en España [Beginnings, evolution and current situation of the Newborn Screening Programs in Spain.]. *Rev Esp Salud Pública* 2021;95:e202102041.
- la Marca G. La organización del cribado neonatal en Italia: comparación con Europa y el resto del mundo [The Newborn Screening Program in Italy: Comparison with Europe and other Countries.]. *Rev Esp Salud Pública* 2021;95:e202101007.
- Ley 26279. Detección y tratamiento de determinadas patologías en el recién nacido. Honorable Congreso de la nación Argentina [citado el 12 de junio de 2018]. *Boletín oficial (Argentina)* 2007;31232(1). Disponible en: <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/verNorma.do?id=131902>
- Therrell BL, Padilla CD, Loeber JG, Kneisser I, Saadallah A, Borrajo GJ, et al. Current status of newborn screening worldwide: 2015. *Semin Perinatol* 2015;39(3):171-87. DOI: 10.1053/j.semperi.2015.03.002
- Miller JH, Poston P, Rutan S, Karnes T. An On-card Approach for Assessment of Hematocrit on Dried Blood Spots which Allows for Correction of Sample Volume. *J Anal Bioanal Techniques* 2013;4:162.
- Oostendorp M, El Amrani M, Diemel EC, Hekman D, van Maarseveen EM. Measurement of Hematocrit in Dried Blood Spots Using Near-Infrared Spectroscopy: Robust, Fast, and Nondestructive. *Clin Chem* 2016;62(11):1534-6. DOI: 10.1373/clinchem.2016.263053
- Zhang S, Soller B, Kaur S, Perras K, Vander Salm T. Investigation of Noninvasive in Vivo Blood Hematocrit Measurement Using NIR Reflectance Spectroscopy and Partial Least-Squares Regression. *Applied Spectroscopy* 2000;54(2):294-9. DOI: 10.1366/0003702001949258
- Denniff P, Spooner N. The effect of hematocrit on assay bias when using DBS samples for the quantitative bioanalysis of drugs. *Bioanalysis*. 2010 Aug;2(8):1385-95. DOI: 10.4155/bio.10.103. Erratum in: *Bioanalysis*. 2011;3(7):818.
- Mei JV, Alexander JR, Adam BW, Hannon WH. Use of filter paper for the collection and analysis of human whole blood specimens. *J Nutr* 2001;131(5):1631S-6S. DOI: 10.1093/jn/131.5.1631S
- Richardson G, Marshall D, Keevil BG. Prediction of haematocrit in dried blood spots from the measurement of haemoglobin using commercially available sodium lauryl sulphate. *Ann Clin Biochem* 2018;55(3):363-7. DOI: 10.1177/0004563217726809
- Li W, Lee MS. *Dried Blood Spots: Applications and Techniques*. 1.<sup>a</sup> edición. Nueva York: Wiley; 2014.
- Wilde H, Montgomery M, Baskin L, Gray D, Lyon M. Impact of patient hematocrit on CF newborn screening results. *J Cyst Fibros* 2008;7(1):15. DOI: 10.1016/S1569-1993(08)60056-9
- Hall EM, Flores SR, De Jesús VR. Influence of Hematocrit and Total-Spot Volume on Performance Characteristics of Dried Blood Spots for Newborn Screening. *Int J Neonatal Screen* 2015;1(2):69-78. DOI: 10.3390/ijns1020069
- Schmidt JL, Castellanos-Brown K, Childress S, Bonhomme N, Oktay JS, Terry SF, et al. The impact of false-positive newborn screening results on families: a qualitative study. *Genet Med* 2012;14(1):76-80. DOI: 10.1038/gim.2011.5
- Gurian EA, Kinnamon DD, Henry JJ, Waisbren SE. Expanded newborn screening for biochemical disorders: the effect of a false-positive result. *Pediatrics* 2006;117(6):1915-21. DOI: 10.1542/peds.2005-2294
- Tu WJ, He J, Chen H, Shi XD, Li Y. Psychological effects of false-positive results in expanded newborn screening in China. *PLoS One* 2012;7(4):e36235. DOI: 10.1371/journal.pone.0036235
- Bailey DB. Early intervention and newborn screening: parallel roads or divergent highways? *Infants Young Child* 2021;1(34):3-16. DOI:10.1097/IYC.0000000000000181





## Revisión

# Utilidad del PSA en el cribado del cáncer de próstata en la perspectiva de la medicina personalizada

## *Usefulness of PSA in prostate cancer screening in the perspective of personalized medicine*

*Xavier Filella*

Servicio de Bioquímica y Genética Molecular (CDB). IDIBAPS. Hospital Clínic. Barcelona. Comisión de Medicina de Laboratorio Basada en la Evidencia de la SEQC<sup>ML</sup>. Comisión de Marcadores Biológicos del Cáncer de la SEQC<sup>ML</sup>. Barcelona

**Recibido:** 04/05/2022  
**Aceptado:** 18/08/2022

**Correspondencia:** Xavier Filella. Hospital Clínic.  
C/ Villarroel, 170. 08036 Barcelona  
e-mail: xfilella@clinic.cat

### Palabras clave:

PSA. Cribado. Cáncer de próstata.  
Medicina personalizada.

### RESUMEN

En 2012, el US Preventive Services Task Force recomendó no realizar el cribado del cáncer de próstata basado en PSA debido a la escasa o a la nula reducción en la mortalidad específica por cáncer de próstata y a los daños relacionados con la evaluación y los posibles tratamientos, que podrían ser innecesarios. Sin embargo, los abordajes restrictivos pueden retrasar el diagnóstico, con la consiguiente migración de la enfermedad a estadios más avanzados. Asimismo, recientemente ha habido cambios que han llevado a repensar la estrategia del cribado del cáncer de próstata más allá de la dicotomía entre cribar a todos los sujetos o a nadie.

De hecho, actualmente existen nuevas herramientas para definir una estrategia más eficiente. En primer lugar, debemos mencionar la vigilancia activa, encaminada a reducir el sobretratamiento de la enfermedad. En segundo lugar, debemos señalar las herramientas de estratificación de riesgo y los nuevos biomarcadores relacionados con la agresividad del tumor. En tercer lugar, cabe destacar la aportación de la resonancia magnética multiparamétrica, ya que permite realizar la biopsia solo en aquellos individuos con una alta probabilidad de presentar un tumor. Finalmente, varios estudios subrayan la utilidad de un PSA basal para predecir el futuro diagnóstico del cáncer de próstata. Con base en todos estos cambios, la European Association of Urology recomienda actualmente una estrategia personalizada de cribado del cáncer de próstata.

*Conflicto de intereses:* el autor declara no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00129

Filella X. Utilidad del PSA en el cribado del cáncer de próstata en la perspectiva de la medicina personalizada. Rev Med Lab 2022;3(2):63-73



**Keywords:** PSA. Screening. Prostate cancer. Personalized medicine.

## ABSTRACT

In 2012, the US Preventive Services Task Force recommended against prostate cancer screening based on PSA, because a small or no reduction in prostate cancer-specific mortality in screened subjects and the harms related to subsequent evaluation and treatments, underlying that some of which may be unnecessary. However, restrictive approaches can cause a delay in diagnosis in a significant number of cases, with the consequent migration of the disease to more advanced stages. Furthermore, in recent years, there have been various changes that have led to a rethinking of prostate cancer screening strategy beyond the dichotomy between to screen all subjects or screen none.

In fact, currently there are new tools that allow us to define a more efficient screening strategy. We must first mention active surveillance as a way to reduce overtreatment of prostate cancer. Secondly, we must point out the risk stratification tools and the new biomarkers related to the aggressiveness of prostate cancer. Thirdly, it should be underlined the contribution of multiparametric magnetic resonance imaging, since it allows a biopsy to be performed only in those individuals with a high probability of presenting a tumor. Finally, several studies underline the usefulness of a baseline PSA to predict the future diagnosis of prostate cancer. Based on all these changes, the European Association of Urology currently recommends a personalized prostate cancer screening strategy.

## INTRODUCCIÓN

El cáncer de próstata (CaP) es el segundo cáncer más frecuente en el mundo en el sexo masculino, según datos de Globocan para el año 2020 (1). El CaP es además el tumor más frecuente en varones en los países occidentales (1), donde se ha observado un progresivo aumento de su incidencia, que llegó a un pico máximo durante el año 2007, probablemente relacionado con el empleo generalizado de la determinación del antígeno específico de la próstata (PSA) en su detección, así como al progresivo envejecimiento de la población (2).

Por otro lado, el CaP sigue siendo una causa frecuente de muerte por cáncer. Se calcula que en 2020 fue la causa de 78 800 muertes en Europa (3) y de 375 000 en el mundo (1). El diagnóstico precoz aparece, pues, como una oportunidad para reducir los efectos perniciosos del CaP dada la disponibilidad de un tratamiento curativo si se aplica cuando el tumor está localizado en la próstata.

Sin embargo, pese a que el cribado oportunista es una práctica usual que cada año genera numerosas determinaciones de PSA en individuos asintomáticos, la medida de PSA como herramienta en la detección del CaP ha sido y sigue siendo motivo de discusión. La detección de muchos tumores indolentes sin significación clínica, que podría suponer hasta el 50-60 % de los nuevos diagnósticos, se traduce en un importante sobrediagnóstico y sobretratamiento (4). Los datos del *European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer* (ERSPC), según la actualización publicada en 2011 tras 13 años de seguimiento, muestran que la práctica del cribado se relaciona con una mayor inci-

dencia de tumores con un bajo riesgo de progresión, de manera que, si estos tumores son el 56,4 % de los casos diagnosticados en el grupo en que se practica el cribado, descienden al 39,1 % en el grupo control (5). La diferenciación de tumores con un bajo y un alto riesgo de progresión es, por tanto, el primer desafío que debe afrontar y resolver un programa efectivo de cribado del CaP.

## CRIBADO DEL CÁNCER DE PRÓSTATA CON PSA: LA CONTROVERSIA QUE REHÚSA MORIR

La utilidad del cribado del CaP con PSA se ha valorado a través de dos estudios aleatorizados que se han llevado a cabo en Europa y Estados Unidos, denominados *ERSPC* y *Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian screening trial* (PLCO), respectivamente. Los primeros resultados de ambos estudios se publicaron en 2009 y llegaron a conclusiones opuestas. En el estudio europeo, que incluyó a 162 387 varones de 8 países, se observó, tras un seguimiento medio de 9 años, una disminución del 20 % en la mortalidad específica por CaP en el grupo en el que se realizó el cribado (6). En cambio, en el estudio americano, que incluyó a 76 693 varones, no se observaron diferencias en la mortalidad se realizara o no el cribado tras un seguimiento de 7-10 años (7). La publicación en 2009 de estos resultados en *New England Journal of Medicine* venía acompañada de un significativo editorial titulado "La controversia que rehúsa morir" (8). Pasados los años, el debate sobre la conveniencia de realizar el cribado del CaP con medidas de PSA sigue vigente (9).

De hecho, los resultados que han ido obteniéndose en las sucesivas actualizaciones de los estudios europeo y americano, cada vez con mayor tiempo de seguimiento, han sido contrapuestos en cada una de sus sucesivas actualizaciones. Así, según los datos obtenidos en el ERSPC, ha seguido observándose una disminución de la mortalidad debida al CaP en el grupo de cribado de alrededor del 20 % (5,6,10,11). En cambio, no se han observado diferencias entre el grupo de cribado y el grupo control en los datos que ha ofrecido el estudio americano, ni siquiera cuando ha ido aumentando considerablemente el tiempo de seguimiento (7,12-14).

Adicionalmente, en un estudio más reciente realizado en el Reino Unido y denominado *Cluster Randomized Trial of PSA Testing for Prostate Cancer*, tampoco se han encontrado diferencias en la mortalidad debida a CaP en el grupo de cribado con respecto al grupo control, si bien el estudio prevé una única determinación de PSA en el grupo intervención y tiene un tiempo medio de seguimiento de únicamente 10 años, con tan solo un 40 % de cumplimiento de la biopsia cuando está indicada (15).

## SOCIEDADES QUE SE MANIFIESTAN EN CONTRA DEL CRIBADO

En 2011, el *US Preventive Services TaskForce* (USPSTF) publicaba una revisión de la evidencia existente en aquel momento sobre la utilidad del cribado del CaP (16). El documento valoraba los beneficios y los riesgos del cribado del CaP tras analizar seis ensayos aleatorizados que se seleccionaban por su calidad metodológica. Los autores concluían que la disminución de la mortalidad por CaP que resultaba del cribado con PSA era escasa o nula. A la vez, indicaban que el cribado se asociaba con diversos riesgos asociados tanto a la evaluación de los pacientes con PSA elevado como al tratamiento aplicado cuando se diagnosticaba un CaP. Los autores subrayaban que, en algunos casos, este tratamiento podía ser innecesario; obviamente, se referían a los tumores con un bajo riesgo de progresión.

Aquel mismo año se publicó una revisión sistemática Cochrane en la que se concluía que el cribado no reduce la mortalidad por CaP (17). La revisión subrayaba posibles perjuicios de la práctica del cribado relacionados tanto con el sobrediagnóstico como con el elevado número de falsos positivos del PSA, a la vez que hacía referencia a los efectos adversos que se asocian a la biopsia, como la infección, la hemorragia y el dolor.

Ambos documentos han tenido una gran influencia en las recomendaciones sobre la práctica del cribado del CaP y la mayoría de las sociedades científicas han sido, a partir de aquel momento, mucho más restrictivas, de manera que el número de determinaciones de PSA empezó a disminuir (18). Hasta ese momento, la posición del USPSTF frente al cribado con PSA del CaP era bastante restrictiva, puesto que era contraria al empleo de PSA en varones de más de 75 años, a la vez que subrayaba

que la evidencia existente era insuficiente para evaluar correctamente el balance entre beneficios y riesgos en varones más jóvenes. En 2012, el USPSTF dio un paso más e hizo pública una recomendación rotundamente contraria al cribado del CaP en todas las edades (19).

En esta misma línea, en 2013, la guía clínica del *American College of Physicians* explicaba que debe informarse al paciente del limitado potencial del cribado, así como de sus riesgos, a la vez que subrayaba que el PSA no es tan solo un simple test que se mide en sangre, sino que abre la puerta a la realización de más pruebas y a un posible tratamiento para pacientes que pueden no necesitarlo (20). Esta misma sociedad publicó en 2016 un documento titulado *Choosing Wisely in Preventive Medicine*, que presentaba cinco recomendaciones para una práctica sabia de la medicina, entre las cuales figuraba no realizar un cribado del CaP basado en determinaciones de PSA (21). Esta es también la posición del *National Screening Committee* del Reino Unido, que en la revisión de sus recomendaciones de octubre de 2020 se declaró contrario a la práctica del cribado del CaP basado en PSA (22).

## LAS RECOMENDACIONES EN ESPAÑA SOBRE EL CRIBADO DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

Actualmente, en España, según GuíaSalud (2013), organismo del Sistema Nacional de Salud, se recomienda no realizar de forma sistemática la determinación de PSA a individuos asintomáticos sin antecedentes familiares de primer grado de CaP (23). Igualmente, la ponencia de Cribado Poblacional de la Comisión de Salud Pública, fechada en 2019, indicaba que el balance entre beneficios y riesgos del cribado es negativo (24).

Por su parte, la Sociedad Española de Médicos Generales y de Familia (Semergen) se muestra reacia al cribado en población asintomática, puesto que, según se indica, no hay una evidencia científica suficiente que lo avale. Además, los riesgos que resultan de dicha práctica son numerosos (25). En este mismo sentido, dentro del proyecto "Compromiso por la Calidad de las Sociedades Científicas en España", de 2018, que se puso en marcha por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad para acordar recomendaciones de "no hacer" basadas en la evidencia científica, la Sociedad Española de Medicina de Familia y Comunitaria, en una de sus recomendaciones, indicaba "no realizar de forma sistemática la determinación de PSA a individuos asintomáticos sin antecedentes familiares de primer grado de cáncer de próstata" (26).

También, la Asociación Española de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio, en el documento *Decisiones inteligentes desde el laboratorio: de elegir sabiamente a no hacer* (2021), señala que no se ha conseguido demostrar de manera fehaciente que el cribado reduzca la mortalidad y recomienda que la decisión ha de tomarla el paciente tras ser convenientemente informado (27).

## IMPACTO DE LAS RECOMENDACIONES DEL USPSTF EN LA INCIDENCIA DE PACIENTES CON METÁSTASIS AL DIAGNÓSTICO

Tras la implementación del PSA en la detección del CaP se ha observado, según datos del Walter Reed Army Medical Center de Washington correspondientes al periodo 1988-1998, un aumento de la supervivencia a los 5 años junto con una drástica reducción en la mortalidad causada por este tumor, que probablemente se relacionaba, al menos en parte, con el menor número de pacientes que se diagnosticaban con metástasis, de manera que el porcentaje de pacientes que presentaba enfermedad metastásica en el momento del diagnóstico disminuyó del 14,1 % al 3,3 % entre 1988 y 1998 (28).

Una revisión de los resultados correspondientes a 12 939 pacientes diagnosticados de novo de CaP metastásico entre los años 2004 y 2014, e incluidos en la base de datos americana SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results), indica que el número de casos que debuta con metástasis aumentó entre 2004 y 2014 del 1,9 a 2,4 por 100 000 habitantes, a la vez que disminuyó la edad de presentación de CaP diseminado (29).

Por ello, la recomendación americana del USPSTF fechada en 2012, en la que se pronunciaba en contra de la práctica del cribado del CaP, ha generado dudas en relación a un posible aumento del número de pacientes que, en ausencia de cribado, debutan con metástasis (30).

El estudio europeo ERSPC apunta en este mismo sentido. Los datos publicados en 2012, y con una mediana de seguimiento de 11 años, indican que el porcentaje de pacientes con metástasis o PSA superior a 100 µg/L era del 2,6 % en el grupo de cribado, mientras que ascendía al 7,9 % en el grupo control (10). En este mismo estudio, y con una mediana de seguimiento de 12 años, se muestra que había 256 pacientes con CaP metastásico en el grupo de cribado y 410 en el grupo control. De ello resulta una incidencia acumulada del 0,67 % y del 0,86 % por cada 1000 varones, respectivamente ( $p < 0,001$ ) (31). Estas diferencias se confirmaron en una actualización posterior publicada en 2019, en la que los porcentajes de pacientes con CaP metastásico fueron del 4 % en el grupo de cribado y del 9,6 % en el grupo control (5).

Observamos en todos estos estudios que la decisión de no hacer el cribado del CaP con PSA permite ciertamente reducir el sobrediagnóstico de esta enfermedad y evita los muchos efectos adversos relacionados tanto con la biopsia como con el posible tratamiento en caso de que se diagnostique un CaP. Sin embargo, no hacer el cribado tiene como contrapartida un retraso en el diagnóstico en un número apreciable de casos, con el consiguiente empeoramiento del pronóstico.

La valoración de la idoneidad del cribado del CaP con PSA debe, pues, evaluarse junto a los riesgos derivados de hacer medidas de PSA, los posibles riesgos derivados de no hacerlas, en el sentido de que ello puede favorecer una migración de la enfermedad hacia

estadios más avanzados. En este sentido, la recomendación americana del USPSTF correspondiente a 2018 sobre el cribado del CaP era menos restrictiva que en 2012. Así, si bien subrayaba que el cribado tiene un beneficio pequeño, también indicaba que para varones de edades comprendidas entre los 55 y los 69 años se debería alcanzar una decisión compartida entre médico y paciente sobre la oportunidad del cribado valorando sus riesgos y sus beneficios y teniendo en cuenta las preferencias del paciente (32).

## VIGILANCIA ACTIVA

La vigilancia activa se ha propuesto como una manera de soslayar los inconvenientes asociados al sobretratamiento del CaP, de manera que un tratamiento radical solo se aplique en aquellos pacientes que lo precisen. El CaP es un tumor con una alta prevalencia, como lo muestra la elevada presencia de tumores no diagnosticados en las autopsias, especialmente a partir de los 70 años (33). Su pronóstico es, por tanto, muy heterogéneo, puesto que incluye desde tumores indolentes con una muy baja probabilidad de progresión, que incluso pueden no haber sido diagnosticados en vida del paciente, hasta tumores agresivos que requieren un tratamiento precoz.

La disponibilidad de indicadores que permitan clasificar el CaP en función de su riesgo de progresión ha permitido individualizar el tratamiento para cada situación. Existen distintas clasificaciones para estratificar el riesgo de progresión del CaP. Entre ellas destaca la de D'Amico, que reconoce un mejor pronóstico en pacientes con grados de Gleason inferiores a 7 (grado 1 según la modificación de la ISUP) y una concentración de PSA  $\leq 10$  µg/L (34). Incluso algunos autores han sugerido que los tumores con un grado de Gleason 6 o inferior (grado 1 de la ISUP) no deberían etiquetarse como cáncer, puesto que tienen un potencial extremadamente bajo de causar metástasis (35), aunque es un tema polémico.

En todo caso existen trabajos que afirman que aquellos pacientes con un tumor indolente pueden beneficiarse de la vigilancia activa como alternativa a un tratamiento radical, bien sea este una prostatectomía o un tratamiento con radioterapia, que deberían reservarse para tumores clínicamente significativos (36). La vigilancia activa consiste en diferir el tratamiento hasta aquel momento en el que se observa la progresión del tumor. Para ello el paciente es cuidadosamente seguido mediante medidas seriadas de PSA, así como con la realización periódica de un tacto rectal, de una resonancia magnética y de una biopsia prostática, con objeto de valorar un posible aumento en el grado de Gleason del tumor.

Los programas de vigilancia activa van dirigidos preferentemente a varones jóvenes con el objeto de evitar los efectos adversos que puede comportar todo tratamiento radical. En general, se incluyen pacientes

con un tumor con grado de Gleason inferior a 7 (grado 1 de la ISUP) y un PSA inferior a 10 µg/L, si bien, cuando se trata de pacientes con una próstata voluminosa, pueden incluirse pacientes con PSA superior, pero con una densidad de PSA (correspondiente al índice entre la concentración de PSA y el volumen de la próstata) menor a 0,15 (37).

## DATOS RECIENTES SOBRE LOS RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS ERSPEC EUROPEO Y PLCO AMERICANO

Las diferencias en los resultados obtenidos en los estudios ERSPEC (6) y PLCO (7) han marcado en buena parte la evolución de la controversia en torno a la conveniencia de practicar o no el cribado del CaP mediante determinaciones de PSA. Hay tres datos adicionales que debemos considerar para valorar adecuadamente los resultados disponibles de estos estudios.

En primer lugar, el estudio americano PLCO presenta una importante contaminación con medidas de PSA en la rama control, que ha sido cifrada entre el 42 y el 50 % (38), mientras que en el estudio europeo ERSPEC ha sido estimada como inferior al 15 % (39). De hecho, los propios autores del ensayo americano reconocen que el estudio debe considerarse como una comparación entre un programa organizado de cribado frente a un programa de cribado oportunista (13), a la vez que concluyen que el ensayo americano PLCO no responde finalmente a la cuestión de la eficacia del cribado del CaP (38).

En segundo lugar, debemos considerar que las conclusiones opuestas de ambos estudios pueden estar relacionadas con las distintas particularidades que los caracterizan. Además del citado impacto desigual de la contaminación con medidas de PSA en el grupo control, afecta, por ejemplo, la diferente intensidad del cribado en ambos estudios o el porcentaje de biopsias realizadas cuando el cribado es positivo, de manera que, si en el ensayo europeo fue del 86 %, en el americano fue de tan solo el 35 %. Un estudio de microsimulación elaborado por De Koning y cols. (40) minimiza estas diferencias y, por tanto, sus conclusiones mejoran las que se sostienen en la simple agregación de resultados que ofrecen los metaanálisis. Los autores de este estudio concluyen que, soslayando estos inconvenientes, los resultados de ambos estudios serían mucho más similares. De forma semejante, también mediante un estudio de microsimulación, se ha observado que las diferencias presentes en los resultados de los ocho centros participantes en el estudio europeo serían menores si se obviara la variabilidad existente en su diseño y realización (41).

En realidad, los estudios de cribado se alejan de lo que sería un programa ideal. Los estudios de simulación sugieren que, en circunstancias de cribado ideales (sin contaminación con medidas de PSA en la rama

control, riguroso seguimiento del protocolo y cumplimiento de las recomendaciones de realización de una biopsia), la disminución de la mortalidad debida a CaP en el grupo de cribado con PSA con respecto al grupo de no intervención llegaría a ser de alrededor del 40 % (40).

Finalmente, y en tercer lugar, hay que subrayar que los resultados del estudio europeo no solo han ido confirmándose en las sucesivas actualizaciones que se han publicado, sino que se han visto reforzados conforme ha ido aumentando el tiempo de seguimiento. Así, con 13 años de seguimiento se observaba una reducción en la mortalidad por CaP del 21 %, que aumentaba hasta el 27 % cuando se consideraban los incumplimientos del protocolo (11). La última actualización de datos, publicada en 2019, confirma estos resultados. Se observaba que la diferencia absoluta en mortalidad entre los grupos de cribado y de control se incrementa desde 0,14 % a los 13 años de seguimiento hasta el 0,18 % a los 16 años de seguimiento (5). Igualmente, el número de casos que es necesario cribar para evitar una muerte por CaP desciende desde 48 en el primer informe publicado con 9 años de seguimiento hasta 18 en la actualización correspondiente a los 16 años de seguimiento (5).

## NUEVOS MARCADORES TUMORALES EN LA DETECCIÓN DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

Es conocida la falta de especificidad del PSA como herramienta para la detección de CaP, de manera que se calcula que únicamente el 25 % de las biopsias son positivas en pacientes con PSA elevado. Por ello, se han diseñado diversas estrategias encaminadas a disminuir el elevado número de biopsias negativas, que incluyen desde la densidad de PSA hasta el porcentaje de PSA libre, así como nuevos biomarcadores, entre los que cabe citar el 4kscore, el Prostate Health Index (PHI) y el test Estocolmo 3 (S3M). Estos nuevos biomarcadores no solo deberían mejorar la especificidad obtenida con el PSA, sino que, además, deberían relacionarse con la agresividad del tumor con el objeto de reducir el sobrediagnóstico de esta enfermedad.

El test 4kscore ha sido diseñado como un test cuyo objetivo no es la detección del CaP, sino la detección de CaP de alto riesgo. Este test incluye la determinación de PSA, PSA libre, PSA intacto y la calicreína humana de tipo 2 (hk2), que se combinan con la edad del paciente, el resultado del tacto rectal y la posible existencia de una biopsia negativa previa. Los primeros resultados disponibles para este test, que mostraban áreas bajo la curva superiores a 0,80 (42), han sido posteriormente confirmados a través de un estudio prospectivo multicéntrico que muestra su eficacia para ahorrar biopsias con una mínima pérdida de tumores de alto grado (43). No muy distintos son los resultados de PHI, que incluye la medida de PSA total y libre y de la fracción -2 de proPSA. Se ha indicado su relación con la agresividad



del tumor, así como su mayor área bajo la curva con respecto a PSA o al porcentaje de PSA libre, con una utilidad elevada en pacientes con una próstata de tamaño pequeño o mediano (42,44,45).

El test S3M incluye la determinación de cinco biomarcadores plasmáticos (PSA, PSA libre, hK2, citocina inhibidora de los macrófagos 1 (MIC1) y  $\beta$ -microseminoproteína [MSMB]), junto a un panel de 254 polimorfismos de nucleótido único (SNP) relacionados con CaP y diversos datos demográficos y clínicos (edad, historia familiar de CaP y la posible existencia de una biopsia negativa previa). Este test supera la eficacia diagnóstica del PSA en la detección de CaP de alto riesgo, con un área bajo la curva superior a 0,80 (46). En un estudio piloto realizado en Stavanger (Noruega), con la participación de 4784 individuos, se ha valorado la sustitución de la medida de PSA por el test S3M e indica que este permite aumentar la detección de CaP clínicamente significativo a la vez que disminuye el número de tumores indolentes diagnosticados (47).

## PSA EN LA PREDICCIÓN DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

Los marcadores tumorales pueden estar elevados en pacientes con diversas enfermedades benignas, principalmente en relación a un déficit en su metabolización y eliminación o bien a causa de un componente inflamatorio o hiperplásico importante (48). La hiperplasia benigna de próstata es la principal causa de falsos positivos en el caso del PSA. Esto plantea un problema de diagnóstico diferencial con el CaP, puesto que ambas enfermedades son particularmente frecuentes a partir de los 60 años. Sin embargo, la especificidad del PSA es mucho mayor en pacientes jóvenes, cuando la próstata aún no ha empezado a agrandarse. Ello ha suscitado que algunos autores propugnen el uso de un valor discriminante ajustado a la edad del paciente y, de hecho, en el estudio europeo ERSPC se decide la realización de biopsia a partir de una concentración de PSA de 3  $\mu\text{g/L}$  o incluso inferior.

La elevada especificidad del PSA en la mayoría de sujetos jóvenes es el dato que explica su capacidad para predecir el desarrollo de un CaP años o incluso décadas antes de ser diagnosticado, como han mostrado diversos estudios. Esta observación sugiere que la liberación del PSA a la sangre sería un hecho temprano en el proceso de desarrollo del tumor o incluso, como también se ha propuesto, la posible implicación del PSA en el desarrollo inicial de la carcinogénesis (49).

Los primeros datos que describen la capacidad del PSA para predecir el futuro diagnóstico de un CaP se publicaron en 1994 por Stenmann y cols. (50) tras evaluar una cohorte de 21 172 sujetos de edades comprendidas entre los 45 y los 84 años que habían tomado parte en un programa de cribado realizado en Finlandia entre 1968 y 1973. Los autores concluían que una elevación de PSA superior a 2,5  $\mu\text{g/L}$  permitía prede-

cir la aparición de un CaP a lo largo de la década siguiente a la medición del PSA, si bien el número de CaP diagnosticados era solo de 44 y únicamente 24 de estos pacientes eran menores de 65 años. El estudio plantea la duda de la calidad de los resultados debido a una posible falta de conservación de la muestra, tanto a causa del largo período de tiempo transcurrido desde su obtención como a que las muestras fueron descongeladas y vueltas a congelar 10 años antes de la realización del estudio. Por otro lado, sin embargo, este estudio no tiene un sesgo de verificación causado por la realización de más pruebas encaminadas a detectar un CaP en los pacientes con PSA elevado, dado que las muestras fueron obtenidas previamente a la era del PSA.

Las subsiguientes aportaciones de otros autores han subrayado la capacidad del PSA medido a una edad temprana para predecir el diagnóstico de un CaP e incluso la aparición de metástasis y la muerte a causa de este tumor. La tabla I muestra un resumen de estas aportaciones (50-56). Recientemente, Kovac y cols. (56) han documentado, en una serie muy amplia, la asociación entre el PSA basal y el posterior diagnóstico de un CaP clínicamente significativo. El estudio incluye 10 968 individuos correspondientes al ensayo americano PLCO, con edades comprendidas entre los 55 y los 60 años y un tiempo de seguimiento de 13 años. La incidencia de CaP clínicamente significativo reportada por los autores del estudio fue del 0,4 % cuando el PSA era menor a 0,49  $\mu\text{g/L}$ , mientras que ascendía paulatinamente conforme lo hacía la concentración de PSA, tal como se muestra a continuación: 1,5 % para PSA 0,5-0,99  $\mu\text{g/L}$ ; 5,4 % para PSA 1-1,99  $\mu\text{g/L}$ ; 10,6 para PSA 2-2,99  $\mu\text{g/L}$ ; 15,3 % para PSA 3-3,99  $\mu\text{g/L}$  y 29,5 % para PSA superior a 3,99  $\mu\text{g/L}$ .

Estos resultados sugieren que una determinación basal de PSA es útil para estratificar el riesgo de padecer un CaP y diferenciar aquellos individuos que deberían incluirse en un programa de cribado del CaP de los que podrían ahórraselo, sin que por ello aumente en un futuro la morbilidad o la mortalidad causadas por CaP.

El estudio alemán PROBASE, actualmente en curso, tiene como objetivo valorar el impacto en el desarrollo de metástasis causadas por CaP tras 15 años de seguimiento. El intervalo entre las medidas de PSA se establece en función del riesgo individual según el valor de PSA basal realizado a los 45 o a los 50 años (57).

## UN CRIBADO PERSONALIZADO DEL CÁNCER DE PRÓSTATA

En los últimos años, diversos autores (58-64) (Tabla II) han sugerido la necesidad de introducir un cambio en la perspectiva desde la que abordar el cribado del cáncer de próstata a la vista de la evidencia disponible. Se trataría de superar la dicotomía entre cribar a todo el mundo o no cribar a nadie para basar el cribado en una estratificación del riesgo para desarrollar un CaP.



**Tabla I.**  
**Sumario de resultados referentes a la capacidad de un PSA basal para predecir el desarrollo de cáncer de próstata**

Autor	Diseño del estudio	Número de individuos	Núm. de CaP	Edad PSA basal	Resultados
Stenmann y cols. (50)	Estudio de casos y controles anidado (Finnish Cancer Registry)	21 172	44	45-84	La elevación de PSA superior a 2,5 µg/L predice la aparición de un CaP en la década siguiente a la medición del PSA
Gann y cols. (51)	Estudio de casos y controles anidado (Physicians' HealthStudy)	22 071	366	40-84	El riesgo relativo de que se diagnostique un CaP aumenta a medida que aumenta el PSA
Loeb y cols. (52)	Estudio prospectivo de cribado de CaP (Washington PSA Study)	13 943	661	40-59	La detección de un CaP es mayor en varones de entre 40 y 59 años con PSA superior a la mediana de su grupo poblacional
Lilja y cols. (53)	Estudio de casos y controles anidado (Malmö Preventive Project)	21 277	462	44-50	El PSA medido entre los 44 y los 50 años permite estratificar el riesgo de que se diagnostique un CaP, de manera que un aumento en 1 µg/L de PSA se asocia con una oportunidad relativa de CaP de 3,69
Vickers y cols. (54)	Estudio de casos y controles anidado (Malmö Preventive Project)	1167	126	60	La medida de PSA a los 60 años se relaciona con el desarrollo de CaP metastásico y la muerte por CaP
Preston y cols. (55)	Estudio de casos y controles anidado (Physicians' HealthStudy)	22 071	234	45-59	La concentración de PSA permite predecir la futura aparición de un CaP letal
Kovac y cols. (56)	Estudio prospectivo de cribado de CaP (PLCO)	10 968	970	55-60	Asociación entre el PSA y el diagnóstico de un CaP clínicamente significativo

**Tabla II.**  
**Propuestas para redefinir la estrategia de cribado del cáncer de próstata**

Autor	Año	Propuesta
Randazzo y cols. (58)	2015	Cribado individualizado
Sjoberg (59)	2015	Cribado inteligente
Conran y cols (60)	2016	Atención personalizada del cáncer de próstata
Eapen y cols. (61)	2017	Una estrategia inteligente que supere la dicotomía entre cribar a todos o no cribar a nadie
Carlsson y Roobol (62)	2017	Cribado inteligente y optimización del balance entre beneficios y perjuicios
Vickers (63)	2019	No realizar el cribado en varones que no se beneficiaran
Remmers y Roobol (64)	2020	Una estrategia personalizada del cribado

Se trata de iniciativas designadas con nombres tales como cribado inteligente, cribado individualizado o estrategia personalizada y basadas en una estratificación del riesgo.

La decisión de incluir o no a un individuo en un programa de cribado con PSA o la intensidad de dicho cribado, según las evidencias mencionadas en el apartado anterior, podría personalizarse en función de la medida de PSA a una edad temprana. Los resultados de esta

estrategia, que pretende disminuir el número de biopsias negativas y reducir el sobrediagnóstico, podrían verse reforzados con la disponibilidad de nuevos marcadores encaminados a detectar únicamente tumores agresivos o con calculadoras de riesgo, como el Rotterdam Prostate Cancer Risk Calculator, que integran diversas variables para establecer cuál es la probabilidad de tener un CaP (65). Debe mencionarse especialmente la aportación de la resonancia magnética (RM) multi-

paramétrica, puesto que permite obtener, mediante la clasificación Pi-Rads (siglas que corresponden a Prostate Imaging-Reporting and Data System), información sobre el riesgo de tener un CaP y en definitiva decidir o no la realización de una biopsia.

La iniciativa más destacada a este respecto corresponde a la European Association of Urology (EAU). Esta sociedad viene sugiriendo desde hace unos años, y cada vez con mayor énfasis (66,67), la utilidad de una medida basal de PSA obtenida a los 40-45 años que permitiría determinar cada cuánto es necesario medir el PSA en cada paciente. Se define así una estrategia personalizada según el riesgo de cada individuo que vendría a sustituir el cribado generalizado a toda la población.

En su recomendación, fechada en 2013 (68), la EAU indicaba que un PSA superior a 1 µg/L a los 45 años o superior a 2 µg/L a los 60 años se asocia con una probabilidad significativamente elevada de mortalidad causada por CaP. Igualmente, en esta recomendación se indica que los intervalos del cribado deberían ser de 2-4 años para varones con PSA superior a 1 µg/L a los 45-59 años, mientras que podría espaciarse a los 8 años cuando el PSA es inferior a esta concentración. Unos criterios semejantes se indican en la actualización de la guía clínica correspondiente a 2022 (Tabla III) (69).

El 22 de enero de 2019 se reunieron en el Parlamento europeo responsables políticos, científicos y representantes de grupos de pacientes para debatir el estado de la cuestión sobre el cribado del CaP. En dicha reunión se consideró que el cribado del CaP debería replantearse teniendo en cuenta las evidencias recientes, tal como se indicaba en el documento *Policy paper on PSA screening for Prostate Cancer* (70), que cuenta con el decidido apoyo de la EAU. Un segundo documento de la EAU, fechado en abril de 2020 y titulado *White Paper on Prostate Cancer* (71), consistía en unas reco-

mendaciones a la Unión Europea para hacer frente al CaP en las que se subrayaban las ventajas de un empleo más inteligente del PSA, que debería incluir la RM multiparamétrica y otras herramientas de estratificación del riesgo con el objetivo de disminuir el número de biopsias practicadas y el sobrediagnóstico de este tumor.

El contenido de estos documentos se ha visto reflejado en tres artículos publicados entre 2019 y 2021 que establecen la posición de la EAU frente al cribado del CaP (72-74). La propuesta de la EAU consiste en decidir el intervalo de medidas de PSA en función de un PSA basal. Así, para individuos de entre 50 y 70 años, el PSA debe medirse cada 2-4 años si está entre 1 y 3 µg/L. En cambio, si el PSA es menor a 1 µg/L, deberá repetirse cada 5 años para edades comprendidas entre 50 y 59 años y, si se trata de individuos de entre 60 y 70 años, debe detenerse el cribado.

Cuando el PSA sea superior a 3 µg/L deberá valorarse la probabilidad de que exista un CaP de alto riesgo mediante un nomograma de estratificación que incluya edad, historia familiar de CaP, densidad de PSA y tacto rectal. En aquellos casos con elevada probabilidad de un CaP de alto riesgo se realizará una RM multiparamétrica que, a su vez, determinará en qué casos es necesario hacer una biopsia de la próstata y en qué casos basta con un seguimiento del paciente.

Todo ello debería revertir en una disminución de costes (puesto que se harían menos determinaciones de PSA, y en consecuencia, menos biopsias), una disminución de falsos positivos (puesto que se evitaría hacer determinaciones de PSA en sujetos mayores en los que el PSA basal era bajo), una disminución del sobrediagnóstico (muchos CaP indolentes se detectan porque el PSA está elevado de forma inespecífica, sin relación alguna con la presencia de un tumor) y una disminución de efectos adversos relacionados con la biopsia o el tratamiento, que no siempre es necesario.

Tabla III.

Recomendaciones de la European Association of Urology (69) en relación al cribado del cáncer de próstata

Recomendaciones	Grado de fortaleza
No realizar cribado con PSA sin discutir previamente los posibles riesgos y los beneficios asociados al cribado	Fuerte
Ofrecer una estrategia individualizada al riesgo a varones bien informados con una expectativa de vida superior a 10-15 años	Débil
Ofrecer una determinación precoz de PSA a individuos bien informados y con riesgo elevado de cáncer de próstata: mayores de 50 años, mayores de 45 años con historia familiar de cáncer de próstata, descendientes de africanos mayores de 45 años y mayores de 40 años portadores de mutaciones en BRCA2	Fuerte
Ofrecer una estrategia adaptada al riesgo (según el PSA basal) con un intervalo de seguimiento de 2 años en varones con PSA > 1 µg/L a los 40 años o con PSA > 2 µg/L a los 60 años	Débil
Posponer el seguimiento a los 8 años en aquellos varones que no son de riesgo Detener el cribado en relación a la esperanza de vida o al mal estado funcional, puesto que es poco probable que beneficie a hombres que tienen una expectativa de vida inferior a 15 años	Fuerte

En esta estrategia se concentran los recursos en estratificar el riesgo de padecer un CaP clínicamente significativo, y en definitiva, en detectar los tumores que sí precisan un tratamiento radical. Tras el diagnóstico, si el tumor tiene una baja probabilidad de progresión, el sobretratamiento puede evitarse valorando la inclusión del paciente en un protocolo de vigilancia activa.

## CONCLUSIONES

La implementación del PSA en el cribado del CaP ha sido motivo de una larga y de una profunda polémica que ha puesto en duda su utilidad. Una lectura crítica de los resultados obtenidos en los estudios europeo ERSPC y americano PLCO cuestiona muchos de los argumentos contrarios al cribado a causa de las deficiencias metodológicas del estudio americano. Por otro lado, se ha observado que los planteamientos restrictivos sobre el uso de PSA en el cribado del CaP pueden ser causa de un retraso en el diagnóstico en un número apreciable de casos, con la consiguiente migración de la enfermedad hacia estadios más avanzados.

En el curso de los últimos años se han producido diversas novedades que también suscitan un replanteamiento en la estrategia del cribado del CaP más allá de la disyuntiva entre cribar a todo el mundo o no cribar a nadie. De hecho, en la actualidad disponemos de nuevas herramientas que podrían suponer estrategias de cribado más eficientes, ya que seleccionan grupos de riesgo para CaP y podrían reducir el sobrediagnóstico de la enfermedad.

En primer lugar, debemos mencionar la vigilancia activa como una manera de reducir el sobretratamiento de la enfermedad. En segundo lugar, hay que subrayar la notoria aportación de la RM multiparamétrica, que ha supuesto un cambio radical en el diagnóstico del CaP, puesto que permite realizar la biopsia tan solo en aquellos individuos que con una elevada probabilidad presentan un tumor. En tercer lugar, hay que destacar las calculadoras de estratificación del riesgo y los nuevos marcadores que se relacionan con la agresividad del CaP y cuya implementación debería contribuir a detectar selectivamente estos tumores. Finalmente, y de manera destacada, hay que citar los estudios que valoran positivamente la capacidad de un PSA basal para predecir el futuro diagnóstico de un CaP y, en definitiva, para definir grupos de riesgo. Las recientes recomendaciones de la EAU vienen a superar la polémica disputa entre cribar a todos los hombres o no realizar el cribado del CaP, optando por una estrategia personalizada del cribado de este tumor.

## BIBLIOGRAFÍA

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021;71:209-49.
- Giona S. The Epidemiology of Prostate Cancer. En: Bott SRJ, Ng KL, editores. *Prostate Cancer*. Brisbane: Exon Publications; 2021. p. 1-15.
- Carioli G, Bertuccio P, Boffetta P, Levi F, La Vecchia C, Negri E, et al. European cancer mortality predictions for the year 2020 with a focus on prostate cancer. *Ann Oncol* 2020;31:650-8.
- Klotz L. Overdiagnosis in urologic cancer: For World Journal of Urology Symposium on active surveillance in prostate and renal cancer. *World J Urol* 2022;40:1-8.
- Hugosson J, Roobol MJ, Månsson M, Tammela TLJ, Zappa M, Nelen V, et al. A 16-yr Follow-up of the European Randomized study of Screening for Prostate Cancer. *Eur Urol* 2019;76:43-51.
- Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V, et al. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med* 2009;360:1320-8.
- Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL 3rd, Buys SS, Chia D, Church TR, et al. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med* 2009;360:1310-9.
- Barry MJ. Screening for prostate cancer-the controversy that refuses to die. *N Engl J Med* 2009;360:1351-4.
- Filella X. Hacia un cribado personalizado del cáncer de próstata. *Adv Lab Med* 2020;20190012.
- Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Ciatto S, Nelen V, et al. Prostate-cancer mortality at 11 years of follow-up. *N Engl J Med* 2012;366:981-90.
- Schröder FH, Hugosson J, Roobol MJ, Tammela TL, Zappa M, Nelen V, et al. Screening and prostate cancer mortality: results of the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC) at 13 years of follow-up. *Lancet* 2014;384:2027-35.
- Andriole GL, Crawford ED, Grubb RL 3rd, Buys SS, Chia D, Church TR, et al. Prostate cancer screening in the randomized Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian Cancer Screening Trial: mortality results after 13 years of follow-up. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:125-32.
- Pinsky PF, Prorok PC, Yu K, Kramer BS, Black A, Gohagan JK, et al. Extended mortality results for prostate cancer screening in the PLCO trial with median follow-up of 15 years. *Cancer* 2017;123:592-9.
- Pinsky PF, Miller E, Prorok P, Grubb R, Crawford ED, Andriole G. Extended follow-up for prostate cancer incidence and mortality among participants in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian randomized cancer screening trial. *BJU Int* 2019;123:854-60.
- Martin RM, Donovan JL, Turner EL, Metcalfe C, Young GJ, Walsh EI, et al. Effect of a Low-Intensity PSA-Based Screening Intervention on Prostate Cancer Mortality: The CAP Randomized Clinical Trial. *JAMA* 2018;319:883-95.
- Chou R, Crosswell JM, Dana T, Bougatsos C, Blazina I, Fu R, et al. Screening for prostate cancer: a review of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2011;155:762-71.
- Ilic D, O'Connor D, Green S, Wilt TJ. Screening for prostate cancer: an updated Cochrane systematic review. *BJU Int* 2011;107:882-91.
- Li J, Berkowitz Z, Hall IJ. Decrease in Prostate Cancer Testing Following the US Preventive Services Task Force (USPSTF) Recommendations. *J Am Board Fam Med* 2015;28:491-3.
- Moyer VA; USPSTF. Screening for prostate cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med* 2012;157:120-34.
- Qaseem A, Barry MJ, Denberg TD, Owens DK, Shekelle P. Screening for prostate cancer: a guidance statement from the Clinical Guidelines Committee of the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2013;158:761-9.
- Livingston CJ, Freeman RJ, Mohammad A, Costales VC, Titus TM, Harvey BJ, et al. Choosing Wisely® in preventive medicine: the American College of Preventive Medicine's Top 5 List of Recommendations. *Am J Prev Med* 2016;51:141-9.
- Screening for Prostate Cancer. UK NSC screening recommendation [citado el 26 abril de 2022]. Disponible en: <https://view-health-screening-recommendations.service.gov.uk/prostate-cancer/>

23. GuíaSalud. Recomendaciones de no hacer [citado el 26 abril de 2022]. Disponible en: <https://portal.guiasalud.es/no-hacer/no-realizar-de-forma-sistemática-la-determinación-de-psa-a-individuos-asintomáticos-sin-antecedentes-familiares-de-primer-grado-de-cáncer-de-próstata/>
24. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Estado de la evidencia y recomendaciones sobre actividades de cribado en el SNS. Ponencia de cribado poblacional de la Comisión de Salud Pública. Madrid: Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social; abril 2019.
25. Brenes Bermúdez FJ, Alcántara Montero A. ¿Detección precoz o cribado en la prevención del cáncer de próstata? *Semergen* 2017;43:100-8.
26. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Sociedad Española de Medicina de Familia y Comunitaria. Compromiso por la Calidad de las Sociedades Científicas en España. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; 2018. [citado el 17 de junio 2022]. Disponible en: [https://www.sanidad.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/SOCIEDAD\\_ESP\\_M\\_FAMC\\_AP\\_MGF\\_OK.pdf](https://www.sanidad.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/SOCIEDAD_ESP_M_FAMC_AP_MGF_OK.pdf)
27. Asociación Española de Biopatología Médica-Medicina del Laboratorio. Decisiones inteligentes desde el laboratorio: de elegir sabiamente a no hacer. Madrid: Asociación Española de Biopatología Médica-Medicina del Laboratorio; 2021.
28. Paquette EL, Sun L, Paquette LR, Connelly R, Mcleod DG, Moul JW. Improved prostate cancer-specific survival and other disease parameters: impact of prostate-specific antigen testing. *Urology* 2002;60:756-9.
29. Bandini M, Mazzone E, Preisser F, Nazzani S, Zaffuto E, Marchioni M, et al. Increase in the Annual Rate of Newly Diagnosed Metastatic Prostate Cancer: A Contemporary Analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results Database. *Eur Urol Oncol* 2018;1:314-20.
30. Gulati R, Tsodikov A, Etzioni R, Hunter-Merrill RA, Gore JL, et al. Expected population impacts of discontinued prostate-specific antigen screening. *Cancer* 2014;120:3519-26.
31. Schröder FH, Hugosson J, Carlsson S, Tammela T, Mänttinen L, Auvinen A, et al. Screening for prostate cancer decreases the risk of developing metastatic disease: findings from the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC). *Eur Urol* 2012;62:745-52.
32. Grossman DC, Curry SJ, Owens DK, Bibbins-Domingo K, Caughey AB, Davidson KW, et al. Screening for prostate cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement. *JAMA* 2018;319:1901-13.
33. Jahn JL, Giovannucci EL, Stampfer MJ. The high prevalence of undiagnosed prostate cancer at autopsy: implications for epidemiology and treatment of prostate cancer in the Prostate-specific Antigen-era. *Int J Cancer* 2015;137:2795-802.
34. Campbell JM, Raymond E, O'Callaghan ME, Vincent AD, Beckmann KR, Roder D, et al. Optimum Tools for Predicting Clinical Outcomes in Prostate Cancer Patients Undergoing Radical Prostatectomy: A Systematic Review of Prognostic Accuracy and Validity. *Clin Genitourin Cancer* 2017;15:e827-e34.
35. Lepor H, Donin NM. Gleason 6 prostate cancer: serious malignancy or toothless lion? *Oncology (Williston Park)* 2014;28:16-22.
36. Perlis N, Klotz L. Contemporary Active Surveillance: Candidate Selection, Follow-up Tools, and Expected Outcomes. *Urol Clin North Am* 2017;44:565-74.
37. Huguet J, Alcover J, Fernández PL, Valduviego I, Casas F, Izquierdo L, et al. Protocolo de cáncer de próstata. En: Huguet J. (ed). *Urología oncológica práctica y multidisciplinar*. Madrid: Springer Healthcare Ibérica. p. 3-24.
38. Grubb RL, Pinsky P, Prorok PC, Andriole GL. Screening for cancer: lessons learned from the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. *Eur Urol* 2015;68:545-6.
39. Schröder FH, Roobol MJ. ERSPC and PLCO prostate cancer screening studies: what are the differences? *Eur Urol* 2010;58:46-52.
40. De Koning HJ, Gulati R, Moss SM, Hugosson J, Pinsky PF, Berg CD, et al. The efficacy of prostate-specific antigen screening: Impact of key components in the ERSPC and PLCO trials. *Cancer* 2018;124:1197-206.
41. Heijnsdijk EAM, Adolfsson J, Auvinen A, Roobol MJ, Hugosson J, de Koning HJ. The Impact of Design and Performance in Prostate-Specific Antigen Screening: Differences Between ERSPC Centers. *Eur Urol* 2019;76:276-9.
42. Filella X, Foj L. Prostate cancer detection and prognosis: from Prostate Specific Antigen (PSA) to exosomal biomarkers. *Int J Mol Sci* 2016;17:1784.
43. Parekh DJ, Punnen S, Sjoberg DD, Asroff SW, Bailen JL, Cochran JS, et al. A multi-institutional prospective trial in the USA confirms that the 4Kscore accurately identifies men with high-grade prostate cancer. *Eur Urol* 2015;68:464-70.
44. Filella X, Foj L, Alcover J, Augé JM, Molina R, Jiménez W. The influence of prostate volume in prostate health index performance in patients with total PSA lower than 10 µg/L. *Clin Chim Acta* 2014; 436:303-7.
45. Filella X, Foj L, Wijngaard R, Luque P. Value of PHI and PHID in the detection of intermediate- and high-risk prostate cancer. *Clin Chim Acta* 2022;531:277-82.
46. Ström P, Nordström T, Aly M, Egevad L, Grönberg H, Eklund M. The Stockholm-3 Model for Prostate Cancer Detection: Algorithm Update, Biomarker Contribution, and Reflex Test Potential. *EurUrol* 2018;74:204-10.
47. Viste E, Vinje CA, Lid TG, Skeie S, Evjen-Olsen Ø, Nordström T, et al. Effects of replacing PSA with Stockholm3 for diagnosis of clinically significant prostate cancer in a healthcare system - the Stavanger experience. *Scand J Prim Health Care* 2020;38:315-22.
48. Trapé J, Filella X, Alsina-Donadeu M, Juan-Pereira L, Bosch-Ferrer À, Rigo-Bonin R. Increased plasma concentrations of tumour markers in the absence of neoplasia. *Clin ChemLab Med* 2011;49:1605-20.
49. Cohen P, Peehl DM, Graves HC, Rosenfeld RG. Biological effects of prostate specific antigen as an insulin-like growth factor binding protein-3 protease. *J Endocrinol* 1994;142:407-15.
50. Stenman UH, Leinonen J, Hakama M, Knekt P, Aromaa A, Teppo L. Serum concentrations of prostate specific antigen and its complex with  $\alpha$ 1-antichymotrypsin before diagnosis of prostate cancer. *Lancet* 1994;344:1594-98.
51. Gann PH, Hennekens CH, Stampfer MJ. A prospective evaluation of plasma prostate-specific antigen for detection of prostatic cancer. *JAMA* 1995;273:289-94.
52. Loeb S, Roehl KA, Antenor JA, Catalona WJ, Suárez BK, Nadler RB. Baseline prostate-specific antigen compared with median prostate specific antigen for age group as predictor of prostate cancer risk in men younger than 60 years old. *Urology* 2006;67:316-20.
53. Lilja H, Ulmert D, Björk T, Becker C, Serio AM, Nilsson JA, et al. Long-term prediction of prostate cancer up to 25 years before diagnosis of prostate cancer using prostate kallikreins measured at age 44 to 50 years. *J Clin Oncol* 2007;25:431-6.
54. Vickers AJ, Cronin AM, Björk T, Manjer J, Nilsson PM, Dahlin A, et al. Prostate specific antigen concentration at age 60 and death or metastasis from prostate cancer: case-control study. *BMJ* 2010;341:c4521.
55. Preston MA, Batista JL, Wilson KM, Carlsson SV, Gerke T, Sjoberg DD, et al. Baseline Prostate-Specific Antigen Levels in Mid life Predict Lethal Prostate Cancer. *J Clin Oncol* 2016;34:2705-11.
56. Kovac E, Carlsson SV, Lilja H, Hugosson J, Kattan MW, Holmberg E, et al. Association of Baseline Prostate-Specific Antigen Level with Long-term Diagnosis of Clinically Significant Prostate Cancer Among Patients Aged 55 to 60 Years: A Secondary Analysis of a Cohort in the Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial. *JAMA Netw Open* 2020;3:e1919284.

57. Arsov C, Albers P, Herkommer K, Gschwend J, Imkamp F, Peters I, et al. A randomized trial of risk-adapted screening for prostate cancer in young men-Results of the first screening round of the PROBASE trial. *Int J Cancer* 2022;150:1861-9.
58. Randazzo M, Beatrice J, Huber A, Grobholz R, Manka L, Chun FK, et al. A "PSA pyramid" for men with initial prostate-specific antigen  $\leq 3$  ng/ml: a plea for individualized prostate cancer screening. *Eur Urol* 2015;68:591-7.
59. Sjoberg DD. Toward a smarter prostate cancer screening program. *Eur Urol* 2015;68:598-9.
60. Conran CA, Brendler CB, Xu J. Personalized prostate cancer care: from screening to treatment. *Asian J Androl* 2016;18:505-8.
61. Eapen RS, Herlemann A, Washington SL<sup>3rd</sup>, Cooperberg MR. Impact of the United States Preventive Services Task Force 'D' recommendation on prostate cancer screening and staging. *Curr Opin Urol* 2017;27:205-9.
62. Carlsson SV, Roobol MJ. Improving the evaluation and diagnosis of clinically significant prostate cancer in 2017. *Curr Opin Urol* 2017;27:198-204.
63. Vickers AJ. Redesigning Prostate Cancer Screening Strategies to Reduce Overdiagnosis. *Clin Chem* 2019;65:39-41.
64. Remmers S, Roobol MJ. Personalized strategies in population screening for prostate cancer. *Int J Cancer* 2020;147:2977-87.
65. Prostate Cancer Risk Calculator [citado el 22 junio de 2022]. Disponible en: <https://www.prostatecancer-riskcalculator.com/swop-prostate-cancer-research-foundation>
66. Heidenreich A, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, Mason M, Matveev V, et al EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and treatment of clinically localized disease. *EurUrol* 2011;59:61-71.
67. Mottet N, Van den Bergh RCN, Briers E, Van den Broeck T, Cumberbatch MG, De Santis M, et al. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer-2020 Update. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *EurUrol* 2021;79:243-62.
68. Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, Van der Kwast T, et al. EAU guidelines on prostate cancer. part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013. *Eur Urol* 2014;65:124-37.
69. Heidenreich A, Abrahamsson PA, Artibani W, Catto J, Montorsi F, Van Poppel H, et al. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-ISUP-SIOG Guidelines on Prostate Cancer 2022 [citado el 26 abril de 2022]. Disponible en: <https://uroweb.org/guidelines/prostate-cancer>
70. Policy Paper on PSA screening for Prostate Cancer. Has the time come to reconsider structured population-based PSA screening for prostate cancer? [citado el 26 abril de 2022]. Disponible en: [https://epad.uroweb.org/wp-content/uploads/EAU\\_policy-briefing\\_PSA.pdf](https://epad.uroweb.org/wp-content/uploads/EAU_policy-briefing_PSA.pdf)
71. White paper on Prostate Cancer. Recommendations for the EU Cancer Plan to tackle Prostate Cancer [citado el 26 abril de 2022]. Disponible en: [https://d56bochluxqz.cloudfront.net/media/EAU\\_PCa-WhitePaper.pdf](https://d56bochluxqz.cloudfront.net/media/EAU_PCa-WhitePaper.pdf).
72. Gandaglia G, Albers P, Abrahamsson PA, Briganti A, Catto JWF, Chapple CR, et al. Structured Population-based Prostate-specific Antigen Screening for Prostate Cancer: The European Association of Urology Position in 2019. *Eur Urol* 2019;76:142-50.
73. Van Poppel H, Hogenhout R, Albers P, Van den Bergh RCN, Barentsz JO, Roobol MJ. Early Detection of Prostate Cancer in 2020 and Beyond: Facts and Recommendations for the European Union and the European Commission. *Eur Urol* 2021;79:327-9.
74. Van Poppel H, Roobol MJ, Chapple CR, Catto JWF, N'Dow J, Sønksen J, et al. Prostate-specific Antigen Testing as Part of a Risk-Adapted Early Detection Strategy for Prostate Cancer: European Association of Urology Position and Recommendations for 2021. *Eur Urol* 2021;80:703-11.





# - REVISTA DE - MEDICINA DE LABORATORIO

www.revistamedicinadelaboratorio.es

## Artículo Especial

### Modelo de recertificación de las sociedades científico-médicas de España. FACME

*Recertification model of the Spanish scientific-medical societies. FACME*



FACME\*

**Correspondencia:** Cecilio Santander Vaquero. Vocal de FACME en representación del grupo de trabajo del Consejo Asesor FACME de recertificación de la especialidad  
e-mail: cecilio.santander@salud.madrid.org

21 de junio de 2022

El desarrollo profesional (DP) del facultativo especialista es el reconocimiento individual del nivel que ha alcanzado en cuanto a conocimientos y experiencia en las tareas asistenciales, docentes y de investigación, así como en lo relativo al cumplimiento de los objetivos asistenciales e investigadores de la organización en la que presta sus servicios. Es un proceso mediante el que el profesional adquiere, mantiene y mejora competencias laborales en determinadas áreas de capaci-

tación, como conocimientos, habilidades, actitudes y desempeños, para seguir desarrollando su ejercicio profesional de forma competente.

La recertificación de la especialidad es una credencial en la que las sociedades científicas, junto con la Administración sanitaria, certifican por periodos de 6 años que un médico ha tenido un desarrollo profesional (DP) que supera los requisitos previamente definidos para ejercer como médico especialista.

\*Ver anexo de coautorías al final.

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

DOI: 10.20960/revmedlab.00138

FACME. Modelo de recertificación de las sociedades científico-médicas de España. FACME. Rev Med Lab 2022;3(2):74-78

## OBJETIVO DEL CONSEJO ASESOR FACME DE RECERTIFICACIÓN DE LA ESPECIALIDAD

Definir la estructura básica del modelo común de recertificación de las especialidades médicas en consenso entre todas las sociedades científico-médicas integradas en la FACME.

Este documento recoge los modelos de desarrollo profesional continuo (DPC) y de recertificación previamente existentes en varias sociedades científicas (SSCC) y que ha tomado también como referencias para una posible convalidación el modelo europeo y el canadiense. Las conclusiones acerca del modelo único común son fruto de un amplio consenso de requisitos mínimos entre las SSCC que componen FACME.

## REQUISITOS CONSENSUADOS POR EL GRUPO DE TRABAJO DEL CONSEJO ASESOR DE FACME

- El modelo deberá ser sencillo en su estructura, desarrollado con rigor científico, con unos requisitos preestablecidos y deberá poder ser compatible y convertible a los modelos internacionales.
  - Se establecen como competencias las específicas de cada especialidad (centradas más en la propia competencia que en enfermedades) y las transversales, revisadas recientemente por FACME.
  - Las SSCC, siguiendo las directrices generales establecidas en este consenso, deberán desarrollar las competencias evaluadas y definir el indicador para evaluarlas y el límite mínimo para considerar la competencia como “apta”.
  - Cada SSCC nombrará un comité de recertificación formado por especialistas de esa SSCC considerados como “expertos” en herramientas de docencia y de evaluación. Las funciones serán:
    1. Fijar y revisar periódicamente las competencias, los indicadores de cada una y los límites para considerarlas “aptas”.
    2. Revisar las solicitudes y elaborar la propuesta de “recertificado” o “pendiente de recertificar” identificando las áreas en las que deben ampliarse las evidencias.
  - El consejo asesor de FACME podrá ser consultado por los comités de expertos de las SSCC en los aspectos que consideren necesarios dentro del proceso de evaluación para buscar la homogeneidad y el consenso en los criterios utilizados. La evaluación de las competencias y de los grupos competenciales incluye dos tipos de actividades:
    - Tipo A: que englobaría las actividades asistenciales.
    - Tipo B: que comprendería las actividades de formación médica continuada, la docencia y la investigación. Se destacan las posibilidades de los centros de simulación para la adquisición de habilidades. Las actividades formativas podrían ser actividades clínicas externas, asistenciales internas y actividades internas o individuales no asistenciales.
  - Ponderar las competencias priorizadas por las SSCC teniendo en cuenta las peculiaridades de cada especialidad: se propone que las actividades enmarcadas en el tipo A supongan el 60 % y las de tipo B, el 40 %.
  - Reorganizar los mapas de competencias de las especialidades para intentar ajustar de forma aproximada el número de competencias totales de la especialidad a 40 o agruparlas en grupos competenciales (con un número similar en todas las especialidades) y hacer así uniforme la carga de horas empleadas para su validación. Las competencias dependen de cada especialidad y cada especialidad fija sus competencias dentro de unos dominios o de unos grupos competenciales y propone los porcentajes de obtención y cuántos grupos competenciales mínimos deben incluirse para la recertificación.
  - No debe suponer una excesiva carga burocrática para el médico y la solicitud de este reconocimiento debe favorecer el desempeño asistencial en la práctica diaria (usando para ello indicadores de práctica clínica habitual proporcionados por las direcciones, en los pactos de gestión anuales, en las autoauditorías o en los autorregistros sobre el número de procedimientos) y demás actividades de formación e investigación.
  - El periodo de recertificación se acuerda en 6 años. Cada sociedad científica exige un mínimo de 6 competencias en 6 años (o un porcentaje equivalente a 6 competencias de las 40 que corresponde a la totalidad de competencias; es decir, el 15 % de las competencias globales), distribuidas de forma homogénea en los dos trienios o como mínimo aportando evidencias en al menos 3 años de los 6 años que se evalúan.
  - Que las competencias se alcancen, al menos, en dos trienios diferentes para demostrar cierta regularidad en su desempeño; es decir, que el mínimo de competencias no sea obligatoriamente anual.
  - La recertificación se plantea para aquellos médicos con labor asistencial continuada en los 6 años previos. Los médicos que hayan interrumpido su trabajo asistencial de manera prolongada por cualquier circunstancia dispondrán de un proceso de mejora para alcanzar la recertificación. En las actividades de tipo B se tendrá en cuenta el incremento progresivo y la proporción de actividades docentes sobre las actividades de formación continuada de los profesores.
- Una vez finalizado el modelo se propone publicarlo en una revista científica y registrarlo mediante *copyright* e ISBN de FACME/SSCC (con uso libre por todas las SSCC) para evitar su utilización sin el permiso explícito de FACME.
- La evaluación de las competencias y de los grupos competenciales incluye dos tipos de actividades, como se propone en los siguientes modelos de ejemplo:

Actividades de tipo A		
<b>Actividades de tipo A: competencias clínicas específicas (determinadas por cada sociedad científica)</b>	6 competencias (o una equivalencia del 15 % de las competencias globales de la especialidad) en dos bloques de tres años, con evidencias en un mínimo de tres de los seis años evaluados	
	<b>Cada competencia o grupo competencial</b>	
<b>A1: asistenciales</b>	Competencias específicas de cada especialidad Desempeño-actividad asistencial: Número / año	Indicadores que midan la actividad asistencial Autoauditorías
	Competencias específicas de cada SSCC: Número de técnicas / año	Certificación Dirección del centro
	Competencias transversales: Desempeño-actividad asistencial: Número / año	Indicadores que midan la actividad asistencial Autoauditorías
	Competencias transversales: Número de técnicas / año	Certificación Admisión / codificación
	Estancias Número de días Certificación de la Dirección del centro de destino	Certificación Admisión / codificación
<b>A2: gestión</b>	Comisiones / Comités Grupos de trabajo  Certificación de la Dirección del centro	
<b>A3: competencias transversales</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Bioética</li> <li>2. Comunicación asistencial</li> <li>3. Trabajo en equipo</li> <li>4. Gestión de calidad y de seguridad del paciente</li> <li>5. Orientación al paciente y razonamiento clínico</li> <li>6. Gestión clínica y orientación a resultados</li> <li>7. Aspectos médicos y legales de las profesiones sanitarias</li> <li>8. Gestión de la información</li> <li>9. Promoción de la salud y prevención de la enfermedad</li> <li>10. Idiomas</li> </ol>	

Actividades de tipo B		
<b>B1: formación continuada</b>	Número de créditos Número de actividades	
	Con créditos (SNS/UEMS/SEAFORMEC)	Certificación oficial
	Actividad de formación continuada de contenido relacionado con la especialidad Realización de máster universitario Cursos de experto o especialista universitario Actividad docente intraservicio	Certificación del centro / de la sociedad

(Continúa en la página siguiente)

Actividades de tipo B (Cont.)		
<b>B2: docente</b>	Horas lectivas Mínimo de 4 actividades en al menos 3 años	
	Organización de actividades formativas Impartición de docencia Docencia presencial / <i>online</i> organizada por la universidad, entidades privadas o SSCC Sesiones clínicas del propio servicio o centro de salud, general del hospital, multidisciplinarios, etc. Tutoría alumnos de grado, posgrados y residentes Colaborador docente en centros con MIR/EIR/PIR/FIR o jefes de estudios / técnicos de salud de unidades docentes Participación en tribunales de tesis doctorales o de exámenes oficiales	Certificación acreditada por la universidad o el centro docente Docente de la especialidad Docente de universidad: catedrático, titular, asociado o lector
<b>B3: científica-investigación</b>	Publicaciones	Nacional
	Capítulos de libros	Internacional
	Editor de libros	
	Investigación	Certificación acreditada (de la finalización de la investigación o memoria final con resultados)
	Fondo público - fondo privado	IP
	Fondo público - fondo privado	Colaborador
	Comunicaciones / pósteres en congresos	Nacional Internacional
<b>B4: otros méritos</b>	Mesas, ponencias y conferencias	Nacional Internacional
	Tesis doctoral /TFM	<i>Cum laude</i> + 1
	Premios y becas	Certificación acreditada
	Sociedades (cada una)	Certificación acreditada
	Actividad editorial	- Revisor de revista con FI
	Colaboración en exámenes oficiales	- Revisor de revista sin FI
	Miembro de sociedades científicas	- Editor Jefe
Participación en sociedades científicas: grupos de trabajo, comités, revisiones, etc.	- Comité editorial o de redacción con FI - Comité editorial o de redacción sin FI	
Premios y becas		
Actividades de divulgación a la sociedad y asociaciones de pacientes		

Validación / propuesta de recertificación favorable por las SSCC		
<b>Validación/propuesta de recertificación favorable por las SSCC</b>	Número de años: 6 (valoración de competencias o grupos competenciales en dos trienios)	
	Competencias o grupo competenciales validadas	Mínimo: 6 en total (o equivalencia del 15 % de las competencias globales de la especialidad) en los dos trienios (recomendación: 3 en cada trienio con evidencias en un mínimo de tres de los seis años evaluados)
	Recomendaciones. La evaluación de las competencias/grupos competenciales incluye dos tipos de actividades:	- 60 % de las competencias de tipo A: Recomendado: A1 50 + A2 10 - 40 % de las competencias de tipo B: Recomendado: B1 10 + B2 10 + B3 10 + B4 10)
	Otra priorización de competencias por las peculiaridades de cada SSCC	

Las SSCC definirán en estas tablas las puntuaciones, los créditos, etc., que proponen.

Los instrumentos contemplados para evaluar las competencias son:

1. Observación de la práctica clínica, estructurada o no estructurada.
2. Observación en contextos simulados.
3. Audit, que contará con la firma/certificación de la dirección del centro siempre que sea posible (excepto autónomos con actividad asistencial individual).
4. 360°, basada en la colección de información de múltiples fuentes: médicos, enfermería o de otros profesionales de la salud con los que se trabaje de forma habitual, así como también del jefe del servicio/coordinador o director del centro, de administrativos y de los pacientes. Además, puede incluir la autoevaluación.
5. Porfolio: registro de actividades y reflexión. Permite incluir documentación de los instrumentos de evaluación descritos previamente.
6. Otros: como técnicas, simuladores, ECOE, casos clínicos con preguntas u otros instrumentos validados o reconocidos.

## Anexo

### Coautorías en la creación del modelo

*AEDV: Dr. Pablo de la Cueva.*

*AEBM-ML: Dr. Santiago Prieto.*

*AEC: Dr. Salvador Morales.*

*AEP: Dr. Luis Carlos Blesa.*

*AEU: Dr. José Ramón Cortiñas.*

*SEACV: D. Joaquín de Haro.*

*SEAIC: Dr. Antonio Luis Valero.*

*SEAP-IAP: Dra. M.<sup>a</sup> Carolina Martínez.*

*SEC: Dr. Ángel Ramón Cequier.*

*SECCE: Dra. Tomasa Centella.*

*SECOMCYC: Dr. Fernando Almeida.*

*SECOT: Dr. Luis Rafael Ramos.*

*SECP: Dr. Ignacio Eizaguirre.*

*SECPRE: Dr. Andrés A. Maldonado.*

*SECT: Dr. Pablo León Atance.*

*SEDAR: Dr. José María Sistac.*

*SEEN: Dr. Javier Escalada.*

*SEFC: Dra. M.<sup>a</sup> del Mar García.*

*SEGG: Dr. José Augusto García.*

*SEGO: Dr. Txanton Martínez.*

*SEHH: Dra. Lourdes Vázquez.*

*SEHM: Dr. Francisco Maraver.*

*SEI: Dra. Carmen Martín.*

*SEIMC: Dra. Miriam José Álvarez.*

*SEMEG: Dra. Cristina Alonso.*

*SEMERGEN: Dr. Francisco Javier Atienza.*

*semFYC: Dra. Cruz Bartolomé.*

*SEMG: Dra. Pilar Rodríguez Ledo.*

*SEMI: Dr. Jesús Díez.*

*SEMICYUC: Dr. Álvaro Castellanos.*

*SEMNIM: Dra. María Cristina Peña.*

*SEMPSPGS: Dr. Jesús Molina.*

*S.E.N.: Dra. Patricia de Sequera.*

*SEN: Dr. David Ezpeleta.*

*SENEC: Dr. José Luis Salu.*

*SEO: Dr. Antonio Piñero.*

*SEOM: Dr. César Rodríguez.*

*SEOR: Dra. M.<sup>a</sup> del Carmen Rubio.*

*SEORL-CCC: Dr. Serafín Sánchez.*

*SEPAR: Dr. Germán Peces-Barba.*

*SEPD: Dr. Cecilio Santander.*

*SEP: Dr. Luis Agüera.*

*SEQC-ML: Dr. José Puzo.*

*SER: Dr. José Luis Andréu.*

*SERAM: Dra. Alfonsa Frieria.*

*SERMEF: Dra. Carolina de Miguel.*





## Caso Clínico

# Hipofisitis ocasionada por nivolumab

## *Hypophysitis caused by nivolumab*

Anick Nadezhda Baca Yépez, Verónica Puerto Rumi, María Luisa Martínez Triguero, Amparo Alba Redondo, Begoña Laiz Marro

Unidad de Hormonas. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. València

**Recibido:** 13/11/2021  
**Aceptado:** 13/03/2022

**Correspondencia:** Anick Nadezhda Baca Yépez. Unidad de Hormonas. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitari i Politècnic La Fe. Avinguda de Fernando Abril Martorell, 106. 46026 València  
e-mail: baca\_anicknadezhdayep@gva.es

### CASO CLÍNICO

Se expone el caso de un varón de 56 años remitido al Servicio de Urgencias por deterioro de su estado general. Se trata de un paciente en situación de indigencia que afirma encontrarse fatigado, con falta de apetito y sin ganas de vivir. Niega consumo reciente de alcohol o tóxicos. Sin clínica infecciosa.

Como antecedentes personales destaca el consumo de alcohol, de tabaco, de cocaína y de tetrahidrocanabinol (THC) en el pasado, trastorno esquizoafectivo, personalidad de tipo clúster y melanoma pretibial derecho en estadio IIIb con mutación en el gen BRAF en tratamiento con nivolumab adyuvante planteado para 12 meses, pero del que solo recibió 5 dosis, pues no volvió a consulta (la última, 8 meses antes del cuadro). En la exploración física destacan ligera hipotensión, con 91/53 mm Hg, hipoglucemia capilar (54 mg/dL) y signos de deshidratación y de caquexia. En la auscultación cardiopulmonar no se escucharon soplos ni ruidos sobreagregados ni se evidenció dificultad respiratoria. El abdomen se encontraba blando, depresible y sin masas ni visceromegalias. El resto del examen físico fue normal.

Se realizó una analítica de laboratorio, cuyos valores se recogen en la tabla I, en la que destacaron la glucosa (50 mg/dL) y el sodio (132 mEq/L).

Para corregir la hipoglucemia y la deshidratación, se administró glucosa al 33 %, fluidoterapia con suero fisiológico y alimentos y se decidió su ingreso para su estabilización y la evaluación del caso.

En planta se le realizó una nueva analítica (Tabla I), en la que destacó la tirotrópina (TSH), de 5,81 mU/L, la tiroxina libre (T4 libre), de 0,88 ng/dL, el cortisol, de 1,70 µg/d, la hormona adrenocorticotropa (ACTH), de < 5,0 pg/mL, y el deshidroepiandrosterona sulfato (DHEA sulfato), de 215 ng/mL.

Se le realizó una resonancia magnética (RM) hipofisaria en la que se evidenció realce de la hipófisis en secuencias potenciadas en T1. Tras la administración de contraste, presentó realce relativamente homogéneo (Fig. 1).

Tras los resultados de los análisis de laboratorio y la RM, el servicio de endocrinología concluyó como diagnóstico insuficiencia suprarrenal secundaria a hipofisitis linfocitaria por inmunoterapia con nivolumab, por lo que se pautó 20 mg de hidrocortisona por la mañana, 10 mg por la tarde y 10 mg por la noche. La mejora del paciente fue evidente en lo referente al cortisol, con 13,80 µg/dL, a la TSH, de 1,54 mU/L, y a la T4 libre, de 0,79 ng/dL. Persiste la alteración de ACTH: < 5,0 pg/mL (Tabla II).

Se dio el alta al paciente con tratamiento sustitutivo con hidrocortisona de 10 mg tres veces al día. Se citó al paciente para revisión en consultas externas.

*Conflicto de intereses:* las autoras declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00110

Baca Yépez AN, Puerto Rumi V, Martínez Triguero ML, Alba Redondo A, Laiz Marro B. Hipofisitis ocasionada por nivolumab. Rev Med Lab 2022;3(2):79-81

Tabla I.

Análisis de laboratorio en urgencias		
Ensayo	Valor obtenido	Valores de referencia
Glucosa (mg/dL)	50	75-110
LDH (U/L)	339	125-220
Sodio (mEq/L)	132	136-145
Hemoglobina (g/dL)	10,0	13,0-17,5
Hematocrito (%)	28,8	39,0-50,0
Leucocitos ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	12,43	3.5-10.5
Análisis de laboratorio en planta		
Ensayo	Valor obtenido	Valores de referencia
Glucosa (mg/dL)	92	75-110
Albúmina (g/dL)	3,0	3,2-5,2
PCR (mg/dL)	62,5	0-5
Hierro ( $\mu\text{g/dL}$ )	33	65-175
Capacidad de fijación total de Fe ( $\mu\text{g/dL}$ )	156	240-440
Ferritina (ng/ml)	347	22-275
Hemoglobina (g/dL)	9,5	13,0-17,5
Hematocrito (%)	27,9	39,0-50,0
VSG (mm/h)	33	0-20
TSH (mU/L)	5,81	0,350-4,940
T4 libre (ng/dL)	0,88	0,7-1,48
Cortisol ( $\mu\text{g/dL}$ )	1,70	3,7-19,4
ACTH (pg/mL)	<5,0	9,0-40,0
DHEA- sulfato (ng/mL)	215	486-3618

ACTH: hormona adrenocorticotropa; DHEA sulfato: deshidroepiandrosterona sulfato; LDH: lactato deshidrogenasa; PCR: proteína C reactiva; TSH: tirotrópina; T4 libre: tiroxina libre; VSG: velocidad de sedimentación globular.

## DISCUSIÓN

El melanoma de estadio III es una neoplasia que se ha propagado desde el origen a uno o más ganglios linfáticos primarios. En este estadio se recomienda el uso de fármacos tipo anticuerpos monoclonales, como el nivolumab, para prevenir la recurrencia de la enfermedad y disminuir el riesgo de recaída. Se ha observado que al cabo de 18 meses de tratamiento con nivolumab el 66 % de los pacientes están libres de la enfermedad y se logra un 35 % de reducción de riesgo de recaída (1).

El nivolumab se administra por vía intravenosa cada 2-4 semanas y es uno de los fármacos inhibidores

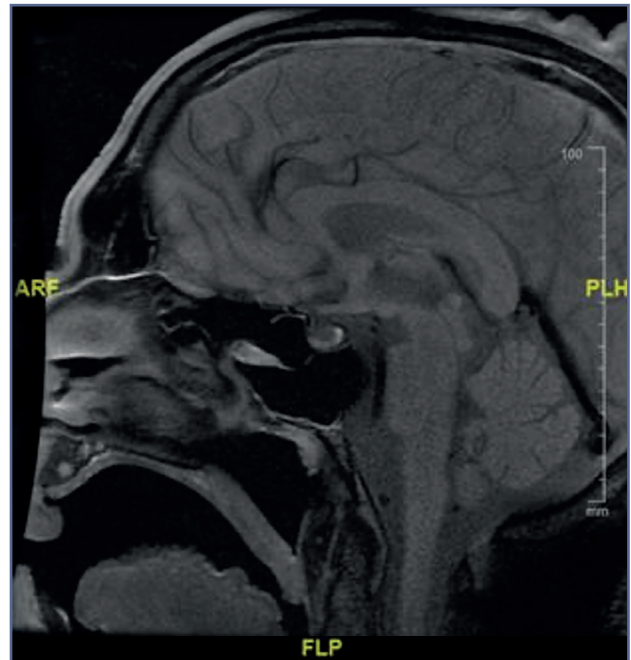


Figura 1 – Resonancia magnética. En el corte axial se aprecia el realce de la hipófisis.

Tabla II.

Análisis de laboratorio posteriores al tratamiento		
Ensayo	Valor obtenido	Valores de referencia
Cortisol ( $\mu\text{g/dL}$ )	13,80	3,7-19,4
TSH (mU/L)	1,54	0,350-4,940
T4 libre (ng/dL)	0,79	0,7-1,48
ACTH (pg/mL)	< 5,0	9,0 - 40,0

ACTH: hormona adrenocorticotropa; T4 libre: tiroxina libre; TSH: tirotrópina.

de los *checkpoints* inmunológicos (ICPI) que actúan estimulando los linfocitos T para que sean estos los que eliminen la célula maligna. El nivolumab actúa en el *checkpoint* inmunológico PD-1 (1-7), que tiene dos ligandos conocidos: PD1-L1 y PD1-L2. El PD1-L1 se expresa en muchos tumores sólidos y dentro del ambiente tumoral actúa inhibiendo la producción de citoquinas y la citólisis, lo que da a las células neoplásicas la capacidad de evadir el sistema inmunitario (4).

El mecanismo de acción del nivolumab es bloquear la interacción entre PD-1 y sus ligandos, con lo que consigue estimular la actividad citotóxica, inhibir el crecimiento tumoral (1-4,6-8) y limitar el daño tisular resultante de la activación inmunitaria (4).

Los efectos adversos relacionados con la inmunidad (EARI) se dan principalmente por la activación del sistema inmunológico y por su posible afectación a prácticamente todos los órganos. El porcentaje de pa-

cientes afectados es superior al 90 % (entre el 10 y el 20 % presenta toxicidad de grado 3-4) (2,4,6,9).

Las glándulas a las que que afecta con mayor frecuencia son la hipófisis y el tiroides (2,4,6-8). La afectación de la hipófisis es similar al cuadro clínico de la hipofisitis linfocitaria. De no reconocerse a tiempo, pone en serio peligro la vida y conlleva insuficiencia adrenal (4).

La afección tiroidea se manifiesta de manera silente, con una fase inicial y no siempre presente de hipertiroidismo seguida de hipotiroidismo (1,4,7).

Se ha descrito también que origina adrenalitis autoinmune, pero de aparición más rara (1,2,4).

El paciente presenta criterios de hipofisitis: fatiga, apatía, hipotensión, hiponatremia, niveles bajos de ACTH y cortisol bajo, compatibles con insuficiencia suprarrenal y la RM es compatible con hipofisitis. Dicha patología se atribuye a la terapia recibida de nivolumab para el melanoma de estadio III. Según la clasificación de toxicidad, la afectación se encuentra en el grado 3: grave (3,6,9); es decir, que resulta médicamente significativa, limita las actividades de la vida diaria y requiere el ingreso del paciente, pero no pone en peligro su vida de manera inmediata. Llama la atención que la última dosis se haya administrado 8 meses antes del cuadro, aunque se ha descrito que podría existir un efecto acumulativo que explique la aparición de la hipofisitis hasta 11 semanas después de la infusión de otros medicamentos monoclonales, como ipilimumab (4).

Entre las recomendaciones para su administración están la monitorización de los biomarcadores de laboratorio antes y después de la administración de los medicamentos potencialmente tóxicos (2-4).

Ante este riesgo elevado de toxicidad, la colaboración y la intervención multidisciplinaria (oncólogos, endocrinólogos y analistas clínicos) en el seguimiento y en el tratamiento de estos pacientes resulta necesaria e indispensable, sobre todo para el diagnóstico y el tratamiento precoz de la insuficiencia adrenal (primaria o secundaria), que es, sin duda, uno de los EARI más graves (1-4). Por ello, se establecen ciertos puntos claves para tener en cuenta en aquellos pacientes sometidos a este tipo de tratamientos (2,4):

- Registrar las enfermedades autoinmunes previas.
- Realizar determinaciones analíticas antes del inicio del tratamiento con los ICPI y establecer una periodicidad en su monitorización.
- Tener en cuenta los signos y los síntomas para el reconocimiento prematuro de los EARI con el objetivo de determinar su gravedad y la necesidad de derivación al especialista.
- Revisar los criterios de retirada de los ICPI.
- Determinar los criterios de curación de EARI y los de la retirada de su tratamiento.

## PUNTOS A RECORDAR

- Los EARI se presentan en más del 90 % de los pacientes tratados con medicamentos de tipo ICPI y entre el 10-20 % de ellos presentan toxicidad de grado 3-4.
- La hipófisis y el tiroides son los órganos más frecuentemente afectados.
- La adrenalitis autoinmune se presenta raramente y es uno de los EARI más graves.
- La colaboración y la intervención multidisciplinaria (oncólogos, endocrinólogos y analistas clínicos) es vital para la evaluación, el seguimiento y el tratamiento de los pacientes usuarios de medicación de tipo ICPI ante el riesgo elevado de toxicidad.

## BIBLIOGRAFÍA

1. AIM at Melanoma Foundation and Terranova Medica. Opciones para el melanoma en estadio III, claves para tomar la decisión correcta. Disponible en: [http://aimwithimmunotherapy.org/wp-content/uploads/2019/12/Stage3MelanomaDiagnosis\\_Spanish\\_Final.pdf](http://aimwithimmunotherapy.org/wp-content/uploads/2019/12/Stage3MelanomaDiagnosis_Spanish_Final.pdf)
2. Zafon Llopis C. Inmunoterapia oncológica y endocrinología: una nueva oportunidad para la colaboración multidisciplinaria. *Endocrinol Diab Nutr* 2017;64:461-3. DOI: 10.1016/j.endinu.2017.10.001
3. AIM at Melanoma Foundation and Terranova Medica. AIM with Immunotherapy Foundation. Cuidado paso a paso-Hipofisitis (inflamación de la glándula pituitaria). Disponible en: [http://aimwithimmunotherapy.org/wp-content/uploads/2019/12/IOE-CSP5-hypophysitis\\_final\\_SPA.pdf](http://aimwithimmunotherapy.org/wp-content/uploads/2019/12/IOE-CSP5-hypophysitis_final_SPA.pdf)
4. Torino F, Barnabei A, Paragliola RM, Marchetti P, Salvatori R, Corsello SM. Endocrine side-effects of anti-cancer drugs: mAbs and pituitary dysfunction: clinical evidence and pathogenic hypotheses. *Eur J Endocrinol* 2013;23:169:153. DOI: 10.1530/EJE-13-0434
5. Fernández Castro C, Rodelgo Jiménez L, Ruiz Ginés MÁ, Ruiz Martín G (coord.). El laboratorio clínico y la función hormonal. 1st ed. Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica. Hospital Virgen de la Salud. Toledo; 2011.
6. Koppolu V, Rekha Vasigala VK. Checkpoint immunotherapy by nivolumab for treatment of metastatic melanoma. *J Cancer Res Ther* 2018;14:1167-75. DOI: 10.4103/jcrt.JCRT\_1290\_16
7. Spain L, Diem S, Larkin J. Management of toxicities of immune checkpoint inhibitors. *Cancer Treat Rev* 2016;44:51-60. DOI: 10.1016/j.ctrv.2016.02.001
8. Faje A, Reynolds K, Zubiri L, Lawrence D, Cohen JV, Sullivan RJ, et al. Hypophysitis secondary to nivolumab and pembrolizumab is a clinical entity distinct from ipilimumab-associated hypophysitis. *Eur J Endocrinol* 2019;181:211-9. DOI: 10.1530/EJE-19-0238
9. Barroso-Sousa R, Barry WT, Garrido-Castro AC, Hodi FS, Min L, Krop IE, et al. Incidence of Endocrine Dysfunction Following the Use of Different Immune Checkpoint Inhibitor Regimens: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol* 2018;4:173-82. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.3064



## Caso Clínico

# Mieloblastos en sangre periférica de recién nacido con síndrome de Down: ¿leucemia mieloide aguda o mielopoyesis anormal transitoria?

## *Myeloid blasts in peripheral blood in newborn with Down syndrome, acute myeloid leukemia or transient abnormal myelopoiesis?*

*Maitane Echeverría Urroz, Noelia López Barba, Laura Martínez González, María Elena Redín Sarasola*

Laboratorio Core. Hospital Universitario Donostia. Donostia

**Recibido:** 09/04/2022  
**Aceptado:** 29/04/2022

**Correspondencia:** Maitane Echeverría Urroz. Hospital Universitario Donostia. Begiristain Doktorea Pasealekua, s/n. 20014 Donostia  
e-mail: maitane.echeverriaurroz@osakidetza.eus

## CASO CLÍNICO

Se presenta el caso de una paciente recién nacida con cariotipo 47,XX,+21 (síndrome de Down). Nacida a término con adecuado peso para la edad gestacional, parto mediante cesárea.

A su nacimiento, la paciente es ingresada en neonatología debido a hipoxemia. Se le realiza una analítica de control con análisis bioquímico y hemograma. En la bioquímica únicamente destacan la hipoglucemia, la hipercalcemia y la bilirrubina indirecta elevada, alteraciones comunes en los recién nacidos. En cuanto al hemograma no se objetivan citopenias, solo destaca la presencia de reticulocitosis, fisiológica también en estos casos. Sin embargo, los escaterogramas obtenidos mediante citometría de flujo con láser semiconductor resultan anormales y se sospecha la presencia de blastos en sangre periférica (Fig. 1).

Debido a estos hallazgos, se amplía el estudio mediante revisión del frotis sanguíneo y se contabilizan un 39 % de blastos (Fig. 2), 34 % de neutrófilos, 3 % de mielocitos, 2 % de linfocitos y 12 % de monocitos. A su vez, se cuentan 216 eritroblastos en diferentes estadios madurativos sobre 100 leucocitos.

Ante la elevada cantidad de células inmaduras se decide realizar el estudio del inmunofenotipado celular y se contabilizan un 37,74 % de blastos mieloides con fenotipo sugestivo de diferenciación megacario-blastica.

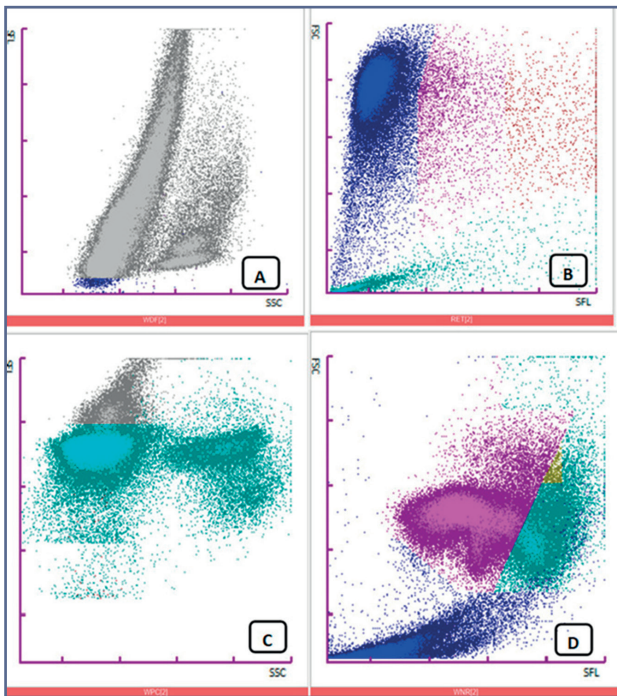
Una vez confirmado el hallazgo de blastos en sangre periférica en una cantidad superior al 20 %, se plantean dos posibles diagnósticos: la leucemia mieloide aguda (LMA) y la mielopoyesis anormal transitoria (MAT). Ante la imposibilidad de diferenciar entre estas dos entidades, decide adoptarse una actitud expectante con vigilancia clínica y analítica estrecha.

*Conflicto de intereses:* las autoras declaran no tener ningún conflicto de interés.

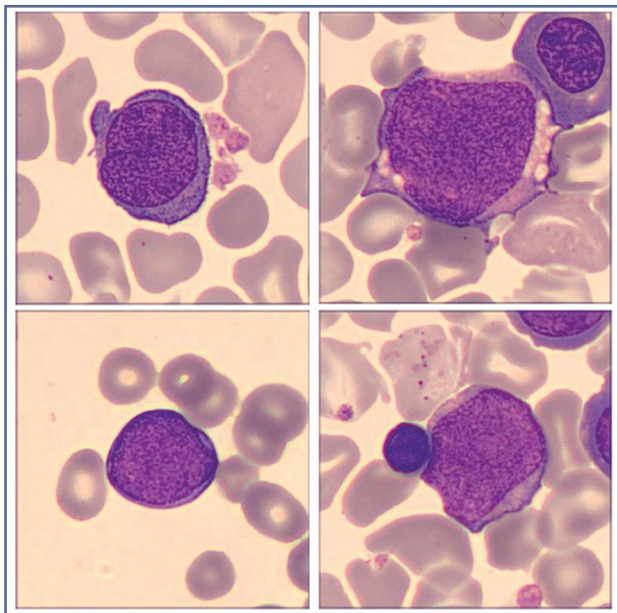
DOI: 10.20960/revmedlab.00124

Echeverría Urroz M, López Barba N, Martínez González L, Redín Sarasola ME. Mieloblastos en sangre periférica de recién nacido con síndrome de Down: ¿leucemia mieloide aguda o mielopoyesis anormal transitoria? Rev Med Lab 2022;3(2):82-84





**Figura 1** – Representación gráfica de escatergramas obtenidos mediante citometría de flujo con láser semiconductor (Sysmex XN). Descripción de canales de análisis utilizados. A: escatergrama obtenido mediante canal WDF. B: escatergrama obtenido mediante canal de reticulocitos. C: escatergrama obtenido mediante canal WPC. D: escatergrama obtenido mediante canal WNR.



**Figura 2** – Imagen obtenida mediante microscopía digital (CellaVision) de la extensión de sangre periférica de la paciente. Se observan cuatro células inmaduras, con cromatina laxa y 2 o 3 nucléolos, con citoplasma basófilo y escasa granulación.

Durante el ingreso se realizan múltiples hemogramas y análisis de morfología de sangre periférica para controlar la evolución de la paciente. El conteo de blastos y de eritroblastos muestra un claro descenso en el número con el transcurso del tiempo, que descienden a cifras inferiores al 20 % al noveno día del ingreso. A su vez, la cifra de plaquetas desciende, lo que da lugar a trombocitopenia desde el tercer día del ingreso hasta el día 26. La cifra de leucocitos, en cambio, aumenta el tercer día desde el ingreso hasta llegar a valores superiores 50000 leucocitos/ $\mu$ L, por lo que se considera reacción leucemoide. Por último, se observa una discreta esplenomegalia mediante ecografía abdominal.

Finalmente, se confirma el diagnóstico de MAT por el descenso espontáneo de blastos en sangre periférica. La paciente es dada de alta 46 días después del ingreso con un 1 % de blastos y un 2 % de eritroblastos en sangre periférica. Actualmente la paciente se encuentra en seguimiento por el servicio de hematología.

## DISCUSIÓN

La mielopoyesis anormal transitoria es un síndrome mieloproliferativo transitorio que cursa con proliferación de blastos mieloides en la médula ósea que habitualmente infiltran la sangre periférica. La mayoría de los casos se han detectado en recién nacidos y fetos con síndrome de Down (SD) y aparece en un 4-10 % de los nacidos con trisomía 21, aunque también puede aparecer en pacientes sin este cariotipo (1). Se desconoce su incidencia real, ya que puede cursar de manera asintomática y no siempre se realiza el análisis de sangre periférica en neonatos con SD (2). Es un síndrome transitorio, puesto que remite espontáneamente en el plazo de 3 meses, pero aproximadamente en un 10-20 % de los pacientes evoluciona a LMA (3).

Clínicamente la MAT se manifiesta mediante hepatomegalia, esplenomegalia y presencia de mieloblastos en sangre periférica, al igual que la LMA. A su vez, puede aparecer anemia o trombocitopenia. Cuando aparece en el feto, usualmente se manifiesta como hidropesía fetal (2). A pesar de que la mayoría de los pacientes con MAT experimente una recuperación clínica espontánea, aproximadamente un 20 % muere debido a complicaciones como insuficiencia hepática o cardiopulmonar (4). Por lo tanto, algunos pacientes son tratados con antineoplásicos a dosis bajas (1).

Tanto clínica como hematológica y analíticamente es indistinguible de la LMA, por lo tanto, ante sospecha de MAT, la recomendación es mantener una actitud de vigilancia con control clínico y analítico. Si efectivamente se tratara de MAT, la cifra de blastos descenderá en el plazo de unos 3 meses; en cambio, si se tratara de LMA, no habrá una remisión espontánea.

Diversos estudios han descrito mutaciones en el gen *GATA-1* en pacientes con MAT y SD. Esta mutación es detectable durante la proliferación mieloide, no así en la fase de remisión ni tampoco en pacientes



con leucemia megacarioblástica aguda (LMCA), pero sin SD. Por lo tanto, se ha propuesto una relación entre la mutación del gen *GATA-1* y la evolución del MAT a LMCA en pacientes con SD (1,2). En el estudio realizado por Mansini AP *et al.* se observaron mutaciones en *GATA-1* en todos los pacientes con MAT analizados. En aquellos pacientes con MAT que desarrollaron LMCA se observó la adquisición de nuevas mutaciones en el *GATA-1* (1).

El gen *GATA binding protein 1 (GATA-1)* codifica un factor de activación de la transcripción de vital importancia para la correcta eritropoyesis y trombopoyesis (1,2,5,6). A pesar de que las mutaciones detectadas son varias, todas parecen dar lugar a la síntesis de una proteína *GATA-1* acortada (*GATA-1s*). Diversos estudios han relacionado la proteína *GATA-1s* con el aumento de la proliferación megacariocítica (2,5,6). Además, se ha propuesto el análisis del *GATA-1* en células de sangre periférica en aquellos neonatos con SD que presenten anomalías en el recuento celular o en la revisión del frotis sanguíneo compatibles con MAT. Para ello, sería necesario instaurar el análisis del hemograma y del recuento celular en todos los recién nacidos con trisomía 21. Esto permitiría detectar una posible MAT en pacientes asintomáticos (2).

En lo que respecta a la morfología, debido a la afectación principal de la serie plaquetar, morfológicamente se observan alteraciones diseritropoyéticas y dismegacariopoyéticas (3). En cuanto a los blastos observados en las proliferaciones mieloides en pacientes con trisomía 21, habitualmente son células grandes, con núcleo redondeado, citoplasma basófilo y con presencia de mamelones. Además, son células mieloperoxidasa y negro Sudán negativas. De forma característica, el inmunofenotipado muestra diferenciación megacarioblástica y son células positivas en CD33, CD38, CD117, CD34, CD7, CD56, CD36, CD71, CD42b y en los receptores de la trombopoyetina, eritropoyetina e IL3 (2,3).

Volviendo al caso de la paciente en cuestión, en un principio destaca el hallazgo de mieloblastos en sangre periférica junto con un hemograma aparentemente normal. Debido al número de blastos observados (blastos > 20 %) se plantean dos posibles diagnósticos indistinguibles en el momento: la LMA y la MAT. Con el paso del tiempo, el recuento de leucocitos aumenta hasta cifras superiores a 50 000 leucocitos/ $\mu$ L, por lo que se considera reacción leucemoide. Por otro lado, la cifra de plaquetas desciende durante el ingreso hasta valores inferiores al rango de referencia y recupera valores dentro del rango 26 días después del ingreso (rango de referencia en recién nacidos: 220-490  $\times$  10<sup>3</sup>/ $\mu$ L). Además, se observa una discreta esplenomegalia mediante ecografía. Todos estos son hallazgos compatibles tanto con la LMA como con la MAT. En cuanto a la cifra de blastos, se realiza el análisis del frotis de sangre periférica en repetidas ocasiones para controlar la evolución de la paciente y se observa un marcado descenso de los mieloblastos hasta llegar a valores inferiores al 20 % 9 días después del nacimiento.

En el caso de la paciente, no se consideró necesario utilizar ningún tratamiento quimioterapéutico. Fue dada de alta con una cifra de blastos en sangre periférica de un 1 %. Por último, se solicitó el análisis del gen *GATA-1* y se detectó una variante del gen debida a un cambio de nucleótido.

Actualmente, la paciente continúa en seguimiento por el servicio de hematología y en vigilancia periódica mediante hemogramas debido al riesgo de desarrollar una leucemia mieloide asociada a SD.

## PUNTOS A RECORDAR

- Las leucemias agudas son el resultado de la proliferación clonal de células inmaduras debido a una alteración genética. En concreto, la LMA se caracteriza por el hallazgo en sangre periférica o en la médula ósea de mieloblastos en una cantidad superior al 20 %.
- Las personas con SD tienen una tendencia mayor a desarrollar LMA, habitualmente relacionada con proliferación megacarioblástica. En cuanto a la genética, los casos de pacientes con trisomía 21 que desarrollan LMA han sido relacionados con mutaciones del gen *GATA-1*.
- La MAT aparece normalmente en pacientes con SD, aunque también se observa en recién nacidos sin esta trisomía. Se caracteriza por la presencia de leucocitosis y blastos en sangre periférica que descienden espontáneamente. Normalmente no requiere de tratamiento antineoplásico.
- El análisis del hemograma y la morfología de sangre periférica en neonatos con SD permiten detectar de forma precoz estas patologías y realizar el seguimiento adecuado, incluso en casos asintomáticos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Lin TF, Huang B, Robbins E. Congenital Malignant Disorders. Avery's Dis Newborn Tenth Ed 2018;1219-37. DOI: 10.1016/B978-0-323-40139-5.00085-1
2. Roy A, Roberts I, Norton A, Vyas P. Acute megakaryoblastic leukaemia (AMKL) and transient myeloproliferative disorder (TMD) in Down syndrome: A multi-step model of myeloid leukaemogenesis. *Br J Haematol* 2009;147(1):3-12. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07789.x
3. Merino A. Diagnóstico diferencial de las leucemias agudas. In: *Manual de Citología de Sangre Periférica y Líquidos Biológicos*. 2.<sup>a</sup> ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2020. p. 155-84.
4. Muramatsu H, Kato K, Watanabe N, Matsumoto K, Nakamura T, Horikoshi Y, et al. Risk factors for early death in neonates with Down syndrome and transient leukaemia. *Br J Haematol* 2008;142(4):6105. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07231.x
5. Massey G V. Transient leukemia in newborns with Down syndrome. *Pediatr Blood Cancer* 2005;44(1):29-32. DOI: 10.1002/pbc.20141
6. Watanabe K. Recent advances in the understanding of transient abnormal myelopoiesis in Down syndrome. *Pediatr Int* 2019;61(3):222-9. DOI: 10.1111/ped.13776



## Caso Clínico

# High serum creatinine after intravenous dexamethasone administration

## *Creatinina sérica alta después de la administración de dexametasona intravenosa*

*José Pereira, Anabela Leão, Luís Araújo, Nuno Gonçalves, Gabriela Martins*

Serviço de Patologia Clínica. Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil. Porto, Portugal

**Received:** 08/07/2022

**Accepted:** 26/07/2022

**Correspondence:** José Pereira. Serviço de Patologia Clínica. Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil. Rua Dr. António Bernardino de Almeida. 4200-072 Porto, Portugal  
e-mail: jose.duarte.pereira@outlook.com

## CASE REPORT

In this case report, we present three situations of spuriously raised creatinine after the administration of intravenous dexamethasone.

The first case about 62 years old male patient with lung cancer. On a routine blood sample, we noticed a fivefold increase on the creatinine value, in under 24 hours, with no clinical evidence that could justify it. Because of that, we repeated the analysis using another equipment that confirmed the results. After, we asked for a new sample that was processed 6 hours after the first one. This time creatinine value was back to its basal.

A few days later, a similar situation occurred. A male patient, 59 years old, with stage IV lung adenocarcinoma, had a steep increase on the values of serum creatinine, from one day to another. Again, there was no direct cause for this. After confirming the values with another equipment, we asked for a new sample. This time, after only 3 hours, creatinine returned to its basal value.

The same situation occurred a third time. A male patient, 75 years old, with multiple myeloma, had a sim-

ilar creatinine variation as to our first two patients. We repeated the same steps and creatinine value returned to the basal value.

The first samples were initially processed with Beckman Coulter® AU5800 equipment, that uses Jaffe method for creatinine measurement, and the results were confirmed with Atellica® CH analyzer, that uses an enzymatic method.

These results are illustrated on table 1, alongside urea and ion values, for the three patients and for the three-time stamps.

## DISCUSSION

These sudden creatinine variations, alongside non-variable urea, and ionic values, and with the absence of clinical evidence that could justify it, led us to believe that some methodology interference was causing these variations.

After some intense investigation, repetitions of the analysis in different equipment, researching for possi-

*Conflicts of interest:* the authors declare no conflicts of interests.

DOI: 10.20960/revmedlab.00140

Pereira J, Leão A, Araújo L, Gonçalves N, Martins G. High serum creatinine after intravenous dexamethasone administration. Rev Med Lab 2022;3(2):85-86

**Table I.**  
**Serum creatinine, urea and ionic values**

		24 hours before first sample	First sample	Second sample
Patient 1	Creatinine (umol/L)	115	582	123
	Urea (mmol/L)	19,9	20	19,4
	Sodium (mmol/L)	139	143	143
	Potassium (mmol/L)	4,1 (Moderate hemolysis)	3,2	3,3
Patient 2	Creatinine (umol/L)	58	1222	63,5
	Urea (mmol/L)	4,9	6,2	6,1
	Sodium (mmol/L)	135	135	136
	Potassium (mmol/L)	4,6	4,3	3,9
Patient 3	Creatinine (umol/L)	248	707	237
	Urea (mmol/L)	22,7	17,6	20,1
	Sodium (mmol/L)	138	136	136
	Potassium (mmol/L)	3,4	2,6	3,5

ble methodology interferences, and various talks with the nurses searching for a possible common denominator between our three patients, we then concluded that the three of them had received, at some point before the first blood sample collection, intravenous dexamethasone.

After inspecting the used formulation, we observed it consisted of an injectable solution of dexamethasone 4 mg/mL from the laboratory Fresenius Kabi Pharma Portugal, Lda. According to the manufacturer, it contains creatinine, among other substances, as an excipient.

With this information, we learnt that, indeed, little time has passed between drug administration and the blood sample collection.

A couple of clinical reports have already described similar cases where creatinine was spuriously increased, with other brands of dexamethasone, also containing creatinine as part of the formulation, as an excipient (1,2).

Excipients are added to parenteral formulations to enhance or maintain active ingredient solubility and/or stability, to assure safety, minimize pain, irritation and control or prolong drug delivery. As well as various components such as sodium chloride or sucrose, creatinine is sometimes used as a stabilizing agent in, for example, dexamethasone acetate formulations (3).

We concluded that the increase in creatinine values was not caused by methodology interference nor renal failure. As an excipient, creatinine was thus correctly measured.

Since we were not aware of the situation at the time of the dexamethasone administration and blood collection, it was not possible for us to measure the precise time that went between the two events, nor the precise location where the punctures were performed. This could help us give a better understanding on the duration of the distribution phase of intravenous creatinine.

With this case report, our aim is to alert and remind how various substances can be used as excipients in different medications, and how blood samples analysis can be affected if collected too soon after drug administration.

Our findings warn clinicians to consider exogenous creatinine and other drugs that influence creatinine measurement as a possible cause of pseudo-elevation of serum creatinine.

## POINTS TO REMIND

- Creatinine is used as an excipient in some intravenous dexamethasone formulations.
- The elevated value was indeed the real creatinine value. It was not a falsely altered value caused by a methodology interference.
- Blood samples should not be taken from the same line used to administer the formulation, or too soon after it, as this can condition the results.
- One must always keep in mind possible pre-analytical, analytical, and post-analytical factors that may have an impact on the accuracy of the results.

## REFERENCES

1. Darby D, So J, Russell J, Monaghan PJ. Spuriously raised serum creatinine associated with an excipient present in an intravenous dexamethasone formulation. *Ann Clin Biochem* 2012;49(3):292-4. DOI: 10.1258/acb.2011.011114
2. Makiishi T, Yamamoto S, Maeda S. A case of suspected pseudo-elevation of serum creatinine immediately after intra-articular injection into a wrist joint of a pharmaceutical preparation of dexamethasone containing creatinine as a buffer. *Japanese J Nephrol* 2011;53(2):200-6.
3. Akers MJ. Excipient-drug interactions in parenteral formulations. *J Pharm Sci* 2002;91(11):2283-300. DOI: 10.1002/jps.10154



## Evaluación Técnica/Equipos

# Adaptation and analytical evaluation of urinary ammonium measurement using an automated method for plasma ammonium quantification

## *Automatización y evaluación del rendimiento de un método adaptado para la determinación del amonio urinario*

*Paula Sienes Bailo<sup>1-3</sup>, Nuria Goñi Ros<sup>1,2</sup>, María Santamaría González<sup>1,2</sup>, José Luis Bancalero Flores<sup>1</sup>, María Montserrat Sagrado Arroyo<sup>1</sup>, Eduardo Martínez Morillo<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Department of Clinical Biochemistry. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza, Spain. <sup>2</sup>Spanish Society of Laboratory Medicine (SEOC-ML). Barcelona, Spain. <sup>3</sup>Aragón Institute of Health Research (IIS Aragón). Zaragoza, Spain

**Received:** 23/05/2022  
**Accepted:** 01/08/2022

**Correspondence:** Nuria Goñi Ros. Department of Clinical Biochemistry. Hospital Universitario Miguel Servet. Consultas Externas. C/ Padre Arrupe, s/n. 3.ª planta. 50009 Zaragoza, Spain  
e-mail: ngoni.5@alumni.unav.es

### Keywords:

Urinary ammonium. Enzymatic assay.  
Metabolic acidosis.

### ABSTRACT

Urinary ammonium quantification provides valuable information to evaluate the renal response to metabolic acidosis. It is useful in differential diagnosis between pathological states of metabolic or renal origin improving the clinical management of these patients. In this study, we evaluate the adaptation of a direct enzymatic assay to measure ammonium in urine samples using the Beckman Coulter DXC700AU analyzer. Intra-day and inter-day imprecision were < 1.0 % and < 7.5 % respectively. Trueness was < 3.5 % and < 8 %, mean SE = 5.64 %. As so, these tests were acceptable. The instrument responded adequately to the standard addition of the analyte. Dilution effect was negligible, and recoveries obtained ranged from 112-150 %. The method showed to be linear between 10-600  $\mu\text{mol/L}$ . The instrument responded adequately to the addition of the standard addition analyte. Dilution effect from diluted urine samples was negligible (< 15 %) for overall concentrations tested. The adaptation and validation of an automated method for plasma ammonium quantification to measure ammonium in urine samples in the laboratory provides a simple, fast, precise and accurate method, avoids the handling of toxic substances, and reduces occupational risks.

*Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest*

DOI: 10.20960/revmedlab.00133

Sienes Bailo P, Goñi Ros N, Santamaría González M, Bancalero Flores JL, Sagrado Arroyo MM, Martínez Morillo E. Adaptation and analytical evaluation of urinary ammonium measurement using an automated method for plasma ammonium quantification. Rev Med Lab 2022;3(2):87-91

**Palabras clave:**

Amonio urinario. Ensayo enzimático.  
Acidosis metabólica.

**RESUMEN**

La cuantificación de amonio en orina proporciona una valiosa información para evaluar la respuesta renal a la acidosis metabólica. Es útil en el diagnóstico diferencial entre estados patológicos de origen metabólico o renal, ya que mejora el manejo clínico de estos pacientes. En este estudio, evaluamos la adaptación de un ensayo enzimático directo para medir el amonio en muestras de orina utilizando el analizador Beckman Coulter DXC700AU. Las imprecisiones intra- e interdiarias fueron de < 1,0 % y < 7,5 %, respectivamente. La veracidad fue < 3,5 % y < 8 %, con una media de SE = 5,64 %. Por lo tanto, estas pruebas fueron aceptables. El instrumento respondió adecuadamente a la adición estándar del analito. El efecto de dilución fue insignificante y las recuperaciones obtenidas oscilaron entre 112 y 150 %. El método demostró ser lineal entre 10-600  $\mu\text{mol/L}$ . El instrumento respondió adecuadamente a la adición del analito de adición estándar. El efecto de dilución de las muestras de orina diluidas fue insignificante (< 15 %) para todas las concentraciones probadas. La adaptación y la validación de un método automatizado de cuantificación de amonio en plasma para medir el amonio en muestras de orina en el laboratorio proporcionan un método sencillo, rápido, preciso y exacto, evitan la manipulación de sustancias tóxicas y reducen los riesgos laborales.

**INTRODUCTION**

Ammonium production and excretion are key steps in the renal regulation of acid-base balance. Under basal conditions, urinary ammonium excretion accounts for 50-70 % of net acid excretion, but when endogenous acid production is enhanced, it increases up to 80-90 % (1). Furthermore, decreased urinary ammonium excretion is associated with an excessive accumulation of acid, resulting in progressive metabolic acidosis, which is commonly developed in advanced stages of chronic kidney disease, associated to other undesirable outcomes (2). For this reason, and as it allows to distinguish between different pathological states of metabolic or renal origin, urinary ammonium quantification provides valuable information in the evaluation of renal response to metabolic acidosis, helping in the management of patients suffering from this pathology (2-4).

Over the years, numerous methodologies have been used for the determination of ammonium in urine samples, including formol titration, Conway microdiffusion technique, Berthelot reaction, Nessler method, fluorometry, ammonia ion-selective electrodes, high-performance liquid chromatography and coulometric flow titration (5). Although these methods directly and accurately measure the ammonium concentration in urine samples, most of them are manual, time-consuming and/or require handling hazardous and toxic substances or expensive instrumentation, so they are not available in most clinical laboratories (6). Additionally, some indirect estimations of urinary ammonium excretion have been used based on the urinary anion gap or the osmolal gap calculation (7), but these are not consid-

ered accurate enough to be a reliable alternative to the direct measurement of urinary ammonium (6).

To overcome these limitations, several authors have implemented the urinary ammonium determination in biochemistry autoanalyzer's, by using methods originally developed to quantify plasma ammonium concentrations, with satisfactory results (6,8-10). In this study, we evaluated the urinary ammonium measurement in single urine samples by adapting an automated method for plasma ammonium quantification.

**MATERIALS AND METHODS**

In this scientific study, we describe a method validation, for whose calculations and analysis of the data we used Microsoft Excel.

The Infinity™ Ammonia assay is a direct enzymatic procedure based on glutamate dehydrogenase reaction for the quantitative determination of ammonium concentrations in human plasma. We used this automated method to quantify urinary ammonium in the DXC700AU analyzer (Beckman Coulter, USA).

**Precision and trueness**

To assess the analytical specifications (imprecision, trueness and total error), the following materials were used: a pool of urine samples collected in tubes without additives, Liquichek Urine Chemistry Control (Bio-Rad Laboratories) and two standard solutions (10 and 40 mmol/L, NH<sub>4</sub>I in Type 1 Ultrapure Water).



Since the ammonium concentration is approximately 1000 times higher in urine than in plasma, urine samples, quality control and ammonium standard solutions were diluted prior analysis with Milli-Q water (1:100).

Reproducibility of the assay was evaluated by measuring the urine pool, Liquichek quality control and both ammonium standard solutions. Repeatability was calculated using 20 replicates of urine pool under the same analytical conditions. Reproducibility was assessed by comparing the mean concentrations of the four test samples obtained on 20 different days. Analytical trueness was also evaluated using the ammonium standard solutions. Trueness was calculated as the difference between the measured ammonium concentrations and the expected concentrations. Acceptance criteria were established according to the "desirable" quality specifications for biological variation (coefficient of variation [CV] = 12.4 %, systematic error [SE] = 9.2 %, total error [TE] = 29.6 %) (11).

### Linearity

Linearity was verified by analysing serial dilutions of 1 mmol/L (1000 µmol/L) NH<sub>4</sub>I in MilliQ Water, with concentrations ranging from 10 to 600 µmol/L. Two replicates were measured for each dilution level. The results were plotted against the expected values. Linearity was assumed when the correlation coefficient was > 0.95.

### Recovery

The standard additions method corrects for the matrix effect. To calculate the recovery, we compared the results from both, the usual procedure and the standard additions method.

Two pools of urine were diluted with MilliQ water (1:20), and a 50-µL volume of a standard solution of NH<sub>4</sub>I (50 µmol/L) was added. The volume in each aliquot was completed with water up to 250 µL, maintaining the same sample dilution (1:100). A simple linear

regression was performed to verify the linearity of the assay. For the evaluation of recovery, we analysed the slope of the analytical curve obtained. Dilution effect was considered to be negligible if the obtained results deviated < 10 % from the expected ones.

## RESULTS

### Precision and trueness

Intra-day imprecision was < 1.0 % at medium ammonium concentrations evaluated in the urine pool (31.8 mmol/L). Inter-day imprecision was < 7.5 % at all evaluated concentrations (ranging from 6.3-44.2 mmol/L), mean CV = 4.97 %. Trueness was < 3.5 % at low (13.4 mmol/L) and < 8 % at medium (44.2 mmol/L) ammonium concentrations, mean SE = 5.64 % (Table I). Precision and trueness tests were acceptable as the allowable CV and SE were both 12.4 % and 9.2 %. Moreover, the modified method keeps the specific performance characteristics as described for plasma samples by Beckman Coulter (CV < 5 %).

### Linearity

The regression equation of modified assay was:

Measured ammonium concentration = 3.31 + 1.112·expected ammonium concentration (1).

Measured results were plotted against expected values (Fig. 1). The method showed to be linear between 10-600 µmol/L, with an excellent coefficient of determination ( $R^2 = 0.9998$ ).

### Recovery

Measured ammonium concentrations plotted against increasing volumes of stock solution are defined by the following equation:

Measured concentration = 225.2 + 0.298·expected concentration ( $R^2 = 0.96$ ) (2).

**Table I.**  
Precision and accuracy results

	Urine pool		Liquichek Control	NH <sub>4</sub> I 10 M	NH <sub>4</sub> I 40 M
	Repeatability	Reproducibility	Reproducibility	Reproducibility	Reproducibility
Mean (mmol/L)	31.8	31.7	6.3	13.4	44.2
SD (mmol/L)	0.18	0.88	0.35	0.99	1.84
CV (%)	0.58	2.77	5.54	7.40	4.16
SE (%)				3.44	7.84
TE (%)				15.65	14.70

M: mmol/L; SD: standard deviation; CV: coefficient of variation; SE: standard error; TE: total error.

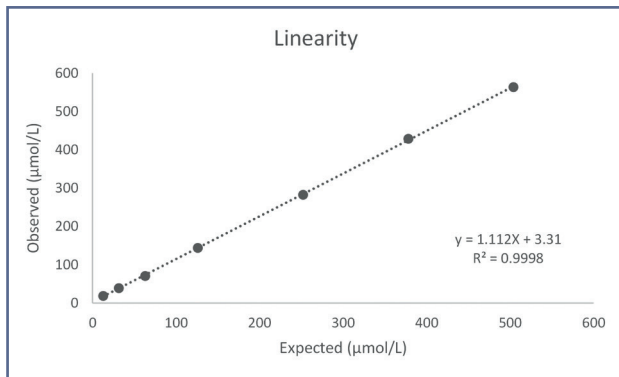


Figure 1

The simple linear regression analysis describes a slope = 0.298 and a y-intercept = 225.2. The instrument responds adequately to the standard addition of the analyte. Dilution effect from diluted urine samples was negligible (< 15 %) for overall concentrations tested by the modified assay (Fig. 2), and recoveries obtained ranged from 112-150 %, (mean  $\pm$  standard deviation:  $119 \pm 9$  %).

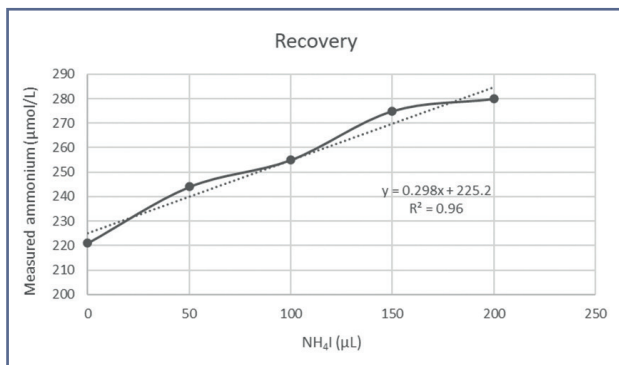


Figure 2

## DISCUSSION AND CONCLUSION

In this study, the adaptation of an automated method for plasma ammonium quantification to measure ammonium in urine samples using the Beckman Coulter DXC700AU analyser is reported for the first time. This provides a simple, fast, precise and accurate method that has been validated for assessing the urinary ammonium concentration in routine laboratory work. The obtained results meet the quality specifications established by our laboratory and are consistent with method validation results on other analysers (9,13). In addition, the reported linearity as a function of dilution of the plasma technique is 10-600 µmol/L, which is consistent with our results.

In the process of adapting or modifying analytical methods, their validation is a fundamental step to en-

sure the reliability of the results. However, results obtained by different methods often differ, especially when laboratories using manual techniques switch to automated ones. For this reason, it is advisable to carry out a correlation study between methods to evaluate their agreement. When they differ, laboratory reports should be modified by introducing new reference values.

One of the main advantages that supports the use of automated systems in clinical laboratories is the analytes' quantification in a more simple, fast, accurate, economical and standardized way compared to manual techniques, which are more complex, time-consuming and sometimes risky (8-10). In the case of Nessler method, previously used in our laboratory, potassium tetraiodomercuriate (II) ( $K_2HgI_4$ ) and potassium hydroxide (KOH) solutions were highly toxic by inhalation and skin contact and have a risk of cumulative effects, severe burns and negative environmental impact (12), entailing an additional hazard for laboratory staff. According to the Commission Directive 2000/39/EC and its subsequent adaptation in Spanish law (Real Decreto 374/2001, de 6 de abril), it is mandatory to avoid the handling of toxic substances whether it is technically possible. As so, when automatic methods are available and have been validated, the use of manual techniques and toxic reagents should be abandoned.

Despite its usefulness in the diagnosis of renal tubular acidosis, most providers do not include urine as a validated sample for ammonium quantification. This specimen generally involves additional considerations. Firstly, urinary ammonium concentrations are approximately 1000-fold higher than those in plasma. Consequently, urine samples and daily quality controls must be diluted after centrifugation and supernatant separation prior analysis. Secondly, ureolytic bacteria growth must be prevented by refrigerating the samples, as it can produce significant false positives in urinary ammonium levels (6). Finally, it is recommended to collect urine samples under paraffin to avoid contamination and spurious elevations of ammonium levels from precursors such as glutamine (13). Recent studies have demonstrated that ammonium concentrations are stable if urine samples are collected in no additive tubes and stored < 24 hours at room-temperature or < 7 days at 4 °C (6,9). As so, it seems the trueness of ammonium measurement is not adversely influenced neither for the method of collection nor for the storage.

In conclusion, in this study, the automatic diluted urine ammonium assay, adapted from the ammonia assay on an DXC700AU analyser demonstrated its operational validity. This fully automated technique is simple and fast and can be used routinely. The main interest of the ammonia assay is to have precise values of the acid load elimination during urine acidification tests in order to make the diagnosis of renal tubular acidosis. Estimation by calculation of various indices is not sufficient to show minor variations, so assay is essential. A simple, rapid and accurate assay helps to reduce the workload of laboratory technicians and to simplify and improve patient care.

## REFERENCES

1. Weiner ID, Verlander JW. Role of NH<sub>3</sub> and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> transporters in renal acid-base transport. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011;300:11-23.
2. Pourafshar N, Pourafshar S, Soleimani M. Urine Ammonium, Metabolic Acidosis and Progression of Chronic Kidney Disease. *Nephron* 2018;138:222-8.
3. Weiner I, Verlander J. Ammonia Transporters and Their Role in Acid-Base Balance. *Physiol Rev* 2017;97:465-94.
4. Raphael KL, Carroll DJ, Murray J, Greene T, Beddhu S. Urine Ammonium Predicts Clinical Outcomes in Hypertensive Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 2017;28:2483-90.
5. Walsh PA, O'Donovan DJ. Potential errors in the determination of urinary ammonium by formol titration. *Clin Chem Lab Med* 2016;54:293-5.
6. Ha LY, Chiu WW, Davidson JS. Direct urine ammonium measurement: time to discard urine anion and osmolar gaps. *Ann Clin Biochem* 2012;49:606-8.
7. Guzmán LK, Ruiz Pecchio AM, Munizaga M, Ponte MG, Meunier EG, Canzonieri RA, et al. Amoniuria, gap urinario y osmolal en pacientes con insuficiencia renal moderada [Amoniuria, urinary gap and osmolal in patients with moderate renal insufficiency]. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba* 2012;69:150-5.
8. Katagawa K, Nagashima T, Inase N, Kanayama M, Chida M, Sasaki S, et al. Urinary ammonium measurement by the auto-analyzer method. *Kidney Int* 1989;36:291-4.
9. Cardo L, Gil-Peña H, García-García M, Fernández JC, Santos F, Álvarez FV. Implementation of an automated method for direct quantification of urinary ammonium. *Clin Chem Lab Med* 2019;57(8):203-5.
10. Senthilkumaran S, Jena NN, Jayaraman S, Menezes RG, Thirumalaikolundusubramanian P. Direct urine ammonium measurement in metabolic acidosis: time to move on. *CJEM* 2014;16(6):436.
11. Bingham SA, Williams R, Cole TJ, Price CP, Cummings JH. Reference values for analytes of 24-h urine collections known to be complete. *Ann Clin Biochem* 1988;25:610-9.
12. Vogel AI. *Química Analítica Cualitativa [Vogel's textbook of quantitative chemical analysis]*. Buenos Aires (BA): Kapelusz; 1953.
13. Szmidt-Adjidé V, Vanhille P. Ammoniuries: validation d'une technique de dosage enzymatique et évaluation par rapport à une estimation par le calcul [Urinary ammonium: validation of an enzymatic method and reliability with an indirect urine ammonium estimation]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2008;66(4):393-9.



