

Evaluación del control de calidad de electroforesis de hemoglobina en el Programa de hemoglobinopatías (2009-2019)

Evaluation of the Quality Control of Hemoglobin Electrophoresis in the Hemoglobinopathies Program (2009-2019)

Yadira Valdés Fraser^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-2585-3208>

Alina Concepción Álvarez¹ <https://orcid.org/0000-0001-6161-5998>

Tatiana Acosta Sánchez¹ <https://orcid.org/0000-0002-8442-8391>

Sandra Bárbara Correa Jiménez¹ <https://orcid.org/0000-0002-2310-6831>

¹Centro Nacional de Genética Médica. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: yadirav@cngen.sld.cu; yadiravf@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: El Centro Nacional de Genética Médica implementó el control de calidad externo de electroforesis de hemoglobina en el programa de hemoglobinopatía en la Red Nacional de Genética en el año 2009. La implementación de este control conlleva a evaluar la exactitud analítica del laboratorio, comparando resultados obtenidos de una misma muestra entre el laboratorio de referencia y los laboratorios provinciales.

Objetivo: Describir los resultados del control de calidad externo de electroforesis de hemoglobina y la frecuencia de variantes genotípicas en el programa de hemoglobinopatía, período 2009-2019.

Métodos: Se realizó un estudio observacional descriptivo y transversal, empleando datos estadísticos del Registro de control de calidad. Se procesaron mensualmente entre 5 y 15 muestras de sangre con ácido etilendiaminotetraacético por provincias, seleccionadas por un método aleatorio simple. El equipo HYDRASYS 2 se utilizó en el análisis de variantes de

hemoglobinas y talasemias. La evaluación del programa se realizó con los criterios: muestras rechazadas (etapa preanalítica), muestras procesadas y positivas (etapa analítica), muestras discrepantes en los resultados (etapa postanalítica).

Resultados: Se recibieron 10 370 controles, se procesaron 10 090. El 2,8 % de las muestras fueron rechazadas. En 3 477 de los controles se apreció una variación en la estructura, cantidad y/o función de la molécula de la hemoglobina. De las muestras analizadas 1,2 % presentó discrepancia en los resultados.

Conclusiones: El control de electroforesis demostró resultados satisfactorios, aunque algunos laboratorios no cumplieron algún procedimiento o criterio de las fases evaluadas. Se confirmó que la variante genotípica más frecuente en Cuba es la hemoglobinopatía AS.

Palabras clave: control de calidad; electroforesis; hemoglobinopatías.

ABSTRACT

Introduction: The National Center for Medical Genetics implemented the external quality control of hemoglobin electrophoresis in the hemoglobinopathy program in the National Genetics Network in 2009. The implementation of this control leads to evaluating the analytical accuracy of the laboratory, comparing results obtained from the same sample between the reference laboratory and the provincial laboratories.

Objective: To describe the results of the external quality control of hemoglobin electrophoresis and the frequency of genotypic variants in the hemoglobinopathy program, period 2009 - 2019.

Methods: A descriptive and cross-sectional observational study was carried out, using statistical data from the Quality Control Registry. Random samples (5 and 15) of blood with EDTA were processed monthly by province. The HYDRASYS 2 equipment was used in the analysis of hemoglobin variants and thalassemias. The evaluation of the program was performed: rejected samples (pre-analytical phase), processed and positive samples (analytical phase), discrepant samples in the results (post-analytical phase).

Results: 10 370 controls were received, 10 090 were processed and 2.8% of the samples were rejected. In 3477 controls, a variation in the structure, quantity and / or function of the

hemoglobin molecule was observed. 1.2% of the analyzed samples presented discrepancies in the results.

Conclusions: The electrophoresis EQC showed satisfactory results, despite the fact that some evaluated laboratories do not comply with all the procedures and criteria of the phases evaluated in the diagnosis of hemoglobinopathy. It is confirmed that the most frequent genotypic variant in Cuba is AS hemoglobinopathy.

Keywords: quality control; electrophoresis; hemoglobinopathies.

Recibido: 28/03/2022

Aceptado: 05/06/2022

Introducción

Las hemoglobinopatías son defectos genéticos de carácter hereditario, que tienen como efecto una variación en la estructura, cantidad y/o función de la molécula de hemoglobina (Hb).⁽¹⁾

El programa cubano de anemias por hematíes falciformes o hemoglobinopatía se inició en 1982, basándose en la pesquisa de variantes de Hb a través del estudio de electroforesis de Hb (EHb) a todas las embarazadas en la atención primaria de salud. Este programa tiene como principal misión la detección de parejas de alto riesgo, preconcepcionalmente o en etapas tempranas del embarazo. A partir de los resultados obtenidos del estudio, la pareja recibe asesoramiento genético y decide su conducta reproductiva en relación al embarazo en curso, en dependencia de la severidad clínica.⁽²⁾

En Cuba, el análisis de electroforesis de Hb se realiza a través del equipo Hydrasys 2. La adquisición en el año 2007, de un nuevo equipamiento de la firma Comercial SEBIA en el Centro Nacional de Genética Médica (CNGM), permitió optimizar los resultados del programa y establecer un sistema de Control de Calidad Externo (CCE) de la EHb.

En Cuba, el diagnóstico de las variantes de Hb se encuentra disponible a lo largo del país en las 16 provincias existentes como parte de los servicios de la atención primaria de salud perteneciente a la Red Nacional de Genética Médica. Al contar con varios laboratorios y personal diferente, las determinaciones pueden estar sometidas a múltiples fuentes de error, que pueden evitarse o no y en su conjunto determinan la calidad del análisis.⁽³⁾ Cada laboratorio para controlar estos errores establece su sistema de calidad sobre la base de las buenas prácticas de laboratorio y los procedimientos de control interno. Además, se incorpora un CCE que involucra a todos los laboratorios, se designa un centro coordinador que diseña, organiza y coordina el estudio en sus diferentes etapas, desde la preparación de la muestra hasta la evaluación y retroalimentación de los resultados.^(4,5)

El avance biomédico general de los estados de salud y enfermedad han requerido que el laboratorio de análisis clínico profundice estrategias de control de los procesos. Las principales estrategias van encaminadas a obtener resultados sólidos y confiables en beneficio de los médicos y pacientes. Para ello se implementa el aseguramiento de calidad en las etapas preanalítica, analítica y postanalítica del proceso.

En Cuba, el “Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos” del Ministerio de Salud Pública en su Regulación 3/09, plantea que los laboratorios de análisis clínicos tienen la responsabilidad de implementar un sistema de gestión de la calidad con el fin de asegurar que los resultados obtenidos sean confiables para el uso clínico previsto, y así contribuir a un adecuado diagnóstico, tratamiento, evolución y rehabilitación del paciente.⁽⁶⁾

La implementación del CCE realizada en CNGM en el año 2009, por el grupo de trabajo de calidad tiene como objetivo evaluar la exactitud analítica del laboratorio, mediante la comparación de resultados obtenidos al procesar una misma muestra con los resultados de otros laboratorios con características semejantes.

El Control de Calidad Externo analiza cada etapa del proceso del programa (preanalítica, analítica y postanalítica) en los laboratorios de toda la Red Nacional de Genética. Este sistema ayuda a detectar, reducir y corregir posibles deficiencias analíticas antes de emitir un resultado de Ehb.

Las comparaciones de resultados permiten evaluar el trabajo de todos los laboratorios implicados y determinar problemas tanto en el desempeño del personal como instrumental. Teniendo en cuenta la repercusión del CCE este trabajo tuvo como objetivo, describir los resultados del control de calidad externo de electroforesis de hemoglobina y la frecuencia de variantes genotípicas en el programa de hemoglobinopatía, período 2009-2019.

Métodos

Programa de control externo de la calidad en el programa de hemoglobinopatía

El programa establecido para el control externo de la calidad en el Laboratorio de electroforesis de Hb, formó parte de la implementación del Sistema de Gestión de Calidad realizado por el grupo de calidad del CNGM.

El estudio describió la implementación del programa de control externo de la calidad a través de un estudio observacional descriptivo, transversal con el uso de datos estadísticos recogidos en el Registro de Control de Calidad de EHb del CNGM. El estudio fue propuesto y aprobado por el Comité de Ética y el Consejo Científico del CNGM.

Etapa preanalítica

Los estudios para el control externo de calidad de electroforesis de Hb fueron enviados de todas las provincias del país.

Se recibieron mensualmente por cada provincia, un número de muestras (5-15). La selección se realizó por método aleatorio simple por el laboratorio de electroforesis de los centros provinciales.

Las muestras fueron de individuos sanos e individuos portadores de alguna variante.

La recepción se realizó por el departamento de Asistencia Médica del centro y se incluyó un documento con las variantes de Hb de cada una de las muestras enviadas, las cuales eran desconocidas para el laboratorio.

En los modelos de indicación del estudio se incluyó: código de identificación igual al tubo de análisis, nombre y apellido del paciente, número de identificación personal, sexo, edad, nombre del médico, área de salud, dirección, provincia y modelos de curvas electroforéticas. Se recibieron muestras entre los primeros 20 días del mes, pues este fue el tiempo establecido para el estudio de control de calidad en el CNGM.

Etapa analítica

Las muestras recibidas como parte del control externo de calidad se procesaron en el laboratorio de electroforesis de Hb del CNGM con el equipo Hydrasys 2. Se realizaron dos determinaciones, el análisis de la variante de Hb y la determinación de talasemias.

Muestras

Se emplearon todas las muestras de sangre seleccionadas (n=10 090) en 16 provincias del país por concepto de control de calidad (controles positivos y negativos) para el estudio de Ehb como parte del programa de hemoglobinopatía entre los años 2009-2019.

Las muestras de sangre total se recogieron entre 2-3 mL por punción venosa en un vial con 50 µL con una gota de anticoagulante (EDTA al 10 %). Se conservaron a una temperatura entre 4-8 °C hasta su análisis.

La extracción se realizó por el personal calificado en laboratorio clínico a mujeres embarazadas (primer trimestre de la gestación) y a sus esposos en todos los policlínicos del país como parte de los protocolos del programa.

Determinación de la variante de Hb

Los glóbulos rojos de las muestras recolectadas se lavaron 3 veces con 1 mL de solución salina de NaCl al 0,9 % y se hemolizaron con 130 µL de solución hemolizante (HYDRAGEL 15 HEMOGLOBIN (E)).

Las muestras hemolizadas (10 µL) se colocaron en la cámara húmeda durante 5 min antes de procesar en el equipo.

La corrida electroforética se llevó a cabo en un equipo semi-automatizado HYDRASYS 2 (Sebia, Francia).

El análisis incluyó el uso de geles de agarosa pre-empacados con pH alcalino de 8,5 (kit HYDRAGEL 15 HEMOGLOBIN (E)) para la detección de las Hb normales (Hb A y Hb A₂) y las principales variantes (Hb: S o D y C o E). Además, se utilizó geles de agarosa con pH ácido de 6,0 (kit HYDRAGEL 7 ACID (E) HEMOGLOBIN (E)) para la confirmación e identificación de las variantes de la Hb y, en particular diferenciar la Hb S de la Hb D y la Hb E de la Hb C.

En todos los geles se colocó un control interno liofilizado (patrón de migración Hb: AFSC REF 4792) suministrado por Sebia (Francia) que permitió identificar cada variante según su movilidad. Para la tinción de las bandas de Hb en ambos geles se empleó el colorante negro amido. Las separaciones electroforéticas obtenidas se evaluaron visualmente según el patrón de migración.

Determinación de talasemias

La cuantificación de las Hb se realizó por densitometría a 570 nm de longitud de onda, proporcionada por el programa Phoresis Sebia; donde el barrido densitométrico de los electroforetogramas teñidos proporciona las concentraciones relativas (porcentajes) de las fracciones individuales de Hb.

El diagnóstico de las talasemias se realizó a partir de las concentraciones de la Hb A₂ y Hb F. Niveles de porcentaje de Hb A₂ y Hb F, superiores a 3,5 % y 2 %, respectivamente, se consideró como β -talasemia.

A su vez, se determinó como α -talasemia si el porcentaje de HbA₂ era inferior a 1,8 %, en las muestras analizadas. En este caso se emplearon los controles internos Hb A₂ Patológico REF 4779, Control Hb A₂ Normal REF 4778 y Hb AF REF 4777 suministrados por Sebia (Francia).

Determinación de la frecuencia de las variantes de Hb

La frecuencia de hemoglobinopatías por variante de hemoglobina se determinó a partir de la fórmula:

$$F_{Hb}: F_{Hb} = V_{Hb} / CP \times 100$$

Donde F_{Hb} : frecuencia por variante de Hb, V_{Hb} : total de tipo de variante de hemoglobinopatía en los controles por año; CP: total de controles procesados por año)

Etapa postanalítica

Una vez procesadas las muestras en el laboratorio, los resultados se entregaron a la persona encargada de llevar en el departamento de Asistencia Médica las comparaciones de los resultados de las muestras procesadas. Finalmente se emitió un informe que recoge las concordancias o discrepancias entre los resultados comparados.

Criterios de evaluación del programa

Para evaluar los criterios y/o indicadores de cada etapa se realizaron visitas previas a los laboratorios participantes y se capacitó al personal involucrado en los temas referentes al control externo de calidad. Las condiciones generales del laboratorio, equipos e insumos necesarios a emplear en el programa se verificaron.

La evaluación del programa se realizó a partir de criterios como muestras rechazadas (etapa preanalítica), muestras procesadas y muestras positivas (etapa analítica), muestras con discrepancia en los resultados (etapa postanalítica).

Resultados

La implementación del programa de control externo de la calidad en el Laboratorio de electroforesis de Hb, establecido desde 2009, ha permitido la recepción de 10 370 muestras por concepto de CCE, durante el período 2009-2019.

Del total de muestras recibidas se procesaron 10 090. Se rechazaron 280. Se alcanzó 97,2% de eficacia de muestras procesadas con respecto a las recepcionadas. Todas las muestras recepcionadas contenían la codificación correcta en los tubos y los modelos de indicación toda la información para el estudio (nombre y apellido del paciente, número de identificación personal, sexo, edad, nombre del médico y área de salud). De ellas, el 68,8 % llegó en el tiempo establecido con las curvas electroforéticas características para cada una (Fig. 1).

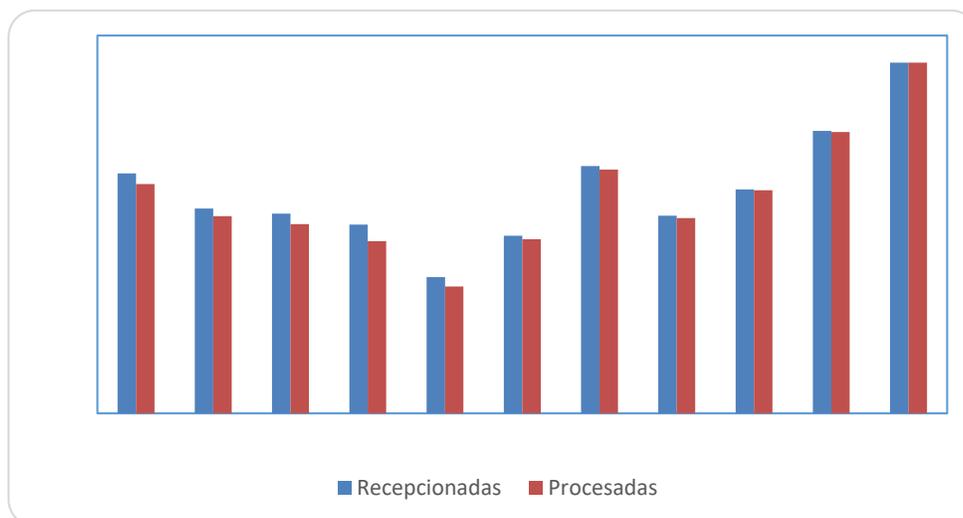


Fig. 1 – Muestras recepcionadas y procesadas como parte del programa de control de calidad externo. Período 2009-2019.

Las muestras rechazadas oscilaron entre 5 y 24. El porcentaje global medio del período representó 2,8 % del total de muestras recepcionadas por concepto de control de calidad. El único año sin muestras rechazadas fue 2019 (Fig. 2).

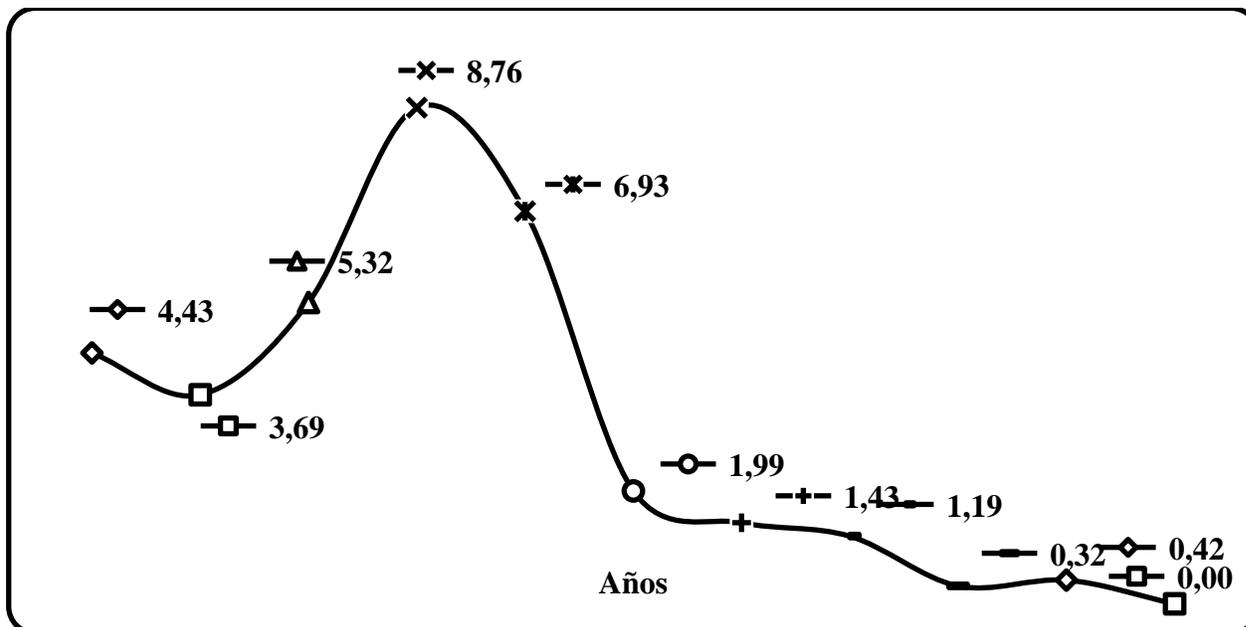


Fig. 2 –Muestras rechazadas (%) como parte del control de calidad de electroforesis de Hemoglobina Período 2009-2019.

De las muestras rechazadas, 1,3 % correspondieron a muestras coaguladas, mientras que 0,6 % estuvo asociado a viales o contenedores con muestras insuficientes. Además, se detectó que 0,9 % de estas muestras se rechazaron por inadecuadas proporciones y/o mal empleo de anticoagulantes/muestras.

Diferentes variantes de Hb se observaron durante el análisis de los controles estudiados. De un total de 10 090 muestras procesadas, 3 477 (34,45 %) presentaron variación en la estructura, cantidad y/o función de la molécula de la Hb.

La frecuencia obtenida para cada tipo de variante genotípica de hemoglobinopatías y los casos estudiados por años se muestran en la Tabla.

Tabla -Variantes genotípicas y frecuencia de hemoglobinopatías de los casos estudiados por años.
 Período 2009-2019

Variante Genotípica	Total de variantes detectadas en años estudiados											Frecuencia (%)
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	
AS	216	202	195	163	112	187	207	190	223	345	456	24,76
AC	65	57	66	48	33	50	61	43	68	93	105	6,83
Talasemias	0	0	0	0	0	2	13	17	6	13	11	0,61
SC	7	3	4	0	1	4	7	8	3	5	8	0,50
AD	0	0	0	0	0	1	2	8	7	14	16	0,48
A+F	0	0	1	0	5	5	7	6	7	10	6	0,47
SS	5	2	2	2	1	2	7	4	1	2	4	0,34
VR	2	0	1	0	0	0	0	3	4	2	3	0,15
SS+F	0	0	0	0	2	0	0	0	5	5	1	0,13
CC	0	0	0	0	0	0	1	2	2	1	1	0,09
AS+F	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	0,05
DD	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2	0,04
DC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0,02
AC+F	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0,01

El número total de controles con variante S en su forma heterocigoto alcanzó los 2 553, mientras que 742 presentaron una hemoglobinopatía de Hb C en estado heterocigoto y 9 homocigotos. Además, se observó 47 casos con hemoglobina S en su forma homocigota y 178 controles con presencia de diferentes tipos de hemoglobinopatías.

Las variantes fenotípicas con mayor frecuencia detectadas fueron AC y AS, seguidas por las talasemias. En estas últimas, los casos diagnosticados como β -talasemia, presentaron niveles de 3,8 % y 8,2 % de Hb A₂.

La comparación de los estudios realizados en los laboratorios de electroforesis de Hb del CNGM y centros provinciales participantes en el programa mostró un total de 123 (1,2 %) resultados discrepantes durante los 10 años evaluados. De ellos, en el año 2012 se observó el mayor número de resultados discordantes (24), mientras que en los años 2010 y 2015 solo 5 (Fig. 3).

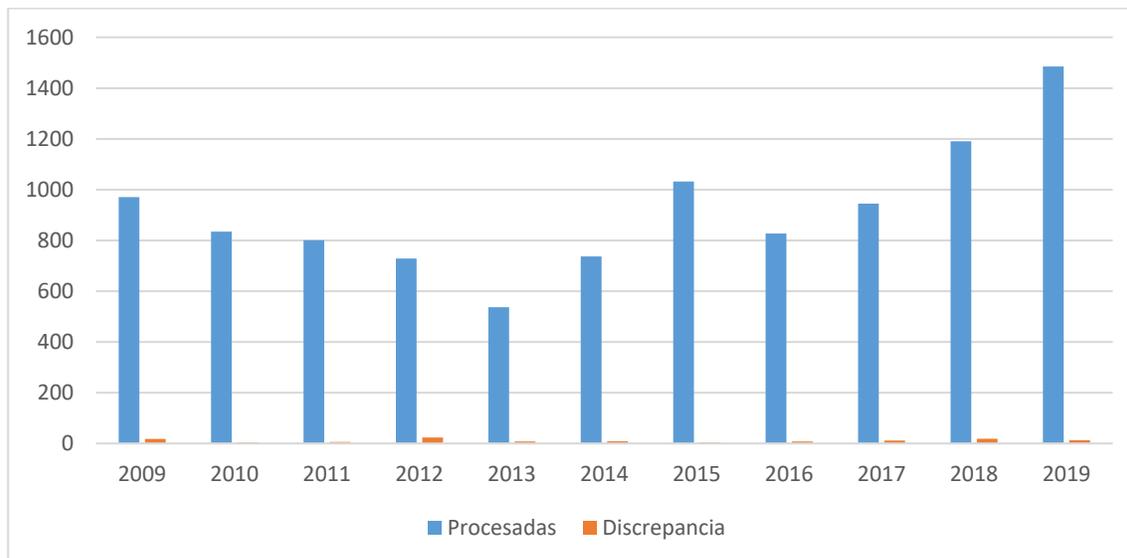


Fig. 3 –Total de muestras estudiadas y resultados discordantes entre laboratorios. Período 2009-2019.

Discusión

El control de la calidad en el laboratorio clínico tiene la función de detectar errores sistemáticos, identificar las posibles fuentes de error y asegurar la utilidad de los resultados, pues la mayor parte de las decisiones clínicas depende de estos.

Durante el período evaluado, en todos los laboratorios implicados en la Red Nacional del país en lo que respecta a la fase preanalítica del programa, todos contaron con los modelos de indicación para el estudio de las muestras; cumpliéndose con lo establecido por el *PNO-AM 007 Metodología para la solicitud de estudio de electroforesis de hemoglobina* del CNGM. De esta manera se garantizó toda la información necesaria para conformar las bases de datos teniendo en cuenta los indicadores del programa.

La garantía del CCE incluye también los procesos no analíticos del laboratorio, que sin lugar a duda influyen en la calidad del resultado final del paciente.

El alto porcentaje de eficacia alcanzado al analizar las muestras procesadas con respecto a las recepcionadas está dado por la calidad físico-química de las muestras recibidas. Además, se consideró satisfactorio por encontrarse por encima del 95 % ya que el impacto de los

errores de los servicios diagnósticos, entendiéndose como tales los de laboratorio, pueden situarse cerca del 5 %.⁽⁷⁾

El análisis del indicador principal (muestras rechazadas) de la fase pre-analítica (Fig. 2) mostró una disminución del mismo a medida que transcurrieron los años. Este indicador suministra información sobre el rendimiento del proceso completo de obtención, transporte y recepción de muestras.

Los errores detectados en esta fase incluyeron las muestras coaguladas, viales o contenedores con muestras insuficientes y las inadecuadas proporciones y/o mal empleo de anticoagulantes/muestras. Estos últimos errores coinciden con los detectados por *Plebani* y *Carraro* en 1997 en un laboratorio del Hospital Universitario de Padua, Italia; mediante el seguimiento de cuatro departamentos diferentes (medicina interna, nefrología, cirugía y unidad de cuidados intensivos) durante 3 meses para un total de 40 490 análisis. Los autores en ese estudio reportan que observaron el error de identificación del paciente, la procedencia errónea en el modelo de indicación y muestras contaminadas.

Los errores encontrados en nuestro estudio no implicaron complicaciones para la vida del paciente, mientras que *Plebani* y *Carraro*, encontraron que el 26 % de los casos tuvieron efecto grave sobre el paciente.^(8,9)

Otros estudios realizados en el Hospital “San Rafael”, Milán, Italia, observaron muestras hemolizadas, insuficientes, incorrectas, coaguladas y tubos recibidos vacíos, siendo estos últimos los más frecuentes.⁽⁷⁾ No obstante, en la mayoría de los estudios se mantiene la tendencia a la mayor incidencia de errores en la fase preanalítica.

El impacto de los errores encontrados en nuestro estudio en el CCE, implicó a no realización del análisis confirmatorio de las muestras, la repetición del estudio, gasto de reactivos y materiales gastables y un retraso del resultado final.

Se observó un aumento apreciable en el 2012 debido se estableció en Cuba a partir de este año, una nueva división político-administrativa, a la que se incorporaron dos nuevas provincias (Artemisa y Mayabeque). Esta división condujo a que se habilitaran nuevos laboratorios, recursos humanos y equipamiento en el programa de hemoglobinopatía, dificultando en un inicio la calidad físico-química de las muestras.

Las muestras coaguladas tuvieron un aumento considerable en el primer semestre del año debido a que no todas las áreas de salud disponían del anticoagulante EDTA y por tanto emplearon otros anticoagulantes menos estables para el estudio de Ehb.

En el año 2012 también el aumento de rechazos se debió por demora y calidad en la transportación de las muestras (temperatura superior a los 8 °C) hacia la provincia de La Habana.

La etapa analítica del CCE confirmó que la variante genotípica AS es la de mayor frecuencia (24,76 %) en las muestras estudiadas. Los resultados están en correspondencia con diferentes estudios poblacionales y de pesquisa realizados en varias regiones de Cuba, Brasil, Colombia y Venezuela.

La alta incidencia de esta hemoglobinopatía se debe a la mezcla racial y al alto componente africano proveniente de diferentes regiones de África e introducido durante la colonia con la llegada de los esclavos a América.^(10,11)

La anemia falciforme es la enfermedad genética más frecuente en Cuba. La frecuencia de heterocigotos para la Hb S es 13,25 % en individuos con piel negra, 0,65 % con tez blanca, y 3,085 % para la población general.^(12,13)

Todos los resultados se diagnosticaron por electroforesis de Hb en geles de agarosa; herramienta específica diseñada dentro del Programa de Anemias Falciformes, que proporciona un resultado cualitativo o cuantitativo de las Hb, demostrando la utilidad de la confirmación del soporte ácido.⁽¹³⁾ Esta técnica se realizó en todas las muestras controles, lo que ofreció ventajas operativas: mínima cantidad de muestra, realización de soluciones precisas, lavado de eritrocitos, rapidez y automatización de la técnica de electroforesis.

Las frecuencias de Hb más elevadas encontradas en este estudio se asociaron a pacientes portadores de Sicklemia con las variantes genotípicas de AS y AC (Tabla 1). Estos resultados están en correspondencia con diferentes estudios poblacionales que se han realizado en el país.⁽¹³⁾

En el programa de hemoglobinopatía a través del CCE se apreció que en la región oriental se encuentra la mayor incidencia de las hemoglobinopatías en el país, seguido de la occidental y con mucha menos frecuencia la región central, diferencias dadas por el mayor asentamiento

en la región oriental de esclavos de regiones del África durante la colonia⁽²⁾ incorporando así la frecuencia génica gradualmente.

Otro factor que determina la frecuencia de Hb en esta región es la formación de parejas a través de lo que se conoce como unión avenida. Esta es la tendencia de los sujetos humanos a elegir parejas con las que comparten algunas características como el origen étnico y el color de la piel por lo que el riesgo de que se formen parejas a partir de portadores sanos es mayor.⁽¹⁴⁾ Este comportamiento de unión avenida se ha visto distribuido en el país lo cual ha sido motivo de estudios genéticos ancestrales en Cuba para identificar patrones de distribución geográfica del mestizaje étnico en todas las regiones.⁽¹⁵⁾

En el estudio confirmatorio con el empleo del gel de agarosa a pH ácido se confirmaron variantes Hb D, poco frecuente en el país. (Tabla 1) La Hb D ocurre debido a la sustitución de una glutamina por ácido glutámico en el codón 121 del gen de la β -globina. El origen antropológico de esta variante es similar al observado para la Hb S nativa de África, con variantes fuera de ese continente, particularmente los holotipos indoasiático y saudí árabe.⁽¹⁶⁾

La confirmación de hemoglobinopatías cuantitativas (talasemias) a través de la cuantificación de los perfiles de Hb A₂ y Hb fetal, demostró que existen además de la Sicklemia otras hemoglobinopatías (Beta \uparrow A₂, S/B⁺, S/B⁰) en el país.

Las talasemias identificadas confirman que se deben continuar cuantificando las hemoglobinas A₂ y fetal siempre que se observen algún aumento en las bandas electroforéticas (correspondientes a ellas) en gel alcalino; para así obtener su prevalencia en cada provincia para estudios posteriores.

Durante este estudio no se lograron identificar 15 variantes raras sin comprometer la calidad de vida del paciente, ni el feto, debido a la falta de disponibilidad de otras técnicas específicas como la electroforesis capilar y estudios moleculares.

El análisis de la etapa postanalítica estuvo centrado en los resultados discrepantes entre el laboratorio principal del CNGM y los restantes laboratorios de las provincias que componen la Red Nacional (Fig.3). En este sentido un porcentaje menor del 2 % del total de muestras presentaron resultados diferentes.

En el número de muestras discrepantes se pudo identificar que el error provino de los laboratorios de los centros provinciales y que la causa fundamental estuvo asociada a la no confirmación de las variantes genotípicas AD, DD y DC en gel de agarosa a pH ácido por parte de los laboratorios provinciales. La Hb D migra al mismo nivel de la Hb S en gel alcalino, pero a pH ácido ambas se separan por lo cual se pueden confirmar con facilidad.

En los informes finales de resultados al 50,4 % de las muestras no se les determinó la cuantificación de la Hb A₂ en los laboratorios de la red, lo cual provocó la incongruencia entre los resultados.

Es bueno destacar que la cuantificación de la A₂, en todos los casos se encontró elevada, superior al límite establecido para el diagnóstico final de β -talasemia. Este incremento de la concentración de la Hb A₂ (>3,5 %) es debido a un aumento en la síntesis de cadena delta (δ) como consecuencia en el gen *HBB* subunidad β encontrado en el cromosoma 11 del genoma humano. Algunos autores reportan que al apreciar o detectar un aumento de esta hemoglobina por encima de los 8,5 % siempre hay que sospechar de la presencia de alguna variante y no de una β -talasemia.⁽¹⁷⁾

Los resultados restantes con discrepancia estuvieron relacionados con problemas cometidos por los analistas al transcribir los modelos de informe final de resultado y al intercambiar resultados de las muestras en dichos modelos. A pesar de estos errores identificados, los modelos se emitieron en el tiempo establecido, presentando las curvas electroforéticas y el código de identificación de la muestra.

Los licenciados en Laboratorio Clínico cumplieron entregando mensualmente todos los resultados en el tiempo establecido, según *PNO-AM.007 Metodología para la solicitud de estudio de electroforesis de hemoglobina*. del CNGM. No obstante, se observó que existe falta de conocimiento en la cuantificación de la Hb A₂ en el informe postanalítico de los resultados. Por estos motivos se realizó una capacitación personal involucrado en el programa de CCE.

La descripción y análisis del control de calidad de electroforesis de Hb en el programa de hemoglobinopatías en el período 2009-2019, permitió conocer cómo trabaja cada laboratorio involucrado en el programa en nuestro país.

Se confirma que la variante genotípica más frecuente en Cuba es la hemoglobinopatía AS. Las principales deficiencias en las tres etapas del proceso del control de calidad fueron identificadas, lo que hace necesario aplicar nuevas medidas en virtud de ofrecer una mejor calidad en los servicios y resultados del paciente.

Los errores encontrados no presentaron problemas graves para la salud del paciente. El control de calidad externo de Ehb demuestra resultados satisfactorios, a pesar que algunos laboratorios evaluados no cumplen con todos los procedimientos de las fases pre-analítica, analítica y post-analítica del diagnóstico de hemoglobinopatía. Teniendo en cuenta estos resultados, proponemos para próximas evaluaciones del programa del CCE de hemoglobinopatía la necesidad de establecer indicadores de eficacia y desempeño para realizar un mejor análisis en cada uno de los laboratorios que pertenecen a la Red Nacional de Genética en Cuba.

Referencias bibliográficas

1. Degandt S, Coens R, Cauwelier B, Devos H, Langlois M, Emmerechts J. Evaluation of four hemoglobin separation analyzers for hemoglobinopathy diagnosis. J Clin Lab Anal 2018 [acceso 18/02/2021];32(1):e2224. Disponible en <https://doi:10.1002/jcla.22224>
2. Valdés Y, Pérez J, Fuentes I, Concepción A, Acosta T, Suárez B, Llacer Dailén, Correa Sandra B. Frecuencia de hemoglobinopatías en mujeres embarazadas del Programa de anemias por hematíes falciformes en Cuba. Rev Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia. 2021 [acceso 14/03/2021];37(1):e1338. Disponible en:http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892021000100010&lng=eS
3. Valdés O, Luna M, Lukse E. Pautas para estudio interlaboratorios de análisis químicos. Rev Cubana Aliment 1995 [acceso 05/11/2020];9(1):68-73. Disponible en:http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol9_1_95/ali11195.htm

4. ISO 5725:86 Precision of test methods. Determination of repeatability and reproducibility by interlaboratory test, 200? [acceso 05/03/2021]. Disponible en:<https://www.iso.org/standard/11832.html>
5. Laboratory of the Government Chemist. Guidelines for the development of standard methods by collaborative study. 3 ed. London: Cornwall House, 1987 [acceso 05/03/2021]. DOI: <https://doi.org/10.1002/food.19880320512>
6. Buenas prácticas de laboratorio clínico. Regulación No. 3/2009 del 2009. Centro para el control estatal de la calidad de los medicamentos, equipos y dispositivos médicos. 200? [acceso 05/03/2021]. Disponible en: <https://www.cccmed.cu/sites/default/files/adjuntos/ambitor/ambreg-90.pdf>
7. Bonini, P, Plebani, M, Ceriotti, F, Rubboli, F. Errors in laboratory medicine. Clin Chem. 2002;48:691-8. DOI: <https://doi.org/10.1093/clinchem/48.5.691>
8. Plebani, M, Carraro, P. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. Clin Chem. 1997;43:1348-51. DOI:<https://doi.org/10.1093/clinchem/43.8.13488>
9. Carraro, P. Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. Clin Chem 2007;53:1338-42. DOI:<https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.088344>
10. Martín Ruíz MR, Lemus Valdés MT, Marcheco Teruel B. El programa cubano de prevención de Anemia Falciforme. Resultados del periodo 1990-2005. Rev Cubana Genet Comunit. 2008 [acceso 20/01/2020];2(2). Disponible en: <http://bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v2n2/rcgc10208.htm>
11. Reis F, Branco R, Conceição A, Trajano L, Vieira J, Ferreira P, *et al.* Incidence of variant hemoglobins in newborns attended by a public health laboratory. Einstein (Sao Paulo). 2018;16(2):eAO4150. DOI:<https://doi:10.1590/S1679-45082018AO4150>
12. Taboada L, Gómez R, Algora H, Noa M, Arcas E, Noche G, *et al.* Resultados del Programa de prevención de hemoglobinopatías SS y SC en el periodo 1987-2007 en la provincia Villa Clara, Cuba. Rev Cub Gen. 2010 [acceso 21/01/2020];4(1):37-41. Disponible en:<http://bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v4n1/rgc070110.pdf>
13. Valdés Y, Pérez J, Fuentes I, Gámez G, Concepción A, Suárez B. Resultados del Programa de Prevención de Anemia Falciforme en el Centro Nacional de Genética Médica

- de Cuba (2008-2014). Rev Cubana Genet Comunit. 2016 [acceso 21/01/2020];10(1):36-40. Disponible en:<http://www.bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v10n1/060116.pdf>
14. Leyva O, Martínez A, Calvo M, Martín N, Rubinos A. Frecuencia de portadoras de hemoglobina S y C en gestantes de la provincia Guantánamo, 2005-2009. Rev Cubana Genet Comunit. 2010 [acceso 21/01/2020];4(3):54-6. Disponible en:<http://www.medigraphic.com/pdfs/revcubgencom/cgc-2010/cgc103i.pdf>
15. Marcheco B, Fuentes E, Marín L, Gómez E. Cuba: Estudio de la historia del mestizaje y de las bases genéticas de la pigmentación de la piel utilizando marcadores autosómicos y uniparentales. Ann Acad Cien Cuba. 2015;5(3):2016 [acceso 21/01/2020]. Disponible en:<http://www.revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/298>
16. Bouchán P, Coeto G, Rosenfeld F, Trueba R, Baptista H, Rivera M, *et al.* Identificación molecular de la hemoglobina D Punjab en dos familias. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2016 [acceso 07/06/2020];54(6):793-800. Disponible en:<https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2016/im166p.pdf>
17. Morales-Indiano C. Diagnóstico diferencial de las hemoglobinopatías. Ed Cont Lab Clin. 2016 [acceso 07/06/2020];28:53-71. Disponible en:<https://www.seqc.es/download/tema/13/4413/803351306/2167177/cms/tema-5-diagnostico-diferencial-de-las-hemoglobionopias.pdf>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Yadira Valdés Fraser.

Curación de datos: Yadira Valdés Fraser, Alina Concepción Álvarez, Tatiana Acosta Sánchez. Sandra Bárbara Correa Jiménez.

Análisis formal: Yadira Valdés Fraser, Alina Concepción Álvarez, Sandra Bárbara Correa Jiménez.

Investigación: Yadira Valdés Fraser.

Metodología: Yadira Valdés Fraser.

Supervisión: Tatiana Acosta Sánchez.

Redacción – borrador original: Yadira Valdés Fraser, Alina Concepción Álvarez, Tatiana Acosta Sánchez.

Redacción – revisión y edición: Yadira Valdés Fraser, Tatiana Acosta Sánchez.