

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTADO DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



**“COMPARACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA MEDICIÓN DE HEMOGLOBINA
UTILIZANDO EL MÉTODO HEMOCUE® CONTRA UN MÉTODO DE
REFERENCIA. TAMIZAJE COMO ESTUDIO PILOTO”**

JOSÉ MIGUEL ECHEVERRÍA BARILLAS

ALMA ILUSIÓN QUIROZ LOYO

QUÍMICOS BIÓLOGOS

GUATEMALA, ABRIL DE 2014.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTADO DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a large, circular emblem. It features a central shield with a figure on horseback, a crown above, and various heraldic symbols like castles and lions. The shield is surrounded by a circular border containing the Latin motto: "CETERA ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER".

**“COMPARACIÓN Y EVALUACIÓN DE LA MEDICIÓN DE HEMOGLOBINA
UTILIZANDO EL MÉTODO HEMOCUE® CONTRA UN MÉTODO DE
REFERENCIA. TAMIZAJE COMO ESTUDIO PILOTO”**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN
PRESENTADO POR

**JOSÉ MIGUEL ECHEVERRÍA BARILLAS
ALMA ILUSIÓN QUIROZ LOYO**

PREVIO A CONFERÍRSELES EL TÍTULO DE
QUÍMICOS BIÓLOGOS

GUATEMALA, ABRIL DE 2014.

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Manuel Cobar Pinto	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Lic. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal III
Br. Lourdes Virginia Nuñez Portales	Vocal IV
Br. Julio Alberto Ramos Paz	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

- A DIOS:** Por darnos la vida, las oportunidades y la fuerza para alcanzar esta meta.
- A NUESTROS PADRES:** Betza, Carlos y Alma, por su incondicional amor, apoyo y fortaleza en los momentos más difíciles a través de la carrera y esta investigación.
- A NUESTRAS FAMILIAS:** Hermanos, primos, tíos y abuelos, por acompañarnos y darnos ánimos en todo el camino.
- A NUESTROS AMIGOS:** Diana, Jorge, Claudia, Víctor, Karla, Astrid, y Andrea, por su apoyo en el desarrollo de esta investigación y a través de la carrera.
- A:** La Universidad de San Carlos de Guatemala, la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y la Escuela de Química Biológica, especialmente a nuestra asesora, Lda. Margarita Paz y nuestra revisora Lda. Karla Lange.

ÍNDICE

I. Resumen	1
II. Ámbito de la investigación	2
III. Introducción	3
IV. Antecedentes	4
A. Historia	4
B. Hemoglobina	5
C. Epidemiología	6
D. Fisiopatología de anemia	7
E. Diagnóstico	10
F. Tratamiento	11
G. Seguimiento	12
H. Tamizaje	12
I. Pruebas de determinación de hemoglobina	13
V. Justificación	21
VI. Objetivos	23
VII. Hipótesis	24
VIII. Materiales y métodos	25
A. Universo y muestra	25
B. Recursos	27
C. Metodología	29
D. Diseño estadístico	34
IX. Resultados	36
A. Muestra	36
B. Comparación de métodos	37
C. Plan piloto de tamizaje	40
X. Discusión de Resultados	45
A. Comparación de métodos	45
B. Plan piloto de tamizaje	48

XI. Conclusiones	54
XII. Recomendaciones	54
XIII. Referencias bibliográficas	55
XIV. Anexos	59
A. Formato de recolección de datos	59
B. Formato de reporte de resultados	60
C. Formato de boleta de resultados	61
D. Carta de presentación de estudio	62
E. Procedimientos Operativos Estandarizados	63

I. RESUMEN

La hemoglobina es una proteína intraeritocitaria responsable del transporte de oxígeno en el organismo. La determinación de su concentración en sangre es utilizada como indicador de muchas patologías, entre estas la anemia. Siendo la hemoglobina una proteína de gran importancia clínica, los métodos para detectarla y cuantificarla han sido ampliamente desarrollados. El método HemoCue® es un método espectrofotométrico portátil para cuantificar la concentración de hemoglobina de manera rápida en el punto de atención al paciente (point of care). En el presente estudio se realizó una comparación del método HemoCue® y el método de referencia Cianometahemoglobina para determinar la concentración de hemoglobina.

Se realizó una comparación del método HemoCue® para la cuantificación de hemoglobina contra el método de referencia (cianometahemoglobina), determinando la concordancia entre ambas metodologías, utilizando el coeficiente de correlación de concordancia (r_c) en muestras pareadas y calculando la sensibilidad y especificidad del método HemoCue® para el diagnóstico de anemia. Posteriormente se llevó a cabo un plan piloto de tamizaje, evaluando si existía una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones medias de hemoglobina de cinco conglomerados provenientes de diferentes poblaciones que representan condiciones patológicas o ambientales que inducen una variabilidad en las concentraciones de hemoglobina, determinada por el método HemoCue®.

Al comparar ambas metodologías se encontró una correlación de concordancia (r_c) de 0.989 ($p < 0.001$). Se determinó que el método HemoCue® posee una sensibilidad de 96.77% y una especificidad de 97.30%, con un índice Kappa de 0.932 ($p < 0.001$) para el diagnóstico de anemia.

Al comprobar que la concordancia entre ambas metodologías es muy buena, se puede concluir que la fiabilidad de las determinaciones de la concentración de hemoglobina realizadas por el método HemoCue® presentan la misma capacidad diagnóstica que la metodología de referencia.

II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

La medición de la concentración de hemoglobina en la sangre es esencial en las encuestas de salud y los estudios epidemiológicos, así como en el diagnóstico clínico y el tratamiento de pacientes con anemia. Esta medición es necesaria a todos los niveles de atención, tanto en los hospitales nacionales y regionales, institutos de investigación y los laboratorios clínicos ordinarios (Johns & Lewis, 1989). Sin embargo existe un gran déficit en los laboratorios de los centros de atención primaria de salud, en el área rural de nuestro país, donde ocurre la mayor incidencia de casos de anemia. Dentro del ámbito hospitalario, el laboratorio clínico se encuentra centralizado, lo cual conlleva a tiempos de espera prolongados para la obtención muchas de mediciones biométricas básicas sobre las cuales inferir los requerimientos médicos de los pacientes, como lo es la hemoglobina.

Para enfrentar estos problemas, en varios países se ha implementado el uso de equipos portátiles que puedan brindar resultados de manera confiable y rápida en condiciones donde se carece de un laboratorio clínico o en el sitio de atención (point of care) (Sari, de Pee, Martini, Herman, Sugiatmi, Bloem & Ray, 2001, p. 506-511; Bhaskaram, 2003, p. 25-28; Hudson-Thomas, Bingham & Simmons, 1994, p. 423-426). El HemoCue® Hb 301 es un sistema fotométrico portátil para la determinación de la hemoglobina en sangre, utilizando una muestra de 10 μL de sangre completa y sin necesidad de aplicar reactivos, que provee los resultados en 45-60 segundos (HemoCue® Hb 301 System, 2006). El sistema HemoCue® ha sido objeto de estudio en varios países con el fin de comparar y validar los resultados que provee versus las técnicas estándar de laboratorio, encontrándose una muy buena concordancia, sensibilidad y especificidad (Bhaskaram, 2003, p. 25-28; Hudson-Thomas y otros, 1994, p. 423-426).

La presente investigación se realizó en la Unidad de Investigación de Inmunología y Hematología, en el Departamento de Citología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

III. INTRODUCCIÓN

La hemoglobina es una proteína intraeritrocitaria, principal responsable del transporte de oxígeno en el organismo. Su gran importancia clínica radica en esta función vital y su estrecha relación con los glóbulos rojos. La determinación de su concentración en sangre es utilizada como indicador de muchas patologías, siendo la más importante la anemia, la cual es definida como una concentración de hemoglobina por debajo de los valores de referencia. Siendo una proteína de gran importancia clínica, los métodos para detectar y cuantificarla han sido ampliamente desarrollados, tanto en sensibilidad y especificidad, como en el tiempo de procesamiento y obtención de resultados.

Desde hace unos años se introdujo un método portátil de medición de hemoglobina, basado en un espectrofotómetro de tamaño y peso reducido y microcubetas de reacción con reactivos deshidratados. La facilidad de operación, transporte y obtención de resultados de esta metodología lo ha popularizado en estudios de tamizaje, bancos de sangre, salas de emergencia y en especial en el ámbito de la salud pública y rural. En la presente investigación se realizó una comparación entre el método HemoCue® y el método de cianometahemoglobina en la población Guatemalteca, evaluando la calidad de resultados obtenidos con el HemoCue® y las ventajas y desventajas que presenta éste método, como también evaluar la utilidad que representa para la atención primaria de salud.

IV. ANTECEDENTES

A. Historia

La hemoglobina, como un componente indispensable del sistema de transporte de oxígeno en la sangre, ha sido un factor especialmente útil para la medicina. La determinación de la concentración de hemoglobina es utilizada principalmente como una prueba diagnóstica de anemia, la cual a pesar de ser muy frecuente, es producto de causas que pueden ser diversas. Es por esto que la determinación de la hemoglobina también sirve como un parámetro que guía el tratamiento de un paciente, o también puede utilizarse como un predictor en ciertas enfermedades crónicas.

Las técnicas de laboratorio para realizar la determinación de la concentración de hemoglobina en sangre han variado a través de los años y a medida en que los avances tecnológicos han ampliado el horizonte de opciones a utilizar. Las técnicas de determinación de hemoglobina se fundamentan en espectroscopía, haciendo reaccionar este analito con una sustancia que le confiera una señal espectrométrica en una longitud de onda específica. La transmitancia o absorbancia de la muestra en esta longitud de onda es proporcional a la concentración de hemoglobina en la muestra, por medio de un factor matemático. Uno de los primeros reactivos utilizados y que aún se considera como el estándar de oro es el reactivo de Drabkin, el cual es una solución de cianato férrico y potásico que convierte la hemoglobina en cianometahemoglobina (Lewis, Bain & Bales, 2008). Ésta técnica se encuentra todavía en uso, aunque la tendencia a dejar de usar este reactivo por su alta toxicidad ha incrementado. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reconocido la necesidad de disponer de un método confiable para medir la concentración de hemoglobina en laboratorios pequeños con recursos limitados, como los de los centros de salud y las aldeas, que frecuentemente carecen de electricidad y están atendidos no por técnicos adiestrados, sino por auxiliares de enfermería (Johns & Lewis, 1989).

En la actualidad se utilizan de preferencia las técnicas de oxihemoglobina y de azometahemoglobina, las cuales disminuyen el riesgo de toxicidad y presentan ventajas en cuanto a que emiten una señal de lectura en dos longitudes de onda, por lo que se puede compensar el ruido de la muestra debido a interferentes. De igual manera se ha mejorado la parte óptica de la técnica, pues se encuentran disponibles espectrofotómetros de tamaños reducidos, con alimentación de energía muy inferior, lo que ha llevado al desarrollo de lectores portátiles. Se debe mencionar que aunque se encuentren disponibles tecnologías modernas para su determinación, en algunos lugares, las limitaciones económicas disminuyen la capacidad adquisitiva de tecnologías más avanzadas.

B. Hemoglobina

La hemoglobina es una proteína encontrada dentro de los eritrocitos. Está conformada por un tetramero heterógeno de péptidos con un ligando metálico, el hierro, cuya función es la de transportar oxígeno y dióxido de carbono hacia y desde los tejidos, respectivamente. Debido a que es la única molécula encargada de proveer al organismo de oxígeno, necesario para todas las funciones básicas, es que toma una gran importancia su concentración, tanto a corto, mediano y largo plazo. Se toman como valores de referencia generales concentraciones de hemoglobina en sangre mayores a 12 g/dL.

Sin embargo los rangos de normalidad son muy variables en cada población, dependiendo de factores ambientales (saturación de oxígeno en la atmósfera), y geográficas (nivel sobre el mar). A nivel del mar encontraremos valores mínimos y a gran altura los valores deberán ser más altos, pues la menor presión parcial de O₂ obliga al organismo a optimizar su transporte y en consecuencia a aumentar la concentración de hemoglobina. Este es un factor determinante que se debe tomar en cuenta para realizar estudios de determinación de hemoglobina, pues el área geográfica de origen de una persona creará variaciones en la concentración de hemoglobina. Por lo tanto es necesario contar con estudios poblacionales que permitan realizar un ajuste según topología para los valores de hemoglobina.

Además, se evidencian variaciones de sexo, observando valores menores en mujeres, posiblemente por la pérdida de eritrocitos y contenido sanguíneo en cada ciclo menstrual, como menor masa corporal (Shaddock, 2000). En general puede establecerse como normal para un hombre un valor de concentración de hemoglobina entre 13 y 18 g/dL, y para una mujer una concentración de hemoglobina entre 12 y 16 g/dL.

C. Epidemiología

La prevalencia de anemia muestra grandes variaciones en el mundo y se presenta con mayor frecuencia en países poco desarrollados (Lönnerdal y Dewey, 1995, p. 12-19; Guatemala. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 1995). De acuerdo a las estimaciones actuales de la OMS al menos un tercio de la población mundial (aproximadamente 2 mil millones de personas) padecen anemia ferropénica. En los países en vías de desarrollo la prevalencia es cerca del 36%, cuatro veces más que en los países industrializados (8%). La información disponible al respecto indica que en el continente americano aproximadamente 94 millones de personas sufren de anemia ferropénica y que las mujeres embarazadas y los niños pequeños presentan las más altas prevalencias (World Health Organization/ United Nations Children's Fund/ United Nations University [WHO/UNICEF/ONU], 1994).

En América Latina se ha estimado que del 20 al 25% de los niños preescolares sufren de anemia, que en la mayoría de los casos se debe a la deficiencia de hierro (Gueri, 1993). La situación es extremadamente grave en algunas áreas, como por ejemplo en los países del Caribe donde se notifican prevalencias del orden de 60% entre las mujeres embarazadas. Pocos países cuentan con información detallada acerca de la prevalencia de anemia. Ecuador reportó una prevalencia nacional de 70% en los niños de 6-12 meses de edad, y de 45% en aquellos de 12-24 meses. Cuba informó que 64% de los niños de 1-3 años sufren de anemia, y en Misiones, Argentina, la prevalencia es de 55% en los niños de 9-24 meses. En todos los estudios de caso se indica que la población más afectada es la de los recién nacidos de bajo peso, los menores de dos años y las mujeres embarazadas (World Health Organization/ United Nations Children's Fund/ United Nations University [WHO/UNICEF/ONU], 1994).

En muchas regiones, la anemia es un factor de riesgo contribuyente en casi todas las defunciones maternas. En una mujer anémica la probabilidad de morir por causas relacionadas con el embarazo es cinco veces mayor que en la que no es anémica. Las mujeres anémicas son menos capaces de resistir las infecciones y de sobrevivir después de hemorragias u otras complicaciones durante el trabajo parto. La anemia también es un factor contribuyente al parto prematuro y el bajo peso al nacer (Espinoza, Rodríguez y Trejos, 2009, p. 21-25).

1. Prevalencia e incidencia de la enfermedad en Guatemala

Guatemala reporta en su última encuesta nutricional una prevalencia nacional de anemia del 26%. Ésta se encuentra estratificada en: 22% en adultos, siendo las más afectadas las mujeres en edad fértil y embarazadas, y 38% de niños entre 1-5 años (Pan American Health Organization, 2007, p. 375-393; Guatemala. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2004; Guatemala. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 1995). Los residentes de áreas rurales mostraron una prevalencia más alta de anemia, lo cual concuerda con la disminuida cobertura de salud y la falta de instalaciones médicas adecuadas.

D. Fisiopatología de la anemia

Se define la anemia como la disminución de la masa de hemoglobina circulante. Se debe tener siempre presente que la anemia es un signo clínico y no una entidad diagnóstica (enfermedad), por lo que siempre se debe buscar y tratar el hecho causal. En la práctica se acepta que existe anemia cuando la cifra de hemoglobina es inferior a 13g/dL en el hombre y menor a 12 g/dL en la mujer. Los eritrocitos, dentro de los cuales se encuentra la hemoglobina, circulan en sangre periférica unos 90-120 días, con un recambio del 1% al día, siendo el bazo el principal órgano hemocaterético (Lewis, Bain y Bales, 2008).

La anemia, o disminución de la concentración de hemoglobina, puede tener su origen en un desorden hematológico primario dentro de la médula ósea y/o pérdida, o destrucción aumentada. Muy frecuentemente se debe a factores carenciales de la dieta, evidenciándose poco consumo de los micronutrientes necesarios, como hierro y ácido

fólico. También existen otras causas como la insuficiencia cardíaca congestiva, esplenomegalia masiva, mieloma múltiple y gestación, en las que hay un aumento del volumen plasmático, dando origen a una pseudoanemia dilucional. En el embarazo se aceptan como cifras normales concentraciones de hemoglobina mayores a 11 g/dL, para compensar por la dilución debida a la retención de líquido (Freire, 1998, p. 199-205).

1. Clasificación de la anemia

La anemia puede ser debida a diferentes causas y éstas se relacionan muy bien con las variaciones de forma y tamaño de los eritrocitos. La alteración del tamaño eritroide varía según la causa productora de la anemia. El tamaño de los eritrocitos se determina con un parámetro analítico llamado Volumen Corpuscular Medio (VCM) y que permite clasificar a las anemias en:

- a) Anemia microcítica (VCM < 80 fl).
 - i. Anemia ferropénica: Por falta de hierro.
 - ii. Hemoglobinopatías: Talasemia menor. Anemia secundaria a enfermedad crónica. Anemia sideroblástica.
- b) Anemia normocítica (VCM 80 - 100 fl). Anemias hemolíticas. Aplasia medular. Invasión medular. Anemia secundaria a enfermedad crónica. Sangrado agudo.
- c) Anemia macrocítica (VCM > 100 fl).
 - i. Hematológicas: Anemias megaloblásticas. Anemias aplásicas. Anemias hemolíticas. Crisis reticulocitaria. Síndromes mielodisplásicos.
 - ii. No hematológicas: Abuso en el consumo de alcohol. Hepatopatía crónica. Hipotiroidismo. Hipoxia.

Existen otras clasificaciones de la anemia, dentro de las cuales se pueden mencionar:

- a) Según la coloración de los eritrocitos: hipocrómica, normocrómica e hipercrómica
- b) Según hemorragia (pérdida de eritrocitos): Aguda y crónica
- c) Según hemólisis: Factores intrínsecos o extrínsecos del eritrocito.
- d) Según hemoglobinopatías: Talasemias, células falciformes, hemoglobinopatías C-S, C y E.

- e) Según etiología: Premedulares o carenciales, medulares aplásicas o hipoplásicas, y postmedulares.

La anemia de procesos crónicos es la respuesta de la eritropoyesis a un amplio rango de injurias: hemorragia, infección, inflamación o neoplasias, estando todas acompañadas por esta forma de anemia. Las enfermedades endocrinas también presentan anemia como una complicación frecuente, puesto que la mayoría de las hormonas tienen efectos directos sobre la producción de eritrocitos, debiendo realizarse estudios sobre la función de la tiroides, paratiroides, suprarrenales e hipófisis. Dado que la eritropoyetina es producida en el riñón, en caso de insuficiencia renal aguda o crónica veremos comprometida de forma directa la eritropoyesis. La aparición de anemia en un diabético debe sugerirnos nefropatía diabética.

2. Manifestaciones clínicas

La anemia produce en el organismo una serie de trastornos de tipo general que no coinciden con una enfermedad concreta y que se podrían resumir en:

- palidez anormal o pérdida de color en la piel
- taquicardia
- disnea
- fatiga
- mareos o vértigo ortostático
- cefalea
- irritabilidad
- ciclos menstruales irregulares
- amenorrea
- glositis
- ictericia
- esplenomegalia
- hepatomegalia
- retardo del crecimiento y el desarrollo
- cicatrización lenta de heridas y tejidos

La mayoría de los síntomas de la anemia se presentan como consecuencia de la disminución de oxígeno en las células, conocido como hipoxia. Dado que los eritrocitos a través de la hemoglobina transportan oxígeno, la disminución en la producción o cantidad de estas células produce hipoxia. Muchos de los síntomas no se presentan si la anemia es leve, debido a que generalmente el cuerpo puede compensar los cambios graduales en la concentración de hemoglobina (Lewis, Bain, y Bales, 2008).

E. Diagnóstico

Se puede sospechar que el paciente padece anemia a partir de los datos generales obtenidos de los antecedentes médicos y el examen físico, observando palidez de mucosas, la presencia de taquicardia, astenia y otros signos. Ésta es una impresión clínica, que en muchos lugares se utiliza como único criterio de diagnóstico, en ausencia de un laboratorio clínico. Como es de esperarse, esta metodología no es específica hacia la anemia y en muchos casos tampoco sensible, pues el grado en que aparece la sintomatología no está asociado directamente a la concentración de hemoglobina sanguínea. (Hrosso y Buys, 2001).

La anemia se diagnostica por medio de la determinación de la concentración de hemoglobina. Esta cuantificación se puede realizar como parte de una rutina de exámenes de laboratorio o ser solicitado bajo sospecha clínica de anemia, como una confirmación del diagnóstico. Por lo general se realiza este esquema de diagnóstico en instituciones hospitalarias, clínicas privadas y centros de salud con acceso a laboratorio clínico. Sin embargo se debe tomar en cuenta que en poblaciones con factores predisponentes de anemia (mujeres embarazadas, deportistas con alta demanda física, población desnutrida) se debe mantener una vigilancia más estricta (Lewis, Baines y Bales, 2008; Hrosso y Buys, 2001; Shaddock, 2000).

Además del examen físico, los antecedentes médicos completos y la determinación de hemoglobina en sangre, los procedimientos para diagnosticar la anemia pueden incluir:

- Análisis de sangre adicionales (RDW, VCM, HCM, CHCM, cinética de hierro)
- Biopsia de la médula ósea: procedimiento que comprende la extracción de una pequeña cantidad de la médula ósea por medio de una biopsia, para evaluar la cantidad, tamaño y madurez de las células blásticas eritropoyéticas y/o de células anormales (Lewis, Baines y Bales, 2008; Shadduck, 2000).

En este caso nos centramos en la determinación de hemoglobina, como herramienta primaria en el diagnóstico de anemia. Ésta es la prueba de laboratorio más accesible, sensible y específica que permite evidenciar la disminución en la capacidad de transporte de oxígeno de los eritrocitos. Es un examen de bajo costo, fácilmente tecnificado y cuyos valores le presentan al médico la información necesaria para la toma de decisiones en varias situaciones médicas, como lo son el tratar una deficiencia de micronutrientes, la necesidad de administrar una transfusión sanguínea o administrar eritropoyetina en afecciones crónicas, entre otras (Lewis, Baines y Bales, 2008; Hrosso y Buys, 2001; Shadduck, 2000; West, 1996; Ritchard, s.f.).

F. Tratamiento

El tratamiento específico para la anemia será determinado por el médico basándose en lo siguiente (Hrosso y Buys, 2001):

- edad del paciente, su estado general de salud y sus antecedentes médicos
- gravedad de la anemia
- tipo de anemia
- causa de la anemia
- la tolerancia a determinados medicamentos, procedimientos o tratamientos
- las expectativas para la evolución de la anemia

La anemia puede ser difícil de tratar y el tratamiento puede incluir:

- suplementos de vitaminas y minerales (hierro aminoquelado, ácido fólico, vitamina B12)
- cambios en la dieta (incrementar ingesta proteica y rica en minerales)
- medicamentos o interrupción de la administración de los medicamentos causales

- tratamiento del trastorno causal
- antibióticos (si el agente causal es una infección)
- esplenectomía (si se trata de anemia hemolítica)
- transfusiones de células empacadas, si fuera necesario (para reemplazar pérdidas de sangre importantes)
- administración de eritropoyetina (daños renales crónicos)
- trasplante de médula ósea (para la anemia aplásica)

G. Seguimiento

El seguimiento de la anemia debe ser enfocado hacia la causa subyacente, la cual en lo posible debe ser resuelta. En las anemias por falta de micronutrientes, la suplementación de la dieta debería corregir la anemia en plazos relativamente cortos. Las anemias aplásicas o autoinmunes dependerán del manejo de la causa subyacente y pueden requerir de tratamientos transfusionales periódicos.

H. Tamizaje

La prevención primaria contra la anemia se pone en práctica con el asesoramiento en consulta de control en salud desde la lactancia hasta la adolescencia, y secundaria en pruebas de detección regulares, diagnóstico inmediato y tratamiento apropiado de la carencia de hierro. Se recomienda la detección entre los 9 – 12 meses de edad, hasta los 18 meses en poblaciones de alta prevalencia de anemia o niños con riesgo de carencia y los que reciben leche de vaca a temprana edad. Después de los 2 años generalmente no es necesaria la detección de rutina, a menos que los datos clínicos lo respalden. Se debe recomendar el tamizaje en los adolescentes entre 11 y 20 años de edad y mujeres jóvenes que menstrúan, debido a sus altos requerimientos fisiológicos. A las mujeres embarazadas se les debe realizar una determinación cada trimestre o según lo indique el médico basado en evidencia clínica (World Health Organization/ United Nations Children’s Fund/ United Nations University [WHO/UNICEF/UNU], 2001).

Los tamizajes en poblaciones han tomado auge ya que la anemia se utiliza como un indicador del estado de salud general de una población, pudiéndose evidenciar las carencias

alimentarias y el adecuado acceso a servicios de salud, según lo plantea la OMS. Esto se observa en el creciente uso de tamizajes de hemoglobina durante encuestas o censos en varios países y/o regiones (Johns & Lewis, 1989, p. 214-222; Sari y otros, 2001, p. 506-511; WHO/UNICEF/UNU, 2001; Casanueva, de Regil y Flores-Campuzano, 2006, p. 166-175; Bancroft, Benguigui, Canahuati, Carrasco, de Carvalho, de Cuadros, Yunes, 2000).

Muchos médicos también toman la determinación de la hemoglobina como un predictor de la evolución de una enfermedad, como lo es la nefropatía diabética o la insuficiencia cardíaca congestiva, por lo que aumenta la demanda de realizar la prueba. De igual manera se realizan controles periódicos a mujeres embarazadas, o como tamizaje en el ingreso a la sala de partos, pues el valor de hemoglobina es predictivo del estado general de la paciente y de la prognosis del evento del parto (Bancroft y otros, 2000).

I. Pruebas para determinación de hemoglobina

Algunos datos se obtienen examinando a simple vista un examen de sangre. Un aspecto normal del suero o plasma revela que el pigmento se encuentra en los glóbulos rojos. Si se agita una sangre total normal en el aire durante 15 minutos adquiere un color rojo claro por convertir la hemoglobina en oxihemoglobina. En la intoxicación por monóxido de carbono el color de la sangre es cereza brillante debido a la formación de carboxihemoglobina; en la metaglobulinemia es color chocolate; y malva en sulfahemoglobinemia. Sin embargo esto es una forma demasiado subjetiva de clasificarla.

La hemoglobina se combina irreversiblemente con varios productos químicos, por ejemplo, cianuro, sulfuros, peróxidos, etc. Entre los derivados o conjugados de la hemoglobina con especies químicas se encuentran:

- Hemoglobina reducida (Hb^{+2})
- Oxihemoglobina (HbO_2)
- Carboxihemoglobina (COHb)
- Sulfohemoglobina (SHb)
- Hemoglobina o metahemoglobina (Hi)
- Cianometahemoglobina (CNHb)

Las distintas formas de hemoglobina se distinguen por sus espectros de absorción, aunque todas absorben gran parte de los haces de luz entre 480 a 660 nm, de donde proviene su color rojo. Al cambiar el estado redox de la hemoglobina, también cambian algunas de sus características físicoquímicas, como las longitudes de onda a las que absorbe más los haces de luz. Esta propiedad se utiliza para su cuantificación e identificación, basándose en mediciones espectrofotométricas a intervalos de 5 nm, hasta encontrar la longitud de onda de mayor absorción, característico de cada estado redox y combinación química a la que puede estar sujeta la hemoglobina. Esta determinación es de suma importancia clínica, pues cada especie química que se acopla a la hemoglobina repercute en su capacidad de transporte de oxígeno, llevando a diferentes cuadros patológicos, los cuales se describen a continuación.

1. Carboxihemoglobina

La carboxihemoglobina (COHb) es la hemoglobina ligada al monóxido de carbono. Éste se une fácil y covalentemente a la hemoglobina a presiones parciales bajas y compite fuertemente con el oxígeno por los mismos lugares de unión que el hierro. La afinidad monóxido de carbono-hemoglobina es 200 a 250 veces mayor que la afinidad oxígeno-hemoglobina. En principio, el oxígeno puede desplazar al monóxido de carbono para formar oxihemoglobina; esto, sin embargo, requiere presiones parciales de oxígeno muy altas. Por eso se considera que la carboxihemoglobina no está disponible para unirse al oxígeno.

La intoxicación por monóxido de carbono es un problema serio, frecuente, potencialmente letal y a menudo insuficientemente tratado en los servicios de emergencia hospitalarios. En individuos normales la concentración de carboxihemoglobina no supera el 3%. En fumadores puede llegar al 15%. Por encima del 20% comienzan a aparecer síntomas de envenenamiento, y a concentraciones de 50 a 80 % el envenenamiento por monóxido de carbono puede ocasionar la muerte.

La cuantificación de la concentración de carboxihemoglobina se lleva a cabo mediante separación física de la carboxihemoglobina de otras hemoglobinas, basándose en la alta resistencia relativa de COHb al calor mientras que las otras formas de hemoglobina

sufren coagulación. Esta técnica es simple de realizar y permite ser aplicada con resultados reproducibles si se mantienen estrictamente las condiciones indicadas: calentamiento a $55 \pm 0.5^\circ\text{C}$ durante 5 minutos y $\text{pH } 5.05 \pm 0.05$. La lectura espectrofotométrica se realiza a 570 y 630 nm. (King, 2002; Masimo Rainbow SET®, 2009).

2. Sulfohemoglobina

La sulfohemoglobina (SHb) es un compuesto estable de hemoglobina unida al sulfuro. La sulfohemoglobina puede combinarse reversiblemente con el oxígeno molecular y el monóxido de carbono, su afinidad por el oxígeno es 100 veces menor que la de la hemoglobina no modificada. Su aumento puede ser debido a la administración de fármacos como la fenacetina, acetanilida, dapsona y a la exposición de compuestos azufrados como el dióxido de azufre, el sulfuro de hidrógeno, o bien por exposición a polución atmosférica severa. Esta hemoglobina es incapaz de transportar el oxígeno y no se dispone de tratamiento para ésta intoxicación.

La cuantificación de la sulfohemoglobina se lleva a cabo espectrofotométricamente con la adición de reactivo de Drabkin, realizándose una lectura de absorbancia a 456 nm, obteniendo la suma de la absorbancia de la oxihemoglobina y de la SHb en cualquier muestra sanguínea. En contraste con la oxihemoglobina, la banda de absorción causada por la SHb no varía con la adición de cianuro. La absorbancia residual, leída a 620nm es por tanto proporcional a la concentración de SHb. (King, 2002).

3. Método de Sahli

El método de Sahli se basa en la hemólisis mediante la solución de HCl, que transforma la hemoglobina en hematina. La solución obtenida se diluye hasta que su color se hace igual al de un cristal coloreado, cuya intensidad de color corresponde a una concentración conocida de hemoglobina, dada por un patrón colorimétrico. La lectura se obtiene directamente en gramos por litro, observando el valor en la escala graduada grabada sobre el tubo en el que se va realizando la dilución.

El método de Sahli por mucho tiempo fue el estándar de determinación de concentración de hemoglobina en muchos laboratorios, pues no requiere de equipo

especializado. A la vez las determinaciones se podían realizar de manera altamente tecnicada, pues la preparación de la muestra es bastante simple. Sin embargo, al no ser una medición cuantitativa directa, el método es sujeto de muchas fuentes de error.

Este procedimiento, además de su escasa reproducibilidad, tiene el inconveniente de que la transformación de toda la hemoglobina en hematina precisa un tiempo prolongado (1 hora aproximadamente). Las posibles causas de error se encuentran en el pipeteo, variaciones del color del patrón, transformación incorrecta de hemoglobina a hematina, error en la lectura, dilución excesiva, interferencia por compuestos no hemoglobínicos como lípidos y proteínas, que poseen la capacidad de modificar el color de la hematina ácida (Vives y Aguilar, 2006).

4. Método rápido: Densidad relativa en solución de Sulfato de cobre

La densidad relativa en solución de Sulfato de cobre ha sido el método estándar para el tamizaje de hemoglobina en donantes de sangre. En este método una gota de sangre, usualmente extraída del lóbulo de la oreja o de la yema del dedo, es introducida en un tubo de ensayo con solución de sulfato de cobre cuya densidad específica es conocida. Dicha gota se caracteriza por una cubierta de proteínas plasmáticas desnaturalizadas, actuando como una masa discreta. Si la gota cae de manera continua, aunque sea lentamente al fondo del recipiente, la gravedad específica de la sangre entera excede a la de la solución de sulfato de cobre. Asumiendo como normal la gravedad específica del plasma, la gravedad específica de la sangre entera está directamente relacionada con la concentración de hemoglobina. En algunas poblaciones niveles elevados de proteínas séricas requieren un cálculo diferente de la gravedad específica para medir el nivel de hemoglobina (Vives y Aguilar, 2006).

El método de sulfato de cobre tiene ventajas significativas: es rápido, económico, y no requiere entrenamiento por parte del personal. Pero también tiene desventajas, especialmente en lo que se refiere al control de calidad y exactitud del método. Recientemente se ha volcado el interés en lo que se refiere al descarte de los desechos de éste método, ya que la solución es considerada como contaminante y en algunos países es

considerado tóxico para el medio ambiente. Finalmente, este método, usado con una solución de gravedad específica única, no aporta resultados cuantitativos. Por lo tanto aquellos donantes que no pasan adecuadamente éste análisis, no pueden ser considerados como de hallazgos médicos significativos y por otro lado donantes con alta concentración de hemoglobina pueden no ser detectados (Ritchard, s.f.).

5. Cianometahemoglobina

El método de cuantificación de hemoglobina por medio de la formación de cianometahemoglobina (CNHb) y posterior lectura espectrofotométrica es el estándar de oro para la cuantificación de la hemoglobina. También conocido como método de Drabkin, es uno de los métodos más ampliamente difundidos y hasta hace poco, utilizados en laboratorios clínicos de todo nivel. Es bastante reproducible y veraz, aunque la preparación de la muestra conlleva un grado medio de dificultad. Sin embargo en la última década se ha disminuido su uso en los laboratorios clínicos debido a la toxicidad del reactivo de Drabkin, conformado por sales potásicas y férricas de cianuro. En la actualidad existen muchas restricciones para su transporte, uso y desecho, especialmente en países industrializados. No obstante, se continúa utilizando el método en laboratorios, especialmente en los procesos de validación y comparación de otros métodos de cuantificación de hemoglobina. (Vives y Aguilar, 2006).

6. HemoCue®

Recientemente, se ha desarrollado un nuevo método que asegura de forma rápida y confiable la cuantificación de hemoglobina usando un instrumento portátil. Desarrollado por HemoCue® Inc., el sistema de hemoglobina en sangre HemoCue® Hb consta de microcubetas con un reactivo en forma seca y un fotómetro diseñado para un propósito único. La microcubeta se usa como recipiente de reacción y cubeta de medición, ésta contiene deoxicolato de sodio el cual hemolisa los eritrocitos liberando hemoglobina. El nitrito de sodio convierte la hemoglobina en metahemoglobina, la cual, junto con la azida sódica, produce metahemoglobina azídica, también llamada azometahemoglobina. La lectura de hemoglobina se realiza en el fotómetro, el cual sigue la reacción y presenta el resultado sólo cuando la reacción ha terminado. La absorbancia se mide en dos longitudes

de onda (570 y 880 nm), con objeto de compensar la turbidez de la muestra. Este método no requiere dilución. El fotómetro se calibra en fábrica según el método de cianometahemoglobina (CNHb), que es el método de referencia internacional para la determinación de la concentración de hemoglobina total en sangre.

Al estar compuesto por un fotómetro portátil y microcubetas, permite en menos de un minuto y de una manera simple y precisa cuantificar la hemoglobina, con resultados comparados con los que brinda un gran equipo hematológico. El fotómetro dispone de 2 filtros ópticos que compensa lecturas de muestras lipémicas, con leucocitosis o cualquier otra forma de turbidez. Cualquier muestra de sangre puede usarse, ya sea capilar, venosa o arterial. La microcubeta desechable toma la exacta cantidad de sangre que precisa y la mezcla con el reactivo en forma automática. La cubeta es luego introducida en el fotómetro y el resultado aparece en la pantalla en menos de un minuto. El sistema es fácil de usar y después de una breve formación práctica, incluso el personal que no trabaja en laboratorio puede realizar la prueba con seguridad y exactitud (Bhaskaram, 2003, p. 25-28; HemoCue® Hb 301 System, 2006).

Este método tiene ya más de 25 años en el mercado, pero inicialmente su uso estaba muy limitado por el alto costo del equipo, debido principalmente a la baja demanda. En la última década se ha incrementado en gran manera la utilización de esta herramienta diagnóstica tanto en instituciones hospitalarias de países desarrollados como en centros de atención primaria o ambulatoria de países en desarrollo. Este equipo ha encontrado una gran aceptación en estudios epidemiológicos de diferentes países, siendo comparado y validado contra otras metodologías, como el método de Drabkin, toma de muestra en papel filtro y el método de sulfato de cobre, en los cuales se encontró valores de sensibilidad entre 75 a 86% y especificidad de 94 al 100%. La correlación con los valores obtenidos a través de la metodología de cianometahemoglobina (Drabkin), que constituye el estándar de oro, se encuentran en rangos de 0.78 a 0.92, siendo ésta la mejor prueba de campo para el diagnóstico de anemia. Esto se debe a la gran versatilidad del equipo, al ser portátil, no tener altos requerimientos de infraestructura, alimentación eléctrica, calibraciones o

reactivos tóxicos y de difícil manejo. (Bhaskaram, 2003; Hudson-Thomas, Bingham, & Simmons, 1994; Sari, de Pee, Martini, Herman, Sugiatmi, Bloem, & Ray, 2001)

7. Variantes a tomar en cuenta en la interpretación de los resultados

- Una buena toma de muestra es indispensable en la realización del tamizaje. La sangre obtenida por punción capilar podría ser diluida por el líquido intersticial o intracelular, por lo que es necesario una buena toma de muestra.
- Se debe tomar en cuenta que la sangre venosa y capilar no es la misma incluso si se encuentran fluyendo libremente, la concentración de hemoglobina en la sangre capilar es mayor que en la sangre venosa, las discrepancias entre muestras periféricas y venosas son más marcadas si esta es tomada en lóbulo de la oreja, en lugar de utilizar el dedo como el sitio de la punción.
- La concentración de hemoglobina muestra una tendencia decreciente a través del día y los valores más bajos durante la noche
- Después de la transición del paciente desde una posición vertical a una posición reclinada, la disminución en los niveles de hemoglobina tiene lugar. Por lo que debe realizarse en idénticas condiciones.

8. Variación de la concentración de hemoglobina en sangre capilar y venosa

La sangre venosa es utilizada como la muestra de preferencia para la mayoría de determinaciones hematológicas, pues generalmente se tiene un fácil acceso a esta vía y las concentraciones de la mayoría de analitos o cuerpos formados son altamente representativos de las del resto del organismo. Es por esto que los valores de referencia se estandarizan utilizando valores obtenidos a partir de este tipo de muestra (Freire, 1998).

Sin embargo muchas metodologías rápidas refieren que se puede utilizar sangre capilar para realizar la determinación de hemoglobina (y se refuerza esta tendencia, por ser más fácil la obtención de muestra). La concentración de hemoglobina es particularmente sujeto de cierta variación intrínseca entre muestras capilares y venosas. Se han reportado una amplitud de rangos, dependiendo más de las condiciones de toma de muestra y de la metodología utilizada para el análisis. Sin embargo el rango más confiable de variación de

hemoglobina, entre muestras de sangre venosa y capilar, es un incremento de 0.2 a 0.5 g/dL en sangre capilar. Esto se aduce a que generalmente se encuentran mas glóbulos rojos por unidad de volumen en sangre capilar que en sangre venosa, lo cual tendría una incidencia directa sobre la cantidad de hemoglobina contenida en dicha unidad de volumen, creando un valor aumentado falso (Neufeld, García, Sánchez, Newton, Ramírez & Rivera, 2002, p. 219-227; Lewis y otros, 2008).

9. Otros factores de variación en la concentración de hemoglobina

Existen variaciones en lo niveles de hemoglobina que se deben considerar: edad, género, embarazo y factores ambientales.

En las mujeres sanas y con niveles normales de hierro, las concentraciones de hemoglobina cambian notablemente durante el embarazo para adaptarse al aumento de la volemia materna y a las necesidades de hierro del feto. Las concentraciones disminuyen durante el primer trimestre, alcanzan su valor más bajo en el segundo y empiezan a aumentar de nuevo en el tercero. En la actualidad, no hay recomendaciones de la OMS sobre el uso de los diferentes valores de corte de la hemoglobina para la anemia por trimestre del embarazo, pero se reconoce que durante el segundo trimestre las concentraciones disminuyen aproximadamente 0.5 g/dL (DeMaeyer, Dallman y Hallberg, 2011).

Se sabe que vivir a cierta altitud por encima del nivel del mar y el tabaquismo aumentan las concentraciones de hemoglobina. Por consiguiente, en las personas que residen en altitudes elevadas y en los fumadores la prevalencia de anemia puede infravalorarse si se aplican los valores de corte corrientes. Existen valores de ajuste recomendados a la hemoglobinemia medida en las personas que viven en altitudes superiores a 1000 m sobre el nivel del mar y en fumadores, para normalizar los valores según estos factores. (DeMaeyer, Dallman y Hallberg, 2011)

V. JUSTIFICACIÓN

Guatemala es un país con altos índices de desnutrición carencial, altas tasas de morbi-mortalidad materno infantil y una baja cobertura de salud en las áreas rurales. La Organización Panamericana de la Salud en su última encuesta nutricional reporta una prevalencia nacional de anemia del 26%. Ésta se encuentra estratificada en: 22% en adultos, siendo las más afectadas las mujeres en edad fértil y embarazadas, y 38% de niños entre 1-5 años (Pan American Health Organization, 2007, p. 375-393; Guatemala. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2004; Guatemala. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 1995).

Países en desarrollo con escenarios similares han adoptado tamizajes de hemoglobina dentro de sus esquemas de vigilancia de salud, aunado a planes de cobertura médica ambulante, con lo cual han logrado extender y mejorar la cobertura de salud. Al ofrecer una determinación de hemoglobina en el sitio donde se encuentra el paciente, se le puede ofrecer un tratamiento oportuno y facilita el seguimiento del mismo, mejorando el pronóstico y la calidad de la atención.

En Guatemala aún no se ha realizado un estudio de comparación del sistema HemoCue® Hb 301 para la medición de hemoglobina, el cual podría ser un beneficioso instrumento en áreas remotas o carentes de laboratorios clínicos, al igual que en nosocomios que requieran de mediciones rápidas en el sitio de atención al paciente o como un instrumento de recolección de información para tamizajes y encuestas de salud.

De acuerdo a un estudio realizado en Perú, en donde se comparó la concentración de hemoglobina entre HemoCue® Hb 301 y el método estándar de cianometahemoglobina utilizando sangre capilar y venosa, los resultados obtenidos muestran que la concentración de hemoglobina en sangre capilar fue mayor comparada con sangre venosa (+2g/dL). Sin embargo esta diferencia desaparece al utilizar sangre venosa, concluyendo que existe una buena correlación entre las lecturas de hemoglobina realizadas con las dos técnicas, las pequeñas diferencias existentes podrían deberse a la variación electrónica, tiempo en que se realiza la lectura y variaciones biológicas. (Muñoz y Santa María, 2003).

VI. OBJETIVOS

A. General

Comparar la determinación de hemoglobina por medio del método HemoCue® y el método estándar de cianometahemoglobina y llevar a cabo un plan piloto de tamizaje utilizando el método HemoCue®

B. Específicos

1. Determinar la concentración de hemoglobina en poblaciones con características ambientales y poblacionales distintas, por el método HemoCue® y el método estándar de cianometahemoglobina.
2. Determinar el coeficiente de correlación de concordancia (r_c) entre la metodología HemoCue® y cianometahemoglobina.
3. Determinar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico de anemia utilizando la metodología HemoCue® y el valor Kappa del mismo, al comparar con el método de cianometahemoglobina.
4. Comparar la concentración de hemoglobina media en conglomerados con características ambientales y poblacionales distintas, utilizando el método HemoCue®.

VII. HIPÓTESIS

El valor de la hemoglobina determinado con el método HemoCue® en sangre capilar no presentará diferencia estadísticamente significativa al obtenido con el método de referencia (cianometahemoglobina en sangre venosa).

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo y muestra

1. **Universo:** Población de la República de Guatemala.
2. **Muestra:** Se contó con dos muestras. Una para la fase de comparación de métodos, con un número total de 120 participantes y la segunda muestra para el plan piloto de tamizaje, conformada por 400 participantes, que cumplieran con los criterios de inclusión para cada conglomerado a estudiar. Éstos conglomerados son:
 - a. Muestra de estudio para comparación de métodos de cuantificación de hemoglobina:
 - Guatemala, Guatemala: conglomerado de atletas que se avocaron al laboratorio clínico de la CDAG. Grupo de comparación con valores altos de hemoglobina. 30 participantes.
 - Hospital General San Juan de Dios, Guatemala, Guatemala: conglomerado de donadores de sangre que acudieron al Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios. Grupo de comparación con valores medios a altos de hemoglobina. 30 participantes.
 - Hospital General San Juan de Dios, Guatemala, Guatemala: conglomerado de mujeres embarazadas, en el tercer trimestre de gestación, que acudieron al Hospital General San Juan de Dios. Grupo de comparación de valores medios a bajos de hemoglobina. 30 participantes.
 - Hospital General San Juan de Dios, Guatemala, Guatemala: conglomerado de niños en un rango de edad entre 5 y 15 años, que se presentaron al Servicio de Nutrición del Hospital General San Juan de Dios. Grupo de comparación de valores bajos de hemoglobina. 30 participantes.
 - b. Muestra de estudio para plan piloto de tamizaje de cuantificación de hemoglobina:
 - i. Región Central (Departamentos de Guatemala):
 - Guatemala, Guatemala: conglomerado de atletas que asistieron al laboratorio clínico de la CDAG. 80 participantes.

- Santa Elena Barillas, Villa Canales, Guatemala: conglomerado de mujeres embarazadas, en cualquier trimestre de gestación, que acudieron al Centro de Salud de Santa Elena Barillas. 80 participantes.
 - San Juan Sacatepéquez, Guatemala: conglomerado de niños en un rango de edad entre 5 y 15 años, que se presentaron al Centro de Recuperación Nutricional del Club Rotario, con indicios de desnutrición o que se encontraban internados en éste. 40 participantes.
- ii. Región Sur (Departamento de Escuintla):
- Escuintla: conglomerado de altitud baja sobre el nivel del mar (0-500 metros sobre el nivel del mar). Personas adultas que acudieron a los servicios de salud pública en este municipio y personas que aceptaron formar parte del estudio en el Centro Universitario del Sur, de la Universidad de San Carlos de Guatemala (CUNSUR). Debían ser residentes constantes del departamento. 100 participantes.
- iii. Región Noroccidental (Departamento de Quetzaltenango):
- Quetzaltenango: conglomerado de altitud alta sobre el nivel del mar (>2,000 metros sobre el nivel del mar). Personas adultas que acudieron al Hospital General de Quetzaltenango y personas que aceptaron formar parte del estudio en el Centro Universitario de Noroccidente, de la Universidad de San Carlos de Guatemala (CUNOC). Debían ser residentes constantes del departamento. 100 participantes.

A los participantes de ambas muestras se les proveyó la opción de no participar en el estudio o salir de éste en cualquier momento. Se les informó sobre esta opción al explicarles el estudio, tanto a los médicos tratantes como a los pacientes/participantes. Esta medida se efectuó para reforzar las normas de bioética empleadas en el estudio y con el fin de evitar perjudicar al participante de cualquier forma.

Todos los datos se trataron de forma confidencial y únicamente se compartieron con el paciente/participante y su médico tratante, si la situación lo ameritaba. Las muestras se identificaron con un número de trabajo para su análisis, para mantener la confidencialidad del paciente.

B. Recursos

1. Humanos:

- a. Asesora:
Licda. Margarita Paz de Ramírez, Q.B., MA.
- b. Integrantes del Seminario de Investigación:
Br. José Miguel Echeverría Barillas
Br. Alma Ilusión Quiroz Loyo

2. Institucionales:

- a. Centro de Salud de El Progreso, Unidad de Recuperación Nutricional, Jutiapa.
- b. Centro de Salud de Santa Elena Barillas, Villa Canales, Guatemala.
- c. Centro Universitario de Noroccidente (CUNOR), Universidad de San Carlos de Guatemala, Quetzaltenango.
- d. Centro Universitario del Sur (CUNSUR), Universidad de San Carlos de Guatemala, Escuintla.
- e. Centros de Salud de Tiquisate, Escuintla.
- f. Centros de Salud de Escuintla, Escuintla
- g. Confederación Deportiva Autónoma de Guatemala, Guatemala.
- h. Hospital General San Juan de Dios, Guatemala, Guatemala.
- i. Hospital Universitario Esperanza, Guatemala, Guatemala
- j. Labymed, S.A., Guatemala, Guatemala
- k. Hospital General San Juan de Dios, Quetzaltenango, Quetzaltenango.
- l. Unidad de Recuperación Nutricional del Club Rotario, San Juan Sacatepéquez, Guatemala.
- m. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

3. Físicos:

- a. Materiales
 - Guantes de látex
 - Lancetas para sangre capilar
 - Pipetas automáticas de volumen variable 1- 10 µl y de 200µL - 1000 µL

- Puntas de pipeta desechables
- Liga de hule
- Agujas Vacutainer®
- Camisa para sistema Vacutainer®
- Tubos de plástico al vacío con EDTA de 4 mL
- Viales de crio almacenamiento de 2.5 mL
- Gradillas para tubos y viales
- Hielera para transporte de muestras
- Papel mayordomo
- Bolsas Ziplock® grandes
- Algodón
- Alcohol al 70%
- Papeletas de recolección de datos
- Papeletas de resultado
- Sobres de papel manila
- Hojas de consentimiento
- Marcador indeleble negro
- Cronómetro

b. Equipo

- Refrigeradora (2-4°C)
- Espectrofotómetro de longitud de onda variable CHEM 7 (con filtro de 546 nm)
- Analizador HemoCue® Hb 301
- Vortex

c. Reactivos

- Solución de Drabkin (solución de sales férricas y potásicas de cianato)
- Microcubetas HemoCue® con reactivo en seco

C. Metodología

Esta investigación consistió de dos fases:

- Comparación del método HemoCue® para la cuantificación de hemoglobina contra el método de cianometahemoglobina (prueba estándar)
- Realización de un plan piloto de tamizaje en diferentes poblaciones del país.

1. Primera fase: Medición de hemoglobina por medio de dos métodos, HemoCue® y Cianometahemoglobina

a. Recolección de muestras

Se recolectaron dos muestras en cada participante: una muestra de sangre capilar, por punción con lancetas y una muestra de sangre venosa, de por lo menos 4 mL, con el sistema Vacutainer®. Las muestras de sangre venosa (120 muestras) se recolectaron en tubos con EDTA como anticoagulante. Las muestras de sangre venosa se preservaron en y fueron transportadas en cadena de frío, desde el sitio de obtención hasta el Laboratorio de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, para su procesamiento y análisis; las muestras de sangre capilar se analizaron *in situ* con el analizador HemoCue®.

b. Determinación *in situ* con HemoCue®

La muestra de sangre capilar se recolectó en una microcubeta de reacción, descartando la primer o segunda gota de sangre; se llenó la microcubeta en un proceso continuo para evitar burbujas y se colocó en el portador del analizador HemoCue®. En un período de 30 a 45 segundos aproximadamente se obtuvo el resultado legible en la pantalla LCD del equipo. Este resultado se anotó en las hojas de registro y hoja de resultado del paciente.

c. Reporte de resultados

Se entregaron los resultados obtenidos con el equipo HemoCue® al médico tratante del paciente o al participante, según el caso, con indicaciones sobre el significado del resultado y la sugerencia de buscar atención médica, si lo ameritaba.

d. Análisis de la muestra con el método de cianometahemoglobina

Las muestras de sangre venosas obtenidas se procesaron en el Laboratorio de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, según el método de cianometahemoglobina (Drabkin) descrito a continuación.

Método de cianometahemoglobina para la cuantificación de hemoglobina

- i. *Principio:* El ferricianuro potásico oxida la hemoglobina a metahemoglobina y el cianuro potásico proporciona los iones cianuro (CN⁻) para formar cianometahemoglobina que tiene una absorción máxima a 540 nm. La capacidad de absorción de la solución se mide en un espectrofotómetro a 540 nm y se compara con la de una solución estándar.
- ii. *Reactivo:* El reactivo utilizado es el reactivo de Drabkin, conformado por una solución acuosa de sales potásicas y férricas de cianuro. Esta solución debe ser de un color amarillo claro, pálido y tener un pH de 7 a 7.4.
- iii. *Método:* Se diluye la sangre en una solución de ferricianuro potásico y cianuro potásico, se añaden 20 microlitros de sangre a 5 ml de disolvente, se mezclan bien y se mantienen a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se determina la capacidad de absorción, frente al blanco reactivo en el espectrofotómetro a 540 nm. Se abre un vial de hemoglobina estándar y se mide la capacidad de absorción a temperatura ambiente, en el mismo aparato y de una manera similar.

iv. *Cálculos:*

Hb (g/dL) =

$\frac{\text{Absorción de la muestra}}{\text{Absorción del estándar}} \times \frac{\text{Concentración del estándar (mg/dL)}}{100 \text{ mg/g}} \times 251$

Es conveniente calibrar el espectrofotómetro al utilizarlo para hemoglobinometría, preparando una curva estándar o una tabla que relaciona la capacidad de absorción a la concentración de hemoglobina en g/dL.

e. Reporte de resultados interno, tabulación y creación de un consolidado

Los datos obtenidos con el equipo HemoCue® y los obtenidos con el método de cianometahemoglobina se anotaron en las hojas de registro correspondientes. Posteriormente se digitaron en una base de datos, creando un consolidado del total de muestras procesadas, como paso de preparación de los datos para el análisis estadístico.

f. Análisis estadístico

Número de muestra: se estableció por conveniencia, siendo de 120 muestras, distribuidas equitativamente dentro de los cuatro conglomerados evaluados. Las muestras se encontraron distribuidas dentro de un rango amplio de variación de concentración de hemoglobina, cuyas variables son:

- valores de hemoglobina normales (dentro de rangos de referencia)
- valores de hemoglobina alterados (fuera de los rangos de referencia)
- género
- edad
- condiciones fisiológicas o patológicas presentes que alteren los valores de hemoglobina

2. Plan piloto de tamizaje:

Se llevó a cabo un plan piloto de tamizaje de carácter transversal descriptivo en diferentes regiones del país y se realizó un análisis estadístico de comparación de medias obtenidas de los conglomerados, para encontrar si existía una diferencia estadísticamente significativa entre cada grupo.

El plan piloto de tamizaje consistió de los siguientes pasos:

a. Contacto con instituciones colaboradoras

Inicialmente se buscó grupos poblacionales con características ambientales y fisiológicas que pudiesen propiciar variaciones en las concentraciones de hemoglobina, determinándose cinco grupos o conglomerados por lo que se contactó con las siguientes instituciones y se les informó la intención del estudio: Región Central (Departamentos de Guatemala): Confederación Deportiva Autónoma de Guatemala, Guatemala (valores normal alto de hemoglobina); Centro de Salud de Santa Elena Barillas, Villa Canales, Guatemala (valores bajos de hemoglobina por gestación); Centro de Recuperación Nutricional del Club Rotario (valores bajos de hemoglobina por desnutrición). Región Sur (Departamento de Escuintla): Centros de Salud de Tiquisate, Escuintla; Centros de Salud de Escuintla, Escuintla; Centro Universitario del Sur Universidad de San Carlos de Guatemala, Escuintla (valores bajos de hemoglobina debido a altitud baja sobre el nivel del mar, 0-500 metros sobre el nivel del mar). Región Noroccidental (Departamento de Quetzaltenango): Centro Universitario de Noroccidente de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Quetzaltenango; Hospital General de Quetzaltenango (valores altos de hemoglobina debido a altitud alta sobre el nivel del mar, mayor a 2000 metros sobre el nivel del mar).

Se les solicitó su participación y colaboración en la organización de el evento de tamizaje, considerando la disponibilidad de espacio físico adecuado y fechas convenientes para llevar a cabo la actividad. Los costos de materiales y de las pruebas fueron aportados por los investigadores, únicamente requiriendo un espacio físico adecuado para llevar a cabo el proceso de muestreo y la disponibilidad de un oficial de salud para dar acompañamiento a los participantes con resultados alterados.

b. Movilización, promoción y preparación del muestreo

Al contar con todo el material para realizar el muestreo, se movilizó a las instituciones mencionadas, se preparó el área autorizada tomando en cuenta las normas de bioseguridad y privacidad. A continuación se instaló el material de promoción y se invitó a

la población a participar en el estudio, socializando los beneficios de la participación, como el derecho a no participar.

c. Muestreo, recopilación de datos y entrega de resultados

El muestreo se llevó a cabo según la metodología HemoCue® descrita previamente, tomando una muestra de sangre capilar por punción de dedo. Inmediatamente se analizó la muestra y se le entregó al participante una boleta con el resultado, dándole las indicaciones meritorias y aclarando cualquier duda que pueda surgir durante el procedimiento. El participante fué referido con el oficial médico de la institución en caso que el resultado se encontrara fuera de los rangos de referencia. Los datos generales del paciente se anotaron para posterior tabulación.

d. Análisis de datos de tamizaje

Número de muestra: se estableció por conveniencia, siendo 400 muestras distribuidas dentro de los conglomerados mencionados previamente. Las muestras se encontraron distribuidas dentro de un rango amplio de variación de concentración de hemoglobina, cuyas variables fueron:

- valores de hemoglobina normales (dentro de rangos de referencia)
- valores de hemoglobina alterados (fuera de los rangos de referencia)
- género
- edad
- ubicación geográfica (altitud sobre el nivel del mar)
- condiciones fisiológicas o patológicas presentes que alteren los valores de hemoglobina

Los datos recopilados se sometieron a un análisis estadístico descriptivo, realizándose una caracterización de cada conglomerado y una comparación de medias muestrales entre cada grupo, se evaluó si existían diferencias significativas entre los diferentes conglomerados.

D. Diseño estadístico

1. Comparación de métodos:

El diseño estadístico para el estudio de comparación de métodos fue un diseño pareado, donde el valor de hemoglobina de cada muestra (n=105) se evaluó por el método de referencia (lectura espectroscópica de cianometahemoglobina) contra el método experimental HemoCue®.

a. Determinación de concordancia

La concordancia entre métodos se estimó con el coeficiente de correlación de concordancia (r_c) y por medio del análisis de T pareado. Estas pruebas evaluaron las lecturas obtenidas con el HemoCue®, utilizando sangre capilar, comparándolas con las obtenidas por el método de cianometahemoglobina (Drabkin) en sangre venosa.

b. Cálculo de sensibilidad y especificidad

Utilizando regresión lineal se comparó la sensibilidad y especificidad de la medición de hemoglobina con el sistema HemoCue®, utilizando sangre capilar (eje Y), versus sangre venosa determinada por el método de referencia, cianometahemoglobina (eje X). Utilizando los datos obtenidos se evaluaron las hipótesis, para inferir si ambos métodos poseen la misma sensibilidad y especificidad (inciso c.).

Para calcular la sensibilidad y especificidad de el método HemoCue® para la determinación de anemia, se codificó cada resultado cuantitativo en términos de variables cualitativas, Anemia (<12 g/dL) y Normal (\geq 12 g/dL), utilizando un valor de corte de 12 g/dL de hemoglobina para cada caso. Los datos se tabularon para construir una tabla de 2 x 2, comparando los resultados obtenidos entre el método HemoCue® (prueba evaluada) y el método de cianometahemoglobina (estándar de oro), obteniéndose el valor de Kappa para la concordancia entre ambos métodos para la determinación de anemia.

c. Prueba de hipótesis

Si la ecuación de la recta obtenida por regresión lineal era significativa ($r \approx 1$; $p < 0.05$), determinado por el coeficiente de correlación y análisis de varianza, se realizaban las pruebas de hipótesis. Las hipótesis nula (H_0) y alterna (H_a) se evaluaron entonces por la prueba de t de Student para α (el intercepto) y β (la pendiente), de la siguiente manera:

- α : - H_0 : $\alpha = 0$
 - H_a : $\alpha \neq 0$
- β : - H_0 : $\beta = 1$
 - H_a : $\beta \neq 1$

Por lo tanto se infirió que: si $\alpha \neq 0$, se aducía a que existe una interferencia de fondo con las mediciones realizadas con HemoCue® y por lo tanto, la especificidad no era estadísticamente comparable con la del método de referencia. Si por el contrario, $\alpha = 0$, la especificidad entre ambos métodos era igual.

El análisis de la pendiente (β) nos indica la comparación de sensibilidad entre ambos métodos, donde si $\beta \neq 1$, las mediciones realizadas con HemoCue® no tenían la misma sensibilidad que las que se efectuaron con el método de referencia e inversamente, si $\beta = 1$, ambos métodos tienen la misma sensibilidad.

2. Plan piloto de tamizaje:

Los datos de las muestras tomadas en el tamizaje se sometieron a un análisis descriptivo, efectuando una caracterización del conglomerado y posteriormente se llevó a cabo una comparación de medias entre conglomerados. Se encontró la significancia estadística de la diferencia de medias entre cada conglomerado, empleando un nivel de significancia de alfa de 0.05, por medio de un análisis de varianzas (ANOVA).

IX. RESULTADOS

A. Muestra

1. Comparación de métodos

Se obtuvieron 107 muestras provenientes de los cuatro conglomerados descritos previamente, las cuales fueron evaluadas por ambas metodologías (Hemocue® y cianometahemoglobina). Los datos se tabularon y consolidaron en una base de datos de Excel, para luego ser exportadas al programa estadístico SPSS para realizar el análisis.

Se evaluó la serie de datos utilizando la prueba de distancias de Cook, eliminándose las lecturas de dos muestras debido a anomalías en los resultados obtenidos. Finalmente se contó con una serie de 105 muestras con valores de hemoglobina obtenidos a través de ambas metodologías evaluadas (muestras pareadas).

2. Plan piloto de tamizaje

Se obtuvieron 389 muestras, evaluadas con el equipo Hemocue®, provenientes de cinco conglomerados (ver tabla No. 1).

Tabla No. 1: Desglose de conglomerados muestreados en el plan piloto

N	Conglomerado
92	Deportistas que se avocaron al laboratorio clínico de la CDAG en Guatemala, Guatemala
41	Mujeres embarazadas, en cualquier trimestre de gestación, que acudieron al Centro de Salud de Santa Elena Barillas, Villa Canales, Guatemala
50	Niños entre 5 y 15 años de edad, que asisten al Centro de Recuperación Nutricional del Club Rotario en San Juan Sacatepéquez, Guatemala
106	Habitantes de altitud baja sobre el nivel del mar (< 500 msnm), procedentes del departamento de Escuintla
100	Habitantes de altitud elevada sobre el nivel del mar (> 2,000 msnm), procedentes del departamento de Quetzaltenango
389	TOTAL

Las muestras fueron evaluadas con el equipo Hemocue® *in situ*, anotando los datos en las hojas de registro y tabulándolas posteriormente en una base de datos de Excel, para luego ser exportadas al programa estadístico SPSS para realizar el análisis.

B. Comparación de métodos

1. Determinación de concordancia

La concordancia se determinó por medio del cálculo del Coeficiente de correlación de concordancia (r_c) con un valor de 0.989 (IC_{95%} 0.984-0.993), como se observa en la tabla No. 2. Este valor se obtuvo analizando los datos pareados de hemoglobina para cada muestra determinado por ambas metodologías, e indica un alto grado de concordancia entre las mediciones obtenidas con ambas metodologías (Prieto, Lamarca, Casado, 1998, p. 142 – 145).

Por medio de la prueba de *t* de Student para muestras pareadas se determinó si existía una diferencia significativa entre cada par de lecturas realizadas con ambas metodologías para cada muestra, encontrándose un valor *t* de 0.979 (*p*=0.32). De este coeficiente se puede inferir una alta concordancia entre las lecturas obtenidas por ambas metodologías, pues no existe diferencia estadísticamente significativa entre cada par de lecturas.

Tabla No.2: Estadísticos de comparación de métodos Hemocue® y cianometahemoglobina

	Hemocue	CNHb	Hemocue- CNHb	Significancia
Media (Hb g/dL)	13.81	13.78	-	-
Desviación Estándar	2.8783	2.9999	-	-
Error Estándar Medio	0.2809	0.29276	-	-
Coeficiente de Concordancia			0.989	< 0.001
T pareada			0.979	0.32

Valores experimentales obtenidos por análisis estadístico

2. Cálculo de sensibilidad y especificidad

a. Regresión lineal y contraste de hipótesis

Para evaluar la sensibilidad y especificidad del método Hemocue® para la cuantificación de hemoglobina, primero se compararon los valores de hemoglobina obtenidos de la muestra (n=105) con ambas metodologías a través de la elaboración de una regresión lineal (gráfica No. 1). En este modelo se encontraron los valores de las variables del intercepto (alfa) y la pendiente (beta). A continuación, estas variables se evaluaron por medio de la prueba de *t* de Student para evaluar su significancia estadística y realizar las pruebas de hipótesis, con las cuales se pudo inferir si la sensibilidad y especificidad eran equivalentes a las del método de referencia. Se determinó el valor de los coeficientes, siendo: $\alpha = 0.867$ con un valor $p = 0.002$ y $\beta = 0.979$, $p < 0.001$ (ver tabla No. 3).

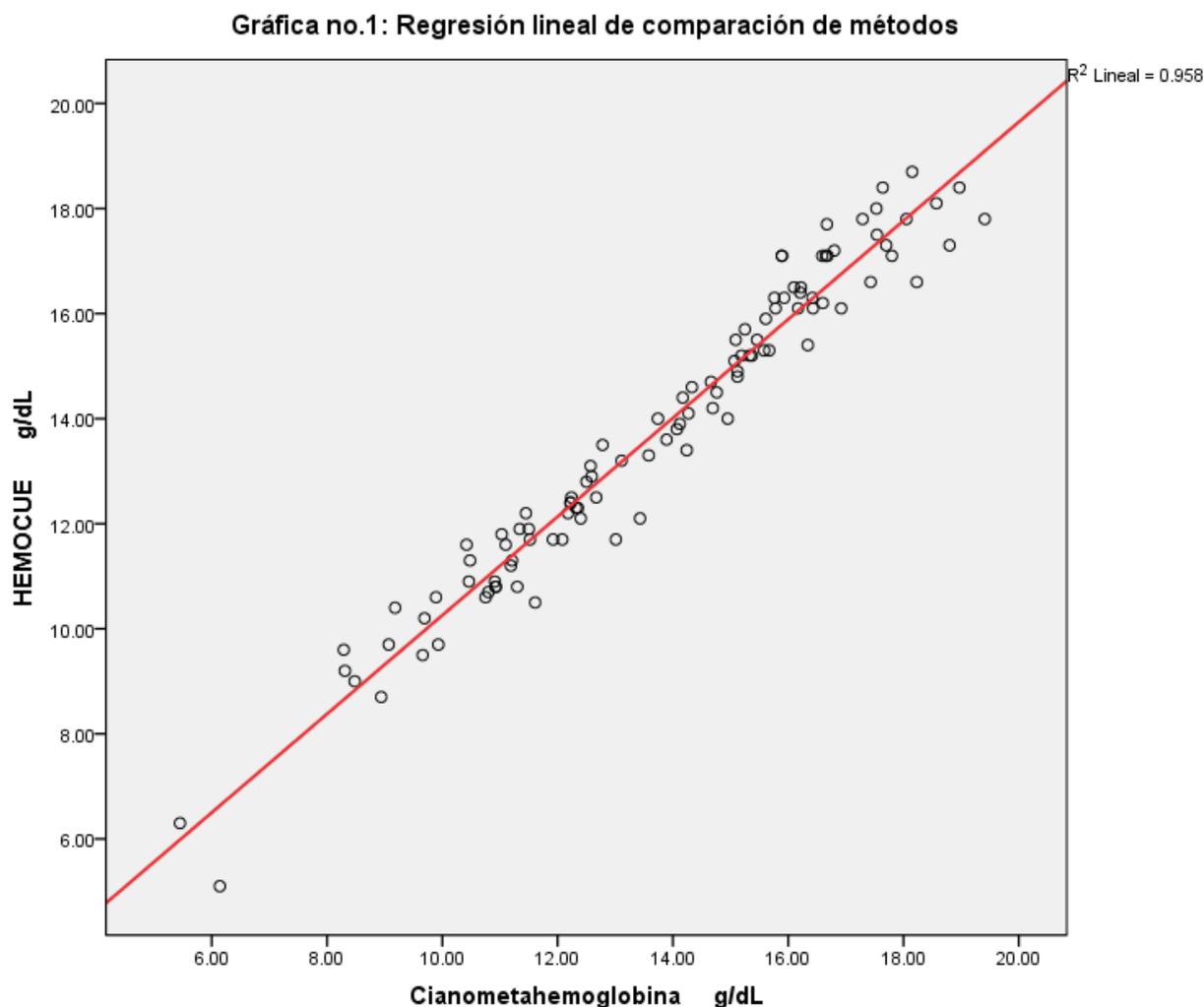
Tabla No. 3: Regresión lineal

	Valor	T ¹	F ²	Significancia
Intercepto, α	0.867	3.180		0.002
Pendiente, B	0.939			
Pendiente, β	0.979	48.597		< 0.001
Coficiente de determinación (R²)	0.958			
Error típico de est.	0.59126			
Durbin-Watson	1.480			
ANOVA			2316.701	< 0.001

Valores experimentales obtenidos por análisis estadístico. 1: Estadístico T de Student. 2: Estadístico F de Fisher.

Con estos valores se realizó la evaluación de las hipótesis, contrastando los valores de los coeficientes de la recta obtenida por regresión lineal con los planteamientos nulos y alternos estipulados *a priori* sobre la sensibilidad y especificidad comparativa entre los métodos. Se encontró que el origen era significativamente diferente a cero ($\alpha \neq 0$; $p = 0.002$), como se muestra en la tabla No. 3, lo cual indican que existe alguna variación de fondo en las lecturas realizadas con el método Hemocue® que interfiere con la especificidad de la prueba en comparación con la del método de referencia. Al evaluar la pendiente, se encontró que ésta era significativamente diferente a 1 ($\beta \neq 1$, $p < 0.001$; ver

tabla No. 3), por lo que también se concluye que sí existe una diferencia en la sensibilidad de la prueba Hemocue® comparada con la sensibilidad del método de cianometahemoglobina.



b. Comparación de sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de anemia

Se realizó un cálculo de la sensibilidad y especificidad del método Hemocue® por medio de la utilización de tablas de contingencia (tablas 2x2), evaluando su capacidad de detectar casos de anemia y contrastándolo con el método de referencia (Canal, N., 2006). Para elaborar la tabla de contingencia, se utilizó un valor de corte de 12 g/dL, asignando como ANEMIA (<12.0 g/dL Hb) y NORMAL (>12.0 g/dL Hb) a cada lectura

Se encontró una sensibilidad de 96.77% y una especificidad de 97.30%, para el Hemocue® en comparación con el método de referencia de cianometahemoglobina para el diagnóstico de anemia y un valor Kappa de 0.932, con un valor $p < 0.001$ (tablas No. 4 y 5).

Tabla No. 4: Tabla de contingencia para el diagnóstico de anemia

		HCN			
		Anemia	Normal	Total	
HEMOCUE	Normal	Recuento	1	72	73
		% de la fila	1.4%	98.6%	100.0%
	Anemia	Recuento	30	2	32
		% de la fila	93.8%	6.2%	100.0%
	Total		31	74	105

Valores experimentales obtenidos por análisis estadístico. Valor de corte: 12 g/dL.

Tabla No. 5: Sensibilidad y especificidad del diagnóstico de anemia

	Valor	Significancia
Sensibilidad	96.77%	
Especificidad	97.30%	
Índice Kappa	0.932	< 0.001

Valores experimentales obtenido por análisis estadístico.

C. Plan piloto de tamizaje

1. Descripción estadística de los conglomerados

Por medio del programa SPSS se obtuvo la estadística descriptiva de los valores de hemoglobina de cada uno de los conglomerados muestrales evaluados con el método Hemocue®, identificándose los parámetros de la media, desviación estándar y rangos (ver tabla No. 6).

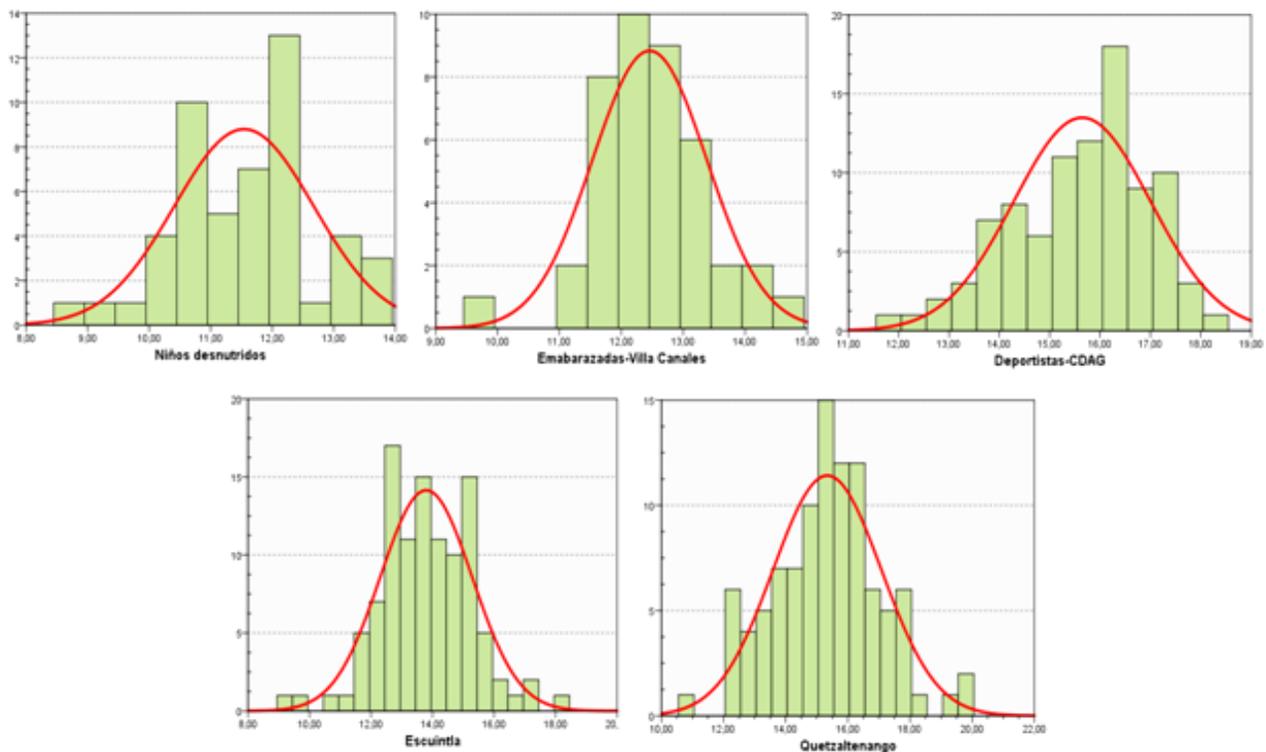
Tabla No. 6: Estadísticas descriptivas de los conglomerados tamizados

Conglomerado	Muestra (n)	Hemoglobina en g/dL			
		Media	Desviación Est.*	Mínimo	Máximo
Niños Desnutridos	50	11.54	1.122	8.70	13.80
Embarazadas	41	12.46	0.914	9.70	14.60
Deportistas-CDAG	92	15.64	1.353	11.80	18.40
Escuintla	106	13.79	1.487	9.20	18.20
Quetzaltenango	100	15.34	1.738	10.80	19.90
Total	389	14.20	2.036	8.70	19.90

Datos experimentales obtenidos por análisis estadístico. * Desviación estándar.

Con los estadísticos determinados se elaboraron histogramas de frecuencias de la concentración de hemoglobina para cada conglomerado, contrastándolos con las curvas de distribución normal esperadas (ver gráfica No.2). Estas gráficas demuestran visualmente la distribución de las frecuencias de valores de hemoglobina dentro de cada conglomerado, pudiendo observar tendencias que lo caracterizan y a su vez como difiere entre sí cada conglomerado de otro.

Gráfica No. 2: Distribución de valores de hemoglobina por conglomerado



Datos experimentales obtenidos por análisis estadístico. Valores de hemoglobina en g/dL.

a. Mujeres embarazadas de Santa Elena Barillas, Villa Canales, Guatemala

Se encontró que en este conglomerado la media de concentración de hemoglobina era de 12.46 g/dL (n=41). Esta concentración de hemoglobina se encuentra dentro de los rangos de referencia de la población general, pues en el caso de mujeres embarazadas se incluye el límite inferior del rango hasta 11 g/dL (Lewis, Bain & Bales, 2008). Se observó una desviación estándar de 0.91 g/dL de hemoglobina, por lo que se puede deducir que la mayoría de valores se concentraban cerca de la media del conglomerado, indicando un alto grado de homogeneidad entre los sujetos del conglomerado.

b. Niños desnutridos del Centro de Recuperación Nutricional de San Juan Sacatepéquez, Guatemala

Para este conglomerado (n=50) se determinó una media de 11.54 g/dL de hemoglobina y la desviación estándar de 1.22 g/dL, lo cual indica una distribución bastante homogénea alrededor de la media. Estos valores concuerdan con la tendencia esperada basada en el estado nutricional de los pacientes, aunque afortunadamente no difería mucho del límite inferior de referencia (12 g/dL). No obstante, 28 pacientes (56%) presentaban valores de la concentración de hemoglobina por debajo del rango de referencia, siendo el valor más bajo de 8.70 g/dL.

c. Deportistas de la Confederación Deportiva Autónoma de Guatemala (CDAG), Ciudad de Guatemala

El conglomerado de deportistas (n=92) se caracterizó con una media de concentración de hemoglobina de 15.64 g/dL, siendo el valor más alto entre todos los conglomerados. La desviación estándar de la media encontrada fue de 1.35 g/dL, aunque la mayoría de valores presentaban una tendencia central. Únicamente se encontró 1 caso (1.1%) con concentración de hemoglobina por debajo del rango de referencia de 12 g/dL, pero cabe mencionar que difería por dos puntos decimales de éste. En contraste, hubo 16 casos (17.4%) de concentraciones de hemoglobina superiores a los 17 g/dL, de los cuales 2 (2.2%) superaban los 18 g/dL. Los participantes en su mayoría practicaban las disciplinas de fisicoculturismo, boxeo, judo y triatlón.

d. Residentes del departamento de Escuintla (< 500 msnm)

Se determinó una media de la concentración de hemoglobina para este conglomerado (n=106) de 13.79 g/dL, con una desviación estándar de 1.487 g/dL. 9 casos (8.5%) presentaban valores de hemoglobina por debajo de los 12 g/dL (valor más bajo: 9.2 g/dL) y 3 casos (2.8%) que superaban los 17 g/dL (valor más alto: 18.2 g/dL).

e. Residentes del departamento de Quetzaltenango (> 2,000 msnm)

Se encontró un valor medio de concentración de hemoglobina de 15.34 g/dL en el conglomerado (n=100), con una desviación estándar de 1.738 g/dL. 1 caso (1%) presentaba una concentración de hemoglobina de 10.8 g/dL y 15 casos (15%) de concentraciones de hemoglobina por encima de los 17 g/dL, de los cuales 3 casos (3%) superaban los 18g/dL y 3 casos más (3%) superaban los 19 g/dL.

2. Comparación de valores de hemoglobina entre conglomerados

Se comparó el valor de la media de concentración de hemoglobina entre conglomerados, para evaluar si existía una diferencia significativa entre éstas. La comparación se realizó por medio de ANOVA de un factor, con un nivel de significancia de alfa de 0.05. Se plantearon las hipótesis a ser evaluadas:

- $H_0: \mu_k = \mu_m$
- $H_a: \mu_k \neq \mu_m$

La hipótesis nula plantea que las medias de dos conglomerados no diferirán una de otra significativamente, mientras que la hipótesis alterna plantea que sí existe una diferencia significativa entre las medias. Se tomó un valor alfa < 0.05 como estadísticamente significativo para rechazar la hipótesis nula. Sin embargo, el ANOVA supone que las varianzas entre los grupos analizados sean iguales, por lo que a través del estadístico de Levene se determinó que existían diferencias estadísticamente significativas entre las varianzas de los conglomerados (estadístico de Levene: 4.905, p=0.001). Debido a esto se evaluó la igualdad de medias utilizando la prueba de Welch, encontrándose que sí existía diferencia estadísticamente significativa entre éstas (Welch: 133.244, p < 0.000).

Se complementó el análisis realizando una comparación múltiple entre conglomerados por medio de la prueba de Games-Howell, encontrándose que únicamente los conglomerados de residentes de Quetzaltenango y el conglomerado de deportistas de la CDAG presentaban medias de concentración de hemoglobina estadísticamente equivalentes. Todas las demás comparaciones de medias de concentración de hemoglobina entre conglomerados presentaban diferencias significativas entre sí. Los resultados se resumen en la tabla No. 7.

Tabla No. 7: Comparación de la media de hemoglobina entre conglomerados, prueba de Games-Howell

(I) Conglomerado	(J) Conglomerado	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.*	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Embarazadas	Niños desnutridos	0.91410	.21346	.000	0.3197	1.5085
	Deportistas CDAG	-3.18847	.20070	.000	-3.7451	-2.6318
	Quetzaltenango	-2.87990	.22494	.000	-3.5021	-2.2577
	Escuintla	-1.33824	.20311	.000	-1.9010	-0.7755
Niños desnutridos	Embarazadas	-.91410	.21346	.000	-1.5085	-0.3197
	Deportistas CDAG	-4.10257	.21233	.000	-4.6908	-3.5143
	Quetzaltenango	-3.79400	.23538	.000	-4.4446	-3.1434
	Escuintla	-2.25234	.21461	.000	-2.8464	-1.6582
Deportistas CDAG	Embarazadas	3.18847	.20070	.000	2.6318	3.7451
	Niños desnutridos	4.10257	.21233	.000	3.5143	4.6908
	Quetzaltenango	0.30857	.22387	.642	-0.308	0.9253
	Escuintla	1.85023	.20192	.000	1.2942	2.4062
Quetzaltenango	Embarazadas	2.87990	.22494	.000	2.2577	3.5021
	Niños desnutridos	3.79400	.23538	.000	3.1434	4.4446
	Deportistas CDAG	-.30857	.22387	.642	-0.9253	0.3082
	Escuintla	1.54166	.22603	.000	0.9193	2.1640
Escuintla	Embarazadas	1.33824	.20311	.000	0.7755	1.9010
	Niños desnutridos	2.25234	.21461	.000	1.6582	2.8464
	Deportistas CDAG	-1.85023	.20192	.000	-2.4062	-1.2942
	Quetzaltenango	-1.54166	.22603	.000	-2.1640	-0.9193

Datos experimentales obtenidos por análisis estadístico.

*Significancia estadística.

X. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A. Comparación de métodos

1. Determinación de la concordancia

Se encontró a través del muestreo pareado, que ambos métodos presentaban gran semejanza en los resultados obtenidos al evaluar las muestras. El análisis de *t* pareado, con un resultado de 0.979 y $p=0.325$, nos indica que las lecturas pareadas de cada muestra no presentan una diferencia significativa una de otra. El alto grado de congruencia entre un resultado y otro intra-corrida puede observarse al evaluar el Coeficiente de correlación de concordancia (r_c) con un valor de 0.989 ($p<0.001$). Tomando en cuenta el alto valor de concordancia encontrado entre ambas metodologías, se puede deducir que presentan una capacidad sin diferencia de cuantificar el analito de interés, en este caso la hemoglobina en sangre, por lo que las lecturas obtenidas con el Hemocue® en sangre capilar serán significativamente similares a las obtenidas con la metodología de cianometahemoglobina en sangre venosa (Prieto, Lamarca & Casado, 1998).

Utilizando regresión lineal se evaluó la linealidad de la concordancia de los valores obtenidos de las muestras pareadas. Posteriormente se sometieron a prueba las hipótesis sobre los coeficientes de este modelo lineal (pendiente e intercepto), que indican si existía o no la misma sensibilidad y especificidad entre ambos métodos, y cuya significancia se determinó por medio de la *t* de Student. Encontramos que las lecturas realizadas por el método Hemocue® son concordantes a las realizadas por el método de cianometahemoglobina y que ambas metodologías detectan las diferencias en valores de hemoglobina con una tendencia muy similar, siendo ambas relaciones estadísticamente significativas (Neufeld, García, Sánchez, Newton, Ramírez & Rivera, 2002).

Al existir una buena concordancia entre los valores obtenidos por ambas metodologías, se llega a la conclusión de que las lecturas realizadas con el Hemocue® resultan equivalentes a las obtenidas con el método de cianometahemoglobina y por lo tanto los resultados obtenidos con este equipo son fiables (Bhaskaram, 2003; Hudson-

Thomas, Bingham & Simmons, 1994; Muñoz & Santa María, 2003; Neufeld, García, Sánchez, Newton, Ramírez & Rivera, 2002).

2. Cálculo de sensibilidad y especificidad

La comparación y cálculo de la sensibilidad y especificidad se llevaron a cabo de dos maneras diferentes: primero se evaluó la similitud de la sensibilidad y especificidad del método Hemocue® comparado con las del método de referencia (cianometahemoglobina), por medio de hipótesis planteadas para los coeficientes de regresión lineal y luego se evaluó la sensibilidad y especificidad del Hemocue® para detectar casos de anemia en un cuadro 2x2.

Se inició la comparación de sensibilidad y especificidad entre ambas metodologías realizando una regresión lineal de los valores de hemoglobina obtenidos, evaluando los coeficientes de la recta por medio de la prueba de *t* de Student (ver tabla No. 2). El coeficiente del intercepto de la recta con el eje x (coeficiente alfa) encontrado para esta regresión es de 0.867 ($p=0.002$), que al contrastar con nuestra hipótesis nula ($\alpha=0$), determina que existe diferencia significativa en la especificidad entre ambos métodos (Losilla, J. M., Navarro, B., Palmer, A., Rodrigo, M. F. y Ato, M., 2005). Basados en esto podemos inferir que, aunque ambas metodologías poseen una alta relación lineal, existe algún ruido en las lecturas obtenidas por el Hemocue® manifestando una tendencia hacia abajo en la especificidad de éste (von Shenck, Falkensson y Lundberg, 1986). Aunque no es posible determinar exactamente los factores que inciden en esta variación sobre la especificidad del método Hemocue®, estos generalmente se pueden aducir a dos orígenes:

- variaciones intrínsecas de las muestras:
 - mayor contenido sérico (por ser muestras obtenidas de punción capilar)
 - otras porfirinas presentes (bilirrubinas, protoporfirina)
 - componentes que alteran la densidad óptica (lípidos)
- variaciones intrínsecas del método:
 - variaciones eléctricas
 - variaciones en la conjugación del analito con los reactivos

El valor de la pendiente (coeficiente beta) nos indica la igualdad del valor de hemoglobina detectado por cada método para cada muestra analizada. Se encontró que para

esta serie de muestras $\beta=0.979$, con un valor $p<0.001$. Contrastando este valor con nuestra hipótesis nula ($\beta=1$), en un marco numérico estricto debemos concluir que ambas metodologías difieren significativamente en la sensibilidad de detección de hemoglobina. Cabe mencionar que, aunque el valor de la pendiente no es estrictamente 1, el valor si se asemeja mucho, por lo que se espera que la sensibilidad, aunque no igual, si sea bastante parecida (Losilla, J. M., Navarro, B., Palmer, A., Rodrigo, M. F. y Ato, M., 2005). Nuevamente nos encontramos imposibilitados para poder esclarecer cual es la causa exacta de esta diferencia en la sensibilidad del método Hemocue® y podemos sugerir que se deba a causas relacionadas con las muestras o a variaciones relacionadas con la metodología, como se planteó previamente. También se sugiere que puede existir una variación relacionada con el tamaño de muestra, que en este caso es grande, lo cual puede adicionar una variabilidad inherente de cada muestra, la cual se ve amplificada con el número de muestras tomadas para la comparación (Losilla, Navarro, Palmer, Rodrigo, y Ato. 2005).

Para obtener una determinación de sensibilidad y especificidad más adecuada al contexto clínico, se utilizó un cuadro de contingencia para el diagnóstico de anemia, en este caso definido como un valor de hemoglobina por debajo de los 12 g/dL, contrastando la cantidad de casos de anemia detectados por el Hemocue® en comparación con los detectados por el método de referencia. De tal manera se pudo calcular la sensibilidad (96.77%) y especificidad (97.30%) del Hemocue® para detectar anemia en comparación con el método de referencia. Estos datos concretos coinciden con nuestra comparación de sensibilidad y especificidad realizada por prueba de hipótesis de los coeficientes de regresión, pues ambos indican que aunque son muy similares, existe una diferencia entre la sensibilidad y especificidad de ambas metodologías.

Finalmente se determinó el índice Kappa, coeficiente que permite deducir el grado de concordancia del diagnóstico entre dos metodologías, obteniéndose un valor de 0.932 ($p<0.001$), el cual indica un grado alto de concordancia entre la detección de casos de anemia entre ambas metodologías. Por lo que se puede concluir en que el método Hemocue® presenta la misma capacidad diagnóstica que el método de referencia para la

detección de anemia (Canal, 2006; von Shenck, Falkensson y Lundberg, 1986; Neufeld, García, Sánchez, Newton, Ramírez & Rivera, 2002, p. 219-227; Lewis y otros, 2008).

B. Plan piloto de tamizaje

1. Descripción estadística de los conglomerados

Los diferentes conglomerados que conformaron el estudio de tamizaje de determinación de concentración de hemoglobina se escogieron debido a que representan condiciones patológicas, fisiológicas o ambientales que inducen una variabilidad amplia en las concentraciones medias de hemoglobina. Se encontró que, efectivamente, dichas variaciones permitían realizar una caracterización de cada conglomerado basadas en las concentraciones medias de hemoglobina y que estas respondían a la respuesta fisiológica ante dichas variables.

a. Mujeres embarazadas de Santa Elena Barillas, Villa Canales, Guatemala

Este conglomerado se tamizó basado en la presunción de que debido al alto requerimiento de oxígeno y nutrientes, además de la retención de líquidos intersticiales, produciría un descenso en la concentración de hemoglobina de las mujeres que cursan un embarazo. Si bien la media de hemoglobina de este conglomerado (12.46 g/dL; n=41) se encuentra dentro del rango de referencia, se debe mencionar que hubo 11 casos (27%) que presentaban concentraciones de hemoglobina por debajo de los 12 g/dL, aunque solo uno de estos casos presentaba una concentración de hemoglobina por debajo del rango mínimo recomendado para mujeres embarazada (11 g/dL como mínimo permisible), (DeMaeyer, Dallman & Hallberg, 2011). El que la mayoría de valores de la concentración de hemoglobina se encontrara dentro de un rango de ± 1 g/dL de la media del conglomerado (ver gráfica No. 2) se aduce a que todas las mujeres fueron tamizadas al asistir a un control prenatal en el Puesto de Salud de Santa Elena Barillas, por lo que contaban con asistencia médica y suplementación nutricional.

El equipo Hemocue® facilitó realizar las mediciones previo a la consulta de control prenatal con el médico, obteniéndose los resultados de manera inmediata, lo que permitió proveer dicha información al oficial médico que realizaba el asesoramiento, quien pudo

llevar a cabo las medidas de suplementación necesarias en aquellos casos que lo ameritaban. También se debe destacar que se participó en la búsqueda domiciliar de 5 pacientes que no habían podido acudir a su consulta programada. En esta situación, el equipo Hemocue® fue una herramienta valiosa para la evaluación, especialmente por ser portátil y poder operar con baterías, con lo cual el transporte y análisis en campo fueron efectuados de manera simple y rápida.

b. Niños desnutridos del Centro de Recuperación Nutricional de San Juan Sacatepéquez, Guatemala

El conglomerado de pacientes pediátricos con desnutrición crónica fue incluido dentro del plan de tamizaje debido a que la desnutrición suele ser la causa más frecuente de anemia. Los pacientes pediátricos ameritan un especial control de la concentración de hemoglobina, pues al encontrarse en las fases de desarrollo físico y cognoscitivo más importantes, presentan altos requerimientos de oxígeno a nivel tisular. Al encontrarse clasificados como pacientes con desnutrición crónica o en fase de recuperación nutricional, se esperaba encontrar un valor medio de la concentración de hemoglobina por debajo del límite de referencia (Bancroft, et al, 2000). 56% de los pacientes presentó anemia, siendo esta incidencia de casos patente con las deficiencias nutricionales que conllevan a una anemia carencial, pero a la vez, el que las concentraciones de hemoglobina no se encuentren tan alejadas de la media del conglomerado (ver gráfica No. 2) se deba a la gradual recuperación nutricional, que depende de la cantidad de tiempo que el paciente ha recibido terapia. Esto se explica a que los niños ya se encontraban dentro de un régimen de recuperación nutricional y suplementación vitamínica, por lo que su capacidad metabólica de síntesis de hemoglobina mejoraba considerablemente con la progresión del tratamiento. (Lönnerdal & Dewey, 1995).

Durante la evaluación de este conglomerado fue de especial utilidad la menor necesidad invasiva y pequeña cantidad de muestra necesaria para realizar la determinación de hemoglobina con el equipo Hemocue®, pues el obtener muestras de pacientes pediátricos siempre representa una labor dificultosa. El registro de las determinaciones de hemoglobina se pudo entregar al personal de apoyo del Centro de Recuperación Nutricional

el mismo día en que se realizó el tamizaje, permitiendo que realizaran la readecuación de la terapia nutricional lo más oportunamente posible.

c. Deportistas de la Confederación Deportiva Autónoma de Guatemala (CDAG), Ciudad de Guatemala

El conglomerado de deportistas se incluyó dentro del plan de tamizaje debido a que los deportistas de alto desempeño presentan un mayor requerimiento de la capacidad de oxigenación debido al gran rigor físico de sus actividades como a la elevada tasa metabólica correspondiente a la complexión musculosa, aunado a una adecuada alimentación y suplementación vitamínica, el organismo produce una mayor cantidad de hemoglobina para acoplarse a la exigencia física (West, 1996; Lewis, Bain & Bales, 2008). Es por esto que se esperaba una concentración media de hemoglobina con una tendencia hacia los rangos superiores de referencia (>16 g/dL). Se encontró una media de hemoglobina de 15.96 g/dL en este conglomerado, lo cual confirmó esta proposición y a la vez se observaron valores que excedían por varios g/dL esta concentración, reflejando una tendencia hacia la derecha de la media grupal (ver gráfica No. 2).

El Hemocue® permitió procesar una gran cantidad de muestras en poco tiempo, gracias a que los resultados se obtenían en ~45 segundos y el tiempo total de procesamiento no excedía los 5 minutos incluyendo el registro y entrega de resultados. Esto fue de gran utilidad, ya que este conglomerado en especial demostró gran interés en la prueba, pues en muchas disciplinas deportivas el mantener concentraciones de hemoglobina altas representa una ventaja física sobre otros competidores.

d. Residentes del departamento de Escuintla (< 500 msnm)

El departamento de Escuintla cuenta con una elevación promedio sobre el nivel del mar de 440 m y en su punto más bajo, en la región costera, se encuentra al mismo nivel del mar. Esta condición topológica incide en una mayor saturación de oxígeno atmosférico por lo que los residentes permanentes deberían presentar una concentración media de hemoglobina con una tendencia más cercana al valor inferior del rango de referencia,

siendo 12 y 13.5 g/dL, para género femenino y masculino respectivamente (Lewis, Bain y Bales, 2008; World Health Organization, 2011).

Se halló una media de hemoglobina para este conglomerado (n=106) de 13.79 g/dL. Este valor medio de concentración de hemoglobina concuerda con la esperada para este conglomerado, presentando una tendencia no patológica orientada hacia los límites inferiores de los rangos de referencia. Cabe mencionar que la amplitud observada en la desviación estándar corresponde a valores bastante separados de la media en ambos extremos de la distribución, encontrándose 9 casos (8.5%) con valores de hemoglobina por debajo de los 12 g/dL y 3 casos (2.8%) que superiores a los 17 g/dL. Estos casos, aunque de baja incidencia, tienden a crear una mayor amplitud en la desviación estándar con respecto a la media, lo cual también se atribuye a que el número de muestra (n=106) es mayor en este caso que en los previamente expuestos. A pesar de esta variabilidad no prevista, la mayoría de casos se concentraron alrededor del valor medio encontrado para este conglomerado, por lo que se consideraron aceptables dentro de la distribución, pues no modificaban significativamente la caracterización del conglomerado.

e. Residentes del departamento de Quetzaltenango (> 2,000 msnm)

El departamento de Quetzaltenango se encuentra ubicado en el altiplano del occidente del país y cuenta con una elevación promedio de 2,357 msnm. La gran elevación sobre el nivel del mar conlleva a una atmósfera con menor presión parcial de oxígeno. Como respuesta fisiológica a esta baja concentración de oxígeno, el organismo tiende a producir mayor cantidad de hemoglobina, captando la mayor cantidad de oxígeno posible durante cada inhalación (World Health Organization, 2011). Tomando en consideración estos factores, se designó al conglomerado de habitantes de alta elevación sobre el nivel del mar en este departamento, esperando obtener una media de concentración de hemoglobina con una tendencia hacia los límites superiores de los rangos de referencia de 17 g/dL.

Se encontró un valor medio de concentración de hemoglobina en el conglomerado (n=100), con una desviación estándar de 1.738 g/dL. Se encontró una marcada tendencia de la media (15.34 g/dL) hacia el límite superior de los valores de referencia, lo cual era

esperado, basado en la elevación sobre el nivel del mar en la que se ubica esta población. De especial interés es el mayor valor de la desviación estándar, la más grande entre los conglomerados, pues muestra un rango más amplio de desviación de la media y por lo tanto una mayor heterogeneidad de la población (ver gráfica No. 2).

Como se ha mencionado previamente, la variabilidad biológica (talla y peso, masa muscular) y ambientales (residencia sobre el nivel del mar, presión parcial de oxígeno) son generalmente factores que tienden a determinar la cantidad de hemoglobina presente en la sangre, de manera no patológica (Lewis, Bain & Bales, 2008; World Health Organization, 2011). Tomando en consideración estas variables, se puede aducir que la muestra estaba compuesta de una amplia variación de sujetos que, independiente de éstas variaciones biológicas, manifiestan valores medios de hemoglobina superiores a los de otros conglomerados evaluados, derivado principalmente de los factores topológicos que actúan sobre ellos. Es por lo tanto que se observa el mayor grueso de frecuencias apiladas en los rangos entre 14 a 18 g/dL para este conglomerado, aunque se presenten valores de menor frecuencia hacia ambos lados de la distribución.

2. Comparación de medias de concentración de hemoglobina entre conglomerados

La comparación de los valores medios de hemoglobina entre conglomerados se llevó a cabo para observar si existía alguna diferencia estadísticamente significativa entre cada uno de éstos, la cual de existir plantea la necesidad de establecer rangos de referencia acorde a cada población, según los factores de variabilidad biológica y ambiental que se presentan. Para llevar a cabo esta comparación, se realizó una ANOVA de un factor, evaluando la media de concentración de hemoglobina (en g/dL) de cada conglomerado frente a la de los otros cuatro conglomerados. Se llevó a cabo también una comparación de varianzas (prueba de Levene), para determinar si las varianzas eran iguales o diferían estadísticamente entre los conglomerados (Losilla, Navarro, Palmer, Rodrigo & Ato, 2005).

A través de un análisis complementario de Games-Howell (ver tabla No. 7) se encontró que los únicos conglomerados con medias de concentración de hemoglobina estadísticamente similares ($p=0.642$) eran los de deportistas de la CDAG ($\mu=15.64$ g/dL,

n=92) y residentes de Quetzaltenango ($\mu=15.34$ g/dL, n=106), con una diferencia absoluta de 0.3 g/dL entre sus medias y varianzas similares ($p=0.043$). Todos los demás contrastes entre las medias de los conglomerados presentaron variaciones estadísticamente significativas ($p<0.05$), con diferencias absolutas entre las medias en un rango entre 0.91 g/dL (conglomerado de mujeres embarazadas vs. niños desnutridos) hasta 4.10 g/dL (conglomerado de niños desnutridos vs. deportistas). Estos datos representan la variación significativa que existe entre diferentes grupos humanos expuestos a diferentes variables ambientales y biológicas.

Es interesante observar que debido a la gran exigencia física, mayor masa muscular y una muy buena alimentación, el conglomerado de deportistas de la CDAG (en el departamento de Guatemala) presente valores de concentración media de hemoglobina similares a los observados en el conglomerado de residentes del departamento de Quetzaltenango, cuyos organismos se han adaptado a las condiciones ambientales (elevación media sobre el nivel del mar de 2,357 m) para captar mayor oxígeno de la atmosfera enrarecida.

También cabe destacar la marcada diferencia existente entre el conglomerado de deportistas de la CDAG y el de niños desnutridos del CRN, ambos ubicados en el departamento de Guatemala. Se evidencia la amplia diferencia en concentración media de hemoglobina observada (4.10 g/dL), que se podría asociar a la alimentación correcta y suplementación necesaria. Este factor, aunado al desempeño físico, podría explicar la polarización evidente entre estos dos grupos.

En cuanto a la utilización del Hemocue® en campo, cabe recordar que las mediciones realizadas con éste se pueden efectuar en el sitio donde se encuentra el paciente, con un mínimo volumen de muestra obtenida por medio de una técnica menos invasiva y de más fácil ejecución, en un tiempo de 45 a 60 segundos (HemoCue® Hb 301 system, 2006). Estas ventajas hacen que el equipo Hemocue® sea una excelente herramienta para las encuestas poblacionales epidemiológicas. En el contexto clínico, la buena correlación obtenida en comparación con el método de referencia lo hace bastante

útil, permitiendo contar con un equipo de laboratorio que ofrece mediciones fiables en los escenarios rurales de nuestro país, brindando la oportunidad de captar y tratar oportunamente más casos de pacientes que padecen de anemia en el sitio de su primer consulta médica (Sari, et al, 2001; Bhaskaram, 2003; Neufeld, García, Sánchez, Newton, Ramírez, & Rivera, 2002).

XI. CONCLUSIONES

1. La concentración de hemoglobina medida por el método HemoCue® y el método de cianometahemoglobina presentó un coeficiente de correlación de concordancia (r_c) de 0.989 ($p < 0.001$) y no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las medidas de cada par de lecturas ($t = 0.979$, $p = 0.32$), por lo que se concluye que no existe diferencia significativa entre las dos metodologías para la cuantificación de hemoglobina en sangre.
2. Se determinó una sensibilidad de 96.77%, especificidad de 97.30% y un índice Kappa de 0.932 para el diagnóstico cualitativo de anemia utilizando la metodología HemoCue® al comparar con el método de cianometahemoglobina con.
3. Las medias de concentraciones de hemoglobina de los conglomerados de Residentes de Quetzaltenango y el conglomerado de Deportistas no diferían significativamente ($p = 0.642$). Todos los demás conglomerados presentaban diferencia significativa del valor medio de hemoglobina al ser comparados entre sí ($p < 0.05$).

XII. RECOMENDACIONES

Los hallazgos de esta investigación indican que el método Hemocue® posee una capacidad para determinar la concentración de hemoglobina en sangre sin diferencia significativa a la del método estándar. Considerando la facilidad que representa un sistema portátil, que utiliza un mínimo volumen de muestra y que provee resultados de manera muy rápida, se recomienda implementar el uso de HemoCue® en:

- Puestos o centros de salud donde es limitado el acceso a equipo de laboratorio
- Salas de emergencia o unidades de cuidados intensivos
- Bancos de Sangre (para tamizaje de donantes)
- Encuestas nutricionales o estudios de tamizaje

El plan piloto de tamizaje desarrollado presentó datos sobre la concentración de hemoglobina en diferentes subgrupos poblacionales. Es importante el llevar a cabo más estudios que permitan realizar una caracterización de los habitantes del país, con lo cual se podrán establecer parámetros de referencia mejor acoplados a los habitantes de nuestro país.

XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bancroft, C., Benguigui, Y., Canahuati, J., Carrasco, P., de Carvalho, M., de Quadros, C. Yunes, J. (2000). *Acciones de Salud Materno Infantil a nivel local: Según las metas de la Cumbre Mundial a favor de la infancia*. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud.
- Bhaskaram, P. (2003). Validation of hemoglobin estimation using HemoCue. *Indian Journal of Pediatrics*, 70(1), 25-28.
- Canal, N. (2006). Comparación de Proporciones. Métodos estadísticos para enfermería nefrológica. (1ra Ed.) España: Sociedad Española de Enfermería Nefrológica.
- Casanueva, E., de Regil, L.M., y Flores-Campuzano, M.F. (2006, marzo/abril). Anemia por deficiencia de hierro en mujeres mexicanas en edad reproductiva. Historia de un problema no resuelto. *Salud Pública de México*, 48(2), 166-175.
- Espinoza, M., Rodríguez, M., y Trejos, M. (2009). Caracterización de la adolescente embarazada atendida en la clínica Francisco Bolaños. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 66(587), 21-25.
- Freire, W.B. (1998). La anemia por deficiencia de hierro: estrategias de la OPS/OMS para combatirla. *Salud Pública de México* 40, 199-205.
- Guatemala. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (1995). *Informe de la Encuesta Nacional de Micronutrientes: Guatemala 1995*. Guatemala: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, Organización Panamericana de la Salud.
- Guatemala. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2004). *Situación de la salud y sufrimiento: Tercer informe. Período 1999–2003*. Ciudad de Guatemala: Autor.
- Gueri, M. (1993). Deficiencia de hierro en América Latina y el Caribe. Tercer Taller regional sobre deficiencia de vitamina A y otros micronutrientes en América Latina y el Caribe. Recife, Brasil. 1993. pp. 45.
- HemoCue® Hb 301 system. (2006). *HemoCue AB*. Ängelholm, Sweden: Autor.
- HemoCue® Hb 301. (2006). *Manual para el usuario*. California, EE.UU.: HemoCue AB.

- Hrosso, D., y Buys, A.C. (2001). Anemia ferropénica, normas de diagnóstico y tratamiento. *Archivo Argentino de Pediatría*, 99(2), 162-175.
- Hudson-Thomas, M., Bingham, K.C., & Simmons, W.K. (1994). An evaluation of the *HemoCue*® for measuring haemoglobin in field studies in Jamaica. *Bulletin of the World Health Organization*, 72(3), 423-426.
- Johns, W. L., & Lewis, M. S. (1989). Primary health screening by haemoglobinometry in a tropical community. *Bulletin of the World Health Organization*, 67(6), 214-222.
- King, M.W. (2002). *Medical Biochemistry*. Recuperado de: Indiana University School of Medicine. Web Site: <http://themedicalbiochemistrypage.org/>
- Lewis, S.M., Bain, B.J., y Bales, L. (2008). *Dacie y Lewis: Hematología Práctica* (10a ed.). España: Elsevier España. pp. 173-176, 576-578.
- Lönnerdal, B., y Dewey, K.G. (1995). Epidemiología de la deficiencia de hierro en lactantes y niños. *Anales Nestlé*, 53, 12-19.
- Losilla, J. M., Navarro, B., Palmer, A., Rodrigo, M. F. y Ato, M. (2005). Del contraste de hipótesis al modelado estadístico. *Documenta Universitaria*.
- Malcorra, J.J. (2007). Hemoglobinopatías y talasemias. Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario Materno-Infantil Las Palmas Gran Canaria. *Revista Canarias Pediátrica*, 25(2), 265-277.
- Masimo Rainbow SET®. (2009). *Carboxihemoglobina*. España: Autor.
- Muñoz, M., Santa María, L. (2003). *Comparación del método de HemoCue con el método de Cianometahemoglobina para la valoración de la hemoglobina*. Instituto Nacional de Salud, Perú.
- Neufeld L., Garcia, A., Sánchez, D., Newton, O., Ramirez, M., & Rivera, J. (2002, mayo/junio). *Hemoglobin measured by HemoCue and a reference method in venous and capillary blood: A validation study*. *Salud Pública de México*, 44(3), 219-227.
- Pan American Health Organization. (2007). Volume II–Countries: Guatemala. *Health in the Americas*, 2, 375-393.
- Prieto, L., Lamarca, R., Casado, A. (1998). La evaluación de la fiabilidad en las observaciones clínicas: el coeficiente de correlación intraclase. *Medicina Clínica*, 110(4), 142 – 145.

- Ritchard, G. (s.f.). *Determinación de hemoglobina en Donantes de Sangre*. Recuperado de: Universidad de la Escuela de Medicina de Connecticut, Departamento de Medicina y Laboratorio Médico. Web Site: <http://www.biosistemas.com.uy/>
- Sari, M., de Pee, S., Martini, E., Herman, S., Sugiatmi., Bloem, M., & Ray, Y. (2001). Estimating the prevalence of anaemia: A comparison of three methods. *Bulletin of the World Health Organization*, 79(6), 506-511.
- Shadduck, R.K. (2000). *Anemia. Hematología de Williams* (6ta ed.). New York: McGraw-Hill.
- Stoltzfus, R. J. (2001). Iron-deficiency anemia: Reexamining the nature and magnitude of the public health problem. *Journal of Nutrition*, 131(2), 697S–701S.
- Vives, J., y Aguilar, J. (2006). *Manual de técnicas de laboratorio en hematología* (3a ed.). España: Masson Elsevier.
- West, C.E. (1996). Iron deficiency: The problem and approaches to its solution. *Food and nutrition Bulletin*, 17(1), 37-41.
- World Health Organization. (2011). Concentraciones de hemoglobina para diagnosticar la anemia y evaluar su gravedad. Ginebra, Organización Mundial de la Salud.
- World Health Organization/ United Nations Children’s Fund/ United Nations University [WHO/UNICEF/UNU]. (2001). *Iron deficiency anaemia: Assessment, prevention, and control*. World Health Organization. (WHO/NHD/01.3). Recuperado de: http://www.who.int/nut/documents/ida_assessment_prevention_control.pdf.
- World Health Organization/ United Nations Children’s Fund/ United Nations University [WHO/UNICEF/ONU]. (1994). *Consultation on indicators and strategies for iron deficiency and anemia programmer*. Ginebra: World Health Organization.

C. Boleta de reporte de resultados

Hemoglobina con el método HemoCue Hb301		No. Muestra
Nombre _____ Edad _____ Género _____		
Hemoglobina _____ g/dL		
Responsable _____ Guatemala, ___ / ___ /2010		
<u>Valores de referencia</u>		
Género masculino: 13-18 g/dL		<i>“Si su resultado se encuentra fuera de los valores de referencia, favor consultar con su médico”</i>
Género femenino: 12-16 g/dL		

D. Carta de presentación de Estudio



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
Escuela de Química Biológica.

Guatemala, __ de _____ de 201_.

Respetable _____ ,

Por medio de la presente misiva me permito desearle éxitos en sus actividades diarias. El motivo de la misma es el de informarle sobre el estudio que nos encontramos realizando, titulado “Comparación y Evaluación de la Medición de Hemoglobina Utilizando el Método HemoCue Contra un Método de Referencia”. Este trabajo conforma un seminario de investigación auspiciado por la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, y el cual llevamos a cabo como trabajo final de evaluación de la carrera de Química Biológica.

El estudio se basa en llevar a cabo determinación de hemoglobina, tanto en sangre venosa como capilar, en diferentes poblaciones del país, evaluando diferentes condiciones geográficas, fisiológicas y patológicas, para poder comparar el desempeño del equipo portátil HemoCue con las metodologías de laboratorio clínico. Éste equipo cuenta con la facilidad no solo de ser liviano y portátil, si no que también puede ser operado por personal de salud con una mínima capacitación en su uso, facilitando así la necesaria medición de hemoglobina en áreas remotas, con falta de equipo de laboratorio ó en ambientes intrahospitalarios de alta demanda.

Dentro de las áreas y poblaciones que hemos planteado para muestrear se encuentra la de _____. Es por esto que solicitamos su apoyo para la realización del muestreo. Éste constará de una toma de muestra sanguínea de la vena de sus pacientes, para ser usada como control en el laboratorio; y una punción capilar (tomada del dedo) para realizar una medición de la hemoglobina *in situ*. Se dejará a discreción del personal de salud de su área si desean que se les entregue este valor, para fines de control. En todo momento se respetará la decisión del los pacientes a no participar en el estudio, y se tratarán las muestras con los niveles mas altos de confidencialidad y ética como corresponde al personal profesional de salud.

Agradeciendo su atención a la presente y desde ya por su valiosa colaboración, nos suscribimos,

José Miguel Echeverría B.

Alma Ilusión Quiroz L.

Licda. Margarita Paz, MA.

E. Procedimientos Operativos Estándar (POE)

2010

Procedimiento Operativo Estandarizado

Flebotomía

1. Objetivo/ Propósito

La flebotomía constituye una de las etapas más importantes en el trabajo del laboratorio clínico. Por una parte representa el primer contacto entre el laboratorio y sus pacientes y desde el punto de vista de la muestra sanguínea, la enorme importancia que conlleva una muestra apropiadamente colectada, la seguridad de su origen y el correcto envasado y transporte, constituyen factores fundamentales en la evaluación e informe de los exámenes a realizar. Es por esto que es necesario estandarizar este procedimiento

2. Alcance/ Campo de aplicación

Personal encargado de toma de muestras

3. Responsables

El personal asignado a realizar el trabajo técnico debe cumplir las disposiciones contenidas en el POE

4. Definiciones

4.1 Flebotomía: (del griego phleps, y tomē, sección). Incisión de una vena practicada para extraer cierta cantidad de sangre, un coágulo o introducir un catéter. Sangría venosa.

5. Desarrollo del procedimiento

5.1 Materiales y Reactivos

- Algodón
- Alcohol 70%
- Ligadura
- Jeringa o camisa de extracción
- Agujas estériles
- Tubos para extracción
- Recipiente para descarte punzo cortante
- Recipiente para descarte de material bioinfeccioso

5.2 Almacenamiento

Almacenar todos los materiales en un lugar seco y fresco.

6. Procedimiento

6.1 Preparar los materiales a utilizar: algodón embebido en alcohol, ligadura, camisa vacutainer con aguja o jeringa con aguja y tubo para recolectar la muestra.

6.2 Colocar al paciente sentado, de frente, con el brazo extendido recostado sobre una superficie sólida.

6.3 Colocar la ligadura alrededor del brazo del paciente, a una altura de 2 pulgadas sobre el área de punción y ubicar el mejor acceso venoso.

6.4 Limpiar el área de punción con el algodón con movimientos espirales hacia afuera.

6.5 Desencapuchar la aguja e introducirla una pulgada por debajo del área visible de la vena y canalizarla.

6.6 Introducir el tubo de recolección en la camisa y extraer la sangre, por vacío. Al terminar de llenar el tubo, quitarlo suavemente de la camisa vacutainer. Mover el tubo en forma de ocho durante 30 segundos para homogenizar el anticoagulante con la muestra.

6.7 Si se utilizó jeringa, lentamente retraer el embolo para extraer la muestra de sangre.

6.8 Quitar la ligadura y extraer la aguja.

6.9 Tapar el sitio de punción con el algodón y solicitar al paciente que doble el brazo y lo mantenga así por 2 a 3 minutos.

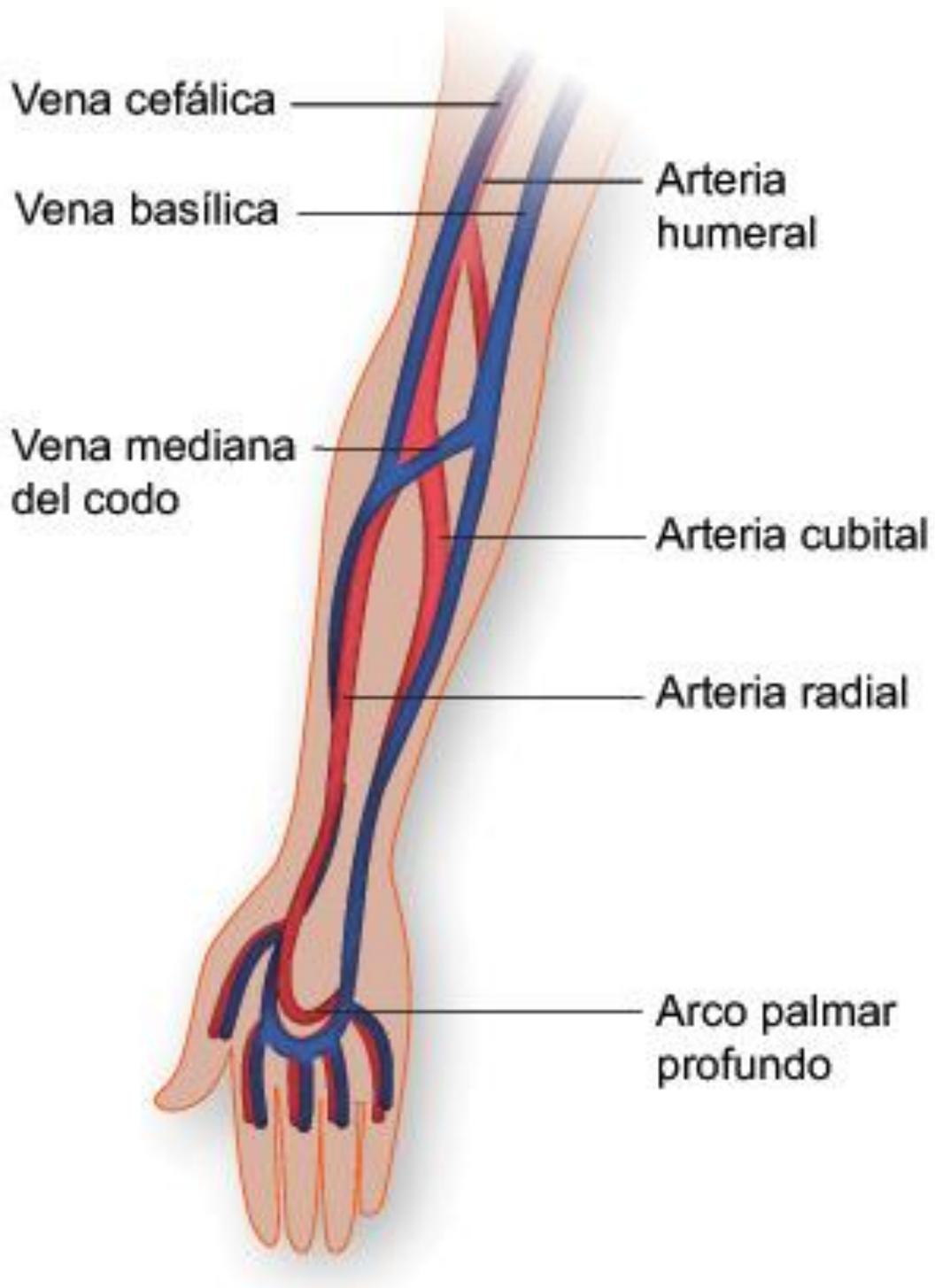
6.10 Si se utilizó jeringa, se debe destapar el tubo al vacío, retirar la aguja de la jeringa y verter la muestra en el tubo. Recordar agitar el tubo en forma de ocho para lograr una homogenización con el anticoagulante.

Referencias Bibliográficas

1. Garza D and Becan-McBride K. ***Phlebotomy Handbook***, 2nd Ed. Norwalk, Connecticut: Appleton and Lange

Anexo

Sitios para realizar flebotomía



Lista de Distribución

El personal encargado de toma de muestra y utilización de HemoCue es responsable de seguir las especificaciones contenidas en el presente manual y aplicar los procedimientos específicos indicados

Los responsables del estudio deben asegurar la idoneidad de equipos, materiales, reactivos e instalaciones.

2010

Procedimiento Operativo Estandarizado

Método de Cianometahemoglobina

1. Objetivo/ Propósito

Protocolizar y estandarizar una de las diferentes técnicas utilizadas para la determinación cuantitativa de hemoglobina.

2. Alcance/ Campo de aplicación

Personal encargado del procesamiento de muestras

3. Responsables

El personal asignado a realizar el trabajo técnico debe cumplir las disposiciones contenidas en el POE

4. Definiciones

4.1 Espectrofotómetro: instrumento usado en la física óptica que sirve para medir, en función de la longitud de onda, la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica relativos a dos haces de radiaciones. También es utilizado en los laboratorios de química para la cuantificación de sustancias y microorganismos ⁽¹⁾.

5. Desarrollo del procedimiento

5.1 Principio: el método está basado en la determinación de cianometahemoglobina aceptada como el método estándar. La hemoglobina de la muestra de sangre total es liberada de los eritrocitos y es oxidada por Hexacianoferrato de potasio (III) formando metahemoglobina. Esta reacciona con el cianuro formando cianometahemoglobina estable cuya absorbancia a 540nm es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina de la muestra.

5.2 Materiales y Reactivos

- Muestra sanguínea con EDTA
- Tubos de ensayo
- Pipetas
- Gradillas
- Espectrofotómetro
- Cubetas para espectrofotómetro
- Reactivo de Drabkin

5.3 Almacenamiento

El material debe ser almacenado en un lugar seco, las muestras de hemoglobina en refrigeración y lejos de la luz para evitar degradación

5.4 Muestra

Sangre total obtenida por venopunción y recolectada en tubo con EDTA

6. Procedimiento

- 6.1** Mezclar 1 ml de reactivo con 5 μ L de sangre
- 6.2** Enjuagar abundantemente la pipeta con reactivo de trabajo
- 6.3** Reposar por 3 min
- 6.4** Leer la absorbancia después de 3 min frente a un blanco de reactivo
- 6.5** El cambio de absorbancia multiplicarlo por 29.4 para obtener g/dL
- 6.6** El factor de conversión es 1,611

Referencias Bibliográficas

1. ESPECTROFOTÓMETROS Y FOTOCOLORÍMETROS. Guía práctica de actualización. Acta bioquímica clínica. latinoamericana. v.39 n.4 La Plata septiembre/diciembre. 2005. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S032529572005000400014&script=sci_arttext.

Anexo

Inserto de método cianometahemoglobina marca Human ®

HEMOGLOBIN liquicolor

Prueba colorimétrica fotométrica para la determinación de hemoglobina en sangre
Método de la cianmetahemoglobina

Presentación del estuche
[REF] 10751 para 10 x 500 ml Concentrados de reactivos

[VD]

Método^{1,2}

El método está basado en la determinación de cianmetahemoglobina aceptada como método estándar. La hemoglobina de la muestra de sangre total es liberada de los eritrocitos y es oxidada por hexacianoferrato de potasio (II) formando metahemoglobina. Esta reacción con el cianuro formando cianmetahemoglobina estable cuya absorbancia a 540 nm es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina en la muestra.

Contenidos

[ROT A] 10 x 25 ml Concentrado de reactivo A
Hexacianoferrato de potasio (II) 12 mmol/l
Bicarbonato de potasio 230 mmol/l

[ROT B] 10 x 25 ml Concentrado de reactivo B
Cianuro de potasio 14 mmol/l
Bicarbonato de potasio 230 mmol/l

Preparación del reactivo de trabajo [W]

Preparar [W] mezclando un frasco de [ROT A] y un frasco de [ROT B] con 450 ml de agua desionizada. Almacenar [W] en un frasco o recipiente de vidrio oscuro y etiquetar cuidadosamente.

Estabilidad de reactivos

[ROT A] y [ROT B] son estables hasta su fecha de caducidad cuando se almacenan en la oscuridad de 15...25°C.

Almacenado en la oscuridad de 15...25°C, [W] es estable por 12 meses después de su preparación, pero no más allá de su fecha de caducidad. Evitar la contaminación.

Muestras

Sangre capilar, sangre venosa EDTA.

Estable por 6 meses cuando se almacena a -20°C y 7 días cuando se almacena a 2...25°C.

Ensayo

Longitud de onda: Hg 546 nm (540 nm)
Paso de luz: 1 cm
Temperatura: 20...25°C
Medición: Frente al blanco de reactivo (incremento de la absorbancia).

Esquema de pipeteo

Pipetear en los tubos:	Macro	Semi micro
[W]	5 ml	1 ml
Sangre	20 µl	5 µl

Enjuagar la pipeta (sahlí ó pipeta capilar) varias veces con [W], mezclar bien y leer la absorbancia después de 3 minutos por lo menos frente a un blanco de reactivo (ΔA). El color del complejo sobrante es estable por aprox. 2 horas cuando se protege de la luz.

Cálculos de la concentración de la hemoglobina

	Hemoglobina(Hb)		Hemoglobina/4 (Hb/4)
	[g/dl]	[g/l]	[mmol/l]
Macro	36,8 x ΔA	368 x ΔA	22,6 x ΔA
Semi micro	29,4 x ΔA	294 x ΔA	18,2 x ΔA

Factor de conversión: Hb [g/dl] x 0,6206 = Hb/4 [mmol/l]
Hb/4 [mmol/l] x 1,611 = Hb [g/dl]

Valores de referencia³

	Hb [g/dl]	Hb/4 [mmol/l]
Mujeres	12-16	7,5 - 10,0
Hombres	14-18	8,7 - 11,2
Recién nacidos	16-25	10,0 - 15,6
Bebés	10-15	6,2 - 9,3
Niños de corta edad	11-14	6,8 - 8,7
Niños	12-16	7,5 - 10,0

Control de calidad

Para un control de precisión usar controles comercialmente disponibles.

Características de la ejecución

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible vía www.human.de/data/gb/vr/su-hbhc.pdf

www.human.de/comidata/gb/vr/su-hbhc.pdf

Notas

- [W] y [ROT] contienen cantidades escasas de la sustancia tóxica cianuro de potasio (R26/27/28-32). No ingerir ó inhalar! Si los reactivos entran en contacto con piel y membranas mucosas lavar con abundante agua. Usar pipetas de seguridad ó dispensadores para dispensar el [W]. Descartar según las regulaciones locales.
- Evitar el contacto con ácidos!
- Proteger [W] de la luz directa y calor bien. [W] debería ser claro y de color amarillo claro. No usar [W] turbio ó incoloro.
- Recomendamos el uso de pipetas de Sahlí ó pipetas capilares (20 µl ó 5 µl).

Literatura

- Van Kampen, E.J., Zijlstra, W.G., Clin. Chim. Acta 6, 536 (1961)
- International Committee for Standardization in Hematology (ICSH), Brit. J. of Hematology, 13 Suppl., 71 (1967)
- Wintrobe, M.M., Clin. Hematology, Lea & Febinger, Philadelphia, Pa. 4th Edn. 1956
- ISO 15223 Medical devices – Symbols to be used with medical device labels, labeling and information to be supplied.

SU48LC
NF 375101 E
01-2004-3



Human Gesellschaft für Biochemica and Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65235 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 9122 9900 0 - Telefax: +49 9122 9900 100 - eMail: human@human.de

Lista de Distribución

El personal encargado de toma de muestra y utilización de HemoCue es responsable de seguir las especificaciones contenidas en el presente manual y aplicar los procedimientos específicos indicados

Los responsables del estudio deben asegurar la idoneidad de equipos, materiales, reactivos e instalaciones.

2010

Procedimiento Operativo Estandarizado

HemoCue Hb 301

1. Objetivo/ Propósito

La toma y procesamiento de muestras sanguíneas ocupan un lugar muy importante en el cumplimiento de los objetivos planteados en los proyectos de investigación, en esto descansa la importancia de establecer el procedimiento adecuado para la determinación cuantitativa de hemoglobina basado en el sistema HemoCue Hb 301

2. Alcance/ Campo de aplicación

Personal encargado de toma y procesamiento de muestras en el sistema HemoCue Hb 301

3. Responsables

El personal asignado a realizar el trabajo técnico debe cumplir las disposiciones contenidas en el POE

4. Definiciones

4.1 Microcubeta: formada por un cuerpo y una cavidad con una zona de medición dentro del elemento de cuerpo. La cavidad esta definida por dos superficies interiores opuestas y básicamente paralelas del cuerpo e incluye un borde periférico exterior que comprende una entrada para muestras y una zona periférica interior con un canal que tiene una fuerza capilar mayor que la de la zona de medición. El canal se extiende alrededor de toda la zona periférica interna, comunicándose los extremos del canal con la atmósfera en el exterior de la microcubeta ⁽¹⁾.

4.2 Punto isosbético: este término se emplea generalmente con referencia a un conjunto de espectros de absorción, se representa en el mismo grafico para un conjunto de soluciones en las que la suma de las concentraciones de absorción de dos componentes principales, A y B es constante ⁽²⁾.

5. Desarrollo del procedimiento

5.1 Principio: el sistema consiste de un analizador junto con microcubetas. La microcubeta sirve como una pipeta y como una cubeta de medición. Una muestra de sangre de aproximadamente 10 μ L es arrastrada dentro de la cavidad por acción capilar. La medición se realiza en el analizador, el cual mide la absorción de la sangre pura en un punto isobéptico Hb/HbO₂. El analizador mide en dos amplitudes de onda (506 y 880nm) para compensar la turbidez.

5.2 Materiales y Reactivos

- Analizador HemoCue Hb 301
- Microcubetas HemoCue Hb 301
- Lancetas
- Papel Mayordomo
- Algodón
- Alcohol 70%

5.3 Almacenamiento

Las microcubetas deberán ser almacenadas en un cuarto seco a 10-40 °C, son estables dos años después de la fecha de manufacturación si los frascos no han sido abiertos. Si han sido abiertos, el reactivo es estable por tres meses.

5.4 Muestra

Sangre obtenida por punción capilar

6. Procedimiento

6.1 Configuración del sonido

6.1.1 Asegurar que el analizador se encuentre apagado. Presione el botón de encendido/apagado durante 10 segundos aproximadamente

6.1.2 Si se muestra un símbolo de campana parpadeante el sonido se encuentra encendido, de lo contrario se encuentra apagado

6.2 Toma de muestra

- 6.2.1** Verificar que el portador de cubeta se encuentre en posición de carga
- 6.2.2** Asegurar que la mano del paciente se encuentre caliente y relajada
- 6.2.3** Utilizar únicamente el dedo anular
- 6.2.4** Desinfectar el área en la que se tomará la muestra
- 6.2.5** Usando su pulgar, presione ligeramente el dedo desde la parte superior del nudillo hacia la punta
- 6.2.6** Tome la muestra en el costado de la punta del dedo, punce el dedo utilizando la lanceta
- 6.2.7** Descarte las primeras 2-3 gotas de sangre
- 6.2.8** Reaplique una ligera presión hacia la punta del dedo hasta que aparezca otra gota de sangre
- 6.2.9** Cuando la gota de sangre es lo suficientemente grande, llene la microcubeta en un proceso continuo, sin volver a llenar
- 6.2.10** Elimine el exceso de sangre del exterior de la microcubeta con un lienzo limpio sin hebras, sin tocar el extremo abierto de la microcubeta
- 6.2.11** Si se observaran burbujas grandes en la microcubeta llena, descártela

6.3 Análisis:

- 6.3.1** Con la microcubeta correctamente llena solamente se cuenta con 40 segundos para colocarla en el portador de cubeta
- 6.3.2** Al colocarla en el portador este automáticamente se deslizará a la posición de medición

- 6.3.3 Después de aproximadamente 10 segundos es desplegado el valor de hemoglobina
- 6.3.4 Anotar el resultado obtenido
- 6.3.5 Descartar la microcubeta en un recipiente para objetos punzo-cortantes

6.4 Mantenimiento externo

- 6.4.1 Debe ser realizado después de su uso, con el instrumento apagado
- 6.4.2 Jale el portador de la cubeta fuera de su posición de carga
- 6.4.3 Presione el pequeño prensillo sobre el portador de cubeta utilizando un objeto puntiagudo
- 6.4.4 Limpie el portador de cubeta con alcohol al 70%

6.5 Mantenimiento interno

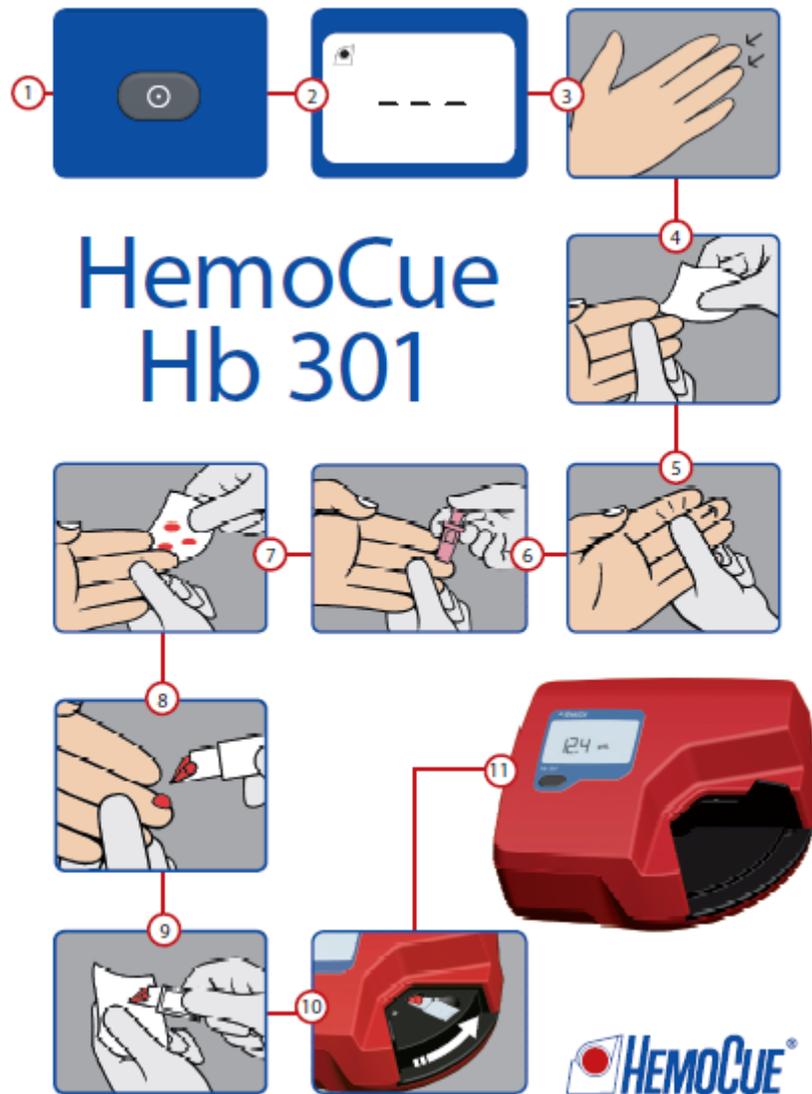
- 6.5.1 Cuando la unidad óptica se ensucia, es desplegado un código de error, para limpiar la unidad, empuje un hisopo limpiador HemoCue Hb 301 en la apertura del portador de cubeta
- 6.5.2 Mueva 5-10 veces de lado a lado
- 6.5.3 Si el hisopo está sucio, repita con un nuevo hisopo
- 6.5.4 Limpie los compartimientos negros del alojamiento del portador de cubeta
- 6.5.5 Espere a que se seque.

Referencias Bibliográficas

1. MICROCUBETA CAPILAR. Clasificación Internacional de Patentes CIP2007. Disponible en: <http://patentados.com/invento/microcubeta-capilar.html>
2. ESPECTROFOTÓMETROS Y FOTOCOLORÍMETROS. Guía práctica de actualización. Acta bioquímica clínica. latinoamericana. v.39 n.4 La Plata septiembre/diciembre. 2005. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S032529572005000400014&script=sci_arttext.

Anexo

Guía rápida para la utilización de HemoCue Hb 301



Lista de Distribución

El personal encargado de toma de muestra y utilización de HemoCue es responsable de seguir las especificaciones contenidas en el presente manual y aplicar los procedimientos específicos indicados

Los responsables del estudio deben asegurar la idoneidad de equipos, materiales, reactivos e instalaciones.



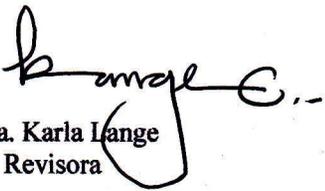
José Miguel Echeverría Barillas
Autor



Alma Fusión Quiroz Loyo
Autora



MSc Ana Margarita Paz
Asesora



Licda. Karla Lange
Revisora



MA María Eugenia Paredes
Directora de Escuela



Dr. Oscar Cobar Pinto
Decano