

ANEXOS

ANEXOS 1. DATOS OBTENIDOS PARA EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Centro Medico “San Roque”

Regente del laboratorio: Dra. Ely Jiménez O.

N°	NOMBRE	E D A D O	S E X O	LUGAR DE PROCEDENCI A	VALORES DE HEMOGLOBINA	VALORES DE HEMATOCRIT O	V C M
1	Juan Garnica	63	M	Tarija	13,2	41	91
2	Justina Márquez	73	F	Tarija	11,9	36	88
3	Teresa Pérez	63	F	Tarija	13	43	91
4	Diosmira Romero	76	F	Tarija	11,9	36	88
5	Pedro Ayarde	62	M	Tarija	14,8	46	92
6	Diosmira López	76	F	Tarija	11,3	34	88
7	Dámaso Tejerina	76	M	Tarija	12,9	38	92
8	Santos Castillo	63	M	Tarija	12,6	39	92
9	Wilma Ortiz	60	F	Tarija	11,2	37	92
10	Nicolás Vilte	71	M	Tarija	14,1	44	91
11	Pedro Vargas	84	M	Tarija	13	39	90
12	Susana Guarachi	60	F	Tarija	12,5	39	93
13	Margarita Chilaza	68	F	Tarija	12,1	40	91
14	Corina Nova	75	F	Tarija	15,4	51	91
15	Benedicta Coca	71	F	Tarija	11,5	38	92
16	Marciana Lamas	85	F	Tarija	11,2	37	92
17	Esperanza Jaramillo	70	F	Tarija	11,8	37	92
18	Consuelo Lazcano	63	F	Tarija	11,8	39	92
19	Pedro Gareca	65	M	Tarija	14,2	44	91
20	Mario Castañón	85	M	Tarija	12,5	39	92

21	Deterlino Cardozo	65	M	Tarija	12,5	39	91
22	Isabel Castillo	60	F	Tarija	11,5	38	92
23	Venencia Urzagaste	63	F	Iscayachi	12,1	40	91
24	Margarita Figueroa	91	F	San pedro	14,2	47	92
25	Catalina Baldivieso	60	F	Tarija	11,8	37	93
26	Margarita Janco	85	F	San Lorenzo	12,1	40	91
27	Marcelina Gira	65	F	Churquis	12,1	40	91
28	Emeliana Subía	60	F	San Lorenzo	11,8	39	93
29	Celinda Fernández	70	F	Polla	13	43	91
30	Eusebia Alfaro	71	F	Monte Méndez	5,9	18	75
31	Rubén Quiroga	75	M	Rocillas	11,9	37	93
32	Dionisia Grandon	76	F	Potrerillos	11,9	36	88
33	Ceverina Mamani	69	F	Yacuiba	11,2	37	93
34	Santos Castillo	63	M	Churquis	15,8	49	92
35	Francisco Morales	71	M	Obrajes	13,5	42	91
36	Juliana Vilca	67	F	Tomayapo	12,1	40	91
37	Nilda Ordoñez	61	F	Yacuiba	11,2	37	93
38	Juliana Lauriano	75	F	Villamontes	11	33	86
39	David Ríos	64	M	Sella Méndez	14,5	45	92
40	Taurino Cabello	70	M	Huayco	14,8	46	92
41	Agustina Pereira	66	F	Sucre	15,5	51	91
42	Amanda Sánchez	74	F	Emborozu	11,6	35	87

43	Melchora Rodríguez	104	F	El valle	11,3	34	87
44	Victor Hugo Huerta	64	M	Chocloca	10,4	31	86
45	Edith Rivera	64	F	Timboy	12,7	42	91
46	Gregoria Sullca	63	F	San Josecito	11,8	39	93
47	Isabel Rojas	60	F	La Pintada	12,7	42	91
48	Pedro Quispe	62	M	Tarija	14,2	44	92
49	Ana Figueroa	60	F	Tarija	11,5	38	93
50	Justina Mamani	63	F	Tarija	12,4	41	91
51	Leocadia Perales	79	F	San Diego	13	43	91
52	Felisa Jerez	61	F	Turumayo	11,8	39	93
53	Ángel Armella	70	M	Bermejo	12,6	39	93
54	Domingo León	76	M	Cañon Verde	11,9	36	88
55	Agustina Irahola	78	F	Junacas	8,7	26	78
56	Alberto Villarroel	64	M	Tarija	11,3	34	87
57	Amelia Zambrana	78	F	Tarija	12,7	42	91
58	Ilaria Almazán	72	F	Tarija	11,5	38	92
59	Antonia Barrios	80	F	Tarija	11,5	38	92
60	Ricardo Serrano	65	M	Tarija	13,5	42	91
61	Dionisia Sulca	70	F	Tarija	11,2	37	92
62	Palmira Ovidio	68	F	Tarija	11,6	35	88
63	Josefa Gutiérrez	78	F	Tarija	11,8	39	92
64	Cristina Céspedes	78	F	Tarija	11,9	36	88
65	Carmen Villanueva	65	F	Tarija	11,3	34	88
66	Natalia Gómez	84	F	Monte Cercado	11,2	37	93

67	Natalia Albino	60	F	Iscayachi	11,8	39	93
68	Benedicto Félix	74	M	Tarija	14,5	48	92
69	Ines Gonzales	66	F	Entre ríos	11,5	38	93
70	Fabio Amador	67	M	Villa Montes	14,8	46	92
71	Teodora Velásquez	61	F	La Victoria	12,4	41	91
72	Lucia Romero	65	F	Saladillo	13,3	44	92
73	Dominga Patiño	60	F	Aranjuez	11,3	34	87
74	Balvina Michel	63	F	Tarija	11,3	34	87
75	Eulalia Poma	75	F	Tarija	12,7	42	91
76	Ema Villa	74	F	Calama	12,4	41	91
77	Toribia Llanos	73	F	Tarija	13,6	45	92
78	Asunciona Subelza	75	F	Tarija	11,8	39	93
79	Lindolfo Subelza	60	M	Pampa Redonda	13,9	43	91
80	Emiliana Flores	60	F	El puente	9	27	81
81	Concepción Verbo	60	F	Tarija	11,2	37	92
82	Domingo Santos	79	M	Tarija	11	33	88
83	Alberto Villarroel	64	M	Tarija	11,6	34	87
84	Alcira Aguirre	60	F	Tarija	12,4	41	91
85	Celia Vargas	76	F	Tarija	12,1	40	91
86	Beimar Aguirre	60	M	Tarija	12,9	40	91
87	Juan Toledo	63	M	Tarija	13,2	41	91
88	Justina Pérez	73	F	Tarija	11,9	36	88
89	Teresa Márquez	63	F	Tarija	13	43	91
90	Diosmira Ayarde	76	F	Tarija	11,9	36	88

91	Pedro Romero	62	M	Tarija	14,8	46	92
92	Jacinta López	76	F	Tarija	11,3	34	88
93	Dámaso Duran	76	M	Tarija	12,9	38	92
94	Santos Castillo	63	M	Tarija	12,6	39	92
95	Wilma Palma	60	F	Tarija	11,2	37	92
96	Nicolás Arce	71	M	Tarija	14,1	44	91
97	Antonio Vargas	84	M	Tarija	13	39	90
98	Susana Cortez	60	F	Tarija	12,5	39	93
99	Dionisia Ortega	70	F	Tarija	11,2	37	92
100	Palmira Vidaurre	68	F	Tarija	11,6	35	88
101	Josefa Condori	78	F	Tarija	11,8	39	92
102	Cristina Colque	78	F	Tarija	11,9	36	88
103	Carmen Villa	65	F	Tarija	11,3	34	88
104	Natalia Mendoza	84	F	Monte Cercado	11,2	37	93
105	Natalia Albino	60	F	Iscayachi	11,8	39	93
106	Benedicto Colque	74	M	Tarija	14,5	48	92
107	Ines Ortega	66	F	Entre Ríos	11,5	38	93
108	Fabio Romero	67	M	Villa Montes	14,8	46	92

ANEXO 2. CENTRO MÉDICO “SAN ROQUE”



ANEXOS 3. PROSPECTO PARA LA DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA

HEMOGLOBINA

Instrucciones de Uso

Ref.: 43

Finalidad . Sistema para la determinación de la hemoglobina en muestras de sangre total por reacción colorimétrica de punto final.

[Solamente para uso diagnóstico in vitro.]

Principio . El Fe (II) del heme de la hemoglobina, oxihemoglobina y carboxihemoglobina es oxidado para el estado férrico por el ferricianuro, formando hemiglobina (Hi), que se combina con el cianuro ionizado para producir cianuro de hemiglobina (HiCN), que es medido en 540 nm.

Características del sistema . El pH del Reactivo de Color es más bajo para acelerar la velocidad de la reacción. Fue también añadido un detergente no iónico para prevenir la aparición de turbiedad.

La comparación entre las imprecisiones encontradas en la repetitividad y en la reproducibilidad demuestra que el sistema de medición es bastante robusto en las regiones de concentraciones significativas para uso clínico, indicando que tiene un desempeño muy seguro en el día a día.

El sistema es fácilmente aplicable a analizadores automáticos y semiautomáticos capaces de medir con exactitud la absorbancia en 540 nm.

Metodología . Cianuro de hemiglobina (HiCN).

No refrigerar el reactivo. No almacenar en frasco de plástico.

Lo reactivo no abierto, conservado en las condiciones especificadas, es estable hasta la fecha de expiración impresa en su rótulo. Durante el manipuleo, el reactivo está sujeto a contaminaciones de naturaleza química y microbiana que pueden provocar reducción de la estabilidad.

Material necesario y no suministrado

1. Fotómetro capaz de medir con exactitud la absorbancia entre 520 y 550 nm.
2. Pipetas para medir muestras y reactivo.
3. Cronómetro.
4. Estándar de Hemoglobina Ref. 47.

Muestra

Se debe de crear un Procedimiento Operacional Estándar (POE) que establezca procedimientos adecuados para recogida, preparación y almacenamiento de la muestra. Subrayamos que los errores debidos a la muestra pueden ser bastante mayores que los errores acaecidos durante el procedimiento analítico.

Usar sangre total (citrato, EDTA o oxalato), que puede ser almacenado como mínimo 7 días a 4 °C.

Reactivos

1. [R-1] - Reactivo de Color - Concentrado - Conservar entre 15 - 25 °C.

Contiene ferricianuro de potasa 60,7 mmol/L, cianuro de potasa 76,8 mmol/L y surfactante.

No refrigerar. Veneno - Manejar con cautela.

Lo reactivo no abierto, conservado en las condiciones especificadas, es estable hasta la fecha de expiración impresa en su rótulo. Durante el manipuleo, el reactivo está sujeto a contaminaciones de naturaleza química y microbiana que pueden provocar reducción de la estabilidad.

Precauciones y cuidados especiales

No utilizar el Reactivo de Color de uso cuando se muestre turbio o desteñido.

Se deben de aplicar los cuidados habituales de seguridad en la manipulación de reactivos.

El reactivo contiene cianuro de potasa que es veneno. Se debe de tomar cuidado para evitar la ingestión y en caso de contacto con los ojos, lavar inmediatamente con gran cantidad de agua y procurar ayuda médica.

No deshacerse del reactivo de color concentrado, de uso o el utilizado en la dosificación en pilas y recipientes que contengan residuos de ácido sulfúrico.

Valores de hemoglobina falsamente elevados pueden ocurrir con el uso de torniquete port tiempo prolongado.

Como ningún test conocido puede asegurar que muestras de sangre no transmiten infecciones, todas ellas deben ser consideradas como potencialmente infectivas. Así siendo, deberán ser manipuladas siguiendo las normativas establecidas para biosseguridad.

Para deshacerse de los reactivos y el material biológico, sugerimos aplicar las normativas locales, regionales o nacionales de protección ambiental.

Interferencias

Valores de Bilirrubina de hasta 38 mg/dL y Triglicéridos hasta 250 mg/dL no producen interferencias significativas.

Valores de Triglicéridos mayores que 250 mg/dL producen resultados falsamente elevados.

Preparación del reactivo de color . Añadir el contenido de un frasco (10 mL) a 990 mL de agua destilada o desionizada y mezclar. Estable 6 meses en frasco ámbar, entre 15 - 25 °C.

El agua debe de tener una resistividad ≥ 1 megaohms o una conductividad ≤ 1 microsiemens y concentración de silicatos $< 0,1$ mg/L.

01 Espanhol - Ref.: 43

Labtest 

No refrigerar. No almacenar en frasco de plástico.

Procedimiento

	Test
Reactivo de color de uso	5,0 mL
Sangre total	0,02 mL

Homogeneizar y esperar 5 minutos. Determinar la absorbancia del test en 540 nm o filtro verde (520 a 550), ajustando el cero con agua destilada. El color es estable por varias horas. Obtener el valor en g/dL, utilizando el factor de calibración obtenido con el Patrón de Hemoglobina-Labtest (Ref. 47).

El procedimiento sugerido para la medición es adecuado para fotómetros cuyo volumen mínimo de solución para lectura es igual o menor que 5,0 mL. Se debe de hacer una verificación de la necesidad de ajuste del volumen para el fotómetro utilizado. Los volúmenes de muestra y reactivo pueden ser modificados proporcionalmente sin perjuicio para el desempeño del test y el procedimiento de cálculos se mantiene inalterado. En caso de reducción de los volúmenes, es fundamental que se observe el volumen mínimo necesario para la lectura fotométrica. Volúmenes de la muestra menores que 0,01 mL son críticos en aplicaciones manuales y se deben de usar con cautela porque aumentan la imprecisión de la medición.

Calculos

El cálculo se debe de hacer utilizando el producto Patrón de Hemoglobina Labtest (Ref. 47).

Absorbancia del test

Calibración

Trazabilidad del Sistema

La absorbancia milimolar de la hemoglobina es utilizada como sistema de referencia para la calibración del ensayo. La calibración del fotómetro utilizado es trazable al Standard Reference Material (SRM) 931 del National Institute of Standards and Technology (NIST).

Calibraciones manuales

Calibración de 2 puntos:

Cuando el control interno de la calidad indicar;

Cuando utilizar nuevo lote de Reactivos o cuando cambiar de frasco;

Linealidad

El resultado de la medición es lineal hasta 25 g/dL.

Control interno de la calidad . El laboratorio debe mantener un programa de control interno de calidad que defina con claridad los reglamentos aplicables, objetivos, procedimientos, criterios para especificaciones de la calidad y límites de tolerancia, acciones correctivas y registro de las actividades. Controles deben ser utilizados para evaluar la imprecisión e desviaciones de calibración. Se sugiere que las especificaciones para el coeficiente de variación máximo y el error total sean basados en los componentes de la variación biológica (VB)¹⁴.

Valores de referencia . Estos valores se deben de usar tan solo a modo de orientación. Se recomienda que cada laboratorio establezca, en la población atendida, su propia banda de valores de referencia.

Hombres . 12,5 a 17,5 g/dL

Mujeres . 11,5 a 15,5 g/dL

$$\text{Hemoglobina (g/dL)} = \frac{\text{Absorbancia del test}}{\text{Absorbancia del patrón}} \times 10$$

Ejemplo

Absorbancia del test = 0,364
Absorbancia del Patrón = 0,280

$$\text{Hemoglobina (g/dL)} = \frac{0,364}{0,280} \times 10 = 13$$

Debido a la gran reproducibilidad que puede ser obtenida con la metodología, se puede utilizar el método del factor.

$$\text{Factor de Calibración} = \frac{10}{\text{Absorbancia del Patrón}}$$

$$\text{Hemoglobina (g/dL)} = \text{Absorbancia del test} \times \text{Factor}$$

Ejemplo

$$\text{Factor} = \frac{10}{0,280} = 35,7$$

$$\text{Hemoglobina (g/dL)} = 0,364 \times 35,7 = 13$$

Conversión. Unidades Convencionales (g/dL) x 0,621 = mmol/L

Características del desempeño⁵

Exactitud. En dos muestras con valores iguales a 7,3 y 8,0 g/dL se añadieron cantidades distintas del analito, obteniéndose recuperaciones de entre 99 y 103%. El error sistemático proporcional medio, obtenido en un valor del 10,0 g/dL fue igual al 0,1 g/dL o 1%.

Especificidad. El método propuesto fue comparado con un método similar, utilizando 80 muestras con valores situados entre el 5,0 y 24,9 g/dL. La comparación resultó en la ecuación de la regresión: $y = 1,03x - 0,23$ y un coeficiente de correlación (r) igual a 0,986. El error sistemático total (constante y proporcional) verificado en el límite de decisión (10 g/dL), fue igual al 0,07 g/dL o 0,7%. Como las muestras fueron seleccionadas aleatoriamente en pacientes de ambulatorio y pacientes hospitalizados, se puede inferir que el método tiene una especificidad metodológica adecuada.

Repetitividad - imprecisión intra-ensayo

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	20	9,6	0,12	1,2
Muestra 2	20	17,1	0,23	1,4

02 Espanhol - Ref.: 43



Reproducibilidad - imprecisión total

	N	Media	DE	CV (%)
Muestra 1	20	9,1	0,15	1,5
Muestra 2	20	16,5	0,23	1,4

Sensibilidad metodológica. Una muestra proteica sin contener Hemoglobina fue utilizada para calcular el límite de detección del ensayo, habiendo sido encontrado un valor igual a 0,39 g/dL, equivalente al promedio de 20 ensayos más dos desviaciones estándar. Utilizándose la absorbancia del patrón como parámetro, el límite de detección fotométrica es 0,04 g/dL, correspondiendo a una absorbancia igual a 0,001.

Efectos de la dilución de la matriz. Dos muestras con valores iguales a 27,4 y 24,0 g/dL fueron utilizadas para evaluar la respuesta del sistema en las diluciones de la matriz con NaCl 150 mmol/L (0,85%). Usando factores de dilución que variaron de 2 a 4, se encontraron recuperaciones de entre 100 y 109%.

Observaciones

1. La limpieza y secado adecuados del material utilizado son factores fundamentales para la estabilidad de los reactivos y obtención de resultados correctos.

2. El laboratorio clínico tiene como objetivo fornecer resultados exactos y precisos. La utilización de agua de calidad inadecuada es una causa potencial de errores analíticos. El agua desionizada o destilada utilizada en el laboratorio debe tener la calidad adecuada para cada aplicación. Así, para preparar reactivos y usar en las mediciones y para su uso en enjuague final de la vidriería, debe tener resistividad ≥ 1 megaohm.cm

Referencias

1. Drabkin DL., Austin JH. J Biol Chem 1935;112:51.
2. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. Clinical Chemistry, Principles and Technics, 2nd Ed. New York, Harper & Row, 1974.
3. Westgard Jo, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
4. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Base de Datos de Variación Biológica. Disponible em: < <http://www.seqc.es/article/articleview/330/1/170> > (acceso em 04/2006).
5. Labtest: Datos de Archivo.

Presentación

Producto	Referencia	Contenido
Hemoglobina	43	R 1 2 x 10 mL

Están disponibles las aplicaciones para sistemas automáticos.

Informaciones al consumidor

[Términos y Condiciones de Garantía]

Labtest Diagnóstica garantiza el desempeño de este producto dentro de las especificaciones hasta la fecha de expiración indicada en los rótulos, siempre que los cuidados de utilización y almacenamiento indicados en los rótulos y en estas instrucciones sean seguidos correctamente.

...

ANEXO 4. EQUIPO PARA LA LECTURA DE HEMOGLOBINA



ANEXO 4. DETERMINACIÓN DE HEMATOCRITO



