

# Determinación de Hemoglobina

## (Estudio comparativo entre dos métodos para la determinación de Hemoglobina)

*Ma. Victoria Chaves Vargas\* Hernán Barrantes Solano\*\**

*Rosie Beauregard Mendoza\*\*\**

*Julio Delgado Jiménez  
Laboratorista Clínico*

*Rosa Rodríguez González  
Asistente de Laboratorio*

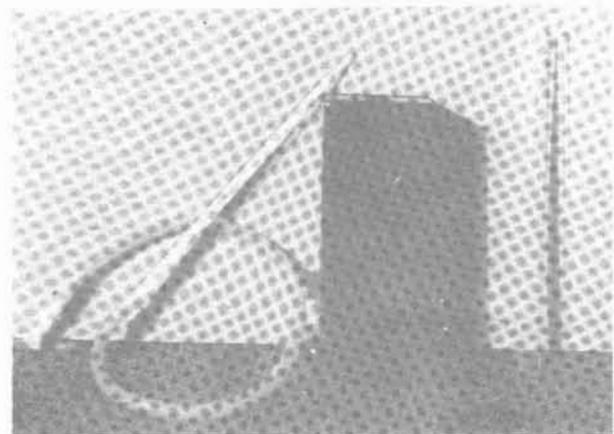
### INTRODUCCION

En la mayoría de los Laboratorios del Ministerio de Salud se hace la determinación de la concentración de hemoglobina mediante el método de Sahli. Siendo este un método poco conocido entre la mayoría de los profesionales jóvenes en Ciencias Médicas, hemos hecho este estudio con el propósito de determinar si los valores obtenidos con dicho método, son comparables y reproducibles con respecto a los valores obtenidos con un método estandarizado y bien conocido como lo es el de la Cianometahemoglobina.

### MATERIALES Y METODOS

Se analizaron 142 muestras de sangre venosa de pacientes que se presentaron a la consulta externa del Centro de Salud y de la Clínica del Seguro Social de Atenas. Dichas muestras fueron analizadas de la siguiente manera: Se les determinó la concentración de hemoglobina por el método de Sahli en el Laboratorio del Centro de Salud y por el método de la Cianometahemoglobina en el Laboratorio de la Clínica del Seguro Social. Ambas determinaciones fueron hechas independientemente en cada laboratorio por analistas distintos y los valores obtenidos no fueron conocidos sino hasta el momento de realizar

la comparación. Con esto tratamos de evitar subjetividad en el reporte de los resultados de ambas determinaciones. Se procedió a efectuar el hematocrito utilizando un sólo método, el del microhematocrito con capilares heparinizados tipo Drumond. En base a esto se logró realizar una comparación entre los valores de la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) obtenidos por ambos métodos. Para la determinación de hemoglobina por el método de Sahli, se utilizó el Hemoglobinómetro original de Sahli (Fig. No. 1).



*Hemoglobinómetro original de Sahli*

\* Laboratorio Clínico C.C.S.S. Atenas, Alajuela.

\*\* Laboratorio Centro de Salud, Atenas, Alajuela.

\*\*\* Laboratorio de Reactivos C.C.S.S.

La prueba por el método de Cianometahemoglobina fue hecha en un fotocolorímetro Lumetron, para lo cual se montó una curva de calibración con un standard de concentración conocida. Simultáneo con cada grupo de determinación se montó un standard de Hemoglobina de 15,2 gr/dl, con el propósito de establecer un control de calidad<sup>2-3</sup>.

#### METODO DE SAHLI: Hematina Acida

##### A) Fundamento:

Se basa en la conversión de la hemoglobina en hematina ácida<sup>1-5-6-10-14-15</sup>. Al tratar la hemoglobina con ácidos a pH por debajo de 3, se desnaturaliza y el Hem es escindido de la globina desnaturalizada y se forma hematina ácida<sup>6</sup>. La reacción da un producto de color pardo el cual se compara con un vidrio coloreado standard<sup>8-10</sup>. Este método data desde 1895 en que Sahli propuso diluir la sangre con 0.1 N de HCL, de esta forma la hemoglobina se convierte en una verdadera solución coloidal de color pardo, la hematina ácida (clorhidrato de hematina). La técnica que se empleó es la descrita en el manual de técnicas de Laboratorio del Ministerio de Salud<sup>5</sup>.

#### METODO DE LA CIANOMETAHEMOGLOBINA

La reacción básica en la producción de Cianometahemoglobina es la conversión de la hemoglobina por el ferrocianuro y la subsiguiente combinación de la metahemoglobina con cianuro potásico para formar el pigmento cianometahemoglobina. Todos los tipos de hemoglobina, con excepción de la Sulfohemoglobina se transforman en cianometahemoglobina. Las soluciones de este pigmento son muy estables. La técnica que se utilizó es la que se usa en los laboratorios clínicos de la C.C.S.S.

#### RESULTADOS

Para establecer si las diferencias obtenidas por ambos métodos son estadísticamente significativas, partimos de dos hipótesis:

1. Que ambos métodos dan valores muy similares

$$H_0 : M_1 = M_2$$

2. Que ambos métodos dan valores muy diferentes

$$H_1 : M_1 \neq M_2$$

Para probar cuál de estas dos hipótesis es cierta empleamos la siguiente regla: Si  $Z_c \geq T_{\alpha} (R-1)$  se dice que no existe evidencia para aceptar  $H_0$ , y se rechaza en favor de  $H_1$ .

$Z_c$  = valor calculado.

$T_{\alpha}$  = sale de la tabla de "student" para hacer la prueba de la hipótesis.

= probabilidad de error de 1%. Se aplica un mismo nivel de error para todas las determinaciones.

$R-1$  = grado de libertad.

De acuerdo al cuadro No. 1 podemos ver que los valores promedio de hemoglobina obtenidos, son en general menores con el método de Sahli que con el de la Cianometahemoglobina. Los doctores Sáenz y Quijano<sup>13</sup> en un estudio que realizaron en muestras de sangre de cien niños recién nacidos, por los métodos de hematina ácida (Shali), oxihemoglobina y cianometahemoglobina, encontraron que los valores más bajos de hemoglobina se daban con el método de Shali. Estos mismos resultados obtuvimos en el presente estudio comparativo. De acuerdo a los valores de  $Z_c$  y  $T_{\alpha}$  obtenidos en el cuadro No. 1, se establece que las diferencias entre ambos métodos sí son estadísticamente significativas ya que en la mayoría de los grupos estudiados  $Z_c$  fue mayor la  $T_{\alpha} (r-1)$ , con excepción del grupo de varones entre 15 y 20 años en que la  $Z_c$  fue menor que  $T_{\alpha} (r-1)$ . Esta diferencia se debe a que el número de muestras fue muy pequeña y como podemos notar, conforme aumenta el número de muestras las diferencias entre  $Z_c$  y  $T_{\alpha}$  son mayores y evidentes.

CUADRO No. 1

Valores promedio de Hemoglobina por método de Shali y Cianometahemoglobina, según edad y sexo y su significación estadística.

Edad cumplida en años	HOMBRES							MUJERES						
	r	$\bar{Y}_s$	$\bar{Y}_c$	S <sup>2</sup>	S(d) <sup>1</sup>	Zc <sup>2</sup>	t <sub>Zc</sub> <sup>3</sup>	r	$\bar{Y}_s$	$\bar{Y}_c$	S <sup>2</sup>	S(d)	Zc	t <sub>Zc</sub>
Menos de 7	7	13.2	11.12	0.46	0.26	10.0	3.499	8	10.44	10.86	1.68	0.46	7.39	3.499
5-15	17	11.97	12.58	2.13	0.35	29.71	2.898	13	11.9	12.5	3.79	0.54	15.37	2.898
15-20	3	13.5	14.6	2.73	0.95	3.47	5.841	9	12.50	12.89	1.28	0.38	9.21	5.891
20-60	16	13.62	14.47	3.47	0.47	28.94	2.921	43	12.42	12.79	1.48	0.19	84.74	2.690
60 y más	12	13.83	14.70	4.55	0.62	16.94	3.055	14	13.29	13.75	8.10	0.76	8.55	3.055

$\bar{Y}_s$  = Promedio Shali

$\bar{Y}_c$  = Promedio Cianometahemoglobina

S<sup>2</sup> = Variancia

r = No. de datos

1)  $S(d) = \frac{\sqrt{S^2}}{r}$  = variancia de los valores

2)  $Zc = \frac{Y_s - Y_c}{S(d)}$  = valor calculado

3)  $t_{Zc}(r-1)$  = valor de tabla "Student"

Si aplicamos esta misma regla al trabajo realizado por Sáenz y Quijano<sup>13</sup>, cuyo promedio obtenido para HB en sangre venosa por el método de Sahli fue de 17.75, y la D.S. = ± 1.99. El promedio obtenido por cianometahemoglobina fue de 19.92, D. S. = ± 1.78. Sacando la variancia común y aplicando la prueba de "T", se obtiene también que la Zc es mayor que la T<sub>Zc</sub>(r-1). Esto concuerda también con los resultados encontrados por nosotros en este estudio. En el cuadro No. 2, se hace un análisis de los valores obtenidos de la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), por los dos métodos y de acuerdo a la edad y al sexo. Para la determi-

nación de la CHCM, se utilizó la fórmula de Wintrobe =  $\frac{Hb(g/dl) \times 100}{HTO}$ . Como la determinación del Hto fue común para ambos métodos, se establece que las diferencias en los valores promedio de la CHCM se deben únicamente al parámetro Hb. Con el método de Shali la CHCM en la mayoría de las pruebas dió valores más bajos que con el método de la Cianometahemoglobina. Para el análisis estadístico de este cuadro, se calculó también la variancia de los valores, el valor calculado (Zc) y el valor de la tabla "student" T<sub>Zc</sub>(r-1). El resultado fue similar al cuadro No. 1, ya que la Zc fue mayor que la T<sub>Zc</sub>(r-1), en favor de la hipótesis H<sub>1</sub>.

CUADRO No. 2

Valores promedio de la Concentración de Hemoglobina corpuscular media por el método de Shali y Cianometahemoglobina, según edad y sexo y su significación estadística.

Edad cumplida	HOMBRES							MUJERES						
	r	$\bar{Y}_s$	$\bar{Y}_c$	S <sup>2</sup>	S(d) <sup>1</sup>	Zc <sup>2</sup>	t <sub>Zc</sub> <sup>3</sup>	r	$\bar{Y}_s$	$\bar{Y}_c$	S <sup>2</sup>	S(d)	Zc	t <sub>Zc</sub>
Menos de 5	7	32.11	30.97	4.94	0.84	9.52	3.499	8	30.05	31.2	13.92	1.32	6.97	3.355
5-15	17	31.10	32.65	13.37	0.89	28.76	2.898	13	30.45	32.3	24.31	1.37	17.81	3.012
15-20	3	30.57	33.10	15.36	2.26	3.36	5.841	9	31.49	32.5	11.06	1.11	8.29	3.250
20-60	16	30.88	32.78	16.79	1.02	29.71	2.921	43	31.29	32.15	9.20	1.01	36.34	2.690
60 y más	12	30.97	32.83	22.48	1.37	16.28	2.055	14	31.19	32.14	11.08	0.89	14.94	2.977

$\bar{Y}_s$  = Promedio Shali

$\bar{Y}_c$  = Promedio Cianometahemoglobina

S<sup>2</sup> = Variancia

r = No. de datos

1)  $S(d) = \frac{\sqrt{S^2}}{r}$  = variancia de los valores

2)  $Zc = \frac{Y_s - Y_c}{S(d)}$  = valor calculado

3)  $t_{Zc}(r-1)$  = Valor de tabla "student"

Otros datos que se obtienen del presente estudio es que la concentración de hemoglobina (gr/dl) en niños y hasta que llega a la pubertad son muy parecidas para ambos sexos. En los varones, después de la pubertad aumenta y se mantiene así. En las mujeres sucede lo mismo, pero estos valores son menores con respecto a los hombres. Lo anterior corrobora lo descrito por Sáenz et al<sup>11-12</sup>, en que ellos describen los valores normales de hemoglobina. En cuanto a la CHCM sucede algo parecido para ambos sexos. En los varones la CHCM menor fue de 30,97 y la mayor de 33,1 por el método de Cianometahemoglobina.

## DISCUSION Y CONCLUSION

El análisis de la CHCM, es uno de las más útiles en el laboratorio clínico en el diagnóstico de las anemias<sup>12</sup>. La prueba por duplicado del hematocrito según Larcen<sup>4</sup> y de acuerdo a nuestra experiencia, revela un alto grado de exactitud y por esta razón en este estudio se usó un solo método para determinar el Hto. Al obtener valores bajos en la hemoglobina por el método de Sahli se puede clasificar como anémico a un paciente, sometiéndolo a un tratamiento innecesario. Con el método de la Cianometahemoglobina se determinan todos los tipos de hemoglobina (aproximadamente el 99%) excepto la sulfohemoglobina: con el método de Sahli no ocurre lo mismo; por esta razón consideramos que esta técnica no es la más adecuada ya que se obtienen valores más bajos. Después de evaluar los métodos consideramos importante standarizar las técnicas para la determinación de Hb a nivel nacional, instruir el personal, mejorar el equipo de trabajo, actualizándolo, y contar con estándares o controles que correspondan a los valores de Hb encontrados en nuestro medio<sup>9</sup>. En cuanto a los costos notamos que la diferencia entre ambos métodos es mínima y que ambos resultan muy económicos. Concluimos que el método de la Cianometahemoglobina es el más recomendable por su exactitud y bajo costo.

## RESUMEN

Se realizó este estudio con el propósito de determinar si los valores de hemoglobina obtenidos con el método de Sahli son confiables y reproducibles con respecto a los valores obtenidos con el método de la Cianometahemoglobina.

Se analizaron 142 muestras de sangre venosa de pacientes de diferentes grupos de edad y sexo, que se presentaron a la consulta externa de la Clínica del Seguro Social y al Centro de Salud de Atenas. La edad, sexo, dieta y medio ambiente<sup>12</sup>, son las variantes fisiológicas más importantes que influyen en la cantidad de hemoglobina en la sangre, por esta razón los valores promedio de hemoglobina y de concentración de hemoglobina corpuscular media, obtenidos por los dos métodos se analizaron por grupos de edad y sexo. Los valores obtenidos promedios de la hemoglobina por el método de Sahli fueron menores que los obtenidos con el de la Cianometahemoglobina. La concentración de hemoglobina corpuscular media, calculada a partir de la hemoglobina determinada por cada método también fue menor por el método de Sahli que con la obtenida por el método de la Cianometahemoglobina. Se establecieron dos hipótesis para relacionar los resultados obtenidos por los dos métodos, para ello se aplicó la prueba estadística de T, de donde se concluye que las diferencias obtenidas sí son estadísticamente significativas.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) ANIDO FRAGUIO, VICENTE. Laboratorio clínico - Técnicas e interpretaciones - Tomo I, Primera edición cultural S.A. La Habana, Cuba. Pág. 188-189. 1943.
- 2) DE MERINO, NHOVA. Control de calidad en el Laboratorio Clínico. Analítica No. 14, 1977.
- 3) Exactitud en Química Clínica. División American Hospital Supply Corporation. La Bisbal (Gerona), Miami, Florida, 1970.
- 4) Studies on Hemoglobin values in Norway. VII. Hemoglobin concentration, hematocrit and M.C.H.C. in 19 year old men. Acta Med. Scand. 180(5): 621, 1966.
- 5) LEAL, C. FERNANDO, et. al: Manual de Técnicas de Laboratorio, segunda edición. Publicaciones Ministerio de Salud. San José, Costa Rica, pág. 13, 1976.
- 6) LYNCH, et. al: Métodos de Laboratorio. Segunda edición, Nueva Editorial Interamericana, México, pág. 751, 1972.
- 7) NATVIG, H.: Studies on hemoglobin values in Norway. V. Hemoglobin concentration, and hematocrit in men aged 15-21 years. Acta Med. Scand. 180(5): 613, 1966.

- 8) RUSSELL, L. HADES: Principios de Hematología. Tercera edición. Publicaciones Científicas M. V. Fresnedo, editor. La Habana, Cuba. Pág. 90-95. 1949.
  - 9) RUSSELL, J. EILERS: Notification of final adaption of an international method and standard Solution for hemoglobinometry specifications for preparation of standard solution. Am. J. Clin. Path 47 (2): 212-213. 1967.
  - 10) SAENZ R., GERMAN F.: Hematología Práctica. Teoría y Laboratorio. Publicaciones de la Universidad de Costa Rica. San José, Pág. 59-69, 1968.
  - 11) SAENZ R., GERMAN F.: Hematología teórica Práctica Vol. I Morfología hematólógica, Publicaciones de la Universidad de Costa Rica, San José. Pág. 68-80, 1974.
  - 12) SAENZ, R. GERMAN F.; ARROYO, G. VALENCIANO, E.: Valores normales de hematología y hematocrito en adultos. Rev. Méd. Hosp. Nacional de Niños, 6(1): 53-70. 1971.
  - 13) SAENZ R., GERMAN; F. QUIJANO, LEILA: Principales valores del Eritrón circulante en niños costarricenses recién nacidos. Rev. Biol. Trop. 16 (2): 267-276, 1970.
  - 14) VARELA, MANUEL E.: Fundamentos de Hematología, Editorial El Ateneo, Córdoba, Buenos Aires. Pág. 331-334, 1950.
  - 15) WINTROBE, MAXWELL, M.: Clinical Hematology. Second edition. Lea & Febiger. Phila del Phia, Pág. 254-263. 1946.
-