

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
LICENCIADA EN BIOANÁLISIS CLÍNICO

“DETERMINACIÓN DE DREPANOCITOSIS EN NIÑOS  
AFROECUATORIANOS DE 4 A 12 AÑOS DE EDAD RESIDENTES EN  
PIQUIUCHO EN EL VALLE DEL CHOTA, 2013”

ROCÍO DEL PILAR CUERO ANGULO  
CATHY DEL ROCÍO YAJAMÍN UNDA

DIRECTORA: MTR. MARCELA MARDONES

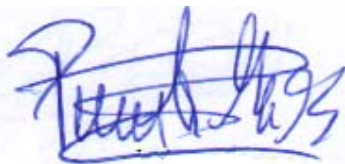
QUITO, 2015

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo Rocío del Pilar Cuero Angulo C.I. 1719197947 autora del trabajo de graduación intitulada: “DETERMINACIÓN DE DREPANOCITOSIS EN NIÑOS AFRO ECUATORIANOS DE 4 A 12 AÑOS DE EDAD RESIDENTES EN PIQUIUCHO EN EL VALLE DEL CHOTA, 2013” previa a la obtención del grado académico de Licenciada en Bioanálisis Clínico en la Escuela de Bioanálisis:

A) Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

B) Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Rocío del Pilar Cuero Angulo', written over a faint horizontal line.

Nombre:

Rocío del Pilar Cuero Angulo CI 1719197947

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo Cathy del Rocío Yajamín Unda C.I. 1713508461 autora del trabajo de graduación intitulada: “DETERMINACIÓN DE DREPANOCITOSIS EN NIÑOS AFRO ECUATORIANOS DE 4 A 12 AÑOS DE EDAD RESIDENTES EN PIQUIUCHO EN EL VALLE DEL CHOTA, 2013” previa a la obtención del grado académico de Licenciada en Bioanálisis Clínico en la Escuela de Bioanálisis:

A) Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

B) Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



Nombre:

Cathy del Rocío Yajamín Unda C.I. 1713508461

## DEDICATORIA

*Esta tesis se la dedico a mi Dios quién supo guiarme por el buen camino, A mi familia, a mis padres por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, a mis hermanos por estar siempre presentes, acompañándome para poderme realizar. A mi hijo Jared, el regalo más grande que Dios me pudo dar, mi motor, y a mi amado esposo Sebastián que ha sido el impulso y el pilar principal para la culminación de la misma, que con su apoyo constante y amor incondicional ha sido amigo y compañero inseparable.*

**Pilar**

*La culminación de este proyecto se lo dedico a Dios, a mis padres y hermanos por ser los pilares importantes a lo largo de toda mi vida, por su apoyo incondicional, por darme ánimos para poder culminar mi carrera y ser cada día mejor persona y demostrarme que en la vida podemos conseguir todo lo que nos proponemos.*

**Cathy**

*A nuestros padres por su apoyo a lo largo de toda nuestra carrera, a todos y cada uno de los docentes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por su asesoría y solventar las dudas que se nos presentaron para poder culminar la tesis.*

**Pilar y Cathy**

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios por ser mi guía y llenarme de bendiciones, Gracias a esas personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron para brindarme toda su ayuda, a mi compañera de tesis Cathy por estar siempre al pie del cañón, a mis padres, Carmen y Jesús, que a pesar de las dificultades siempre estuvieron ahí, hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, a mi amado esposo Sebastián, por su paciencia y comprensión, gracias por estar siempre a mi lado, a mis amigos verdaderos, William Morales y Paola Pozo por su motivación, apoyo constante e incondicional.*

**Pilar**

*En primer lugar a Dios por haberme guiado por el camino de la felicidad hasta ahora; por darme la fe y la constancia para salir adelante; en segundo lugar a cada uno de los que son parte de mi familia a mi padre, a mi madre y hermanos por siempre haberme dado su fuerza y apoyo incondicional que me han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora. A mi compañera de tesis porque en esta armonía grupal lo hemos logrado y a mi directora de tesis quién nos ayudó en todo momento.*

**Cathy**

*A nuestra directora de tesis Lcda. Marcela Mardones por darnos ánimo para seguir adelante y por no dudar de nuestras habilidades., al laboratorio Netl@lab por permitirnos utilizar sus instalaciones para realizar este trabajo.*

**Pilar y Cathy**

## RESUMEN

La drepanocitosis es una enfermedad hereditaria, distribuida en todo el mundo como un gen autosómico recesivo. Los sujetos heterocigotos (AS) se designan como portadores, o que tienen el rasgo drepanocítico. Los homocigotos (SS) sufren de anemia drepanocítica. (Jiménez, 2010)

La drepanocitosis que caracteriza a esta enfermedad se inicia desde los primeros meses de vida. En los menores de cinco años, la hepatoesplenomegalia es frecuente y a medida que se producen los infartos del bazo, se manifiesta una disminución progresiva de su tamaño, alteración que se conoce autoesplenectomía.

Para el diagnóstico de la drepanocitosis se necesita conocer los antecedentes médicos y el examen físico completo. Los procedimientos de diagnóstico para la anemia drepanocítica incluyen exámenes de sangre como la biometría hemática, bilirrubinas séricas, metabisulfito de sodio y electroforesis de hemoglobina, antecedentes familiares completos y datos obtenidos de las pruebas de tamizaje del neonato. El diagnóstico precoz es esencial para proporcionar el tratamiento preventivo adecuado para algunas de las devastadoras complicaciones de la enfermedad. (Jiménez, 2010).

El presente trabajo se ha realizado para determinar el porcentaje de drepanocitosis en niños afroecuatorianos de 4 a 12 años de edad, residentes en Piquiucho en el Valle del Chota, 2013. Se estudiaron 43 niños de ambos géneros, los padres llenaron un consentimiento informado y autorización. Posteriormente se obtuvieron una muestra de sangre para realizar dos exámenes, el principal, electroforesis de hemoglobina y el secundario la biometría hemática que indica parámetros útiles como son hematocrito, hemoglobina, fórmula leucocitaria permitiendo conocer más sobre el paciente investigado.

Las 43 muestras obtenidas con K<sub>2</sub>EDTA para la biometría hemática fueron enviadas a Net-L@b Laboratorios Especializados, para su procesamiento en el equipo automatizado Sysmex XE-2100, que se fundamenta en el enfoque hidrodinámico; citometría de flujo con láser semiconductor (para leucocitos y basófilos), citometría de flujo fluorescente (para neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y reticulocitos) y SLS hemoglobina.

También se utilizó el equipo Minicap para la determinación de la hemoglobina S que se basa en el principio de electroforesis capilar en solución libre.

Los resultados obtenidos luego del procesamiento de las muestras fueron analizados en el programa SPSS versión 18.0, según los datos estadísticos obtenidas en este estudio, tomando en cuenta el porcentaje de hemoglobina S de los 43 niños y niñas, se obtuvieron siete muestras positivas lo que representa 16.2% de la población infantil de 4 a 12 años en la comunidad de Piquiucho, Valle del Chota.

Palabras Claves: Drepanocitosis, electroforesis de hemoglobina, hemoglobina S, heterocigoto, homocigoto, patognomónico.

## **ABSTRACT**

Sickle Cell Disease is an inherited condition, widely distributed throughout the world as an autosomal recessive gene. The heterozygous individuals (AS) are designated as carriers, or individuals who have sickle cell trait. The homozygous (SS) suffer from sickle cell anemia. (Jiménez, 2010)

Sickle cell disease that characterizes this illness, starts from the first months of life. In children under five years, hepatosplenomegaly often and as splenic infarcts occur, a progressive decrease in size, which is known autoesplenectomy alteration is manifested.

For diagnosis of sickle cell disease one needs to know the medical history and a complete physical examination. Diagnostic procedures for sickle cell anemia include blood tests such as blood count, serum bilirubin, sodium metabisulfite and hemoglobin electrophoresis, the complete family history and the data obtained from newborn screening tests. Early diagnosis is essential for providing proper preventative treatment for avoiding some of the devastating complications of the disease. (Jiménez, 2010)

The present study was conducted to determine the percentage of sickle cell disease in Afro-Ecuadorian children of 4 to 12 years, who live in the Piquiucho Chota Valley 2013. 43 children of both genders were studied, parents completed an informed consent and an authorization. Subsequently, a blood sample was obtained for two exams. The first, hemoglobin electrophoresis and the second liver biometrics indicating the following useful parameters: hematocrit, hemoglobin, leukocyte formula allowing to know more about the individual.

The 43 samples with K2EDTA for the blood count were sent to Net-L specialized laboratories for being processed in the automated computer Sysmex XE-2100, which is based on the hydrodynamic approach, cytometry flow with semiconductor laser (for leukocytes and basophils ), fluorescent cytometry flow (for neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils and reticulocytes) and SLS hemoglobin. The Minicap equipment was also used for the demonstration of hemoglobin S which is based on the principle of capillary electrophoresis in a solution.

The results obtained after processing the samples were analyzed in the program SPSS version 18.0; According to statistical data obtained in this study, taking into account the percentage of hemoglobin S of the 43 children, seven positive samples were obtained, representing 16.2% of children of 4-12 years in the community Piquiucho Chota Valley.

Keywords: Sickle cell disease, hemoglobin electrophoresis, hemoglobin S, heterozygous, homozygous, pathognomonic.

## TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	3
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
1.3 OBJETIVOS.....	6
1.3.1 Objetivo general.....	6
1.3.2 Objetivos específicos.....	6
CAPÍTULO II.....	7
MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	7
2.1 ANTECEDENTES.....	7
2.2 HEMOGLOBINA.....	7
2.2.1 Composición de la hemoglobina.....	9
2.3 HEMOGLOBINOPATÍAS.....	11
2.3.1 Epidemiología de las hemoglobinopatías.....	11
2.3.2 Variantes patológicas de las hemoglobinopatías.....	12
2.3.3. Clasificación de las hemoglobinopatías.....	12
2.4 DREPANOCITOSIS.....	14
2.4.1 Fisiopatología de la drepanocitosis.....	16
2.4.2 Epidemiología de la drepanocitosis.....	17
2.5 TIPOS DE ANEMIA DREPANOCÍTICA.....	18
2.6 MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	19
2.7 CRISIS DREPANOCÍTICAS.....	20
2.8 DIAGNÓSTICO.....	22
2.9 TRATAMIENTO.....	22

2.10 PRUEBAS DE LABORATORIO .....	23
2.10.1 Electroforesis de hemoglobina.....	23
2.11 MARCO CONCEPTUAL .....	24
CAPÍTULO III .....	27
MARCO METODOLÓGICO .....	27
3.1 Tipo de Estudio .....	27
3.2 Tamaño de la población .....	27
3.3 Criterios de inclusión .....	27
3.4 Criterios de exclusión .....	27
3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	28
3.6 RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	30
3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	30
3.8 CONTROL DE CALIDAD .....	30
3.9 EQUIPOS Y REACTIVOS.....	30
3.9.1 Minicap – Electroforesis de hemoglobina .....	30
3.9.2 Contador hematológico Sysmex XE-2100 .....	31
3.10 PROCEDIMIENTO.....	32
CAPÍTULO IV .....	33
4.1 RESULTADOS .....	33
DISCUSIÓN.....	37
CONCLUSIONES.....	38
RECOMENDACIONES .....	39
BIBLIOGRAFÍA.....	40

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1.....	44
Censo de Población y Vivienda INEC	
ANEXO 2.....	45
Consentimiento informado del representante del niño (a)	
ANEXO 3.....	46
Solicitud de petición para realizar la toma de sangre	
ANEXO 4.....	47
Toma de muestras	
ANEXO 5.....	49
Inserto del control normal MINICAP	
ANEXO 6.....	50
Control normal MINICAP	
ANEXO 7.....	51
Formato de Electroforesis de Hemoglobina	
ANEXO 8.....	52
Inserto controles SYSMEX XE-2100	
ANEXO 9.....	53
Base de datos	
ANEXO 10.....	55
Autorización para procesar muestra en Net -L@b Laboratorios Especializados	
ANEXO 11.....	56
Procedimiento para preparación de equipo MINICAP y proceso de muestras	

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Composición de la hemoglobina.....	10
<b>Figura 2:</b> Molécula de la hemoglobina.....	10
<b>Figura 3:</b> Drepanocitos.....	14
<b>Figura 4:</b> Mutación genética de la Drepanocitosis.....	15
<b>Figura 5:</b> Genética de la Drepanocitosis .....	16
<b>Figura 6:</b> Distribución mundial de la Drepanocitosis.....	18

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Operacionalización de las variables.....	29
<b>Tabla 2:</b> Distribución de la Población de acuerdo al género .....	33
<b>Tabla 3:</b> Distribución de la muestra por grupo etario .....	33
<b>Tabla 4:</b> Distribución de la muestra por género y resultados obtenidos .....	34
<b>Tabla 5:</b> Distribución de la Población de acuerdo a la edad y resultado .....	35
<b>Tabla 6:</b> Análisis del Chi-cuadrado.....	36

## INTRODUCCIÓN

La drepanocitosis es una enfermedad genética autosómica recesiva resultado de la sustitución de adenina por timina en el gen de la globina beta, ubicado en el cromosoma 11, lo que conduce a una mutación de ácido glutámico por valina en la posición 6 de la cadena polipeptídica de globina beta y a la producción de una hemoglobina funcionalmente defectuosa, la hemoglobina S. Debido al cambio de ese aminoácido, las moléculas de hemoglobina se agregan formando fibras y dándole al hematíe forma de hoz. (Zúñiga, 2014)

Cuando se produce esta mutación, la hemoglobina es sustituida por una versión anormal llamada hemoglobina S, que hace que los glóbulos rojos, habitualmente con forma de dona, se deformen y adquieran forma de hoz (drepanocitos). Como consecuencia las células sanguíneas tienden a aglomerarse, obstruyendo el flujo de la sangre, dañando los vasos capilares y afectando el transporte de oxígeno a los diferentes órganos, tales como el bazo, los riñones, el cerebro, los huesos y otros órganos. La disminución de la oxigenación de los tejidos y la obstrucción de los vasos sanguíneos puede producir crisis dolorosas, infecciones bacterianas graves y necrosis. (Jiménez, 2010)

La drepanocitosis expresa la hemoglobina S y no la hemoglobina A que es la normal, el padecimiento homocigoto ocurre cuando una persona hereda dos genes de células falciformes, cuando hereda un solo gen se denomina heterocigoto.

Este estudio se realizó en una población afroecuatoriana de Piquiucho Valle del Chota, tomando como muestra 43 niños, entre ambos sexos, de 4 a 12 años de edad, bajo la responsabilidad de los padres de familia quienes firmaron un consentimiento informado para poder realizar la toma de sangre. Para el diagnóstico de drepanocitosis en la población en estudio se realizó la electroforesis de hemoglobina a cada una de las muestras para determinar la presencia de hemoglobina S.

La hemoglobina componente principal de los glóbulos rojos, es una proteína que se encarga en el organismo del transporte del oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos, cada molécula de hemoglobina está constituida por una parte proteica llamada globina y una parte prostética llamada hem. El hem está formado por un anillo porfirínico, integrados a su vez por cuatro grupos pirrólicos, unidos entre sí por puentes metenos (CH) y en medio del cual se sitúa un átomo de hierro. (Jiménez, 2010)

En las diferentes etapas del desarrollo del organismo humano se sintetizan diferentes tipos de hemoglobinas, las que se diferencian entre sí por presentar en sus cadenas de globinas distinta composición de aminoácidos. En la vida postnatal se producen tres distintos tipos de hemoglobinas, denominadas hemoglobina A, A<sub>2</sub> y F.

La hemoglobina A es la hemoglobina más frecuente en el individuo adulto, representa aproximadamente el 97% de la hemoglobina total del organismo.

Como resultado de mutaciones genéticas pueden aparecer hemoglobinas anormales como por ejemplo la hemoglobina S. La hemoglobina S es inestable, tiende a polimerizarse y ocluir la microcirculación, produciendo manifestaciones multisistémicas tanto agudas como crónicas, y aumenta la susceptibilidad a infecciones. (Jiménez, 2010)

# CAPÍTULO I

## 1.1 JUSTIFICACIÓN

La drepanocitosis o anemia drepanocítica es un padecimiento congénito, ampliamente distribuido en todo el mundo como gen autosómico recesivo. Los sujetos heterocigotos (AS) se designan como portadores, o que tienen el rasgo drepanocíticos. Los homocigotos (SS) sufren de anemia drepanocítica. (Ruiz, 2014)

Las hemoglobinopatías están extendidas por todo el mundo, cerca del 5% de la población mundial es portadora de genes causantes de hemoglobinopatías. Cada año nacen aproximadamente 300.000 niños con hemoglobinopatías importantes, de los cuales más de 200.000 son africanos que presentan anemia falciforme. En todo el mundo hay varios portadores de drepanocitosis, pero la elevada frecuencia del gen de la drepanocitosis en ciertas áreas da lugar a elevadas tasas de natalidad de recién nacidos afectados por esta enfermedad. (OMS, 2006)

La drepanocitosis tiene importantes repercusiones en la salud pública, la pobreza, el bajo nivel cultural y educacional, limita no solo los recursos para poder realizar los estudios de pesquiasje genéticos masivos necesarios para el diagnóstico prenatal de la enfermedad y de esta forma el control de la natalidad, sino que restringen en gran medida el asesoramiento genético, así como la capacidad de comprensión por parte de los futuros padres, la realidad objetiva a la que se van a enfrentar al tener un hijo con este padecimiento.

Es necesario destacar que como toda enfermedad hereditaria que se rige por las leyes mendelianas se transmite el rasgo portador de descendencia en descendencia lo cual trae consigo que se arrastre de generación en generación este error genético dentro de los miembros de una misma familia, siendo una característica común en la mayoría de las naciones y poblaciones pobres con bajo nivel sociocultural que se establezcan parejas matrimoniales entre miembros de una misma familia sin conocer que el riesgo de coincidir ambos con el estado de portador es mayor que en los matrimonios y parejas de familias diferentes. (Sánchez, 2011)

El estudio de la drepanocitosis radica en el hallazgo de hemoglobina S y el conocimiento de la anemia drepanocítica o anemia de células falciformes en la población afroecuatoriana de la región de Piquiucho Valle del Chota, 2013

En Ecuador se han realizado estudios de drepanocitosis en las poblaciones afroecuatorianas en las provincias de Esmeraldas, Imbabura y Santo Domingo de los Tsáchilas, en donde se encontraron los siguientes resultados:

En Esmeraldas se recopilaron 294 biometrías de pacientes con edad promedio entre los 18 a 45 años de edad, se encontró una frecuencia de 2% del rasgo drepanocítico. (Sáenz, 2012)

El estudio que se realizó en la ciudad de Santo Domingo de los Tsáchilas fue de 205 individuos afroecuatorianos y se encontró una prevalencia del 8.3% de hemoglobina C y el 0.5% de hemoglobina S. (Cevallos, 2007)

En Imbabura, en un estudio realizado por Irma Lambishca, el 16% de afroecuatorianos padecen de drepanocitosis. (Diario La Hora, 2012)

El determinar la drepanocitosis en niños afroecuatorianos de 4 - 12 años que viven en la localidad de Piquiucho Valle del Chota permitirá conocer la magnitud del problema, ya que no se han registrado estudios sobre la drepanocitosis en esta comunidad, además permitirá mejorar la expectativa de vida de los pacientes a corto, mediano y largo plazo obteniendo resultados que podrán ser valorados por el especialista, el mismo que dará el tratamiento necesario y así mejorar las expectativas de vida para el paciente.

## **1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La drepanocitosis o anemia falciforme, es una enfermedad hereditaria de la sangre más frecuente en el mundo, por lo cual ocupa el primer lugar de las enfermedades de origen genético y se estima que afecta a unos 50 millones de personas en todo el mundo. Es particularmente común en personas con ascendencia del sub-Sahara africano, América del Sur, el Caribe América Central, Arabia Saudita, la India y países del Mediterráneo como Turquía, Grecia e Italia. (CDC, 2011)

El origen de la anemia drepanocítica fue en el África, donde, en algunas zonas hay una prevalencia de portadores que oscilan entre 20 y 40%. Un recién nacido presenta la enfermedad si hereda dos genes HbS; uno de su madre y el otro de su padre. Las personas que solo tienen un gen HbS no presentan síntomas, solo son “portadores” de la enfermedad; o bien, tiene el “rasgo de células falciformes”. Un portador tiene pocas probabilidades de tener un hijo con anemia drepanocítica, aunque sí un hijo portador, con un solo gen. Este tipo de herencia se denomina autosómica recesiva. (FUNDREPA, 2010)

En Estados Unidos de 0.1 a 0.2% de la población de origen africano sufren de anemia drepanocítica (SS) y 8% es portador (AS) de la anomalía. En México, investigadores demostraron que en ciertas zonas del Golfo y del Pacífico la Hb S es frecuente y que existen algunas poblaciones con alta prevalencia de portadores. (Rodak, 2014.)

En Cuba, la frecuencia de portadores oscila entre el 3 y el 7 % en las diferentes regiones, con un incremento significativo en las provincias orientales y se espera que cada año nazcan 100 niños afectados. (Sánchez, 2011)

En Panamá, se desarrolló un estudio de prevalencia de hemoglobina AS en una población de adolescentes, en esta investigación se realizó la electroforesis de hemoglobina en acetato de celulosa en 777 estudiantes panameños, encontrando un 7.7% de portadores de hemoglobinopatía AS. (Revista Médica del hospital General de México, 2003).

En Ecuador, según el INEC revela que hay una población de 1,041.559 afrodescendientes que residen mayoritariamente en las provincias de Guayas, Esmeraldas, Carchi, Imbabura y Napo, de ellos 166.649, que constituye un 16% sufren de drepanocitosis. Como parte del problema de esta afección hay que mencionar que su diagnóstico puede pasar desapercibido, pues no hay un cuadro clínico patognomónico que oriente a su diagnóstico y los laboratorios de rutina no son específicos para la determinación de la drepanocitosis. Con el objetivo de capacitar al personal médico para el tratamiento de la enfermedad, el Ministerio de Salud Pública realizó en Imbabura un taller de atención integral de pacientes con drepanocitosis. (PP el Verdadero, Diario, Junio 2012).

En Piquiucho, existe una población de afroecuatorianos que no ha sido estudiada, por lo que, se desconoce la magnitud del problema, es por esta razón el interés de realizar este estudio que comprende en determinar la drepanocitosis en niños afroecuatorianos de 4 a 12 años de edad que habitan en Piquiucho, Valle del Chota, 2013, se realizó la

electroforesis de hemoglobina en una muestra de sangre total para identificar la HbS y una biometría hemática para conocer la cantidad de hemoglobina que tiene el paciente. La biometría además nos permite conocer otros parámetros útiles como son hematocrito, fórmula leucocitaria permitiendo conocer más sobre el paciente investigado.

El estudio se realizó a los niños bajo el consentimiento informado de los padres, los investigadores solo dedicaron determinadas horas a la semana para la realización de esta investigación.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 Objetivo general**

- Determinar qué porcentaje de drepanocitosis hay en niños afroecuatorianos de 4 a 12 años de edad residentes en Piquiucho, Valle del Chota, 2013.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Aplicar la prueba de electroforesis de hemoglobina para detectar la presencia de hemoglobina S en niños afroecuatorianos de 4 a 12 años de edad residentes en Piquiucho, Valle del Chota, 2013
- Determinar el género y la edad que presenta mayor frecuencia de drepanocitosis en niños afroecuatorianos de 4 a 12 años de edad residentes en Piquiucho, Valle del Chota, 2013.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

#### 2.1 ANTECEDENTES

El origen de la mutación que dio lugar al gen de células falciformes se pensó inicialmente que de la península arábiga, se extendió a Asia y África. Ahora se sabe, desde la evaluación de las estructuras de los cromosomas, que ha habido al menos cuatro eventos independientes de mutación, tres en África y la cuarta, ya sea en Arabia Saudita y la India central. Estos eventos independientes se produjeron entre 3.000 y 6.000 generaciones atrás, aproximadamente 70-150,000 años. (Ruiz, 2014)

Las células drepanocíticas las observó por primera vez en 1910 un médico de Chicago, James Herrick, en un estudiante antillano que padecía una anemia grave. En 1917 Emmel, notó que la formación de células falciformes tenía lugar tanto en pacientes no anémicos como en los que padecían anemia muy grave. La base patológica del trastorno y su relación con la molécula de la hemoglobina la describieron Hahn y Gillespie en 1972. Estos autores demostraron que la formación de células falciformes sucedía cuando una suspensión de eritrocitos era deficiente en oxígeno y que la forma de los eritrocitos era reversible cuando esa suspensión se oxigenaba. (Rodak, 2014)

En 1949 Pauling demostró que, cuando la HbSS se somete a electroforesis, migra con un patrón diferente al de la HbAA. Se demostró que esta diferencia era secundaria a la sustitución de un aminoácido en la cadena de la globina. Pauling y colaboradores establecieron la base genética del trastorno y distinguieron con claridad el rasgo falciforme, con su forma heterocigota (HbAS), del estado homocigoto (HbSS). (Rodak, 2014)

En 1998 se realizó un estudio sobre hemoglobinopatías en comunidades de raza negra de los ríos Cayapas y Onzoles, del cantón Eloy Alfaro en la provincia de Esmeraldas. Se analizaron muestras de sangre de 1.364 individuos de raza negra pura, habitantes de la

ribera de los ríos Cayapas y Onzoles, norte de la provincia de Esmeraldas, para hemoglobinopatías mediante electroforesis de hemoglobina sobre acetato de celulosa y agar de citrato. El 75,7% (1.032) de la población estudiada presentó hemoglobina normal y 24,3% (332) tenía variantes de hemoglobina. La variante más frecuente fue Hb.AS con 84,9% (282), seguida de Hb.AF 9,6% (32), Hb.SS 2,7% (9), Hb.FS 2,4% (8) y Hb.FF 0,3% (1). La prevalencia más elevada se detectó en los grupos de edad jóvenes, 0-9 años (31,8%) y 10-19 años (25,8%). Los hombres presentaron mayor prevalencia que las mujeres en los dos ríos estudiados y existen áreas geográficas características con alta prevalencia en el río Cayapas, Trinidad (45,5%) y Santa María (37,9%), mientras que en el río Onzoles la prevalencia es más uniforme. (Guevara, 1998).

## **2.2 HEMOGLOBINA**

La hemoglobina (HB) es una heteroproteína globular, que está presente en altas concentraciones en los glóbulos rojos, con un peso molecular de 64.000 g/mol (64 kD).

La hemoglobina le confiere a los eritrocitos la función de transportar el oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos, y parte del dióxido de carbono desde los tejidos hasta los pulmones, participa de esta manera en el proceso de la respiración.

Cuando la hemoglobina se une al oxígeno para ser transportada hacia los órganos del cuerpo, se llama oxihemoglobina, cuando se une al dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) para ser eliminada por la respiración, que ocurre en los pulmones, recibe el nombre de desoxihemoglobina. Si la hemoglobina se une al monóxido de carbono (CO), se forma entonces un compuesto muy estable llamado carboxihemoglobina, que tiene un enlace muy fuerte con el grupo hemo de la hemoglobina e impide la captación del oxígeno, con lo que se genera fácilmente una anoxia que puede conducir a la muerte celular si fuera irreversible.

### 2.2.1 Composición de la hemoglobina

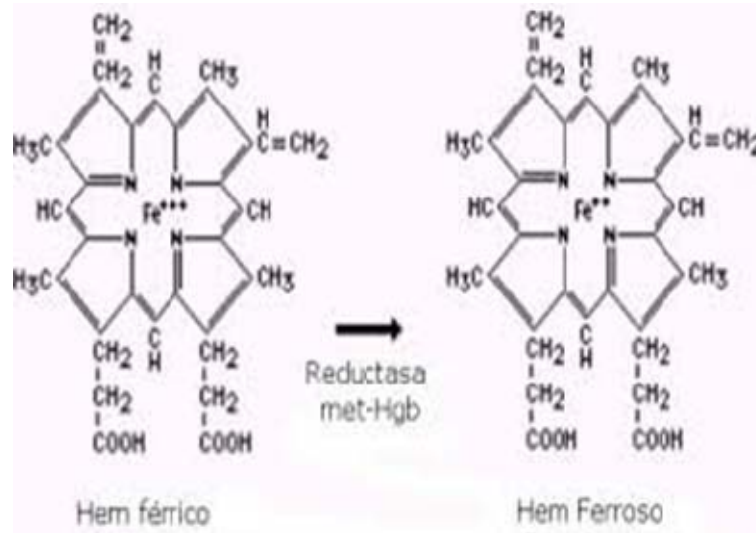
Cada molécula de hemoglobina (Hb) está formada por cuatro subunidades proteicas denominadas globinas y 4 grupos hemo.

**Grupo hemo:** también conocido como grupo hem, es una porción prostética que constituye la parte no proteica de la Hb y es el responsable de proporcionar a la sangre su color rojo característico. Este grupo está formado por 4 ferroporfirinas idénticas compuestas, a su vez, por un átomo ferroso ( $\text{Fe}^{++}$ ) y una protoporfirina IX. El átomo de hierro se localiza en el centro de la estructura y se une a 4 pirroles que componen la protoporfirina IX por puentes de nitrógeno.

La unión del oxígeno al grupo hemo sólo es posible cuando el hierro se halla en forma reducida ( $\text{Fe}^{++}$ ) y cuando se oxida ( $\text{Fe}^{+++}$ ), la hemoglobina se transforma en metahemoglobina que no puede fijar el oxígeno, careciendo, por lo tanto, de función respiratoria. Cada grupo hem puede transportar un molécula de oxígeno, como cada hemoglobina presenta 4 grupos hem, cada Hb transporta 4 moléculas de oxígeno, es decir, 8 átomos de oxígeno en total.

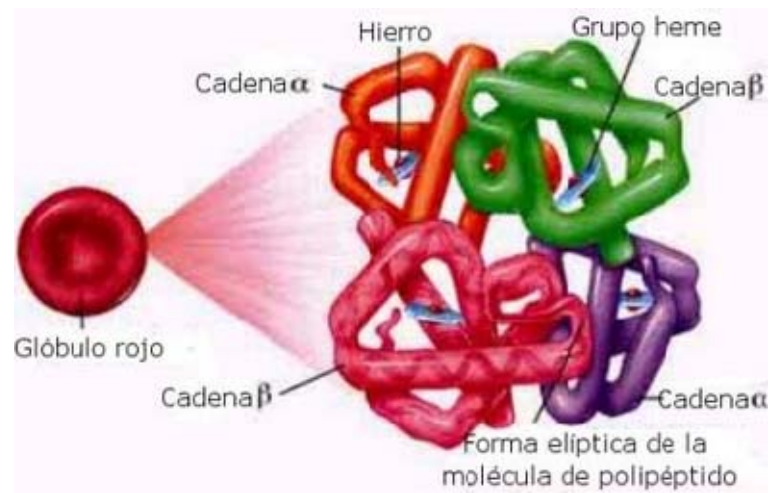
**Grupo proteico:** denominado globina consta de 4 cadenas constituida por 146 aminoácidos. Las subunidades proteicas al unirse entre sí forman una estructura globular en la que se disponen unas cavidades donde se alojan los grupos hemo. En su región central, las 4 cadenas delimitan un espacio para el 2-3 difosfoglicerato (2,3-DPG) metabolito derivado de la glucólisis anaerobia que favorece la liberación de oxígeno. (García, 2010)

**Figura N. 1 Composición de la hemoglobina**



Fuente: (Brandan, 2008)

**Figura N. 2 Molécula de la hemoglobina**



Fuente: (Brandan, 2008)

## **2.3 HEMOGLOBINOPATÍAS**

Son enfermedades hereditarias de la sangre que alteran el transporte de oxígeno, en los que la anomalía estructural es resultado de una alteración del código genético del DNA para una o más cadenas de la globina.

Los cambios que se producen se deben a los genes de globina responsable de las modificaciones en la secuencia y estructura de cada tipo de polipéptido globina, así como aquellos para la regulación cuantitativa de la síntesis equilibrada entre las globinas alfa y beta. Cuando un gen particular presenta una de sus bases nitrogenadas sustituidos con uno diferente, lo que resulta en la formación de las moléculas de hemoglobina con características bioquímicas alteradas en comparación con hemoglobina normal y por lo tanto se denominan variantes de hemoglobina. Por ejemplo, la hemoglobina S es debido a la introducción del aminoácido valina (Val) en lugar de ácido glutámico (Glu) en la posición número 6 de la cadena polipeptídica de globina beta a través de un proceso conocido como mutación. (Rohm, 2012)

### **2.3.1 Epidemiología de las hemoglobinopatías**

Las hemoglobinopatías están extendidas por todo el mundo, cerca del 5% de la población mundial es portadora de genes causantes de hemoglobinopatías. Cada año nacen aproximadamente 300.000 niños con hemoglobinopatías importantes, de los cuales más de 200.000 son africanos que presentan anemia falciforme. En todo el mundo hay varios portadores de drepanocitosis, pero la elevada frecuencia del gen de la drepanocitosis en ciertas áreas da lugar a elevadas tasas de natalidad de recién nacidos afectados por esta enfermedad (OMS, 2006)

### **2.3.2 Variantes patológicas de las hemoglobinopatías**

Existen más de 400 variantes de hemoglobinopatías, pero las que se expresan clínicamente son:

#### **2.3.2.1 Síndromes falciformes**

##### **A. Rasgo de células falciformes**

B. Enfermedad de células falciformes

2.3.2.2 Hemoglobinas inestables

2.3.2.3 Hemoglobinas con afinidad anormal para el oxígeno

Afinidad alta

Afinidad baja

2.3.2.4 Hemoglobinas M

2.3.2.5 Variantes estructurales que producen un fenotipo talasémico

A. Fenotipo  $\beta$ -talasemia

B. Fenotipo  $\alpha$ -talasemia

### **2.3.3 Clasificación de las hemoglobinopatías**

**2.3.3.1 Hemoglobinopatías Estructurales:** Hemoglobinas con alteraciones de la secuencia de aminoácidos, que causan alteraciones de la función o de las propiedades físico - químicas:

- a. Polimerización Anómala de Hemoglobina: HbS, Falciformación de la Hemoglobina.
- b. Afinidad por el Oxígeno Alterada:
  - Alta Afinidad: Policitemia.
  - Baja Afinidad: Cianosis, Pseudoanemia.
- c. Hemoglobinas que se Oxidan Fácilmente.
  - Hemoglobinas Inestables: Anemia hemolítica, Ictericia.
  - Hemoglobinas M: Metahemoglobinemia, Cianosis.

**2.2.3.2 Talasemias:** biosíntesis deficiente de las cadenas de globina:

a. Talasemias  $\alpha$ .

b. Talasemias  $\beta$ .

- c. Resto de talasemias.

**2.2.3.3 Variantes de la hemoglobina talasémicas:** Hb estructuralmente anormal asociada con la herencia de un fenotipo talasémico:

- a. HbE
- b. Hb Constant Spring
- c. Hb Lepore

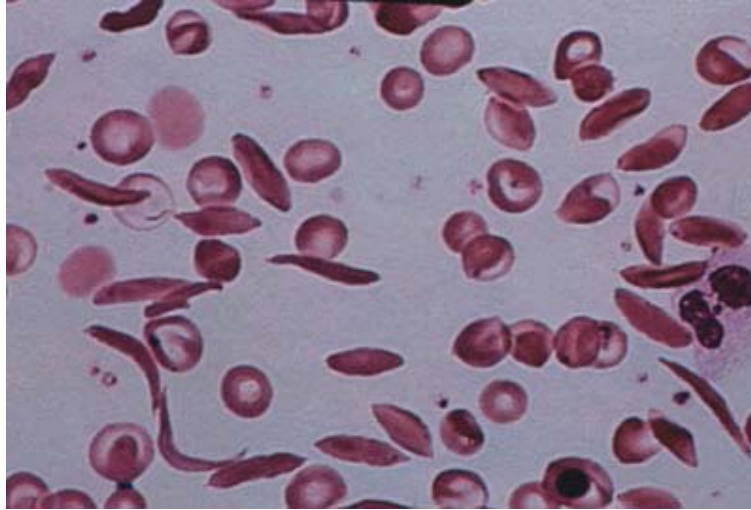
**2.2.3.4 Persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal:** Persistencia en Adultos de concentraciones elevadas de HbF.

**2.2.3.5 Hemoglobinopatias adquiridas:**

- a. Metahemoglobina debida a la exposición a tóxicos
- b. Sulfohemoglobina debida a exposición a tóxicos
- c. Carboxihemoglobina
- d. HbH en eritroleucemia
- e. HbF elevada en estados de estrés eritroide y displasia de médula ósea. (Rodak, 2013)

## 2.4 DREPANOCITOSIS

**Figura N. 3 Drepanocitos**

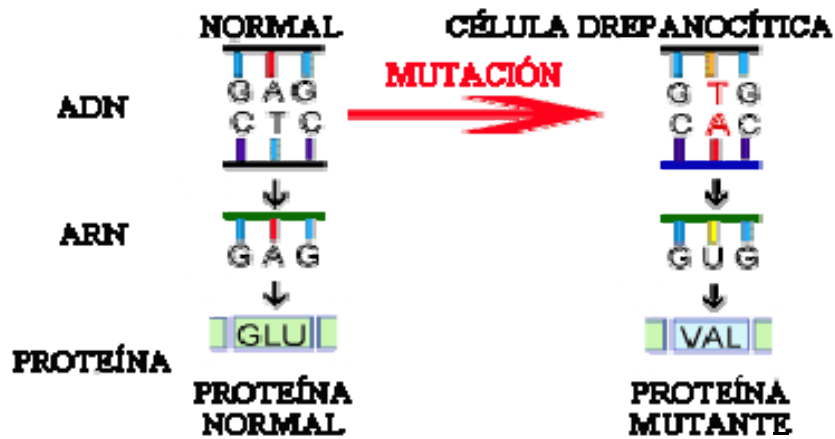


**Fuente:** (Rodak & Carr, 2009)

La drepanocitosis, es un grupo de trastornos hereditarios de los glóbulos rojos. Las moléculas de desoxihemoglobina S presentan una fuerte tendencia a agregarse de forma ordenada, dando lugar a la formación de múltiples microtúbulos colocados de forma helicoidal. Como resultado de esta agregación se produce la deformación de los hematíes en diferentes formas rígidas, incluyendo la clásica forma de hoz. Este proceso aumenta la viscosidad sanguínea, con aparición de estasis vascular y daño tisular. Cuando una célula se deforma se producen daños irreversibles en la membrana y la célula se destruye. (Williams, 2009)

La drepanocitosis es una enfermedad genética autosómica recesiva resultado de la sustitución de adenina por timina en el gen de la globina beta, ubicado en el cromosoma 11, lo que conduce a una mutación de ácido glutámico por valina en la posición 6 de la cadena polipeptídica de globina beta y a la producción de una hemoglobina funcionalmente defectuosa, la hemoglobina S. Debido al cambio de ese aminoácido, las moléculas de hemoglobina se agregan formando fibras y dándole al hematíe esa forma de hoz. (Zúñiga, 2014)

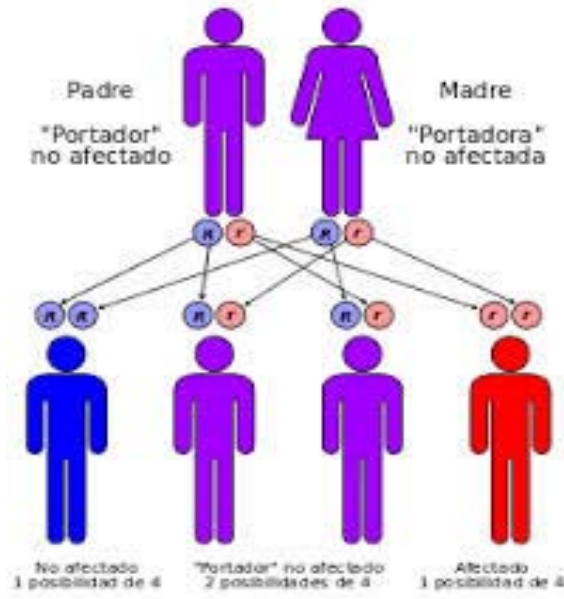
Figura N. 4 Mutación genética de la Drepanocitosis



Fuente: (A Case Study: Sickle Cell Anemia, s.f)

Las personas con rasgo falciforme son portadoras de la hemoglobina S, son asintomáticas, las cifras y la morfología sanguínea son normales, su desarrollo físico, actividad y longevidad son normales. La concentración de la HbS es menor del 50%, no obstante, en algunas circunstancias de anoxia, puede ocasionalmente presentar complicaciones. Los heterocigotos HbA HbS, presentan una anemia leve y bajo circunstancias normales, presentan la misma eficacia biológica que los homocigotos normales HbA HbA. Sin embargo en las regiones de África, con una incidencia alta de paludismo, los heterocigotos presentan una eficacia mayor que los homocigotos normales, porque la presencia de alguna cantidad de hemoglobina falciforme protege de alguna manera frente al protozoo del paludismo y es un caso que ilustra la relación entre la eficacia biológica y el ambiente, siendo este un caso de lo que se llama polimorfismo compensado. (Ashley- Koch,2008).

**Figura No. 5 Genética de la Drepanocitosis**



**Fuente:** (Fisiología Humana-Genética y Herencia, 2014)

El recién nacido está protegido por un alto nivel de hemoglobina fetal en los glóbulos rojos durante las primeras 8 a 10 semanas de vida, conforme el nivel baja, las manifestaciones clínicas de la drepanocitosis aparecen, y las manifestaciones hematológicas de la drepanocitosis son aparentes hacia la décima u duodécima semanas de vida. (Williams, 2009)

#### **2.4.1 Fisiopatología de la drepanocitosis**

El evento primario de la fisiopatología es la polimerización de la hemoglobina (Hb) S desoxigenada que deforma al hematíe. Este hematíe deformado (drepanocito), ocluye frecuentemente la microcirculación, lo que provoca hipoxia, más polimerización y por consiguiente, más oclusión vascular. Este proceso aparentemente simple, es en realidad muy complejo; en él participa una disminución del óxido nítrico debido a su captación por la Hb liberada en el plasma por la hemólisis intravascular. Esta disminución produce vasoconstricción, aumento de la expresión de moléculas de adhesión y activación plaquetaria. Existen alteraciones de la membrana del hematíe que conducen a una

homeostasis anormal de cationes con deshidratación de la célula y la expresión de fosfatidilserina (procoagulante) en su superficie. Participan en el proceso: citocinas inflamatorias, factores de la coagulación, una disminución de la enzima Adams 13 con aumento de los multímeros del factor von Willebrand, y alteraciones reológicas y hemodinámicas. La microvasculatura tiene un tono anormal y se produce una vasculopatía proliferativa por aumento del factor inducido por la hipoxia (HIF-1). El glicocálix, sustancia antiinflamatoria y antiadhesiva que protege al endotelio vascular de su contacto con las células sanguíneas circulantes, disminuye por hipoxia e isquemia, y se produce un aumento del factor de necrosis tumoral (FNT a) que lesiona el endotelio vascular. (Svarch, 2011).

La oclusión vascular es considerada en la actualidad, una forma de injuria de repercusión, en la que el estrés oxidativo y la inflamación llevan al daño crónico de los órganos. (Svarch, 2011).

En un estudio realizado por Robert Hebbel y sus colaboradores, demostraron que el componente hemo de la hemoglobina tiende a liberarse de la proteína debido a episodios repetidos de la polimerización de la hemoglobina S. Algunos de estos grupos hemo libres tienden a alojarse en la membrana de los hematíes, el hierro de este grupo promueve la formación de componentes muy peligrosos llamados especies reactivas de oxígeno. Estas moléculas dañan los componentes lipídicos y proteicos de la membrana de los glóbulos rojos, produciendo su destrucción (hemólisis). Por lo tanto, en la anemia falciforme se incrementa la hemólisis y desciende el valor de la hemoglobina y el hematocrito aproximadamente a la mitad del valor normal. (Stryer, 2013).

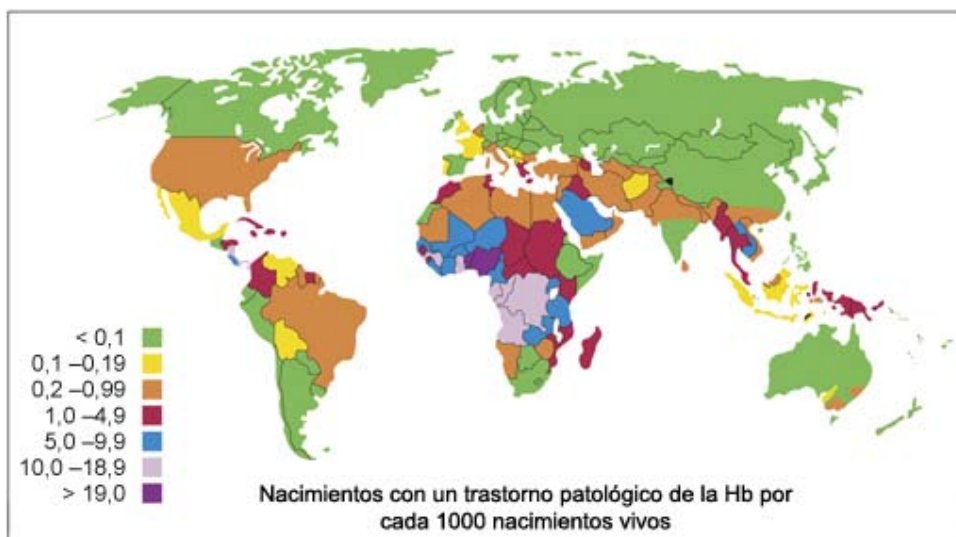
#### **2.4.2 Epidemiología de la drepanocitosis**

La drepanocitosis es especialmente frecuente en personas con antepasados originarios del África subsahariana, la India, la Arabia Saudita o los países del Mediterráneo. Las migraciones incrementaron la frecuencia del gen en el continente americano. En algunas zonas del África subsahariana, el porcentaje de niños que nacen con este trastorno puede llegar al 2%. En general, la prevalencia del rasgo drepanocítico (portadores sanos que han heredado el gen mutante solamente de uno de los progenitores) oscila entre el 10% y el

40% en África ecuatorial y disminuye al 1% a 2% en la costa norteafricana, y a menos del 1% en Sudáfrica. Esta distribución se debe a que el rasgo drepanocítico confiere una ventaja de supervivencia frente al paludismo, con el consiguiente aumento de la frecuencia del gen mutante en las zonas con elevada transmisión del paludismo.

En países de África occidental como Ghana y Nigeria, la frecuencia del rasgo es del 15% al 30%, mientras que en Uganda presenta acentuadas variaciones tribales, llegando al 45% en la tribu Baamba del oeste del país.

**Figura No. 6 Distribución mundial de la Drepanocitosis**



**Fuente:** (Sickle Cell Disease Epidemiology and Pathophysiology, 2008)

## 2.5 TIPOS DE ANEMIA DREPANOCÍTICA

**2.5.1 HbSS:** Son personas que heredan dos genes de las células drepanocíticas (“S”), uno de cada padre. A esta enfermedad se le llama comúnmente anemia drepanocítica o de células falciformes y suele ser la forma más grave de esta enfermedad.

**2.5.2 HbSC:** Un trastorno sanguíneo genético en el cual el paciente hereda un gen para la hemoglobina S de un padre y hemoglobina C de otro. La gravedad de los síntomas es variable. #

**2.5.3 HbS beta talasemia:** Son personas que heredan un gen de las células drepanocíticas y otro gen de un tipo de beta talasemia. Existen dos tipos de beta talasemia. “0” y “+”. Las personas con HbS beta 0-talasemia, por lo general, presentan una forma grave de la enfermedad, mientras que las que tienen HbS beta +- talasemia tienden a tener una forma más leve.

**2.5.4 HbSD, HbSE, HbSO:** Son algunos tipos raros de anemia drepanocítica, son personas que heredan un gen de las células drepanocíticas y otro gen de un tipo de hemoglobina anormal. Por lo general, los síntomas y las complicaciones son similares a aquellos de las personas con anemia drepanocítica “HbSS” (CDC, 2013)

## **2.6 MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

Las manifestaciones clínicas en la drepanocitosis o enfermedad de células falciformes pueden variar de la forma asintomática a un cuadro potencialmente fatal, es característico que en los individuos con drepanocitosis estén asintomáticos hasta la segunda mitad del primer año de vida, debido al efecto protector de la HbF. A medida que las cadenas beta de la HbS reemplazan a las cadenas gamma de la HbF, los eritrocitos que contienen HbS se hacen susceptibles a la hemólisis y puede aparecer una anemia hemolítica progresiva con esplenomegalia. (Rodak, 2014)

Entre las manifestaciones clínicas tenemos:

- Dactilitis en manos y en pies.
- La colelitiasis y colecistitis, que puede resultar de la producción de exceso de bilirrubina y la precipitación debido a la hemólisis prolongada.
- La necrosis avascular de la cadera y otras articulaciones grandes, que puede ocurrir como un resultado de la isquemia.
- El priapismo

- Infarto de miocardio.
- La osteomielitis; la causa más común de la osteomielitis en la enfermedad de células falciformes es la Salmonella, seguido por Staphylococcus aureus y bacilos entéricos gram-negativa.
- Necrosis papilar aguda en los riñones.
- Úlceras en las piernas.
- En los ojos, la retinopatía proliferativa, hemorragias vítreas y desprendimientos de retina, lo que resulta en ceguera. Se recomiendan controles oculares regulares anuales.
- Durante el embarazo, retraso del crecimiento intrauterino, aborto espontáneo, y la pre-eclampsia.
- La hipertensión pulmonar, que conduce a la tensión en el ventrículo derecho y el riesgo de insuficiencia cardíaca, los síntomas típicos son la falta de aire, disminución de la tolerancia al ejercicio y episodios de síncope.
- La insuficiencia renal crónica.

En pacientes que tiene drepanocitosis, se dan varios tipos de crisis, y estas pueden clasificarse como: crisis vasculares (dolorosas), crisis aplásica, crisis de secuestro y crisis hemolítica. (Williams, 2009)

## **2.7 CRISIS DREPANOCITICAS**

**2.7.1 Crisis vasooclusiva:** Es la más frecuente, y es la clave del paciente con enfermedad por células falciformes, este tipo de crisis resulta de interacciones complejas entre el endotelio, los factores plasmáticos, los leucocitos y los glóbulos rojos rígidos falciformes, que conducen a la obstrucción de los vasos sanguíneos. La hipoxia tisular conduce a muerte tisular y dolor localizado. Las crisis vasooclusivas puede afectar a cualquier tejido, pero el dolor se da especialmente en huesos (incapacidad de los glóbulos rojos de fluir correctamente a los pequeños vasos sanguíneos), tórax (aglutinación de las células falciformes bloqueando el flujo de oxígeno en los diminutos vasos pulmonares) y abdomen (infarto del bazo ocasiona dolor abdominal). (Williams, 2009)

**2.7.2 Crisis aplásica:** La crisis aplásica es el resultado de la interrupción brusca de la eritropoyesis con descenso de la reticulocitosis y de los niveles de hemoglobina. La caída de esta última, puede ser muy grave y causar insuficiencia cardíaca y la muerte en pocas horas. (Ruiz, 2014)

La depresión de la eritropoyesis se asocia generalmente con infecciones. Las infecciones con la cepa B19 de *parvovirus* parecen ser hasta ahora la más importante causa de tales crisis y pueden ir acompañadas por necrosis medular extensa. El fallo en la producción medular puede también provenir de una deficiencia de ácido fólico, especialmente durante el embarazo avanzado, y esto puede a veces designarse como una crisis megaloblástica. (Williams, 2009)

**2.7.3 Crisis de secuestro:** Se observa especialmente en bebés y niños pequeños, pero puede presentarse en adultos con esplenomegalia, particularmente en aquellas hemoglobinopatías SC o talasemia beta falciforme. La misma que se caracteriza por el súbito almacenamiento masivo de glóbulos rojos, especialmente en el bazo.

Se considera como crisis de secuestro aguda cuando el nivel de la hemoglobina es menor de 6 g/dL y ha caído más de 3 g/dL comparada con el valor basal; una crisis de secuestro aguda menor, es aquella en la que el nivel de la hemoglobina es mayor de 6 g/dL. (Williams, 2009)

**2.7.4 Crisis hemolíticas:** La vida media del glóbulo rojo está disminuida en todas las variedades de drepanocitosis. Puede estar súbitamente más disminuida, esta velocidad aumentada de hemólisis se designa como crisis hemolítica. El aumento resultante de ictericia se asocia con una caída en la hemoglobina y recuento elevado de reticulocitos. (Williams, 2009)

**2.7.5 Accidente cerebrovascular:** Complicación repentina y severa en los niños, las células deformadas pueden bloquear los principales vasos sanguíneos que aportan oxígeno al cerebro, el niño con accidente cerebrovascular, tiene un 60% más de probabilidades de tener un segundo y tercer episodio. Como signo más común de la anemia drepanocítica es la ictericia o color amarillento de la piel, ojos y la mucosa bucal. Las células falciformes no viven tanto tiempo como los glóbulos rojos normales; por lo tanto mueren a una velocidad más rápida que la capacidad de filtración del hígado. (Ruiz, 2014)

## **2.8 DIAGNÓSTICO**

Para el diagnóstico de la drepanocitosis se necesita conocer los antecedentes médicos y el examen físico completo, los procedimientos de diagnóstico para la anemia drepanocítica incluyen exámenes de sangre como la biometría hemática, bilirrubinas séricas, metabisulfito de sodio y electroforesis de hemoglobina, antecedentes familiares completos y datos obtenidos de las pruebas de tamizaje del neonato. El diagnóstico precoz es esencial para proporcionar el tratamiento preventivo adecuado para algunas de las devastadoras complicaciones de la enfermedad. (Jiménez, 2010)

Los problemas diagnósticos en casos de anemia falciforme surgen cuando junto a la Hb S coexisten otras hemoglobinopatías estructurales o talasemias. La asociación de Hb SC no suele crear problemas ya que la electroforesis permite apreciar claramente las dos fracciones, S y C muy bien separadas. En caso de HbS-talasemia, por el contrario pueden existir dificultades. Estas aparecen en caso de HbS SB-talasemia, donde existe un claro predominio de la HbF sobre la A normal, (10-30%). Esta situación se diferencia de la drepanocitosis heterocigoto, caracterizada por un moderado predominio de la Hb A sobre la S, en caso de la Hb SB-0-talasemia y Hb S A-Talasemia el patrón electroforético es idéntico al de la drepanocitosis homocigota, excepto que en ambos casos suele observarse un aumento de la Hb A2, junto a la disminución del VCM. Por ello en ambas situaciones el diagnóstico diferencial exige el empleo de la biología molecular aunque ninguna de ellas debe olvidarse de una transfusión reciente puede falsear el patrón electroforético y hacerse muy similar al de la drepanocitosis heterocigoto, debido a la perfusión de eritrocitos normales que solo contienen HbA. (Jiménez, 2010)

## **2.9 TRATAMIENTO**

No se dispone de un tratamiento específico para la enfermedad primaria. Los pacientes se conservan con complementos de ácido fólico y transfusiones en crisis aplásicas o hemolíticas. La vacunación contra neumococos reduce la incidencia de infecciones con este patógeno. Dentro de estas medidas profilácticas puede incluirse la detección intrauterina de homocigotos, empleando técnicas de ADN recombinante, cada día más

perfeccionadas y con menor riesgo para el producto pero aún limitadas a los centros que la practican. (McPhee, 2009)

Cuando ocurren episodios dolorosos agudos es necesario identificar los factores precipitantes y tratar infecciones, si existen. El enfermo debe conservarse bien hidratado y si está hipóxico se administra oxígeno. Las crisis vasooclusivas agudas pueden tratarse con transfusiones de intercambio, las cuales están indicadas sobre todo para crisis dolorosas resistentes al tratamiento, priapismo y apoplejía. El tratamiento transfusional a largo plazo ha mostrado ser eficaz para reducir el riesgo de apoplejía recurrente en niños. (McPhee, 2009)

Los fármacos citotóxicos como la hidroxiurea actúa en la fase de síntesis del ciclo celular, incrementa la concentración de hemoglobina F mediante la estimulación de la eritropoyesis en los precursores eritroides. La hidroxiurea (500 a 750 mg/día) reduce la frecuencia de crisis dolorosas en individuos cuya calidad de vida se altera por episodios frecuentes de dolor. El alotransplante de médula ósea está en proceso de estudio como una posible opción curativa para los pacientes jóvenes. (McPhee, 2009)

## **2.10 PRUEBAS DE LABORATORIO**

### **2.10.1 Electroforesis de hemoglobina**

El diagnóstico básico de las hemoglobinopatías está basado en la separación y cuantificación de las fracciones normales de la hemoglobina (A, A<sub>2</sub>, F) y hemoglobinas anormales (S, E, C, D). La electroforesis capilar completamente automática ha probado ser la técnica óptima entre los métodos preferidos en el laboratorio moderno, la electroforesis capilar tiene alta sensibilidad y especificidad. (Kohn, 2012)

La electroforesis capilar (CE) es una técnica de separación basada en la diferente velocidad de migración de las distintas especies cargadas bajo la acción de un campo eléctrico.

La separación se lleva a cabo en un capilar de sílice fundida de diámetro muy pequeño (10-200 µm). La electroforesis capilar permite la separación de moléculas cargadas en función de su movilidad electroforética propia en un tampón de pH dado, y, según el pH del electrolito. En la CE la inyección en los capilares de las muestras diluidas con la solución hemolizante se realiza en el ánodo por aspiración.

La separación se realiza a continuación aplicando una diferencia de potencial de varios miles de voltios en los extremos de cada capilar, la detección directa de las hemoglobinas se efectúa a 415 nm en el lado catódico. Los capilares se lavan antes de cada análisis con una solución de lavado, y luego con el tampón de análisis.

## **2.11 MARCO CONCEPTUAL**

### **2.11.1 Anemia**

Es la disminución de los eritrocitos, la hemoglobina y el hematocrito por debajo de los valores normales establecidos con anterioridad para las personas sanas de la misma edad, sexo y raza en condiciones ambientales similares. Además es consecuencia de la disminución de la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre y se relaciona con hipoxia tisular. (Ruiz, 2014)

### **2.11.2 Anemia hemolítica**

Es la destrucción prematura de los eritrocitos. La hemólisis provoca una mayor producción de eritrocitos, y esto se traduce por el aumento del índice de reticulocitos. (Ruiz, 2014)

### **2.11.3 Drepanocitosis**

Pertenece al grupo de anemias hemolíticas crónicas congénitas, resultado de una mutación en el cromosoma 11 del ADN, que es responsable de la producción de la hemoglobina anormal. Además es un trastorno homocigoto recesivo, los sujetos heterocigotos con el rasgo drepanocítico a veces tienen manifestaciones clínicas a grandes alturas o en condiciones de estrés físico extremo. (FUNDREPA, 2010)

### **2.11.4 Electroforesis de hemoglobina**

Es una técnica de separación basada en la diferente velocidad de migración de las distintas especies cargadas bajo la acción de un campo eléctrico que permite medir los diferentes tipos de hemoglobina. (Osatinsky, 2007)

### **2.11.5 Hemoglobina**

Es el componente principal de los glóbulos rojos, heteroproteína de masa molecular 64.000 g/mol (64 kDa), que transporta el O<sub>2</sub> desde los pulmones hasta los tejidos y el dióxido de carbono desde los tejidos hasta los pulmones. (Gil, 2010)

### **2.11.6 Heterocigoto**

Un organismo heterocigoto respecto a un gen dado cuando tiene en cada uno de los cromosomas homólogos un alelo parecido a otro, (se expresa, por ej.: Aa), que posee dos formas diferentes de un gen en particular; cada una heredada de cada uno de los progenitores. (Bolboreta Forest, 2013)

### **2.11.7 Homocigoto**

Un organismo es homocigótico respecto a un gen cuando los dos alelos codifican la misma información para un carácter. (Bolboreta Forest, 2013)

### **2.11.8 Mutación**

La mutación en genética y biología, es una alteración o cambio en la información genética (genotipo) de un ser vivo (muchas veces por contacto con mutágenos) y que, por lo tanto, va a producir un cambio de características, que se presenta súbita y espontáneamente, y que se puede transmitir o heredar a la descendencia (Bolboreta Forest, 2013)

### **2.11.9 Patognomónico**

Términos utilizado en el diagnóstico médico o psicológico para calificar a aquellos signos clínicos (manifestaciones comprobables por el especialista) o síntomas (manifestaciones percibidas subjetivamente por el paciente y de las que informa al especialista) que, si están presentes, aseguran que el sujeto padece un determinado trastorno. (Academic, 2012)

### **2.11.10 Hemoglobinopatía**

Conjunto de alteraciones de la globina secundarias a mutaciones genéticas, cuya consecuencia puede ser una modificación estructural de la molécula de hemoglobina o una disminución en la síntesis de una cadena globínica, estructuralmente normal (talasemias). La alteración puede darse en forma homocigota o heterocigota. En las formas homocigotas solo se detecta la hemoglobina anormal, se manifiestan así los síntomas típicos de las

hemoglobinopatías. En las formas heterocigotas aparecen en el hematíe tanto la hemoglobina A como su variante. (Martins, 2010)

#### **2.11.11 Hb S**

Tipo de hemoglobina anormal que se caracteriza por la sustitución de un aminoácido, el ácido glutámico, por una valina. Puede distinguirse, con facilidad, de la HbA normal por su menor movilización electroforética. Esta hemoglobina es la causante de la falciformación de los eritrocitos. En el curso de la desoxigenación, la HbS presenta un aumento considerable de la viscosidad transformándose en un gel. Debido a ello, los eritrocitos sufren una intensa deformación y adoptan la forma de hoz o drepanocitos. (Martins, 2010)

#### **2.11.12 Célula drepanocítica**

Eritrocito con hemoglobina defectuosa y esto hace que estas células, que normalmente son redondas y flexibles, se vuelvan rígidas y tomen la forma de una hoz o media luna lo que causa un deterioro en su función principal que es la de transportar oxígeno a los órganos y tejidos del organismo. (Martins, 2010)

## **CAPÍTULO III**

### **MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1 Tipo de Estudio**

En función del propósito del problema, se realizó un estudio exploratorio porque es la primera vez que se realiza el estudio en Piquiucho, Valle del Chota y transversal por su ubicación en el tiempo, seleccionando una población de niños y niñas de Piquiucho.

#### **3.2 Tamaño de la población**

De acuerdo al censo del 2010 se registraron 53 niños de 4 a 12 años de edad en la comunidad de Piquiucho, Valle del Chota. De la población estimada se trabajó con 43 niños. (ANEXO 1)

#### **3.3 Criterios de inclusión**

- Niños y niñas afroecuatorianos entre 4 - 12 años de edad residentes en Piquiucho, Valle del Chota, 2013
- Niños y Niñas residentes en Piquiucho, Valle del Chota a los cuales los padres brinden el consentimiento informado para la investigación. (ANEXO 2 y ANEXO 3)

#### **3.4 Criterios de exclusión**

- Niños y niñas menores de 4 años y mayores de 12 años.
- Muestras coaguladas y hemolizadas. (ANEXO 4)
- Niños y niñas que presenten otro tipo de hemoglobinopatías.

## **3.5 OPERACIONALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

### **3.5.1 Variables**

### **3.5.2 Tipos de variables**

#### A) Variables dependientes:

Drepanocitosis

#### B) Variables independiente:

Edad

Género

### 3.5.3 Operacionalización de las variables

Tabla 1. Operacionalización de las variables

Variables		Definición	Dimensión	Escala	Indicador	Instrumento
VARIABLE INDEPENDIENTE	Drepanocitosis	Enfermedad hereditaria que se caracteriza por que los glóbulos rojos toman forma de hoz.	Positivo Negativo	Positivo Negativo	Porcentaje de HbS	Minicap
	Género	División del género humano en dos grupos: hombre y mujer	Fenotipo	Masculino Femenino	Frecuencia % Chi-Cuadrado	Encuesta
VARIABLE DEPENDIENTE	Edad	Tiempo de vida de una persona.	4 - 6 7 - 9 10 - 12	Años cumplidos	Frecuencia %, media IC 95% Chi-cuadrado	Encuesta

**Elaboración:** Rocío del Pilar Cuero – Cathy Yajamín

### **3.6 RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN**

La información requerida para este estudio se recopiló en un formato específico creado para el efecto, y se realizó una base de datos en Microsoft Office Excel 2010 y el análisis estadístico será realizado con el programa SPSSv18.0 facilitado por la Facultad de Biología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

### **3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

En primer lugar se desarrolló la distribución de frecuencias agrupadas por edades y por géneros; sobre estas frecuencias diferenciadas en las categorías de edades y géneros se realizó la prueba de Chi- Cuadrado de Pearson.

### **3.8 CONTROL DE CALIDAD**

En el equipo MINICAP se utiliza un control normal (ANEXO 5), en el cuál se observa la hemoglobina A y la hemoglobina A<sub>2</sub> que nos sirven de referencia para detectar otros tipos de hemoglobinas. (Manual de instrucciones - Minicap 2009) (ANEXO 6)

En el equipo Sysmex XE-2100, previo al procesamiento de las muestras se realizó un mantenimiento diario, y la corrida de controles, que comprenden: NIVEL BAJO, NIVEL MEDIO y NIVEL ALTO. (ANEXO 8)

### **3.9 EQUIPOS Y REACTIVOS**

#### **3.9.1 Minicap – Electroforesis de hemoglobina**

MINICAP es un aparato de electroforesis capilar automatizado provisto de dos tubos capilares, que permiten realizar varias separaciones electroforéticas simultáneas sin manipulación y a gran velocidad.

El sistema MINICAP permite realizar automáticamente todas la etapas de electroforesis desde el tubo primario hasta la obtención del perfil electroforético: identificación de las muestras, dilución de las muestras, lavado de los capilares, inyección de las muestras

diluidas en los capilares, migración, detección, edición de los resultados y transmisión informática de los resultados obtenidos. (Manual de instrucciones - Minicap, 2009)

Los reactivos que utiliza son:

- Tampón
- Solución hemolizante
- Solución de lavado
- Cubetas desechables
- Filtros
- Caja para cubetas usadas

### **3.9.2 Contador hematológico SYSMEX XE-2100**

Es un analizador automático que permite aspirar determinada cantidad de muestra, que es dividida en dos, una parte es lisada y diluida para medir la concentración de hemoglobina y el recuento de leucocitos, y otra es diluida pero sin lisis para el recuento y medida de células rojas, plaquetas y hasta reticulocitos en los equipos más avanzados. (Beutler, 2005) Este instrumento emplea básicamente las siguientes metodologías: Enfoque hidrodinámico; citometría de flujo con láser semiconductor (para leucocitos y basófilos), citometría de flujo fluorescente (para neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y reticulocitos) y SLS hemoglobina.

Los reactivos que utiliza son:

- Cellpack
- Cellsheath
- Stromatolyser-FB
- Stromatolyser-4DS
- Stromatolyser-4DL
- Sulfolyser
- Stromatolyser-NR (colorante)

- Stromatolyser-NR (lisante)
- Strmatolyser-IM
- Ret search (II) (diluyente)
- Ret search (II) (colorante)

Se utilizó el equipo XE-2100 en el estudio para obtener el valor de la hemoglobina, que es útil para el reporte final de la electroforesis capilar de hemoglobina.

### **3.10 PROCEDIMIENTO**

El procedimiento de la electroforesis de hemoglobina y los respectivos reactivos e insumos se detalla en el (Anexo 11)

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

#### 4.1 Distribución de la población de acuerdo al género

Se analizó un total de 43 niños y niñas afroecuatorianos residentes en Piquiucho, Valle del Chota, de los cuales el 41.9% fueron del género masculino y un 58.1% del género femenino. (Tabla 2)

**Tabla N° 2 Distribución de la Población de acuerdo al género**

<b>Género</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
<i>MASCULINO</i>	<i>18</i>	<i>41.9%</i>
<i>FEMENINO</i>	<i>25</i>	<i>58.1%</i>
<b>TOTAL</b>	<b>43</b>	<b>100%</b>

**Elaboración:** Base de datos de las investigadoras  
Pilar Cuero - Cathy Yajamín

#### 4.2 Distribución de la muestra por grupo etario.

La tabla N°3 indica las frecuencias y el porcentajes para cada grupo etáreo de los niños y niñas afroecuatorianos residentes en Piquiucho, Valle del Chota. Entre las edades de 4 -6 años se obtuvo el menor porcentaje 20.9% y el 39.5% entre los rangos de 7 -9 años y 10 - 12 años. (Tabla 3)

**Tabla N° 3 Distribución de la Población de acuerdo a la edad.**

<b>Edad</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
<i>4-6</i>	<i>9</i>	<i>21.0%</i>
<i>7-9</i>	<i>17</i>	<i>39.5%</i>
<i>10-12</i>	<i>17</i>	<i>39.5%</i>
<b>Total</b>	<b>43</b>	<b>100.0%</b>

**Elaboración:** Base de datos de las investigadoras  
Pilar Cuero - Cathy Yajamín

### 4.3 Distribución de la muestra por género y resultados obtenidos.

En la tabla N° 4 indica el total de casos obtenidos de la prevalencia de drepanocitosis en niños y niñas afroecuatorianos residentes en Piquiucho, Valle del Chota con el 16%, también se concluye que el género en el que se obtuvieron el mayor número de casos positivos corresponden al masculino con un 9% de drepanocitosis. (Tabla 4)

**Tabla N° 4 Distribución de la Población de acuerdo al género y resultado obtenidos.**

<b>Género</b>	<b>Resultado</b>				<b>Total</b>	
	<b>Positivo</b>		<b>Negativo</b>			
<b>Masculino</b>	4	9%	14	33%	18	42%
<b>Femenino</b>	3	7%	22	51%	25	58%
<b>Total</b>	7	16%	36	84%	43	100%

**Elaboración:** Base de datos de las investigadoras  
Pilar Cuero - Cathy Yajamín

#### 4.4 Distribución de la Población de acuerdo a la edad y resultado obtenidos.

La tabla N°5 indica las frecuencias y el porcentaje para cada grupo etáreo de los niños y niñas afroecuatorianos residentes en Piquiucho, Valle del Chota con relación a los resultados obtenidos de los casos positivos y negativos, se observa que entre el rango de edad de 10 -12 años se obtuvieron el mayor número de casos positivos con un 9% en la electroforesis de hemoglobina S. (Tabla 4)

Tabla N° 5 Distribución de la Población de acuerdo a la edad y resultado obtenidos.

<i>Edad</i>	<i>Resultado</i>				<i>Total</i>	
	<i>Positivo</i>		<i>Negativo</i>			
<i>4 – 6 años</i>	1	2%	8	19%	9	21%
<i>7 – 9 años</i>	2	5%	15	35%	17	40%
<i>10 – 12 años</i>	4	9%	13	30%	17	40%
<i>Total</i>	7	16%	36	84%	43	100%

**Elaboración:** Base de datos de las investigadoras  
Pilar Cuero - Cathy Yajamín

#### 4.5 Análisis del Chi - Cuadrado

Tabla N° 6 Análisis del Chi-cuadrado

<i>Variables</i>	<i>Chi – Cuadrado</i>	<i>Valor</i>
<i>Edad</i>	<i>Pearson Correlation</i>	<i>0.581</i>
<i>Género</i>	<i>Pearson Correlation</i>	<i>0.427</i>

*Chi – Cuadrado  $p < 0.05$ , Nivel de confianza 95%*

**Elaboración:** Base de datos de las investigadoras  
Pilar Cuero - Cathy Yajamín

Se utilizó el Chi – Cuadrado como sistema estadístico ya que esta herramienta ayuda a tener un coeficiente de variación de 95% de confianza. Con los valores obtenidos y sabiendo que si  $p < 0.05$ , se correlacionó con las variables estudiadas encontrándose un  $p=0.581$  para edad y un  $p=0.427$  para el género, lo que significa que no hay relación de dependencia entre la edad y el género para diagnosticar drepanocitosis en la población estudiada. De acuerdo al número de casos positivos, el cual fue muy pequeño (7 casos) no permitió encontrar diferencia estadísticamente significativa entre género y edad.

## DISCUSIÓN

La drepanocitosis es una enfermedad genética muy importante en la población afrodescendiente y común en todo el mundo; causante también de mortalidad en su forma homocigota. En Ecuador la incidencia de la drepanocitosis va en aumento y hace parte de las patologías en estudio del ministerio de salud pública. (M.S.P, 2012)

La hemoglobina S ha sido catalogada como una de las hemoglobinopatías más frecuentes entre individuos afrodescendientes. Las publicaciones realizadas sobre hemoglobinopatías estructurales en el Ecuador se han enfocado principalmente en la drepanocitosis por hemoglobina S por ser la variante predominante en las poblaciones afrodescendientes y es fácilmente identificable mediante la electroforesis de hemoglobina. (Cevallos, 2007).

La población estudiada en esta investigación, está compuesta por 43 niños y niñas afroecuatorianos elegidos al azar de una población de 53 niños y niñas, comprendido entre las edades de 4 y 12 años, habitantes de la comunidad de Piquiucho, Valle del Chota, provincia del Carchi (INEC, 2010), los cuales fueron agrupados por edades y género. Del total de niños y niñas que residen en Piquiucho, fueron incluidos en el estudio los niños y niñas con el consentimiento informado autorizado por los padres y permitieron la participación, de los cuales el 41.9% corresponde al género masculino y el 58.1% corresponde al género femenino.

Trabajos realizados en otros países demuestran que en una sociedad de afrodescendiente, la drepanocitosis es una de las mayores afecciones que presenta este grupo racial, encontrándose prevalencias del 3 y 7% en un estudio realizado en Cuba (Sánchez, 2011) y en Panamá una prevalencia de 7.7% de drepanocitosis. (Revista Médica del hospital General de México, 2003).

Estudio realizado en la ciudad de Santo Domingo de los Tsáchilas en el 2006, en una población de 205 individuos afroecuatorianos se encontró una prevalencia del 0.5% de hemoglobina S. (Cevallos, 2007), y comparando con el estudio realizado en la comunidad de Piquiucho, se encuentra que para la cantidad de muestra que fueron tomadas, se obtuvo un porcentaje del 16%, una prevalencia alta en la población estudiada.

## CONCLUSIONES

En el estudio se obtuvo las siguientes conclusiones:

1. De los 43 niños que participaron en este estudio se encontró 7 casos positivos con hemoglobina S que corresponde a una prevalencia del 16%.
2. Se encontró una mayor positividad en la prueba de electroforesis de hemoglobina S en el género masculino con un 9% en relación al género femenino con un 7%.
3. Con respecto a la edad, el mayor número de casos positivos fue en edades de 10-12 años, equivalente a un 9%.
4. Conforme al chi - cuadrado no se encontró significación estadística entre los resultados dependientes del género y edad.

## **RECOMENDACIONES**

1. Realizar campañas de información en la población de Piquiucho, para que las personas tengan conocimiento sobre la drepanocitosis, tomen interés y acudan a los centros de salud para que les realicen pruebas diagnósticas.
2. Dentro de las campañas de información se debe recalcar que existe más riesgo de tener la drepanocitosis, cuando se dan matrimonios entre miembros de una misma familia que son portadores de los genes que causan la enfermedad (OMS, 2011)
3. Dados los hallazgos obtenidos en los niños de 4 a 12 años de edad de la población de Piquiucho, es pertinente recomendar que se realice un estudio de la drepanocitosis en toda la población, para poder determinar la prevalencia global de la enfermedad y que a través del Ministerio de Salud se pueda tratar los casos positivos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ambrosi Cuellar Francisco & Falabelle Francisco, (2004). *Fundamentos de medicina*, Colombia, Editorial CIB 6<sup>ta</sup> edición, pg. 16.
2. Academic, Enciclopedia Universal, (2012) Disponible:  
[http://enciclopedia\\_universal.esacademic.com/17990/Patognom%C3%B3nico](http://enciclopedia_universal.esacademic.com/17990/Patognom%C3%B3nico)
3. Ahbom Anders. (2007). *Fundamentos de Epidemiología*, España, Editorial Siglo 9<sup>na</sup> edición. pg. 30.
4. *A Case Study: Sickle Cell Anemia*. (s.f). Obtenido de Understanding Evolution:  
<http://evolution.berkeley.edu/eosite/evo101/IIC2aCasestudy.shtml>
5. Ángel M. Gilberto, (2014). *Interpretación Clínica del Laboratorio*, Editorial Panamericana 7<sup>ma</sup> edición, Bogotá, pg. 48, 55, 208
6. García Ma. Jose (2010). *Técnico Especialista en Laboratorio del Servicio Gallego de Salud*, España, Editorial Mad 3<sup>ra</sup> edición, pg. 193.
7. Bolboreta Forest, *Genetica*. (2013) Disponible: <http://www.bolboretaforest.Com/index.php/genetica.html>
8. Brandan, N. (2008). *Hemoglobina*. Obtenido de Catedra Bioquímica. Facultad de Medicina UNNE: [https://docs.moodle.org/all/es/images\\_es/5/5b/Hemoglobina.pdf](https://docs.moodle.org/all/es/images_es/5/5b/Hemoglobina.pdf)
9. Cantalejo López M.A. (2005) “*Protocolo de anemia de células falciformes o drepanocitosis*” Madrid Hematología pediátrica. Número 1.
10. Carro Alonzo Beatriz, (2005) *Drepanocitosis Homocigota SS con infarto ósea diafisario*. Disponible: <http://zl.elsevier.es/es/revista/medicina-clnica-2/articulo/drepanocitosis-homocigota-ss-con-infarto-13075457?referer=buscador>
11. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades CDC. (2013) *Anemia drepanocítica*, Disponible: "<http://www.cdc.gov/ncbddd/Spanish/%20sicklecell/facts.html>" /facts.html
12. Cevallos Raúl, (2007). *Prevalencia de hemoglobinas S y C en población afroecuatoriana de Santo Domingo de los Colorados*, Disponible "[http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id\\_articulo=69711&id\\_seccion=3431&id\\_ejemplar=6971&id\\_revista=203](http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=69711&id_seccion=3431&id_ejemplar=6971&id_revista=203)" id\_revista=203

13. Diario PP el verdadero, (2012). *Anemia falciforme, un mal solo de afros*, Disponible: <http://www.ppelverdadero.com.ec/pp-saludable/item/anemia-falciforme-un-mal-solo-de-afros.html>
14. Diario La Hora, (2012) “16% de afros en Imbabura padecen de anemia falciforme o drepanocitosis”. Disponible [http://www.lahora.com.ec/index.php/noticias/show/1101345098#.U3U4V\\_ldVSQ](http://www.lahora.com.ec/index.php/noticias/show/1101345098#.U3U4V_ldVSQ)
15. FUNDREPA, (2010). *Guía integral para la atención de la drepanocitosis*, Costa Rica. Disponible:"<http://www.fundrepa.org/esp/principalnoticias/2011/protocolo.htm/>"
16. García Callejo FG. (2012) *Presentación de dos casos de sordera súbita en pacientes afectos de anemia y rasgo drepanocíticos*. Disponible: <http://zl.elsevier.es/es/revista/acta-otorrinolaringologica-espaola-102/articulo/presentacion-dos-casos-sordera-subita-13097839?referer=buscador>
17. Gonzales de Buitrago José Manuel, (2010). *Técnicas y métodos de laboratorio clínico, España*, editorial Elsevier, 3ra edición, pg. 211 - 217.
18. Hospital general de México, Drepanocitosis, Historia de un Centro Disponible: <http://zl.elsevier.es/es/revista/anales-pediatra-37/articulo/drepanocitosis-experiencia-un-centro-13042966?referer=buscador>
19. Hernandez-Avila M y otros. (2010) “Diseño de estudios epidemiológicos”. Salud pública de México, Marzo – Abril, Vol. 42, n° 2
20. Iron Health. (2008). *Sickle Cell Disease Epidemiology and Pathophysiology*, Disponible: <http://www.ironhealthalliance.com/disease-states/sickle-cell-disease/epidemiology-and-pathophysiology.jsp>
21. Indicadores Básicos de Salud, (2012). *Ministerio de salud pública del Ecuador* Disponible: [http://www.paho.org/ecu/dmdocuments/indi\\_bs\\_%202011.pdf](http://www.paho.org/ecu/dmdocuments/indi_bs_%202011.pdf)
22. Jiménez Hernández Yenier. (2010). “Revista Electrónica de Portales Médicos, Anemia drepanocítica o de células falciforme”. Disponible: [http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/2326/1/Anemia\\_drepanocitica\\_o\\_de:celulas\\_falciformes.html](http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/2326/1/Anemia_drepanocitica_o_de:celulas_falciformes.html).
23. Klever Sáenz. (2012) “Valores de referencia hematológicos en población afro ecuatoriana de Esmeraldas-Ecuador”. IMBIOMED. Número 37.
24. Lynn B. Jorde, (2011). *Genética Médica*. España, Editorial Elsevier 4<sup>ta</sup> edición, pg. 30.

25. New York- Presbyterian, Columbia University, *Hematología y enfermedades de la sangre*, (2009) Disponible: <http://nyp.org/español/library/blood/anehemol.html>
26. Ministerio de Salud Pública (2012) *Taller de atención integral con Anemia Falciforme o Drepanocitosis en Ibarra y Guayaquil*. Disponible: [www.salud.gob.ec/page/14?author=12](http://www.salud.gob.ec/page/14?author=12)
27. OMS. (2006) *Anemia falciforme*. 59<sup>a</sup> Asamblea Mundial de la Salud. Punto 11.4 del orden del día provisional.
28. Pagana Desca, Kathleen. (2009). *Guía de pruebas diagnósticas y de laboratorio*, Editorial Elsevier Masley. Barcelona 8.<sup>a</sup> edición. pg. 659-660
29. Pérez José Carlos. (2012). *La Sangre y sus enfermedades*, México, Editorial Graw Hill, 3<sup>ra</sup> edición pg. 45 - 48.
30. Pérez Gutiérrez M, (2011.) *Osteomielitis y Drepanocitosis*, Disponible: <http://zl.elsevier.es/es/revista/anales-pediatra-37/articulo/osteomielitis-drepanocitosis-90024491?referer=buscador>
31. Rodak, (2013). *Hematología y Aplicaciones Clínicas*. Buenos Aires, Editorial Panamericana, 2<sup>da</sup> edición, pg. 325-329.
32. Rodak, Bernadette & Carr, Jacqueline. H. (2009). *Atlas de Hematología Clínica*. Madrid, Editorial Médica Panamericana. 3<sup>ra</sup> edición, pg. 116
33. Rodríguez García J.L. (2013). *Diagnóstico y tratamiento médico; alteraciones analíticas*, Editorial Marban, España, Edición, 2da. Pg., 28 – 47
34. Rohm Koolman. (2012). Madrid España, *Bioquímica Humana*, Editorial Panamericana, 4<sup>ta</sup> edición pg. 300.
35. Ross Michael H. & Wojcieh Paulina, (2013). *Histología Texto y Atlas color con Biología Molecular*. Buenos Aires Editorial Médica Panamericana 6<sup>ta</sup> edición. pg. 276.
36. Rubin Raphael M.D y Strager David M.D, (2012). *Fundamento clínico patológico en medicina*, España, Editorial Wolker Kluwers, 6ta edición pg. 966 - 968.
37. Ruiz Argüelles G.J. (2014). *Fundamentos de Hematología*, Editorial Panamericana, 5<sup>ta</sup> edición, pg. 83 - 96.
38. Voet Donald & Voet G. Judiht, (2007). *Fundamentos de Bioquímica*, Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana 23<sup>ra</sup> edición. pg. 191-192
39. OMS. "Drepanocitosis y otras hemoglobinopatías". (2011) Nota descriptiva N 308 Disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs308/es/index.html>

40. Sánchez Yolanda, (2011). *Aspectos bioéticos en el contexto del desarrollo científico actual*, Disponible <http://www.eumed.net/rev/cccss/14/yscu.html>
41. Stephen J. McPhee & Maxime A. Papadakis (2009) *Diagnóstico clínico y tratamiento*, California, Editorial McGrawHill 48<sup>a</sup> edición. Pg. 170-171
42. Wayne W. Daniel, (2002). *Bioestadística*, México, Editorial Limusa 4<sup>ta</sup> edición, pg. 205, 592-594.
43. Williams, J. (2009). *Manual de Hematología*. Madrid, Editorial Marshall 6<sup>ta</sup> edición pg. 447 - 467.
44. Wikilibros (2014). *Fisiología humana genética y herencia*. Disponible: [http://es.wikibooks.org/wiki/Fisiología\\_Humana/Genética\\_y\\_Herencia](http://es.wikibooks.org/wiki/Fisiología_Humana/Genética_y_Herencia)

## ANEXO 1



### POBLACIÓN SEGÚN SEXO DE LA LOCALIDAD PIQUIUCHO, CANTÓN BOLIVAR, PARROQUIA LOS ANDES, PROVINCIA CARCHI

Sexo	Casos	%
Hombre	120	47,8%
Mujer	131	52,2%
<b>Total</b>	<b>251</b>	<b>100,0%</b>

FUENTE: CENSO DE POBLACIÓN Y VIVIENDA CPV - 2010.  
INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS (INEC).

### POBLACIÓN DE 4 A 12 AÑOS LOCALIDAD PIQUIUCHO

Edad	Sexo		
	Hombre	Mujer	Total
4	4	4	8
5	3	2	5
6	3	3	6
7	5	-	5
8	2	4	6
9	4	1	5
10	4	3	7
11	3	3	6
12	2	3	5
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>23</b>	<b>53</b>

FUENTE: CENSO DE POBLACIÓN Y VIVIENDA CPV - 2010.  
INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS (INEC).

**ANEXO 2**

Quito,.....

**CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL REPRESENTANTE DEL NIÑO (A)**

Yo,.....representante niño(s).....después de recibir información sobre el estudio que se va a realizar, firmo el presente consentimiento autorizando realizar la toma de sangre de mi hijo(a) comprendiendo que este estudio servirá para fines investigativos sin presentar daño alguno.

.....

C.I.

.....

C.I.

## ANEXO 3

Quito,.....

### SOLICITUD DE PETICIÓN PARA REALIZAR LA TOMA DE SANGRE

**TEMA:** Prevalencia de drepanocitosis en niños afro ecuatorianos de 4 a 12 años de edad residentes en Piquiucho en el Valle del Chota, usando electroforesis capilar de Hemoglobina.

Nosotras alumnas egresadas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador nos dirigimos a usted(s) con un cordial saludo y a la vez, solicitarle de una manera muy especial se digne autorizarnos para la toma de una muestra de sangre, la cual será utilizada para el estudio de la Drepanocitosis en niños de 4 a 12 años por el método de electroforesis de hemoglobina.

Poniendo en conocimiento a usted que su autorización nos será de ayuda para el desarrollo de un estudio anticipamos nuestro más sincero agradecimiento.

Atentamente

.....

C.I.

.....

C.I.

## **ANEXO 4**

### **TOMA DE MUESTRAS**

- La toma deberá hacerse en un lugar perfectamente iluminado y con el paciente cómodamente sentado.
- Lavarse las manos.
- Colocarse los guantes.
- Solicitar al paciente que diga su nombre completo para compararlo con el que consta en el pedido y etiquetas (código de barras / rotulación a usar).
- Ordenar el material a ser usado con el paciente. La identificación de los tubos debe hacerse frente al paciente.
- Informar al paciente acerca del procedimiento a realizar.
- Se localiza una vena adecuada en el brazo del paciente y se coloca el torniquete.
- Se desinfecta el área de punción con un algodón impregnado de alcohol al 70%, se introduce la aguja con el bisel hacia arriba.
- Al empezar a fluir la sangre el torniquete se retira y hasta que se haya obtenido la cantidad de sangre que se requiere (generalmente 6-10 ml) se retira la aguja y se coloca una torunda con alcohol sobre el sitio de punción ejerciendo presión para detener la hemorragia. (Sáenz, 2012)

### **MUESTRA PRIMARIA**

La muestra primaria requerida es sangre humana total, tomando en cuenta las siguientes consideraciones:

- El volumen de sangre recogido debe corresponder a la cuantía de anticoagulante usado.
- Algunos anticoagulantes pueden alterar los resultados debido a que pueden provocar hemólisis y aglutinación plaquetaria. El anticoagulante recomendado es: K<sub>2</sub>EDTA.
- Las muestras recogidas con el anticoagulante K<sub>2</sub>EDTA pueden ser analizadas hasta por 32 horas luego de su toma, pero deben tomarse en cuenta las siguientes limitaciones:
- Las muestras conservadas a temperatura ambiente pueden mostrar un incremento en el MCV luego de las 24 horas de almacenamiento. Este incremento puede afectar además a

los resultados de HCT, MCHC y RDW. Este incremento es dependiente del anticoagulante usado y de las características propias de la muestra.

- El incremento del MCV puede ser minimizado conservando la muestra a 4 °C. Antes de analizar las muestras refrigeradas deben mantenerse a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos.

- Las muestras son estables a temperatura ambiente ( $\approx 22$  °C.) hasta 24 horas. Por lo cual se procederá al traslado de muestras a Net -L@b Laboratorios Especializados, donde serán procesadas.

## **TRANSPORTE DE MUESTRAS**

Es muy importante estar seguro que para el estudio a realizar es correcto el envío de sangre total, ya que ésta puede sufrir hemólisis y dejar de ser útil.

El tubo con la muestra se empaqueta bien en un recipiente con doble cubierta y hermético y se envía de inmediato en caja térmica sin pilas de refrigeración. (Sáenz, 2012)

# ANEXO 5

## CONTROL Hb A2 NORMAL (REF. 4778)

### Composición

El Control Hb A2 Normal se obtiene a partir de una mezcla de sangres humanas normales. Un procedimiento de estabilización permite conservar el Control Hb A2 Normal en forma liofilizada.

Para uso en diagnóstico in vitro.

### Aplicación

El Control Hb A2 Normal está diseñado:

- al control de calidad del método de determinación de la hemoglobina A2,
- al control de migración del perfil electorético de las hemoglobinas humanas separadas con las Membranas HYDRAGEL HEMOGLOBIN(E) \* y CAPILLARYS / MINICAP HEMOGLOBIN(E) \*.

Debe ser usado como una sangre humana normal.

Los valores obtenidos deben estar comprendidos entre los valores específicos de cada lote.

### Técnicas HYDRAGEL HEMOGLOBIN(E)

Reconstituya cada vial liofilizado de Control Hb A2 Normal con agua destilada o desionizada. Deje reposar 30 minutos y agite suavemente (evite la formación de espuma).

Después de la reconstitución, prepare el Control Hb A2 Normal de la forma siguiente: Hemifrasco 20 µl de Control Hb A2 reconstituido con 60 µl de solución hemolisante. Agite en el vórtice durante 10 segundos, y luego deje que repose durante 5 minutos a temperatura ambiente y úselo inmediatamente.

Vea las instrucciones de los kits HYDRAGEL HEMOGLOBIN(E).

### Técnicas CAPILLARYS / MINICAP HEMOGLOBIN(E)

Reconstituya cada vial liofilizado de Control Hb A2 Normal con agua destilada o desionizada. Deje reposar 30 minutos y agite suavemente (evite la formación de espuma).

Después de la reconstitución, use directamente el Control Hb A2 Normal como una muestra de sangre para analizar. Será tratado automáticamente con la solución hemolisante.

Para un uso óptimo en el CAPILLARYS / MINICAP, se recomienda reparir alícuotas del Control en microtubos antes de congelarlo (vea el párrafo siguiente).

**IMPORTANTE:** Para un uso óptimo del Control Hb A2 Normal, es indispensable usar las etiquetas con códigos de barras, diseñadas a identificar los tubos de hemólisis que servirán de soporte a los microtubos que contengan las alícuotas del Control Hb A2 (corte el tapón del microtubo antes de usarlo).

Vea las instrucciones de los kits CAPILLARYS / MINICAP HEMOGLOBIN(E).

Se recomienda incluir el Control Hb A2 Normal en cada serie de análisis realizada con los kits HYDRAGEL 7 & 15 HEMOGLOBIN(E) o con la Membrana CAPILLARYS / MINICAP HEMOGLOBIN(E).

### Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Antes de reconstituirlo, el Control Hb A2 Normal debe conservarse a 2 - 8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en los viales o en la caja.

El Control Hb A2 Normal reconstituido debe conservarse a 2 - 8 °C y usarse en el plazo de una semana para evitar que se contamine o desnaturalice.

Puede congelarse (en alícuotas) y conservarse un máximo de 6 meses a -20 °C.

El Control Hb A2 Normal descongelado debe conservarse a 2 - 8 °C y usarse ese mismo día. No congele y descongele el Control más de 15 veces.

El Control Hb A2 Normal hemolisado debe conservarse a 2 - 8 °C y usarse ese mismo día.

**IMPORTANTE:** Después de conservarlo a 2 - 8 °C o a -20 °C, homogenice el Control Hb A2 Normal reconstituido antes de analizarlo en el CAPILLARYS / MINICAP.

**NOTA:** Durante el transporte, el Control Hb A2 puede permanecer a temperatura ambiente (entre 15 y 30 °C) durante 15 días sin que la calidad del test se vea afectada.

**ATENCIÓN:** Como ningún test puede probar la ausencia de los virus VIH, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C o de cualquier otro agente infeccioso, el Control Hb A2 Normal debe ser manipulado con las precauciones habituales para evitar contaminarse.

Esta sangre control, analizada usando técnicas aceptadas por una autoridad competente (FDA, AFSSAPS, ...), es negativa:

- para la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B,
- para la presencia de anticuerpos anti-VHC,
- para la presencia de anticuerpos anti-VIH 1 y anti-VIH 2.

### Porcentajes

**IMPORTANTE:** Al realizar la lectura densitométrica de los gels, se recomienda poner los mínimos lo más cerca posible de las fracciones para no tener en cuenta los restos más o menos difusos.

(\*) SEBIA

INSTRUCCIONES SEBIA - 4778

Volumes de reconstitution avec eau distillée ou déminéralisée  
Volumes of reconstitution with distilled or deionized water

HYDRAGEL HEMOGLOBIN(E)	CAPILLARYS / MINICAP HEMOGLOBIN(E) & CAPILLARYS / MINICAP SYSTEM	CAPILLARYS HEMOGLOBIN(E) & CAPILLARYS FLEX PIECEING SYSTEM
2.0 mL	1.0 mL	1.6 mL

Porcentajes / Percentages

	HYDRAGEL HEMOGLOBIN(E)	CAPILLARYS / MINICAP HEMOGLOBIN(E)
Hemoglobín(e) A0	98.0 % ± 0.8	97.5 % ± 0.5
Hemoglobín(e) A2	2.0 % ± 0.8	2.5 % ± 0.5

# ANEXO 6



LABORATORIOS ESPECIALIZADOS  
 Calle "A" N31-145 y Mariana de Jesús  
 PBX: 2920911 - Fax: 2255731 / 2256662

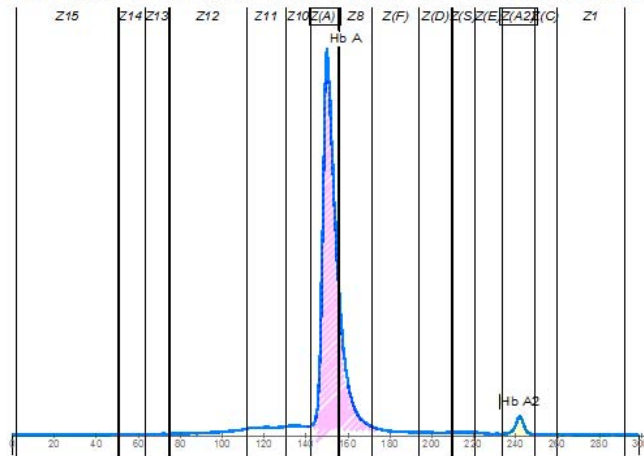
**NOMBRE:** QC Hb A2 NORMAL-28050/01

**CODIGO:**

**ORDEN:** Hb A2 NORMAL CONTR **EDAD (años):**

**FECHA:** 16/07/2013

## ELECTROFORESIS CAPILAR DE HEMOGLOBINA



Fracciones	%	Ref. %
Hb A	97,4	
Hb A2	2,6	

Hb Total: g/dL

**COMENTARIO:**

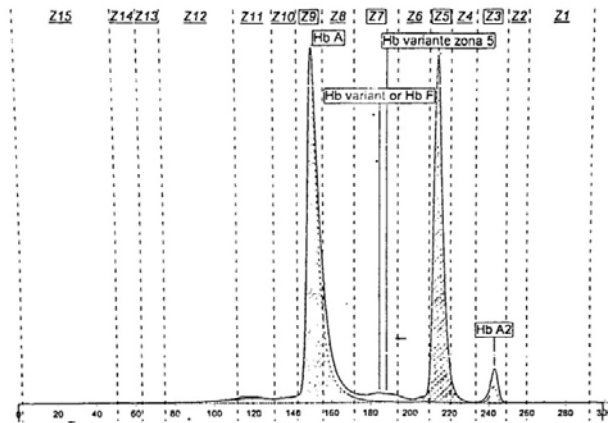
El trazado de color AZUL corresponde al patrón del paciente, el trazado de color NEGRO corresponde a un patrón de referencia normal.

La electroforesis capilar permite identificar las variantes de hemoglobina de acuerdo a la zona de migración.

# ANEXO 7

IDIGO:                      EDAD (años):                      FECHA:

## ELECTROFORESIS CAPILAR DE HEMOGLOBINA



Fraciones	%	Ref. %
Hb A		
Hb A2		
Hb F		
Hb S		
(ZONA S)		
Hb Total:		g/dL

**COMENTARIO:**

El trazado de color AZUL corresponde al patrón del paciente, el trazado de color NEGRO corresponde a un patrón de referencia normal.

La electroforesis capilar permite identificar las variantes de hemoglobina de acuerdo a la zona de migración.

# ANEXO 8

## HEMATOLOGY CONTROL FOR SYSMEX XE 2100™ ANALYZERS CLOSED MODE ASSAY

Expiration Date: <b>2013-07-15</b>		Quality Control Data Due Date #1: 3-Jun-13			Quality Control Data Due Date #2: 15-Jul-13		
Lot Number:		31160810		31160811		31160812	
Control:		L1: Level 1		L2: Level 2		L3: Level 3	
PARAMETERS	MEAN	EXPECTED RANGE	MEAN	EXPECTED RANGE	MEAN	EXPECTED RANGE	
<b>C L O S E D</b>	RBC (10 <sup>12</sup> /L)	2.28	2.14 - 2.42	4.32	4.10 - 4.54	5.16	4.90 - 5.42
	HGB (g/dL)	5.9	5.5 - 6.3	12.4	11.8 - 13.0	16.7	15.9 - 17.5
	HCT (%)	17.6	16.4 - 18.8	36.1	33.9 - 38.3	47.0	44.2 - 49.8
	MCV (fL)	77.0	67.7 - 87.9	83.4	74.8 - 93.2	90.9	81.5 - 101.6
	MCH (pg)	25.8	22.9 - 29.2	28.7	26.0 - 31.7	32.3	29.3 - 35.8
	MCHC (g/dL)	33.4	29.4 - 38.2	34.4	30.8 - 38.4	35.5	31.8 - 39.7
	PLT (10 <sup>9</sup> /L)	53	27 - 80	206	175 - 237	480	408 - 552
	RDW-SD (fL)	47.0	42.3 - 51.7	44.1	39.7 - 48.5	44.5	40.1 - 49.0
	RDW-CV (%)	16.8	15.1 - 18.5	14.5	13.1 - 16.0	13.7	12.3 - 15.1
	MPV (fL)	9.1	8.4 - 9.8	9.4	8.8 - 10.0	9.6	9.0 - 10.2
	WBC (10 <sup>9</sup> /L)	2.86	2.43 - 3.29	6.55	5.96 - 7.14	17.67	16.26 - 19.08
	NEUT%	43.1	34.5 - 51.7	46.5	39.5 - 53.5	51.1	43.4 - 58.8
	LYMPH%	36.7	22.0 - 51.4	33.4	26.7 - 40.1	28.6	22.9 - 34.3
	MONO%	10.8	2.2 - 19.4	9.6	3.8 - 15.4	9.7	4.9 - 14.6
	EO%	9.4	6.6 - 12.2	10.5	7.4 - 13.7	10.6	8.0 - 13.3
	BASO%	64.0	44.8 - 83.2	68.1	47.7 - 88.5	70.5	52.9 - 88.1
	NEUT# (10 <sup>9</sup> /L)	1.23	0.98 - 1.48	3.04	2.58 - 3.50	9.02	7.67 - 10.37
	LYMPH# (10 <sup>9</sup> /L)	1.05	0.63 - 1.47	2.19	1.75 - 2.63	5.05	4.04 - 6.06
	MONO# (10 <sup>9</sup> /L)	0.31	0.06 - 0.56	0.63	0.25 - 1.01	1.72	0.86 - 2.58
	EO# (10 <sup>9</sup> /L)	0.27	0.19 - 0.35	0.69	0.48 - 0.90	1.88	1.41 - 2.35
BASO# (10 <sup>9</sup> /L)	1.83	1.28 - 2.38	4.46	3.12 - 5.80	12.45	9.34 - 15.56	
NRBC# (10 <sup>9</sup> /L)	0.15	0.08 - 0.23	0.41	0.29 - 0.53	1.07	0.75 - 1.39	
NRBC% (/100 WBC)	5.5	4.4 - 6.6	6.6	5.3 - 7.9	6.3	5.0 - 7.6	
PLT-O (10 <sup>9</sup> /L)	58	29 - 87	215	183 - 247	507	431 - 583	
RET# (10 <sup>12</sup> /L)	0.1200	0.0840 - 0.1560	0.1068	0.0748 - 0.1388	0.0480	0.0336 - 0.0624	
RET%	5.25	3.68 - 6.83	2.47	1.73 - 3.21	0.93	0.65 - 1.21	
IRF (%)	18.9	0.0 - 38.9	17.6	0.0 - 37.6	12.7	0.0 - 32.7	
<sup>3</sup> IG #	0.30	0.27 - 0.33	0.76	0.57 - 0.95	2.06	1.44 - 2.68	
<sup>3</sup> IG %	10.3	7.2 - 13.4	11.3	8.5 - 14.1	11.7	7.0 - 16.4	
<sup>2</sup> HPC #	0.013	0.011 - 0.015	0.033	0.030 - 0.036	0.093	0.084 - 0.102	
<sup>3</sup> RET-He (pg)	24.0	16.8 - 31.2	24.8	18.6 - 31.0	26.5	15.9 - 37.1	
<sup>4</sup> PF %	21.9	18.6 - 25.2	21.8	18.5 - 25.1	22.1	18.8 - 25.4	

\* IG values are only available with the Sysmex XE-Series IG Master software.  
<sup>3</sup> HPC values are only available with the Sysmex XE-S

\* RET-He values are only available with the Sysmex XE-Series RET Master software.

## ANEXO 9

BASE DE DATOS EN PORCENTAJE DE LOS DIFERENTES TIPOS DE HEMOGLOBINA OBTENIDOS EN LA ELECTROFORESIS DE LOS NIÑOS DE PIQUIUCHO

CODIGO	SEXO	EDAD	HbA	HbA2	Hb F	Hb S
7145001	F	9	96,7	3,3		
7145002	F	5	95,6	3,1	1,3	
7145003	F	6	97,2	2,8		
7145004	F	9	97,3	2,7		
7145005	M	8	54,0	3,0	2,4	40,6
7145006	M	9	96,2	3,4	0,4	
7145007	F	8	97,3	2,5	0,2	
7145008	F	7	96,3	3,2	0,5	
7145009	F	11	94,0	6,0		
7145010	F	9	96,0	2,8	1,2	
7145011	F	8	57,1	3,0	0,6	39,3
7145012	F	9	97,6	2,4		
7145013	M	10	71,5	3,5		25,0
7145014	F	12	61,7	2,8		35,5
7145015	F	12	95,4	2,6	2,0	
7145016	F	10	96,9	3,1		
7145017	M	9	97,2	2,8		
7145018	F	12	97,2	2,8		
7145019	M	5	97,0	3,0		
7145020	F	6	93,9	2,9	3,2	
7145021	M	5	97,3	2,7		
7145022	F	7	97,0	3,0		
7145023	M	6	60,4	3,3		36,3

7145024	M	10	56,2	3,3		40,5
7145025	F	12	56,9	2,9		40,2
7145026	F	10	96,8	3,2		
7145027	F	10	85,9	3,2	1,9	
7145028	M	7	97,1	2,6	0,3	
7145029	M	12	96,7	3,3		
7145030	M	6	60,4	3,6	0,6	
7145031	M	12	58,7	3,9	0,9	
7145032	F	10	96,8	3,2		
7145033	F	8	97,1	2,9		
7145034	M	7	97,6	2,4		
7145035	M	6	96,9	2,7	0,4	
7145036	F	11	97,1	2,9		
7145037	F	12	96,8	3,2		
3295100	M	6	97,2	2,8		
3295101	M	8	97,3	2,7		
3295102	M	9	96,6	3,4		
3295103	F	7	96,7	3,3		
3295104	M	11	96,6	3,4		
3295105	F	10	96,6	3,4		

## ANEXO 10

Quito, 01 de Julio del 2013

Señor  
TMD. Marcelo Cruz  
Líder Área Analítica  
Presente

De nuestra consideración:

Nosotras; Rocío del Pilar Cuero, con cédula de identidad número 1719197947 y Cathy Yajamín, con cédula de identidad número 1713508451 alumnas egresadas de la Carrera de Bioanálisis de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, respetuosamente nos dirigimos a usted para solicitarle nos permita procesar muestras en Nerlab para nuestro proyecto de Disertación.

Por la atención que brinde a la misma, anticipamos nuestros más sinceros agradecimientos.

Atentamente



Rocío del Pilar Cuero



Cathy Yajamín

Autorizado:



TMD. Marcelo Cruz

## ANEXO 11

### PRINCIPIO DEL TEST

La hemoglobina es una molécula compleja compuesta por cuatro cadenas polipeptídicas, idénticas dos a dos, estando cada cadena ligada al hemo, que es un núcleo tetrapirrólico (porfirina) ligado a un átomo de hierro. El hemo es común a todas las hemoglobinas. La parte proteica responsable del tipo de hemoglobina se denomina globina. Se conocen principalmente las cadenas polipeptídicas  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  y  $\gamma$ . En humanos podemos encontrar las hemoglobinas normales siguientes:

Hemoglobina A..... =  $\alpha^2 \beta^2$   
• .....  
Hemoglobina A2..... =  $\alpha^2 \delta^2$   
• .....  
Hemoglobina fetal  
• F..... =  $\alpha^2 \gamma^2$

La cadena  $\alpha$  es común a estas tres hemoglobinas.

La estructura espacial de la hemoglobina (como la de todas las proteínas) depende de la naturaleza y la secuencia de los aminoácidos que forman las cadenas. Las uniones que se forman entre los diferentes aminoácidos son responsables de la forma de la molécula, de su estabilidad y de sus propiedades. Situadas en un campo eléctrico, las hemoglobinas se desplazan en función de su carga, del tamaño de la molécula, de la fuerza iónica, del pH del tampón y de la naturaleza del soporte empleado. Las variantes de la hemoglobina son debidas a mutaciones de algunos aminoácidos que implican cargas de superficie diferentes en la hemoglobina y, por consiguiente, movilidades diferentes en la electroforesis.

Las anomalías de la hemoglobina son de dos tipos:

- anomalías cualitativas o de estructura, que se denominan hemoglobinopatías;
- anomalías cuantitativas o de regulación, que se denominan talasemias.

La electroforesis de las hemoglobinas de la sangre humana es un análisis muy útil en el laboratorio de análisis clínicos para investigar las anomalías cualitativas y cuantitativas de la hemoglobina. Paralelamente a las técnicas de electroforesis en diferentes soportes, entre los que está el gel de agarosa, se ha desarrollado la técnica de la electroforesis capilar, que ofrece las ventajas de una automatización completa del análisis, separaciones rápidas y una excelente resolución. Se define como una técnica de separación electrocinética efectuada en un tubo de diámetro interno inferior a 100  $\mu\text{m}$  lleno de un tampón compuesto por electrolitos. Se considera una tecnología intermedia entre la electroforesis de zona en soporte y la cromatografía líquida.

El sistema MINICAP usa el principio de la electroforesis capilar en solución libre, que representa la forma más corriente de electroforesis capilar. Permite la separación de moléculas cargadas en función de su movilidad electroforética propia en un tampón de un pH dado, y, según el pH del electrolito, de un flujo electroendosmótico más o menos importante. El sistema MINICAP posee 2 capilares en paralelo, permitiendo realizar 2 análisis simultáneos. En este sistema, la inyección en los capilares de las muestras diluidas con la solución hemolizante se realiza en el ánodo por aspiración. La separación se realiza a continuación aplicando una diferencia de potencial de varios miles de voltios en los extremos de cada capilar. La detección directa de las hemoglobinas se efectúa a 415 nm en el lado catódico. Los capilares se lavan antes de cada análisis con una solución de lavado, y luego con el tampón de análisis. Con el tampón usado de pH alcalino, el orden de migración de las principales hemoglobinas normales y anormales es el siguiente, del cátodo al ánodo:  $\delta A^2$  (variante de A2), C, A2/O-Arab, E, S, D, G-Filadelfia, F,A, Hope, Bart, J, N-Baltimore y H. Hay que tener en cuenta que la anhidrasa carbónica no se detecta en el perfil electroforético de las hemoglobinas en la electroforesis capilar, lo que permite identificar algunas variantes de la hemoglobina A2 en su zona de migración.

## REACTIVOS SUMINISTRADOS EN LOS KITS MINICAP HEMOGLOBINA (E)

COMPONENTES	REF. N° 2207	REF. N° 2227*
Tampón (listo para usar)	2 viales de 250 mL	6 viales de 250 mL
Solución hemolizante (lista para usar)	1 vial de 225 mL	3 viales de 225 mL
Solución de lavado (solución concentrada)	1 vial de 25 mL	3 viales de 25 mL
Cubetas desechables	1 bolsa de 125	3 bolsas de 125
Filtros	3 filtros	3 filtros
Cajas para cubetas usadas	4 cajas	12 cajas
Tapas para las cajas de cubetas usadas	4 tapas	12 tapas
Etiquetas con códigos de barras para la solución hemolizante	5 láminas de 4 etiquetas	15 láminas de 4 etiquetas

\* MAXI-KIT MINICAP

HEMOGLOBIN(E)

PARA OBTENER RESULTADOS

ÓPTIMOS:

Los elementos de un mismo kit deben ser usados conjuntamente y según las instrucciones suministradas.

LEA DETENIDAMENTE LAS HOJAS DE INSTRUCCIONES.

**ATENCIÓN:** No use agua destilada o desionizada comercial, como por ejemplo el agua para planchar (riesgo de deterioro importante de los capilares). Use exclusivamente agua de calidad ultra pura, como el agua para inyección.

### 1. TAMPÓN

#### Preparación

El tampón está listo para usar. Contiene: tampón alcalino, pH 9,4; aditivos inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

**ATENCIÓN:** Vea la ficha de datos de seguridad.

#### Uso

Tampón para el análisis de las hemoglobinas mediante electroforesis capilar.

#### Conservación, estabilidad y señales de deterioro

El tampón debe conservarse en nevera (entre 2 y 8 °C). Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de tampón. No almacene el tampón a temperatura ambiente, cerca de una ventana o de una fuente de calor.

NO LO CONGELE.

*NOTA:* Después de la conservación a 2 - 8 °C, conviene dejar que el tampón alcance la temperatura ambiente antes de usarlo.

Un contenedor de tampón empezado, conectado al MINICAP, es estable un máximo de 1 mes (acumulado) a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C). Después de cada uso, el tampón debe conservarse imperativamente en nevera a 2 - 8 °C lo antes posible, siendo entonces estable hasta la fecha<sup>de</sup> caducidad indicada en la etiqueta del vial de tampón.

**IMPORTANTE:** El tiempo total que el tampón puede estar a temperatura ambiente no debe superar 1 mes.

Deseche el tampón si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana, a un precipitado o a partículas en suspensión.

## **2. SOLUCIÓN HEMOLIZANTE**

### **Preparación**

La solución hemolizante está lista para usar. Es un tampón con aditivos inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

### **Uso**

Para la dilución y la hemólisis de los glóbulos rojos.

### **Conservación, estabilidad y señales de deterioro**

La solución hemolizante debe conservarse en nevera (entre 2 y 8 °C). Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de solución hemolizante. No conserve la solución hemolizante a temperatura ambiente, cerca de una ventana o de una fuente de calor. **NO LA CONGELE.**

Deseche la solución hemolizante si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana, a un precipitado a partículas en suspensión.

**IMPORTANTE:** Después de cada uso, cierre herméticamente el vial de solución hemolizante y consérvelo inmediatamente en nevera.

*NOTA: El color amarillo de la solución hemolizante es normal.*

## **3. SOLUCIÓN DE LAVADO**

### **Preparación**

El vial de solución de lavado concentrada debe completarse hasta 250 mL con agua destilada o desionizada.

**ATENCIÓN:** *Vea la ficha de datos de seguridad.*

### **Uso**

Para el lavado de los capilares después de la separación electroforética de las hemoglobinas.

**IMPORTANTE:** Antes de llenar el contenedor de solución de lavado, se recomienda lavar con agua destilada o desionizada en abundancia el cuello del contenedor, el conector y el tubo para evitar la acumulación de sales.

### **Conservación, estabilidad y señales de deterioro**

Las soluciones de lavado concentrada y diluida deben conservarse a temperatura ambiente o en nevera en contenedores cerrados para evitar la evaporación. La solución concentrada es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de solución de lavado.

La solución diluida es estable durante 3 meses.

Deseche la solución de lavado diluida si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

#### **4. CUBETAS DE REACTIVO DESECHABLES**

##### **Uso**

Cubetas de un solo uso para la dilución y la migración de las muestras de sangre en el aparato automático. Deben colocarse en el cargador específico del MINICAP. Una cubeta está destinada al análisis de 2 muestras.

**ATENCIÓN: Manipule con precaución las cubetas de reactivo que contengan muestras biológicas.**

#### **5. FILTROS**

##### **Uso**

Filtros de un solo uso para el filtrado del tampón, de la solución de lavado reconstituida y del agua destilada o desionizada (usada para la limpieza de los capilares).

##### **Conservación**

Antes de usar los filtros deben conservarse en su embalaje original herméticamente cerrado, en un lugar seco y a temperatura ambiente o en nevera.

#### **6. CAJAS PARA CUBETAS USADAS**

##### **Uso**

Cajas destinadas a la recuperación automática de las cubetas de reactivo usadas en el MINICAP. Deben colocarse en el MINICAP en el emplazamiento previsto a tal efecto.

**ATENCIÓN: Manipule con precaución las cajas que contengan cubetas de reactivo usadas, ya que pueden contener muestras biológicas.**

#### **7. TAPAS PARA LAS CAJAS DE CUBETAS USADAS**

##### **Uso**

Tapas destinadas a cerrar las cajas para cubetas usadas.

#### **8. ETIQUETAS CON CÓDIGOS DE BARRAS PARA LA SOLUCIÓN HEMOLIZANTE**

##### **Uso**

Etiquetas con códigos de barras destinadas a identificar el tubo de la solución hemolizante (SOLUCIÓN HEMOLIZANTE HEMOGLOBINA (E)).

#### **REACTIVOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS**

##### **1. CONTROL Hb A2 NORMAL**

##### **Composición**

El Control Hb A2 Normal (SEBIA, referencia nº 4778) se obtiene a partir de una mezcla de sangres humanas normales. Un procedimiento de estabilización permite conservar el Control Hb A2 Normal en forma liofilizada.

## Aplicación

El Control Hb A2 Normal está destinado, antes de iniciar una nueva serie de análisis, al control de la migración, así como al control de calidad del método de determinación de la hemoglobina humana A2 mediante la técnica electroforética MINICAP HEMOGLOBIN(E).

Reconstituya cada vial liofilizado de Control Hb A2 Normal con exactamente el volumen de agua destilada o desionizada indicado en las instrucciones del Control Hb A2 Normal. Deje reposar 30 minutos y agite suavemente (evite la formación de espuma).

### **Control de la migración:**

El Control Hb A2 Normal debe usarse de la siguiente manera:

- Dispense el Control Hb A2 Normal reconstituido en un microtubo.
- Corte el tapón de este microtubo.
- Ponga el microtubo, colocado en un tubo de hemólisis nuevo que servirá de soporte (e identificado con la etiqueta con el código de barras del

Control Hb A2 Normal), en la posición 28 de un carrusel del MINICAP, prevista a este efecto (posición « Control »).

- Dispense 5 mL de solución hemolizante MINICAP HEMOGLOBINA (E) en un tubo de hemólisis (identificado con la etiqueta con el código de barras de la solución hemolizante) sin que se formen burbujas de aire y coloque este tubo en la posición 27 del carrusel (posición « Diluyente / Solución ») (en caso de ausencia de tubo o de solución hemolizante aparecerá un mensaje de advertencia).

**IMPORTANTE:** Compruebe la ausencia de espuma en el tubo de solución hemolizante antes de colocarlo en el carrusel.

- Introduzca el carrusel en el sistema MINICAP.
- Cierre las puertas del MINICAP, tras lo cual el análisis comenzará automáticamente.
- Seleccione en la ventana que aparecerá en pantalla el número de análisis del Control Hb A2 Normal que quiera realizar, según las indicaciones siguientes, y valide:

- Es necesario realizar 1 análisis del Control Hb A2 Normal antes de iniciar una nueva serie de análisis.

- Es necesario realizar 2 análisis tras cada cambio del contenedor de tampón de análisis (incluso si el lote es el mismo) o de modo de trabajo, después de un ciclo de limpieza de los capilares con CAPICLEAN, después de una actualización del programa o después de una activación de los capilares.

- Es necesario realizar 3 análisis la primera vez que se usa el programa de análisis «HEMOGLOBIN (E)» en el aparato automático para electroforesis MINICAP.

Los resultados obtenidos son entonces tenidos en cuenta automáticamente por el programa para el análisis de los resultados.

**IMPORTANTE:** El pico de hemoglobina A del Control Hb A2 Normal debe presentar una densidad óptica (DO) mínima de 0,12. Por debajo de este valor el centrado del perfil electroforético no se puede hacer correctamente. Durante el análisis de las muestras, la identificación de las fracciones de la hemoglobina, Hb A, Hb F, Hb A2 y Hb C, así como la determinación de la zona de migración de otras variantes corren el riesgo de ser imposibles o erróneas (vea el párrafo ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS).

**IMPORTANTE:** Para un uso óptimo del Control Hb A2 Normal colocado en una posición cualquiera del carrusel (posiciones 1 a 26), es indispensable usar una etiqueta con código de barras, destinada a identificar el tubo de hemólisis que servirá de soporte al microtubo que contenga el Control Hb A2 (corte el tapón del microtubo antes de usarlo).

### **Conservación, estabilidad y señales de deterioro**

Antes de la reconstitución, el Control Hb A2 Normal debe conservarse en nevera (2 - 8 °C) hasta la fecha de caducidad indicada en los viales o en la caja.

El Control Hb A2 Normal reconstituido debe conservarse en nevera (2 - 8 °C) y usarse en el plazo de una semana para evitar que se contamine o desnaturalice.

Después de analizar el Control Hb A2 Normal en el MINICAP (como control de la migración o como control de calidad), debe volver a conservarse <sup>en</sup> nevera (2 - 8 °C) lo antes posible.

Puede congelarse (en alícuotas) y conservarse como máximo 6 meses a - 20 °C.

**IMPORTANTE:** Después de conservarlo en nevera (2 - 8 °C) o a - 20 °C, homogenice el Control Hb A2 Normal reconstituido antes de analizarlo en <sup>el</sup> MINICAP.

*NOTA: Para un uso óptimo en el MINICAP, se recomienda repartir alícuotas del Control en microtubos antes de congelarlo.*

El Control Hb A2 Normal descongelado debe conservarse en nevera (2 - 8 °C) y usarse ese mismo día. No congele y descongele el Control más de 15 veces.

*NOTA: Durante el transporte, el Control Hb A2 Normal liofilizado puede permanecer a temperatura ambiente (entre 15 y 30 °C) durante 15 días sin que la calidad del test se vea afectada.*

Como ninguna prueba de análisis puede probar la ausencia de los virus VIH, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C o de cualquier otro agente infeccioso, el Control Hb A2 Normal debe ser manipulado con las precauciones habituales para evitar contaminarse.

Esta sangre de control, analizada usando las técnicas aceptadas por las autoridades competentes (FDA, AFSSaPS...), es negativa: - para la presencia del antígeno de superficie de la hepatitis B,

- para la presencia de anticuerpos anti-VHC,

- para la presencia de anticuerpos anti-VIH 1 y anti-VIH 2.

## **2. AGUA DESTILADA O DESIONIZADA**

### **Uso**

Para la limpieza de los capilares del aparato automático para electroforesis capilar, MINICAP, SEBIA. Se recomienda usar agua destilada o desionizada filtrada (con un filtro de porosidad  $\leq 0,45 \mu\text{m}$ ).

Renueve el agua cada día para evitar contaminaciones microbianas. En caso de conservación prolongada, añada 35  $\mu\text{L/L}$  de ProClin 300. **IMPORTANTE:** Antes de llenar el contenedor de agua, se recomienda lavarlo con agua destilada o desionizada en abundancia.

## **3. CAPICLEAN**

### **Presentación**

El vial de la solución enzimática concentrada CAPICLEAN (SEBIA, referencia nº 2058: 1 vial de 25

mL) contiene: enzimas proteolíticas, surfactantes y aditivos, inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

**ATENCIÓN:** *Vea la ficha de datos de seguridad.*

#### **Uso**

Para la limpieza semanal de la cánula de muestras del aparato automático para electroforesis capilar, MINICAP, SEBIA.

*Vea las instrucciones del CAPICLEAN, SEBIA.*

**IMPORTANTE:** Para un uso óptimo del CAPICLEAN en el MINICAP, es indispensable usar una etiqueta con un código de barras, cuya función es identificar el tubo de hemólisis que sirve de soporte al microtubo que contiene la solución CAPICLEAN diluida (corte el tapón del microtubo antes de usarlo).

#### **Conservación, estabilidad y señales de deterioro**

El CAPICLEAN debe conservarse en nevera (entre 2 y 8 °C). Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. NO LO CONGELE.

Debe estar exento de precipitados. Deseche el CAPICLEAN si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana. Para un uso diferido, ponga el tubo que contenga la solución diluida en nevera. Debe usarse el mismo día.

#### **4. SOLUCIÓN DE HIPOCLORITO DE SODIO (para la limpieza de la cánula de muestras) Preparación**

Prepare una solución de hipoclorito de sodio (lejía) con 9° de cloro (2 a 3 % de cloro) a partir de una dosis concentrada de 250 mL con 36° de cloro (9,6 % de cloro) diluida hasta 1 litro (volumen final) con agua destilada o desionizada fría.

#### **Uso**

Para limpiar la cánula de muestras del aparato automático para electroforesis capilar, MINICAP, SEBIA (mantenimiento semanal para eliminar cualquier proteína que se haya adsorbido a la cánula).

*Vea el manual de instrucciones del MINICAP, SEBIA.*

- Dispense 500 µL de solución de hipoclorito de sodio, preparada anteriormente, en un microtubo.
- Corte el tapón del microtubo.
- Ponga el microtubo, colocado en un tubo de hemólisis nuevo que servirá de soporte (identificado con una etiqueta con el código de barras específico de la solución de hipoclorito de sodio), en la posición 1 del carrusel de MINICAP.
- Ponga una cubeta de reactivo nueva en el cargador del MINICAP previsto a tal efecto (en caso de ausencia de cubetas aparece un mensaje de advertencia).
- Introduzca el carrusel en el sistema MINICAP.
- Cierre las puertas del MINICAP y el ciclo de limpieza comenzará automáticamente.

**IMPORTANTE:** Para un uso óptimo de la solución de hipoclorito de sodio en el MINICAP, es indispensable usar una etiqueta con un código de barras, cuya función es identificar el tubo de hemólisis que sirve de soporte al microtubo que contiene la solución (corte el tapón del microtubo antes de usarlo).

### **Conservación, estabilidad y señales de deterioro**

La solución de hipoclorito de sodio con 9° de cloro puede conservarse 1 año a temperatura ambiente en un recipiente de plástico cerrado herméticamente, protegido de la luz solar y de cualquier fuente de calor o ignición, y alejado de ácidos y amoniaco.

### **5. SOLUCIÓN DE LAVADO CAPILLARYS / MINICAP**

#### **Preparación**

Cada vial de solución de lavado concentrada CAPILLARYS / MINICAP (SEBIA, referencia nº 2052: 2 viales de 75 mL) debe completarse hasta 750 mL con agua destilada o desionizada.

Para el MINICAP, se recomienda diluir sólo 25 mL de la solución concentrada hasta 250 mL con agua destilada o desionizada.

**ATENCIÓN:** *Vea la ficha de datos de seguridad.*

#### **Uso**

Para lavar los capilares del MINICAP.

**IMPORTANTE:** Antes de llenar el contenedor de solución de lavado, se recomienda lavar el cuello del contenedor, el conector y el tubo con agua en abundancia para evitar la acumulación de sales.

### **Conservación, estabilidad y señales de deterioro**

Las soluciones de lavado concentrada y diluida deben conservarse a temperatura ambiente o en nevera en contenedores cerrados para evitar la evaporación. La solución concentrada es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial.

La solución diluida es estable durante 3 meses.

Deseche la solución de lavado diluida si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

### **6. SOLUCIÓN SALINA**

#### **Preparación**

Solución de NaCl 0,15 M (9 g/L) en agua destilada o desionizada.

#### **Uso**

Para lavar los glóbulos rojos antes de conservarlos a - 80 °C, si es necesario.

### **Conservación, estabilidad y señales de deterioro**

La solución salina puede conservarse a temperatura ambiente o en nevera.

Deseche la solución después de 3 meses o si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana. Para una conservación prolongada, añada 1 g/L de azida sódica.

### **EQUIPAMIENTO Y ACCESORIOS NECESARIOS**

1. Sistema de electroforesis capilar MINICAP SEBIA, referencia nº 1230.
2. Carrusel, suministrado con el sistema MINICAP.

3. Contenedores de plástico suministrados con el sistema MINICAP: contenedor para la limpieza de los capilares (debe llenarse con agua destilada o desionizada) y contenedor de desechos.
4. Cubetas de reactivo desechables MINICAP SEBIA (250 unidades), referencia nº 2280.
5. Cajas para las cubetas de reactivo MINICAP usadas SEBIA (20 unidades), referencia nº 2285.
6. Tubo de hemólisis (diámetro de 8 a 16 mm y altura de 50 a 100 mm).

## MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS

### Extracción y conservación de las muestras

El análisis se realiza con sangres frescas, recogidas en anticoagulante (EDTA, citrato o heparina). No use anticoagulantes que contengan yodoacetato. Las sangres deben ser obtenidas según los métodos establecidos de uso en el laboratorio clínico.

Las sangres pueden conservarse un máximo de siete días en nevera (entre 2 y 8 °C).

Para conservaciones prolongadas congele rápidamente las muestras a - 80 °C (como máximo durante las 8 horas siguientes a su obtención) después de haber lavado los glóbulos rojos según el procedimiento siguiente: centrifugue la sangre total, durante 5 minutos a 5.000 r.p.m.; elimine el plasma; lave 2 veces los glóbulos rojos con 10 volúmenes de salina (centrifugue después de cada lavado) y elimine el exceso de salina de la superficie del coágulo globular lavado; agite en el vórtex antes de congelarlo.

Las sangres congeladas a - 80 °C son estables un máximo de 3 meses.

**IMPORTANTE:** Para una conservación óptima de las muestras, no las conserve a - 20 °C sino a - 80 °C (vea la BIBLIOGRAFÍA: J Bardakdjian-Michau *etal*, 2003).

*NOTA: No conserve las sangres a temperatura ambiente.*

Las hemoglobinas (Hb) de las muestras conservadas entre 2 y 8 °C se degradan progresivamente. En una muestra conservada más de 7 días en nevera:

- Como consecuencia de la degradación de la muestra, aparece una fracción débil, correspondiente a la metahemoglobina, en la zona de migración de la Hb S,
- En presencia de Hb C, aparece una fracción correspondiente a Hb C degradada en posición anódica respecto a la Hb A2, pero sin ninguna interferencia con ésta (zona Z4, vea la tabla del párrafo « Interpretación »),
- En presencia de Hb O-Arab, aparece una fracción correspondiente a Hb O-Arab degradada en la zona de migración de la Hb S (zona Z5, vea la tabla del párrafo « Interpretación »),
- En presencia de Hb E, aparece una fracción correspondiente a Hb E degradada en la zona Z6 (vea la tabla del párrafo « Interpretación »),
- En presencia de Hb S, aparece una fracción correspondiente a Hb S degradada en la zona de migración de la Hb F (zona Z7, vea la tabla del párrafo « Interpretación »),
- En presencia de Hb A, aparece una fracción correspondiente a Hb A degradada en posición anódica respecto a la Hb A (zona Z11, vea la tabla del párrafo « Interpretación »).
- En presencia de Hb F (en el caso de sangres de recién nacidos), aparece una fracción en la zona de migración de la Hb A (zona Z9, vea la tabla <sup>del</sup> párrafo « Interpretación ») como consecuencia de una degradación de la muestra.

Si la muestra se ha conservado más de 10 días en nevera, se observa la presencia de aglomerados viscosos en los glóbulos rojos: es indispensable eliminarlos antes de realizar el análisis.

#### **Preparación de las muestras**

- Deje sedimentar los glóbulos rojos de la sangre total durante varias horas en nevera (2 - 8 °C) o centrifugue la sangre total durante 5 minutos a 5.000 r.p.m.
- Elimine con cuidado el máximo de plasma (en las muestras recogidas en heparina, elimine los aglomerados viscosos presentes en la interfase <sup>plasma</sup> / glóbulos rojos).
- **Agite en el vórtex durante 5 segundos.**

**IMPORTANTE:** No use muestras que contengan una altura máxima de plasma residual superior a 3 mm; si hay más de 3 mm de plasma el análisis puede verse afectado.

Casos especiales: Análisis de muestras sin Hb A ó Hb A2 (estas muestras pueden ser cuantificadas pero no caracterizadas mediante las zonas de identificación).

Para identificar las fracciones de hemoglobina presentes en una muestra sin hemoglobina A o hemoglobina A2, se recomienda preparar la muestra según el método siguiente:

- En un microtubo, mezcle un volumen (80 µL) de glóbulos rojos de la muestra a analizar y un volumen de Control Hb A2 Normal (80 µL). - Agite en el vórtex durante 5 segundos.

- Corte el tapón del microtubo.

- Ponga el microtubo en un tubo de hemólisis nuevo que servirá de soporte en el carrusel del MINICAP. - Realice el análisis de la muestra siguiendo el procedimiento habitual.

Los resultados obtenidos son entonces tenidos en cuenta automáticamente por el programa para el tratamiento de los datos.

**IMPORTANTE:** En una muestra sin Hb A ó Hb A2 preparada según este método, la cuantificación de las fracciones indicada en el perfil electroforético no tiene ningún significado y los valores obtenidos no deben ser tenidos en cuenta; este procedimiento sólo permite la identificación de la o las variantes presentes en la muestra mediante las zonas de identificación, gracias a que migrarán en la zona correcta.

La cuantificación de las fracciones se obtiene en este caso analizando la muestra inicial no mezclada (antes de diluirla con la sangre control).

#### **Muestras a descartar**

- No use muestras de sangre total o muestras no sedimentadas.
- No use muestras de sangre antiguas o mal conservadas, ya que la hemólisis automática de las muestras puede ser perturbada por la presencia de aglomerados viscosos entre los glóbulos rojos; el perfil electroforético puede también ser afectado por los productos de degradación de las hemoglobinas (o artefactos).

#### **PROCEDIMIENTO**

El sistema MINICAP es un instrumento multiparamétrico automático que permite realizar el análisis de las hemoglobinas en 2 capilares en paralelo según las etapas siguientes:

- lectura de los códigos de barras de los tubos primarios (hasta 26) y del carrusel;

- hemólisis y dilución de las muestras en las cubetas de reactivo desechables a partir de los tubos primarios (sin plasma);
- lavado de los capilares;
- inyección de las muestras hemolizadas;
- separación y detección directa de las hemoglobinas en los capilares.

Las etapas manuales son las siguientes:

- colocación de los tubos primarios (destapados) en el carrusel, en las posiciones 1 a 26;
- colocación del tubo de la solución hemolizante en la posición 27 del carrusel;
- colocación del Control Hb A2 Normal en la posición 28 del carrusel;
- introducción del carrusel cargado en el sistema MINICAP;
- recuperación de los tubos después del análisis;
- recuperación y cierre de las cajas para cubetas usadas.

LEA DETENIDAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL MINICAP.

## I. PREPARACIÓN DEL ANÁLISIS ELECTROFORÉTICO

1. Encienda el MINICAP y el ordenador de control.
2. Para la inicialización del aparato, coloque al menos una cubeta de reactivo nueva en el cargador del MINICAP previsto a tal efecto (en caso de ausencia de cubetas de reactivo aparecerá un mensaje de advertencia).
3. Abra el programa de gestión Phoresis y valide el nivel de los reactivos y desechos, tras lo cual el aparato se iniciará automáticamente.
4. Use el kit MINICAP HEMOGLOBIN (E) con el programa de análisis "HEMOGLOBIN (E)". Para seleccionar el programa de análisis "HEMOGLOBIN (E)" y conectar el contenedor de tampón MINICAP HEMOGLOBIN (E) en la posición "B2" del aparato, lea detenidamente el manual de instrucciones del MINICAP y siga las instrucciones que aparecerán en pantalla.
5. Ponga cubetas de reactivo nuevas en el cargador del MINICAP correspondiente (en caso de ausencia de cubetas de reactivo aparecerá un mensaje de advertencia).

### **6. Ponga una caja para cubetas usadas nueva en el MINICAP en el lugar previsto a este efecto.**

7. Compruebe el nivel de llenado de los diferentes contenedores de reactivo, complete los volúmenes si es necesario, y vacíe el contenedor de desechos. En la ventana « Verificar el nivel de los contenedores », actualice los niveles de los reactivos mediante los cursores.
8. El carrusel tiene 28 posiciones para tubos:
  - \* Ponga hasta 26 tubos primarios sin plasma en el carrusel (posiciones 1 a 26), destapando cada tubo y de forma que el código de barras <sup>de</sup> cada tubo quede orientado hacia la ventana de lectura del mismo.

**IMPORTANTE:** Si el número de tubos que va a analizar es impar, añada un tubo con agua destilada o desionizada.

\* Dispense 5 mL de solución hemolizante MINICAP HEMOGLOBIN (E) en un tubo de hemólisis, que debe tener la etiqueta con el código de barras de la solución hemolizante, sin que se formen burbujas de aire, y coloque este tubo en la posición 27 del carrusel del aparato (posición « Diluyente / Solución ») (Después de usarlo, se recomienda conservar el tubo de solución hemolizante en nevera (2 - 8 °C)).

**IMPORTANTE:** Compruebe que no haya espuma en el tubo de solución hemolizante antes de colocarlo en el carrusel.

\* Ponga el Control Hb A2 Normal en la posición 28 del carrusel (posición « Control ») y seleccione el número de análisis a realizar según las indicaciones del párrafo anterior « Control Hb A2 Normal », sección « Control de la migración ».

**IMPORTANTE:** En caso de ausencia de tubos en las posiciones 1 a 26 (muestras), 27 (solución hemolizante) y 28 (sangre control), el análisis no puede comenzar y aparece un mensaje de advertencia.

*NOTA: Al usar una sangre control, es indispensable usar la etiqueta con el código de barras específico prevista a este efecto.*

9. Introduzca el carrusel en el sistema MINICAP.

10. Cierre las puertas del MINICAP, tras lo cual el análisis comenzará automáticamente. 11. Después del análisis, saque el carrusel para extraer los tubos ya analizados.

12. Si es necesario, quite con precaución la caja que contiene las cubetas de reactivos usadas, ciérrala herméticamente usando una de las tapas suministradas y deséchela.

**ATENCIÓN: Manipule con precaución las cajas que contengan las cubetas de reactivo usadas, ya que pueden contener muestras biológicas.**

## **DILUCIÓN - MIGRACIÓN - DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS**

1. Lectura de los códigos de barras de los tubos primarios de muestra y del carrusel.

2. Dilución de las sangres con la solución hemolizante, con limpieza de la cánula de muestras entre cada dilución. 3. Lavado de los capilares.

4. Inyección de las muestras diluidas en los capilares.

5. Migración a voltaje constante con temperatura regulada por efecto Peltier, durante unos 8 minutos. 6. Lectura a 415 nm y aparición simultánea del perfil de las hemoglobinas en la pantalla del ordenador.

*NOTA: Estas etapas se realizan consecutivamente para los 2 primeros tubos analizados: los perfiles correspondientes a los tubos analizados se obtienen al cabo de unos 20 minutos. Para los tubos siguientes, las fases 1 y 2 (lectura de los códigos de barras y hemólisis de las sangres) se realizan durante el análisis (migración) de los 2 tubos anteriores.*

## **II. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS**

Desde el final del análisis, se realiza automáticamente la cuantificación relativa de las fracciones y se pueden interpretar los perfiles obtenidos. Los picos de hemoglobina A (Hb A), F (Hb F), A2 (Hb A2) y C (Hb C) son identificados de forma automática y el pico de Hb A es situado en el centro de la ventana de edición de las curvas. Los perfiles electroforéticos obtenidos deben ser analizados visualmente para detectar las anomalías.

Las posiciones potenciales de las diferentes variantes de la hemoglobina (identificadas por las zonas Z1 a Z15) se muestran en la ventana de edición y aparecen en el informe de resultados. La tabla del párrafo « Interpretación » presenta las variantes conocidas que pueden estar presentes

en cada zona.

Cuando el programa identifica una fracción de hemoglobina en una zona determinada, el nombre de esa zona es enmarcado.

Los perfiles son centrados automáticamente respecto al pico de Hb A para facilitar su interpretación:

- en caso de ausencia de detección de los picos de Hb A y/o Hb A2 en un perfil, aparece un símbolo amarillo de alerta, y el centrado del perfil se realiza entonces respecto a la posición del pico de Hb A en los dos últimos perfiles obtenidos anteriormente en el mismo capilar, y ningún pico es identificado (excepto cuando se detecta Hb C: en este caso, los picos de Hb A2 y de Hb C son identificados);
- en caso de presencia de Hb F en un perfil, sin detección de Hb A, el símbolo amarillo de alerta no aparece, y el centrado del perfil se realiza entonces respecto a la posición del pico de Hb F y los picos de Hb F y/o de Hb A y/o de Hb A2 son identificados;
- en caso de imposibilidad del centrado del perfil, aparece un símbolo rojo de alerta y los picos de Hb F y de Hb A2 no son identificados (en este caso, contacte con el Servicio de Asistencia Técnica de SEBIA).

En estos tres casos, las diferentes zonas de variantes (Z1 a Z15) no aparecen ni en la ventana de edición ni en el informe de los resultados.

En el perfil electroforético, las curvas de las hemoglobinas A2 y C, calculadas por triangulación, son redibujadas (o ajustadas) y superpuestas a la curva nativa. Esta representación permite la cuantificación de la fracción Hb A2 en presencia de Hb C.

## Parte interna del equipo Minicap



### 1. Consumibles del equipo



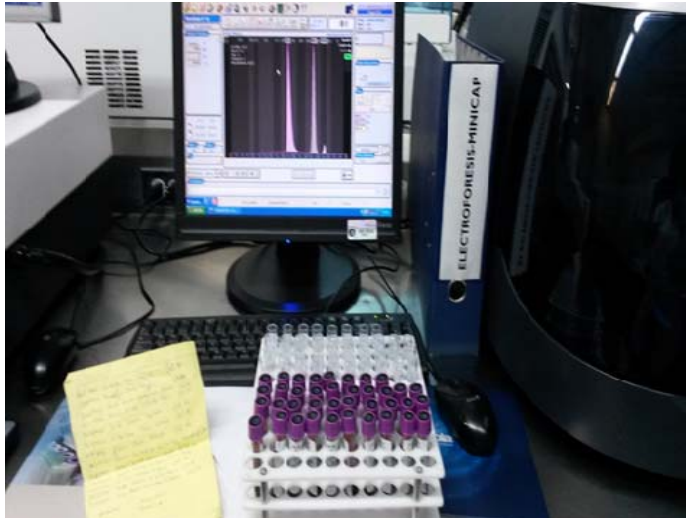
## 2. Centrifugación de muestras



## 3. Separación de paquete globular



#### 4. Muestras en proceso



#### 5. Visualización de resultados

