



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

“DETERMINACION DE LA HEMOGLOBINA EN EL LABORATORIO”

AUTORIA ROSARIO ALORS CORREDERAS
TEMÁTICA HEMATOLOGÍA
ETAPA FORMACION PROFESIONAL

Resumen

Esta práctica que está encuadrada dentro del ciclo formativo de grado superior: Laboratorio de Diagnostico Clínico, se hace necesaria para que el alumno alcance las capacidades terminales de dicho ciclo y en definitiva obtenga el título. Antes de entrar en la determinación propiamente dicha, veremos algunos conceptos para que el alumno se familiarice con ellos.

Palabras clave

Hemoglobina, eritrocitos, espectrofotómetro,

HEMOGLOBINA:

La hemoglobina es una proteína conjugada que sirve para el transporte de O_2 y CO_2 . Cuando está totalmente saturada, cada gramo contiene alrededor de 1'4ml de O_2 .

La masa total de eritrocitos de un adulto contiene unos 600gr de hemoglobina capaces de transportar 800ml de O_2 .

Una molécula de hemoglobina consta de 2 pares de cadenas polipeptídicas (unión de aminoácidos) (globina) y 4 grupos prostéticos HEM que contienen cada uno un átomo de Fe en estado ferroso. Las cadenas peptídicas que son iguales 2 a 2 adoptan una posición helicoidal; lo que da a la molécula de hemoglobina una estructura esteroide. Cada punto HEM se localiza en una zona determinada de una de las cadenas de polipéptidos. Localizado cerca de la superficie de la molécula, el HEM se combina de forma reversible con una molécula de O_2 de CO_2 . Este grupo HEM es el responsable del color rojo de la hemoglobina.

La parte proteica o globina tiene 4 cadenas polipeptídicas que se denominan con las letras α , β , γ y δ .

Existe una cadena más, la ϵ que está presente durante los primeros 3 meses de vida.

Se diferencian unas de otras en el número o posición (de los aminoácidos de los que están compuestas). Por lo tanto existen varios tipos de hemoglobinas. En el ser humano se pueden encontrar las siguientes hemoglobinas normales:

HEMOGLOBINA A: consta de 2 cadenas α y 2 cadenas β . En un adulto normal corresponde a más del 95% del total.

HEMOGLOBINA A_2 : consta de 2 cadenas α y 2 cadenas δ . En un adulto sano está en proporción menor al 3%.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

HEMOGLOBINA F ó fetal: consta de 2 cadenas α y 2 cadenas γ . Es la Hemoglobina principal en el feto desde el 4º mes de embarazo hasta aproximadamente los 6 meses de edad. La HB F tiene mayor afinidad por el O_2 .

HEMOGLOBINA GOWER: consta de 2 cadenas α y 2 cadenas ϵ . Desaparece casi por completo en el tercer mes de embarazo y empieza a aparecer la HB F.

FUNCIONES:

La principal función de la hemoglobina es el transporte del O_2 de los pulmones donde la tensión es elevada hacia los tejidos donde es baja. A una tensión de O_2 de 100mmHg en los capilares pulmonares del 98% de hemoglobina se combina con el O_2 . En los tejidos donde la tensión de O_2 puede descender hasta 20 mmHg el O_2 se disocia fácilmente de la hemoglobina; en este caso menos de un 30% del O_2 puede permanecer combinado con la hemoglobina.

La hemoglobina educida es hemoglobina con su hierro no asociado a no unido al O_2 . Cuando cada grupo HEM se asocia con una molécula de O_2 , la hemoglobina corresponde a la oxihemoglobina. Tanto en la hemoglobina como la oxihemoglobina el hierro permanece en estado ferroso $Fe+2$. Con el hierro oxidado al estado férrico $Fe+3$ la molécula pierde la capacidad de transportar el O_2 y/o el CO_2 .

La anemia que es una disolución de la concentración de hemoglobina por debajo de lo normal y casi siempre del número de eritrocitos o del hematocrito, constituye una alteración muy corriente y una frecuente complicación de otras enfermedades. El diagnóstico clínico de la anemia basado en la estimación del color de la piel y de las mucosas visibles es de poca garantía. Para complicar más la anemia suele estar enmascarado en muchos procesos por otras manifestaciones. Por estas razones la estimación correcta de la hemoglobina es importante y una de la pruebas habituales que debe llevarse a cabo en casi todos los pacientes.

La anemia no constituye una enfermedad en sí misma sino que debe ser considerada como un síndrome derivado de algún trastorno en algún sistema. Quiere esto decir que siempre que aparezca una anemia debe buscarse otra enfermedad o trastorno primario que la motive. No obstante todas las anemias coinciden en la aparición de unos síntomas y signos clínicos que la caracterizan y que se presenta en todo caso.

A una concentración de hemoglobina de 16gr por 100ml se ha convenido en darle el valor arbitrario de 100%.

Los valores normales en un adulto varón son de 13-18gr por 100ml y en una mujer adulta de 11-16gr por 100ml. Si la concentración de hemoglobina es inferior a estos valores nos encontramos en un proceso anémico.

DERIVADOS DE LA HEMOGLOBINA:

Abreviaturas:

Hb Hemoglobina reducida

HbO₂ OxiHemoglobina

COHB CarboxiHemoglobina

SHB SulfoHemoglobina

SHBCo CarboxisulfoHemoglobina

Hi Hemiglobina ó metahemoglobina

HCN Hemoglobincianuro ó cianmetahemoglobina



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

Las 2 hemoglobinas son la Hb y HbO₂ se convierten fácilmente en una serie de compuestos por la acción de ácidos álcalis, sustancias reductoras u oxidantes, el calor u otros agentes.

Hi (Hemiglobina ó metahemoglobina): es un derivado de la hemoglobina en la que el hierro en está en estado ferroso se convierte en estado férrico y es incapaz de combinarse de manera reversible con el O₂. Sin embargo hasta el 1'5% de la hemoglobina de una persona normal es Hi. Sin embargo los aumentos de Hi causarían cianosis y anemia funcional sí son bastante elevados y simplemente cianosis en concentraciones bajas. En general siempre se forman pequeñas cantidades de Hi pero son producidas dentro del eritrocito. El más importante es el sistema metahemoglobin-reductasa dependiendo de NADH (es lo mismo que NADH-citocromob5reductasa). Otros sistemas que funcionan, sobre todo con sistemas de reserva son el ácido ascórbico; glutación reducción, NADH-metahemoglobín-reductasa. Esta última requiere un cofactor natural o un colorante autoxidante como el azul de metileno para ser activa.

La metahemoglobulemia es un aumento de la hemoglobina en los eritrocitos es el resultado de un aumento en la producción de Hi o bien de una disminución de la actividad de la NADH citocromo-b5 reductasa y puede ser hereditaria o adquirida.

1-- Forma Hereditaria: se divide en 2 categorías principales:

a) En la primera la metahemoglobulemia se debe a una disminución de la capacidad del eritrocito para reducir la Hi que se forma constantemente a partir de la hemoglobina. La mayoría de las veces se debe a un déficit de la enzima NADH citocromo-b5 reductasa y se hereda con carácter autosómico recesivo. El homocigoto tiene unos niveles de Hi del 10 al 50% y su aspecto es cianótico (de color azulado). Sólo de forma ocasional presenta policitemia como mecanismo de compensación. La concentración de hemoglobina del 10-25% puede no mostrar. Los niveles de 35-50% producen síntomas leves como disnea de esfuerzo (ahogo) y cefaleas y las que exceden de 70% son probablemente letales. El tratamiento con ácido ascórbico ó azul de metileno en esta forma de metahemoglobulemia hereditaria reducirá el nivel de Hi aparentes por activación del sistema NADPH metahemoglobin-reductasa.

Heterocigoto (menos grave) presentan niveles intermedios de actividad NADH citocromob5reductasa y niveles sanguíneos normales. Sin embargo pueden llegar a ser cianóticos tras la exposición a productos por fármacos oxidantes en cantidades que no afectarían a individuos normales.

b) La segunda categoría: en ella los sistemas de reductores dentro de la hemoglobina dentro del eritrocito son normales pero las estructuras de la molécula hemoglobínica es anormal, pueden formar una molécula de hemoglobina que tiene una tendencia aumentada a la oxidación y una capacidad reducida de que la hemiglobina o metahemoglobina se reduce a hemoglobina. Se han identificado sulfohemoglobina aberrantes cuya consecuencia es la cianosis asintomática debida a metahemoglobulemia; se denomina formas diversas de la hemoglobulemia. Se heredan como genes autosómicos dominantes y la terapéutica con azul de metileno no es efectiva.

2-- Metaglobulinas adquiridas: las presentan las mayorías de las metaglobulemias, son debidas principalmente a la exposición a fármacos o productos químicos que producen un aumento de la formación de la metaglobulina. Entre ellos destacar los nitritos, nitratos, cloratos y quironas. Otras sustancias como las anemias cromáticas y los compuestos nitrogenados actúan probablemente de



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

forma indirecta a través de un metabolito dado que in vitro no producen la formación de metahemoglobina. Dichas sustancias incluyen la fenacetina, las sulfamidas,... Los niveles de fármacos o sustancias químicas que no producirían una metaglobulemia significativa en el individuo normal podrían producirla en un individuo con una leve disminución de la actividad NADH citocromob5 reductasa estos individuos son los recién nacidos y las personas heterocigóticas para el déficit de esa enzima.

La hemoglobina se combina irreversiblemente con varios productos químicos por ejemplo: cianuro, sulfuros, peróxidos, fluoruros, etc. Por su gran afinidad con el cianuro las intoxicaciones cianúricas deben tratarse con nitritos para que la hemoglobina se transforme en metaglobulina que se combinará luego con el cianuro. De esta manera el cianuro, que es extremadamente tóxico para los enzimas respiratorios celulares, se vuelve menos tóxico al transformarse en cianmetahemoglobina.

La hemoglobina y la sulfohemoglobina se cuantifica por espectrofotometría. Si la metahemoglobina está elevada se debe eliminar en primer lugar los fármacos o sustancias tóxicas como posible causa. Para determinar si la metahemoglobina es debida al déficit de la NADH citocromob5 reductasa se debe realizar el análisis de la enzima. Una hemoglobina anormal (hemoglobulemia) también puede ser responsable de la metahemoglobulemia observada al nacimiento o en los primeros meses de vida.

Sulfohemoglobina (SHb): es una mezcla de formas de hemoglobina oxidadas parcialmente desnaturalizadas que se producen en al hemólisis oxidativa. Durante la oxidación de la hemoglobina el sulfuro que puede proceder de diferentes fuentes se incorpora a los anillos Hem de la hemoglobina con el resultado de un hemocromo verdoso. Una oxidación posterior suele producir como resultado la desnaturalización y precipitación de la hemoglobina en forma de cuerpo de Hem.

La sulfohemoglobina no puede transportar oxígeno pero si combinarse con CO para formar carboxihemoglobina no se puede volver a reducir a hemoglobina y permanece los corpúsculos hasta que se disgregan.

La sulfohemoglobina se ha observado en pacientes tratados con sulfoamidas o con amidas aromáticas como por fenacetina. Así como en pacientes con estreñimiento grave, en caso de bacteriemia debido a Clostridium prefringens en un proceso conocido como cianosis enterogénica. La concentración de sulfohemoglobina in vivo suele ser baja alrededor al 1% y raramente sobrepasa el 10% de la hemoglobina total cuando de lugar a cianosis y suele ser asintomática.

La carboxihemoglobina (SHBCo): el CO endógeno producido en la degradación del Hem a bilirrubina suele constituir alrededor del 0'5% de la carboxihemoglobina en sangre, pero se incrementa en la anemia hemolítica. La hemoglobina suele combinarse con CO en la misma proporción que con O₂, sin embargo la afinidad de la molécula de hemoglobina por el CO es 210 veces mayor que por el O₂. Esto significa que el CO se fijará a la hemoglobina aunque su concentración en el aire sea sumamente baja por ejemplo desde 0'02%. En estos casos se va formando cada vez más carboxihemoglobina no puede fijar el O₂ y por tanto no sirve para transportarlo.

A un paciente intoxicado por CO se le debe administrar O₂ puro para que la carboxihemoglobina se transforme en oxihemoglobina la carboxihemoglobina es fotosensible tiene un color rojo cereza brillante típico. La intoxicación aguda por CO se conoce bien desde hace mucho tiempo (combustión en presencia de poco O₂). Sin embargo la intoxicación crónica debida a una exposición prolongada a pequeñas cantidades de CO se conoce menos pero adquiere cada vez más importancia. Sus causas más corrientes son los motores de gasolina, el gas de iluminación, los calentadores de gas, estufas y



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

hornos defectuosos y el humo de tabaco. La exposición al CO es por tanto uno de los riesgos de la civilización moderna. En las calles más frecuentadas de las grandes ciudades se ha encontrado que el aire tiene una concentración de gas suficiente como para causar síntomas leves en personas que permanezcan durante largos periodos de tiempo en ellas. Por ejemplo: agentes de tráfico. La exposición crónica al CO a través del humo del tabaco puede provocar una elevación crónica del nivel del carboxihemoglobina para los fumadores, de modo que tienden a presentar hematocrito más altos que los no fumadores y pueden presentar policitemia.

Los individuos sanos que han sido expuestos a diversas concentraciones del gas durante una hora no presentan síntomas definidos (cefalea, vértigo, debilidad muscular y náuseas) a menos que la concentración del gas en la sangre llegue al 20% o al 30%. Mientras que la intoxicación crónica, sobre todo en niños, pueden aparecer síntomas graves con concentración más bajas.

La ferroxihemoglobina: se puede cuantificar por espectrofotometría diferencial o por cromatografía de fases.

PRUEBAS PARA DERIVADOS DE HEMOGLOBINA.

Algunos datos se obtienen examinando a simple vista una muestra de sangre. Un aspecto normal del suero o del plasma revela que el pigmento está en los glóbulos rojos. Si se agita una sangre total normal en el aire durante 15 minutos adquiere un color rojo claro por convertir la hemoglobina en oxihemoglobina.

La sangre tiene un color rojo cereza brillante cuando el pigmento es carboxi-hemoglobina en la intoxicación por CO. El color es de chocolate en la metahemoglobulemia y la banda malva en al sulfohemoglobulemia.

IDENTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA

Las distintas hemoglobinas tienen espectros de absorción características que se determina en un espectrofotómetro. La identificación de las diferentes formas de la hemoglobina con la determinación de sus espectros de absorción puede hacerse de una manera muy sencilla: se coloca en un tubo de ensayo aproximadamente la mitad de una gota de sangre y se diluye 20ml de agua bidestilada. Se examina la muestra en un espectrómetro empleando agua como blanco y se lee la absorción a intervalos de 5 nm.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE HEMOGLOBINA.

Se considerarán los métodos de cianometahemoglobina (hemiglobincianuro; HiCN), el que mide el contenido de hierro. El método del HiCN, recomendado por el International Comité for Standardization in Hematology (ICSH, 1978), presenta la ventaja de ser cómodo y de ser una solución estándar estable, fácilmente disponible.

Método del hemiglobincianuro (HiCN)

Principio: se diluye la sangre en una solución de ferrocianuro potásico y cianuro potásico. El ferrocianuro potásico oxida las hemoglobinas a hemoglobinas (Hi; metahemoglobinas), y el cianuro potásico proporciona los iones cianuro (CN-) para formar hemiglobincianuro (HiCN, cianometahemoglobina), que tiene una absorción máxima amplia a una longitud de onda de 540 nanómetros.

La capacidad de absorción de la solución se mide en un fotómetro o espectrofotómetro a 540 nm y se compara con la de una solución de HiCN estándar.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

Reactivo: el disolvente de Drabkin modificado con detergente: ferrocianuro potásico 0'2gr, cianuro potásico 0'05gr, fosfato potásico dihidrogenado (anhidro) 0'14gr, detergente no iónico (por ejemplo serox) 1 ml y por último agua destilada 1.000ml.

La solución debe ser de color amarillo claro y pálido, tener un pH de 7 a 7'4 y dar una lectura de 0 cuando se miden en fotómetros a 540nm frente a un patrón de agua. La sustitución del KH_2PO_4 , en este reactivo por bicarbonato sódico (NaHCO_3) acorta el tiempo necesario en el reactivo original de Drabkin para la conservación total de hemoglobina a CNHi de 10 a 13 minutos. El detergente aumenta la lisis de los eritrocitos y disminuye la turbidez de la precipitación proteica.

Se debe tener cuidado con el KCN en la preparación de la solución de Drabkin, ya que las sales o soluciones de cianuro son venosas. El disolvente contiene sólo 50mg/l de KCN, menos que la dosis letal para una persona de 70Kgr. Sin embargo, ya que se libera HCN por acidificación, se debe evitar la exposición del disolvente a ácidos. Es aconsejable deshacerse de los reactivos y muestras a través del agua corriente del fregadero. El disolvente se conserva bien en frasco oscuro a la temperatura del laboratorio, pero se debe renovar cada mes.

Método:

Se añaden 20 microlitos de sangre a 5 ml de disolvente (1:251), bien mezclados y se mantienen a temperatura ambiente durante al menos 3 minutos. Se determina la capacidad de absorción, frente al blanco reactivo, en el colorímetro fotoeléctrico a 540nm o con un filtro apropiado. Se abre entonces un vial de HiCN estándar y se mide la capacidad de absorción, a temperatura ambiente, en el mismo aparato de una manera similar. La muestra se debe analizar a las pocas horas la dilución. El estándar se mantendrá en oscuridad cuando no se utilice y se desechará al término del día.

$\text{Hb (g/dl)} = (\text{muestra de prueba A}_{540} / \text{estándar A}_{540}) \times ([\text{estándar (mg/dl)}] \times 251 / 1.000 \text{ (mg/gr)})$

Suele ser conveniente calibrar el fotómetro al utilizarse para hemoglobinometría preparando una curva estándar o una tabla que relaciona la capacidad de absorción a la concentración de Hb en g/dl.

La capacidad de absorción del estándar HiCN fresco se mide frente a un blanco reactivo.

Se hacen las lecturas de la capacidad de absorción del estándar HiCN fresco y de sus diluciones en el reactivo (1 en 2, 1 en 3, 1 en 4) frente al blanco reactivo. Los valores de Hb en g/dl se calculan para cada solución, como se vio anteriormente. Cuando las lecturas de capacidad de absorción se llevan a un papel gráfico lineal como ordenadas frente a la concentración de Hb en las abscisas, los puntos deben describir una línea recta que pasa por el origen. A partir de esta curva estándar se puede preparar una tabla que da las concentraciones de Hb para las lecturas de capacidad de absorción.

* más sencillo: material y reactivos: tubos de ensayo, pipetas de 5ml y 0'02ml, matraz aforado de 1 litro, espectrofotómetro; reactivo de Drabkin, puede encontrarse de forma concentrada o ya diluida. En el 1º caso son viales de 20ml que hay que diluir para obtener 1litro. Se guarda a temperatura ambiente y protegida de la luz; patrón de Hb: viene indicada su concentración, pero suele ser de 15g/100ml de sangre. Los patrones tienen caducidad, se guardan en nevera, pero no se congelan.

3 tubos de ensayo: blanco (5ml reactivo de Drabkin) patrón (5ml reactivo + 0'02ml de sangre patrón) problema (5ml reactivo + 0'02ml sangre) se deja reposar 3 minutos. Y se miden las densidades ópticas a 540nm, de modo que:

$\text{Hb (g/ml)} = (\text{absorbancia problema} / \text{absorbancia patrón}) \times 15 *$

La ventaja del método del HiCN es que se miden la mayoría de las formas de hemoglobinas (Hb, HbO₂, Hi y HbCO, pero no SHb). La muestra de la prueba se puede comparar directamente con el estándar



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

HiCN, y las lecturas se pueden hacer según la conveniencia del técnico, gracias a la estabilidad del as muestras diluidas.

El aumento en la capacidad de absorción no debido a hemoglobina puede estar originado por la turbidez causada por proteínas plasmáticas anormales, hiperlipemias, grandes leucocitos (recuentos superiores a $30 \times 10^9/l$) o gotitas de grasa, factores todos ellos que pueden dar lugar a un incremento en la dispersión de luz y de la capacidad de absorción aparente.

Método de la oxihemoglobina (HbO_2): ya no se utiliza ampliamente, pero todavía constituye un método satisfactorio la determinación de la hemoglobina como oxihemoglobina. La principal desventaja reside en que no se dispone de un estándar estable para la HbO_2 . Debido a la sencillez del método, muchas veces se utiliza para comparar niveles de hemoglobina en los casos en los que no se precisa la cantidad absoluta, como, por ejemplo, en las determinaciones de fragilidad osmótica o de HbA_2 . El método de HbO_2 no mide la carboxihemoglobina ($HbCO$), la metahemoglobina (Hi) o la sulfohemoglobina (SHb), todas las cuales son inactivas para el transporte de oxígeno.

Se hace una dilución 1:251 de sangre en NH_4OH 0'007N. El agua empleada para preparar la solución amónica debe destilarse en columna, porque cantidades mínimas de cobre en el agua destilada o en otros diluyentes utilizados en las determinaciones de HbO_2 pueden transformarla en metahemoglobina y reducir los valores. Agítese bien para asegurar la mezcla y la oxigenación de la hemoglobina. La solución se lee en un fotómetro en que se emplea un filtro verde (540nm) y una solución 0'007N de hidróxido amónico como blanco. La prueba puede leerse transcurridos algunos segundos o, si está en una cubeta tapada, en cualquier momento antes de pasar 3 días. La curva estándar puede trazarse por uno de los procedimientos que se expondrán más adelante.

Métodos químicos (contenido en hierro): la hemoglobina puede medirse por determinación de su contenido en hierro. En la sangre, el hierro no hemoglobínico es insignificante en comparación con el hemoglobínico. El hierro debe separarse primero de la hemoglobina, generalmente por medio de un ácido o por incineración, y entonces es titulado con $TiCl_3$ o forma un complejo con un reactivo que desarrolle un color susceptible de medirse fotométricamente.

Basado en la estructura molecular, el contenido de hierro de la hemoglobina es de 0'347%. La concentración de hemoglobina en sangre (g/dl) por 3'47. la determinación de la concentración de la hemoglobina por medición del contenido en hierro es demasiado complicada para el trabajo habitual, pero se puede utilizar para verificar otros métodos, y a partir de ella se pueden diseñar curvas de calibración para los métodos de HbO_2 y HiCN. Se usa para estandarización en hemoglobinometría si se desea o si no están disponibles estándares de cianometahemoglobina certificados. El método del hierro, por supuesto, mide la hemoglobina total; el método de HbO_2 mide solo Hb y HbO_2 y el método de HiCN determina la Hb, HbO_2 , Hi y $HbCO$.

Errores en hemoglobinometría: los errores pueden depender de la muestra, el método, el equipo o el operador. Algunos han sido comentados al describir los distintos métodos.

Errores inherentes a la muestra: una punción venosa inadecuada puede producir hemoconcentración, que aumentará la concentración de hemoglobina y el recuento de células hemáticas. Una técnica inadecuada en la obtención de muestras por punción del dedo o capilares puede producir errores en ambos sentidos.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

Errores inherentes al método: el método de la oxihemoglobina mide la Hb y la HbO₂, pero no la Hi, HbCO o SHb. Por tanto, es el método que mejor determina la hemoglobina fisiológicamente activa, lo que puede tener importancia en algunos enfermos.

El método de la HiCN es actualmente el de elección. El empleo del estándar de HiCN para la calibración del instrumento y para la prueba en sí elimina una de las fuentes mayores de error y proporciona una comparabilidad entre todos los laboratorios que lo emplean. La ancha banda de absorción de la HiCN en la región de 540nm permite que se emplee tanto en los fotómetros de filtro como en los espectrofotómetros de banda estrecha. Con excepción de la SHb, todas las variedades de la hemoglobina se convierte en HiCN.

Errores inherentes al equipo: la exactitud del equipo no es uniforme. Es conveniente una pipeta bien graduada y con una precisión garantizada de menos de 1% de error. La calibración de pipetas de vidrio reutilizables. Puede producirse un error importante por el empleo de cubetas no seleccionadas. Son preferibles las cubetas intercomunicadas, debido a que eliminan el pequeño error existente, incluso cuando se utilizan cubetas bien calibradas.

El fotómetro o colorímetro debe calibrarse en el laboratorio antes de su empleo inicial y revisarse con frecuencia. Los dispositivos de longitud de onda, los filtros y las lecturas métricas requieren un control.

Si se emplea un fotómetro bien estandarizado y regularmente revisado, el error del método de la cianometahemoglobina puede reducirse hasta $\pm 2\%$ (expresado como coeficiente de variación, CV).

Errores del operador: la mayoría de los errores por el llamado factor humano son los mismos en todos los procedimientos técnicos. Pueden reducirse mediante un buen adiestramiento, una comprensión profunda de la significación clínica de la prueba y de la necesidad de un método de confianza, el cumplimiento de las instrucciones orales y escritas sobre los principios del método y la familiarización con el equipo y con las causas de error. El técnico ha de estar experimentado en la volumetría de precisión y familiarizado con el rendimiento de su instrumento para reconocer sus fallos. Se ha demostrado que los errores aumentan con la fatiga y tienden a ser mayores al final del día que al principio. Un operador que por naturaleza y por adiestramiento es paciente y crítico, y que se interesa por su trabajo, estará menos expuesto a cometer errores que otros.

La descripción anterior se aplica a las técnicas manuales de hemoglobinometría. Hoy se utilizan ampliamente equipos semiautomáticos y automáticos que tienen la propiedad de eliminar los componentes de error en las pipetas y cubetas individuales y gran parte de los errores humanos.

BIBLIOGRAFÍA:

Carrasco Carrasco, M. y otros. (2004). *Fundamentos y Técnicas de Análisis Hematológicos y Citológicos*. Madrid: Paraninfo.

Carrasco Carrasco, M. y otros. (2007). *Hematología I. Citología, Fisiología y Patología de Hematíes y Leucocitos*. Madrid: Paraninfo.



ISSN 1988-6047 DEP. LEGAL: GR 2922/2007 N°3 – FEBRERO DE 2008

Autoría

Rosario Alors Correderas
rosarioalors@gmail.com