

1. Objeto

Medir cuantitativamente la concentración de hemoglobina en sangre total con EDTA, utilizando el instrumento de medición DxH600

2. Alcance

Aplica para la determinación de hemoglobina en la sede Centro y sede Tesoro, los bacteriólogos tienen la competencia de realizar esta prueba y está avalada por la dirección del laboratorio de acuerdo a los entrenamientos proporcionados y a la evaluación de competencias.

3. Propósito del análisis

La hemoglobina es una de las principales proteínas de la sangre, su principal función es transportar el oxígeno desde los órganos respiratorios hasta los tejidos y el dióxido de carbono desde los tejidos hasta los pulmones para que sea eliminado. La anemia es el estado por el cual el organismo tiene un déficit en su concentración de hemoglobina en la sangre periférica de un 10 % o más, según la edad, sexo y altura sobre el nivel del mar. Los tejidos requieren constantemente aporte de oxígeno y este lo hace con la hemoglobina, por lo que se considera este elemento como pilar fundamental en el diagnóstico de la anemia.

4. Principio del procedimiento

Método de medición de la hemoglobina: Medición fotométrica

El lisante celular Unicel DxH-600 es un reactivo lítico de CBC que no contiene cianuro que lisa los eritrocitos del recuento de glóbulos blancos, y trabaja conjuntamente con el diluyente Unicel DxH-600 para generar una medición de hemoglobina estable.

El reactivo lítico utilizado para el LEU prepara la sangre de modo que el sistema puede contar los leucocitos y medir la cantidad de hemoglobina. El reactivo lítico destruye los eritrocitos rápidamente y de forma simultánea y convierte una proporción considerable de hemoglobina en un pigmento estable mientras que deja el núcleo del leucocito intacto. La absorbancia del pigmento es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina de la muestra.

La precisión de este método iguala a la del método hemiglobincyanide, el método de selección de referencia para hemoglobinometría recomendada por el Comité Internacional de Estandarización en Hematología. Después de contar los LEU, la dilución de LEU lisado se vacía en la cubeta de hemoglobina para la medición de Hgb. La Hgb se mide fotométricamente a 525 nm utilizando la muestra del análisis de LEU. Se introduce un espacio en blanco en la cubeta durante el ciclo operativo. El blanco de Hgb proporciona una referencia con la que se compara la señal de muestra.

El sistema convierte este ratio en un valor de Hb mediante el factor de calibración. El Peso (masa) de Hb determinado por el grado de absorbancia encontrado en la transmitancia de fotocorriente expresado en g/dL con la fórmula siguiente: $Hgb (g/dL) = [registro \times constante10 (referencia \%T/muestra \%T)]$.

5. Especificaciones de desempeño

Intervalo de medición sede Centro : 4,6 g/dL a 21,7 g/dL

Intervalo de medición sede Tesoro : 5,6 g/dL a 21,2 g/dL

Intervalo dinámico comunicable : sangre total con EDTA: 0,0 g/dL a 30,0 g/dL

Precisión: Se realizó bajo condiciones de repetibilidad (r) y precisión intermedia (R) utilizando el mismo lote de reactivo, la misma calibración y tres niveles de controles. Se utilizó como meta analítica el error total por variabilidad biológica.

Para repetibilidad: error total $\times 0,25 = CV\%$

Para precisión intermedia: error total $\times 0,33 = CV\%$

Nota: Ver resultado del ejercicio de verificación de cada instrumento de medición

Fondo:

Cuenta para parámetros CBC son realizadas durante el ciclo de inicio. La muestra de diluyente no debe exceder los límites de fondo:

Hemoglobina: $< 0,1 \text{ g/dL}$

Arrastre: El arrastre alto a bajo de CBC se mide según las directrices de ICSH, y se calcula de la forma siguiente: $Arrastre = [(1^o \text{ diluyente} - 3^o \text{ diluyente}) / (3^a \text{ muestra} - 3^o \text{ diluyente})] \times 100$

El arrastre en el analizador DxH600 debería cumplir con estos límites:

Hemoglobina: $< 1.0 \%$

6. Muestras recomendadas

La muestra recomendada es sangre total con EDTA. El uso de otros anticoagulantes puede producir resultados incorrectos. La muestra recomendada es sangre total con K3EDTA. El uso de otros anticoagulantes puede producir resultados incorrectos. La toma de muestra no requiere ayuno, debe ser obtenida por punción venosa. La aguja utilizada debe ser calibre 19-21 para obtener sangre de una vena cubital.

No se requiere ayuno para la realización de esta prueba.

Conservación y estabilidad de las muestras: se realizó un estudio donde las muestras se almacenaron 48 h a temperatura ambiente ($21^\circ\text{C} - 24^\circ\text{C}$) y en frío ($3^\circ\text{C} - 4^\circ\text{C}$) los resultados obtenidos luego de analizarlos fueron reproducibles, no se encontraron señales de sospecha en las muestras procesadas antes de 24 h a temperatura ambiente y de 48 h al frío. Cuando el transporte de las muestras es por tubo neumático, éstas deben ser protegidas de vibraciones y golpes para evitar la desnaturalización de las proteínas y la activación de las plaquetas a través de la formación de espuma en la muestra.

7. Tubos utilizados para la toma de la muestra

Tubo con EDTA, mezclar el anticoagulante con la muestra suavemente por inversión de 8 a 10 veces. Recoja las muestras utilizando los procedimientos de laboratorio estándar. No extraiga la muestra de un brazo por el que se esté administrando una transfusión intravenosa ya que se pueden ver alterados los resultados. Antes de su procesamiento, las muestras se deben poner en agitador mecánico durante 1 minuto a 10 rpm (primera línea del agitador) para asegurar su correcta homogenización, además, las muestras que no son tomadas por el personal del laboratorio se deben revisar con aplicador de madera para observar la presencia de coágulos.

El volumen de aspiración del instrumento Coulter DxH 600 es de 165 μL de muestra

Para procesar las muestras en el equipo en modo primario o cerrado, el volumen mínimo de sangre en los tubos debe ser de 1 ml y en lo posible no deben ser destapados antes de ser pasados por el equipo, el tamaño de los tubos para colocar en los casetes tipo A es de 12-16 mm, en cassettes tipo C de 1 mm-13 mm.

Para tubos pediátricos se usan los cassettes tipo D con diámetros de 7 mm y 13 mm pero adicionalmente incluyen un relleno de color verde para los tubos cortos

8. Equipos y reactivos requeridos

Analizador para hematología Unicel DxH600 y reactivo Unicel DxH Cell Lyse, éste es estable en temperaturas normales y presiones normales, mantener alejado de materiales incompatibles como ácidos fuertes, bases fuertes y oxidantes fuertes. Para mantener la eficacia del producto, almacenar de acuerdo con las instrucciones incluidas en la etiqueta de 2 °C a 25 °C. El reactivo lisante es para usarse como agente lítico de eritrocitos para la determinación cuantitativa de la hemoglobina y el recuento y la determinación del tamaño de los leucocitos.

Control de calidad

Conservación y Estabilidad del Control: vienen listos para el uso, se conservan entre 2 °C y 8 °C.

Analizar los materiales de control (3 niveles) del mismo modo que las muestras de los pacientes, referirse al instructivo de control de calidad de hematología IT-HE-05. La frecuencia del montaje del control de calidad es de cada 12 h, esta frecuencia se determinó así para obtener en los diez primeros días, los datos suficientes para establecer límites de desempeño de las pruebas.

Si los resultados del control de calidad están fuera del intervalo aceptable, investigar las causas antes de decidir informar o no los resultados de los pacientes.

Los datos obtenidos se digitan en el programa Unity Real time, en este sistema se debe verificar el desempeño en las gráficas integradas de control de calidad (Levey-Jennings y Error total) tomar medidas si es necesario. Para la valoración de la dispersión se emplea el método más clásico (Levey Jennings), se establece una media y una desviación estándar y coeficiente de variación. Los límites de desempeño en hematología se establecen de acuerdo a los estándares de variabilidad biológica

Para verificar el rendimiento del sistema analizar los materiales de control:

- . De acuerdo con las normativas locales y al menos una vez cada día que se realice el ensayo.
- . Luego de realizar los procedimientos de reparación especificados.

9. Interferencias

Es posible obtener resultados engañosos si no se recoge, almacena o transporta la muestra correctamente. Beckman Coulter, Inc. recomienda seguir el estándar CLSI o procedimientos equivalentes para garantizar el correcto almacenamiento, transporte y recogida de las muestras. Siga siempre las recomendaciones del fabricante cuando utilice dispositivos de microcolección para la recogida de muestras de vasos capilares.

Es posible que se obtengan resultados engañosos si las muestras contienen coágulos. Siempre usar prácticas de laboratorio adecuadas para inspeccionar si las muestras presentan coágulos y verificar resultados. Es posible que se obtengan resultados engañosos si la muestra no se mezcla correctamente. Usar siempre prácticas de laboratorio adecuadas para asegurar que las muestras se mezclan adecuadamente. No omita ni salte el proceso de mezcla automatizada utilizado en el sistema DxH 600. Si la muestra no se homogeniza correctamente pueden producirse resultados erróneos, el tiempo ideal para una buena homogenización es de 1 minuto

Interfieren con la determinación de hemoglobina la Lipemia severa, heparina, determinadas anomalías de ERIT inusuales que resisten el lisado.

Criterios de rechazo de muestras

- . Muestras coaguladas
- . Muestras que no cumplen la relación anticoagulante: muestra

10. Intervalos biológicos de referencia

Estos intervalos se establecen de acuerdo a los estudios presentados por el proveedor, cada que se encuentren incongruencias entre los resultados y el diagnóstico del paciente de forma repetitiva y el o los médicos tratantes informen o soliciten revisión, igualmente si el profesional del laboratorio identifica estas incongruencias

Estos intervalos se establecen de acuerdo a estudio realizado con población atendida en el laboratorio médico de referencia.

Genero	Unidad	Rango Edad		Referencia	
		Min	Max	Min	Max
Masculino	Años	1	6	11.5	13.5
Masculino	Años	7	12	11.5	15.5
Masculino	Años	13	18	13.0	16.0
Masculino	Años	19	200	13.0	18.0
Femenino	Años	1	12	11.5	13.5
Femenino	Años	13	200	12.0	16.0
Ambos	Días	0	6	14.5	22.0
Ambos	Días	7	15	12.5	21.0
Ambos	Días	16	60	10.0	18.0
Ambos	Días	61	210	9.0	14.0
Ambos	Días	211	365	10.5	14.0

11. Valores críticos

El valor crítico para hemoglobina es menor o igual a 6 g/dl y mayor o igual a 21 g/dL.

En neonatos el valor crítico para hemoglobina es menor o igual a 8,5 g/dL y mayor o igual a 23 g/dL.

12. Interpretación por el laboratorio

Los tejidos requieren constantemente aporte de oxígeno y este lo hace la hemoglobina, por lo que se considera este elemento como pilar fundamental en el diagnóstico de la anemia. La hemoglobina, abreviada como Hb es una heteroproteína de la sangre de masa molecular 64000 kda de color rojo característico, La forman 4 cadenas polipeptídicas (globinas) a cada una de las cuales se une un grupo hemo, cuyo átomo de hierro es capaz de unir de forma reversible una molécula de oxígeno. La hemoglobina es una proteína globular, que está presente en altas concentraciones en los glóbulos rojos y se encarga del transporte de oxígeno del aparato respiratorio hacia los tejidos periféricos; y del transporte de CO₂ y protones (H⁺) de los tejidos periféricos hasta los pulmones para ser excretados. Los valores normales en sangre son de 13 g/dl - 18 g/dl en el hombre y 12 g/dl - 16 g/dl en la mujer, por cada litro de sangre hay 150 g de hemoglobina y cada g de hemoglobina disuelve 1,34 ml de oxígeno, en total se transportan 200 ml de oxígeno por litro de sangre, esto es 87 veces más de lo que el plasma solo podría transportar; sin un transportador de oxígeno como la hemoglobina, la sangre tendría que circular 87 veces más rápido para satisfacer las necesidades corporales. HEMOGLOBINAS ANORMALES: Se denomina hemoglobinopatía a cierto tipo de defecto de carácter hereditario, que tiene como consecuencia una estructura anormal en una de las cadenas de las globinas de la molécula de hemoglobina. Sin embargo suele reservarse el término hemoglobino patías para las anomalías de la hemoglobina producidas por el simple cambio de un aminoácido en una de las cadenas de globina; el termino talasemia se reserva para para las hemoglobinopatías debidos a la falta de síntesis total o parcial de una cadena completa de globina.

13. Precauciones de seguridad

Los reactivos son estables en temperaturas normales y presiones normales, mantener alejado de materiales incompatibles como ácidos fuertes, bases fuertes y

oxidantes fuertes. Para mantener la eficacia del producto, almacenar de acuerdo con las instrucciones incluidas en la etiqueta de 2 °C a 30 °C. Tome precauciones cuando manipule materiales y muestras de origen humano. Como ningún método de ensayo puede ofrecer una seguridad completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, considere todas las muestras, controles y calibradores clínicos como potencialmente infecciosos. Manipule las muestras, los residuos sólidos y líquidos, así como los componentes del ensayo de acuerdo con las pautas de seguridad de riesgos biológicos.

14. Fuentes potenciales de variabilidad

Fumar, actividad física (incluyendo caminar rápidamente) en los 20 min anteriores, estrés, administración de fármacos o suplementos dietéticos en las 8 h anteriores.

15. Bibliografía

1. Interpretacion clinica del laboratorio. 5Ta edicion. Gilberto Angel M./ Mauricio Angel R.
2. Dacie y Lewis Hematologia Práctica. 10.a Edición. S.M.Lewis - B.J.Bain. L.Bates.
3. Guia manual del usuario instrumento DxH600

Si este documento se encuentra impreso no se garantiza su vigencia, por lo tanto es copia NO CONTROLADA, la versión actual se encuentra en Solución

VERSION	FECHA	RAZON DE LA ACTUALIZACION
00	11/Oct/2013	Se revisa el documento y no es necesario realizar cambios.
00	15/Ene/2015	Se revisa el instructivo y no es necesario modificarlo.
01	15/Sep/2015	Se revisan y se corrigen las unidades aplicando el sistema internacional de unidades.
02	20/Ene/2016	Se adiciona indicaciones del Coulter LH 750.
02	19/Feb/2017	Se revisa y no se modifica.
02	02/Feb/2018	Se revisa y no se modifica.
03	15/Ene/2019	Se ajusta por cambio de instrumento de medición
03	13/Feb/2020	Se revisa y no se modifica.
04	04/Ene/2021	Se adiciona intervalo de medición de la sede Centro y de la sede Tesoro.
04	17/Ene/2022	Se revisa y no se modifica.
04	03/Ene/2023	Se revisa y no se modifica.
04	09/Ene/2024	Se revisa y no se modifica.



ELABORO	REVISO	APROBO
Nombre: Gloria Patricia Tirado Cargo: Director(a) de Calidad Fecha: 04/Ene/2021	Nombre: Diana Patricia Bedoya Jaramillo Cargo: Bacteriólogo(a) de Hematología Centro Fecha: 04/Ene/2021 Nombre: Monica Mejía Ochoa Cargo: Bacteriólogo(a) de Hematología Centro Fecha: 04/Ene/2021	Nombre: Carlos Gonzalo Robledo Restrepo Cargo: Director General Fecha: 05/Ene/2021