



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**Facultad de Estudios Superiores
" CUAUTITLAN "**

**"Comparación de Tres Métodos para Determinar
Hemoglobina en Bovinos de Raza Holstein".**

TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TITULO DE :
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
J. EUGENIO LOREDO RIVERA

ASESOR: MVZ. M. EN C.
MIGUEL ANGEL CARMONA MEDERO

COASESOR: MVZ.
JUAN MANUEL BEZARES TREJO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	Pág.
RESUMEN	1
INTRODUCCION.	2
OBJETIVOS	4
MATERIAL Y METODOS	13
RESULTADOS Y DISCUSION	24
CONCLUSIONES	30
BIBLIOGRAFIA	31

RESUMEN

Con el objetivo de comparar la concentración de hemoglobina - en gramos por 100 ml mediante la determinación de los métodos de cianometahemoglobina, oxihemoglobina (gráfica y factor) y hemoglobínómetro de Spencer. Se realizó el presente estudio - en un hato compuesto por 150 bovinos Holstein de los cuales - se seleccionaron al azar 12 becerras que fluctuaron entre 8 y 12 meses de edad. En los animales seleccionados se tomó una - muestra sanguínea por punción yugular, habiéndose efectuado - 12 muestreos quincenales.

Los resultados indican que no hubo diferencias significativas entre los métodos evaluados; observándose también una correlación alta entre diferentes métodos.

A través de regresión lineal se obtuvieron factores de ajuste para convertir la lectura de alguno de los métodos a cualesquiera de los otros métodos.

INTRODUCCION

La determinación del contenido de hemoglobina en el plasma sanguíneo ha servido a muchos investigadores como modelo para determinar diversos aspectos referentes a este componente de la sangre; así se puede citar que la determinación del contenido de hemoglobina es importante para estimar la presencia o el grado de anemia presente en un organismo.

El pigmento hemoglobina responsable del color rojo de la sangre, es el encargado del transporte del oxígeno a los tejidos así como el bióxido de carbono de éstos a los pulmones por medio de la circulación sanguínea. La magnitud de este intercambio de gases es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina en la sangre (8).

Por consiguiente, el procedimiento más directo para estimar la eficiencia del transporte de oxígeno en la circulación sanguínea en este aspecto es el de determinar la hemoglobina.

Debido a la capacidad del transporte de oxígeno por parte de la hemoglobina se ha asociado el contenido de hemoglobina con la capacidad de adaptación de los bovinos al trópico húmedo -- (6). Sin embargo para determinar este componente sanguíneo, se han diseñado diversos métodos para estimar tal componente, entre ellos podemos señalar los siguientes:

Cianometahemoglobina.

Oxihemoglobina.

Metahemoglobina.

Carboxihemoglobina.

Sulfametahemoglobina.

Hemoglobímetro de Spencer.

Hemoglobinómetro de Sahli.

Hemoglobinómetro de Haden-Hausser.

Método de Tallquist.

Método de Van Slykes.

Método de Gravedad Específica.

Determinación de hemoglobina sanguínea por análisis de hierro, (15) (18) (22).

Ante tal variedad de métodos, los resultados pueden presentar también una variación considerable. De acuerdo con Richerich (23) y otros investigadores la estimación de hemoglobina por el método de cianometahemoglobina es superior a todos los otros métodos, debido a las siguientes razones:

- a) La cianometahemoglobina es el único derivado estable que se conoce de la hemoglobina. Este derivado puede ser preparado y transportado a una solución estándar, para su control.
- b) La cianometahemoglobina tiene una extinción máxima a los 540 nanómetros necesariamente no todos tienen la norma cromática conocida en esta banda para su determinación. Pueden obtenerse resultados seguros igual que con menor refinamiento del fotómetro.
- c) La ley Beer-Lambert (la absorción de una sustancia es en este rango proporcional a su concentración dando de esta manera una línea recta) es válida sobre un rango grande de medida.
- d) Todos los derivados de la hemoglobina pueden ser convertidos cualitativamente en cianometahemoglobina incluyendo, oxihemoglobina, carboxihemoglobina, metahemoglobina y sulfametahemoglobina.

e) Las proteínas plasmáticas no afectan los resultados. El uso de la solución Drabkin modificada permite leer los resultados entre 3 a 5 minutos.

La solución Drabkin modificada se prepara con 200 mg de Ferrocianuro de Potasio $K_3Fe(CN)_6$

50 mg de Cianuro de Potasio K CN.

140 mg de Fosfato Monopotásico KH_2PO_4

Para aforar a un litro de agua destilada.

OBJETIVOS

La presente investigación tiene como objetivo general:

Comparar la concentración de hemoglobina en gramos por 100 ml mediante los métodos de determinación de cianometahemoglobina, oxihemoglobina, y hemoglobínómetro de Spencer.

Objetivos específicos:

Determinar si existen diferencias estadísticamente significativas, entre los tres métodos de cuantificación de la hemoglobina.

Determinar el grado de correlación, entre los métodos analizados.

Desarrollar si el caso lo amerita un factor de ajuste para convertir la lectura de oxihemoglobina y hemoglobínómetro de Spencer a unidades de cianometahemoglobina.

Revisión de literatura.

Para una mejor comprensión acerca de la función de la hemoglobina en el organismo animal, a continuación se describen algunos detalles al respecto.

Características generales de la hemoglobina.

La hemoglobina es una proteína conjugada que existe dentro de los eritrocitos a los cuales da su color (8).

Los glóbulos rojos contienen un 65 por ciento de agua y un 35 por ciento de residuo sólido. El residuo sólido está constituido en su mayor parte por una heteroproteína o proteína conjugada, la hemoglobina, que se oxida y reduce con facilidad, lo que le confiere a esta substancia un papel importante en el recambio de oxígeno (26); y por tanto la concentración normal de hemoglobina en los bovinos es de 8.5 a 13.5 gramos por cada 100 ml. (17), en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México — U.N.A.M. trabajan con valores de 8 a 14 gramos por cada 100 mililitros (21).

La hemoglobina presenta un color rojo que toma tonalidades diferentes, según se encuentre reducida u oxidada; así las soluciones de hemoglobina reducida presentan color rojo violáceo y la de la hemoglobina oxidada una coloración rojo escarlata. Es ópticamente activa desviando el plano de luz polarizada — hacia la derecha (26).

Su peso molecular según varios autores es el siguiente, 64500 a 66000 (4) (12) (13).

La hemoglobina está formada por un grupo prostético pigmentario denominado protoheme, o simplemente heme. Y una proteína — simplemente llamada globina.

Esta última constituye el 96 por ciento de la molécula hemoglobina, mientras el protoheme sólo un 4 por ciento. De este último porcentaje constituido por el protoheme; 0.4 por ciento corresponde a la parte ferrica del heme y 3.6 por ciento a la — protoporfirina (7).

Estructura de la hemoglobina.

Estructura del grupo heme: el heme constituye el grupo prostético de la molécula de hemoglobina, en realidad es más correcto denominarlo protoheme por derivarse de una protoporfirina y que unido con el hierro forma un compuesto de coordinación muy estable (20).

Este grupo consta básicamente de cuatro anillos pirrólicos unidos lateralmente por enlaces meteno, y en el centro unidos al átomo de hierro, que está en estado ferroso o divalente y que está unido a una histidina y al oxígeno; este hierro se encuentra normalmente en forma divalente en la hemoglobina ya que si se oxida se convierte en ferrico o trivalente y la hemoglobina se transforma en metahemoglobina, ya que no es apta para la — respiración (7).

Estructura de la globina: es la fracción proteica de la hemoglobina que esta compuesta de cuatro cadenas de polipéptidos — dispuestos en forma de un tetraedro (12). Estas cuatro cadenas se dividen en dos cadenas alfa que tienen 141 aminoácidos cada una; y dos cadenas beta que tienen 146 aminoácidos cada una, — estos aminoácidos se disponen en hilera, unidos por enlaces — pépticos y la secuencia de estos aminoácidos constituye la estructura primaria, la estructura secundaria está formada por — las zonas helicoidales; la estructura terciaria está dada por los doblesces de las diversas cadenas de globina, y finalmente la estructura cuaternaria está constituida por las relaciones—

y forma de unión de estos elementos entre sí y con la molécula de heme (7).

Variantes de la hemoglobina normal.

La hemoglobina A_1 (HbA₁) es la principal hemoglobina que existe después del nacimiento; está formada por dos cadenas α y dos cadenas β , a partir del quinto mes de vida constituye el 98 por ciento de la hemoglobina.

Hemoglobina A_2 (HbA₂) se diferencia de la hemoglobina A_1 porque tiene una movilidad electroforética algo más lenta, y de la que existía el 2.5 por ciento aproximadamente, contiene dos cadenas α y dos δ , no se conoce bien la función de esta hemoglobina, pero cuando falta la anterior ésta la puede suplir.

Hemoglobina fetal (hemoglobina F o HbF). Es la hemoglobina que está en mayor cantidad durante la vida fetal, para pasar a constituir aproximadamente sólo el 0.5 por ciento de la hemoglobina del individuo adulto normal. La hemoglobina (F) se diferencia de la hemoglobina A_1 por su composición química, y otras propiedades como son su mayor afinidad para el oxígeno. Esta mayor afinidad para el oxígeno se debe a que en contacto con la sangre de la madre se ha de oxigenar la del feto, y esta mayor aptencia de la sangre fetal con respecto al oxígeno hace que de la sangre materna pase con facilidad oxígeno a la sangre fetal, y así el producto del embarazo pueda oxigenar su sangre (7).

Síntesis de la hemoglobina.

La hemoglobina es sintetizada a través de gran parte del proceso de maduración, produciéndose aproximadamente 65 por ciento antes de que el núcleo sea expulsado y 35 por ciento en la etapa de reticulocito (13).

Las primeras células mesenquimatosas se forman en los islotes sanguíneos del saco vitelino del embrión y del mesodermo (1) - (11). En este hay, además, cierta diferenciación que produce - en particular células que sintetizan hemoglobina del tipo fetal (11). Es en los precursores de los eritrocitos los eritroblastos y reticulocitos, donde la síntesis de la hemoglobina - es más activa (20).

En el feto los glóbulos rojos son producidos al principio por los islotes sanguíneos del saco vitelino y luego por el hígado el bazo y los ganglios linfáticos; pero en el momento del nacimiento la eritropoyesis se realiza en la médula ósea, en particular en la médula roja de los huesos del cráneo, de las vértebras, costillas, esternón, pelvis y los huesos proximales de las extremidades, (3) (1). Sin embargo, el hígado, el bazo y los ganglios linfáticos conservan la facultad de volver a ser órganos hematopoyéticos, tal como sucede en determinadas condiciones patológicas (3).

La producción de hemoglobina normal depende de un aporte adecuado de hierro, así como de protoporfirina y globina.

El hierro es liberado por la proteína de transporte específico transferrina, en la membrana de la célula inmadura, donde el hierro es fijado y la transferrina regresa al plasma. La mayor parte del hierro que entra en la célula está destinado a la síntesis de hemoglobina y llega a la mitocondria donde es introducido en el anillo de protoporfirina para formar el heme (13).

En la regulación de la síntesis de la hemoglobina además del hierro existen otros elementos como el cobre que no se encuentra en la hemoglobina pero que se encuentra en ciertas enzimas algunas de las cuales son indispensables para la formación de sangre.

También en la eritropoyesis normal se requieren trazos de cobalto que forma parte de la cianocobalamina (vitamina B). El cobalto con el níquel tienen la capacidad de aumentar la capacidad de síntesis de la hemoglobina en la médula ósea, que junto con el ácido fólico, ácido ascórbico, piridoxina (vitamina B 6), son responsables en la síntesis de la hemoglobina (1). Además de los elementos ya mencionados existe una hormona, la eritropoyetina que es elaborada principalmente en el riñón, esta hormona es capaz de estimular la médula hematopoyética en forma inmediata, su producción es desencadenada o regida en cierta forma por factores como la hipoxia generalizada, como ocurre cuando un animal vive o es llevado a grandes alturas, o al presentarse una hemorragia.

Diversas hormonas como la tiroxina, los estrógenos, la testosterona el cortisol y prolactina, también tienen la capacidad de estimular la eritropoyesis, el mecanismo por el cual actúan no está bien conocido y probablemente sea indirecto.

La hormona del crecimiento tiene una acción directa sobre la síntesis de hemoglobina ya que aumenta el porcentaje de eritroblastos en la médula ósea, y el número de eritrocitos en la sangre (16).

Función de la hemoglobina.

La función principal de la hemoglobina es el transporte de oxígeno desde los pulmones y luego liberarlo rápidamente en los capilares de los tejidos, donde la tensión gaseosa de oxígeno es mucho menor que en los pulmones (10). Básicamente la hemoglobina funciona captando oxígeno allí, donde la tensión es alta y desprendiéndose de él donde la tensión es baja (20). Cada molécula de hemoglobina fija cuatro moléculas de oxígeno sobre

el hierro y constituye la oxihemoglobina, la saturación de oxígeno en función de la presión parcial del mismo, se realiza según una curva sigmoide muy particular que asegura un máximo de eficacia tanto para la fijación en los pulmones como para la liberación en los tejidos (4).

La cantidad de oxígeno en la sangre está determinada por la cantidad de oxígeno disuelto, por la cantidad de hemoglobina circulante y por la afinidad de la hemoglobina para el oxígeno (9).

La combinación reversible del oxígeno con la hemoglobina se lleva a cabo cuando la presión de oxígeno es alta, como los capilares pulmonares, el oxígeno se une con la hemoglobina, pero cuando la presión del mismo es baja, como los capilares tisulares, el oxígeno se libera de la hemoglobina. Esto constituye la base para el transporte de la hemoglobina de los pulmones a los tejidos (10).

La hemoglobina no sólo sirve para transportar oxígeno, sino que también hace un transporte a la inversa de dióxido de carbono, a este fenómeno se le conoce como efecto Bohr (7).

Factores que influyen en la oxigenación. El principal factor que influye es la presión de oxígeno, le siguen otros factores como el pH del medio sanguíneo, la presión parcial de dióxido de carbono, la temperatura, el contenido de ácido 2,3 difosfoglicérico (2,3-DPG).

La hemoglobina también realiza una importante función que es la de amortiguador (buffer) del oxígeno, porque es la responsable de controlar la presión de oxígeno en los tejidos (9).

Desintegración de la hemoglobina.

La desintegración de la hemoglobina se lleva acabo en tres fases: fase prehepática de destrucción del eritrocito que tiene lugar especialmente en el bazo, pero puede llevarse acabo en cualquier lugar de la economía (por ejemplo en hematomas), liberándose hematoïdina (sin hierro) y hemosiderina (que lo contiene), y la bilirrubinglobina, todo ello con intervención del sistema reticuloendotelial.

Fase hepática es separada de la molécula de globina, quedando la bilirrubina que se conjuga con ácido glucurónico, dando el mono y diglucoronidato de bilirrubina. Este glucurónido, que es soluble, es eliminado por la bilis.

Fase posthepática la bilirrubina se convierte en mesobilirrubinógeno, por la acción de la flora intestinal. La mayor parte del mismo es posteriormente transformada en estercobilinógeno y éste, oxidado a estercobilina, que se elimina por las heces. Parte del estercobilinógeno es absorbido a través de la pared intestinal, siendo nuevamente eliminado a través del hígado — por la bilis, y una pequeña porción es excretada por la orina. En la orina se oxida también a estercobilina.

El destino que sigue la globina se ignora; el hierro pasa al plasma hemático y a los depósitos ferrícos. El resto del grupo pirrólico sirve como producto origen de los distintos pigmentos biliares.

La rotura del anillo tetrapirrólico de hemoglobina, ocurre en los hematíes viejos empobrecidos de catalasa; quedando formada la verdeglobina.

El hierro de la verdeglobina es fácilmente separable, y una vez desprendido queda formado el primer pigmento biliar o

biliverdinglobina (o biliverdina), que luego de rápida reducción, pasa a la bilirrubinglobina, que corresponde a la llamada bilirrubina indirecta. La desalbuminación de ésta conduce a la bilirrubina directa (7).

MATERIAL Y METODOS

El presente estudio se efectuó en Zumpango estado de México en un hato compuesto por 150 animales de raza Holstein de los cuales se seleccionaron al azar 12 becerras que fluctuaron entre 8 y 12 meses de edad. En dichos animales se obtuvo una muestra sanguínea de 2.5 ml en tubos de vidrio con E.D.T.A. (ácido etilendiamino-tetracético), mediante la punción de la vena yugular, esta muestra se evaluó en el Centro de Salud de Patología Animal de Tepotsotlán estado de México dependiente de la Dirección General de Sanidad Animal, de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, S.A.R.H. Se efectuaron 12 muestreos quincenales del 19 de julio de 1983 al 3 de enero de 1984. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante la técnica de análisis de Varianza y la prueba de Fisher (F) para determinar significancia (25).

La correlación entre las variables se estimó mediante la siguiente fórmula:

$$r = \frac{\text{Covarianza de XY}}{\sqrt{\text{Var. de X (Var. de Y)}}}$$

El factor de ajuste para convertir unidades de erihemoglobina y de hemoglobímetro de Spencer a unidades de cianometahemoglobina se obtuvo mediante la técnica de regresión lineal. Los métodos biológicos para determinar hemoglobina se describen a continuación:

Cianometahemoglobina:

Material:

- a) Tubos de ensayo especiales.
- b) Pipetas de 5 ml y de 0.02 ml (pipeta de Sahli).
- c) Espectrofotómetro modelo Spectronic 20.

- d) Algodón.
- e) Sangre con anticuagulante E.D.T.A. (2 ml).
- f) Anticuagulante E.D.T.A. (Ac. etilendiamino-tetracético).

Dosis: 2 mg/ml de sangre.

1 gota de solución por ml de sangre.

- g) Soluciones reactivo y patrón de cianmetahemoglobina.

Desarrollo:

- a) Poner 5 ml de solución reactivo que es la solución estandar en dos tubos de ensaye especiales, uno de estos tubos también sirve para la solución patrón.
- b) Agregar 0.02 ml de sangre homogenizada con pipeta de Sahli a uno de los tubos problema, mezclar bien para oxidar la muestra.
- c) Una vez lograda la mezcla de sangre y reactivo se deja reposar aproximadamente 10 minutos para que se produzca al máximo la conversión de hemoglobina en cianmetahemoglobina.
- d) El tubo de ensaye se frota para su limpieza y se coloca en el espectrofotómetro donde se ha de proceder a la lectura.
- e) El porcentaje de transmisión de los 540 nanómetros se registra y se compara con el porcentaje de transmisión con una solución patrón de cianmetahemoglobina o por lecturas, con una curva tipo previamente preparada. De esta manera será posible convertir la transmisión en gramos de hemoglobina por 100 ml de sangre.
- f) Leer la absorbancia (densidad óptica) de la muestra problema, en el espectrofotómetro contra, la solución patrón, luego introducir la solución patrón y calibrar con ella hasta que deje pasar el 100 por ciento de luz, sacar la solución patrón e introducir la muestra problema y anotar la densidad óptica. Todo esto a una longitud de onda de 540 nanómetros y leer.

g) Los resultados obtenidos del espectrofotómetro se leyeron en la curva de calibración preparada de acuerdo al proveedor comercial (14) y (2).

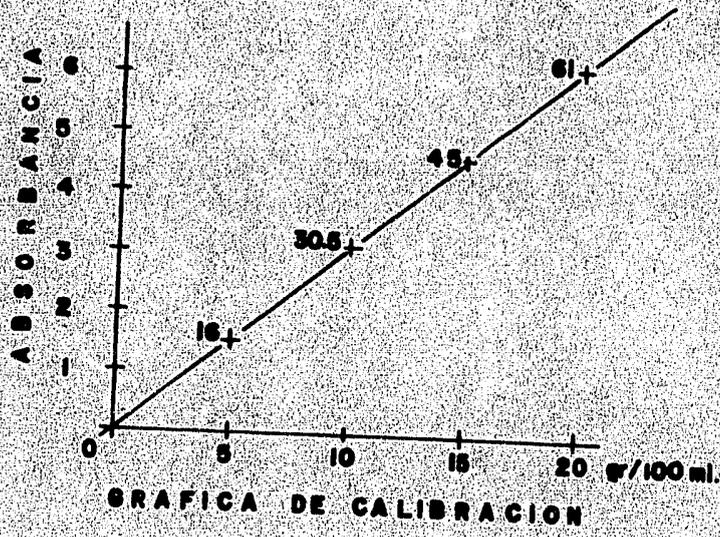
La curva de calibración se preparo diluyendo la solución valorada de cianometahemoglobina (solución patrón) de Hycel con el reactivo de cianometahemoglobina de Hycel y midiendo la absorbancia de cada dilución a 540 nanómetros.

Método para volumen de 5 ml:

- a) Marcar una serie de tubos de ensaye especiales: B (blanco) 5 ml, 10 ml, 15 ml, y 20 ml.
- b) Pipetear los siguientes volúmenes de la solución valorada de cianometahemoglobina y reactivo de cianometahemoglobina dentro de los correspondientes tubos marcados y mezclar bien. (cuadro adjunto).

CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA g/dl	B	5	10	15	20
SOLUCION VALORADA DE CIANOMETAHEMOGLOBINA ML.	0.0	1.5	3.0	4.5	6.0
REACTIVO DE CIANOMETAHEMOGLOBINA ML.	6.0	4.5	3.0	1.5	0.0

- c) Transferir las soluciones a cubetas y medir la absorbancia de cada dilución contra el blanco a 540 nanómetros.
- d) Graficar la absorbancia de cada solución valorada en las ordenadas contra su concentración en las abscisas.
Ver gráfica en la siguiente hoja.



Oxihemoglobina.

Material.

- a) Tubos de ensaye.
- b) Pipetas de 5 ml y de 0.02 ml (pipeta Sahli).
- c) Espectrofotómetro modelo Spectronic 20.
- d) Algodón.
- e) Sangre con anticoagulante E.D.T.A. (2 ml).
- f) Anticoagulante E.D.T.A. (Ac. etilendiamino-tetracético).

Dosis: 2 mg/ml de sangre.

1 gota de solución por ml de sangre.

- g) Solución de hidróxido de amonio (NH_4OH .007 N).

esta es la solución reactiva y al mismo tiempo la solución-patrón.

Desarrollo:

- a) Poner 5 ml de reactivo de oxihemoglobina en un tubo de ensaye.
- b) Agregar 0.02 ml de sangre homogenizada con la pipeta de Sahli.
- c) Mesclar bien para oxidar adecuadamente la muestra. Limpiar bien los tubos de ensaye antes de meterlos al espectrofotómetro.
- d) Leer la absorbancia (densidad óptica) de la muestra problema, en el espectrofotómetro, contra la solución patrón, luego introducir la solución patrón y calibrar con ella hasta que deje pasar el 100 por ciento de luz, sacar la solución-patrón e introducir la muestra problema y anotar la densidad óptica. Todo esto a una longitud de onda de 540 ó 578 nanómetros, y leer de preferencia una vez que este listo el espectrofotómetro.

- e) Los resultados obtenidos del espectrofotómetro se leyeron - en la misma curva de calibración preparada para cianometahemoglobina de acuerdo a las indicaciones del proveedor (14).
- f) Los resultados obtenidos de las lecturas en la curva de calibración se compararon con los obtenidos al multiplicar - los resultados obtenidos del espectrofotómetro por la constante de 26.3 (factor constante) = grs. de hemoglobina/100-ml de sangre (23).

g) Determinación del factor.

$$\text{Grs. de hemoglobina/100 ml} = \frac{16114 (10) \cdot 5.02}{15400 (1) \cdot 0.02} = 26.3$$

peso molecular aproximado de las subunidades beta de la hemoglobina = 16114.

absorbancia molar de la hemoglobina a 578 nanómetros - = 15400.

hidróxido de amonio 0.1 % = 10 volumen de sangre = volumen total 5.02 ml (5) (23) (24).

Hemoglobímetro de Spencer.

Material:

- a) Hemoglobímetro de Spencer.
- b) Sangre con anticuagulante E.D.T.A. (sin hemolizar).
- c) Palillos.
- d) Saponina.
- e) Algodón.

Desarrollo:

- a) Se coloca una gota de sangre en una placa de cristal llamada Cámara de Spencer; esta sangre se agita suavemente con - un aplicador impregnado de saponina desecada en uno de los extremos del aplicador para producir hemolisis.

- b) El espesor de la sangre se regula por medio de otra placa - de cristal, sobre otra que tiene sangre hemolizada y ejerciendo presión una con otra.
- c) Esta cámara de cristal se introduce al hemoglobínómetro se observa por el ocular y se mueve la palanca hacia un extremo, hasta que los dos campos verdes se igualen.
- d) La cantidad de hemoglobina en gramos por 100 ml de sangre - se lee directamente, en la escala graduada.
- e) El hemoglobínómetro de Spencer tiene la ligera ventaja de - comparar colores verdes y no pardos. La máxima sensibilidad visual a la luz corresponde a los colores verdes del espectro; así mismo la absorción máxima de hemoglobina, para los rayos visibles, se produce en banda verde del espectro (8)-(19).

Los valores de hemoglobina determinados en cada uno de las 12 muestras sanguíneas de los animales en estudio, para cada uno de los métodos se presentan en los cuadros No. 1, 2, 3, 4.

Vaca No.	MUESTRAS												X	S	% C.V.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	10.00	9.5	11.8	9.2	12.2	11.8	11.6	12.2	11.00	9.5	9.2	10.5	10.62	1.34	12.58
2	9.2	12.8	10.5	10.2	12.5	9.0	12.8	10.5	12.8	11.2	8.0	11.0	10.87	1.83	14.98
3	12.5	11.8	10.8	11.0	11.6	10.0	9.0	10.0	10.0	10.0	9.4	10.0	10.48	1.04	9.90
4	10.00	11.2	10.0	11.2	12.60	11.0	10.0	10.8	10.5	10.5	10.2	9.5	10.60	0.62	7.71
5	10.5	11.9	12.2	11.6	12.5	10.5	9.5	10.5	10.0	10.5	9.2	11.0	10.83	1.04	9.64
6	10.5	11.6	11.2	10.5	11.8	11.2	11.0	9.5	9.5	10.2	10.0	11.6	10.72	0.80	7.50
7	9.0	12.8	10.2	11.6	11.8	9.2	8.5	10.2	9.2	8.2	9.2	10.00	10.02	1.44	14.41
8	9.2	11.6	11.6	10.5	10.5	10.5	11.2	10.5	10.2	11.0	10.0	11.0	10.58	0.93	8.75
9	10.2	11.8	10.2	11.6	11.0	9.5	9.2	11.6	10.5	9.5	10.2	11.6	10.83	1.48	14.35
10	11.2	10.5	12.8	9.2	12.8	10.5	10.0	9.0	9.0	10.0	9.2	10.0	10.8	1.88	18.00
11	11.0	12.2	10.2	11.6	11.2	12.2	11.2	12.5	10.2	10.8	11.0	12.5	11.36	0.84	7.41
12	8.0	11.8	12.2	10.0	12.8	9.5	10.2	9.0	10.00	8.0	9.4	10.0	10.11	1.33	13.14

CUADRO.- DETERMINACION DE LOS VALORES DE CIANOMETAHEMOGLOBINA EN LAS MUESTRAS EFECTUADAS CON INTERVALOS DE 15 DIAS (G% DE HEMOGLOBINA - POR 100 ML.) X = PROMEDIO DE LAS MUESTRAS POR VACA; S = ES LA DESVIACION ESTANDAR Y % C.V. ES EL COEFICIENTE DE DESVIACION EXPRESADO EN PORCENTAJE.

VACA No.	MUESTRAS												Σ	S	%C.V.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	10.8	9.5	11.4	9.1	12.2	11.8	12.2	10.2	11.2	9.7	11.2	10.00	10.69	1.23	11.50
2	11.8	11.8	10.00	9.4	10.8	11.4	12.4	10.2	10.4	7.4	9.7	10.8	10.43	1.42	13.66
3	11.4	11.4	12.4	10.2	9.7	10.8	7.4	9.7	10.0	9.4	9.2	11.2	10.23	1.32	12.87
4	10.2	10.8	10.4	10.2	10.4	10.4	10.00	9.7	10.2	9.7	11.2	9.7	10.18	0.92	9.11
5	11.2	11.8	11.2	10.8	10.0	11.2	9.4	9.4	10.0	9.4	9.8	11.8	10.25	1.41	13.80
6	10.8	11.2	10.4	10.2	10.8	11.4	10.8	10.4	9.4	9.4	10.0	11.8	10.47	0.92	8.75
7	10.0	10.2	9.7	9.7	9.2	9.8	9.2	9.4	9.8	9.8	10.0	12.2	9.57	0.94	9.70
8	12.2	11.4	9.7	9.7	9.4	11.2	10.8	10.0	10.4	9.7	11.2	11.8	10.54	1.06	10.08
9	11.8	11.4	10.0	10.2	10.0	9.4	9.2	9.7	10.0	9.8	12.2	10.0	10.14	1.15	11.54
10	11.2	10.0	10.4	10.0	10.0	9.2	10.4	9.7	9.2	9.7	9.4	9.4	9.8	0.71	7.31
11	12.2	11.8	10.2	10.0	10.0	12.2	10.4	11.8	10.2	9.7	12.2	10.8	10.89	1.14	10.81
12	11.2	11.2	10.2	9.7	9.4	9.4	10.00	9.2	9.4	9.7	10.2	10.0	9.88	0.76	7.68

CUADRO No. 2 DETERMINACION DE LOS VALORES OXIHEMOGLOBINA GRÁFICA EN LAS MUESTRAS EFECTUADAS CON INTERVALOS DE 15 DIAS (% DE HEMOGLOBINA POR 100 ML.)
 Σ PROMEDIO DE LAS MUESTRAS POR VACA, S ES LA DESVIACION ESTANDAR
 Y % C.V. ES EL COEFICIENTE DE DESVIACION EXPRESADO EN PORCENTAJE.

VACA No.	MUESTRAS												X	S	%CV
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	6.8	6.4	6.2	6.6	6.7	6.4	6.7	6.4	6.9	7.6	6.9	6.1	6.72	0.93	10.61
2	6.4	6.4	6.1	7.6	6.6	6.2	6.9	6.4	6.5	6.0	7.1	6.6	6.4	1.10	13.02
3	6.2	6.2	6.9	6.4	7.6	6.6	6.0	7.6	6.1	7.6	7.5	6.9	6.23	1.04	12.63
4	6.4	6.6	6.5	6.4	6.5	6.5	6.5	7.1	6.4	7.6	6.9	7.6	6.26	0.48	6.94
5	6.6	6.4	6.9	6.6	6.1	6.9	7.6	7.6	6.1	7.6	6.52	6.4	6.22	1.07	13.11
6	6.6	6.9	6.5	6.4	6.6	6.2	6.6	6.5	7.6	6.6	6.7	6.4	6.43	0.70	8.23
7	6.1	6.4	7.6	7.6	7.3	7.1	7.3	7.6	7.1	7.1	6.1	6.7	7.76	0.74	9.61
8	6.7	6.2	7.6	7.6	7.6	6.9	6.6	6.1	6.5	6.5	6.9	6.4	6.36	0.67	7.61
9	6.4	6.2	6.1	6.4	6.1	6.9	7.3	7.6	6.1	7.1	6.7	6.1	6.16	0.90	11.00
10	6.9	6.1	6.9	6.1	6.1	7.3	6.9	7.6	7.3	7.6	6.5	6.1	7.64	0.60	7.40
11	6.7	6.4	6.4	6.1	6.1	6.7	6.5	6.4	6.4	7.1	6.7	6.5	6.76	0.62	9.36
12	6.9	6.9	6.4	7.6	7.6	7.6	6.1	7.3	7.6	7.1	6.4	6.1	7.96	0.60	7.35

CUADRO No. 3 DETERMINACION DE LOS VALORES DE OXIHEMOGLOBINA FACTOR EN LAS MUESTRAS SELECCIONADAS CON INTERVALOS DE 15 DIAS (G. DE HEMOGLOBINA POR 100 ML.)
 X = PROMEDIO DE LAS MUESTRAS POR VACA, S = LA DESVIACION ESTANDAR
 Y %CV ES EL COEFICIENTE DE DESVIACION EXPRESADA EN PORCENTAJE.

VACA No.	MUESTRAS												X	S	%C.V.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	11.00	10.00	12.5	8.5	12.2	12.9	11.00	10.00	11.6	9.00	10.5	10.0	0.78	1.86	12.68
2	11.90	12.50	10.00	10.00	11.80	11.60	8.90	10.90	12.00	10.90	7.90	10.5	10.6	1.63	15.58
3	11.90	11.00	8.00	12.90	10.10	10.10	8.90	10.90	10.6	10.00	10.0	10.6	10.48	1.07	10.24
4	8.5	11.50	11.90	10.90	11.90	10.90	10.90	8.70	12.00	10.20	10.90	9.00	10.68	0.91	6.63
5	11.00	8.50	12.90	12.00	11.00	11.90	10.00	8.5	10.90	10.00	10.00	10.00	10.90	0.94	8.71
6	11.90	11.00	8.00	8.00	11.00	11.00	11.00	10.0	10.00	10.90	8.90	10.90	10.90	0.67	6.39
7	9.00	12.00	10.20	8.20	10.90	8.90	8.70	10.00	9.00	8.20	10.00	8.90	8.68	1.01	10.48
8	11.90	12.90	8.90	11.00	8.90	12.00	11.00	10.00	10.70	10.90	10.90	12.00	11.00	0.96	8.64
9	10.70	12.00	10.90	10.20	10.90	8.20	10.00	8.90	10.90	10.90	10.90	9.00	10.90	0.82	7.92
10	11.90	10.90	11.90	10.90	10.10	8.90	11.00	9.00	8.90	9.90	8.90	9.90	10.17	1.01	8.66
11	12.00	8.00	11.00	10.00	10.8	8.70	10.70	12.8	10.90	11.00	11.90	12.70	11.63	1.07	9.29
12	12.00	7.90	11.30	10.30	10.00	13.90	10.90	9.90	10.00	9.00	10.00	9.00	10.90	1.69	16.17

CUADRO No. 4 DETERMINACION DE LOS VALORES DEL HEMOGLOBINOMETRO DE SPENCER EN LAS MUESTRAS EFECTUADAS CON INTERVALOS DE 15 DIAS (G) DE HEMOGLOBINA POR (CC ML) EL PROMEDIO DE LAS MUESTRAS POR VACA; S ES LA DESVIACION ESTANDAR Y %C.V. ES EL COEFICIENTE DE DESVIACION EXPRESADA EN PORCENTAJE.

RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo al objetivo general la comparación entre la concentración de hemoglobina en gramos por 100 ml mediante la determinación de los métodos de cianometahemoglobina, oxihemoglobina (gráfica y factor), y hemoglobínómetro de Spencer, se realizó a través de la prueba de (t) para comparar promedios; encontrándose que no hubo diferencias significativas entre los métodos a excepción de la comparación con la lectura de oxihemoglobina ajustada al factor de 26.3, los valores de (t) calculados en la comparación de promedios se expresan en el cuadro número 5. De lo anterior se desprende que la evaluación mediante el factor de 26.3 no es adecuado.

Los resultados de la prueba de (F) obtenida del análisis de varianza y que se expresan en el cuadro número 6, teniendo como fuente de variación entre animales y entre mediciones da un resultado significativo para el método de hemoglobínómetro de Spencer, lo cual indica que este método tiene más variación, debido quizá a efectos visuales en la lectura del color verde patrón dado que atribuir la variación a diferencias entre animales tendría que dar la misma diferencia significativa en los otros métodos.

El grado de correlación entre los métodos estudiados en general es alto, como puede observarse en el triángulo superior del cuadro número 7, en el triángulo inferior de dicho cuadro se presenta el coeficiente de determinación el cual nos indica la asociación entre los métodos, encontrándose que la oxihemoglobina a través del factor de 26.3 tiene la menor asociación con el método de cianometahemoglobina (0.67).

Debido a que para determinar la concentración de hemoglobina en trabajos de campo, el método más comúnmente usado es el hemoglobímetro de Spencer, por la facilidad y rapidez en la lectura, se ha desarrollado, dado que el caso lo amerita, un factor de ajuste, para convertir la lectura de hemoglobímetro de Spencer a oxihemoglobina esto se realizó mediante la técnica de regresión lineal no sólo para ajustar este método sino para poder ajustar cualesquiera de ellos. Los valores obtenidos para el punto de intersección así como el coeficiente de regresión considerando como variable fija cada uno de los métodos se presenta en el cuadro número 8.

	HEMOGLOBINOMETRO DE SPENCER	OXIHEMOGLOBINA GRAFICA	OXIHEMOGLOBINA FACTOR
CIANOMETAHEMOGLOBINA	0.20	1.54	15.29 %
HEMOGLOBINOMETRO DE SPENCER		1.62	15.93 %
OXIHEMOGLOBINA GRAFICA			12.34 %

1
3
7

(T) Tabuada 0.05 = 1.92
0.01 = 2.01

QUADRO No 8 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE (T) PARA LA COMPARACION DE PROMEDIOS ENTRE LOS METODOS DE DETERMINACION DE HEMOGLOBINA.

METODO	(F) CALCULADA
CIANOMETAHEMOGLOBINA	1.1276 NS
HEMOGLOBINOMETRO SPENCER	2.074 *
OXIHEMOGLOBINA GRAFICA	1.8290 NS
OXIHEMOGLOBINA FACTOR	1.6109 NS

QUADRO No. 6 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE (F) CALCULADA A TRAVES DEL ANALISIS DE VARIANZA TENIENDO COMO FUENTE DE VARIACION ENTRE ANIMALES Y ENTRE MEDICIONES. (F TABULADA: 1.96 Y 2.57; P=0.05 Y 0.01 RESPECTIVAMENTE).

METODO	CIANOMETA Hb	Hb SPENCER	OXI Hb GRAFICA	OXI Hb FACTOR
CIANOMETA Hb	1.00	0.90	0.87	0.82
Hb SPENCER	0.81	1.00	0.82	0.80
OXI Hb GRAFICA	0.76	0.85	1.00	0.98
OXI Hb FACTOR	0.87	0.81	0.98	1.00

CUADRO No. 7. CORRELACION ENTRE LOS VALORES DE HEMOGLOBINA SEGUN DIFERENTES METODOS. TRIANGULO SUPERIOR, COEFICIENTE DE DETERMINACION; TRIANGULO INFERIOR, Hb SIGNIFICA HEMOGLOBINA

VARIABLE ALEATORIA				
CIANOMETA Hb	DIRECTO	$2.9279 + 0.02259(X)$	$1.5209 + 0.00005(X)$	$2.15222 + 10.120(X)$
Hb SPENCER	$2.02279 + 0.02259(X)$	DIRECTO	$-1.5007 + 11.018(X)$	$-0.0270 + 1.3250(X)$
OXI Hb GRAFICA	$1.5220 + 0.04509(X)$	$2.7002 + 0.7075(X)$	DIRECTO	$0.45000 + 11.025(X)$
OXI Hb FACTOR	$1.2005 + 0.0040(X)$	$2.1522 + 0.00005(X)$	$-0.1520 + 0.02259(X)$	DIRECTO
VARIABLE FIJA (X)	CIANOMETA Hb	Hb SPENCER	OXI Hb GRAFICA	OXI Hb FACTOR

8

CUADRO N° 5 FACTORES DE AJUSTE OBTENIDOS A TRAVES DE REGRESION LINEAL CONSIDERANDOS COMO VARIABLE FIJA (X) EL METODO QUE EN LA COLUMNA RESPECTIVA SE SEÑALA [92K + 5(2)].
 Hb SIGNIFICA HEMOGLOBINA.

CONCLUSIONES

Se concluye que no existen diferencias significativas entre los métodos de cianometahemoglobina, hemoglobínmetro de Spencer y oxihemoglobina gráfica.

La correlación entre los métodos evaluados es alta y positiva el factor de ajuste que se propone para convertir la lectura de hemoglobínmetro de Spencer a cianometahemoglobina es:

$$FA = 2.9237 + 0.92998 (Xi).$$

Donde (Xi) es la lectura de hemoglobina en la muestra sanguínea, (i) determinada con el hemoglobínmetro de Spencer.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Baez Villaseñor José, 1973, 4a. Edición, Hematología Clínica, Ed. Francisco Méndez Otero, México.
- 2.- Baker F.J. and Silverton R.E., 1976, Introduction to Medical Laboratory Technology. Ed. Butterworths. U.S.S.
- 3.- Bard Philip, 1966, Fisiología Médica. Ed. La Prensa Médica Mexicana, México.
- 4.- Bernard y J.P. Levy, 1979, Manual de Hematología. Ed. Torray-Masson, España.
- 5.- Bhagavan N.V., 1978, Bioquímica. Ed. Nueva Editorial Interamericana, S.A., México.
- 6.- Carmona Medero Miguel Angel, 1980, Adaptación Genético Ambiental al Trópico Húmedo en Bos Taurus, Bos Indicus y sus Cruzas. Ed. CP Colegio de Posgraduados Chapingo, México.
- 7.- Ciscar R.F. y Farreras V.P., 1972, Diagnóstico Hematológico Laboratorio y Clínica. Ed. Jims Barcelona España.
- 8.- Coffin D.L., 1956, Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria. Ed. La Prensa Médica Mexicana, México.
- 9.- Ganon F.William, 1984, 9a. Edición, Manual de Fisiología Médica, Ed. El Manual Moderno, México.
- 10.- Guyton C.Arthur, 1984, 5a. Edición, Fisiología Humana. Ed. Interamericana, México.
- 11.- Ham W.Artur, 1977, 7a. Edición, Tratado de Histología. Ed. Interamericana, México.
- 12.- Harper A.Harol, 1984, 9a. Edición, Manual de Química Fisiológica. Ed. El Manual Moderno, México.
- 13.- Hillman S.Robert y Finch A.Clement, 1977, Manual de Hematología. Ed. El Manual Moderno, México.
- 14.- Hycel de México, S.A. de C.V., 1984, Durango No. 104 P.B., - México 7, D.F.

- 15.- Israel Davidsohn M.D., F.A.C.P. And Henry John M.D., 1974, -
Clinical Diagnosis By Laboratory Methods, Ed. W.B. Saunders
Company, U.S.A.
- 16.- Junqueira Carneiro, 1974, Histología Básica, Ed. Salvat ---
México.
- 17.- Kelly R.W., 1981, 4a. Impresión, Diagnóstico Veterinario. 4
Ed. Compañía Editorial Continental, S.A. México.
- 18.- Lynch J. Matthew, 1984 2a. Edición, Métodos de Laboratorio.-
Ed. Interamericana, México.
- 19.- Maxine M. Benjamin, 1962, Compendio de Patología Clínica -
Veterinaria. Ed. Compañía Editorial Continental, S.A. -
México.
- 20.- Norman Maclean, 1979, Cuadernos de Biología, Hemoglobinas.-
Ed. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, España.
- 21.- Pontigo Alvarado, 1967, Relación entre Fases de Hemoglobina-
y-Fertilidad de Bovinos Hembras de Leche en la Zona de Tex-
coco. Tesis Profesional Facultad de Medicina Veterinaria y
Zootecnia U.N.A.M. México.
- 22.- Richard B.Y., J. Henry, 1974, Clinical Chemistry Principles
and Technics, Ed. Copyright by Harper Row, New York, U.S.A.
- 23.- Richterich R., 1969, Clinical Chemistry, Ed. S. Karger, -
Basel (Switzerland), New York, Academic Press, New York. -
U.S.A.
- 24.- Shalm O. W., 1976, Veterinary Hematology, Ed. Lea Febiger,-
Philadelphia, U.S.A.
- 25.- Snedecor y Cochran, 1982, 9a. Impresión, Métodos Estadísti-
cos. Ed. Trillas México.
- 26.- Spinetti-Berti, 1957, Manual de Bioquímica, Ed. Científica-
Médica. Barcelona, España.