



Universidad
Norbert Wiener

Powered by **Arizona State University**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA
MÉDICA EN LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA
PATOLÓGICA

Trabajo Académico

Desempeño diagnóstico de los índices talasémicos y hematimétricos en la
identificación de sospecha clínica de β talasemia menor en pacientes atendidos
en el Hospital II EsSalud Tarapoto, 2024

Para optar el Título de
Especialista en Hematología

Presentado por:

Autor: Castillo Rojas, Marco Antonio


Código ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-0386-0265>

Asesor: Dr. Rosales Rimache, Jaime Alonso

Código ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1665-2332>

Lima – Perú

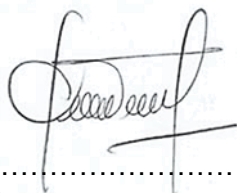
2024

 Universidad Norbert Wiener	DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	
	CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033	VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01

Yo, Marco Antonio Castillo Rojas egresado de la Facultad de Ciencias de la Salud y de Escuela Académica Profesional de Tecnología Médica/ Escuela de Posgrado de la universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo académico “Desempeño diagnóstico de los Índices Talasémicos y Hematimétricos en la identificación de sospecha clínica de β Talasemia menor en pacientes atendidos en el Hospital II Essalud Tarapoto, 2024” asesorado por el docente: Jaime Alonso Rosales Rimache DNI 411117044, ORCID <https://orcid.org/0000-0002-1665-2332> tiene un índice de similitud de 14 (CATORCE) %, con código: oid:14912:407581446, verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.





.....
 Firma de autor 1
 Marco Antonio Castillo Rojas
 DNI: 10724716

.....
 Firma de autor 2
 Nombres y apellidos del Egresado
 DNI:




.....
 Firma
 Jaime Alonso Rosales Rimache
 DNI: 41111704

Lima, 06 de setiembre de 2024

 Universidad Norbert Wiener	DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN		
	CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033	VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01	FECHA: 08/11/2022

Es obligatorio utilizar adecuadamente los filtros y exclusión del turnitin: excluir las citas, la bibliografía y las fuentes que tengan menos de 1% de palabras. EN caso se utilice cualquier otro ajuste o filtros, debe ser debidamente justificado en el siguiente recuadro.

En el reporte turnitin se ha excluido manualmente como se observa en la parte final del mismo lo que compone a la estructura del modelo de tesis de la universidad, como instrucciones o material de plantilla, redacción común o material citado, que no compromete la originalidad de la tesis.

INDICE

<i>1.1 Planteamiento del problema</i>	4
1.1.1 Problema general.....	5
1.1.2 Problemas específicos	5
<i>1.2 Objetivos de la investigación</i>	6
1.2.1 Objetivo general	6
1.2.2 Objetivos específicos.....	6
<i>1.3 Justificación de la investigación</i>	6
<i>1.4 Justificación de la investigación</i>	7
1.4.1 Justificación teórica.....	7
1.4.2 Justificación metodológica.....	7
1.4.3 Justificación social	7
1.4.4 Importancia de la investigación.....	7
1.4.5 Viabilidad de la investigación.....	7
1.4.6 Limitaciones del estudio.....	8
<i>1.5 Delimitaciones de la investigación</i>	8
1.5.1 Temporal	8
1.5.2 Espacial	8
1.5.3 Recursos	8
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	9
<i>2.1 Antecedentes</i>	9
2.1.1 Internacionales	9
2.1.2 Nacionales	11
<i>2.2 Bases teóricas</i>	12
2.2.1 β Talasemia	12

2.2.2	Hipótesis general	22
2.2.3	Hipótesis específicas	22
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA		23
3.1	<i>Método de la investigación</i>	23
3.2	<i>Tipo de investigación:</i>	23
	Investigación básica, considerando que buscamos mejorar la comprensión de algoritmos orientados a la identificación de una enfermedad.	23
3.3	<i>Diseño de la investigación:</i>	23
3.4	<i>Población, muestra y muestreo</i>	23
3.4.1	Población	23
3.4.2	Muestra.....	23
3.4.3	Muestreo.....	25
3.5	<i>Variables y operacionalización</i>	25
3.5.1	Operacionalización de variables.....	26
3.6	<i>Técnicas e instrumentos de recolección de datos</i>	27
3.6.1	Técnicas.....	27
3.6.2	Descripción de instrumentos	27
3.6.3	Validez y confiabilidad	29
3.7	<i>Plan de procesamiento y análisis de datos</i>	29
3.8	<i>Aspectos éticos</i>	30
REFERENCIAS		33
ANEXOS		37

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

A nivel mundial, según datos epidemiológicos del Consejo Ejecutivo de la Organización Mundial de la Salud, al menos el 5,2% de la población mundial son portadores de algún tipo de talasemia y de ellos el 1,1% son padres que tienen el riesgo de concebir hijos con trastornos de la hemoglobina (1). La β Talasemia está considerada como una enfermedad de amplio espectro de presentación clínica que va desde asintomático hasta las formas más severas según el fenotipo ($\beta 0$ y $\beta +$) adquirido, además es considerado una enfermedad regional que afecta principalmente a la zona del Mediterráneo, norte de África, Medio oriente y Sud este asiático (2). En un estudio epidemiológico genético demostraron que los flujos migracionales también contribuyen a la expansión geográfica de la enfermedad como son los casos aislados en el norte de América y en los demás países de Europa. Se estima que los nacimientos con β talasemia menor es de 22 989 a 26 000 casos por año a nivel mundial (3). Para el diagnóstico prenatal en países del primer mundo, se emplean metodologías en base al estudio del ADN y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), como la detección y secuenciamiento del ADN fetal circulante en suero materno (4-6). En América, el ranking de frecuencia de portadores de algún alelo de β Talasemia y de células falciformes lo lideran los habitantes de origen africano asentados en los diferentes países de la región seguido de los hispanos (7, 8).

Los países que más publican en América latina sobre la enfermedad son México, Colombia, Brasil y Argentina, por tener una importante población descendiente de la zona del Mediterráneo y norte de África (9-12). La mayoría de dichos estudios están basados principalmente en el uso de parámetros hematológicos de rutina como el volumen corpuscular medio (VCM) y la hemoglobina corpuscular media (HCM), cuyo área bajo la curva alcanza 89.8% y 90.0%, respectivamente (13). Además de los índices talasémicos como Mentzer (14, 15), relación M/H, Green and King (16), England and Fraser (17), entre otros (18). La electroforesis de hemoglobina y los estudios moleculares también son utilizados en dichos estudios (19), pero no son de tan fácil acceso a la población en general. En el Perú, son pocos los estudios indexados y de fácil disponibilidad en los buscadores bibliográficos virtuales de referencia, destacándose en nuestro medio los de

Ramirez et al (2004), pero ninguno realizado desde el punto de vista del screening laboratorial que utiliza parámetros hematológicos rutinarios o índices talasémicos antes mencionados por ser más rápida su aplicabilidad, estar los procesos automatizados y estandarizados, no generar gastos adicionales al establecimiento de salud y poder así optimizar los recursos limitando las electroforesis innecesarias (20).

A pesar de la significativa ausencia de estudios sobre el tema en nuestro medio en los últimos años se ha mejorado los exámenes confirmatorios ante la sospecha clínica de β Talasemia menor y reducido significativamente su mortalidad gracias al tratamiento basado en transfusiones con terapia quelante para evitar la sobrecarga de hierro, y al trasplante de médula ósea, que no se realiza en el país pero lleva inherente el riesgo del rechazo contra huésped, infecciones nosocomiales y la dificultad de contar con donantes histocompatibles, tratamientos propios en los casos más severos de la enfermedad (21).

Además, existe una brecha de acceso a los exámenes confirmatorios en las localidades del interior del país, agudizándose más el problema donde no cuentan con establecimientos de salud de mayor complejidad como es el caso de la selva nororiental del Perú (22). Por ello es imperativo la existencia de pruebas de screening o cribado de fácil disponibilidad para un diagnóstico adecuado de la anemia microcítica más una consejería genética en caso de confirmar la β talasemia para así evitar tratamientos inadecuados y complicaciones a la descendencia de los portadores.

1.1.1 Problema general

¿Cuál es el desempeño diagnóstico de los índices talasémicos en la identificación de sospecha clínica de β Talasemia menor en pacientes atendidos en el Hospital II Essalud de la ciudad de Tarapoto, San Martín 2024?

1.1.2 Problemas específicos

1. ¿Cuál es el mejor punto de corte de los índices talasémicos para discriminar la sospecha clínica de β Talasemia menor en pacientes atendidos en el Hospital II Essalud de la ciudad de Tarapoto, San Martín 2024?
2. ¿Cuál es la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razones de verosimilitud de los índices talasémicos en la identificación de la sospecha clínica

de β Talasemia menor en pacientes atendidos en el Hospital II Essalud de la ciudad de Tarapoto, San Martín 2024?

1.2 Objetivos de la investigación

1.2.1 Objetivo general

Estimar el desempeño diagnóstico de los índices talasémicos y hematimétricos en la identificación de sospecha clínica de β Talasemia menor en pacientes atendidos en el Hospital II Essalud de la ciudad de Tarapoto, San Martín 2024

1.2.2 Objetivos específicos

1. Identificar el mejor punto de corte de los índices talasémicos y hematimétricos para discriminar la sospecha clínica de β Talasemia menor en pacientes atendidos en el Hospital II Essalud de la ciudad de Tarapoto, San Martín 2024
2. Determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y razones de verosimilitud de los índices talasémicos y hematimétricos en la identificación de la sospecha clínica de β Talasemia menor en pacientes atendidos en el Hospital II Essalud de la ciudad de Tarapoto, San Martín 2024

1.3 Justificación de la investigación

En la ciudad de Tarapoto por ser puerta de entrada a la región San Martín residen y confluyen desde muchos años atrás un número significativo de ciudadanos con raíces extranjeras de la zona del Mediterráneo, en especial españoles, franceses e italianos, que según cifras del INEI éste grupo étnico a nivel nacional representa el 1.5% del total de inmigrantes o en cifras absolutas es un poco más de 20 mil habitantes en todo el Perú (23) y que gracias a su descendencia propia o en interacción con los pobladores locales pueden mantener latente genes de hemoglobinopatías o en su defecto expresarlo como una anemia microcítica y/o hipocrómica que fácilmente puede ser sub diagnosticada o en el peor de los casos recibir tratamiento con hierro ferroso. Por todo ello la prevención con el diagnóstico precoz y consejera genética es crítica en la prevención y control de estadíos severos de la enfermedad y la futura descendencia.

1.4 Justificación de la investigación

Se desconoce cuáles son los parámetros del hemograma e índices talasémicos que pueden tener un desempeño diagnóstico adecuado en la identificación de la sospecha clínica de β Talasemia menor en la ciudad de Tarapoto, San Martín 2024.

1.4.1 Justificación teórica

El presente trabajo de investigación se justifica principalmente en identificar a los portadores de β Talasemia menor en habitantes de la ciudad de Tarapoto, San Martín 2024, ante la sospecha clínica y laboratorial de la enfermedad y así evitar mayores comorbilidades en su descendencia.

1.4.2 Justificación metodológica

Por ser un estudio retrospectivo transversal se usará la base de datos de los pacientes que acuden al Hospital II Essalud Tarapoto y presenten anemia microcítica y sospecha clínica de β Talasemia menor.

1.4.3 Justificación social

Las pruebas confirmatorias de β talasemia menor, como la electroforesis, son muy onerosas para los habitantes de la ciudad de Tarapoto en general, por ende, con la presente investigación se desea determinar parámetros hematológicos que sirvan como cribado o screening ante la sospecha clínica de la enfermedad.

1.4.4 Importancia de la investigación

Los parámetros hematológicos rutinarios pueden ser una herramienta de criterios de decisión para el diagnóstico de β Talasemia menor en habitantes de la ciudad de Tarapoto, San Martín 2024, ante la sospecha clínica de la enfermedad y utilizarlos como parámetros de cribado o screening, evitando así electroforesis innecesarias.

1.4.5 Viabilidad de la investigación

La presencia de un número significativo de habitantes de origen de la zona del Mar Mediterráneo y su descendencia en la ciudad de Tarapoto San Martín 2024, hace que los casos de anemia microcítica por β Talasemia menor no sean inexistentes, además por tener la facilidad de la base de datos de los parámetros hematológicos de dichos pacientes hace que la presente investigación posea una buena viabilidad.

1.4.6 Limitaciones del estudio

Existen procedimientos administrativos propios del Hospital donde se va realizar dicha investigación, que limitan especialmente la obtención de la base de datos de los parámetros hematológicos de los pacientes, además los costos de las pruebas confirmatorias serán asumidos por el investigador.

1.5 Delimitaciones de la investigación

1.5.1 Temporal

De mes de febrero a mayo del 2024.

1.5.2 Espacial

Laboratorio de Hematología Central del Hospital II Essalud Tarapoto de la Región San Martín.

1.5.3 Recursos

Recursos propios.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Internacionales

Sari et al. (Indonesia, 2022) en una de las zona geográfica de mayor prevalencia e incidencia como es el sud este asiático, realizaron un estudio prospectivo, transversal, observacional y analítico donde seleccionaron 203 pobladores con rasgos de β talasemia que eran familiares de pacientes ya diagnosticados con dicha enfermedad, los cuales consistían en 101 con β^0 talasemia, 82 con β^+ talasemia y en 20 no habían sido encontrada alguna mutación, excluyendo además los caos de hemoglobina normal con o sin niveles bajos de hierro sérico, se evaluaron los desempeños de los respectivos parámetros hematológicos de rutina como un cribado para el diagnóstico de β talasemia. La evaluación estadística del punto de corte de cada variable hematológica fue obtenida por la curva ROC, el desempeño diagnóstico por laboratorio se calculó con la sensibilidad, especificidad, valor predictivo, razón de verosimilitud. El valor de corte para el rasgo talasémico tipo β^0 con la hemoglobina corpuscular media (HCM) fue menor o igual a 20,5 pg (sensibilidad 85% y especificidad 90%) y con el volumen corpuscular medio (VCM) fue menor o igual a 66,8 fl (sensibilidad 87% y especificidad 87%) por consiguiente concluyeron que el parámetro hematológico de rutina HCM puede utilizarse como un instrumento de identificación rápida para predecir la talasemia β^0 en los familiares de pacientes con diagnóstico de talasemia en la población de Indonesia (13).

Tabassum et al. (Pakistan, 2022) realizaron un estudio que evaluó el índice de Mentzer para diferenciar la anemia ferropénica (IDA) y el rasgo de betatalasemia (β TT) en mujeres embarazadas. Diseñaron un estudio transversal sobre mujeres prenatales con hemoglobina <11 g/dl. Se verificaron sus hemogramas completos y se calculó el índice de Mentzer. El índice de Mentzer <13 indica diagnóstico de β TT y >13 indica IDA. Los diagnósticos fueron confirmados mediante estudios de hierro sérico y electroforesis de Hb. Del total de 100 pacientes con anemia hipocrómica microcítica, 87 tenían un índice de Mentzer >13 y la AIF se confirmó en 86 de 87 casos. Trece casos tuvieron índice de Mentzer <13 y en ocho de ellos se confirmó β TT. Por tanto, el índice de Mentzer tiene una sensibilidad y especificidad del 91% y 83% para IDA y del 83% y 91% para β TT.

Concluyeron que el índice de Mentzer se puede utilizar como prueba discriminatoria para diferenciar entre anemia por deficiencia de hierro y rasgo de betatalasemia (14).

Matos J et al. (Brasil, 2016) hicieron un estudio que buscó validar un índice discriminativo para diferenciar la anemia por deficiencia de hierro del rasgo de talasemia. Realizaron un estudio transversal en pacientes con rasgos de talasemia y déficit de hierro, y con medición de ferritina sérica baja para la anemia por deficiencia de hierro, HbA₂>3,5% para el rasgo de β -talasemia y uso de biología molecular para el rasgo de α -talasemia. Los resultados muestran que la sensibilidad, especificidad, eficiencia, índice de Youden, AUC y coeficiente Kappa de la nueva fórmula, denominada Índice de Matos y Carvalho, fueron de 99,3%, 76,7%, 95,7%, 76,0, 0,95 y 0,83, respectivamente. Concluyeron que el índice fue muy buen siempre que se considere la CHCM y el recuento de hematíes (18).

Urrechaga et al. (España, 2015) en un hospital de referencia realizaron un estudio retrospectivo, transversal observacional y analítico de 4 meses de duración donde estudiaron a 371 pacientes mayores de 18 años procedentes de consultorios externos y el laboratorio de rutina que presentaban anemia microcítica (volumen corpuscular medio < 80 fl) e hipocrómica (hemoglobina < 13 g/dl), para determinar el desempeño de la relación proporción de hematíes microcítico con proporción de hematíes hipocrómicos (M/H) en el equipo Celldyn Sapphire , encontrando un punto de corte mayor a 6.4 para β talasemia menor con una área bajo la curva ROC de 0,948 comparable con los índices talasémicos de Green and King y England and Fraser, además el 91.1 % de los pacientes microcíticos se clasificaron correctamente con el rasgo β talasémico utilizando dicha relación M/H. Estadísticamente el valor de p fue obtenido con la prueba t de Student y la prueba de Mann Whitney . También fueron evaluados individualmentevlos parámetros hematológicos rutinarios como la hemoglobina (Hb), volumen corpuscular medio (VCM), recuento de hematíes (RBC) y hemoglobina corpuscular media (HCM) concluyendo que la relación M/H es una herramienta de detección rápida y económica de cribado o screening de la β Talasemia menor (24).

Vehapoglu A. et al (Turquía, 2014) evaluaron la confiabilidad de varios índices para el diagnóstico diferencial de microcitosis y β -talasemia. Evaluaron 290 niños entre 1,1 y 16 años. Los resultados muestran que el índice de Mentzer fue el más confiable, ya

que tuvo la mayor sensibilidad (98,7%), especificidad (82,3%) y el índice de Youden (81%) para detectar β -TT; a esto le siguió el índice de Ehsani (94,8%, 73,5% y 68,3%, respectivamente) y el recuento de glóbulos rojos (94,8%, 70,5% y 65,3%). Concluyeron que el índice de Mentzer proporcionó la mayor confiabilidad para diferenciar β -talasemia de la anemia por déficit de hierro (16).

Nalbantoğlu B et al. (Turquía, 2012) calcularon ocho índices de discriminación [Índice Mentzer (MI), Índice England y Fraser (E&F), Índice Srivastava (S), Índice Green y King (G&K), Índice Shine y Lal (S&L), glóbulos rojos (RBC) recuento, ancho de distribución de glóbulos rojos e índice de ancho de distribución de glóbulos rojos (RDWI)] en 100 pacientes. Ninguno de los índices de discriminación mostró una sensibilidad y especificidad del 100%. La sensibilidad más alta se obtuvo con S&L (87,1%), mientras que la especificidad más alta se obtuvo con la fórmula E&F (100%). El valor de índice de Youden más alto se obtuvo con la fórmula E&F (58,1%). Concluyeron que ninguna de las fórmulas parece fiable para discriminar entre pacientes con beta talasemia y deficiencia por hierro (17).

2.1.2 Nacionales

Ramirez Cuentas et al. (Perú, 2004) en un reporte de un caso probable de hemoglobina S / β talasemia, en el hospital nacional Cayetano Heredia, de una niña de 6 años de edad procedente de Lima sin más historial sugerente de enfermedad congénita salvo la presencia de una tía que padecía de anemia crónica de causa desconocida, y con 6 días evolución presentó una anemia moderada con hematocrito de 23 %, ictericia y esplenomegalia. Los demás exámenes hematológicos dieron un volumen corpuscular medio (VCM) de 72.5 fL, hemoglobina corpuscular media (HCM) de 24.3 pg, recuento de reticulocitos de 17%, prueba de coombs directa negativa, gota gruesa negativa y un frotis de sangre periférica con presencia de hematíes microcíticos e hipocrómicos, anisocitosis y poiquilocitosis moderada, además de células diana y células falciformes que se evidenciaba con el aumento del ancho de distribución hemática (RDW). El examen confirmatorio fue la electroforesis de hemoglobina en acetato de celulosa a pH alcalino que no mostró la banda de hemoglobina A (HbA) pero si evidenció una banda intermedia que corresponde a la hemoglobina S (HbS), lo cual apoyó el diagnóstico de hemoglobina S / β talasemia. Dicho estudio concluye que la prevención, el cribado o screening prenatal

y el consejo genético de heterocigotos de las hemoglobinopatías son alternativas eficaces en las estrategias de manejo de dicha enfermedad. Los portadores pueden identificarse por un examen hematológico que incluya frotis de sangre periférica y parámetros hematológicos de rutina como la hemoglobina y las constantes corpusculares (20).

2.2 Bases teóricas

2.2.1 β Talasemia

a) Definición

Las β talasemias son patologías hematológicas hereditarias que pueden presentar niveles disminuidos o ausentes de globina tipo β , proteína principal y estructural de la hemoglobina, provocando un desequilibrio cuantitativo de cadenas beta y cadenas no beta. El exceso de cadenas que no se incorporan a la hemoglobina forman agregados de proteínas no funcionales que se precipitan dentro de los hematíes, provocando su destrucción prematura que se evidencia con la aparición de anemia, además presentan una heterogeneidad genética con más de 200 mutaciones descritas a diferencia de las α -talasemias (25).

b) Estructura de la hemoglobina (Hb)

La Hb es una proteína tetramérica constituida por dos pares de cadenas polipeptídicas de estructura cuaternaria unidas cada una de ellas a un grupo hemo. En los hematíes de un adulto normal el 97% de la Hb está formada por Hb A1 ($\alpha_2\beta_2$), poco menos de 3% por Hb A2 ($\alpha_2\delta_2$) y menos del 1% por la Hb fetal F ($\alpha_2\gamma_2$) que es precedida por las Hb embrionarias Gower 1 ($\zeta_2\varepsilon_2$), Gower 2 ($\alpha_2\varepsilon_2$) y Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$). Existen otras combinaciones que son el resultado de modificaciones post sintéticas, como la Hb A1c, formada por la reacción de la hemoglobina A1 con la glucosa y Hb F1 forma acetilada de la Hb fetal (26).

c) Genes de la hemoglobina

Existen seis tipos diferentes de cadenas de globina (α , β , γ , δ , ϵ y ζ) que se encuentran en diferentes etapas del desarrollo humano, para ello se requiere de un mínimo de seis genes estructurales diferentes (Fig. 1).

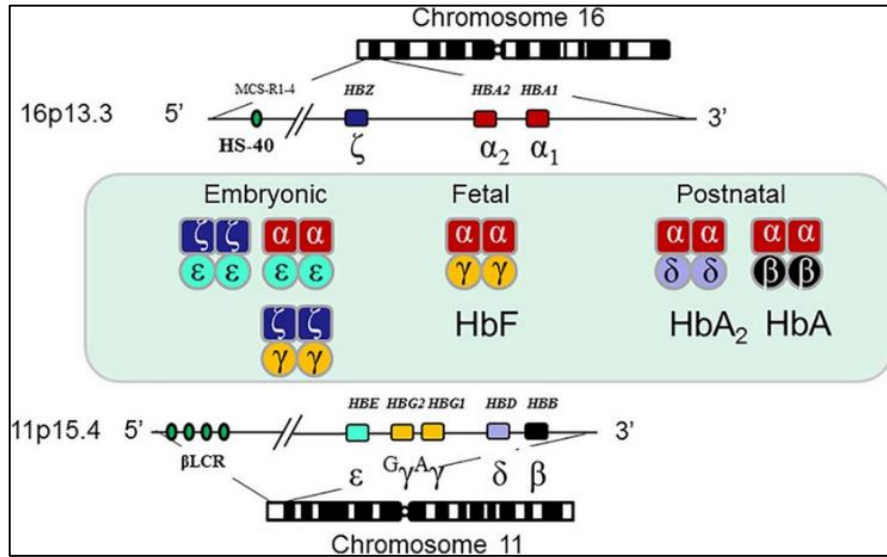


Figura 1. Agrupamiento de genes de la Hb humana (27).

La expresión génica de la globina sufre el cambio de globina embrionaria a fetal, coincidiendo con la transición de la hematopoyesis, y el cambio de globina fetal a adulta durante el periodo prenatal, y con regulación transcripcional (Fig.2).

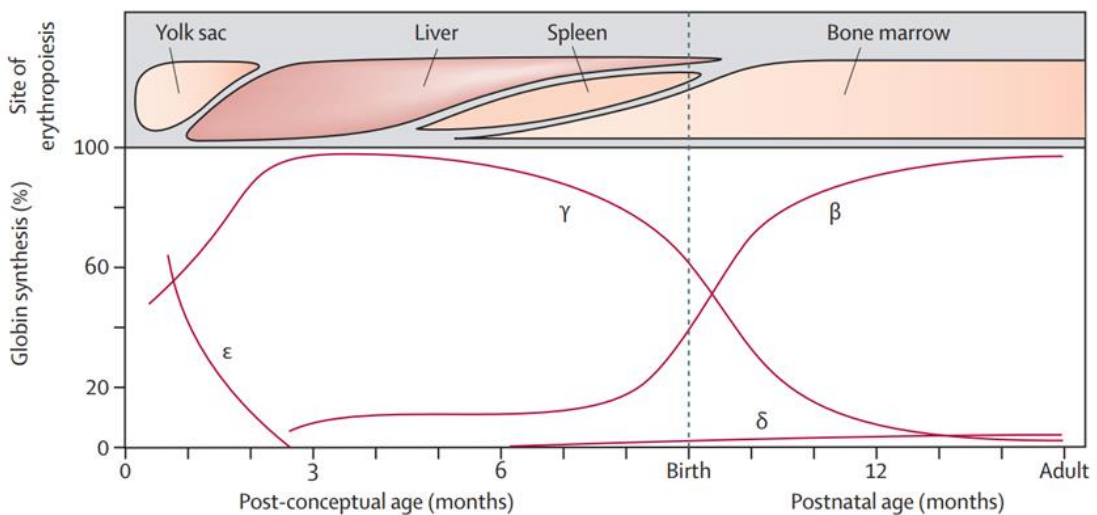


Figura 2. Expresión de globina en las diferentes etapas del desarrollo humano (28).

d) Síntesis de Hb

El grupo hemo se sintetiza para su incorporación a la hemoglobina. En los eritrocitos inmaduros (reticulocitos), el hemo estimula la síntesis proteica de las cadenas de globina y la eritropoyetina estimula el hemo. El riñón libera la hormona eritropoyetina a bajos niveles de oxígeno en los tejidos y estimula la síntesis de glóbulos rojos y hemoglobina. La acumulación de hemo en las células eritroides es deseable, ya que conduce a una mayor síntesis de la cadena de globina y es necesaria en la maduración de los eritroblastos. Cuando los glóbulos rojos maduran, cesa la síntesis de hemo y hemoglobina. Además, el control de la biosíntesis del hemo en los eritrocitos está controlado por la disponibilidad de hierro intracelular (29). La síntesis de la Hb se produce en un órgano diferente. (Tabla 1).

Tabla 1. Órganos donde se expresan los genes de globina

Etapa biológica y órgano donde se sintetizan las globinas	Globina que se expresan del cromosoma 16	Globina que se expresan del cromosoma 11
Embrión (saco vitelino)	Globina ζ	Globina ϵ Globina γ
Feto (hígado y bazo)	Globina α	Globina γ Globina β
Adulto (médula ósea)		Globina β Globina δ

Elaboración propia

e) Clasificación de las hemoglobinopatías

Las hemoglobinopatías son los trastornos monogénicos más comunes en el mundo, con una carga de enfermedad global cada año. Como muestran la mayoría de las hemoglobinopatías, los portadores de herencia recesiva suelen ser clínicamente silenciosos. Las hemoglobinopatías hereditarias son un grupo heterogéneo de trastornos recesivos que incluyen las talasemias y la anemia falciforme. Hasta la fecha se han caracterizado cerca de mil alelos mutantes. Las mutaciones son específicas de cada región y, en la mayoría de los casos, se han determinado las distribuciones geográficas y étnicas, lo que ha sentado las bases para un programa de control mediante el cribado, el asesoramiento genético y el diagnóstico prenatal (30). Las

anomalías más comunes asociadas con las hemoglobinopatías se observan en la tabla 2.

Tabla 2. Tipos de alteraciones de la hemoglobina

Anomalías cualitativas de hemoglobina	
	Cadena α
	Cadena β
	Cadena γ
	Cadena δ
	Fusión de cadenas: $\delta\beta$, $\beta\delta$ y $\gamma\beta$
Anomalías cuantitativas de la hemoglobina. Talasemias	
	α talasemia
	β talasemia
	$\delta\beta$ talasemia
	$\gamma\delta\beta$ talasemia
	γ talasemia
	δ talasemia
Persistencia hereditaria de hemoglobina fetal	
	Con Delección
	Sin delección

Elaboración propia

f) Variantes de hemoglobina

La electroforesis de la Hb ha identificado más de 400 variantes. La mayoría, generadas por mutaciones puntuales, deleciones o inserciones en los genes que codifican las cadenas de globina. La Hb S es la de mayor frecuencia seguida de la Hb C, D y E (31).

Las hemoglobinopatías se clasifican en:

1. Hb con solubilidad disminuida (Hb S y Hb C).
2. Hb con estabilidad molecular disminuida (Hb inestables).
3. Hb con la afinidad por el oxígeno alterada.
4. MetaHb (Hb M).

Las mutaciones que producen disminución en la solubilidad de la Hb se ubican cerca de la superficie de la molécula que en la mayoría de los casos se acompañan de un cambio de carga eléctrica y alteración en la movilidad electroforética. Por ejemplo, la Hb S presenta una polimerización de la desoxi Hb etiología de la anemia falciforme y la Hb C que se caracteriza por una cristalización singular de la Hb en el interior de los hematíes.

A diferencia de las mutaciones superficiales, las mutaciones internas pueden no presentar variación en la carga eléctrica de la molécula, por tanto, deben ser identificadas por procedimientos alternos a la electroforesis (32). En la tabla 3 se muestran por ejemplo de cada uno de estos grupos de hemoglobinopatías estructurales.

Tabla 3. Hemoglobinopatías estructurales

Alteración físicoquímica	Hemoglobina alterada
Polimerización	Hb S ($\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Val}$)
Cristalización	Hb C ($\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$)
Aumento de la afinidad por el oxígeno	Hb Zurich ($\beta 63 \text{ His} \rightarrow \text{Arg}$)
Disminución de la afinidad por el oxígeno	Hb Kansas ($\beta 102 \text{ Asn} \rightarrow \text{Thr}$)
Oxidación	Hb Koln ($\beta 98 \text{ Val} \rightarrow \text{Met}$)
Metahemoglobinización	Hb Hyde Park ($\beta 92 \text{ His} \rightarrow \text{Tyr}$)

Elaboración propia

g) Talasemias

Las talasemias son hemoglobinopatía con una heterogeneidad de alteraciones de la hemoglobina caracterizado por disminución de la síntesis de una o más cadenas de globina (α , β , γ , $\delta\beta$, $\gamma\delta\beta$, δ , $\epsilon\gamma\delta\beta$) (33).

h) Alteraciones moleculares de las talasemias

h.1) Mutaciones puntuales

Las mutaciones puntuales que se observan comúnmente en la β -talasemia son sustituciones de un solo nucleótido o inserciones/deleciones de oligonucleótidos que afectan β expresión génica a través de varios mecanismos. Incluyeron sustituciones de una sola base, pequeñas inserciones o deleciones de una a unas pocas bases dentro del gen o sus secuencias flanqueantes inmediatas. Las mutaciones puntuales afectan a la expresión de la β -globina en 3 categorías diferentes: mutaciones que conducen a una transcripción defectuosa del gen β (mutaciones en el promotor y en la región no traducida 5' [UTR]), mutaciones que afectan al procesamiento del ARN mensajero (ARNm) (mutaciones en la unión de empalme y en la secuencia de consenso, poliadenilación y otras mutaciones en la UTR 3') y mutaciones que dan lugar a una traducción anormal del ARNm (mutaciones sin sentido, con desplazamiento del marco de lectura y en el codón

de iniciación). Estos defectos son responsables de la mayoría de los alelos de β -talasemia. En la tabla 4 se presenta los principales tipos de mutación que pueden producir una disminución de síntesis de cadenas de globina.

Tabla 4. Tipos de mutación en las talasemias

Defectos en la maduración - transcripción
Mutaciones de las zonas de contacto exón-intrón intrónicas
Mutaciones de la región de poliadenilación (poli-A) de la región CAP
Defectos en la traducción o lectura del mRNA
Mutaciones de las regiones promotoras
Mutaciones sin sentido (no existe síntesis de proteína activa)
Desplazamiento del marco de lectura

Elaboración propia

h.2) Deleciones

En raras ocasiones, la β -talasemia es el resultado de deleciones macroscópicas de genes. Las deleciones que afectaron solo a HBB variaron de 105 a 67 kb de tamaño. Además de la variación clínica del fenotipo resultante de la heterogeneidad alélica en el locus de la β -globina, el fenotipo de la β -talasemia también podría modificarse mediante la manipulación de factores genéticos que se mapean fuera del grupo de genes de la globina y que no influyen significativamente en la hemoglobina fetal. Dos eliminaciones eliminan el extremo 3' pero preservan la integridad del extremo 5' del HBB. La deleción de 0,6 kb que afecta al extremo 3' del HBB es una causa común de β^0 -talasemia en los indios asiáticos y constituye casi un tercio de la β -talasemia en esta población.[13] Las otras deleciones difirieron considerablemente en tamaño, pero se eliminaron en una región común en el promotor de β (de 125 a + 78 en relación con el sitio de la tapa del ARNm), incluidos los elementos CACCC, CCAAT y TATA. Se asocian con niveles persistentemente altos de HbA2 y aumentos variables de HbF en heterocigotos.[1] Dieciocho deleciones restringidas a HBB han sido descritas previamente. Oscilan entre 25 pares de bases (pb) y ~6 kb, de los cuales 2 son deleciones intragénicas menores de 25 pb y 44 pb en el 3' y el IVSI, y 2 (619 pb y 7,7 kb) eliminaron el extremo 3' del gen, dejando intacto el extremo 5' (34).

2.2.1.1 Incidencia y distribución geográfica

Las estimaciones de la prevalencia de la talasemia variaron de un país a otro e incluso dentro de un mismo país. En 23 estudios poblacionales en los que se informó de alfa-talasemia clínicamente significativa (p. ej., enfermedad de la hemoglobina H e hidropesía fetal de Bart de hemoglobina) y/o beta-talasemia (beta-talasemia intermedia, mayor y/o hemoglobina E/beta-talasemia), las estimaciones de prevalencia por 100 000 personas oscilaron entre 0,2 en España (durante 2014-2017) y 27,2 en Grecia (2010-2015) para la beta-talasemia combinada con alfa-talasemia; de 0,03 en España (2014-2017) a 4,5 en Malasia (2007-2018) para alfa-talasemia; y de 0,2 en España (2014-2017) a 35,7 a 49,6 en Irak (2003-2018) para beta-talasemia. En general, la prevalencia estimada de talasemia siguió el patrón predicho de ser mayor en Oriente Medio, Asia y el Mediterráneo que en Europa o América del Norte (35).

La talasemia continúa siendo un grave problema de salud pública en ciertos países, y que exige la implementación de programas de prevención y diagnóstico prenatal. En toda la cuenca del mediterráneo, los recientes estudios realizados en diferentes zonas geográficas demostraron que las hemoglobinopatías varían según sea α -talasemia o β -talasemia (35).

2.2.1.2 Criterios diagnósticos

a) Manifestaciones clínicas

Clásicamente, los individuos con β -talasemia grave han presentado grados variables, pero a menudo muy graves de anemia, expansión de los espacios de la médula ósea secundaria a hiperplasia eritroide, hepatoesplenomegalia y hematopoyesis extramedular en tórax y abdomen. El aspecto externo se caracteriza por palidez e ictericia leve, prominencia frontal y otras anomalías de las facies secundarias a la expansión de la médula ósea y agrandamiento abdominal debido a la hepatoesplenomegalia. Por lo general, estas manifestaciones están ausentes o mínimamente presentes en pacientes con talasemia mayor si la terapia transfusional se inicia temprano durante el primer año de vida, siempre que los niveles de hemoglobina se mantengan en 9-10 g/dL. En los casos en que la transfusión está fácilmente disponible, los hallazgos físicos clásicos de la talasemia se encuentran ahora con mayor frecuencia en pacientes con talasemia

intermedia, en particular en aquellos que se encuentran en el extremo grave del espectro fenotípico. En estos pacientes, las manifestaciones físicas pueden suprimirse en parte con una transfusión posterior (36).

Las manifestaciones clínicas de la sobrecarga de hierro han llegado a dominar el fenotipo clínico de los individuos con β -talasemia grave. La disfunción cardíaca es el principal problema clínico que puede conducir a la muerte prematura. Las anomalías endocrinas, en particular el hipogonadismo, la hormona del crecimiento baja, el hipotiroidismo y la diabetes mellitus, también son problemas importantes. El depósito de hierro en el hígado puede ser considerable, aunque las anomalías funcionales suelen ser leves, a menos que la sobrecarga de hierro sea muy grave (36).

La edad avanzada y los antecedentes de esplenectomía son los principales factores de riesgo que se han identificado. Entre los factores fisiopatológicos se encuentran la patología de la membrana de los glóbulos rojos, las anomalías de la coagulación, la activación plaquetaria, el estrés oxidativo y la hemólisis crónica con liberación de vesículas trombogénicas. El retraso del crecimiento, secundario en parte a la deficiencia de la hormona del crecimiento y al hipogonadismo, suelen ser las manifestaciones iniciales de la sobrecarga de hierro en pacientes β -talasémicos. El depósito progresivo de hierro es característico en pacientes con β -talasemia grave. La osteoporosis a menudo ocurre en pacientes con talasemia, lo que refleja la expansión de la médula, las deficiencias endocrinas, la toxicidad del hierro y la toxicidad potencial de los quelantes (37).

b) Exámenes de laboratorio

Al ser una condición recesiva, el reconocimiento de portadores es esencial y posible mediante pruebas hematológicas. Tanto los portadores de α como de β talasemia (heterocigotos) presentan parámetros hipocrómicos microcíticos con o sin anemia, lo que requiere un diagnóstico diferencial para excluir la anemia ferropénica. Después de la medición de ferritina o protoporfirina de zinc, los antecedentes familiares y el origen étnico pueden proporcionar información útil para abordar el diagnóstico de laboratorio de talasemias. Los parámetros hematológicos, incluidos los índices hematimétricos y la

morfología, seguidos de la separación y la medición de las fracciones de Hb, son la base para la identificación del portador de talasemia (38).

En algunas zonas de alto riesgo, se han implementado estrategias para la identificación de portadores basadas en un precribado primario con separación de índices de glóbulos rojos y medición de fracciones de Hb para aquellos con volumen corpuscular medio (VCM) reducido (39).

Los diferentes tipos de mutación de betatalasemia producen fenotipos clínicos y hematológicos de gravedad variable incluso en beta-portadores (la identificación de talasemia mayor o intermedia se discutirá más adelante en este trabajo). El recuento de glóbulos rojos (RBC) y los índices derivados son extremadamente importantes en el diagnóstico de los portadores asintomáticos. Su determinación es la prueba de laboratorio más común incluso en los países pobres, y generalmente se lleva a cabo mediante contadores electrónicos automatizados de células, que deben calibrarse diariamente con materiales apropiados para obtener resultados precisos. Los portadores de mutaciones β^0 o graves en β^{++} tienen un recuento relativamente alto de hematíes, mientras que el VCM y la HCM están marcadamente reducidos (VCM: 60-70 fl; MCH: 19-23 pg). Los niveles de Hb varían ampliamente y pueden ser de normales hasta 2 g/dL. Los portadores de mutaciones leves en β suelen tener valores más altos de VCM y HCM que los portadores de β^0 , aunque más bajos de lo normal. Los valores de corte más utilizados de VCM y HCM para indicar talasemia son 79 fl y 27 pg, respectivamente 14. Los reticulocitos son normales o están ligeramente aumentados, pero no tienen valor diagnóstico. En los portadores de mutaciones β muy leves o silenciosas, el déficit mínimo de producción de β -globina no se asocia con ningún cambio hematológico consistente. El estado del hierro siempre debe tenerse en cuenta al evaluar los valores de HCM y VCM de un individuo examinado para talasemia. La deficiencia de hierro es la afección más común responsable de la microcitosis y, finalmente, de la anemia microcítica. Aunque la protoporfirina de zinc está aumentada en caso de depleción de hierro, su especificidad es baja, por lo que la saturación de transferrina asociada a la ferritina sigue siendo el parámetro recomendado para confirmar la deficiencia de hierro. La saturación de transferrina es la relación entre el hierro sérico y la capacidad de fijación al hierro y es la indicación más precisa del suministro de hierro a la médula ósea. Los valores normales son superiores al 16% en

adultos y superiores al 10% en niños. El RDW, una medida de variación en el tamaño de los glóbulos rojos (anisocitosis), tiende a estar por encima del intervalo de referencia en las anemias ferropénicas y otras anemias microcíticas. La RDW en las talasemias suele estar dentro o muy cerca del intervalo de referencia, lo que refleja la uniformidad del tamaño de los glóbulos rojos (microcitos) (38).

Las formas de talasemia menor provocan leves descensos en la concentración de hemoglobina, mientras que las formas intermedias y mayores muestran importantes descensos. En la β -talasemia, la electroforesis de hemoglobinas a pH alcalino constituye el procedimiento diagnóstico de la enfermedad. El patrón característico consiste en una elevación de la fracción Hb A₂ (3,5%-7%) con Hb F normal (39).

Cuando se presente un aumento de Hb F (> 2%) los criterios clínicos permiten orientar el diagnóstico hacia otros tipos de β -talasemia, especialmente la intermedia (Tabla 5).

Tabla 5. Electroforesis y patrones de hemoglobinas en β -talasemia

Tipo	Hb A %	Hb A ₂ %	Hb F %
Normal	97	2-3	<1
β -talasemia menor	90-95	3.5-7	1-2
β -talasemia intermedia	30-50	0-5	2-70
β -talasemia mayor	0-25	0-5	70-100

Elaboración propia

Se pueden utilizar varias fórmulas, basadas en parámetros del hemograma, para calcular un índice talasémico y se han utilizado para diferenciar la deficiencia de hierro de la talasemia. Aunque ninguno ha demostrado ser totalmente satisfactorio en todas las situaciones clínicas ni ha aportado información significativa sobre el uso de MCV solo en la selección de casos para su posterior investigación, muchos laboratorios utilizan estos cálculos como complemento de los parámetros de los glóbulos rojos. Las fórmulas más utilizadas son las siguientes: índice de Mentzer (IM) = MCV/RBC ; factor discriminante (DF) = $VCM \times (RDW/Hb \times 100)$; Índice de brillo y Lal (S&L) = $MCV \times (MCH/100)$; Índice Srivastava (SI) = MCH/RBC ; Índice RDW (RDWI) = $(MCV \times RDW)/RBC$ (38).

La electroforesis de Hb alcalina utiliza los mismos principios de migración de una técnica de electroforesis, la cual una muestra según su tipo de carga (positiva o negativa) migra dentro de una membrana de celulosa, en este método se emplea un pH de entre 8,4 y 8,6; la hemoglobina en pH alcalino adquiere carga negativa migrando por tanto al ánodo, en esta técnica las variantes de hemoglobina por tener distintas cargas se separan de la hemoglobina A, por tanto las bandas se logran visualizar en distintas zonas alejadas de la Hb A, dónde se identificarán según su peso molecular en variantes de hemoglobina. Esta técnica es utilizada como primera línea para identificar las variantes de hemoglobina por su prontitud y sensibilidad (40).

2.2.2 Hipótesis general

El desempeño diagnóstico de los índices talasémicos es mayor al 80% en la identificación de sospecha clínica de β Talasemia menor en pacientes atendidos en una Hospital de la ciudad de Tarapoto, San Martín 2024

2.2.3 Hipótesis específicas

No corresponde por ser objetivos de nivel descriptivo

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Método de la investigación

Emplearemos el método cuantitativo, ya que el problema se estudiará mediante la evaluación de variables sujetas a un procedimiento de análisis de datos según sus escalas de medición.

3.2 Tipo de investigación:

Investigación básica, considerando que buscamos mejorar la comprensión de algoritmos orientados a la identificación de una enfermedad.

3.3 Diseño de la investigación:

Diseño de pruebas diagnósticas de corte transversal, ya que buscamos evaluar la validez y confiabilidad de algoritmos empleados en el diagnóstico de una enfermedad, usando datos que se generarán durante la evaluación médica y de laboratorio en un solo corte de tiempo o periodo.

3.4 Población, muestra y muestreo

3.4.1 Población

Estará constituida por todos los pacientes que presenten sospecha de algún tipo de talasemia menor y estén siendo atendidos en el Hospital II Essalud de Tarapoto. La Red Asistencial Tarapoto de EsSalud atiende a más de 111 mil asegurados, de los cuales 20 mil aproximadamente se atienden en el Hospital II.

3.4.2 Muestra

Emplearemos una fórmula basada en el análisis del AUC (area under curve, en español, área bajo la curva). Consideraremos un nivel de confianza del 95% y poder de 90%, con un AUC de 0.95 de acuerdo con los resultados reportados por Matos J. (18) en Brasil, y según nuestra hipótesis de investigación, un AUC esperado de al menos 0.80. Para el cálculo, empleamos el programa estadístico PASS versión 11, ingresando los siguientes parámetros:

Tests for One ROC Curve

File View Run Procedures Tools Window Help

Reset Open Save As

Run

Data

Data

Iterations

Reports

Plot Setup

Solve For

Find (Solve For): N+

Error Rates

Power (1-Beta): 0.90

Alpha (Significance Level): 0.05

Sample Size

N+ (Size of Positive Group): 40 41 42 43 44 45

N- (Size of Negative Group): 50

R (Sample Allocation Ratio): 1.0

Effect Size

Area Under the Curve

AUC0 (Area Under Curve|H0): 0.95

AUC1 (Area Under Curve|H1): 0.80

False Positive Rate Limits

Lower FPR: 0.00

Upper FPR: 1.00

Type of Data

Type of Data: Discrete (Ratings) B (SD Ratio = SD-/SD+): 1.0

Test

Alternative Hypothesis: Two-Sided Test

Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

One ROC Curve Power Analysis										
Numeric Results for Testing AUC0 = AUC1 with Discrete (Rating) Data										
Test Type = Two-Sided. FPR1 = 0.000. FPR2 = 1.000. B = 1.000.										
Power	N+	N-	AUC0'	AUC1'	Diff'	AUC0	AUC1	Diff	Alpha	Beta
0.89982	23	50	0.9500	0.8000	-0.1500	0.9500	0.8000	-0.1500	0.05000	0.10018

Por lo tanto, se requerirá 23 pacientes con sospecha de talasemia menor (casos positivos) y 50 sin sospecha de talasemia menor (casos negativos). Sin embargo, consideraremos una tasa de rechazo de 10%, por lo que la cantidad final de registros requeridos será de 26 casos positivos y 56 casos negativos.

3.4.3 Muestreo

Los participantes serán seleccionados según criterio no probabilístico por conveniencia y de acuerdo con los datos almacenados en el laboratorio del Hospital II Essalud de Tarapoto, donde se podrá identificar a los potenciales casos de las β Talasemia menor.

Criterios de inclusión

- Mayores de edad
- Aceptado voluntariamente la encuesta de sospecha clínica

Criterios de exclusión

- Presencia de enfermedades oncohematológicas
- Gestantes y puérperas
- Tratamiento con suplementos de hierro en los últimos 6 meses

3.5 Variables y operacionalización

Variable principal: Sospecha clínica de β Talasemia: Según examen clínico que incluye entrevista tipo cuestionario validado por expertos, principalmente valora la presencia de:

1. Anemia microcítica crónica.
2. Aumento de recuento de hematíes (RBC) en comparación a la anemia.
3. Antecedente de familiar foráneo con o sin anemia crónica
4. Prueba confirmatoria por electroforesis de hemoglobina ante una sospecha clínica.

Variable secundaria:

Índices hematimétricos

Volumen corpuscular medio (VCM).

Hemoglobina corpuscular media (HCM).

Recuento de hematíes (RBC)

Ancho de distribución de hematíe (ADE).

Índices talasémicos

Mentzer

Green and King

England and Fraser

3.5.1 Operacionalización de variables

Variable principal	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Escala de medición	Escala valorativa (Niveles o rangos)
Sospecha clínica β Talasemia	Presencia de Hemoglobinopatía identificada por electroforesis y criterio clínico	Unidimensional	Presencia o ausencia de alteración	No Si	Positivo/Negativo
Variable secundaria	Definición operacional	Dimensión	Indicador	Escala de medición	Escala valorativa (Niveles o rangos)
VCM HCM CHCM ADE Índice de Mentzer Índice de Green and King Índice de England and Fraser.	Parámetros hematológicos Índices talasémicos	Unidimensional	fL pg % % <13 <65 <0	Numérica continua	Los rangos serán identificados según el análisis ROC.

3.6 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.6.1 Técnicas

- Observación y encuesta. Emplearemos esta técnica ya que observaremos el comportamiento del problema a través del estudio de las variables de estudio que serán medidas mediante la entrevista a cada potencial participante, aplicando una encuesta. Así mismo, obtendremos muestras biológicas para analizarlas y evaluar la presencia de alteraciones en la estructura de la hemoglobina, aplicando métodos de laboratorio en hematología.
- Toma de muestras de sangre. Se colectará sangre por punción venosa en tubos con EDTA K₂ la cual es estable hasta por 8 horas a temperatura ambiente y hasta 7 días en refrigeración (2-8°C). Obtendremos por centrifugación a 4000 rpm durante 5 minutos el precipitado (paquete globular), y se eliminará el plasma y buffy coat. Cada mL de paquete globular será lavado con 0.5 mL de suero fisiológico por hasta tres veces hasta obtener un sobrenadante limpio y claro. Finalmente, se obtendrá un hemolizado mediante una mezcla con 0.4 mL de cloroformo y 1 mL de hematíes lavados, y se centrifugará a 4000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante representa al hemolizado que será sometida al método de electroforesis.

3.6.2 Descripción de instrumentos

- Evaluación clínica. La realizará el médico a través del estudio de la anamnesis y entrevista clínica y empleo de pruebas de apoyo al diagnóstico, con especial énfasis en los pacientes con sospecha clínica de β talasemia menor. El especialista en hematología será el responsable de identificar la sospecha de la β talasemia menor en base a su evaluación clínica y los exámenes de hematología que incluyen el estudio del hemograma y electroforesis de hemoglobina.
- Ficha de recolección de datos. Aplicaremos una ficha auto elaborada para recabar información relevante sobre la identificación de sospecha

clínica de β talasemia menor, así como los resultados de laboratorio. La información consignada en la ficha será evaluada por tres jueces expertos (1 médico hematólogo y 2 tecnólogos médicos especialistas en hematología) quienes asignarán un score al instrumento, en las dimensiones de objetividad, coherencia, claridad, pertinencia, intencionalidad, conveniencia, suficiencia, actualidad, organización y metodología. La calificación será vigesimal y sometida a un análisis de consistencia interna y confiabilidad con el estadístico del alfa de Cronbach, cuyo valor esperamos sea mayor a 0.75.

- Hemograma. Se realizará en un autoanализador hematológico (Beckman Coulter, DxH 900, Alemania) que emplea la tecnología VCS (volumen, conductividad y dispersión). Obtendremos los datos de los índices hematimétricos VCM, HCM, CHCM y ADE. Los índices talasémicos a evaluar serán: Índice de Mentzer, Índice de Green and King, e Índice de England and Fraser. El cálculo de cada uno de estos se estimará del siguiente modo:

$$\text{Índice de Mentzer} = \frac{\text{VCM (fL)}}{\text{RBC } \left(\frac{\text{millones}}{\text{uL}}\right)}$$

$$\text{Índice de Green and King} = \frac{\text{RDW} \times \text{VCM}^2}{\text{Hb} \times 100}$$

$$\text{Índice de England and Fraser} = \text{VCM} - (5 \times \text{Hb}) - \text{RBC} - 3.4$$

- Electroforesis de hemoglobina. Se realizará la electroforesis en gel de acetato de celulosa en condiciones alcalinas. Se colocará 200 μL del hemolizado en la región de carga. La corrida electroforética se realizará a 210 v por 35-40 minutos en buffer tris-EDTA borato a un pH de 8.6. Emplearemos el colorante azul de Coomassie y la presencia de bandas diferentes a la Hb A son altamente sugerentes de hemoglobinopatías. El

procedimiento es una adaptación de lo publicado por Kumar R. (41) en el año 2019. Ver figura 3.

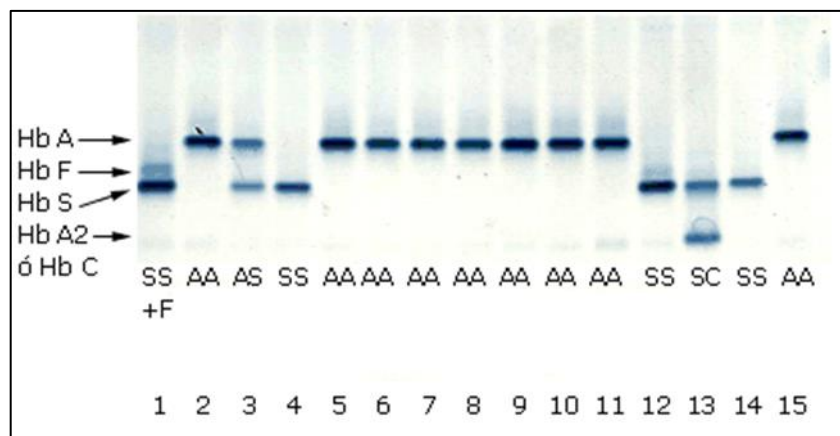


Figura 3. Electroforesis en acetato de celular para identificación de hemoglobinopatías

3.6.3 Validez y confiabilidad

La validez de nuestro instrumento será garantizada mediante el juicio de expertos descritos previamente. Por otro lado, los resultados procedentes del hemograma automatizado cumplen con estándares de calidad debido a que se ejecutan en cumplimiento de un programa de control de calidad interno y pruebas de evaluación externa de la calidad organizado por BioRad con resultados satisfactorios. En el primer caso, nos aseguraremos de que los resultados se obtengan en ausencia de sesgos sistemáticos identificados y evaluados en el análisis gráfico de Sheewart y cumplimiento de criterios según lo establecido por Westgard J. (42). En el caso del análisis de electroforesis, emplearemos soluciones controles que evidencien la presencia de bandas correspondientes a todas las formas posibles de hemoglobina, de tal modo que sirvan como comparadores frente a las muestras corridas de los pacientes. Finalmente, la evaluación e interpretación clínica estará soportada por un grupo de expertos en hematología, lo que aumenta el nivel de validez de nuestros hallazgos.

3.7 Plan de procesamiento y análisis de datos

Las características generales de los participantes serán presentadas en estadísticos descriptivos, mediante frecuencias absolutas, relativas y sus intervalos de confianza al

95% en tablas univariadas. Las variables numéricas serán presentadas en promedio, desviación estándar, valor mínimo y máximo; y cuando corresponda, en mediana, rango intercuartil. Realizaremos la comparación de la sospecha clínica de β talasemia menor por cada variable secundaria, y presentaremos el p-valor obtenido por la prueba chi cuadrado. Consideraremos como diferencia significativa un p-valor menor a 0.05. Para obtener los puntos de corte de cada índice talasémico y hematómico, realizamos un análisis exploratorio con la técnica ROC (en español, característica receptor-operador), donde seleccionaremos el valor numérico que evidencie la mejor sensibilidad, especificidad, y razones de verosimilitud para cada índice, asumiendo que son pruebas de screening. Una vez identificado el punto de corte de cada índice, procederemos a dicotomizar cada variable, y realizar el cálculo de sensibilidad, especificidad, valores predictivos, razones de verosimilitud y área bajo la curva (AUC) como parámetro del desempeño diagnóstico. También estimaremos el estadístico de Youden como medida de validez de cada índice estudiado. Finalmente, el valor AUC y su intervalo de confianza al 95% serán representados en gráficas ROC, con la finalidad de identificar el mejor índice de los evaluados. Todos los cálculos serán realizados en el software Stata versión 18 (StataCorp Colleague, Station, TX, USA).

3.8 Aspectos éticos

El proyecto será presentado al Comité de Ética de la Universidad Privada Norbert Wiener para obtener su aprobación. La ejecución implica la evaluación de pacientes, por lo que obtendremos el consentimiento informado de cada participante, previa explicación de los objetivos, aplicación de instrumentos, beneficios y riesgos de la investigación. Los resultados del estudio serán entregados a cada participante de manera confidencial dentro de los primeros 7 días posteriores a la evaluación clínica y laboratorio, y brindando las recomendaciones correspondientes por el médico hematólogo. La información generada (resultados de evaluación clínica, laboratorio, tomas fotográficas de electroforesis) será almacenada en una base de datos encriptada en una nube de acceso exclusivo al investigador. No se incluirá información que vulnere la confidencialidad de los participantes, por lo que toda la data será manejada de forma codificada.

CAPÍTULO IV: ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

4.1. Cronograma de actividades

ACTIVIDAD	Periodo de investigación																				
	NOVIEMBRE 2023				DICIEMBRE 2023				ENERO 2024				FEBRERO 2024				MARZO 2024				
	Semana																				
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Elaboración del Plan de Tesis	■	■	■	■	■	■	■	■													
Presentación y revisión del Comité de Ética									■	■	■	■									
Levantamiento de observaciones													■	■							
Revisión y aprobación del Comité de Ética															■	■	■				
Gestión administrativa en la Escuela de TM																			■	■	
Sustentación y aprobación de la tesis																				■	

4.2. Presupuesto

El presupuesto será asumido por el investigador y se distribuye de la siguiente manera:

Ítem	Descripción	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Bienes				
1	Insumos para obtención de sangre	82	2.00	164.00
2	Insumos para hemograma	82	10.00	820.00
3	Insumos para la electroforesis PAGE	82	80.00	6,560.00
4	Material de escritorio (papel, fotocopias, USB)	1	200.00	200.00
Servicios				
1	Fotocopias	100	0.50	50.00
2	Escaneo	70	1.00	70.00
3	Impresiones	120	0.20	24.00
4	Espiralado	5	3.00	15.00
5	Empastado	2	20.00	40.00
6	Internet/mes	4	100.00	400.00
7	Movilidad-pasajes	10	80.00	800.00
8	Imprevistos	--	--	250.00
Presupuesto estimado				9393.00

REFERENCIAS

1. OMS. Talasemia y otras hemoglobinopatías Geneva, Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2006.
2. Needs T, Gonzalez-Mosquera LF, Lynch DT. Beta Thalassemia. StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Luis Gonzalez-Mosquera declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: David Lynch declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.; 2023.
3. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bulletin of the World Health Organization*. 2008;86(6):480-7.
4. Li DZ, Yang YD. Invasive prenatal diagnosis of fetal thalassemia. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2017;39:41-52.
5. Yang Y, He P, Li DZ. Analysis of Fetal Blood: Is There Still a Role for Prenatal Diagnosis of Thalassemia? *Hemoglobin*. 2016;40(1):29-31.
6. Ko TM, Xu X. Molecular study and prenatal diagnosis of alpha- and beta-thalassemias in Chinese. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi*. 1998;97(1):5-15.
7. Sayani FA, Kwiatkowski JL. Increasing prevalence of thalassemia in America: Implications for primary care. *Annals of medicine*. 2015;47(7):592-604.
8. Vichinsky EP, MacKlin EA, Wayne JS, Lorey F, Olivieri NF. Changes in the epidemiology of thalassemia in North America: a new minority disease. *Pediatrics*. 2005;116(6):e818-25.
9. Lobo C, Angulo IL, Aparicio LR, Drelichman GI, Zanichelli MA, Cancado R. Retrospective epidemiological study of Latin American patients with transfusional hemosiderosis: the first Latin American epidemiological study in iron overload--the RELATH study. *Hematology (Amsterdam, Netherlands)*. 2011;16(5):265-73.
10. Chen C, Grewal J, Betran AP, Vogel JP, Souza JP, Zhang J. Severe anemia, sickle cell disease, and thalassemia as risk factors for hypertensive disorders in pregnancy in developing countries. *Pregnancy hypertension*. 2018;13:141-7.
11. Perea FJ, Magaña MT, Cobián JG, Sánchez-López JY, Chávez ML, Zamudio G, et al. Molecular spectrum of beta-thalassemia in the Mexican population. *Blood cells, molecules & diseases*. 2004;33(2):150-2.

12. Rosenfeld LG, Bacal NS, Cuder MAM, Silva AGD, Machado Í E, Pereira CA, et al. Prevalence of hemoglobinopathies in the Brazilian adult population: National Health Survey 2014-2015. *Revista brasileira de epidemiologia = Brazilian journal of epidemiology*. 2019;22Suppl 02(Suppl 02):E190007.Supl.2.
13. Sari DP, Wahidiyat PA, Setianingsih I, Timan IS, Gatot D, Kekalih A. Hematological Parameters in Individuals with Beta Thalassemia Trait in South Sumatra, Indonesia. *Anemia*. 2022;2022:3572986.
14. Tabassum S, Khakwani M, Fayyaz A, Taj N. Role of Mentzer index for differentiating iron deficiency anemia and beta thalassemia trait in pregnant women. *Pakistan journal of medical sciences*. 2022;38(4Part-II):878-82.
15. Demir A, Yarali N, Fisgin T, Duru F, Kara A. Most reliable indices in differentiation between thalassemia trait and iron deficiency anemia. *Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society*. 2002;44(6):612-6.
16. Vehapoglu A, Ozgurhan G, Demir AD, Uzunur S, Nursoy MA, Turkmen S, et al. Hematological indices for differential diagnosis of Beta thalassemia trait and iron deficiency anemia. *Anemia*. 2014;2014:576738.
17. Nalbantoğlu B, Güzel S, Büyükyalçın V, Donma MM, Güzel E, Nalbantoğlu A, et al. Indices used in differentiation of thalassemia trait from iron deficiency anemia in pediatric population: are they reliable? *Pediatric hematology and oncology*. 2012;29(5):472-8.
18. Matos JF, Dusse LM, Borges KB, de Castro RL, Coura-Vital W, Carvalho M. A new index to discriminate between iron deficiency anemia and thalassemia trait. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*. 2016;38(3):214-9.
19. Winichagoon P, Svasti S, Munkongdee T, Chaiya W, Boonmongkol P, Chantrakul N, et al. Rapid diagnosis of thalassemias and other hemoglobinopathies by capillary electrophoresis system. *Translational research : the journal of laboratory and clinical medicine*. 2008;152(4):178-84.
20. Ramírez Cuentas J, Lizama Olaya O, Martínez La Rosa J, Jhong Olivera M, Salazar Lindo E. Reporte de un probable caso de Hemoglobina S / Talasemia Beta %J *Revista Medica Herediana*. 2004;15:173-8.
21. Ali S, Mumtaz S, Shakir HA, Khan M, Tahir HM, Mumtaz S, et al. Current status of beta-thalassemia and its treatment strategies. *Molecular genetics & genomic medicine*. 2021;9(12):e1788.

22. MINSA. Análisis de situación de salud del Perú. Lima, Perú: Ministerio de Salud; 2022.
23. INEI. Perú: Estadísticas de la Emigración Internacional de Peruanos e Inmigración de Extranjeros, 1990 – 2021. Lima, Perú: Instituto Nacional de Estadística e Informática; 2022.
24. Urrechaga E, Hoffmann JJ, Izquierdo S, Escanero JF. Differential diagnosis of microcytic anemia: the role of microcytic and hypochromic erythrocytes. *International journal of laboratory hematology*. 2015;37(3):334-40.
25. Greer JP, Rodgers GM, Glader BE, Arber DA, Means RT, List AF, et al. *Wintrobe's clinical hematology*. Fourteenth edition ed. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer Philadelphia, PA; 2019.
26. Ahmed MH, Ghatge MS, Safo MK. Hemoglobin: Structure, Function and Allostery. *Sub-cellular biochemistry*. 2020;94:345-82.
27. Farashi S, Harteveld CL. Molecular basis of α -thalassemia. *Blood cells, molecules & diseases*. 2018;70:43-53.
28. Higgs DR, Engel JD, Stamatoyannopoulos G. Thalassaemia. *Lancet (London, England)*. 2012;379(9813):373-83.
29. Farid Y, Bowman NS, Lecat P. Biochemistry, Hemoglobin Synthesis. StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Nicholas Bowman declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Paul Lecat declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.; 2023.
30. Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. *Deutsches Arzteblatt international*. 2011;108(31-32):532-40.
31. Thom CS, Dickson CF, Gell DA, Weiss MJ. Hemoglobin variants: biochemical properties and clinical correlates. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2013;3(3):a011858.
32. Vichinsky E. Hemoglobin e syndromes. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2007:79-83.
33. Angastiniotis M, Lobitz S. Thalassemias: An Overview. *International journal of neonatal screening*. 2019;5(1):16.
34. Thein SL. Pathophysiology of beta thalassemia--a guide to molecular therapies. *Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2005:31-7.

35. Li CK. New trend in the epidemiology of thalassaemia. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2017;39:16-26.
36. Shafique F, Ali S, Almansouri T, Van Eeden F, Shafi N, Khalid M, et al. Thalassaemia, a human blood disorder. *Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia*. 2021;83:e246062.
37. Viprakit V, Ekwattanakit S. Clinical Classification, Screening and Diagnosis for Thalassaemia. *Hematology/oncology clinics of North America*. 2018;32(2):193-211.
38. Brancaleoni V, Di Pierro E, Motta I, Cappellini MD. Laboratory diagnosis of thalassaemia. *International journal of laboratory hematology*. 2016;38 Suppl 1:32-40.
39. Munkongdee T, Chen P, Winichagoon P, Fucharoen S, Paiboonsukwong K. Update in Laboratory Diagnosis of Thalassaemia. *Frontiers in molecular biosciences*. 2020;7:74.
40. Lee JS, Cho SI, Park SS, Seong MW. Molecular basis and diagnosis of thalassaemia. *Blood research*. 2021;56(S1):S39-s43.
41. Kumar R, Derbigny WA. Cellulose Acetate Electrophoresis of Hemoglobin. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*. 2019;1855:81-5.
42. Westgard JO, Westgard SA. The quality of laboratory testing today: an assessment of sigma metrics for analytic quality using performance data from proficiency testing surveys and the CLIA criteria for acceptable performance. *American journal of clinical pathology*. 2006;125(3):343-54.

ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado

Instituciones: Universidad Privada Norbert Wiener

Investigadores: Lic. Marco Antonio Castillo Rojas

Título: Desempeño diagnóstico de los índices talasémicos y hematimétricos en la identificación de sospecha clínica de β talasemia menor en pacientes atendidos en el Hospital II Essalud Tarapoto, 2024.

Propósito del estudio

Lo invitamos a participar en un estudio llamado: “*Desempeño diagnóstico de los índices talasémicos y hematimétricos en la identificación de sospecha clínica de β talasemia menor en pacientes atendidos en el Hospital II Essalud Tarapoto, 2024*”. Este es un estudio desarrollado por investigadores de la Universidad Privada Norbert Wiener, Escuela de Tecnología Médica. El propósito de este estudio es Estimar el desempeño diagnóstico de los índices talasémicos y hematimétricos en la identificación de sospecha clínica de β Talasemia menor en pacientes atendidos en el Hospital II Essalud de la ciudad de Tarapoto. Su ejecución ayudará a mejorar los procedimientos de identificación oportuna de esta enfermedad, y en consecuencia, su derivación y manejo clínico adecuado.

Procedimientos

Si usted decide participar en este estudio, se le realizará lo siguiente:

- Evaluación clínica por un médico especialista en hematología
- Obtención de muestra de sangre por punción venosa (3 mL en tubo con EDTA, equivalente a 6 cucharitas).
- Examen de hemograma automatizado
- Examen de electroforesis de hemoglobina para identificación de alteraciones estructurales.

La entrevista y evaluación clínica puede demorar unos 30 minutos. Los resultados de laboratorio se le entregarán a usted a los 7 días de la evaluación inicial, en forma individual respetando la confidencialidad y el anonimato.

Riesgos

Su participación en el estudio no involucra riesgo para su salud. El procedimiento de toma de muestra le generará un dolor leve y temporal en la zona de punción. Esta acción será

realizada por profesionales entrenados y con experiencia para reducir al malestar propio del procedimiento.

Beneficios

Usted se beneficiará en este estudio, considerando que emplearemos una técnica de laboratorio que mejora el diagnóstico de las β Talasemia menor, aspecto fundamental para mejorar el abordaje terapéutico.

Costos e incentivos

Usted no deberá pagar nada por la participación. Tampoco recibirá ningún incentivo económico ni medicamentos a cambio de su participación.

Confidencialidad

Nosotros guardaremos la información con códigos y no con nombres. Si los resultados de este estudio son publicados, no se mostrará ninguna información que permita su identificación. Sus archivos no serán mostrados a ninguna persona ajena al estudio.

Derechos del paciente

Si usted se siente incómodo durante su participación en el estudio, podrá retirarse de este en cualquier momento, o no participar en una parte del estudio sin perjuicio alguno. Si tiene alguna inquietud o molestia, no dude en preguntar al personal del estudio. Puede comunicarse con Marco Castillo Rojas, investigador principal, al número de teléfono: +51 991 566 891, o email: vetrubio3000@gmail.com), o al comité que validó el presente estudio, Dra. Yenny M. Bellido Fuentes, presidenta del Comité de Ética para la investigación de la Universidad Norbert Wiener, tel. +51 924 569 790. E-mail: comite.etica@uwiener.edu.pe

CONSENTIMIENTO

Acepto voluntariamente participar en este estudio. Comprendo qué cosas pueden pasar si participo en el proyecto. También entiendo que puedo decidir no participar, aunque yo haya aceptado y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento. Recibiré una copia firmada de este consentimiento.

Participante Nombres y Apellidos DNI:	Investigador Nombres y Apellidos DNI:

Anexo 2. Ficha de recolección de datos

Código de identificación:

Fecha de evaluación: / /

1. Datos demográficos

Edad: años

Sexo: Varón Mujer

2. Datos clínicos

Fatiga No Si

Debilidad No Si

Piel pálida o icterica No Si

Deformidades óseas faciales No Si

Crecimiento lento No Si

Hinchazón abdominal No Si

Orina oscura No Si

Antecedentes familiares No Si

Alteración en el patrón electroforético No Si

Sospecha clínica de β Talasemia menor: No Si

3. Resultados de laboratorio

VCM: fL

HCM: pg/célula

CHCM: g/dL

ADE: %

Índice de Mentzer: valor numérico calculado

Índice de Green and King: valor numérico calculado

Índice de England and Fraser: valor numérico calculado

● 14% Overall Similarity

Top sources found in the following databases:

- 12% Internet database
- 3% Publications database
- Crossref database
- Crossref Posted Content database
- 7% Submitted Works database

TOP SOURCES

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

1	hdl.handle.net Internet	4%
2	repositorio.uwiener.edu.pe Internet	3%
3	Universitat Politècnica de València on 2018-02-20 Submitted works	<1%
4	Universidad Wiener on 2023-07-03 Submitted works	<1%
5	Universidad Wiener on 2023-12-06 Submitted works	<1%
6	semantic scholar.org Internet	<1%
7	Universidad Catolica De Cuenca on 2023-02-03 Submitted works	<1%
8	uwiener on 2023-05-22 Submitted works	<1%