

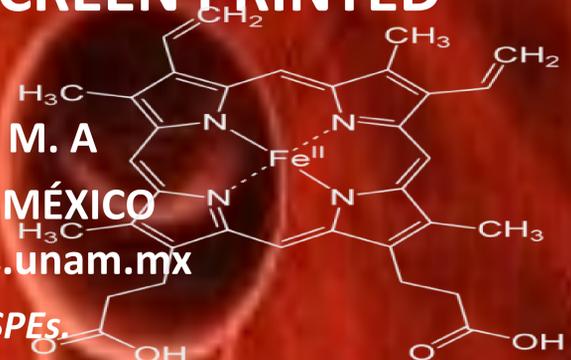
DETECCIÓN DE HEMOGLOBINA CON SCREEN PRINTED ELECTRODOS, SPE.

MACEDO S. L¹; BAEZA R. A²; GARCÍA M. A

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Email: ²baeza@unam.mx ; ¹luis@biomedicas.unam.mx

Palabras clave: Hemoglobina, electroanálisis, SPEs.



La exigencia de resultados rápidos y confiables en tiempo y forma en el ámbito clínico ha llevado al desarrollo de sensores pequeños y de fácil manejo para el médico o el paciente que permiten responder de manera inequívoca a un análisis en el seno de una muestra compleja como lo son los fluidos humanos. El sensor electroquímico más conocido es el de glucosa que nos arroja un valor puntual del contenido de glucosa en sangre, pero la medición de glucosa unida a hemoglobina arroja un valor "histórico" para el control de glucosa de hasta 3 meses antes. Por ello como un preámbulo a la determinación de hemoglobina unida a glucosa, desarrollamos un método para cuantificar hemoglobina en sangre humana por medio de la reducción de la hemoglobina en solución oxidante de ferricianuro de potasio y su medición con microelectrodos serigrafados (SPEs). Esto permite la cuantificación de hemoglobina con volúmenes pequeños (< 100µL) con el consecuente impacto en economía, generación de desechos y tiempo de operación

Metodología

Se cuantificó la concentración de hemoglobina de muestras sanguíneas humanas de 10 voluntarios por el método de voltamperometría lineal en microceldas tipo SPE DS-550 (electrodo de trabajo: platino, electrodo auxiliar: platino, electrodo de referencia: Plata), fig.1. Los SPS fueron conectados a un potenciostato galvanostato PGP-201 (Radiometer Copenhagen), (fig.2) aplicando el software Voltmaster 1,

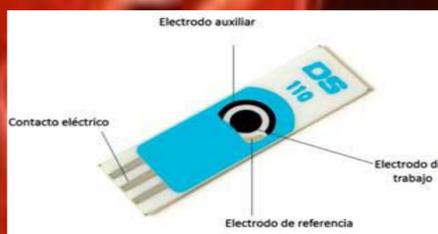


Figura 1. Electrodo DS-550 Screen printed

Los resultados obtenidos se contrastaron con los arrojados en un equipo automatizado de biometría hemática Sysmex KX21 (fig 3) El cual hace uso de la solución de Drabkin (ferricianuro de potasio y cianuro de potasio amortiguado) formándose en la reacción cianometahemoglobina, la cual absorbe a 540nm. Como parte de la calibración del equipo se usa un control de sangre hemolizada del Programa de aseguramiento de calidad de laboratorios clínicos (PACAL) el cual fue utilizado también para hacer una curva patrón con los SPS.

Resultados

La fig. 4 muestra los voltamperogramas de la sangre hemolizada usada como control, en ella se observa una clara definición de las curvas con sangre y sin ella, se observa una relación inversamente proporcional de la concentración de hemoglobina (Hb) respecto a la corriente negativa. Esto es evidente en la fig.5 que muestra una perfecta relación lineal con un coeficiente de correlación (R^2) de 1. En la fig. 6 observamos las variaciones de los valores obtenidos por SPE respecto a los obtenidos con el equipo Sysmex se calculó la desviación estándar (S) de la variación absoluta de los valores obtenidos al usar el SPE respecto a Sysmex fue de $S = 1.78$



Figura 2. analizador PGP 201 POTENTIOSTAT/GALVANOSTAT RADIOMETER COPENHAGEN



Figura 3. Sysmex KX21

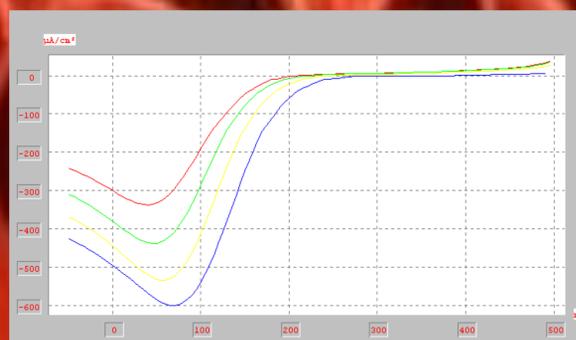


Figura 4. Relación de corriente y concentración de Hb en sangre hemolizada control

Las variaciones son atribuidas a que, en las soluciones Drabkin (4) usadas en los equipos que utilizan el método fotométrico como lo es el caso del equipo Sysmex (2) hacen uso de agentes lisantes generalmente tensoactivos al igual que en otros métodos amperométricos como el patentado por Venkat et al (2010) (3). Y en nuestro caso el lisado fue por congelamiento de la sangre

Resultados

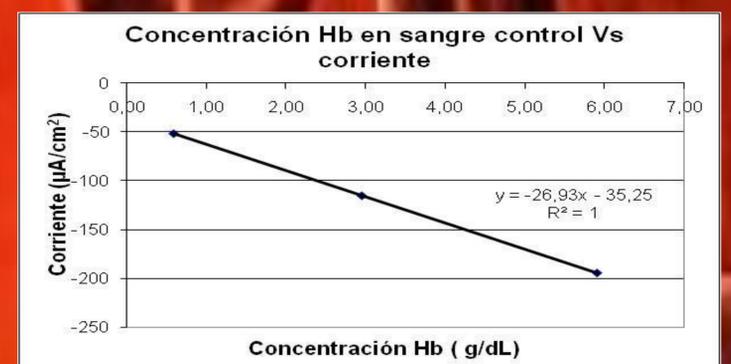


Figura 5

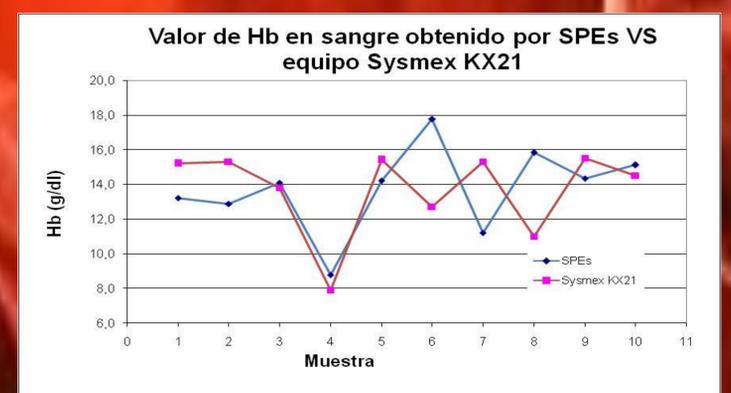


Figura 6

Conclusiones

Se logró obtener los parámetros potencio-amperométricos que permitieron la medición cuantitativa de la hemoglobina con muestras de sangre de 10 µL diluida en la mezcla de 0.1M de ferricianuro de potasio y 0.1M de KNO₃ y aplicándola sobre los electrodos serigrafados DS-550. Los valores obtenidos fueron comparables a los reportados en el equipo SysmexKX21

Referencias

- 1) Principios de electroquímica analítica, Alejandro Baeza Reyes y M. en C. Arturo de Jesús García Mendoza; UNAM; 6/1/2011
- 2) Ming-Song Hsieh, Tai-Guang Wu, Chein-Shyong Su, Wen-Jing Cheng, Namik Ozbek, Kun-Yuan Tsai, Ching-Yu Lin; (2011) "Comparison of an electrochemical biosensor with optical devices for hemoglobin measurement in human whole blood samples". Clinical Chemical Act. 412: 2150-2156
- 3) Venkat Manohar, George Varghese, Yegnaraman Venkatraman, Phani Lakshminarasimha Kanala, Mathiyarasu Jayaraman. (2010) "Non-enzymatic electrochemical method for simultaneous determination of total hemoglobin and glycated hemoglobin" Patent India. (20100089774; 04,15,2010).
- 4) World Health Organization. (1984) "Recommended method for the determination of the hemoglobin content of blood"; WHO. Geneva.