

Detección de variantes de hemoglobina en pacientes examinados por hemoglobina A1c

(Detection of hemoglobin variants in patients tested for Hemoglobin A1c)

Melissa Solís-Solís

Resumen

Justificación: la genética en las variantes de hemoglobina en Costa Rica es resultado del cruce de caracteres autóctonos indígenas con poblaciones inmigrantes de europeos, africanos y otros, desde el periodo de la Conquista, que contribuyeron a la mezcla genética presente en la población de Costa Rica. Las hemoglobinopatías mayormente distribuidas en la población humana son: hemoglobina S, C, D y E, siendo la hemoglobina S la más frecuente y la que presenta consecuencias más graves.

Objetivo: detectar variantes de hemoglobina en pacientes examinados por hemoglobina A1c, en la sección de Química Clínica del laboratorio de la Clínica de Filadelfia de la Caja Costarricense de Seguro Social, en el Cantón de Carrillo, Guanacaste, Costa Rica, durante el período de enero a octubre de 2018.

Métodos: se analizaron 2775 muestras sanguíneas de pacientes de los nueve equipos básicos de salud que conforman el Área de Salud de Carrillo, y que además requieren estudio por hemoglobina glicosilada en el período de enero a octubre de 2018. El análisis se realizó en el Laboratorio del Área de Salud de Carrillo. Las muestras fueron recolectadas en tubos vacutainer con EDTA y analizadas en el equipo automatizado TOSOH HLC-723GX, utilizando la metodología HPLC cromatografía de intercambio catiónico con la separación y cuantificación de las diferentes fracciones de hemoglobina. Los datos se analizaron en plantilla de Microsoft Excel.

Resultados: en 2775 pacientes examinados por hemoglobina A1c, 167 (6,0 %) fueron portadores de variantes de hemoglobina, con una frecuencia de 1/17, en donde el 97 % correspondió a heterocigotos para hemoglobina un 3% a heterocigotos para hemoglobina C y ninguno para la variante D. La presencia de variantes se observó en los 9 equipos básicos de atención integral en salud del área. La distribución de portadores por equipo básico de atención en el Área de Salud de Carrillo varió de un 4,0 % a un 9,3 %.

Conclusiones: un 6 % de las muestras analizadas presentó variantes de hemoglobina, siendo la hemoglobina S la predominante. Esta característica presente en la población del cantón de Carrillo merece atención a nivel de salud pública; la metodología existente a nivel de área permite estudiar a un grupo de población (costo efectivo) en riesgo que precisa vigilancia y asesoramiento genético, con el fin de concienciar a la población respecto al problema, reducir la incidencia de la enfermedad y prolongar la supervivencia de los afectados.

Descriptores: anemia, células falciformes, cromatografía líquida de alta presión, hemoglobinopatías, asesoramiento genético, variantes de hemoglobina, Costa Rica.

Abstract

Background: The genetics in hemoglobin variants in Costa Rica are a result of the crossing of autochthonous indigenous characters with European, African and other immigrant populations. All

Trabajo realizado en Laboratorio Clínico, Área de Salud Carrillo. CCSS.

Abreviaturas: equipos básicos de atención integral en salud, EBAIS; portador de hemoglobina S, HbS; rasgo falciforme; hemoglobina C, HbC; hemoglobina D, HbD; hemoglobina S, HbS; cromatografía líquida de alta presión, HPLC.

Fuentes de apoyo: no se recurrió a ninguna fuente de apoyo.

Conflicto de intereses: no existe ningún conflicto de interés financiero, intelectual, de propiedad, ni familiar, que pueda afectar la objetividad del estudio realizado.

✉ melisolis3232@gmail.com

of these contributed to the genetic mixture that is currently present in Costa Rica's population. The most distributed hemoglobinopathies in the human population are: hemoglobin S, C, D, and E, with hemoglobin S being the most frequent and having the most serious consequences.

Objective: detection of hemoglobin variants in patients who were examined for hemoglobin A1c in the Clinical Chemistry section of the Filadelfia Clinic Laboratory, from January to October 2018. The clinic is in Canton of Carrillo, Guanacaste (Costa Rica), and it is part of the social security system.

Methods: 2775 blood samples and their respective data were analyzed from patients of the nine basic health teams that make up the Carrillo Health Area and required a study for glycosylated hemoglobin from January to October 2018. The analysis was performed in the Carrillo Health Area Laboratory. The samples were collected in vacutainer tubes containing EDTA and analyzed in the TOSOH HLC-723GX automated equipment, using the HPLC cation exchange chromatography methodology with the separation and quantification of the different hemoglobin fractions. The data was then analyzed in a Microsoft Excel template.

Results: in the 2775 patients examined for hemoglobin A1c, 167 (6.0%) were found to be carriers of hemoglobin variants, with a frequency of 1/17, where 97% corresponded to heterozygotes for hemoglobin S, 3% heterozygous for hemoglobin C, and none for variant D. The presence of variants was observed in the 9 basic teams of integral health care of the area, and the distribution varied from 4% to 9,3% between them.

Conclusions: A total of 6% of the samples analyzed showed a hemoglobin variant, being hemoglobin S the most predominant. This characteristic present in the population of Canton of Carrillo deserves attention at the public health level. The existing methodology at the level area allows professionals to study a population group at risk that deserves surveillance and genetic counseling, in order to raise awareness about the problem, reduce the incidence of the disease, and prolong the survival of those affected by it.

Keywords: Sickle cell, chromatography high-pressure liquid, hemoglobinopathies, genetic counseling, hemoglobin variants, Costa Rica.

Fecha recibido: 09 de marzo 2019

Fecha aprobado: 19 de septiembre 2019

La utilización de la determinación de HbA1c para control glicémico de los pacientes diabéticos es una prueba que se realiza diariamente en los laboratorios clínicos; en paralelo al resultado que se espera de HbA1c, ciertos equipos automatizados como el TOSOH HLC-723GX, detectan además hemoglobina fetal y algunas variantes de hemoglobina, tales como hemoglobina S (HbS), hemoglobina C (HbC) y hemoglobina D (HbD). Cuando estas variantes afectan las células rojas sanguíneas provocan una estructura anormal de las cadenas de la globina de la hemoglobina y se produce una afectación llamada hemoglobinopatía. Las hemoglobinopatías mayormente distribuidas en la población humana son: hemoglobina S, C, D y E, siendo la HbS la alteración que presenta consecuencias clínicas más graves.¹

La anemia drepanocítica, anemia de células falciformes o sickleemia es una enfermedad sanguínea heredable, estudiada desde 1910, cuando se descubrió el primer caso de drepanocitosis;² posteriormente, se determinó que el fenómeno obedecía a una disminución de oxígeno en el plasma.

En el mundo existen cerca de 100-300 millones de habitantes reconocidos como portadores de HbS;³ la sustitución de ácido

glutámico por valina en el gen β de la hemoglobina conduce a un cambio estructural de esta, que provoca una mutación la cual, al heredarse, puede generar individuos portadores de HbS (heterocigotos AS) o una condición homocigota (SS) que padece la enfermedad drepanocítica.

La condición de portador tiene un 50 % de probabilidades de transferir el gen afectado a la descendencia, o bien, pueden ocurrir cruces entre portadores que favorecen la aparición de homocigotos para el gen S o alguna de las variantes patológicas del gen beta, favoreciendo el padecimiento de la enfermedad drepanocítica.

La condición de portador por lo general se considera asintomática; sin embargo, se ha reportado alteraciones a nivel renal,^{3,4} incluso podría considerarse como factor de riesgo para desarrollar nefropatía diabética. Se ha demostrado con evidencias clínicas y de laboratorio, que tanto el paciente con anemia drepanocítica como el portador de HbS, presentan neuropatía autonómica, lo cual constituye un riesgo demostrado de muerte súbita.³ Otras alteraciones que se han evidenciado son: carcinoma de médula renal, hematuria, necrosis papilar renal, infarto esplénico y muerte súbita relacionada con el ejercicio.

Las crisis drepanocíticas en portadores ocurren cuando los eritrocitos son sometidos a condiciones de hipoxia, acidosis, deshidratación, hiperosmolaridad, hipotermia o elevación del 2,3-DPG.

Otro factor de riesgo es la hematuria, observada en personas con rasgo falciforme (HbAS) y común en los drepanocíticos. El carcinoma de médula renal de muy mal pronóstico, es descrito casi exclusivamente en población con rasgo falciforme y es mucho menos frecuente en la enfermedad drepanocítica.^{3,4}

El mayor número de individuos portadores de hemoglobina S se encuentra en África y en la región del Mediterráneo,² siendo hoy la migración alrededor del mundo, un factor importante para el cambio genético poblacional.

En Costa Rica, a partir de octubre de 2005, el Programa Nacional de Tamizaje⁵ inició la detección de hemoglobinas anormales en la población neonatal costarricense, con una cobertura actual del 97 %, que posibilita favorecer la detección temprana de portadores y enfermos.⁵

Norteamérica, Suramérica, Cuba y España, al igual que Costa Rica, han desarrollado programas para el diagnóstico y prevención de la drepanocitosis,^{2,5,6-10} con el objetivo de identificar y suministrar asesoría a las parejas que tienen riesgo de concebir hijos afectados,¹ y ofrecen en el primer nivel de atención un tamizaje de hemoglobinas anormales en gestantes.¹⁰

Costa Rica ha sido influenciada desde el siglo XVI por población inmigrante de África ecuatorial, Jamaica y Cuba, entre otros, migraciones que modificaron la genética de la población indígena autóctona, la cual carecía de este tipo de defectos genéticos.^{11,12} En el país se inicia en 1966 la búsqueda de hemoglobinas anormales, y se reporta para esa fecha en la provincia de Guanacaste (Ciudad de Santa Cruz), un 7,5 % de heterocigotos y un caso homocigoto por HbS.¹²

En los años 80 se inició el análisis e investigación de las hemoglobinopatías con la creación del Centro de Investigación en Hemoglobinas Anormales y Trastornos Afines (CIHATA), de la Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica, identificándose en 12000 escolares una frecuencia del 4,4 % para el fenotipo AS y una frecuencia del 0,4 % para el fenotipo AC en caucásicos, para la raza negra un 10,9 % de HbAS y un

3,7 % para HbAC; posterior a esta fecha se han reportado varias hemoglobinas autóctonas.¹²

Actualmente la influencia de migrantes del Sur, Centro y Norte de América, Islas del Caribe, al igual que de Europa, África y el Oriente, favorece la mezcla fenotípica de los habitantes del país.^{11,13}

La variante de HbS en Costa Rica se encuentra distribuida en todo el territorio y la frecuencia de casos es similar en las provincias de Guanacaste (18,8 %) y Limón (16,50 %); estos datos corresponden a un estudio realizado entre octubre de 2005 y octubre de 2006, en la población neonatal.⁵ Por otro lado, la frecuencia de la variable de HbC es mayor en la provincia de Limón (2,4 %) que en Guanacaste (0,70 %) ⁵, ambas variantes (HbS y HbC) son muy frecuentes en la provincia de San José, por ser la capital y la que alberga la mayor población del país, con un 27 % para HbS y un 2,2 % en HbC.⁵

Al existir un alto número de portadores de genes de hemoglobinas anormales en Costa Rica y siendo Guanacaste una de las tres provincias con mayor cantidad de casos, se hace necesario en esta área conocer la población y concienciar de las consecuencias de la transmisión de estos genes mutados a los hijos, así como de alertar posibles manifestaciones clínicas que pueden presentar los portadores. Conocer los riesgos a los que están sometidos los pacientes permite al Área de Salud adecuar la atención médica para prevenir o minimizar riesgos en las personas afectadas.⁷

En Latinoamérica, incluyendo Costa Rica, el uso de equipos para análisis de Hb glicosilada en centros médicos del sistema nacional público de salud (Caja Costarricense de Seguro Social, CCSS), con base en el método de detección HPLC, ha sido una herramienta muy útil para la detección de variantes de hemoglobina, entre ellas: Hb S, Hb C y Hb D.^{13,14}

El objetivo de la presente investigación fue detectar la presencia de variantes de hemoglobina en pacientes examinados rutinariamente por hemoglobina A1c (HbA1c). El programa de tamizaje neonatal del Hospital de Niños cuenta con una estadística de variantes detectadas en la población neonatal de Carrillo, mas no existen investigaciones sobre este tema en la población en general.

Cuadro 1. Variantes de hemoglobina detectadas y frecuencia respecto a la población estudiada por HbA1c, en la sección de Química Clínica del Servicio de Laboratorio Clínico del Área de Salud de Carrillo, Guanacaste (CCSS). Enero-octubre, 2018				
Variante detectada	Cantidad de pacientes N: 2775	Frecuencia de portadores	% de portadores	Frecuencia según tipo de variante
HbS	162	1/17	5,8	97 %
HbC	5	1/555	0,2	3 %
HbD	0	0	0	0
Total	167	1/17	6,0	0

Métodos

Métodos: se analizó 2775 datos de muestras sanguíneas de pacientes de los nueve equipos básicos de salud (EBAIS) que conforman el Área de Salud de Carrillo, y que además requirieron estudio por hemoglobina glicosilada en el período de enero a octubre de 2018. El análisis se realizó en el laboratorio del Área de Salud de Carrillo. Las muestras fueron recolectadas en tubos vacutainer con EDTA y analizadas en el equipo automatizado TOSOH HLC-723GX, utilizando la metodología cromatografía de intercambio catiónico con la separación y cuantificación de las diferentes fracciones de hemoglobina: H-VO, H-VI y H-V2, que corresponden a Hb D, Hb S y Hb C, respectivamente. El estudio fue observacional, descriptivo y transversal.

No se excluyó ningún dato, ni por edad ni por sexo; se tomó un reporte por paciente en caso de pacientes con más de 1 resultado en el periodo de estudio.

Método de análisis de la muestra: las muestras se procesan en un sistema automatizado TOSOH HLC-723GX, en busca de variantes de hemoglobina; el método se basa en la separación de las fracciones de hemoglobina por cromatografía de intercambio catiónico, donde se genera una gradiente de pH y la carga presente en cada fracción favorece la separación y cuantificación correspondiente en un tiempo de elución dado, característico para cada una de ellas.

Los datos fueron obtenidos del sistema informático Labcore y provienen de los nueve EBAIS de atención y de otros centros de la CCSS que se enumeran en un solo apartado. El valor relativo de las frecuencias de las variables de hemoglobina se

realizó en Microsoft y se hace una distribución por localización geográfica.

El laboratorio participa en el programa externo de calidad de RIOAS, así como también existe un control interno que permite asegurar la calidad de los datos obtenidos con el procesamiento de las muestras sanguíneas.

No se aplicó el consentimiento informado a los pacientes, ya que se trabajó con datos obtenidos de la base informática del laboratorio y no directamente con pacientes, por lo que no se violentó de ninguna forma el derecho de las personas.

Resultados

Se analizó los datos de 2775 pacientes con una determinación de hemoglobina glicosilada durante el periodo en estudio (enero-octubre 2018). En aquellos que presentaron más de una muestra, solo se tomó en cuenta el primer dato. De un total de 1644 mujeres, 100 (6,0 %) presentaron variantes de hemoglobina, 95 pacientes eran portadoras de HbS y 5 presentaron la variante de HbC; en el caso de los hombres 67 (5,9 %), de un total de 1131, presentaron variantes, y en ellos solamente se observó la variante HbS. Se realizó la prueba de χ^2 para determinar si existía relación entre la variable género y la presencia de variables de hemoglobina en las personas analizadas. La relación entre ambas no fue estadísticamente significativa, $\chi^2 (1, N:2775) = 0,03, p = ,86$ (nivel de confianza: 95 %), lo cual indica que la detección de variantes de hemoglobina es independiente del género.

La población estudiada por EBAIS fue fluctuante, por esta razón se calcula la frecuencia relativa de las variantes por EBAIS

EBAIS	Distribución de variantes	Frecuencia relativa de portadores	Tipos de variantes detectadas	
			HbS	HbC
Norte	25	5,7 %	25	0
Sur	13	4,7 %	13	0
Belén 1	9	4,0 %	9	0
Belén 2	33	9,3 %	33	0
Sardinal 1	16	5,7 %	13	3
Sardinal 2	17	4,4 %	17	0
Sardinal 3	2	4,4 %	2	0
Paso Tempisque	29	8,3 %	28	1
La costa	17	6,6 %	16	1
Otras áreas salud	6	3,6 %	6	0

(Cuadro 2), notándose frecuencias desde 1/25 en el EBAIS de Belén 1 (4,0 %) hasta frecuencias de 1/11 en el EBAIS de Belén 2 (9,3 %), siendo la detección de variantes de hemoglobina HbS generalizada en todo el cantón de Carrillo. Se observó un grupo denominado “otras áreas de Salud” y en él se agruparon pacientes que se realizaron el examen, pero provienen de otros centros de la CCSS, por parte de los servicios de medicina mixta o medicina de empresa, sin que se les ubicara en el EBAIS correspondiente.

Discusión

El continente americano está influenciado por flujos migratorios que provocan en ocasiones una modificación genética, y Costa Rica no es la excepción; este factor influye en la aparición de nuevas variables de hemoglobina y al aumento de las ya existentes en la población.

En la sección de Química Clínica del laboratorio clínico del Área de Salud de Carrillo, se realizan determinaciones de hemoglobinas glicosiladas, cuyo método permite detectar a la vez la presencia de variantes de hemoglobina, observándose una frecuencia del 6,0 % de variantes de hemoglobina.

Varios trabajos realizados para determinar la presencia de hemoglobinopatías, tanto en Costa Rica como en otros países, han utilizado como muestra la sangre del talón de neonatos, con el fin de detectar de forma temprana las hemoglobinopatías.^{8,9,15}

La metodología utilizada por el equipo TOSOH HLC-723GX provee un tamizaje costo efectivo que permite además de realizar el análisis de la hemoglobina glicosilada, detectar variantes de Hb S, HbC y HbD, y tamizar una gran cantidad de población adulta de manera rápida, sin embargo, tales variantes deben confirmarse utilizando otro método diagnóstico.^{13,14} Esto permite abordar los casos de pacientes portadores o enfermos, que conforman una población en riesgo y a quienes se les puede brindar asesoramiento genético, ya que todo portador es una pareja de riesgo y por ley mendeliana, tienen un riesgo de un 25 % de tener un hijo afectado (SS, CC), un 50 % de que sea portador (AS, AC) y un 25 % de tener un hijo sano (AA). El equipo utilizado en el estudio no se ve afectado por la presencia de variantes de hemoglobina al realizar las mediciones de HbA1c (Manual Tosoh Automated Glycohemoglobin Analyzer HLC-723GX. TOSOH BIOSCIENCE).¹⁶

De las variantes de hemoglobina detectadas por el equipo, se encontró que el 97 % corresponde a la variante de HbS, con una frecuencia de aparición de 1/17 y una frecuencia relativa del 5,8 %; en mucho menor porcentaje se detecta la variante de HbC, con una frecuencia de 1/555 y una frecuencia relativa del 0,2 %, concordante con la distribución predominante de HbS observada en el país. Según datos del 2005-2006 del Programa Nacional de Tamizaje, en Guanacaste se tienen registrados 155 casos de hemoglobinas anormales, 144 de HbS, 5 casos de HbC y 6 casos de HbD.⁵

La distribución de casos observados por EBAIS varía desde un 4,0 % a un 9,3 %, lo cual merece la atención a nivel de salud pública. Detectar a tiempo la presencia de variantes de hemoglobina permite dar un asesoramiento genético adecuado y prevenir futuros pacientes con drepanocitosis; brindar una atención preventiva y promover la salud integral en la población es fundamental para mejorar la calidad de vida en las personas.¹⁷

En 2008, la Organización Mundial de la Salud recalca la importancia del estudio de las hemoglobinopatías, considerándolas un importante problema sanitario en donde “el cribado de las hemoglobinopatías debe ser contemplado como parte de los servicios básicos de salud”.¹⁸ Es por esta razón que como complemento al tamizaje neonatal de hemoglobinas anormales realizado en el país, se debería efectuar un cribado de la población mediante técnicas costo-efectivas, que permitan detectar de una manera rápida a los portadores de variantes.

La limitante de este estudio es el método de detección utilizado, pues la electroforesis de hemoglobina ofrecería información más detallada y confirmatoria, además de que no se está tamizando una muestra representativa de toda la población del cantón, sino solamente a las personas que acudieron al laboratorio porque requerían un examen de HbA1c.

La presencia generalizada de portadores de hemoglobinopatías en el cantón de Carrillo, Guanacaste, hace necesarios la educación, seguimiento y atención médica oportuna y adecuada a los portadores, siendo preciso incluir el tamizaje para detección de portadores de hemoglobinas anormales como parte de la atención médica rutinaria, debido al posible riesgo que conlleva el nacimiento de hijos con drepanocitosis, entre otras hemoglobinopatías.⁷ El asesoramiento genético a la familia y la educación al paciente sobre este tipo de enfermedades, son de suma importancia y deben ser fomentados en todos los centros médicos del país. La vigilancia y educación sanitaria son pilares que inciden en la salud pública y deben brindarse a nivel comunitario a través del sistema de atención primaria, con el fin de concienciar a la población respecto al problema, reducir la incidencia de la enfermedad y prolongar la supervivencia de los afectados. (Organización Mundial de la Salud, 59° Asamblea Mundial de la Salud. Anemia falciforme, informe de la secretaria. 24 de abril 2006.).

Ser informados es un derecho de las personas; por lo tanto, conviene desarrollar programas educativos cuyo tema sea la responsabilidad materna y paterna de los pacientes portadores de hemoglobinopatías, con el fin de crear conciencia y aminorar el impacto de la enfermedad.¹ Como investigación futura se puede medir el impacto del asesoramiento genético hacia los portadores de variantes de hemoglobina y enfermos detectados dentro del Área de Salud.

Referencias

1. Cuadra YB, Álvarez HV, Barroso NP, Góngora AS, Ferrer JF. Hemoglobinopatía SS y SC en lactantes. Repercusión de una paternidad no responsable. MEDISAN 2013; 17: 773-783.

Variantes de hemoglobina / Solis- Solis

- Zavala GL, Viera W, Castillo GE, Mejía GR, Bustillo PV, Fajardo EE, *et al*. Prevalencia de anemia drepanocítica en población de la comunidad de San Juan, Yoro Honduras. *Rev Fac Cienc Méd*. 2014. Enero- junio: 17-25.
- Agramonte LIO, Expósito DY, Miguel MM, Zamora GY. ¿Es realmente asintomático el portador de hemoglobina S? *Revista Cubana de Hematol, Inmunol y Hemoter*. 2015; 31:102-112.
- López KR, Ricard MA. Afectación renal en la enfermedad falciforme. *Nefrología* 2011; 31: 591-601.
- Abarca G, Navarrete M, Trejos R, De Céspedes C, Saborio Manuel. Hemoglobinas anormales en la población neonatal de Costa Rica. *Rev Biol Trop* 2008; 56: 995-1001.
- Audicio, P, Segobia, B, Queijo, C, Queiruga, G. Primeros resultados del Plan Piloto de Pesquisa Neonatal de Hemoglobinopatías en Uruguay. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2017; 51:243-248
- Campos NC, Ruiz YJ, Calvo MD, Evora TG, Raymond HL, Abad TL. Evaluación del programa de prevención de anemias por hematíes falciformes desde 1989 a 2013 en Guantánamo. *Rev. Inf. Cient*. 2015 ;89: 68-75.
- Cossio G, Chávez T, González D, Delgado M. Estudio preliminar de incidencias de hemoglobinopatías, en neonatos tamizados en el Hospital del Niño de Panamá. Agosto-diciembre 2009. *Pediatr Panamá* 2011; 40:15-18.
- Rosero M, Bermúdez A. Análisis de hemoglobinopatías en regiones afrocolombianas usando muestras de sangre seca de cordón umbilical. *Acta Med Colomb*. 2012; 37: 117-126.
- Taboada NL, Gómez MR, Algora AH, Arcas GE, Noa MM, Herrera MM. Pesquiasaje prenatal de hemoglobinopatías SS y C: 25 años de experiencia en la provincia de villa clara, Cuba. *Revista de Investigación e Información en Salud*. 2015;10: 33-39.
- Sáenz GF, Chaves MA, Quintana EM. Las hemoglobinopatías en Costa Rica. Aspectos históricos culturales y epidemiológicos. *Rev Cost Cient Méd*, 1986; 7: 95-106.
- Sáenz-GF. Hemoglobinas anormales. *Acta méd. Costarric*. 2005; 47: 173-179.
- Rodríguez WR, Villalobos JF, Salas PA, Hong LY, Chui DHK. Hemoglobina Raleigh en Costa Rica detectada como un valor falsamente elevado de Hemoglobina glicosilada. *Rev Biomed* 2012; 23: 33-38.
- Brannon TL, Agosti SJ, Man MA, Mastorides SM. Screening for hemoglobinopathies during routine hemoglobin A1c testing using the Tosoh G7 Glycohemoglobin Analyzer. *Ann Clin Lab Sci*. 2007; 37: 251–255.
- García OG, Chacin MT, Bravo MU, Gómez GO, Montilla SF, Merzon R, *et al*. Diagnóstico de hemoglobinopatías a partir de sangre de talón de recién nacidos en diferentes centros hospitalarios de Venezuela. *An Pediatr Elsevier* 2009; 71: 314-318.
- Sofronescu A, Williams L, Andrews D, Zhu Y. Resultados inesperados de hemoglobina A1 c. *Rev Clin Chem* 2011; 57:153-157.
- Solano MV, Salazar LS, Buzano LV. Prevalencia de los patrones electroforéticos de hemoglobina analizados en el CIHATA durante el periodo 2011-2013; *Rev Med UCR*. 2015; 9: 50-54.
- Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ*. 2008 Jun; 86:480-487.