

**Estudio comparativo: cromatografía líquida de alta presión versus electroforesis de hemoglobina. Diagnóstico de anemia drepanocítica****Comparative study: high pressure liquid chromatography versus hemoglobin electrophoresis. Diagnosis of sickle cell anemia**

\*Tania Soledad Licona Rivera, Julia María Gámez Alvarado, \*José Raúl Arita Chávez,

\*Silvia Laudelina Witty Norales, \*\*Carmen María Zúniga Valle,

\*\*\*Kenneth Antonio Maradiaga Orellana, \*\*\*\*Roxana Martínez

**RESUMEN:** La anemia de células falciformes (ACF) es la hemoglobinopatía hereditaria más común en el mundo. El diagnóstico definitivo se hace por electroforesis de hemoglobina (EFH), relativamente costosa. Por ello ante la sospecha diagnóstica se solicita Metabisulfito de sodio al 2% (MS2), que tiene un menor costo, aporta solo resultados cualitativos, y la confiabilidad depende de quien interprete. Se busca una alternativa económicamente accesible y con mayor certeza diagnóstica. **Objetivo:** describir y comparar los valores de Hemoglobina S (HbS) obtenidos mediante cromatografía líquida de alta presión (CLAP) y electroforesis de hemoglobina. **Pacientes y Métodos:** investigación cuantitativa, descriptiva, no experimental, en las comunidades de Masca y Pueblo Nuevo, Omoa, Cortés, en el 2017. Las comunidades tienen 2545 habitantes, de quienes se tomó muestra probabilística de 369. Encontrando 20 personas con prueba de MS2 positiva. En estos 20 casos se solicitó también CLAP y EFH. Los datos fueron analizados con SPSS versión 23, calculando frecuencias, porcentajes y medidas de tendencia central. **Resultados:** El 50% de los casos eran fenotípicamente mestizos. Los valores de CLAP estuvieron comprendidos entre 26.1% y 68.3% y los de electroforesis de hemoglobina entre 27.3% y 100%. La media aritmética de CLAP fue de 35.53 vs 45.3 para EFH. **Conclusión:** El valor de Hb S medido por EFH es cercano al obtenido por CLAP, por lo que este método podría usarse para un diagnóstico más rápido y a menor costo.

**PALABRAS CLAVE:** Anemia de células falciformes, cromatografía líquida de alta presión, diagnóstico, Electroforesis.

**ABSTRACT:** Sickle cell anemia (SCD) is the most common inherited hemoglobinopathy in the world. The definitive diagnosis is made by hemoglobin electrophoresis (EFH), which is relatively expensive. For this reason, when the diagnosis is suspected, sodium metabisulfite 2% (MS2) is requested, which is cheaper, but only provides qualitative results, and with reliability depending on who interprets. A low-cost alternative with greater diagnostic certainty is sought. **Objective:** Describe and compare the Hemoglobin S (HbS) values obtained by high pressure liquid chromatography (HPLC) and hemoglobin electrophoresis. **Patients and Methods:** quantitative, descriptive, non-experimental research in the communities of Masca and Pueblo Nuevo, Omoa, Cortes, in 2017. The communities have 2545 inhabitants, from whom a probabilistic sample of 369 was taken. We found 20 people with Positive MS2. In these 20 cases, HPLC and EFH were also requested. The data was analyzed with SPSS version 23, calculating frequencies, percentages and measures of central tendency. **Results:** 50% of the cases were phenotypically mes-

\*Profesor de la Escuela Universitaria de las Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Valle de Sula. EUCS, UNAH-VS. tania.licona@unah.edu.hn orcid.org/0000-0003-4348-7181 julia.gamez@unah.edu.hn orcid.org/0000-0001-5104-8221

jaritac@unah.edu.hn, orcid.org/0000-0001-6366-9308 silvia.witty@unah.edu.hn orcid.org/0000-0003-4076-784X

\*\*Profesor, carrera de Psicología, UNAH-VS carmen.zuniga@unah.edu.hn, orcid.org/0000-0002-6158-3874

\*\*\*Estudiante de Medicina, EUCS, UNAH-VS kennethforce06@gmail.com, orcid.org/0000-0001-9741-897X

\*\*\*\*Hematooncóloga Pediatra, Hospital Nacional Mario Catarino Rivas, Honduras. roxmartinezb@yahoo.de orcid.org/0000-0003-4880-3569

Recibido: 10 septiembre 2020 Aprobado: 15 mayo 2021

tizo. The HPLC values were between 26.1% and 68.3% and those of hemoglobin electrophoresis between 27.3% and 100%. The arithmetic mean for HPLC was 35.53 vs 45.3 for EFH. **Conclusion:** The Hb S value measured by EFH is close to that obtained by HLPC, so this method could be used for a faster diagnosis and at a lower cost.

**KEYWORDS:** Anemia, Sickle Cell, Chromatography, High Pressure Liquid, Diagnosis, Electrophoresis.

**INTRODUCCIÓN:** La anemia de células falciformes (ACF) es la hemoglobinopatía hereditaria más común, de carácter crónico desarrollada en personas que han heredado dos genes de globina alterada (uno de cada padre).<sup>(1-2)</sup> Se origina por una mutación en el sexto codón del gen de la  $\beta$ -globina, que codifica la cadena  $\beta$  de la hemoglobina, cuyo locus se encuentra en el brazo corto del cromosoma 11 (11p15.5) formando agregados fibrilares o polímeros de moléculas de Hb que alteran la morfología eritrocitaria y aumentan su rigidez, impidiendo atravesar normalmente la microcirculación de los tejidos.<sup>(3)</sup> Los pacientes que poseen rasgos de células falciformes son heterocigotos de HbS (AS); Allison et al.<sup>(4)</sup> demostró que estos pacientes parecían ser resistentes a la malaria. Los pacientes con Hemoglobina SS (HbSS) homocigotos tienen más probabilidades de morir por eventos vasooclusivos o de tener una esperanza de vida corta debido a la oclusión vascular continua y el daño orgánico asociado.<sup>(5)</sup>

Cada año nacen más de 330,000 niños con hemoglobinopatías (83% de casos de anemia de células falciformes y 17% de talasemia), causando aproximadamente un 3,4% de las defunciones entre los niños menores de 5 años. Alrededor del 85% de los trastornos de células falciformes y más del 70% de todos los nacimientos afectados ocurren en África<sup>(6)</sup> y es la enfermedad sanguínea hereditaria más común en los Estados Unidos.<sup>(7)</sup> En general se estiman prevalencias que van desde 5% hasta 15% a nivel mundial y en los datos estadísticos sobre investigaciones en Honduras arrojan resultados de 5.4% a 10%.<sup>(8-9)</sup>

El diagnóstico temprano de la Anemia drepanocítica (AD) es un elemento imprescindible para la prevención y el control de la enfermedad. También, la cuantificación de la HbS en los pacientes con AD que reciben hidroxiurea o sometidos a regímenes de hipertransfusión es esencial para el monitoreo de la efectividad de estos tratamientos.<sup>(10)</sup> La sospecha clínica es fundamental para poder hacer el diagnóstico, no obstante, el diagnóstico de certeza se basa en el análisis de la hemoglobina por electroforesis en pH alcalino. También se han implementado técnicas de espectrometría de masa y análisis de ADN.<sup>(11)</sup>

Los tratamientos disponibles actualmente se limitan a transfusiones e hidroxycarbamida, aunque el trasplante de células madre podría ser una terapia potencialmente curativa.<sup>(12)</sup>

El siguiente artículo tiene como objetivo describir y comparar los resultados de la cromatografía líquida de alta presión y la electroforesis de hemoglobina, en el diagnóstico de AD, en búsqueda de un método de diagnóstico económico y al alcance de la mayoría de la población de los países en vías de desarrollo como Honduras.

**PACIENTES Y MÉTODOS:** Se realizó una investigación cuantitativa, no experimental, de alcance descriptivo en las comunidades de Masca y Pueblo Nuevo, Omoa, Cortés, durante el año 2017.

Se eligieron dichas comunidades, tomando en cuenta que ahí habitan afrodescendientes, en quienes es más frecuente la anemia de células falciformes. Durante cuatro meses, se viajó desde San Pedro Sula, con el fin de recolectar los datos.

**Aspectos éticos:** se solicitó aprobación por el Comité de ética en Investigación de la Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud, UNAH-VS, el cuál fue favorable mediante dictamen 004-2017. Así mismo, se socializó la investigación con los líderes de las comunidades, quienes estuvieron de acuerdo y brindaron su valioso apoyo. A las personas, que participaron voluntariamente, se les explicó el motivo de la investigación y se les solicitó que brindaran consentimiento informado por escrito.

*Preliminarmente:* se realizó hemograma y metabisulfito de sodio a 369 pacientes. Las muestras se tomaron con técnica vacutainer, en un tubo de ensayo con anticoagulante ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), por un técnico en laboratorio, luego fueron transportadas en una hielera especial a un laboratorio con certificación internacional. La prueba de metabisulfito de sodio induce la formación de drepanocitos, al mantener la sangre total en un estado de hipoxia. Fue realizada y analizada por microbióloga de experiencia; se colocó una gota de sangre sobre un portaobjeto, se añadió una gota de metabisulfito de sodio al 2%, se colocó un cubre objeto, sellando los bordes para evitar el contacto con el oxígeno, se mantuvo a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se observó al microscopio óptico para determinar la formación de drepanocitos. Obteniendo 20 resultados positivos.

A los 20 pacientes, se les realizó (por conveniencia) cromatografía líquida de alta presión (CLAP) con el equipo de hemoglobina glicosilada D-10TM que ha sido diseñado para la determinación porcentual de los niveles de hemoglobina glicosilada A2 C y F, así como para la determinación de variantes anormales de hemoglobina, utilizando cromatografía líquida de alta resolución por intercambio iónico. Equipo, que antes de esta investigación, estaba siendo utilizado únicamente para hemoglobinas glicosiladas.

*Procedimiento:* para fines de esta investigación; en un tubo de ensayo con anticoagulante EDTA, se extrajeron 3- 4 ml de sangre y se colocaron en el equipo D-10TM con el reactivo para hemoglobina glicosilada (en ese momento, no se contaba con el reactivo específico), reportando datos cuantitativos de HbS.

*Posteriormente:* se les convocó para explicarles personalmente los resultados de los exámenes y brindarles indicaciones, siendo atendidos por la Hematoncóloga y la psicóloga de este grupo de investigación. Se les explicó que era necesario realizar otro examen laboratorial; electroforesis de hemoglobina EFH. En esta fase participaron 19 pacientes, uno se retiró.

*Análisis estadístico:* Se realizó una base de datos en el programa estadístico SPSS, versión 23. Para las variables descriptivas, se aplicaron frecuencias, porcentajes, medidas de tendencia central.

**RESULTADOS:** De los 20 pacientes con resultados de metabisulfito de sodio positivo, las características encontradas fueron:

Las edades estuvieron comprendidas entre los siguientes rangos: <20 años 5(25%), 20-40 años 10(50%), >40 años 5(25%). Además, se encontró que 13(65%) de los pacientes eran del sexo femenino y 10(50%) eran mestizos. (Ver tabla No. 1.)

**Tabla No. 1: Características de los participantes con metabisulfito de sodio positivo.**

Variable	Característica	Número	Porcentaje
<b>Sexo</b>	Femenino	13	65.00%
	Masculino	7	35.00%
<b>Escolaridad</b>	Analfabeta	3	15.00%
	Primaria incompleta	3	15.00%
	Primaria completa	5	25.00%
	Secundaria incompleta	2	10.00%
	Secundaria completa	6	30.00%
	Universidad completa	1	5.00%
<b>Estado Civil</b>	Soltero	10	50.00%
	Casado	3	15.00%
	Unión Libre	6	30.00%
	Viudo	1	5.00%
<b>Raza paciente</b>	Negra	5	25.00%
	Mulato	4	20.00%
	Mestizo	10	50.00%
	Blanco	1	5.00%
<b>Lugar de Nacimiento</b>	Masca	10	50.00%
	Otro lugar	10	50.00%

Fuente: Autoría propia

Los valores de hemoglobina estuvieron comprendidos entre 7.85g/dl y 16g/dl, con: media 12.7g/dl, mediana 13g/dl, moda 12g/dl y desviación estándar de 1.7. Los valores de hematocrito estuvieron comprendidos entre 21.6% y 46.9% con: media de 37.1%, mediana 38.2%, moda 32% y desviación estándar 5.2. Los valores más bajos de hematocrito y hemoglobina, correspondían a la paciente con HbSS.

A 19 pacientes se les realizó electroforesis de hemoglobina, encontrando 1(5.3%) paciente con 100% de HbS y 18(94.7%) con HbAS. Los valores de Cromatografía líquida de alta presión (CLAP) estuvieron comprendidos entre 26.1% y 68.3% y los resultados de electroforesis de hemoglobina entre 27.3% y 100%. (Ver tabla No. 2).

**Tabla No. 2: Comparación de resultados de CLAP y EFH.**

No.	Cromatografía líquida de alta presión (HbS%)	Electroforesis de hemoglobina (HbS%)
1	26.10	27.30
2	26.60	28.90
3	27.00	33.20
4	28.90	39.00
5	30.10	39.10
6	31.20	41.40
7	33.70	41.40
8	34.00	42.20
9	34.40	42.30
10	35.40	42.90
11	36.00	43.70
12	36.20	45.10
13	36.40	45.70
14	36.90	46.30
15	37.10	47.80
16	37.70	49.20
17	37.70	52.50
18	38.30	53.40
19	38.70	*NSR
20	68.30	100.00
Media	35.53	45.3
Mediana	35.7	42.9
**DE	8.73	14.9

\*NSR= No se realizó    \*\*DE= Desviación estándar

Fuente: Autoría propia

En cuanto a las manifestaciones clínicas de los pacientes se encontró que 12(60%) eran asintomáticos y 8(40%) presentaron uno o más síntomas, cabe mencionar que la paciente con resultado de 100% de HbS según electroforesis, tenía 21 años y había presentado palidez, ictericia, dolor abdominal y 1 evento cerebrovascular, estaba en tratamiento, pero con mala adherencia.

**DISCUSIÓN:** Se encontró que el 50% de los pacientes, estaban en el grupo de edad de 20 a 40 años, la paciente con Hb SS tenía 21 años. En 1973, la supervivencia media estimada de los pacientes con drepanocitosis fue de 14,2 años, en el 1994 el promedio de sobrevivida en el adulto era de 42 años en hombres y de 48 años en las mujeres y en el 2004, en el Instituto de Hematología e Inmunología (IHI) Cuba, fue de 53 años. En el estudio realizado por Machín García et. Al. en Cuba, se encontró que el 50.1% tenían entre 31-59 años.<sup>(13)</sup> Lo anterior, se explica, debido a los avances en los tratamientos.

Las mujeres representaron la mayoría de la población con el 65%, datos que son similares a otros estudios donde predomina el sexo femenino, y dentro de las razones se encuentra la mayor esperanza de vida de las mujeres y la mayor asistencia en busca de salud por ellas mismas.<sup>(14-15)</sup>

De las personas que participaron en el estudio, el 60% eran asintomáticos, 94.7% tenían el rasgo de anemia drepanocítica (HbAS) y 5.3% tenían la enfermedad (HbSS). Situación que se asemeja a lo descrito en otras publicaciones científicas que recalcan que el estado portador y tener una sola cadena beta mutada es una afección benigna que raras veces origina síntomas. La HbAS es un factor de riesgo de complicaciones graves poco frecuentes. Por lo tanto, el conocimiento del propio estado de HbAS es importante en la prevención de complicaciones graves poco frecuentes y en la planificación familiar.<sup>(16, 17)</sup>

Aunque el paciente heterocigótico o portador de la hemoglobina S, es considerado como un individuo no enfermo y parcialmente protegido contra la malaria; determinados procesos patológicos que ocasionan hipoxia, acidosis, deshidratación, hiperosmolaridad, hipotermia o elevación del 2,3-DPG (2,3 difosfoglicerato) eritrocitario pueden transformar el estado de portador de hemoglobina S en un síndrome vasoclusivo debido a la rigidez de los eritrocitos; características mostradas por el paciente homocigótico. Las manifestaciones clínicas que presenta el portador de la hemoglobina S se clasifican en cuatro grupos: a) *Definitivas*: carcinoma de la médula renal, hematuria, necrosis papilar renal, hipostenuria, infarto esplénico, rabdomiolisis, muerte súbita relacionada con el ejercicio y la protección contra la malaria por *Plasmodium falciparum*. b) *Probables*: hifema complicado, tromboembolismo venoso (TEV), pérdidas fetales, bajo peso al nacer. c) *Posible*: síndrome torácico agudo, bacteriuria asintomática en el embarazo y retinopatía proliferativa. y d) *Improbable*: accidente vascular encefálico, litiasis vesicular, priapismo, úlceras maleolares y necrosis avascular de la cabeza femoral.<sup>(18)</sup>

Los valores hematológicos estuvieron comprendidos entre 7.85 y 16 g/dl para la hemoglobina y entre 21.6 – 46.9% para el hematocrito, siendo los valores más bajos los correspondientes a la paciente con HbSS, resultados que concuerdan con los obtenidos en un estudio en Palestina, donde participaron 25 pacientes heterocigotos con Hb de  $12.9 \pm 1.67$  y 59 pacientes homocigotos, con Hb  $8.4 \pm 1.09$  g/dl.<sup>(19)</sup>

En Estados Unidos, los programas universales de detección de recién nacidos identifican con precisión a todos los bebés con anemia de células falciformes poco después del nacimiento, lo que permite que los programas de educación temprana y tratamiento comiencen antes de que ocurran complicaciones de la enfermedad. En los países desarrollados, estos enfoques permiten que entre el 95% y el 99% de los niños con anemia de células falciformes sobrevivan hasta la edad adulta. En contraste, la supervivencia de niños con esta enfermedad, nacidos en países en desarrollo es pésima; se estima que entre el 50% y el 90% de los niños afectados morirán antes de los 5 años, debido a complicaciones, más comúnmente enfermedad neumocócica, malaria o enfermedad diarreica.<sup>(20)</sup> En Venezuela, se realizó un estudio descriptivo de 129 neonatos de ambos sexos, nacidos en la Unidad de Neonatología de un Centro de Salud Pública de la ciudad de Puerto Cabello, estado venezolano de Carabobo, a los recién nacidos que participaron en el estudio, se les realizó electroforesis de hemoglobina,<sup>(21)</sup> pero no es una política de estado.

Para el diagnóstico de anemia de células falciformes la sospecha clínica es fundamental, ya que el hemograma no siempre es característico. Se puede observar anemia normocítica normocrómica, con o sin reticulocitos, en el frotis pueden no ser evidentes los glóbulos rojos en forma de hoz y para verlos será necesario someterlos a hipoxia en el "Test de Sickling", que consiste en exponer las células sanguíneas a un reductor de oxígeno (metabi-sulfito de sodio) para desoxigenar hemoglobina e inducir la formación de células falciformes. La prueba es positiva si se observan drepanocitosis al microscopio después de 24 horas, sin embargo, esta prueba no ayuda a clasificar los pacientes homocigotos y heterocigotos. También se han implementado técnicas de espectrometría de masa y análisis de ADN. El diagnóstico de certeza se basa en el análisis de la hemoglobina por electroforesis en pH alcalino,<sup>(11)</sup> estudio que, debido a su alto costo, es poco accesible para la mayoría de la población hondureña.

Investigadores en Ohio, publicaron un prototipo de inmunoensayo novedoso, rápido y de bajo costo, para uso en la propia consulta médica o al pie de la cama del paciente, con el nombre comercial de Sickle SCANTM (BioMedomics, Inc., EEUU), diseñado para identificar HbA, HbS y HbC, detectables aun en concentraciones tan bajas como del 1– 2%, el cual ha sido aplicado en Cuba. No obstante, en Honduras no se cuenta con este método diagnóstico.<sup>(10)</sup>

En esta investigación, se encontró que, al comparar los resultados según CLAP y electroforesis de hemoglobina, los pacientes con bajos porcentajes de HbS concordaban según ambos métodos (26.10 y 27.30% respectivamente) y los pacientes con valores más altos se correspondían entre sí (68.30 y 100.00% respectivamente). Así mismo, la media de HbS por CLAP fue de 35.53 vs 45.3 para EFH. Sin embargo, no fue posible establecer correlación, debido al número de la muestra. Los datos concuerdan con lo reportado por Edwards et. al, quienes describieron un método rápido (aproximadamente 90 segundos) completamente automatizado para cuantificar la hemoglobina S (HbS) mediante cromatografía líquida de alta presión. Los niveles de HbS en sangre obtenidos por este método se correlacionaron bien con los obtenidos por electroforesis en agarosa ( $r(2) = 0.97$ ,  $n = 81$  pacientes).<sup>(22)</sup>

Entre las limitantes de la investigación, se encontró el no poder realizar más pruebas a pacientes con HbS, debido al costo económico que ello implica y la distancia hacia ambas comunidades.

Honduras, es un país en vías de desarrollo, muchos de los pacientes que acuden a los hospitales públicos, no cuentan con suficientes recursos económicos para costearse la electroforesis de hemoglobina, cuyo costo es de aproximadamente 2,500 lempiras (\$100.00) y antes de esta investigación era el método para el diagnóstico de anemia de células falciformes en este país. Se descubrió que la máquina que normalmente es usada para realizar la hemoglobina glucosilada mediante cromatografía líquida de alta presión, también detecta el porcentaje de hemoglobina S, identificando así a los heterocigotos y homocigotos de anemia drepanocítica, por un menor costo, aproximadamente 500.00 lempiras (\$20.00) lo cual es más accesible, para la mayoría de la población.

**Conclusiones:** Estos resultados pueden ser considerados para indicar con seguridad CLAP para diagnóstico de anemia drepanocítica, los cuales se obtienen a un precio más accesible

para la población. También, podrían ser utilizada, para tamizaje en búsqueda de hemoglobina S, principalmente en recién nacidos para inicio temprano de tratamiento, en parejas que están próximos a formar un hogar, para evitar la unión entre portadores de hemoglobina S, que tendrían altas probabilidades de tener hijos con la enfermedad.

**Agradecimientos:** al Programa Corredor del Quetzal, por proveer los recursos para los análisis clínicos y a la Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Valle de Sula, por brindar el transporte para llevar a cabo las visitas a las Comunidades.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Cooper TE, Hambleton IR, Ballas SK, Johnston BA, Wiffen PJ. Pharmacological interventions for painful sickle cell vaso-occlusive crises in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Nov 14;2019(11):CD012187. doi: 10.1002/14651858.CD012187.pub2.
2. Aleluia MM, Fonseca TCC, Souza RQ, Neves FI, da Guarda CC, Santiago RP et al. Comparative study of sickle cell anemia and hemoglobin SC disease: clinical characterization, laboratory biomarkers and genetic profiles. *BMC Hematol*. 2017;17(1). doi: 10.1186/s12878-017-0087-7.
3. González García R, Cañedo IM, Pita JA. Electroforesis de hemoglobina en hijos de madres portadoras de hemoglobinopatías SS y SC. *Rev Ciencias Médicas [Internet]*. 2018 [citado 11 junio 2020];22(1):14-20. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pd=S1561-31942018000100004&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pd=S1561-31942018000100004&lng=es).
4. Allison A. (Protección que ofrece el rasgo drepanocítico contra la infección subteriana malarial. *Br Med J*. 1954;1(4857):290-294. doi:10.1136/bmj.1.4857.290
5. Piccin A, Murphy C, Eakins E, Beatrice M, Massimo R, Daves M, Vecchiato C et. al. Conocimiento de la compleja fisiopatología de la anemia falciforme y su posible tratamiento. *Eur J Haematol [Internet]*. 2019 [citado 11 junio 2020];102(4):319-330. Disponible en: [https://login.research4life.org/tacsgr1doi\\_org/10.1111/ejh.13212](https://login.research4life.org/tacsgr1doi_org/10.1111/ejh.13212)
6. Modell B, Darlisona M. Epidemiología global de los trastornos de hemoglobina e indicadores de servicio derivados. *Bul World Health Organization [Internet]*. 2008[citado 11 junio 2020]; 86(6):480-487. Disponible en: <https://www.scielosp.org/article/bwho/2008.v86n6/480-487/en/>
7. Willen SM, Rodeghier M, Strunk RC, Bacharier LB, Rosen CL, Kirkham FJ et al. La sensibilización a aeroalergenos predice el síndrome torácico agudo en niños con anemia falciforme. *Br J Haematol. [Internet]*. 2018 [citado 11 junio 2020]; 180(4):571-577. [https://login.research4life.org/tacsgr1doi\\_org/10.1111/bjh.15076](https://login.research4life.org/tacsgr1doi_org/10.1111/bjh.15076)
8. Zavala GL, Viera W, Castillo GE, Mejía GE, Bustillo PL, Fajardo ER, et al. Prevalencia de anemia drepanocítica en población de la comunidad de San Juan, Yoro. *Rev Fac Cienc Méd*. 2014; 11(1):17-25.

9. Licona Rivera TS, Arita Chávez JR, Gámez Alvarado JM, Witty Norales SL, Zúniga Valle CM, Maradiaga Orellana KA, et al. Prevalencia de anemia drepanocítica en dos comunidades de Omoa, Cortés durante el año 2017. *Rev Cient Esc Univ Cienc Salud*. 2019; 4(2):5-13.
10. Rivero, Rene. Medio diagnóstico rápido y de bajo costo en la anemia drepanocítica. *Revista Cubana de hematología, Inmunol y hemoter*. 2016;32(2):156-159.
11. Zúñiga CP, Martínez GC, González RL, Rendón CD, Rojas RN, Barriga CF, et al. Enfermedad de células falciformes: un diagnóstico para tener presente. *Rev chil pediatr [Internet]*. 2018 [citado 29 mayo 2020];89(4):525-529. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0370-41062018000400525&lng=pt](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062018000400525&lng=pt)
12. Ware Russell E, de Montalembert M, Tshilolo L, Abboud MR. Sick cell disease. *Lancet*. 2017; 390(10091):311-323. doi:10.1016/S0140-6736(17)30193-9
13. Machín García S, Álvarez Molina I, Svarch E, Menéndez Veitía A, Hernández Padrón C, Sosa Palacios O. Morbilidad y mortalidad de la anemia drepanocítica: estudio observacional de 36 años. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]*. 2015 [citado 27 Junio 2020]; 31(3): 265-276. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892015000300005&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892015000300005&lng=es)
14. Quintero-Sierra Y, Dávila-Ramos Y, Svarch E, Hernández-Padrón C, Granda Bualles M. Atención de urgencia al paciente adulto con drepanocitosis del Instituto de Hematología e Inmunología. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]*. 2017 [citado 27 junio 2020]; 33(2): 1-12. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892017000200007&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892017000200007&lng=es)
15. Solís-Solís M. Detección de variantes de hemoglobina en pacientes examinados por hemoglobina A1c. *Acta méd. costarric [Internet]*. 2019 [consultado 27 junio 2020]; 61 (4): 160-165. Disponible en: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-60022019000400160&lng=en](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022019000400160&lng=en)
16. Kjellander C, B Sandstorm MK, Stiller V, Agren A. Sick cell anemia causes varied symptoms and high morbidity. Serious prognosis in the most common genetic disease in the world. *Lakartidningen*. 2015;112:
17. Daak AA, Elsamani E, Ali EH, Mohamed FA, Abdel-Rahman ME, Elderderly AY et al. Sick cell disease in western Sudan: genetic epidemiology and predictors of knowledge attitude and practices. *Trop Med Int Health*. 2016; 21(5): 642-653. doi:10.1111/tmi.12689
18. Agramonte-Llanes O, Expósito-Delgado Y, Miguel-Morales M, Zamora-González Y. ¿Es realmente asintomático el portador de la hemoglobina S?. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2015;31(2):102-112.

19. Samarah F, Srour M. Factor V Leiden G1691A and prothrombin G20210A mutations among Palestinian patients with sickle cell disease. *BMC Hematol.* 2018;18(1). doi: 10.1186/s12878-018-0097-0
20. Ware Russell E. Is Sickle Cell Anemia a Neglected Tropical Disease? *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7(5): e2120. doi:10.1371/journal.pntd.0002120
21. Kuder H, Lover G, Lugo Y, Espinoza M, Coccione S, Detección de hemoglobina S en neonatos del estado venezolano de Carabobo. *MEDISAN* [Internet]. 2014 [citado 31 julio 2020]; 18(8): 1121-1126. Disponible en:[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30192014000800013&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192014000800013&lng=es)
22. Edwards HD, Sabio H, Shihabi ZK. Rapid quantitation of hemoglobin S in sickle cell patients using the Variant II Turbo analyzer. *Ann Clin Lab Sci.* [Internet] 2009 [citado 31 julio 2020]; 39(1): 32-37. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19201738/>