UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

ESTANDARIZACION DE METODOS PARA LA DOSIFICACION DE MONOXIDO DE CARBONO EN SANGRE

Informe de Tesis

Presentado por

GENNY DANISA CASTRO MAVROS

Para optar al título de

QUIMICO FARMACEUTICO

Guatemala, noviembre de 1997

06
T(1841)
C.4

JUNTA DIRECTIVA DE LA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIO	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. HERBERT RAUL AREVALO ALVARADO
VOCAL V	BR. MANOLA ANLEU FORTUNY

ACTO QUE DEDICO

A DIOS	Guía en mi camino, porque Gracias a Él culmino mi carrera.
A MIS PADRES	Max Castro Crovella y Rosalind Mavros de Castro, con amor, en agradecimiento a sus esfuerzos y sacrificios.
A MI ESPOSO	José Félix Mendizábal Pinto, por su amor, apoyo y comprensión.
A MIS HIJAS	Claudia María y María Denisse, con amor, por ser motivo para mi superación.
A MI HERMANO	Max Castro Mavros, con mucho cariño.
A TODA MI FAMILIA	Cariñosamente.
A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS	Especialmente.

TESIS QUE DEDICO

A mi patria Guatemala.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Al Departamento de Toxicología "Julio Valladares Márquez".

AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento especial a la Licda. María Antonia Pardo de Chávez, por su asesoría y apoyo en la realización de esta tesis.

Al Departamento de Toxicología "Julio Valladares Márquez", por haber aportado los recursos materiales y financieros para realizar este estudio, y a todo su personal por el apoyo y colaboración que me brindaron.

A todas las personas que de una u otra manera contribuyeron en mi formación profesional.

INDICE

CONTENIDO	PAGINA
1. Resumen	1
2. Introducción	3
3. Antecedentes	5
4. Justificación	13
5. Objetivos	14
6. Hipótesis	15
7. Materiales y Métodos	16
8. Resultados	28
9. Discusión de Resultados	30
10. Conclusiones	32
11. Recomendaciones	33
12. Referencias	34
13. Anexos	39

1. RESUMEN

Debido a la importancia que tiene la dosificación exacta de monóxido de carbono en sangre en caso de una intoxicación, se considera necesario el estudio de métodos analíticos sencillos y prácticos para dicha determinación.

En los últimos años, la técnica más utilizada para la dosificación de monóxido de carbono en sangre, es la que utiliza el CO-Oxímetro, el cual es un equipo que mantiene la integridad de la muestra en todo el análisis, ya que se evita el manipuleo de las mismas. En este trabajo se consideró importante el estudio de otros métodos que pudieran ser aplicados como alternativa en caso de carecer de éste equipo.

Primeramente se realizó una revisión bibliográfica para seleccionar los métodos a ensayar, tomando en cuenta el equipo y reactivos con que cuenta el Departamento de Toxicología "Julio Valladares Márquez", con el objetivo de implantar un método exacto, preciso y rápido para la dosificación de monóxido de carbono en sangre que pueda ser aplicado en dicho laboratorio o en cualquier otro laboratorio toxicológico.

Con una exposición al monóxido de carbono de 0.25% en atmósfera, durante una hora, se alcanza un porcentaje de saturación de 60% en sangre, lo que ya es capaz de provocar la muerte (4,8). Se seleccionaron siete métodos, en los cuales se utilizaron seis muestras diferentes de sangre saturada con CO. Cada muestra de sangre se puso en contacto con monóxido de carbono durante una hora, para lograr una saturación de 60%.

Para las dosificaciones por medio de estos métodos se utilizó principalmente espectrofotometría UV-Vis.

Después de analizadas las muestras por los siete métodos, se descartaron cinco de ellos, debido a que presentaron mucha dispersión y poca exactitud en los resultados. El método espectrofotométrico de Baselt y el método de microdifusión y espectrofotometría de Stewart y Stolman, fueron analizados nuevamente utilizando la misma muestra de sangre saturada para los dos métodos.

Según los resultados obtenidos, con el método por microdifusión y espectrofotometría de Stewart y Stolman se obtuvieron mejores porcentajes de recuperación de CO, por lo tanto es el que se recomienda para la dosificación de monóxido de carbono en muestras de sangre, por poseer las cualidades de exactitud y precisión estadísticamente deseadas.

2. INTRODUCCION

El monóxido de carbono (CO) es un gas incoloro, insípido, inodoro, no irritante para la piel ni mucosas, con una densidad menor a la del aire; esas características determinan su extrema peligrosidad, pues se absorbe a través del alvéolo pulmonar sin causar irritación ni causticidad, por lo que el intoxicado puede no alertarse de su presencia ni evitar su inspiración.

El monóxido de carbono resulta de la combustión incompleta del carbono y materias carbonosas orgánicas, como papel, madera, gasolina, aceites, etc. (9).

La mayor producción exógena de monóxido de carbono son los gases provenientes de los escapes de vehículos automotrices, calentadores de gas natural, incendios, uso de carbón vegetal como fuente de calor, humo proveniente de cigarrillos, puros y pipas (1-6).

En Guatemala, se han reportado intoxicaciones por CO, causadas por el uso de hornillas de carbón y motores de vehículos encendidos en lugares cerrados, siempre con resultados fatales (7).

El monóxido de carbono se combina con la hemoglobina (Hb) para formar carboxihemoglobina (COHb), la cual es incapaz de transportar oxígeno, y trae como consecuencia la anoxia tisular (2).

La absorción de CO y los síntomas resultantes dependen directamente de la concentración de éste en el aire inspirado, tiempo de exposición y grado de actividad de la persona expuesta (2,3,8).

Los niveles sanguíneos de monóxido de carbono son: a) Normal o Terapéutico: 1%, b) Tóxico: 15-35%, c) Letal: 50%. (8).

Es importante dosificar el monóxido de carbono en muestras de sangre de personas expuestas y afectadas por dicho gas, para determinar el grado de intoxicación que presentan, los síntomas que se esperan y el tratamiento adecuado a seguir, por lo tanto se considera necesario el estudio de métodos analíticos sencillos y prácticos para dicha determinación.

En el presente trabajo se ensayaron siete métodos para la dosificación de monóxido de carbono en muestras de sangre saturadas con CO, con la finalidad de implantar el más exacto y preciso en el Departamento de Toxicología "Julio Valladares Márquez", o en cualquier otro laboratorio toxicológico, para la confirmación de una intoxicación por monóxido de carbono.

Los métodos ensayados fueron: espectrofotométrico de Baselt, microdifusión y espectrofotometría de Stewart y Stolman, Titulación, COHb por espectrofotometría visible, espectrofotométrico de Salt, Celda Conway y Bauer.

3. ANTECEDENTES

A continuación se mencionan algunos estudios realizados para la dosificación de monóxido de carbono (CO) en sangre.

En 1996, Maeda et.al, reportaron un estudio en el cual se realizó una evaluación post-morten por oximetría en víctimas de incendios. Para eso fueron analizadas 48 muestras de sangre de víctimas de incendios por medio de sistema CO-Oxímetro y evaluadas las diferencias oximétricas entre la sangre arterial y sangre venosa. Los niveles de carboxihemoglobina post-morten en la sangre del lado izquierdo y derecho del corazón respectivamente, fueron en el rango de 1.2 a 94.7% y de 0.4 a 90.5%. Fueron observadas marcadas diferencias en la sangre arterio-venosa y centro-periférico, en los casos de alta COHb (arriba de 70%), sugiriendo un efecto inmediato o fatal del envenenamiento por monóxido de carbono, probablemente acompañado de ataque agudo al corazón. Niveles de oxihemoglobina relativamente altos fueron observados en los casos de baja COHb (abajo de 30%). En algunos casos, niveles de hemoglobina reducida en la sangre del lado izquierdo del corazón fueron paradójicamente un poco altos que en lado derecho. Estos perfiles oximétricos pueden ayudar para considerar el balance final de gas en la sangre de víctimas de incendios, dependiendo del incremento de monóxido de carbono, dióxido de carbono y la reducción de oxígeno en la atmósfera de ambiente debido a la combustión, aunque interferencias post-morten podrían tomarse en consideración (10).

PROPIEDAD DE LA
biblio

En 1996, Nezhat et.al, reportaron un estudio para determinar el riesgo del envenenamiento por monóxido de carbono después de una prolongada cirugía laparoscópica. Se utilizó el laser y electrocirugía bipolar en todos los casos. Las muestras de sangre fueron tomadas antes y después de la cirugía. Las concentraciones de carboxihemoglobina fueron medidas usando un método altamente exacto de cromatografía de gases. Según los resultados obtenidos el envenenamiento por CO no es asociado con constantes procedimientos prolongados de cirugía laparoscópica (11).

Kalin Jack, en 1994, presentó una descripción de métodos específicos utilizados en laboratorios forenses para la detección del envenenamiento por monóxido de carbono. Los métodos espectrofotométricos para análisis de carboxihemoglobina en sangre ofrecen un diagnóstico rápido y simple de intoxicación por CO. Estos métodos exploran las características diferentes de absorbancia del espectro visible de la hemoglobina reducida, oxihemoglobina, metahemoglobina y carboxihemoglobina. Estas hemoproteínas tienen intensa pero relativamente indistinguible absorbancia visible máxima cerca de 400 nm, pero tienen identificable absorbancia máxima secundaria entre 500 y 600 nm. La hemoglobina reducida tiene una absorbancia máxima arriba de 555 nm, la oxihemoglobina tiene dos a 542 y 576 nm y la carboxihemoglobina tiene dos a 538 y 568 nm.

Otro método utilizado es por medio del CO-Oxímetro IL 282, el cual es un instrumento que se usa ampliamente para determinar las cuatro diferentes especies de hemoglobina. Las muestras de sangre post-mortem, tienen

características por las cuales debe hacerse ciertas modificaciones en el análisis rutinario, ya que deben ser tratadas con hidrosulfito de sodio (ditionito de sodio), para convertir toda la oxihemoglobina y metahemoglobina en hemoglobina reducida; la carboxihemoglobina no es afectada con este tratamiento.

Un método que puede utilizarse fácilmente para muestras de sangre post-mortem, en donde el CO-Oxímetro no puede ser empleado, es el espectrofotómetro con monitor de absorbancia visible a 541 y 555 nm. El diluyente amoniacal y el hidrosulfito de sodio no afectan el porcentaje de COHb. El método es linear para 0-100% de saturación. Se necesita preparar una curva estándar con sangre previamente burbujeada con el gas monóxido de carbono, y tener una muestra como blanco.

Otro método descrito es el de microdifusión, el cual es sensible arriba de 5-10%. Está basado en la reducción de cloruro de paladio a paladio metálico por el monóxido de carbono, el cual puede ser liberado por medio de ácidos fuertes. Los reactivos están encerrados en una celda Conway, en donde se lleva a cabo la reacción. Un resultado positivo es detectado cuando se forma una película de paladio metálico sobre la solución. Luego de descartar la película, la solución sobrante es leída por absorbancia visible a278 nm (12).

Van-Dam y Daenens, en 1994, reportaron un procedimiento mejorado de cromatografia de gases para la determinación de carboxihemoglobina (COHb) en sangre, utilizando un sistema capilar en combinación con un detector microtérmico. Este sistema es muy sensible con altas resoluciones, y el tiempo de análisis es reducido a aproximadamente dos minutos. Usando ácido sulfúrico como agente

liberador de monóxido de carbono, se observó una liberación gradual y reproducible de monóxido de carbono (CO). Esta reducción de tiempo es importante en casos de emergencia para la preparación de las muestras (13).

Kales, Pentiuc y Christiani, en 1994, reportaron un estudio para determinar la pseudoelevación de los niveles de carboxihemoglobina en un grupo de bomberos (apagafuegos). Para determinar los niveles de COHb se utilizaron dos métodos, uno espectrofotométrico y el segundo por medio del CO-Oxímetro. Con el CO-Oxímetro los resultados fueron bajos y también más reproducibles. La CO-Oximetría es una metodología más amplia y adecuada para situaciones clínicas de este tipo (14).

En 1994, Mori, et.al., reportaron un estudio para la detección de carboxihemoglobina investigando la absorción de la misma usando un sistema de microscopía infrarroja con transformador Fourier (FTIR). Se observó absorción débil a 1969 cm-1 debido al Fe<__CO y absorción fuerte debido al N-H con vibración extendida, >C=0 con vibración extendida y -NH con vibración inclinada (1544 cm-1). El radio de absorbancia a 1969 cm-1/1544 cm-1 puede ser usada como un índice de saturación de monóxido de carbono. Por lo tanto, con la sangre que permanece fija en los vasos sanguíneos y en los tejidos, la cantidad de carboxihemoglobina puede ser calculada usando este sistema de microscopía FTIR (15).

Marc Deveaux reportó, en 1994, un caso de suicidio dentro de un carro, por el monóxido de carbono proveniente del escape del vehículo encendido. La determinación de carboxihemoglobina fue realizada por Espectrometría Visible y

reveló que la sangre de la persona fallecida poseía una concentración de COHb de 80% (16).

Hendrik, Vreman y Stevenson, en 1994, reportaron un estudio en el cual el propósito era determinar si la carboxihemoglobina medida en sangre neonatal era afectada por la hemoglobina fetal (HbF), estudiando la influencia de las concentraciones de oxígeno y bilirubina. Para ello, utilizaron el CO-Oxímetro CCD 270 (Ciba Corning Diagnostics) afirmando que con este instrumento las mediciones de COHb eran insignificativamente afectadas por la HbF. Fueron analizadas mezclas de sangre del cordón/sangre de adulto y comparados los resultados con otros obtenidos por cromatografía de gases. Las mediciones de carboxihemoglobina con el CCD 270 fueron bajas con respecto a las obtenidas por cromatografía de gases, pero las diferencias no fueron clínicamente importantes. Se concluyó que las mediciones de carboxihemoglobina con el CO-Oxímetro CCD 270 no son afectadas por la hemoglobina fetal ni por concentraciones de bilirubina (17).

Mahoney, et.al., en 1993, reportaron un estudio en el cual realizaron mediciones de hemoglobina total y carboxihemoglobina (COHb) en muestras de sangre de 100 pacientes, utilizando cinco espectrofotómetros especializados (CO-Oxímetros): 1) IL 482 CO-Oxímetro, 2) Corning 2500 CO-Oxímetro, 3) Radiometro OSM 3 Hemoxímetro, 4) Corning 270 CO-Oxímetro y 5) AVL 912 CO-Oxylite. Los resultados fueron comparados con otros obtenidos con el manual de cianometahemoglobina y con el método de cromatografía de gases. Para las mediciones de hemoglobina total, las diferencias entre el método de

cianometahemoglobina y el de los CO-Oxímetros no fueron clínicamente importantes para ningún modelo. Para las mediciones de COHb en sangre, la dirección de la inclinación relativa de cromatografía de gases fue dependiente de la concentración de la misma. Muchos científicos consideran como método de referencia a la cromatografía de gases, ya que es más exacto, altamente específico para monóxido de carbono, y no es afectado por sustancias conocidas que causen interfencia espectral. Ciertas versiones de cromatografía de gases muestran excelente sensitividad, precisión y linearidad en extensos rangos de concentración de COHb. Sin embargo, la cromatografía de gases es generalmente limitada en laboratorios de investigación porque es muy compleja, por el tiempo que se consume y porque requiere de técnicas más especializadas para su operación. En general, los CO-Oxímetros subestimaron la concentración de COHb >2.5% de la hemoglobina total, pero sobreestimaron para concentraciones de COHb <2.5%. Se concluyó que los cinco CO-Oxímetros fueron comparados favorablemente con los métodos de referencia para hemoglobina total y para altas concentraciones de carboxihemoglobina. Sin embargo, la inexactitud de los CO-Oxímetros para bajas concentraciones de COHb (<2.5%), puede hacer estos instrumentos inadecuados para algunas aplicaciones (18).

Dimopoulos y Lefeidis, en 1993, reportaron un caso de suicidio de un hombre dentro de su carro por intoxicación con monóxido de carbono. Se realizaron análisis en sangre de etil alcohol por cromatografía de gases, y carboxihemoglobina por microdifusión, espectroscopía y espectrometría. En la microdifusión fue usada la celda Conway y el ácido sulfúrico al 10% como agente

de liberación. El análisis fotométrico fue realizado a 576 y 560 nm utilizando un espectrofotómetro Hitachi modelo 100-60 doble rayo. El radio de absorción a 576/560 fue calculado en la curva estándar para mezclas de carboxihemoglobina y oxihemoglobina en varias proporciones. Como resultado se encontró que la sangre contenía 53 mg % de etil alcohol y 75% de carboxihemoglobina (19).

Vreman, Stevenson y Zwart, en 1987, reportaron mediciones de carboxihemoglobina por cromatografía de gases, comparadas con otras obtenidas por análisis espectrofotométrico multicomponente (MCA). El método de cromatografía es lineal para proporciones de 0.15% a 30% de carboxihemoglobina. Dos meses después se hizo un reanálisis encontrándose que las muestras permanecieron estables durante ese tiempo, estando almacenadas a 4°C (20).

Dos técnicas para la dosificación de monóxido de carbono en la sangre fueron descritos por Frejaville y Bourdon. El primero es un método químico en el cual el monóxido es recogido por microdifusión en una solución de cloruro de paladio, al que reduce; después se hace una medición colorimétrica. La otra técnica dosifica el CO sanguíneo por absorción selectiva en el infrarrojo. Este método sensible y preciso da una respuesta inmediata, pero requiere un aparato especial para la extracción de los gases de la sangre (21).

Sunshine, describe tres procedimientos para la cuantificación de monóxido de carbono en sangre. El primero se basa en una microdifusión en celda Conway, el cual no permite una válida estimación de carboxihemoglobina abajo de 10%. La técnica depende de CO liberado de la COHb por un ácido libre el cual es adicionado a la muestra de sangre; utiliza cloruro de paladio y luego se hace la

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD ... GUATEMALA
Biblioteca

medición espectrofotométrica a 278 nm. En el segundo procedimiento, el porcentaje de carboxihemoglobina en una muestra de sangre completa, es determinada por espectrofotometría diferencial automatizada a 548, 568 y 578 nm, por medio de un aparato especial (CO-Oxímetro). El tercer procedimiento se basa en cromatografía de gases con detector de conductividad microtérmica, y parece ser el método más confiable de los tres (22).

4. JUSTIFICACION

El monóxido de carbono es uno de los tóxicos volátiles que por ser producto de cualquier combustión, es muy fácil que sea causa de intoxicaciones voluntarias o accidentales.

Por tal motivo es importante estudiar y seleccionar métodos analíticos exactos y precisos, que utilicen equipo y reactivos económicos y factibles de conseguir, para la dosificación de monóxido de carbono en sangre.

Con un método que cumpla con las características mencionadas, el Departamento de Toxicología "Julio Valladares Márquez" de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, podrá dosificar el monóxido de carbono en las muestras de sangre de personas intoxicadas y trabajadores expuestos a este gas, y así mejorar el servicio que se presta a los hospitales, organismo judicial y comunidad en general.

5. OBJETIVOS

5.1 General:

5.1.1 Estandarizar métodos analíticos para la dosificación de monóxido de carbono en sangre.

5.2 Específico:

5.2.1 Seleccionar un método preciso, exacto y accesible para la dosificación de monóxido de carbono en sangre, que pueda ser utilizado en los laboratorios de toxicología, aún sin contar con el equipo específico para monóxido de carbono (CO-Oxímetro).

6. HIPOTESIS

La dosificación de monóxido de carbono en sangre, puede realizarse con precisión y exactitud, aplicando métodos espectrofotométricos y métodos de titulación.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Universo de trabajo:

7.1.1 Métodos analíticos para dosificar monóxido de carbono en sangre.

7.1.2 Muestras de sangre saturadas con monóxido de carbono. (anexo No.1)

7.2 Medios:

7.2.1 Recursos Humanos:

Autora: Genny Danisa Castro Mavros.

Asesora: Licda. María Antonia Pardo de Chávez.

7.2.2 Recursos Materiales:

Instalaciones del laboratorio toxicológico "Julio Valladares Márquez".

Material, equipo, aparatos y cristalería utilizada regularmente en un laboratorio de análisis químico; además:

- Espectrofotómetro UV-Visible.
- Celdas Conway.
- Centrífuga.
- Tubos capilares heparinizados.
- Campana de extracción de gases.
- Contenedor de oxígeno.

Reactivos:

- Acido clorhídrico 0.01 N, 0.001 N, 0.1 N. *
- Acido sulfúrico 5 N, 10%, 50%. *
- Acido fórmico.

- Hidróxido de amonio diluído 0.007 N.
- Hidróxido de potasio 0.02 N.
- Bicarbonato de sodio.
- Cloruro de paladio 0.01 N, 0.05 N. *
- Yoduro de potasio 2%, 5%. *
- Tiosulfato de sodio.
- Hidrosulfito de sodio. *
- Cloruro de magnesio.
- Ferricianuro de potasio.
- Cianuro de potasio.
- Goma acacia 0.1%.
- Heparina.
- Azul de bromofenol 0.25%.
- Agua destilada.

- Preparación, anexo No. 2.

7.3 Métodos:

7.3.1 Método Espectrofotométrico de Baselt RC:

- Recolectar de 10 a 30 ul de sangre en un tubo capilar heparinizado. Sellar el extremo del tubo con cera o arcilla, y almacenar a 4 grados centígrados hasta el momento del análisis.
- Transferir la muestra de sangre a un frasco vial de 20 ml que contenga hidróxido de amonio diluído. Aforar con más hidróxido de amonio diluído, y cerrar el frasco con un tapón de plástico, sacando el aire antes de cerrarlo.
- Mezclar por inversión. Separar en tres porciones iguales.
- Transferir la porción (I) a una cubeta de 3 ml, y sellarla luego de que el aire haya sido excluído.
- Transferir otra porción (II) a un frasco vial limpio, y burbujear oxígeno directo a la solución, a razón de aproximadamente 50 ml/min, por 15 minutos.
- Burbujear CO a la porción final (III) con un valor alrededor de 50 ml/min, por dos minutos. Transferir las soluciones (II) y (III) a cubetas diferentes.
- Usar la solución (II) como referencia, y medir las absorbancias de las soluciones (I) y (III) a 414,421 y 428 nm en el espectrofotómetro.
- Cálculos: utilizar la siguiente fórmula:

$$\% \text{ COHb} = \frac{(I)\ 421 - 0.5\ [\ (I)\ 414 + (I)\ 428\ ]\ *\ 100}{(III)\ 421 - 0.5\ [\ (III)\ 414 + (III)\ 428\ ]}$$

- en donde: I y III representan las absorbancias de las soluciones (I) y (III) con la longitud de onda indicada.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE GUATEMALA
Biblioteca

- Interferencias: Volúmenes mayores de 30 ul pueden salirse de la linearidad del método.
- Evaluación: Sensibilidad : menor 1% de COHb; Linearidad: 1-40% de COHb; C.V.: 1-4%. (23).

7.3.2 Método de Stewart y Stolman: Determinación de Monóxido de Carbono en sangre por Microdifusión y Espectrofotometría:

- Colocación de la Celda Conway: A) compartimiento exterior: 1 ml de sangre con anticoagulante. B) compartimiento central: 2 ml de solución de cloruro de paladio 0.01 N. C) compartimiento exterior (agente de liberación): 1 ml de ácido sulfúrico al 10%. D) tiempo de difusión: 1 hora a temperatura ambiente.
- En presencia de CO, una película de paladio metálico aparece sobre la superficie del cloruro de paladio.
- Remover con una pipeta Pasteur el cloruro de paladio que no reaccionó, y transferir a un tubo de centrífuga. Centrifugar.
- Transferir con una pipeta de 0.1 ml, 0.1 ml del sobrenadante a un frasco volumétrico de 10 ml. En un segundo frasco volumétrico de 10 ml (control), colocar 0.1 ml de la solución original de cloruro de paladio.
- Agregar a cada frasco, 1 ml de la solución de goma acacia 0.1% y 1 ml de yoduro de potasio al 15%. Diluír a volumen y mezclar.
- Leer la densidad óptica a 500 nm, usando agua destilada para poner la densidad en cero.

- Cálculos: 0.1 ml de cloruro de paladio 0.01 N = 0.0528 mg de paladio. 1 mg de paladio equivale a 0.21 ml de monóxido de carbono (24,25).

$$\text{Volumen \% CO} = (\text{densidad control} - \text{densidad muestra desconocida}) * \frac{(0.0528)}{(\text{densidad control})} * 420$$

$$\text{\% Saturación} = \frac{\text{volumen \% CO}}{\text{gm \% de Hb} * 1.34}$$

- Técnica para determinación de contenido de hemoglobina (Hb) . (Anexo No.3)

7.3.3 Método alternativo por Titulación , para CO en sangre, utilizando Celda Conway:

- Dentro del compartimiento exterior pipetear 0.2 ml de ácido sulfúrico 5 N. Dentro del compartimiento interior poner 1 ml de cloruro de paladio 0.01 N en HCl 0.001 N conteniendo 0.5% de MgCl2. Poner la tapadera.
- Pipetear 2 ml de sangre diluída 1:4 en el compartimiento exterior. Cerrar inmediatamente y mezclar por rotación.
- Después de una hora y media, quitar la tapadera y transferir 0.8 ml de la solución del compartimiento central a un pequeño tubo de fondo plano.

- Agregar 0.1 ml de azul de bromofenol y titular la solución con hidróxido de potasio 0.02 N con una microbureta. El punto final es cuando aparece un color rojizo-púrpura y se mantiene.
- Se hace una titulación con un blanco de 0.8 ml de solución de cloruro de paladio usado como absorbente.
- La diferencia de la cantidad de ml gastados de KOH 0.02 N, entre la muestra y el blanco, se multiplica por 0.224 y da la cantidad de CO (en condiciones estándar) en 0.4 ml de sangre (2 ml de solución 1:4).
- La diferencia de la titulación multiplicada por 56 es igual al contenido de CO en volúmenes por 100 ml de sangre. (24).

7.3.4 Método para determinar Carboxihemoglobina por Espectrofotometría Visible:

- Determinar la concentración de hemoglobina en la muestra de sangre (anexo No. 3).
- Transferir 100 ul de sangre a un frasco volumétrico de 20 ml. Aforar con hidrosulfito de sodio. Mezclar por inversión.
- Centrifugar 5 ml de la muestra diluída a 2500 rpm por 5 minutos.
- Determinar la absorbancia del sobrenadante a 540 nm, contra un reactivo blanco.
- Cálculos:

$$\% \text{ COHb} = \frac{A - 0.0322\ Hb}{0.0445\ Hb - 0.0322\ Hb} * 100$$

- Donde A = absorbancia a 540 nm de la muestra de sangre diluída; y Hb = concentración de hemoglobina de la muestra original, en g/dl.
- Evaluación: Sensibilidad: 10% de saturación; linearidad : 10-60% de saturación.
- Interferencias: Concentraciones de COHb menores de 20% pueden dar resultados falso-positivos y falso-negativos. (26).

7.3.5 Método Espectrofotométrico de Salt:

- Llevar 0.1 ml de sangre a 12.0 ml con una solución diluída de amoníaco (deben utilizarse 0.2 ml de sangre si la hemoglobina total es de 12 g/100 ml).
- Dividir la sangre diluída en dos porciones de 6.0 ml; una de ellas se rotula "oxigenada".
- Hacer pasar oxígeno por esta fracción, a razón de 6 burbujas por segundo, utilizando un tubo de vidrio de 1.0 mm de diámetro.
- La otra fracción de sangre diluída se pone en un tubo del espectrofotómetro y se lee la densidad óptica contra un blanco de agua, a 600 nm. Se obtiene así la lectura L1.
- Se añade una pequeña cantidad de tiosulfato de sodio, se mezcla y se vuelve a leer la densidad óptica. Se obtiene así la lectura L2. Se añade un poco más de tiosulfato de sodio, se mezcla y se repite la lectura, para asegurarse de que la reducción fue completa.

- Hacer lecturas semejantes con la muestra oxigenada, antes y después de añadir tiosulfato. La lectura antes de la adición es L3, y la lectura después de la adición es L4.
- Cálculos : % de OxiHb = L2 menos L1 * 100

  L4 menos L3

  Lo anterior corresponde a:

  DO sangre diluída reducida - DO sangre diluída * 100

  DO sangre oxigenada reducida - DO sangre oxigenada

  Porcentaje de COHb = 100 menos % de OxiHb.

  DO = densidad óptica. (27).

7.3.6 Método con Celda Conway:

- Determinar el contenido de hemoglobina en una alícuota de la muestra original (anexo No. 3).
- Extender una pequeña capa de vaselina siliconada en la tapadera de la celda Conway.
- Pipetear 3.0 ml de cloruro de paladio 0.005 N en el compartimiento central de la celda .
- Pipetear 1.0 ml de ácido sulfúrico 3.6 N en el compartimiento exterior. Cubrir la celda y solo dejar espacio suficiente para adicionar 0.5 ml de sangre en el compartimiento exterior.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

- Tapar y mezclar por rotación. Dejar en reposo por 2 horas a temperatura ambiente.
- Observar la reducción del cloruro de paladio como una película de paladio metálico sobre la muestra.
- Transferir el contenido del centro de la celda cuantitativamente a un balón de 50 ml, lavando tres veces con 3.0 ml de ácido clorhídrico 0.1 N.
- Diluír el contenido a 50 ml con HCl 0.1 N y mezclar. Usar ácido clorhídrico como referencia, y determinar la absorbancia de esta solución a 278 nm.
- Determinar la absorbancia de 3.0 ml de cloruro de paladio 0.005 N, diluída a 50 ml con ácido clorhídrico 0.1 N.
- Estándares y cálculos: Diluír 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 ml de cloruro de paladio 0.005 N en 50 ml de ácido clorhídrico 0.1 N. Mezclar.
- Determinar la absorbancia de las soluciones de cloruro de paladio contra ácido clorhídrico 0.1 N, a 278 nm.

- Plotear las absorbancias obtenidas en la ordenada contra los volúmenes de CO (en dl) en la abscisa. Los valores de CO son los siguientes:

Volumen de Cloruro de Paladio ml/50 ml	Volumen de CO ml/100 ml
3.0	0.0
2.5	5.6
2.0	11.2
1.5	16.8
1.0	22.4
0.5	28.0

- Determinar los volúmenes de CO en la curva de referencia.
- Utilizar la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Carboxihemoglobina} = \frac{\text{Volumen CO} * 100}{\text{Hb (g/100 ml)} * 1.35}$$

- Interferencias: La interferencia de los sulfuros puede ser eliminada por substitución de solución de acetato de plomo-ácido acético, por ácido sulfúrico 3.6 N. (22,28).

- Para resultados más exactos, después de la dilución del blanco con 10 ml de yoduro de potasio, sacar 3 ml de éste y nuevamente diluír 1:2 con yoduro de potasio.
- Leer el blanco original y el blanco diluído en el espectrofotómetro a 490 nm.
- Cálculos:

$$\% \text{ de Saturación} = \frac{A(\text{blanco}) - A(\text{muestra})}{A(\text{blanco}) - A(\text{blanco diluído})} * \frac{16.5 * 50}{Hb}$$

(29).

7.4 Diseño de la Investigación:

7.4.1 Fueron seleccionados siete métodos de análisis, utilizando seis muestras diferentes de sangre saturada con CO en cada método, esperando obtener un porcentaje de recuperación de 60%, sin embargo debido a que en los datos obtenidos se observó mucha variación, fueron descartados cinco de los siete métodos seleccionados. Posteriormente se realizaron las pruebas con los dos métodos que presentaron resultados más cercanos a los esperados, utilizando para ello una misma muestra de sangre saturada para los dos métodos, y realizando diez repeticiones para cada uno de ellos.

7.4.2 Análisis de resultados: Se llevó a cabo por medio de la prueba estadística T Pareada o T de Poblaciones Dependientes.

8. RESULTADOS

De la revisión bibliográfica realizada, se eligieron siete métodos para dosificar monóxido de carbono en sangre. Las muestras de sangre fueron saturadas durante una hora con dicho gas para lograr una saturación de 60%, ya que éste porcentaje de saturación de CO es capaz de provocar la muerte (4,8).

En cada método se trabajaron seis muestras de sangre saturada. Se obtuvieron resultados con mucha variación en los porcentajes de recuperación dentro del mismo método y también en los métodos entre sí. (anexo No. 5, tabla No. 1).

De acuerdo con los resultados del anexo No.5, tabla No.1, fueron descartados cinco métodos (Titulación, COHb, Salt, Celda Conway y Bauer), tomando en cuenta la poca exactitud que mostraron. Los métodos de Baselt y de Stewart y Stolman, presentaron mejores recuperaciones de CO, por lo que de aquí en adelante el trabajo se concretó a realizar análisis sucesivos para determinar cual de esos dos métodos presentaba mayor exactitud y precisión. Para esto en los dos métodos se utilizó una misma muestra de sangre saturada, realizando diez repeticiones en cada uno de ellos, determinándose por medio de la prueba T Pareada, que existe diferencia estadística entre ambos métodos. (anexo No. 5, tabla No. 2).

Después de los análisis realizados, solamente con estos dos métodos, el método espectrofotométrico de Baselt presentó una media estadística de 44.47% de saturación de CO y una desviación estándar de 13.17. El método por microdifusión y espectrofotometría de Stewart y Stolman mostró una media

estadística de 58.11% de saturación de CO y una desviación estándar de 5.67, lo que demuestra que este método es más exacto, debido a que los valores encontrados siempre fueron suficientemente cercanos y bastante próximos al valor teórico esperado (anexo No. 6, gráfica No. 1).

El coeficiente de variación muestra la precisión de un método, siendo en este caso para el método de Baselt de 29.62 y para el método de Stewart y Stolman de 9.76, por lo que este último resulta ser el método más preciso para la dosificación de monóxido de carbono en sangre.

9. DISCUSION DE RESULTADOS

La discusión de los resultados de los métodos estudiados se basó en la dispersión de los valores encontrados y en la reproducibilidad de los mismos.

De los métodos estudiados, el de microdifusión y espectrofotometría de Stewart y Stolman, resultó ser el más exacto y preciso para la dosificación de monóxido de carbono en sangre.

Esto se demostró con la media estadística (58.11%), la desviación estándar (5.67) y coeficiente de variación (9.76), (anexo No. 5, tabla No. 3).

La media estadística de ese método demostró que los valores encontrados son muy cercanos a los esperados, por lo tanto resulta ser el más eficaz para la dosificación de monóxido de carbono en sangre. Según la desviación estándar, se pudo observar que hubo poca dispersión de datos con respecto a la media aritmética obtenida y por lo tanto hay mayor reproducibilidad en los porcentajes de monóxido de carbono recuperados.

La precisión está dada por el coeficiente de variación, siendo en este caso menor para el método por microdifusión y espectrofotometría de Stewart y Stolman. Los resultados variaron menos entre sí, que los resultados de los otros métodos estudiados.

Este método es el más preciso para dicha dosificación y es usado exitosamente en la determinación cualitativa y cuantitativa de monóxido de carbono en sangre. Tiene sensibilidad arriba de 5-10% de saturación.

Puede trabajarse con él muestras de tejidos y no exclusivamente de sangre (12).

El método de Stewart y Stolman se lleva a cabo por medio de microdifusión utilizando la celda Conway para la determinación cualitativa de monóxido de carbono, y la espectrofotometría UV-Visible para la determinación cuantitativa del mismo, lo cual es una de sus cualidades. Otra de sus ventajas es la poca manipulación de la muestra.

Con los resultados obtenidos en este trabajo se demostró que la dosificación de monóxido de carbono en sangre puede realizarse con exactitud y precisión por medio de métodos espectrofotométricos, ya que el método de Stewart y Stolman se incluye en dichos métodos.

10. CONCLUSIONES

10.1 El método de Stewart y Stolman es un método espectrofotométrico con el cual puede dosificarse con exactitud y precisión el monóxido de carbono en sangre.

10.2 El método de Stewart y Stolman puede ser utilizado con seguridad en laboratorios de toxicología, aún sin que cuenten con equipo específico para monóxido de carbono (CO-Oxímetro).

11.RECOMENDACIONES

11.1 Aprovechar la facilidad de aplicación del método de Stewart y Stolman para las dosificaciones rutinarias de monóxido de carbono en sangre, en los laboratorios de toxicología.

11.2 Cuando no se disponga de equipo específico para monóxido de carbono (CO-Oxímetro), aplicar el método de Stewart y Stolman para la dosificación de monóxido de carbono en sangre.

12. REFERENCIAS

1) Quer-Brossa S. Toxicología Industrial. España: Salvat S.A., 1983. XVI + 281 p. (p. 269-271).

2) Dreisbach RH. Manual de Toxicología Clínica; prevención, diagnóstico y tratamiento. 5 ed. México: El Manual Moderno, 1984. 568 p. (p.236-240).

3) Montoya MA. Toxicología Clínica. México: Francisco Méndez Cervantes. XIX + 400 p. (p. 203-205).

4) Calabrese AI, Astolfi EA. Toxicología. Buenos Aires: Editorial Kapeluz, 1969. 368 p. (p. 61-64).

5) Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 2 ed. USA: Biomedical Publications, 1982. 795 p. (p. 122-124).

6) Fabré R, et al. Compendio de Toxicología. Caracas: Universidad Central de Venezuela, vols. 2, vol. 1, 1962. 464 p. (p. 185-217).

7) Departamento de Toxicología. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Informes, 1990-1991.

8) Arena JM. Poisoning. 4 ed. USA: Charles C. Thomas, 1978. XXIX + 827 p. (p. 242, 246, 270 y 513).

9) Gisbert JA. Medicina Legal y Toxicología. 4 ed. Barcelona, España: MASSON-SALVAT Medicina Ediciones Científicas y Técnicas, S.A. XXIII + 1055 P. (P. 611-619).

10) Maeda H, et al. Evaluation of post-mortem oxymetry in fire victims. Forensic. Sci. Int. 1996; 81 (2-3):201-9.

11) Nezhat C, et al. The risk of carbon monoxide poisoning after prolonged laparoscopic surgery. Obstet. Gynecol. 1996; 88(5):771-4.

12) Kalin JR. Diagnosis of Carbon Monoxide Poisoning. Alabama: FTCB. Dept. of Forensic Services Birmingham. 1994. Chapter 12.

13) Van-Dam J, Daenens P. Microanalysis of carbon monoxide in blood by head-space capillary gas chromatography. J. Forensic. Sci. 1994; 39(2):473-8

14) Kales SN, Pentiuc F, Christiani DC. Pseudoelevation of carboxyhemoglobin levels in fire firefighters. J. Occup. Med. 1994; 36(7):752-6.

15) Mori A, et al. Detection of carboxyhemoglobin using Fourier transform infrared microespectroscopy. Nippon. Hoigaku. Zasshi. 1994; 48(1):1-6.

16) Deveaux, Marc. Suicide by Car Exhaust Gas. France: TIAFT: The Bulletin of the International Association of Forensic Toxicologists. 1994; 24(4):29-31.

17) Hendrik J, Vreman, Stevenson DK. Carboxyhemoglobin Determined in Neonatal Blood with a CO-Oximeter Unaffected by Fetal Oxyhemoglobin. Clin. Chem. 1994; 40(8):1522-1527.

18) Mahoney, et al. Measurement of Carboxyhemoglobin and Total Hemoglobin by Five Specialized Spectrophotometers (CO-Oximeters) in Comparison with Reference Methods. Clin. Chem. 1993; 39(8):1693-1700.

19) Dimopoulus GD, Lefeidis CA. A Fatal Poisoning with Carbon Monoxide from a Car Exhaust. Greece: TIAFT. The Bulletin of the International Association of Forensic Toxicologists. 1993; 23(3):28.

20) Vreman HJ, Stevenson DK, Zwart A. Analysis for Carboxyhemoglobin by Gas Chromatography and Multicomponent Spectrophotometry Compared. Clin. Chem. 1987; 33:694-697.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD
Biblioteca

21) Frejaville JR, Bourdon R. Toxicología Clínica y Analítica. Barcelona: Editorial Jims, 1979. XXII + 608 p. (p. 174-182).

22) Sunshine I. Methodology for Analytical Toxicology. USA: CRC Press, 1975. 478 p. (p. 64-66).

23) Baselt RC. Biological Monitoring Methods for Industrial Chemicals. USA: Biomedicals Publications, 1980. X + 301 p. (p. 68-71).

24) Stewart CP, Stolman A. Toxicology Mechanims and Analytical Methods. USA: Academic Press, vols. 2, vol. 1, 1960. XVII + 774 p. (p. 655-656).

25) Stolman A. Progress in Chemical Toxicology. USA: Academic Press, 1967. Vols. 3, XIV + 413 p. (p. 109-119).

26) Baselt RC. Analytical Procedures for Therapeutic Drug Monitoring and Emergency Toxicology. USA: Biomedical Publications, 1980. XII + 315 p. (p. 64-65).

27) Lynch MJ, et al. Métodos de Laboratorio. Trad: Felch R. México: Interame_ ricana, 1965. XV + 661 p. (p. 120-121).

28) Frankel S, Reitman S, Sonnenwirth AC. GRADWOHL´S. Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. USA: Mosby Company, 1970, vols. 2 vol. 1. XX + 1016 p. (p. 303-305).

29) Bauer JD, Ackermann PG, Toro G. Clinical Laboratory Methods. 8 ed. USA: Mosby Company, 1974. X + 974 p. (p. 794).

30) Tietz NW. Química Clínica Moderna. Trad: Toral MT. México: Interamericana, 1972. 1010 p. (p. 272-274).

13. ANEXOS

ANEXO No. 1

- TRATAMIENTO DE LA SANGRE A UTILIZAR:

Colocar en tubo de ensayo, una gota de anticoagulante (heparina) y agregar diez mililitros de sangre recién extraída. Mezclar por inversión.

- PREPARACION DE LAS MUESTRAS CON MONOXIDO DE CARBONO:

Un matraz de 500 ml recibe un embudo de llenado y un tubo de salida para el gas. En el matraz se ponen 100 ml de ácido fórmico al 97%. Se deja caer rápidamente por el embudo ácido sulfúrico concentrado hasta que el contenido del matraz alcance unos 60°C, luego se vierte más lentamente para que prosiga la reacción. Se dejan pasar unos minutos para que el CO desplace el aire, y se lleva el tubo con salida de gases al embudo de separación que contiene la sangre con anticoagulante, de forma que el monóxido de carbono desplace el aire del embudo. Tapar el embudo. Se deja de verter ácido sulfúrico y se espera a que termine la liberación de CO.

NOTA: realizar esta operación en la campana, con la ventana lo más bajo posible (27).

ANEXO No. 2

PREPARACION DE REACTIVOS:

- Cloruro de Paladio 0.01 N: Disolver 0.22 g de cloruro de paladio en 250 ml de ácido clorhídrico 0.01 N.
- Reactivo Hidrosulfito: Un gramo de hidrosulfito de sodio y un gramo de carbonato de sodio por litro de agua destilada.
- Solución diluída de Amoníaco (0.007 N): Un mililitro de solución concentrada de amoníaco (densidad 0.88) en un litro de agua destilada.
- Cloruro de paladio 0.005 N: Disolver 0.44 g de cloruro de paladio en 500 ml de ácido clorhídrico 0.1 N en un balón de un litro. Mezclar. Dejar toda la noche. Luego diluír a un litro con HCl 0.1 N. Un ml de cloruro de paladio 0.005 N equivale a 0.056 ml de CO.
- Acido Sulfúrico 3.6 N: Diluír 10 ml de ácido sulfúrico concentrado en 100 ml de agua destilada.
- Solución de acetato de plomo-ácido acético: Diluír 10 ml de ácido acético glacial en 100 ml de agua. Saturar esta solución con acetato de plomo.
- Yoduro de Potasio 2%: Disolver un gramo de yoduro de potasio en 50 ml de agua. Preparar justo antes de usarlo.
- Acido Clorhídrico 0.1 N: Diluír 8.5 ml de ácido clorhídrico concentrado a 100 ml.

...biblioteca

ANEXO No. 3

DETERMINACION DEL CONTENIDO DE HEMOGLOBINA: PROCEDIMIENTO DE CIANOMETAHEMOGLOBINA: (30).

■ REACTIVOS:

1. Estándar de hemoglobina (comercialmente en frascos de 5 ml con 80 mg de Hb/100 ml). Deben guardarse en refrigeración. La Hb está en forma de cianometahemoglobina.
2. Reactivo de Cianometahemoglobina:

Bicarbonato de sodio.....	1.00 g
Cianuro de potasio.....	50.00 mg
Ferricianuro de potasio.....	200.00 mg
Agua destilada c.s.p.....	1000.00 ml

La solución es estable, pero no debe congelarse. Este reactivo también se encuentra comercialmente.

■ PROCEDIMIENTO:

1. Depositar 5 ml del reactivo en un tubo de ensayo.
2. Aspirar sangre en una pipeta Sahli, limpiar el extremo haciendo que la sangre llegue hasta la señal de 0.02 ml.
3. Pasar la sangre al tubo de ensayo, y aspirar solución en la pipeta para efectuar un lavado de la misma; por lo menos lavar 3 veces la pipeta.
4. La dilución de sangre obtenida es 1:251.

5. Mezclar y dejar reposar por 20 minutos.
6. Leer en el espectrofotómetro a 540 nm, utilizando como blanco 5 ml del reactivo de cianometahemoglobina.
7. La concentración de Hb se lee utilizando la absorbancia obtenida en una curva de calibración preparada previamente con soluciones patrón, cuya concentración de Hb es conocida.

- CURVA DE CALIBRACION:

1. Se diluye 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 ml del estándar de 80 mg/100 ml, a 5.0 ml con reactivo de cianometahemoglobina. Los cinco estándares representan 4, 8, 12, 16 y 20 g de Hb/100 ml de sangre, respectivamente.
2. Leer los estándares frente al testigo (reactivo).
3. Construír una curva estándar por trazado del porcentaje de transmitancia o de absorbancia en función de la concentración de Hb.
4. Aunque la curva de calibrado es reproducible con el mismo lote de reactivos, es buena práctica tomar la lectura de un estándar de trabajo (el más alto) diariamente para comprobar la validez del calibrado.

- Los valores normales aceptados de hemoglobina en sangre son:

Varones sanos adultos: 13-18 g/100 ml.

Mujeres sanas adultas: 11-16 g/100 ml.

ANEXO No. 4

ENVENENAMIENTO POR CO

CO en Atmósfera	Duración de Exposición	Saturación en Sangre	Síntomas
Menor de 0.01 %	Indefinido	0-10%	Ninguno
0.01-0.02 %	Indefinido	10-20%	Opresión frontal, cefalea leve, dilatación de vasos cutáneos.
0.02-0.03 %	5-6 hrs	20-30%	Palpitaciones en la sien.
0.04-0.06 %	4-5 hrs	30-40%	Cefalea severa, debilidad y vértigo,nausea, vómitos, colapso, característico color rojo-cereza en labios, mucosas y piel.
0.07-0.10 %	3-4 hrs	40-50%	Lo anterior más: tendencia incrementada a colapso y síncope, incremento del valor del pulso y la respiración.
0.11-0.15 %	1.5-3 hrs	50-60%	Incremento del pulso y valor de respiración, síncope, respiración Cheyne-Stokes, coma con convulsiones intermitentes.
0.16-0.30 %	1-1.5 hrs	60-70%	Coma con convulsiones intermitentres, depresión cardíaca y respiratoria, posible muerte.
0.50-1.00 %	1-2 min	70-80%	Pulso débil, depresión respiratoria, falla respiratoria y muerte.

ANEXO No. 5

TABLA No. 1

PORCENTAJE DE RECUPERACION DE CO OBTENIDOS, MEDIA, DESVIACION ESTANDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE LOS SIETE METODOS ANALIZADOS

METODOS

sangre	1	2	3	4	5	6	7
1	41.01	58.33	9.8	98.5	19.42	13.76	2.27
2	41.00	61.33	9.8	209.17	35.66	14.55	10.00
3	52.32	59.00	8.4	100.98	72.73	15.29	2.12
4	70.28	64.83	8.4	135.00	21.43	15.34	7.48
5	68.88	67.17	5.6	111.60	27.19	13.23	0.50
6	70.70	59.69	2.8	183.00	20.83	15.40	0.70
X	57.36	61.72	7.47	139.71	32.88	14.59	3.84
S	14.41	3.54	2.75	46.28	20.42	0.92	3.94
CV	25.12	5.73	36.87	33.13	62.12	6.32	102.48

Métodos:

1- Baselt
2- Stewart y Stolman
3- Titulación
4- COHb
5- Salt
6- Celda Conway
7- Bauer

X = Media.
S = Desviación Estándar.
CV= Coeficiente de Variación.

ANEXO No. 5

TABLA No. 2

COMPARACION ESTADISTICA ENTRE LOS DOS METODOS QUE PRESENTARON MEJORES RECUPERACIONES DE MONOXIDO DE CARBONO

SANGRE	BASELT	STEWART Y STOLMAN	DIFERENCIA
1	40	59.83	-19.83
2	56.57	59.50	-2.93
3	61.45	56.58	4.87
4	31.56	52.00	-20.44
5	36.63	57.02	-20.39
6	69.82	67.64	2.18
7	41.00	59.43	-18.43
8	35.12	55.21	-20.09
9	35.22	65.30	-30.08
10	37.35	48.56	-11.21
SUMA	444.72	581.07	-136.35
MEDIA	44.47	58.11	-13.64
DESVIACION ESTANDAR	13.17	5.67	7.5
COEFICIENTE DE VARIACION	29.62	9.76	--

Con los datos mostrados en la tabla anterior (Tabla No. 2), se procedió a utilizar la Prueba estadística T Pareada o T de Poblaciones Dependientes, obteniéndose el siguiente resultado:

$$t = \frac{-13.64}{3.95} = 3.45 \quad \text{es mayor que } 2.262$$

$Ho = d = 0$

$Ha = d \neq 0$

Por lo tanto se rechaza la Ho, lo que significa que Sí existe diferencia estadística entre ambos métodos.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD

ANEXO No. 5

TABLA No. 3

MEDIA, DESVIACION ESTANDAR Y COEFICIENTE DE VARIACION DE LOS DOS METODOS QUE PRESENTARON MEJORES RESULTADOS

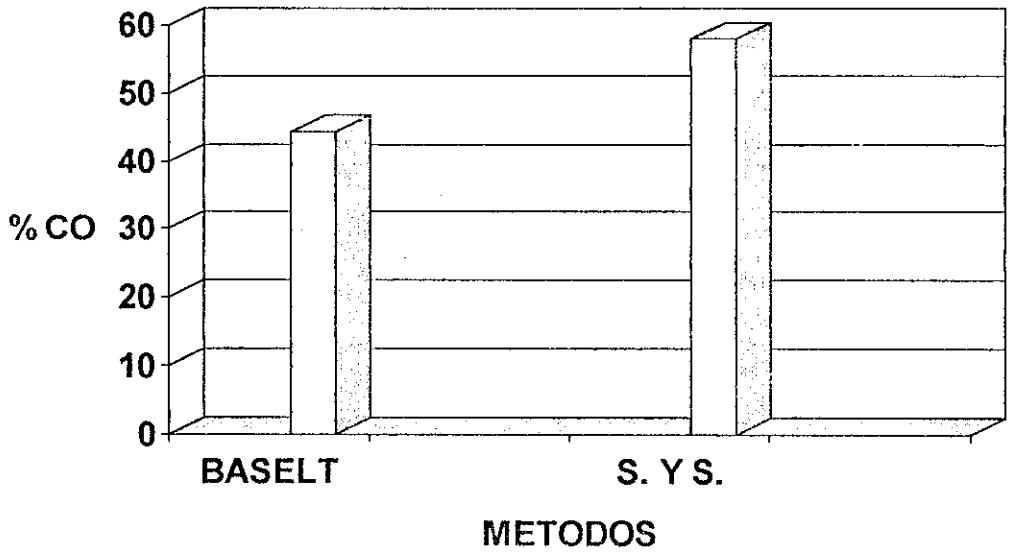
	BASELT	STEWART Y STOLMAN
Media	44.47	58.11
Desviación Estándar	13.17	5.67
Coeficiente de Variación	29.62	9.76

n = 10

ANEXO No 6

GRAFICA No. 1

COMPARACION MEDIA DE LOS DOS METODOS QUE PRESENTARON MEJORES RECUPERACIONES DE MONOXIDO DE CARBONO



Media: Baselt = 44.47 Stewart y Stolman = 58.11

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN

Genny Danisa Castro Mavros
Autora

Licda. María Antonia Pardo de Chávez
Asesora

Licda. Beatríz Batres de Jiménez
Directora

Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano