

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Verificación del punto de corte de la prueba cualitativa para la determinación de sangre oculta y comparación de resultados con una determinación automatizada de hemoglobina en heces.

Trabajo final de investigación sometido a la consideración de la Comisión de Estudios de Posgrado en Química Clínica para optar al grado y título de Especialidad en Química Clínica.

Sustentante:

Stephanie Montoya Madriz

A53604

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2020

Dedicatoria

A mis padres y abuelas por su apoyo incondicional en todos los proyectos que me he propuesto. A mi compañero de vida, por soportar mis ausencias y cansancios, el sacrificio conjunto de querer ser mejores cada día.

Agradecimientos

Al personal del Laboratorio Clínico del Hospital Maximiliano Peralta de Cartago, por ayudarme y permitirme la realización de los ensayos clínicos con muestras restantes y reactivos del mismo laboratorio.

Este trabajo de investigación aplicada fue aceptado por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Especialidad de Química Clínica de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Especialidad en Química Clínica.



SEP Sistema de Estudios de Posgrado

PPEMic Programa de Posgrado en Especialidades en Microbiología

**SISTEMA DE ESTUDIOS EN POSGRADO
PROGRAMA DE POSGRADO EN ESPECIALIDADES EN MICROBIOLOGÍA**

ACTA-42-2020

Acta presentación de Requisito Final de Graduación Trabajo de Investigación

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el martes 15 de diciembre de 2020 con el objeto de recibir el informe oral de la estudiante **Stephannie Deyanira Montoya Madriz** carné #A53604, quien se acoge al Reglamento General del Sistema de Estudios de Posgrado para presentar el Trabajo Final de Graduación, para optar por el grado académico de **Especialista en Química Clínica**. Están presentes los siguientes miembros del Tribunal Examinador: Manuel Jiménez Díaz, PhD., quien preside, lector, Adriana Valenciano Coto, Esp., lectora y Minor Calderón Jiménez, Esp., tutor.

ARTICULO 1

Quien preside solicita a la postulante realizar la presentación oral de su Trabajo de Investigación titulado: **“Verificación del punto de corte de la prueba cualitativa para la determinación de sangre oculta en heces y comparación de resultados con una metodología automatizada de hemoglobina en heces”**.

ARTICULO 2

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan a la postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.

ARTICULO 3

El Tribunal Examinador declara el Trabajo Final de Graduación: Aprobado Reprobado

ARTICULO 4

Se da lectura al acta que firman los miembros del Tribunal Examinador y el Postulante, a las 16:15 horas.

Nombre	Firma	No. Cédula
Manuel Jiménez Díaz Quien preside		105840289
Minor Calderón Jiménez		303390315
Adriana Valenciano Coto		1922182
Stephannie D. Montoya Madriz Estudiante		304200686

Observaciones: _____

Nota: Solamente firmarán el acta los responsables de la actividad descrita



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

SEP Sistema de
Estudios de Posgrado

Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.

Yo, Stephanie Deyanira Montoya Madriz, con cédula de identidad 304200686, en mi condición de autor del TFG titulado Verificación del punto de corte de la prueba cualitativa para la determinación de sangre oculta y comparación de resultados con una determinación automatizada de hemoglobina en heces

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI NO *

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: _____ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

INFORMACIÓN DEL ESTUDIANTE:

Nombre Completo: Stephanie Deyanira Montoya Madriz

Número de Carné: A53604 Número de cédula: 304200686

Correo Electrónico: stephapoe@gmail.com

Fecha: 15 de diciembre de 2020 Número de teléfono: 8864-9041

Nombre del Director (a) de Tesis o Tutor (a): Dr. Minor Calderón Jiménez

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

Tabla de contenido

Resumen.....	ix
Abstract.....	xi
Lista de cuadros	xiii
Lista de figuras.....	xv
Lista de abreviaturas	xvii
1 Introducción.....	1
1.1 Antecedentes	1
Cáncer colorrectal	1
Validación de métodos cualitativos	2
Métodos para determinación de sangre oculta en heces	4
1.2 Justificación y selección de problemática de laboratorio.....	12
1.3 Hipótesis.....	13
2 Objetivos.....	15
2.1 Objetivo general	15
2.2 Objetivos específicos	15
3 Materiales y metodología.....	17
4 Resultados y discusión.....	19
5 Conclusiones.....	31
6 Limitaciones del procedimiento.....	35
7 Recomendaciones	37
8 Bibliografía consultada	41
Anexo 1: Resultados del análisis de cada muestra utilizada en este trabajo.....	45

Resumen

El cáncer colorrectal es una enfermedad de alta incidencia en el mundo y Costa Rica no es la excepción, por lo que se han implementado programadas de tamizaje para poblaciones de riesgo. Se busca detectar las pérdidas imperceptibles de sangre en heces por medio de pruebas químicas o inmunológicas. El cáncer colorrectal en Costa Rica representa la cuarta causa de cáncer en hombres y sexta en mujeres, siendo la quinta causa de mortalidad en hombres, y tercera en mujeres. Los síntomas son inespecíficos y las posibilidades y tipo de tratamiento depende de la etapa en la cual se descubra el padecimiento.

Existen diferentes tipos de técnicas para la detección de sangre oculta, la clásica es el guayaco que se basa en un método químico y que ha caído en desuso debido a sus múltiples interferencias; actualmente se usan técnicas inmunológicas, puesto que son más específicas y sensibles, y no presentan interferencias. En el presente trabajo se verificó el punto de corte de la prueba inmunocromatográfica que está cercano a la concentración de 24,62 ng/mL y se determinó que la zona gris se encuentra entre la concentración de 15,15 ng/mL y la de 35,04 ng/mL. Para la comparación de ambos métodos se obtuvo una sensibilidad del 62 %, una especificidad del 97 %, una tasa de falsos positivos de 3 %, la tasa de falsos negativos en comparación con el método cuantitativo es de 38 % y el denominado valor predictivo positivo es de un 53 %. Mientras que el valor predictivo negativo o la probabilidad de verdaderos negativos es de un 98 %, lo cual quiere decir que de detectados como negativos un 98 % realmente carecen de lesiones que preceden al cáncer de colon. El porcentaje de acuerdo observado entre las pruebas es de 95,6 %. En conclusión, el comportamiento de la prueba es bastante aceptable para su uso como tamizaje, la escogencia dependerá de las necesidades del programa, así como del recurso económico disponible.

Abstract

Colorectal cancer is a disease with a high incidence in the world and Costa Rica is no exception. For this reason, screening programs for at-risk populations have been implemented, in order to detect imperceptible losses of blood in the stool by means of chemical or immunological tests. In Costa Rica, this cancer represents the fourth cause of cancer in men and the sixth in women, being the fifth cause of mortality in men, and the third in women. The symptoms are nonspecific and the possibilities and type of treatment depend on the stage at which the condition is discovered.

There are different types of techniques for detecting occult blood, the guaiac test is the classic one, although this chemical-based method has fallen into disuse due to its multiple interferences; furthermore, immunological techniques are currently used, since they are more specific and sensitive, and do not present interferences.

In this work, the cut-off point of the immunochromatographic test was verified, which is close to the concentration of 24,62 ng/mL and the gray area between the concentration of 15,15 ng/mL and that of 35,04 ng/mL. The comparison of both methods gave a sensitivity of 62 %, a specificity of 97 %, a false positive rate of 3 %, the false negative rate compared to the quantitative method is 38% and the so-called positive predictive value is 53%. Also, the negative predictive value or the probability of true negatives is 98 %, which means that 98 % of those detected as negative actually lack lesions that precede colon cancer. Finally, the percentage of agreement observed between the tests is 95,6%. In conclusion, the behavior of the test is quite acceptable for its use as a screening, the choice will depend on the needs of the program, as well as the economic resource available.

Lista de cuadros

Cuadro I. Verificación gravimétrica de la micropipeta EPPENDORF de 10 μ L - 100 μ L (EAB-EQ-27).....	20
Cuadro II. Verificación gravimétrica de la micropipeta EPPENDORF de 100 μ L-1000 μ L (EAB-EQ-25).....	20
Cuadro III. Formato de diluciones en buffer de corrida para la determinación de punto de corte, a partir del patrón de $6,5306 \times 10^{-7}$ g/mL.	21
Cuadro IV. Diseño de las concentraciones teóricas y las obtenidas, resultado de los quintuplicados.....	23
Cuadro V. Resultados de las mediciones de las diluciones por sobre y debajo del punto de corte.	23
Cuadro VI. Formato de diluciones en buffer de corrida para la determinación de punto de corte, concentraciones reales obtenidas.	25
Cuadro VII. Formato de diluciones en buffer de corrida para la determinación de punto de corte, concentraciones reales obtenidas.	25
Cuadro VIII. Resultados de las mediciones de las diluciones por debajo y encima de la concentración de punto de corte indicada por fabricante, para 10 replicados (Rep).	26
Cuadro IX. Resultados de las mediciones de las nuevas diluciones por debajo y encima de la concentración de punto de corte indicada por fabricante, para 10 replicados (Rep)..	27
Cuadro X. Tabla de contingencia comparativa de los resultados del método de prueba versus el de referencia (cuantitativo, transformado con punto de corte).	28
Cuadro XI. Parámetros calculados a partir de la tabla de contingencia.	28

Lista de figuras

Figura 1 Especificaciones técnicas de la prueba inmunocromatográfica para sangre oculta y transferrina de NOVATEST.	6
Figura 2. Indicadores mínimos de precisión para determinar en las pruebas de detección de sangre oculta en heces.....	8
Figura 3. Tabla comparativa de los diferentes tipos de técnicas disponibles para la determinación de hemoglobina en heces.	11
Figura 4. Tabla comparativa de los métodos químicos e inmunológicos para la detección de hemoglobina humana.	12
Figura 5. Pipetas y balanza analítica utilizada para el procedimiento.	19
Figura 6. Balones aforados con las diluciones intermedias realizadas.	21
Figura 7. Buffer incluidos en el kit en los cuales se hacen las últimas diluciones.	21
Figura 8. Montaje de cada una de las diluciones con la muestra de heces por quintuplicado.	22
Figura 9. Montaje de pruebas a partir de la dilución del patrón (calibrador)..	24
Figura 10. Montaje de pruebas a partir de la dilución del segundo patrón.	25

Lista de abreviaturas

CCSS: Caja Costarricense del Seguro Social

FOB: Fecal Ocult Blood

FIT: Fecal Inmunoglobulin Test

VP: Verdadero Positivo

VN: Verdadero Negativo

FP: Falso Positivo

FN: Falso Negativo

VPP: Valor Predictivo Positivo

VPN: Valor Predictivo Negativo

RV: Razón de Verosimilitud

1 Introducción

1.1 Antecedentes

Cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal es una enfermedad de alta incidencia en el mundo y Costa Rica está muy lejos de ser una excepción, razón por la cual se han estado implementando programas de tamizaje en poblaciones de riesgo, como por ejemplo las personas mayores de 50 años. Tanto el tipo de cáncer precoz que invade la submucosa como los adenomas avanzados, producen pérdidas imperceptibles de sangre de manera intermitente que se logran detectar por medio de pruebas químicas o inmunológicas para la determinación de sangre oculta (Quintero, E., 2009).

Actualmente, se sabe que el cáncer colorrectal en Costa Rica representa la cuarta causa de cáncer en hombres y la sexta en mujeres, siendo la quinta causa de mortalidad en hombres, y la tercera en mujeres. Existen múltiples factores, los modificables como la obesidad, fumado, entre otros; y los no modificables, pólipos y antecedentes hereditarios de cáncer de colon, así como padecimientos crónicos como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn. Los síntomas son inespecíficos, dentro de los cuales se encuentran los sangrados leves inespecíficos, que son los que se pueden determinar mediante la prueba de sangre oculta en heces. El tratamiento depende de la etapa en la cual se descubra el padecimiento (Young, J., 2013).

A pesar de los avances logrados en el diagnóstico y tratamiento, la supervivencia no mejora debido a que muchas veces el diagnóstico se hace cuando la enfermedad se encuentra muy avanzada. Al poder ser prevenible, la detección precoz y tratamiento oportuno van a reducir la incidencia y mortalidad de manera significativa. Por lo anterior, se recomienda la implementación de programas de tamizaje para la población en riesgo por medio de la detección de sangre oculta en heces anual o bianual. Es la única estrategia que ha demostrado ser eficaz para reducir de manera significativa la mortalidad e incidencia (Quintero, E., 2009).

Dada la alta incidencia de este padecimiento a nivel mundial, en muchos países se ha buscado el establecimiento de programas de tamizaje poblacional con el fin de detectar la lesión precancerosa, que usualmente es una lesión que lleva una evolución de 10 años antes de

convertirse en el cuadro de cáncer colorrectal. Lo anterior permitiría establecer un diagnóstico y tratamiento temprano, como en Argentina según lo detalla Kirschbaum, A., (2019) y también en España de acuerdo con Gasteiz, V. (2018).

Para el diagnóstico se pueden ver alteraciones en velocidad de eritrosedimentación, anemia hipocrómica y microcítica, leucocitosis, función hepática alterada y aumento del antígeno carcinoembrionario. En casos donde no existe una alta sospecha, la detección de sangre en heces podría ser el único indicativo de que puede existir una alteración a nivel gastrointestinal que se relacione con un posible cáncer colorrectal. Lo anterior se da como resultado de que los carcinomas tienden a sangrar más que la mucosa normal, se puede perder hasta 0,5 mL/día de sangre en las heces en condiciones normales, y esta pérdida aumenta en cáncer colorrectal y adenomas, dependiendo de la localización, tamaño y estadio de la lesión (Madrigal, A., 2019).

Validación de métodos cualitativos

Es frecuente la utilización de pruebas de respuesta rápida con resultados binarios, principalmente presencia o ausencia de un determinado analito por encima de cierto nivel de concentración considerado como punto de corte. A estos se les considera como sistemas de tamizaje o “screening” para decidir cuál muestra va hacia un análisis más profundo. Dependiendo del sistema que se use para su detección, se podrían clasificar en sensoriales o instrumentales. Los más comunes son los sensoriales, aparición de una línea de un color específico dado por una reacción química o inmunológica (Ruisánchez, I., Trullols, E. y Rius. F., 2003).

La validación de métodos cualitativos debe darse al igual que sucede con los cuantitativos, en donde se verifica y documenta la validez de la prueba, de acuerdo con los requisitos previamente establecidos en la ISO 8402, en la cual se indica que la validación se adecua a una finalidad o propósito y es la confirmación mediante evidencia de que se satisfacen los requisitos para un objetivo específico. Primero se definen los parámetros de calidad y luego se determinan. Dentro de los parámetros que se validan o verifican en las pruebas cualitativas se pueden mencionar las probabilidades de falso positivo y negativo, la sensibilidad y

especificidad, selectividad o posibles interferencias, el límite de detección, límite de corte o “cut off”, la incertidumbre o región de error o zona gris, entre otros (Ruisánchez, I., Trullols, E. y Rius. F., 2003).

El punto de corte es el valor sobre el cual un resultado se considera positivo o negativo. En el mundo real en algunos casos existen ciertos valores que caen dentro de lo que se conoce como rango indeterminado o zona gris. Por su parte, los métodos cualitativos aseguran la presencia o ausencia de uno o más analitos en una muestra, los posibles resultados son sí o no, reactivo o no reactivo y en ciertos casos zona gris o indeterminado (Ashwood E. y Bruns, D., 2015). Sin embargo, cuando se establece el punto de corte, se logran distinguir tres zonas: la de los verdaderos negativos, la denominada zona gris en la que se pueden obtener en un mismo rango de concentraciones resultados positivos y negativos, que es la zona de falsos positivos y negativos; y la zona de verdaderos positivos.

Los denominados falsos negativos son los que poseen una concentración por encima del punto de corte, pero dan negativos por la prueba de screening. En el caso de los falsos positivos son aquellos que no poseen o poseen concentraciones inferiores al punto de corte, pero dan positivo por el método de screening. También están los parámetros que se relacionan con el límite inferior y superior de la denominada zona gris, la especificidad y sensibilidad, respectivamente. La sensibilidad es la capacidad y habilidad de la prueba de tamizaje para detectar las muestras positivas cuando son realmente positivas, por su parte la especificidad es la capacidad de detectar las muestras negativas cuando son verdaderos negativos (Ruisánchez, I., Trullols, E. y Rius. F., 2003).

Dentro de los sistemas para el análisis de estos métodos de tamizaje, se encuentra las tablas de contingencia, en las que se compara el método de tamizaje contra otro método confirmatorio, por tanto, las muestra se procesan por ambos métodos y se contrastan los resultados obtenidos por ambas técnicas. También se tiene el teorema de Bayes, que se basa en probabilidades condicionales, que es la de dar un valor positivo cuando realmente es positivo, se requiere un elevado número de muestras, la ventaja respecto al anterior es que permite asociar una incertidumbre al valor de probabilidad. En el sistema de establecimiento de curvas, se representa la probabilidad de resultados positivos con diferentes concentraciones, requiere mucho análisis experimental, permite obtener información

adicional del límite de corte, de detección y la zona gris o de incertidumbre. Por último, las pruebas de hipótesis donde se define el valor del equipo con el que se quiere tamizar, usualmente se usa un patrón de concentración conocida, en este caso la ventaja es que la obtención de resultado es rápida, sencilla y automatizable, se le puede asignar una incertidumbre o probabilidad de error, no aplica con pruebas cualitativas (Ruisánchez, I., Trullols, E. y Rius. F., 2003).

Para la determinación del punto de corte, en el caso de los métodos cualitativos se usan muestras de concentraciones conocidas y decrecientes del analito, y se establece visualmente la mínima cantidad que se logra detectar, es lo que se suele usar en el caso de las cromatografías (CLSI, 2008).

En la mayoría de los laboratorios de la Caja Costarricense del Seguro Social no es usual realizar verificaciones de las pruebas que se reciben para su uso en pacientes, se asume que la comisión encargada realizó la verificación respectiva, sin embargo, es importante corroborar dicha práctica. Es de esa manera que surge la inquietud de realizar una verificación del punto de corte de una prueba cualitativa para la determinación de hemoglobina humana en heces.

Métodos para determinación de sangre oculta en heces

Existen diversas metodologías para la determinación de sangre oculta en heces, de los más clásicos y anteriormente muy utilizados se puede mencionar el método químico, que se basa en el descubrimiento de Van Deen, de la goma de guayaco, una resina extraída de árboles *Guaiacum officinale*. La hemoglobina actúa como peroxidasa y oxida un compuesto fenólico (ácido alfa guaiacónico) usando peróxido de hidrógeno lo convierte en una quinona. La concentración de eritrocitos es semejante a la peroxidasa y esta fracción de la hemoglobina cataliza la oxidación del guayaco. Uno de los métodos anteriormente usados en la CCSS era el test Hema Screen TM, este tiene un filtro de papel especial para electroforesis impregnado con guayaco indefinidamente estable. Otros métodos son los de benzidina y ortotolidina, hipersensibles. El problema de estos métodos es que requerían de dietas especiales (sin carne roja por tres días, podían dar falsos positivos por el pescado, nabos, rábano picante y

colchicinas, yoduro o ácido bórico, AINEs. Además de una ingesta de vitamina C superior a 250 mg diarios produce falsos negativos (GAAMSA, 2020).

Recientemente, se han desarrollado pruebas inmunológicas de última generación que simplifican la recolección de la muestra y mejoran el mantenimiento y procesamiento de esta. Además, pueden detectar un amplio rango de concentraciones que van de 40 a 300 mg Hb/g de heces, pueden ser cualitativos o cuantitativos. Las más ventajosas son las pruebas automatizadas por cuanto permiten trabajar con grandes números de muestras, propias de los tamizajes poblacionales, también permiten quitar la subjetividad a la hora de la lectura de los métodos cualitativos. Existen los denominados “sensibles” que logran detectar cantidades de hemoglobina fecal de 7 a 15 veces inferiores que lo que logran los métodos químicos, lo cual ha mejorado significativamente la sensibilidad de detección de cáncer de colón precoz y el adenoma avanzado, que es la lesión precursora del primero (Quintero, E., 2009).

Actualmente, los métodos que están en uso son los inmunológicos, que usan anticuerpos monoclonales para la detección de la hemoglobina humana, lo cual los hace más sensibles y específicos, quitando todas las interferencias anteriores. Esta prueba permite, además, la determinación de transferrina que se relaciona más con los sangrados de tracto superior. No obstante, para los términos de la investigación, se centra solamente en la detección de hemoglobina humana. El resultado se considera un resultado preliminar en el cual debe ahondarse mucho más para determinar sus posibles causas (Atlas Link Technology Co., Ltd.©, 2018). Es una prueba altamente sensible y específica que detecta los antígenos de transferrina y hemoglobina por medio del uso de anticuerpos monoclonales, los anticuerpos son conjugados con partículas de oro coloidal que se depositan en una almohadilla de conjugado e inmovilizados en la zona de diagnóstico 1 y 2 en la membrana de nitrocelulosa (Atlas Link Technology Co., Ltd.©, 2018).

Al agregar la muestra de extracción fecal se rehidrata el conjugado de oro coloidal, en el caso de que hubiese hemoglobina ésta interactúa con los anticuerpos de los conjugados de oro coloidal. Dicho complejo migra hasta la ventana de reacción donde son capturados por los anticuerpos inmovilizados formando una línea rosa que indica resultado positivo. Debe aparecer una línea rosada en la zona de control, sino aparece se inválida la corrida (Atlas

Link Technology Co., Ltd.©, 2018). En la Figura 1 se observan las especificaciones de la prueba, tomadas del sitio web del fabricante.

General Information of FOB-TRF Rapid Test Cassette

Catalog No.:	FOB 534	Description:	FOB-TRF Rapid Test Cassette
Category:	Tumor Marker	Style:	Card
Unit:	PCS	Specimen:	human faeces
No. of Step:	One Step	Reading Time:	5 Minutes
Cut Off:	30 ng/ml & 10 ng/ml	Specification:	4.0 mm
Sensitivity:	94%	Quan. or Qual.:	Qualitative
Specificity:	100%	Method Principle:	Lateral Flow GICA Double Antibody Sandwich

Figura 1 Especificaciones técnicas de la prueba inmunocromatográfica para sangre oculta y transferrina de NOVATEST.

Recuperado de: https://www.invitro-test.com/product.php?cat_NO=FOB 534, consultado 10 noviembre 2020.

Existen otros equipos que usan la base inmunológica y son capaces de cuantificar la cantidad de hemoglobina en ng/ml, a través de analizadores automatizados. Usan la metodología fecal inmunoglobulin test (FIT) por aglutinación, usualmente con partículas de látex y anticuerpos policlonales dirigidos contra la hemoglobina A0, lo que permite detectar específicamente la hemoglobina humana en las heces. Cuando se mezcla la muestra de heces con hemoglobina humana y las partículas de látex se inicia la reacción antígeno-anticuerpo y las partículas empiezan a aglutinar. La medición de esa aglutinación se realiza mediante inmunoturbidimetría, donde se mide el cambio óptico con el aumento de absorbancia que es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina en la muestra. Dichos equipos son capaces de analizar 80 muestras por hora y permiten la estandarización del proceso y su interpretación. Además, permiten mayor agilidad, rapidez y eficiencia en la determinación. Asimismo, los resultados pueden ser transferidos al sistema de información de laboratorio, evitando de esta manera errores de transcripción.

El informe de resultado de hemoglobina en heces lo puede dar en ng/mL o como negativo positivo de acuerdo con el punto de corte programado. Por su parte, el punto de corte puede

modificarse de acuerdo con la literatura científica, recomendaciones de organismos o guías internacionales (Eiken Chemical Co., LTD., 2009).

Se han desarrollado diversos estudios en los cuales se comparan las técnicas inmunológicas contra las químicas, no obstante, son poco en los que se hace la comparación entre pruebas inmunológicas de tipo cualitativo y cuantitativo. Los datos de tasas de positividad de las muestras son independientes del número de muestras que se analizan, por lo que se indica que no existen suficientes datos para recomendar analizar más de una muestra por las técnicas inmunológicas en cada ronda de tamizaje. Lo que si se ha estudiado es el rendimiento y reproducibilidad de la prueba cuantitativa de aglutinación con partículas de látex del OC-Sensor con 500 personas a las que se les realizó la colonoscopia, con la estabilidad de la muestra a diferentes temperaturas y correlaciona los resultados con lo obtenido en la colonoscopia, en este caso establecieron un punto de corte de 100 ng Hb/mL, con el cual se detectó el 100 % de los casos de CCR y el 71 % de los adenomas avanzados, por su parte la sensibilidad para neoplasias es de 76 % y la especificidad de 95 % (Vilkin, A., Rozen, P., Levi, Z., Waked, A., Maoz, E., Birkenfeld, S. y Niv, Y., 2005).

Como menciona Quintero, E. (2009), la precisión de estas pruebas para detectar neoplasias colorrectales en poblaciones de riesgo medio debe definirse por los parámetros de sensibilidad, especificidad, valores predictivos, eficiencia y la razón de verosimilitud (RV), como se ejemplifica en la tabla que el mismo autor propone (Figura 2), parámetros que coinciden con los que se usan al comparar dos métodos de ensayo. Estos indicadores dependen del límite de detección o punto de corte que se establezca para determinar un resultado como positivo, por su parte, los valores predictivos dependen también de la prevalencia del padecimiento en una población específica, así como la etapa evolutiva en la que se encuentra la enfermedad cuando se obtiene un resultado positivo.

La denominada razón de verosimilitud es un método alternativo para evaluar el rendimiento de las pruebas dicotómicas y no dicotómicas, la ventaja que ofrece radica en que es independiente de la prevalencia del padecimiento. Se define como la probabilidad de una prueba para clasificar de manera adecuada a los individuos que tienen o no la enfermedad, da un mejor balance de la sensibilidad y especificidad de un diagnóstico. Se establece que entre más alto sea el valor de RV para la prueba con resultado positivo mejor es capaz ésta

de diagnosticar la enfermedad, por otro lado, entre más bajo el valor de RV en un resultado negativo mejor se excluye la enfermedad. Los valores de RV que se buscan para pruebas positivas deben ser mayores de 10, y menores de 0,1 para las negativas (Quintero, E., 2009).

Tabla 3 Indicadores que definen la precisión de los test de sangre oculta en heces (SOH)	
Indicador	Concepto
S	Probabilidad de que los pacientes con la enfermedad tengan un test de SOH positivo. $S = VP^a / VP + FN^b$
E	Probabilidad de que los individuos que no presentan la enfermedad tengan un test de SOH negativo. $E = VN / FP^c + VN^d$
VPP	Probabilidad de que un individuo con un test positivo tenga la enfermedad. $VPP = VP / VP + FP$
VPN	Probabilidad de que un individuo con un test negativo no tenga la enfermedad. $VPN = VN / VN + FN$
Ef	Proporción de todos los individuos, con o sin la enfermedad, a los que el test clasifica correctamente. $EF = VP + VN / VP + FP + VN + FN$
RV	Probabilidad de que un resultado positivo de un test seleccione adecuadamente a los sujetos portadores de la enfermedad (establece el mejor balance entre la sensibilidad y la especificidad). $RV = S / 1 - E$

E: especificidad; Ef: eficacia; FN: falso negativo; FP: falso positivo; RV: razón de verosimilitud; VN: verdadero negativo; VP: verdadero positivo; VPN: valor predictivo negativo; VPP: valor predictivo positivo; S: sensibilidad.
^aVP = pacientes portadores de la enfermedad a los que el test clasifica correctamente.
^bFN = individuos que presentan la enfermedad y tienen un test de sangre oculta en heces negativo (equivale a sensibilidad -100%).
^cFP = individuos que no presentan la enfermedad y tienen un test positivo (equivale a especificidad -100%).
^dVN = pacientes que no tienen la enfermedad y a los que el test clasifica correctamente.

Figura 2. Indicadores mínimos de precisión para determinar en las pruebas de detección de sangre oculta en heces.

Recuperado de “¿Test químico o test inmunológico para la detección de sangre oculta en heces en el cribado del cáncer colorrectal?”, Quintero, E., 2009, Gastroenterol Hepatol. Vol:32(8): 565–576.

Por su parte, la sensibilidad de la prueba nos da información sobre la probabilidad de detección de neoplasia mientras que la especificidad se relaciona con el número de colonoscopias necesarias para una máxima sensibilidad que se busca sea del 100 % en casos de enfermedad grave con mal pronóstico, que tengan tratamiento curativo y que los resultados falsos positivos no generen daños en el paciente. Los valores aceptables de falsos positivos pueden variar si no existen consecuencias negativas. Para evitar al máximo la pérdida de paciente con enfermedad, se debe usar un punto de corte muy bajo que puede conllevar la pérdida de especificidad (Sasse, E., 2002).

Las técnicas cualitativas inmunológicas tienen puntos de corte bastante más bajos que las químicas, de ahí su continuo uso como reemplazo de las pruebas químicas para el tamizaje poblacional. Además, detectan específicamente la hemoglobina humana. Por tanto, estos son

muy eficaces identificando a pacientes con alto riesgo de presentar neoplasias, y permiten reducir la demanda de colonoscopias en poblaciones con riesgo medio. Al final se menciona que los inmunológicos poseen una mayor especificidad y una RV 3 a 4 veces mayor que los químicos (Quintero, E., 2009).

En otro estudio se observó que la sensibilidad de la prueba FOB-Gold es superior al químico, pero inferior a las colonoscopias, lo que lleva a la conclusión de que en tamizajes poblacionales no solo basta con investigar la precisión de la detección de las pruebas, sino también definir con qué recursos se cuenta. No solo basta con seleccionar la población y la frecuencia de tamizaje, sino también el seguimiento posterior que hay que hacerles a esos pacientes, lo cual debe tomarse en cuenta a la hora de ver el alcance del proyecto a instaurar.

Se dice que la mayor sensibilidad y especificidad de una prueba inmunológica depende del punto de corte que se defina y del número de muestras que se vayan a analizar. Por ejemplo, un punto de corte para la tecnología del OC-Micra de 50 ng/mL con una sola muestra presenta una sensibilidad de 75 % y una especificidad del 86,9 % bastante más altos que los de la prueba química que posee una sensibilidad del 53,1 % y una especificidad de 59,4 %. La otra ventaja de los inmunológicos es que no requieren restricción dietética, la recolección de muestras se disminuyen en número y los métodos de recolección son más fáciles y requieren de poca cantidad de muestra. En el caso de los métodos cuantitativos, una de las principales ventajas es que permiten modificar la concentración de punto de corte con lo cual se puede escoger el que permita restringir los métodos de diagnóstico más invasivos (Quintero, E., 2009).

Con respecto a la comparación de las técnicas de tipo cualitativo versus cuantitativo, según el estudio realizado por Park, M., Choi, K., Lee, Y., Jun J. y Lee, H. (2012), en Corea, las técnicas cualitativas tienden a dar tres veces más positivos que las cuantitativas, sin embargo, la tasa de detección es más alta en las cualitativas. Se observó que existe una gran cantidad de pruebas inmunocromatográficas que varían con respecto a la concentración de hemoglobina que son capaces de detectar. Por su parte, las cuantitativas no tienden a variar tanto en cuanto a la estrategia de detección y siempre se basan en una curva de calibración para la cuantificación, quita la variabilidad del observador para emitir el resultado y permite

el análisis de gran cantidad de muestras, aun así, lo que persiste en el mercado y en los programas de tamizaje son aún las técnicas inmunocromatográficas.

Los anticuerpos policlonales son producidos por diferentes clones de linfocitos B lo que genera una heterogeneidad en los mismos, esto les da la posibilidad de reconocer y unirse a muchos epítomos diferentes de un solo antígeno. Por su parte, los que se basan en anticuerpos monoclonales se generan de clones de linfocitos B idénticos que proviene de una única célula madre, por tanto, van a tener afinidad monovalente y son capaces de reconocer solo el mismo epítomo de un antígeno. Las ventajas y desventajas de los anticuerpos policlonales se deben principalmente a su especificidad de múltiples epítomos. De hecho, hay estudios en los que se usa una combinación de ambos tipos de anticuerpos, tanto monoclonales como policlonales (Lugo, A. y Morales, J., 2018).

En la Figura 3 se establecen los diferentes tipos de reactivos que existen en el mercado de acuerdo con al tipo de método que utilice, sus límites de detección, así como el tipo de lectura. Mientras que en la Figura 4 se comparan los dos tipos principales de técnicas para la determinación de hemoglobina en heces, la prueba química y la inmunológica, cuáles son sus ventajas y desventajas.

Tabla 1 Principales test de sangre oculta en heces aprobados por la Administración de alimentos y medicamentos, (FDA) Estados Unidos

Pruebas	Método	Límite de detección (µg de Hb/g de heces)	Lectura
<i>Químicas</i>			
Hemocult II [®]	Reacción peroxidasa	600	Visual
Hema-Screen [®]	Reacción peroxidasa	600	Visual
Hemo-fec [®]	Reacción peroxidasa	600	Visual
Hemocult-SENSA [®]	Reacción peroxidasa con revelador sensible	300	Visual
<i>Inmunológicas</i>			
Primera generación			
InmunoCare [®]	Inmuncromatográfico	300	Visual
FlexSure OBt ^{®*}	Inmuncromatográfico	300	Visual
Immudia Hem SP ^{®*}	Hemaglutinación	300	Visual
OCHemodia ^{®*}	Aglutinación en látex	40	Visual
Monohaem ^{®*}	Inmunoquímico	1.000	Visual
Última generación			
Insure Inform [®]	Inmuncromatográfico	50	Visual
Instant View [®]	Inmuncromatográfico	300	Visual
Hemeselect ^{®*}	Hemaglutinación	300	Visual
Hemocult-ICT [®]	Inmuncromatográfico	300	Visual
Clearview Ultra-FOB [®]	Aglutinación en látex	50	Visual
OCLight [®] , FOB-Gold [®]	Aglutinación en látex	20 a 2.000	Automatizado
OC-SENSOR [®] , OC-MICRO [®] SENTIFOB [®]	Aglutinación en látex	20 a 2.000	Automatizado
Immudia RPH (Magstream 1000) [®]	Aglutinación magnética	100 a 200	Automatizado
Hb: hemoglobina.			
*Test retirados del mercado.			

Figura 3. Tabla comparativa de los diferentes tipos de técnicas disponibles para la determinación de hemoglobina en heces.

Recuperado de “¿Test químico o test inmunológico para la detección de sangre oculta en heces en el cribado del cáncer colorrectal?”, Quintero, E., 2009, Gastroenterol Hepatol. Vol:32(8): 565–576.

Tabla 2 Ventajas e inconvenientes de las pruebas químicas e inmunológicas de sangre oculta en heces (SOH)		
	Prueba de SOH-Q	Prueba de SOH-I
Restricción dietética	Recomendable	No
Retirar AINE o aspirina 7 días antes	Sí	No
Falsos positivos para detección de hemoglobina fecal:		
Carnes rojas	Sí	No
Vegetales no cocinados	Sí	No
Sangre del tracto digestivo alto	Sí	No
Falsos negativos para detección de hemoglobina fecal:		
Ingesta de ácido ascórbico	Sí	No
Resecamiento de la muestra	Sí	–
Caducidad del amortiguador	–	Sí
Muestra insuficiente	Sí	Sí
Temperatura del ambiente elevada	Sí	Sí
Deficiente conservación posttest (>4 °C)	–	Sí
Tiempo desde recogida de la muestra hasta su lectura	14 días	21 días
Número de muestras necesarias para su lectura	3	1
Efecto prozona*	No	Sí
Lectura subjetiva	Sí	Sí (cualitativo) No (cuantitativo)
Lectura automatizada	No	Sí (cuantitativo)

AINE: antiinflamatorios no esteroideos; SOH-I: test de sangre oculta en heces inmunológico; SOH-Q: test de sangre oculta en heces químico.
*Efecto prozona: en condiciones de exceso del antígeno (hemoglobina superior a 2.000 µg/g de heces) el ensayo lee una concentración de hemoglobina nula o inferior a la presente en la muestra.

Figura 4. Tabla comparativa de los métodos químicos e inmunológicos para la detección de hemoglobina humana.

Recuperado de “¿Test químico o test inmunológico para la detección de sangre oculta en heces en el cribado del cáncer colorrectal?”, Quintero, E., 2009, Gastroenterol Hepatol. Vol:32(8): 565–576.

1.2 Justificación y selección de problemática de laboratorio

Como se mencionó anteriormente la tendencia es que en los laboratorios de la CCSS no se suelen realizar verificaciones de las pruebas que se reciben para su utilización masiva y rutinaria. Muchas de las pruebas cualitativas que se utilizan a nivel de la CCSS, no pasan por procesos de verificación a nivel de cada centro que las utiliza, siendo necesario poder tener una idea de si lo que el fabricante indica se cumple o no. En este caso dado que se utiliza ampliamente como test diagnóstico de sangrados digestivos y como tamizaje para los estudios de cáncer colorrectal, y otros asociados a sistema digestivo, es necesaria la verificación de su punto de corte. Además, se aprovecha la oportunidad de tener la disponibilidad de una nueva plataforma automatizada que cuantifica los niveles de hemoglobina humana en las heces por medio de la interpolación en una curva de calibración.

Se decide verificar la prueba inmunocromatográfica debido a que poco usual realizar verificaciones a este tipo de pruebas, las cuales usualmente cuentan con un control interno que se considera en la mayoría de los casos suficiente para validar su uso. En un primer intento se realizó un hemolizado por métodos robustos, dificultándose la determinación de la concentración exacta y la dilución para alcanzar el punto de corte. Debido a las anteriores limitaciones y aprovechando la disponibilidad de un equipo para la determinación cuantitativa de hemoglobina humana en heces, se vuelve a realizar la verificación de punto de corte usando un calibrador de concentración conocida; y se amplía la investigación comparando los resultados de las determinaciones por ambos métodos.

1.3 Hipótesis

El punto de corte se encuentra en la concentración que indica el fabricante y ambas técnicas deberían corresponder en los resultados para un punto de corte dado.

2 Objetivos

2.1 Objetivo general

Verificar la concentración de punto de corte para la determinación de hemoglobina humana de la prueba inmunocromatográfica que se utiliza en la CCSS.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar del punto de corte usando un hemolizado de fabricación manual, por ciclos de congelación y descongelación de una muestra sanguínea periférica con una concentración de hemoglobina conocida.
- Verificar el punto de corte usando un calibrador de concentración conocida que viene provisto para la generación de la curva de calibración del equipo automatizado Equipo OC Auto® Micro 80 iFOB
- Contrastar la técnica cualitativa inmunocromatográfica versus la cuantitativa con partículas de látex, por medio de la determinación de las variables de sensibilidad, especificidad, tasa de falsos positivos, tasa de falsos negativos, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo.

3 Materiales y metodología

- Hemolizado con concentración determinada en el Sysmex XT2000i, 12,9 g/dL
- Pipeta de 10 μ L-100 μ L EAB-EQ-27 EPPENDORF, Pipeta de 100 μ L-1000 μ L EAB-EQ-25 EPPENDORF, pipeta de 5 μ L – 50 μ L Microlit
- Balanza analítica OHAUS
- Termómetro
- Balones aforados de 100 mL \pm 0,10 mL clase A DURAN HIRSCHMANN EM TECHCOLOR
- Pruebas cualitativas Novatest para la determinación de transferrina y sangre oculta en heces. La presentación de la prueba fue en cajas de 25 determinaciones, cada una se compuso de un cassette inmunocromatográfico envuelto individualmente con desecante, con una ampolla de un frasco muestreador que contiene 2 mL de amortiguador.
- Muestra de heces ya testada negativa
- Equipo OC Auto® Micro 80 iFOB
- Calibrador hemoglobina humana concentración 1906 ng/mL, lote 98009D 1mL y 1894 ng/mL, lote 02002D 1 mL
- Solución salina

Se verificó el punto de corte de la prueba cualitativa de Novatest para la determinación de transferrina y sangre oculta en heces. A partir de una muestra de concentración de hemolizado de 12,9 g/dL se realizaron diluciones para obtener concentraciones de 50 % y 25 % por encima y por debajo del punto de corte reportado por el fabricante, el cual es de 30 ng/mL. La interferencia de la transferrina se quitó al trabajar con el concentrado de eritrocitos y eliminar el plasma.

El anterior protocolo sirvió como antecedente antes de disponer del equipo OC Auto® Micro 80 iFOB y del calibrador que el mismo trae para establecer la curva de calibración. Se realizó de nuevo la verificación de punto de corte, pero se utilizó esta vez el calibrador de concentración conocida del equipo automatizado, a partir de este se realizaron diluciones para el punto de corte de 30 ng/mL, tres diluciones más hacia abajo de esta concentración y cuatro por encima de la misma. Lo anterior por disponibilidad de material volumétrico para

tan bajas concentraciones. En este caso como el calibrador lo que contiene es hemoglobina humana, no se tuvo interferencia de transferrina. Además, cada una de las diluciones se ensayó diez veces con las pruebas inmunocromatográficas.

Con respecto, a la determinación de los parámetros antes mencionados. Las muestras se analizan actualmente en el laboratorio con el equipo automatizado, pero se solicitó su conservación por un máximo de 72 h según lo indica el fabricante y se les realizó la determinación con la prueba inmunocromatográfica, para poder comparar los resultados de ambas técnicas, considerando como estándar de oro la prueba cuantitativa, y se realizó con los valores de cuantificación una conversión de los datos a resultados cualitativos con los puntos de corte determinados, que para el laboratorio en cuestión se dejaron igual que la cualitativa con 30 ng/mL.

4 Resultados y discusión

Como se mencionó anteriormente, a partir de una muestra de concentración de hemolizado de 12,9 g/dL se realizaron diluciones con el fin de obtener concentraciones 50 % y 25 % por encima de 30 ng/mL, y 50 % y 25 % por debajo de 30 ng/mL, que es el punto de corte para hemoglobina reportado por el fabricante. Dichas diluciones, al ser con tan bajas concentraciones y no poder cuantificarse, se tratan de realizar de la manera más precisa posible, utilizando para ello material volumétrico clase A. Por su parte, las micropipetas (Figura 5) fueron verificadas gravimétricamente, utilizando una balanza analítica Diversity OHAUS a 23 °C, cuyo factor de acuerdo a esa temperatura corresponde a 1,0035 mL/g (ISO, 2002).



Figura 5. Pipetas y balanza analítica utilizada para el procedimiento.

En el Cuadro I y Cuadro II se presentan los cálculos de la verificación gravimétrica realizada a las pipetas utilizadas. Posteriormente, se procedió a realizar dos diluciones grandes a partir del hemolizado, primero se tomaron 0,225 mL del hemolizado se llevaron a 100 mL con solución salina en un balón aforado clase A y se alcanzó una concentración de 0,00029025 g/mL. Luego de esta dilución se tomaron 0,225 mL y se llevaron a 100 mL con disolución salina en un segundo balón aforado clase A, alcanzando una concentración de $6,5306 \times 10^{-7}$ g/mL.

Cuadro I. Verificación gravimétrica de la micropipeta EPPENDORF de 10 μ L - 100 μ L (EAB-EQ-27)

Masa para 100 μ L [g]	Diferencia de masa para 100 μ L [g]	Masa para 50 μ L [g]	Diferencia de masa para 50 μ L [g]	Volumen vertido para 100 μ L [mL]	Volumen vertido para 50 μ L [mL]
0,09981	0,09981	0,05000	0,05000	0,10016	0,05018
0,19933	0,09952	0,09976	0,04976	0,09987	0,04993
0,29900	0,09967	0,14950	0,04974	0,10002	0,04991
0,39830	0,09930	0,19980	0,05030	0,09965	0,05048
0,49604	0,09774	0,24982	0,05002	0,09808	0,05020
0,59357	0,09753	0,29714	0,04732	0,09787	0,04749
0,69400	0,10043	0,34935	0,05221	0,10078	0,05239
0,79324	0,09924	0,39871	0,04936	0,09959	0,04953
0,89437	0,10113	0,44883	0,05012	0,10148	0,05030
0,99397	0,09960	0,49799	0,04916	0,09995	0,04933
Media				0,0997	0,0500
Desviación estándar				0,0011	0,0012
Coefficiente de variación [%]				1,1	2,4
Porcentaje de error				0,25	0,053

Cuadro II. Verificación gravimétrica de la micropipeta EPPENDORF de 100 μ L-1000 μ L (EAB-EQ-25)

Masa para 100 μ L [g]	Diferencia de masa para 100 μ L [g]	Masa para 50 μ L [g]	Diferencia de masa para 50 μ L [g]	Volumen vertido para 100 μ L [mL]	Volumen vertido para 50 μ L [mL]
0,11874	0,11874	0,22559	0,22559	0,11916	0,22638
0,24615	0,12741	0,44416	0,21857	0,12786	0,21933
0,37022	0,12407	0,66816	0,22400	0,12450	0,22478
0,49511	0,12489	0,88924	0,22108	0,12533	0,22185
0,62059	0,12548	1,11108	0,22184	0,12592	0,22262
0,74596	0,12537	1,33231	0,22123	0,12581	0,22200
0,86595		1,55404	0,22173		0,22251
0,99113	0,12518	1,77677	0,22273	0,12562	0,22351
1,11688	0,12575	2,00006	0,22329	0,12619	0,22407
1,24241	0,12553	2,22292	0,22286	0,12597	0,22364
1,36767	0,12526				
Media				0,1251	0,2231
Desviación estándar				0,0024	0,0019
Coefficiente de variación [%]				1,9	0,85
Porcentaje de error				-0,12	-0,13

En la Figura 6 se pueden observar los balones aforados conteniendo las diluciones intermedias necesarias para alcanzar posteriormente en los buffers del kit las diluciones a probar.

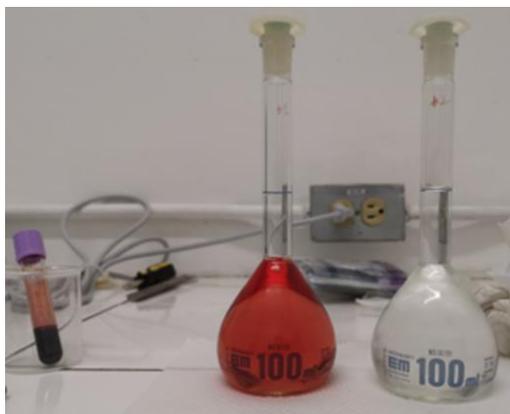


Figura 6. Balones aforados con las diluciones intermedias realizadas.

Por último, se realiza la dilución de cada concentración a alcanzar en los 2 mL de buffer del kit. Esto se observa en el Cuadro III se observan los volúmenes de patrón tomados para cada concentración. Mientras que en la Figura 7 se observan las soluciones buffer en las cuales se realizan las últimas diluciones con base en la última dilución intermedia obtenida.

Cuadro III. Formato de diluciones en buffer de corrida para la determinación de punto de corte, a partir del patrón de $6,5306 \times 10^{-7}$ g/mL.

Volumen de disolución patrón [mL]	Volumen frasco de buffer [mL]	Concentración obtenida [ng/mL]
0,150	2	48,11
0,125	2	40,09
0,100	2	30,96
0,075	2	24,06
0,050	2	16,04

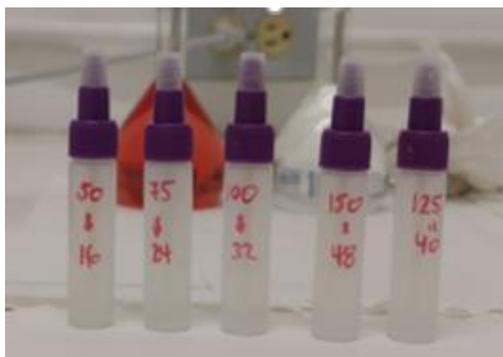


Figura 7. Buffer incluidos en el kit en los cuales se hacen las últimas diluciones.

Con cada una de las diluciones listas se muestreó la muestra de heces previamente verificada como negativa. Posteriormente, se montó cada una de las pruebas cualitativas por quintuplicado, colocando con el gotero provisto tres gotas de la hemoglobina diluida y la mezcla de muestra de heces en la almohadilla de muestra; y se procedió a realizar la lectura de las mismas, en el rango de los 25 min y menos de 30 min como indica el fabricante. Si es positiva se anota de una vez, y si no se deja incubar de 25 min a 30 min para la determinación del resultado. En la Figura 8 se ve la panorámica del proceso de montaje de las pruebas por quintuplicado para cada una de las diluciones.

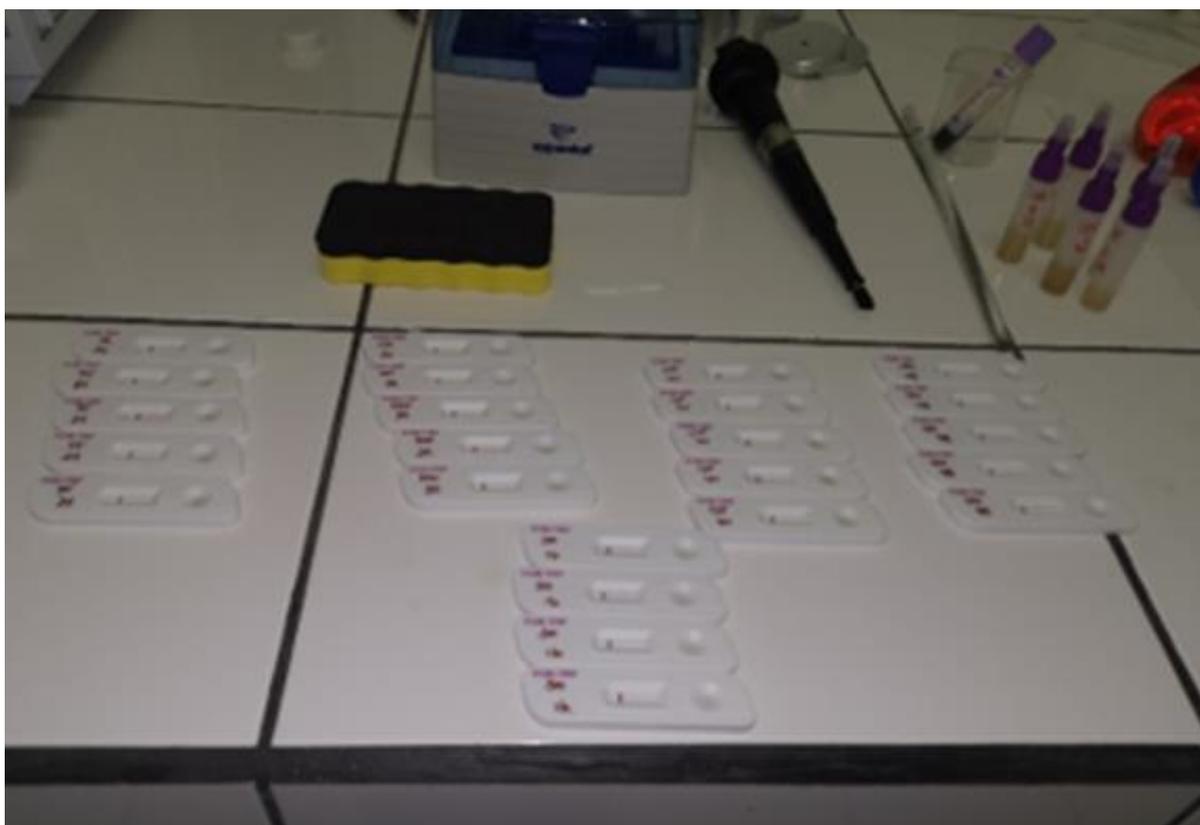


Figura 8. Montaje de cada una de las diluciones con la muestra de heces por quintuplicado.

En el Cuadro IV se presentan de manera resumida los resultados obtenidos de acuerdo a cada una de las diluciones probadas.

Cuadro IV. Diseño de las concentraciones teóricas y las obtenidas, resultado de los quintuplicados.

Concentraciones	Concentración teórica [ng/mL]	Concentración obtenida [ng/mL]	Resultados positivos/negativos
+ 50 %	48	48,11	5/0
+ 25 %	40	40,09	4/1
Punto de corte	32	30,96	4/1
- 25 %	24	24,06	1 /4
- 50 %	16	16,04	0/5

Lo que se en el Cuadro IV es, a grandes rasgos, que tanto la concentración de punto de corte como la de 25 % más se comportan de manera bastante similar con respecto a los replicados. Las concentraciones de 50 % más y menos si se comportan de la manera esperada con respecto a lo obtenido en los resultados de los replicados. En el Cuadro V se muestra el desglose de los resultados obtenidos de los quintuplicados a cada una de las concentraciones.

Cuadro V. Resultados de las mediciones de las diluciones por sobre y debajo del punto de corte.

Concentración [ng/ mL]	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	Réplica 5
48,11	+	+	+	+	+
40,09	+	+	+	+	-
30,96	+	+	+	+	-
24,06	+	-	-	-	-
16,04	-	-	-	-	-

El Cuadro V muestra que el valor más cercano al punto de corte corresponde a la concentración de 30,96 ng/mL, en el cual solamente se obtiene un resultado negativo, cuando en la buena teoría el 50 % debería ser negativo y 50% positivo. De hecho, dicho valor se comporta de manera muy similar al valor de + 25% correspondiente a una concentración de 40,09 ng/mL. Por su parte, las concentraciones ubicadas a más de 50 % y menos de 50 % del punto de corte se comportan según lo esperable, obteniéndose el 100 % de las pruebas positivas y negativas según sea el caso.

Sirviendo lo anterior de antecedente para la investigación, y contando con el equipo automatizado para la determinación de hemoglobina en heces de manera cuantitativa, se

aprovecha el calibrador que el equipo utiliza para la realización de una curva de calibración para la cuantificación. Dicho calibrador tiene una concentración conocida de hemoglobina humana, lo que permite determinar nuevamente y de manera más certera el punto de corte de la prueba cualitativa. En la Figura 9. se observa el calibrador utilizado, su información respecto a concentración y lote, así como la caja con la información de las pruebas inmunocromatográficas utilizadas y las pruebas de las diluciones.



Figura 9. Montaje de pruebas a partir de la dilución del patrón (calibrador)..

Se decidió trabajar con un rango de concentraciones de 10 ng/mL, 15 ng/mL y 20 ng/mL, que se encuentran por debajo del punto de corte establecido para la prueba que es 30 ng/ml, la concentración de punto de corte y por encima las concentraciones de 40 ng/mL, 45 ng/mL, 50 ng/mL y 60 ng/mL. El calibrador de hemoglobina humana tiene una concentración conocida de 1906 ng/mL, con el número de lote 98009D, un volumen de 1 mL, y una fecha de caducidad de 31 de agosto del 2020; además se usa una muestra verificada por ambas técnicas como negativa, que corresponde a la 10-320. Se realizaron 10 réplicas de cada una de las concentraciones como lo indica la norma del CLSI EP 12.

Se requiere un volumen final de 2 mL que es lo que trae el frasco de dilución de la muestra, y se parte de la concentración de calibrador de 1906 ng/mL. Se conocen las concentraciones finales que se quieren alcanzar y se dispone de material volumétrico limitado, por tanto, se ajustaron los volúmenes de acuerdo con la capacidad de medición de la pipeta. Se realizó el cálculo de las concentraciones que se obtienen al final, como se puede observar en el Cuadro VI.

Puesto que se observó que el punto de corte podría estar entre la concentración de 20,02 ng/ml y 29,54 ng/ml se procedió a repetir el experimento con un nuevo calibrador y una mayor cantidad de diluciones que permitieran alcanzar la concentración intermedia

donde se sospecha que está el punto de corte de la prueba. Los nuevos cálculos de las concentraciones realizadas se observan en el Cuadro VII y su montaje en la Figura 10.

Cuadro VI. Formato de diluciones en buffer de corrida para la determinación de punto de corte, concentraciones reales obtenidas.

Volumen de calibrador 1906 ng/mL [μL]	Volumen frasco de buffer [mL]	Concentración obtenida [ng/mL]
63	2	60,04
52	2	49,56
47	2	44,79
42	2	40,03
31	2	29,54
21	2	20,02
16	2	15,25
10	2	9,53

Cuadro VII. Formato de diluciones en buffer de corrida para la determinación de punto de corte, concentraciones reales obtenidas.

Volumen de calibrador 1894 ng/mL [μL]	Volumen frasco de buffer [mL]	Concentración obtenida [ng/mL]
63	2	59,66
53	2	50,19
47	2	44,51
42	2	39,77
37	2	35,04
32	2	30,30
26	2	24,62
21	2	19,89
16	2	15,15
11	2	10,42
5	2	4,74



Figura 10. Montaje de pruebas a partir de la dilución del segundo patrón.

En el cuadro 8 de la siguiente página están las concentraciones que se probaron, obtenidas a partir de la dilución del calibrador y el resultado de las diez replicas realizadas a cada una de las diluciones. Se puede determinar que la zona gris es la que se encuentra entre la concentración de 9,53 ng/mL y 40,03 ng/mL, el punto de corte es probable que esté por debajo de 30 ng/mL pero por encima de 20 ng/mL, puesto que en la concentración de 29,54 ng/mL más del 50 % de los replicados son positivos.

Cuadro VIII. Resultados de las mediciones de las diluciones por debajo y encima de la concentración de punto de corte indicada por fabricante, para 10 replicados (Rep).

Concentración [ng/mL]	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5	Rep 6	Rep 7	Rep 8	Rep 9	Rep 10	Total +/-
9,53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/10
15,25	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	2/8
20,02	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	3/7
29,54	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	7/3
40,03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/0
44,79	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/0
49,56	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/0
60,04	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/0

Como se mencionó anteriormente, se procedió a realizar nuevamente el experimento, pero esta vez con más diluciones y una intermedia cercana a la concentración de 25 ng/mL para poder corroborar la ubicación de la zona gris y con más certeza la concentración del punto de corte. Los resultados de esta nueva determinación se pueden observar en el Cuadro IX, en el que se puede determinar que la zona gris es la que se encuentra entre la concentración de 15,15 ng/mL y la de 35,04 ng/mL, el punto de corte es probable que esté por cercano a 24,62 ng/mL, puesto que en esta concentración aún más del 50 % de los replicados son positivos.

La diferencia observada entre la concentración entre el inicio de la zona gris puede deberse a cambios en el lote de pruebas o interpretación de estas, recordando que la determinación es meramente visual y a tan bajas concentraciones la aparición de la línea es mucho más tenue o sutil, a pesar de que el analista sea el mismo. El cambio en el límite superior por otra parte puede deberse a que se probó una dilución con una concentración que no se había probado

anteriormente, de cualquier manera, el resultado obtenido de las réplicas que se probaron no deja lugar a dudas debido que las 10 resultaron positivas.

Cuadro IX. Resultados de las mediciones de las nuevas diluciones por debajo y encima de la concentración de punto de corte indicada por fabricante, para 10 replicados (Rep)..

Concentración [ng/mL]	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5	Rep 6	Rep 7	Rep 8	Rep 9	Rep 10	Total +/-
4,74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/10
10,42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/10
15,15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/10
19,89	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	3/7
24,62	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	6/4
30,30	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	8/2
35,04	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/0
39,77	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/0
44,51	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/0
50,19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/0
59,66	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/0

En cuanto a la diferencia de que al inicio ya se había probado con una concentración cercana a las 25 ng/mL, que es donde se determina que está el punto de corte, se debe recordar que la primera determinación que sirve como antecedente a esta serie de experimentos se había realizado a partir de un patrón de fabricación casera, con la determinación de la concentración con un equipo muy robusto y una serie de diluciones manuales que podrían haber generado problemas de exactitud. Mientras que los últimos experimentos fueron realizados a partir de un patrón de concentración conocida y con solo una dilución para cada concentración.

Posteriormente se realizó una comparación de los resultados obtenidos entre la prueba cualitativa y la cuantitativa, para lo cual se guardaron las muestras por un máximo de tres días o 72 h, como recomienda el fabricante, para poder realizar la determinación cualitativa. Este resultado se comparó con lo obtenido por la prueba cuantitativa que es la que actualmente se encuentra en uso, se usó un punto de corte de 30 ng/mL para dar la interpretación de la prueba, por debajo es negativa, igual o mayor es positiva. En el Cuadro X se observan los resultados obtenidos.

Cuadro X. Tabla de contingencia comparativa de los resultados del método de prueba versus el de referencia (cuantitativo, transformado con punto de corte).

	Automatizado		Total
Manual	Negativo	Positivo	
Negativo	1037	20	1057
Positivo	29	33	62
Total	1066	53	1119

Con base en los datos de las 1119 muestras a las que se les aplico las dos técnicas, como se resume en la tabla anterior, en lo que se puede observar que coinciden 1037 muestras como negativas y 33 como positivas por ambos métodos. Se pueden realizar varios cálculos a partir de los datos de la tabla de contingencia, por ejemplo, los más evidentes, las tasas de falsos positivos y negativos. En el Cuadro XI se observan todas las determinaciones que se pueden extraer de los datos de la tabla de contingencia, además de los falsos positivos o negativos, se tiene la determinación de la sensibilidad y la especificidad, así como la probabilidad de verdaderos negativos y positivos.

Cuadro XI. Parámetros calculados a partir de la tabla de contingencia.

Parámetro	Fórmula	Resultado	Porcentaje %
Sensibilidad	$VP/VP+FN$	0,623	62
Especificidad	$VN/VN+FP$	0,973	97
Tasa de FP	$FP/FP+VN$	0,027	3
Tasa de FN	$FN/FN+VP$	0,377	38
Probabilidad de VP	$VP/VP+FP$	0,532	53
Probabilidad de VN	$VN/VN+FN$	0,981	98

Se obtiene una sensibilidad del 62 % comparado con los resultados obtenidos con el equipo cuantitativo, el inserto reporta que comparando con otra prueba rápida y una de principio químico de guayacol la misma debería ser mayor al 94 %, lo anterior puede deberse a que la determinación cuantitativa es inmunológica no química puesto que usa anticuerpos para detección de hemoglobina, pero esos anticuerpos además son policlonales lo que podría

hacerla más sensible, al permitirle detectar diferentes epítomos. Por su parte, la inmunocromatografía usa anticuerpos monoclonales, lo cual aumenta su especificidad, pero puede ser que disminuya su sensibilidad, debido a que solo es capaz de detectar un antígeno en particular.

Con respecto, a la especificidad se obtiene un 97 %, el inserto con la misma comparación menciona un 100 %, al usarse anticuerpos monoclonales, en este caso no se cumple lo esperado con respecto al uso de anticuerpo policlonales de la cuantitativa, puesto que presenta una menor especificidad, pero si está cercana a lo esperado, podría haber variaciones en lo que respecta a la subjetividad de la lectura y la pericia del analista.

Se obtiene una tasa de falsos positivos de 3 %, lo cual indica que, de 100 muestras, 3 nos darán positivas cuando en realidad según el método de referencia son negativas, lo cual para un método de tamizaje resulta aceptable, solo 3 de cada 100 pacientes se someterán a una colonoscopia innecesaria. Por otro lado, la tasa de falsos negativos en comparación con el método cuantitativo es de 38 %, excesivamente alta, pues estos corresponden a los pacientes que por este método dan negativo, pero en realidad son positivos mediante el método cuantitativo considerado en este caso como referencia. En otras palabras, de cada 100 tamizados, 38 que, si requieren la colonoscopia, no la obtienen, se puede aducir que tal vez el hecho de que use los anticuerpos monoclonales deje por fuera muchos positivos que no logra captar.

Por su parte, la probabilidad de verdaderos positivos o el también denominado valor predictivo positivo es de un 53 %, que corresponde a la probabilidad de que un positivo si presente la condición. Mientras que el valor predictivo negativo o la probabilidad de verdaderos negativos es de un 98 %, lo cual quiere decir que de detectados como negativos un 98 % realmente carecen de lesiones que preceden al cáncer de colon.

Por otro lado, se puede observar que el porcentaje de incongruencias entre ambas pruebas es bastante bajo en comparación al total de pruebas y bastante similar en las dos direcciones. Se tiene un 2,6 %, o sea 29 pruebas de las 1119 analizadas, como posibles falsos positivos de la técnica inmunocromatográfica si se toma en cuenta la metodología cuantitativa como estándar de oro. Y además un 1,8 % de posibles falsos negativos tomando en cuenta nuevamente la técnica cuantitativa como estándar de oro.

Para la concordancia entre las pruebas, se podría aplicar coeficiente Kappa:

$$\Pr(a) = \frac{1037 + 33}{1119} = 0,956$$

El porcentaje de acuerdo observado es del 95,6 %, por otro lado, se puede calcular el Pr(e), con lo que se debe establecer cuantas veces se clasifica como positiva o negativa la prueba de acuerdo con cada una de las metodologías utilizadas, el método manual da 1057 negativos y 62 positivos, en términos porcentuales corresponde a 94,4 % negativos y un 6,6 % de positivos. Por su parte, el método automatizado da 1066 negativos y 53 positivos, que en términos porcentuales corresponde a 95, 3% negativos y 4,7 % de positivos. Entonces se pueden calcular las probabilidades de que con ambos métodos tanto manual como automatizados se obtenga un resultado positivo o negativo al azar.

La probabilidad de que ambos den negativo al azar se calcula como sigue:

$$\Pr(\text{manual}) * \Pr(\text{automatizado}) = 0,944 \times 0,953 = 0,900$$

La de que ambos métodos den positivo al azar es de:

$$\Pr(\text{manual}) * \Pr(\text{automatizado}) = 0,066 \times 0,047 = 0,003$$

El valor de Pr(e) se calcula multiplicando los dos anteriores:

$$\Pr(e) = 0,900 + 0,003 = 0,903$$

Ya con los datos de Pr(a) y de Pr(e), se puede calcular el coeficiente kappa de Cohen mediante la siguiente fórmula:

$$\kappa = \frac{\Pr(a) - \Pr(e)}{1 - \Pr(e)} = \frac{0,956 - 0,903}{1 - 0,903} = \frac{0,053}{0,097} = 0,546$$

En este caso al obtener un valor diferente de cero se puede decir que las veces que concordaron las observaciones no fueron al azar, pero no está tan cercano a 1 como para decir que la concordancia es perfecta. El problema de este indicador es que similar a los otros indicadores depende mucho de la prevalencia y del sesgo que presenten las observaciones, que como ya se conoce y se ha discutido sobre todo en el caso de la prueba manual este puede ser muy alto a bajas concentraciones o con la aparición de una línea muy tenue (Hano, Castellanos, Calzadilla & Villa, 2014).

5 Conclusiones

Con respecto a las tres determinaciones de punto de corte y la identificación de las concentraciones que definen la zona gris se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- Aun cuando en la etapa de verificación de punto de corte con el calibrador de concentración conocida no se pudo realizar la verificación volumétrica de las pipetas. En este caso se usó solamente una y no se requirió de otros materiales volumétricos como los balones, al partirse de una concentración menor y conocida de hemoglobina no se requirió la realización de diluciones intermedias. Lo anterior se puede traducir en una menor cantidad de errores e incertidumbres a la hora de realizar las diluciones y por ende más exactitud de las concentraciones finales obtenidas y de los resultados de las pruebas inmunocromatográficas.
- En la primera determinación de punto de corte, en la que se usó el hemolizado de fabricación manual, se obtuvo solamente un negativo, es decir el 80 % de las pruebas dieron positivo, cuando en realidad debería ser el 50 %. Lo anterior, indica que probablemente el punto de corte pueda ser más bajo, pero sí por encima de la concentración de -25 % correspondiente a 24,06 ng/mL, puesto que en ésta el 80 % de las pruebas dieron negativas. Con los resultados obtenidos en este primer acercamiento se estimó que la zona gris se encontraba aproximadamente entre las concentraciones de 48,11 ng/mL y 16,04 ng/mL.
- Posteriormente, con la disponibilidad del calibrador de hemoglobina de concentración conocida, se pudo probar con un mayor número de replicados y diluciones, con los cuales se logró determinar con mayor exactitud que la zona gris, se encuentra entre la concentración de 9,53 ng/mL y la concentración de 40,09 ng/mL.
- Se confirma, además, que el punto de corte al igual que la vez anterior parece ser menor al indicado por el fabricante. Lo anterior debido a que, en la concentración más cercana a este, se tiene un 70 % de positividad de las pruebas, es decir 7 de los 10 replicados dan positivo, más del 50 %-50 % esperable. Pero al verificar una concentración más baja de 20,02 ng/mL se dio una relación inversa, es decir 7 negativos y 3 positivas, lo que sugiere que se encuentra entre estas dos concentraciones.

- Al rediseñar la serie de diluciones de tal manera que se incluyeran mayor cantidad de concentraciones y una concentración intermedia entre esos dos puntos de concentración de interés que rondaban entre los 20 ng/mL y los 30 ng/mL, se concluye que el punto de corte es de una concentración aproximada de 24,62 ng/mL en esta concentración 6 réplicas dan positivas y 4 negativas, más cercano al 50 % requerido según la norma.

En el caso de la comparación del método cualitativo versus el método cuantitativo con muestras de pacientes, se partió del hecho de que la cuantificación inmunológica con partículas de látex de hemoglobina humana es el estándar de oro sobre la inmunocromatografía cualitativa, se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- La sensibilidad tan baja puede deberse al uso de anticuerpo monoclonal y la naturaleza de la técnica inmunocromatográfica, lo cual expone una cantidad de epítomos limitada en comparación a una técnica con partículas de látex que genera un aumento de las probabilidades de detección debido a la constitución tridimensional, y la posibilidad de aglutinación, lo que lo hace una técnica más sensible.
- La sensibilidad obtenida por el método cualitativo en comparación con el cuantitativo no es tan baja como la reportada en la literatura, en este caso fue de 62 %, según reporta Kirschbaum, 2019, se estima que los cualitativos versus los cuantitativos rondan un 37 %. Con lo cual se concluye que la prueba inmunocromatográfica usada en los laboratorios de la CCSS posee una sensibilidad bastante aceptable comparada con lo que se reporta en la literatura.
- Con respecto a la especificidad obtenida si es bastante alta y comparable sobre todo porque las dos tienen un principio inmunológico y no químico, además de que la prueba cualitativa como se mencionó posee anticuerpos monoclonales, lo cual la hace mucho más específica, probablemente a costa de la sensibilidad.
- La tasa de falsos positivos obtenida es bastante buena, puesto que permite hacer el programa de tamizaje más eficiente en cuanto a costos, al no realizar una gran cantidad de colonoscopias en casos que no lo requieren, además de que no implica complicaciones o molestias en los participantes.

- Por otra parte, preocupa la tasa de falsos negativos, al ser muy alta (38 %), podría dejar sin atender una cantidad importante de posibles casos de adenomas o cáncer de colón en potencia. Habrá que ver si eso se debe al hecho de usar anticuerpos monoclonales, o la técnica en sí, el cómo se realiza la lectura de esta, al ser una inmunocromatografía.
- El valor predictivo negativo obtenido es bastante alto de un 98 %, lo cual permite descartar la presencia de lesiones en una gran parte de los pacientes, puesto que en la cuantificación darán valores considerados como negativos para un punto de corte de 30 ng/mL.
- Por otro lado, el valor predictivo positivo obtenido es bajo, apenas un 53 %, probablemente debido a la baja en la sensibilidad por la alta especificidad. Lo que se ha visto en la literatura es que existe mucha heterogeneidad de pruebas, con puntos de corte distintos, así como metodologías, cantidad de muestras recolectadas y analizadas, lo cual genera una alta variación de la sensibilidad y las tasas de positividad.
- Una de las grandes desventajas del método cualitativo radica en esa misma característica, debido a que se requiere un operador entrenado para la detección de las reacciones débiles o la aparición de líneas tenues que se consideran positivas, así como el cuidado especial de confirmar los negativos hasta los 30 minutos de incubación. Esta desventaja puede hacer que los resultados obtenidos varíen radicalmente dependiendo de quien realiza la lectura, por lo que se pierde la homogeneidad en el criterio para reportar una muestra como positiva.
- Las variaciones en datos como la sensibilidad y especificidad se deben propiamente al diseño de los programas de tamizaje, es decir el tipo de pruebas que usen y la cantidad de muestras que se obtengan de cada paciente, se ha visto que al aumentar la cantidad de muestras analizadas por paciente se puede aumentar la sensibilidad haciendo los datos obtenidos más comparables al método cuantitativo. Además, un estudio realizado por Gies, Cuk, Schorotz-King y Brenner, (2018) recomienda y concluye de manera similar, tomar en cuenta las variaciones en población, muestras, preanalítica, definición de umbral o punto de corte y de la especificidad al comparar esta vez varias técnicas de tipo cuantitativo.

- En la literatura en general tienden a clasificar con mejor sensibilidad y especificidad la técnica cuantitativa, no obstante, también existen estudios que difieren en cuanto a esos resultados, lo anterior puede deberse a la alta cantidad de pruebas FIT disponibles en el mercado con diferentes sensibilidades y puntos de corte variados. La escogencia de la prueba depende de la disponibilidad de recursos económicos a invertir, así como la disponibilidad de colonoscopías y seguimiento que pueda dar el programa.

6 Limitaciones del procedimiento

Dentro de las limitaciones que se encontraron a la hora de realizar la verificación de este método en las tres determinaciones realizadas se pueden citar:

- Las cantidades a medir con las pipetas automáticas presentaban ciertas restricciones para poder alcanzar las concentraciones correspondientes. Además de las pipetas disponibles y sus condiciones.
- Se requirió el uso de dos micropipetas diferentes puesto que los volúmenes variaban considerablemente.
- En los posteriores experimentos que partieron del patrón de calibración de concentración conocida se requirió de otra pipeta de marca Microlit que mide un volumen que va de 5 μL a 50 μL , con la desventaja que ésta no se pudo verificar gravimétricamente, por la falta de balanza analítica debido a restricciones de pandemia. Además, se tuvo que usar en las concentraciones más altas dos mediciones con la misma pipeta con tal de no introducir otro instrumento de medida.
- Se utilizó una limitada cantidad de diluciones por cuestiones de costos y la baja concentración de analito con la que se trabajaba, además de quintuplicados en cada una de las diluciones. Posteriormente ya para la parte de comprobación con el patrón de concentración conocida se logró ampliar la cantidad de diluciones que se utilizaron, así como la cantidad de replicas, según lo indica la norma.
- Al haberse usado un hemolizado casero se tuvo que determinar la concentración de hemoglobina con el analizador Sysmex XT2000i, la cual fue de 12,9 g/dL, la misma tiene la incertidumbre que se asocia a instrumento y este es muy robusto como para hacer notar variaciones pequeñas en las concentraciones.
- El analizador Sysmex XT2000i no se pudo utilizar para corroborar las concentraciones alcanzadas posterior a los procesos de dilución, debido a la baja concentración de las mismas.
- Inserto de fabricante no indica como se realizó la determinación de punto de corte y no menciona la zona gris, a pesar de la muy baja concentración que es capaz de detectar.

- Se tuvieron que eliminar 57 datos de muestras debido a que fue imposible rastrear el resultado del método cuantitativo.
- No se pudo corroborar con los datos de colonoscopías, por requerirse de autorización del comité ético científico. Los datos obtenidos de la prueba cualitativa se obtuvieron tomando como estándar de oro la medición cuantitativa, pero el verdadero estándar de oro sería la localización de la lesión que genera el sangrado propiamente.
- Disponibilidad de reactivos y muestras debido a las restricciones dadas producto de la pandemia de COVID-19.
- El inserto de la casa comercial no especifica como se definió el punto de corte, lo que dificulta generar una reproducibilidad en cuanto al procedimiento, para determinar el punto de corte, se asume que siguen las indicaciones de la EP 12 del CLSI, 2008.
- Así mismo las pruebas cuantitativas son mucho más caras que las cualitativas, un poco menos de 10 veces, de 5 \$ a 0,6 \$.
- En dos momentos del desarrollo se dio desabastecimiento de los reactivos.

El calibrador utilizado, también presenta un volumen bajo, es 1 mL, y se usa después de establecer la curva de calibración del equipo, por lo que se cuenta con aún menos volumen, básicamente por limitaciones de costos o disponibilidad del mismo.

7 Recomendaciones

- Debido a lo indicado en las limitaciones respecto al uso de un hemolizado manual y la determinación de la concentración con el equipo Sysmex XT2000i, es preferible contar con un patrón o una sustancia de concentración conocida de hemoglobina, de ser posible en baja concentración de tal manera que se requieran la menor cantidad de dilución posible.
- Disponibilidad de mayor variedad y cantidad de material volumétrico y/o gravimétrico para poder verificar de inicio a fin todo lo que se utilizó en el desarrollo del experimento.
- Lo ideal sería que un mismo analista realice las determinaciones para evitar la heterogeneidad en cuanto al criterio a la hora de realizar la lectura y visualizar la aparición de la línea, sobre todo en aquellos que arrojan resultados muy tenues.
- También, sería mejor si se pudieran analizar las muestras por los dos métodos al mismo tiempo, con el fin de controlar de una vez aquellos resultados incongruentes entre ambas técnicas, y con ello descartar algún error en la identificación o montaje de la muestra.
- Entre más replicas se puedan hacer más robustos lo resultados, siempre y cuando se mantenga la homogeneidad en las condiciones y los analistas, para disminuir la subjetividad de la interpretación. Se debe definir muy bien el tiempo de incubación y lectura, si se deja más tiempo se pueden obtener falsos positivos. De hecho, la prueba recomienda no leer después de los 30 minutos, y la observación de una línea tenue en menos de ese tiempo debe considerarse como positiva.
- Se podría extender el estudio en un mayor tiempo de tal manera que las poblaciones tamizadas presenten una mayor variabilidad de resultados y seleccionar aquellas que den positivas para realizarles la prueba cualitativa y observar la concordancia de este resultado, que al fin y al cabo es el que interesa para que el paciente continúe con la realización de la colonoscopia.
- Seguir las instrucciones del fabricante de manera precisa, con el fin de poder obtener resultados válidos, sobre todo con la confirmación de los resultados negativos a los 30 minutos y no interpretación posterior a estos, así como tiempo de almacenamiento de las muestras, no más de 72 h en refrigeración, atemperar antes de montar.

- Se debería estandarizar adecuadamente también la manera en que se inocula el medio de dilución de la muestra, para que todas posean una cantidad de muestra semejante y esto no interfiera con la posible concentración de hemoglobina presente en la muestra. Caso semejante se da también en la prueba cuantitativa.
- Para el aumento de la sensibilidad se ha recomendado en diversos estudios aumentar la cantidad de muestras analizadas con el fin de lograr captar el sangrado de alguna lesión sospecha, se recomienda la estrategia bianual, en la que se alcanzan valores cercanos al uso de una prueba cuantitativa.
- Lo ideal sería poder contar con la aprobación del comité ético científico con el fin de tener acceso a los expedientes y poder observar cómo se da el desenlace de la colonoscopia cuando los resultados del método cualitativo versus el cuantitativo no coinciden.
- Si bien es cierto se puede entregar el kit de muestra para que sea el paciente el que inocule con la muestra, dada la falta de educación y entrenamiento de este, se prefirió seguir solicitando la muestra de heces, y se recomienda seguir trabajando de esta manera. Eso también ayudó a facilitar el contar posteriormente con la muestra madre para realizar el montaje del método inmunocromatográfico.
- En caso de poder tener acceso a los resultados de las colonoscopías, podría hacerse una correlación de las mismas con los resultados obtenidos en los tamizajes por ambos métodos para poder obtener mayor información del desempeño de cada uno, con respecto ahora si a la presencia de una lesión.
- Además, se podría hacer estudios poblacionales dependiendo de las regiones de cuales provengan las muestras y poder analizar tasas de positividad según la zona geográfica, así como estratificación de acuerdo al sexo y edad de los pacientes.
- Si la disponibilidad de presupuesto lo permite, se recomienda el análisis de tipo cuantitativo, por cuanto suprime la subjetividad de análisis, hace posible el análisis de mayor cantidad de muestras y permite modificar el punto de corte de acuerdo con los hallazgos, requerimientos y disponibilidad de colonoscopías del programa de tamizaje.
- Por otro lado, la prueba cualitativa tiene un buen desempeño en comparación con la cuantitativa, sería una buena opción muchos más barata en caso de querer ampliar la

población a tamizar, e inclusive podría eventualmente usarse una combinación de ambas, a manera de escalas en el tamizaje, siempre y cuando se investigue y optimicen las incongruencias entre ambas técnicas.

- A la hora de escoger la técnica a emplear debería realizar una indagación apropiada de lo disponible en el mercado, así como las posibilidades de adquisición, recordar que, a mayor especificidad, usualmente se reduce la sensibilidad, que esta podría aumentarse al aumentar las réplicas analizadas, sopesar lo que resultaría útil al programa a un costo razonable.

8 Bibliografía consultada

Ashwood, E. & Bruns, D. (2015) Clinical evaluation of methods. Chapter 3. PP 33-39 En Burtis, C. & Bruns, D. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Seventh edition

Atlas Link Technology Co., Ltd.© (2018) Inserto de la Prueba Combo de Transferrina Fecal y Sangre Oculta en Heces (TRF-FOB). Número de catálogo FOB533 Recuperado de: <https://www.invitro-test.com/IVD-reagents/immuno-assay/tumor-marker/FOB-Fecal-Occult-Blood.php>, https://www.invitro-test.com/product.php?cat_NO=FOB_534, consultado 10 noviembre 2020

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2008). User protocol for evaluation of qualitative test performance. EP12 A2 2008; 28:3

Hano, O., Castellanos, M. Calzadilla, L. & Villa, O. (2014) Validación de técnica inmunoquímica para detección de sangre oculta en heces Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas. 33(1):19-33

Kirschbaum, A. (2019) Test de sangre oculta en materia fecal para screening de cáncer colorrectal : revisión sistemática. - 1a ed . - Ciudad Autónoma de Buenos Aires : Instituto Nacional del Cáncer.

GAAMSA. (2020) Hema Screen inserto de la prueba. General de Aparatos Analíticos Médicos SA de CV. 01800 1118899 Recuperado de: <https://drive.google.com/file/d/1ifJGKeQsv-f6Qx3LLz1PUu9Dpp7BN0pT/view>

Gasteiz, V. (2018). Prueba inmunológica de sangre oculta en heces en pacientes con sintomatología compatible con cáncer colorrectal: recomendaciones de las Guías de Práctica Clínica y su utilización en el Sistema Nacional de Salud. Servicio central de publicaciones del gobierno vasco. 1.ª, abril 2018

Gies, A., Cuk, K., Schrotz-King, P. y Brenner, H. (2018). Direct comparison of diagnostic performance of 9 quantitative fecal immunochemical test for colorectal cancer screening. Gastroenterology Vol. 154, No. 1 2018 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.09.018>

ISO 8655-6, Piston-operated volumetric apparatus –Part 6: Gravimetric methods for the determination of measurement error. ISO 2002

Lugo, A. & Morales, J. (Mayo-Junio, 2018) Diagnóstico y seguimiento de pacientes con sangre oculta positiva en heces fecales. Rev.Med.Electrón. vol.40 no.3 Matanzas

Madrigal, A. (setiembre –diciembre 2019) Determinación de sangre oculta en cáncer colorrectal. Rev. Colegio de Microb. Quim. Clin. de Costa Rica, Vol 25, N.º 3• ISSN: 2215-3713128

Park, M., Choi, K., Lee, Y., Jun J. & Lee, H. (2012) A comparison of qualitative and quantitative fecal immunochemical tests in the Korean national colorectal cancer screening program. Article in Scandinavian Journal of Gastroenterology · April 2012 DOI: 10.3109/00365521.2012.668930 · Source: PubM

Eiken Chemical Co., LTD. (2009) OC-Auto MICRO 80 Instruction Manual. POLYMEDCO INC., NY 10567

Quintero E. ¿Test químico o test inmunológico para la detección de sangre oculta en heces en el cribado del cáncer colorrectal? Gastroenterol Hepatol. 2009; 32(8): 565–576.

Ruisánchez, I., Trullols, E. & Rius. F. (2003) VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS CUALITATIVOS. Grupo de Quimiometría y Cualimetría. Departamento de Química Analítica y Química Orgànica. Universitat Rovira i Virgili. Pl. Imperial Tàrraco, 1, 43005 Tarragona. [Técnicas de laboratorio](#), ISSN 0371-5728, N.º. 281, 2003, págs. 328-335
Consultado: <http://www.quimica.urv.es/quimio/general/qualit.pdf>

Sasse, E. (2002) Objective evaluation of data in screening for disease. Clin Chim Acta. 2002;315:17–30.

Vilkin, A., Rozen, P., Levi, Z., Waked, A., Maoz, E., Birkenfeld, S. & Niv, Y. (2005) Performance characteristics and evaluation of an automated-developed and quantitative,

immunochemical, fecal occult blood screening test. *Am J Gastroenterol* 2005 Nov;100(11):2519-25. doi: 10.1111/j.1572-0241.2005.00231.x.

Young, J. (2013) Tumores en costa rica: énfasis en cáncer colorrectal. *Revista Médica de la Universidad de Costa Rica*. Volumen 7, número 1

Anexo 1: Resultados del análisis de cada muestra utilizada en este trabajo

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
1	26-408	20	-	-	-	-	0	-
2	26-409	21	-	-	-	-	0	-
3	26-410	22	-	-	-	-	20	-
4	26-411	23	+	+	-	-	86	+
5	26-413	24	-	-	-	-	0	-
6	26-414	25	-	-	-	-	0	-
7	27-350	27	-	-	-	-	0	-
8	27-353	28	-	-	+	+	0	-
9	27-354	29	-	-	-	-	0	-
10	27-355	30	-	-	-	-	0	-
11	27-356	31	+	+	-	-	11	-
12	27-392	32	-	-	-	-	0	-
13	27-393	33	-	-	-	-	0	-
14	28-318	34	-	-	-	-	0	-
15	28-323	35	-	-	-	-	0	-
16	28-326	36	-	-	-	-	0	-
17	28-328	37	-	-	-	-	0	-
18	28-332	38	-	-	-	-	0	-
19	28-334	39	-	-	-	-	0	-
20	28-338	40	-	-	-	-	0	-
21	29-322	41	-	-	-	-	0	-
22	29-323	42	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
23	29-324	43	-	-	-	-	0	-
24	29-325	44	-	-	-	-	0	-
25	29-326	45	-	+	-	-	8	-
26	29-327	46	-	-	-	-	0	-
27	29-328	47	-	-	-	-	0	-
28	29-340	48	-	-	-	-	0	-
29	01-384	2	-	-	-	-	0	-
30	01-386	3	-	-	-	-	0	-
31	01-389	4	-	-	-	-	0	-
32	01-391	5	-	-	+	+	10	-
33	01-394	6	-	-	-	-	9	-
34	01-400	7	-	-	-	-	0	-
35	02-416	8	-	-	+	+	0	-
36	02-418	9	-	-	-	-	0	-
37	02-419	10	-	-	-	-	4	-
38	02-421	11	-	-	-	-	0	-
39	02-422	12	-	-	-	-	0	-
40	02-423	13	-	-	-	-	0	-
41	02-424	14	-	-	-	-	0	-
42	02-425	15	-	-	-	-	8	-
43	02-434	16	-	-	-	-	0	-
44	02-435	17	-	-	-	-	0	-
45	02-437	18	+	+	-	-	10	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
46	03-369	19	-	-	-	-	0	-
47	03-370	20	-	-	-	-	0	-
48	03-371	21	-	-	-	-	0	-
49	03-372	22	-	-	-	-	0	-
50	03-375	23	-	-	-	-	0	-
51	03-376	24	-	-	-	-	0	-
52	04-326	25	-	-	-	-	0	-
53	04-329	26	-	-	-	-	0	-
54	04-330	27	-	-	-	-	0	-
55	04-337	28	-	-	-	-	0	-
56	05-346	1	-	-	-	-	1	-
57	05-347	2	-	-	-	-	0	-
58	05-348	3	-	-	-	-	0	-
59	05-349	4	-	-	-	-	0	-
60	05-350	5	-	-	-	-	0	-
61	05-351	6	-	-	-	-	0	-
62	05-352	7	-	-	-	-	0	-
63	04-378	8	-	-	-	-	15	-
64	05-383	9	-	-	-	-	8	-
65	05-375	10	-	-	-	-	10	-
66	05-388	11	-	-	-	-	9	-
67	05-385	12	-	-	-	-	1	-
68	05-373	13	-	-	-	-	7	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
69	05-382	14	-	-	-	-	0	-
70	05-377	15	-	-	-	-	5	-
71	05-374	16	-	-	-	-	0	-
72	05-370	17	-	-	-	+/-	15	-
73	05-379	18	-	-	-	-	4	-
74	05-384	19	-	-	-	-	2	-
75	05-376	20	-	-	-	-	19	-
76	05-389	21	+	+	-	-	16	-
77	05-372	22	-	-	-	-	4	-
78	05-386	23	-	-	-	-	5	-
79	05-378	24	-	-	-	-	2	-
80	05-369	25	+	+	-	-	48	+
81	05-390	26	-	-	-	-	4	-
82	05-408	27	-	-	-	-	8	-
83	05-409	28	-	-	-	-	9	-
84	10-343	26	-	-	-	-	10	-
85	10-342	27	-	-	-	-	3	-
86	10-362	28	-	-	-	-	7	-
87	10-349	29	-	-	-	-	9	-
88	10-348	30	-	-	-	-	6	-
89	10-344	31	-	+	-	-	1	-
90	10-371	32	-	-	-	-	7	-
91	10-340	33	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
92	10-346	34	-	-	-	-	1	-
93	10-345	35	-	+	-	-	0	-
94	10-350	36	-	-	-	-	329	+
95	10-367	37	-	-	-	-	2	-
96	10-364	38	-	-	-	-	0	-
97	10-369	39	-	-	-	-	0	-
98	10-370	40	-	-	-	-	1	-
99	10-359	41	-	-	-	-	0	-
100	10-361	42	-	-	-	-	0	-
101	10-376	43	-	-	-	-	0	-
102	10-387	44	-	-	-	-	9	-
103	10-380	45	-	-	-	-	0	-
104	10-373	46	-	-	-	-	0	-
105	15-305	74	-	-	-	-	0	-
106	15-322	75	-	-	-	-	4	-
107	15-306	76	-	-	-	-	0	-
108	15-304	77	+	+	-	+	42	+
109	15-309	78	-	-	-	-	4	-
110	15-303	79	-	-	-	-	0	-
111	15-307	80	-	-	-	-	7	-
112	15-308	81	-	-	-	-	6	-
113	15-302	82	-	-	-	-	0	-
114	15-311	83	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
115	15-320	84	-	-	+	+	1	-
116	15-316	85	-	-	-	-	4	-
117	15-317	86	-	-	-	-	3	-
118	15-310	87	-	-	-	-	0	-
119	15-328	88	-	-	-	-	4	-
120	15-329	1	-	-	-	-	0	-
121	15-330	2	-	-	-	-	0	-
122	15-331	3	-	-	-	-	0	-
123	15-341	4	-	-	-	-	7	-
124	15-349	5	-	-	-	-	8	-
125	15-367	6	-	-	-	-	3	-
126	15-360	7	-	-	-	-	8	-
127	15-387	8	-	-	-	-	0	-
128	15-391	9	-	-	-	-	5	-
129	15-377	10	-	-	-	-	3	-
130	15-378	11	-	-	-	-	0	-
131	15-380	12	-	-	-	-	0	-
132	15-381	13	-	-	-	-	0	-
133	16-405	14	-	-	-	-	4	-
134	16-384	15	-	-	-	-	0	-
135	16-382	16	-	-	-	-	0	-
136	16-412	17	-	-	-	-	0	-
137	16-418	18	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
138	16-416	19	-	-	-	-	0	-
139	16-415	20	-	-	-	-	0	-
140	16-400	21	+	+	-	-	0	-
141	16-414	22	-	-	-	-	0	-
142	16-390	23	-	-	-	-	0	-
143	16-374	24	-	-	-	-	1	-
144	16-407	25	-	-	+	+	0	-
145	16-420	26	-	-	-	-	0	-
146	16-430	27	-	-	-	-	112	+
147	16-421	28	-	-	-	-	0	-
148	16-385	29	-	-	-	-	0	-
149	16-371	30	-	-	-	-	0	-
150	16-375	31	-	-	-	-	0	-
151	16-373	32	-	-	-	-	0	-
152	16-299	33	-	-	-	-	0	-
153	16-392	34	-	-	-	-	0	-
154	16-411	35	-	-	-	-	0	-
155	16-393	36	-	-	-	-	0	-
156	16-372	37	-	-	-	-	0	-
157	16-406	38	-	-	-	-	1	-
158	16-413	39	-	-	-	-	0	-
159	16-409	40	-	-	-	-	0	-
160	16-417	41	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
161	16-396	42	-	-	-	-	0	-
162	16-426	43	-	-	-	-	0	-
163	16-428	44	-	-	-	-	0	-
164	16-410	45	-	-	-	-	0	-
165	16-408	46	-	-	-	-	0	-
166	16-316	47	-	-	-	-	0	-
167	18-311	1	-	-	-	-	0	-
168	18-316	2	-	-	-	-	0	-
169	18-315	3	-	-	-	-	0	-
170	18-346	4	+	+	-	-	355	+
171	18-027	5	-	-	-	-	0	-
172	17-350	48	-	-	-	-	0	-
173	17-338	49	-	-	-	-	2	-
174	17-354	50	-	-	-	-	0	-
175	17-356	51	-	-	-	-	2	-
176	17-333	52	+	+	-	-	0	-
177	17-334	53	-	-	-	-	0	-
178	17-340	54	-	-	-	-	0	-
179	17-348	55	-	-	-	-	0	-
180	17-339	56	+	+	-	-	30	+
181	17-351	57	-	-	-	-	0	-
182	17-341	58	-	-	-	-	0	-
183	17-336	59	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
184	17-346	60	-	-	-	-	0	-
185	17-337	61	-	-	-	-	0	-
186	17-362	62	+	+	-	-	3	-
187	17-319	63	-	-	-	-	0	-
188	17-306	64	-	-	-	-	0	-
189	17-335	65	+	+	+	+	28	-
190	17-309	66	-	-	-	-	0	-
191	17-305	67	-	-	-	-	0	-
192	17-327	68	-	-	-	-	0	-
193	17-329	69	-	-	-	-	4	-
194	17-328	70	-	-	-	-	0	-
195	17-320	71	-	-	-	-	0	-
196	17-307	72	-	-	-	-	0	-
197	17-363	73	-	-	-	-	0	-
198	17-368	74	-	-	-	-	0	-
199	17-365	75	-	-	-	-	0	-
200	17-366	76	-	-	-	-	0	-
201	17-367	77	-	-	-	-	0	-
202	17-371	78	-	-	-	-	0	-
203	18-370	79	-	-	-	-	0	-
204	18-374	80	-	-	-	-	0	-
205	18-371	81	-	-	-	-	0	-
206	18-368	82	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
207	18-357	83	-	-	-	-	0	-
208	18-375	84	-	-	-	-	3	-
209	18-373	85	-	-	-	-	0	-
210	18-369	86	-	-	-	-	0	-
211	18-377	87	-	-	-	-	0	-
212	18-366	88	-	-	-	-	0	-
213	18-372	89	-	-	-	-	0	-
214	18-365	90	-	-	-	-	0	-
215	18-362	91	-	-	-	-	0	-
216	18-361	92	-	-	-	-	0	-
217	18-352	93	-	-	-	-	0	-
218	18-308	94	-	-	-	-	0	-
219	18-307	95	-	-	-	-	0	-
220	18-309	96	-	-	-	-	0	-
221	18-343	97	-	-	-	-	0	-
222	18-347	98	-	-	-	-	0	-
223	22-394	35	+	+	-	-	13	-
224	22-392	36	-	-	-	-	11	-
225	22-378	37	-	-	-	-	33	+
226	22-310	38	-	-	-	-	5	-
227	22-311	39	-	-	-	-	3	-
228	22-389	40	-	-	-	-	2	-
229	22-312	41	+	+	-	-	379	+

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
230	22-376	42	-	-	+	+	15	-
231	22-339	43	-	-	-	-	8	-
232	22-395	44	-	-	-	-	8	-
233	22-379	45	-	-	-	-	10	-
234	22-315	46	-	-	-	-	8	-
235	22-320	47	-	-	-	-	4	-
236	22-330	48	-	-	-	-	18	-
237	22-357	49	-	-	-	-	0	-
238	22-322	50	-	-	-	-	8	-
239	22-340	51	-	-	-	-	0	-
240	22-328	52	-	-	-	-	14	-
241	22-327	53	-	-	-	-	9	-
242	22-313	54	-	-	-	-	5	-
243	22-377	55	-	-	-	-	8	-
244	22-316	56	-	-	-	-	7	-
245	22-324	57	+	+	-	-	180	+
246	22-381	58	-	-	-	-	9	-
247	22-487	59	-	-	-	-	0	-
248	22-485	60	-	-	-	-	7	-
249	23-507	61	-	-	-	-	18	-
250	23-341	62	-	-	-	-	3	-
251	23-358	63	-	-	-	-	10	-
252	23-359	64	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
253	23-348	65	-	-	-	-	4	-
254	23-363	66	-	-	-	-	11	-
255	23-356	67	-	-	-	-	8	-
256	23-357	68	-	-	-	-	1	-
257	23-380	69	-	-	-	-	0	-
258	23-346	70	-	-	-	-	0	-
259	23-355	71	-	-	-	-	0	-
260	23-360	72	-	-	-	-	5	-
261	23-344	73	-	-	-	-	0	-
262	23-335	74	-	-	-	-	6	-
263	23-333	75	-	-	-	-	12	-
264	23-349	76	-	-	-	-	1	-
265	23-338	77	-	-	-	-	8	-
266	23-345	78	-	-	-	-	3	-
267	23-361	79	-	-	-	-	9	-
268	23-308	80	-	-	-	-	4	-
269	23-388	82	-	-	-	-	6	-
270	23-389	83	-	-	-	-	2	-
271	23-383	84	-	-	-	-	11	-
272	23-384	85	-	-	-	-	15	-
273	23-381	86	-	-	-	-	11	-
274	23-362	87	-	-	-	-	4	-
275	23-387	88	-	-	-	-	7	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
276	23-385	89	-	-	-	-	1	-
277	23-339	90	-	-	-	-	0	-
278	23-354	91	-	-	-	-	0	-
279	23-351	92	-	-	-	-	5	-
280	23-353	93	-	-	-	-	12	-
281	23-377	94	-	-	-	-	6	-
282	23-396	95	-	-	-	-	0	-
283	24-257	96	+	+	-	-	42	+
284	24-254	97	-	-	-	-	12	-
285	24-283	98	-	-	-	-	36	+
286	24-285	99	-	-	-	-	7	-
287	24-308	100	-	-	-	-	10	-
288	24-252	101	-	-	-	-	1	-
289	24-323	102	-	-	-	-	2	-
290	24-246	103	-	-	-	-	10	-
291	24-279	104	-	-	-	-	6	-
292	24-280	105	-	-	-	-	1	-
293	24-304	106	-	-	-	-	11	-
294	24-286	107	-	-	-	-	14	-
295	24-307	108	-	-	-	-	10	-
296	24-300	109	-	-	-	-	6	-
297	24-303	110	-	-	-	-	13	-
298	24-331	111	-	-	-	-	8	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
299	24-288	112	-	-	-	-	6	-
300	24-314	113	-	-	-	-	9	-
301	24-315	114	-	-	-	-	0	-
302	24-312	115	-	-	-	-	3	-
303	24-263	116	-	-	-	-	6	-
304	24-335	117	-	-	-	-	11	-
305	24-302	118	-	-	-	-	7	-
306	24-333	119	-	-	-	-	1	-
307	24-329	1	-	-	-	-	3	-
308	24-278	2	-	-	-	-	13	-
309	24-344	3	-	-	-	-	4	-
310	25-300	5	-	-	-	-	0	-
311	25-279	6	-	-	-	-	0	-
312	25-296	7	-	-	-	-	0	-
313	25-287	8	-	-	-	-	0	-
314	25-277	9	-	-	-	-	0	-
315	25-283	10	-	-	-	-	0	-
316	25-280	11	-	-	-	-	0	-
317	25-276	12	-	-	-	-	23	-
318	25-302	13	-	-	-	-	0	-
319	25-293	14	-	-	-	-	0	-
320	25-284	15	-	-	-	-	0	-
321	25-299	16	-	-	-	-	60	+

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
322	25-289	17	-	-	-	-	0	-
323	25-307	18	-	-	-	-	0	-
324	25-291	19	+	+	-	-	6	-
325	25-292	20	-	-	-	-	0	-
326	25-294	21	-	-	-	-	0	-
327	25-308	22	-	-	-	-	0	-
328	25-309	23	-	-	-	-	0	-
329	25-323	24	-	-	-	-	0	-
330	25-335	25	-	-	-	-	0	-
331	25-322	26	-	-	-	-	0	-
332	25-320	27	-	-	-	-	0	-
333	25-318	28	-	-	-	-	0	-
334	25-317	29	-	-	-	-	0	-
335	25-331	30	-	-	-	-	0	-
336	25-328	31	-	-	-	-	7	-
337	25-324	32	-	-	-	-	0	-
338	25-336	33	-	-	-	-	0	-
339	25-316	34	-	-	-	-	0	-
340	25-337	35	-	-	-	-	0	-
341	25-368	36	-	-	-	-	0	-
342	25-369	37	-	-	-	-	0	-
343	25-370	38	-	-	-	-	0	-
344	25-371	39	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
345	25-372	40	-	-	-	-	0	-
346	25-373	41	-	-	-	-	0	-
347	25-374	42	-	-	-	-	0	-
348	25-375	43	-	-	-	-	0	-
349	26-267	44	-	-	-	-	0	-
350	26-256	45	-	-	-	-	0	-
351	26-294	46	-	-	-	-	7	-
352	26-282	47	-	-	-	-	2	-
353	26-284	48	-	-	-	-	26	-
354	26-262	49	-	-	-	-	0	-
355	26-286	50	-	-	-	-	0	-
356	26-264	51	-	-	-	-	12	-
357	26-252	52	-	-	-	-	0	-
358	26-287	53	-	-	-	-	0	-
359	26-295	54	-	-	-	-	0	-
360	26-265	55	-	-	-	-	0	-
361	26-300	56	-	-	-	-	0	-
362	26-283	57	-	-	-	-	3	-
363	26-269	58	-	-	-	-	0	-
364	26-280	59	-	-	-	-	0	-
365	26-285	60	-	-	-	-	0	-
366	26-308	61	-	-	-	-	0	-
367	26-321	62	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
368	26-315	63	-	-	-	-	0	-
369	26-303	64	-	-	-	-	0	-
370	26-306	65	-	-	-	-	3	-
371	26-304	66	-	-	-	-	0	-
372	29-026	67	-	-	-	-	4	-
373	29-360	68	-	-	-	-	2	-
374	29-336	69	-	-	-	-	6	-
375	29-383	70	+	+	-	-	0	-
376	29-323	71	-	-	-	-	0	-
377	29-315	72	-	-	-	-	0	-
378	29-337	73	-	-	-	-	4	-
379	29-374	74	-	-	-	-	0	-
380	29-324	75	-	-	-	-	0	-
381	29-332	76	-	-	-	-	6	-
382	29-321	77	-	-	-	-	0	-
383	29-302	78	-	-	-	-	0	-
384	29-339	79	-	-	-	-	3	-
385	29-387	80	-	-	-	-	0	-
386	29-305	81	-	-	-	-	0	-
387	29-362	82	-	-	-	-	0	-
388	29-310	83	-	-	-	-	0	-
389	29-355	84	-	-	-	-	0	-
390	29-351	85	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
391	29-303	86	-	-	-	-	0	-
392	29-308	87	-	-	-	-	2	-
393	29-312	88	-	-	-	-	0	-
394	29-311	89	-	-	-	-	0	-
395	29-313	90	-	-	-	-	0	-
396	29-431	91	-	-	-	-	0	-
397	29-579	92	-	-	-	-	0	-
398	29-580	93	-	-	-	-	2	-
399	29-581	94	-	-	-	-	0	-
400	29-584	95	-	-	-	-	3	-
401	29-585	96	-	-	-	-	0	-
402	29-587	97	-	-	-	-	0	-
403	29-589	98	+	+	-	-	5	-
404	29-590	99	-	-	-	-	0	-
405	29-591	100	-	-	-	-	0	-
406	29-592	101	-	-	-	-	0	-
407	30-303	1	-	-	-	-	12	-
408	30-058	2	-	-	-	-	2	-
409	30-352	3	-	-	-	-	8	-
410	30-273	4	-	-	-	-	0	-
411	30-370	5	-	-	-	-	3	-
412	30-350	6	-	-	-	-	2	-
413	30-358	7	-	-	+	+	14	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
414	30-347	8	-	-	-	-	0	-
415	30-348	9	-	-	-	-	4	-
416	30-101	10	-	-	-	-	0	-
417	30-351	11	-	-	-	-	7	-
418	30-380	12	-	-	-	-	2	-
419	30-354	13	-	-	-	-	12	-
420	30-305	15	-	-	-	-	15	-
421	30-375	16	-	-	-	-	2	-
422	30-367	17	-	-	-	-	1	-
423	30-353	18	-	-	-	-	1	-
424	30-406	19	-	-	-	-	0	-
425	30-383	20	-	-	-	-	10	-
426	30-382	21	-	-	-	-	0	-
427	01-338	22	+	+	-	-	0	-
428	01-384	23	-	-	-	-	10	-
429	01-336	24	-	-	-	-	0	-
430	01-334	25	-	-	-	-	0	-
431	01-342	26	-	-	-	-	0	-
432	01-335	27	-	-	-	-	14	-
433	01-381	28	-	-	-	-	12	-
434	01-375	29	-	-	-	-	8	-
435	01-330	30	-	-	-	-	8	-
436	01-359	31	-	-	-	-	7	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
437	01-358	32	-	-	-	-	0	-
438	01-341	33	-	-	-	-	7	-
439	01-339	34	-	-	-	-	0	-
440	01-345	35	-	-	-	-	0	-
441	01-380	36	-	-	-	-	4	-
442	01-351	37	-	-	-	-	0	-
443	01-378	38	-	-	-	-	15	-
444	01-357	39	-	-	-	-	3	-
445	01-354	40	-	-	-	-	8	-
446	01-363	41	-	-	-	-	7	-
447	01-343	42	-	-	-	-	14	-
448	01-298	43	-	-	-	-	16	-
449	01-296	44	-	-	+	+	117	+
450	01-179	45	-	-	-	-	2	-
451	01-423	46	-	-	-	-	2	-
452	01-424	47	-	-	-	-	7	-
453	01-425	48	-	-	-	-	7	-
454	01-426	49	-	-	-	-	0	-
455	01-427	50	+	+	-	-	29	-
456	01-428	53	-	-	-	-	3	-
457	02-353	54	-	-	-	-	9	-
458	02-346	55	-	-	-	-	2	-
459	02-354	56	-	-	-	-	3	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
460	02-378	57	+	+	-	-	22	-
461	02-348	58	-	-	-	-	1	-
462	02-344	59	-	-	-	-	0	-
463	02-382	60	-	-	-	-	1	-
464	02-337	61	-	-	-	-	2	-
465	02-336	62	-	-	-	-	21	-
466	02-352	63	-	-	-	-	17	-
467	02-329	64	-	-	-	-	9	-
468	02-328	65	+	+	-	-	1491	+
469	02-351	66	-	-	-	-	7	-
470	02-379	67	-	-	-	-	4	-
471	02-335	68	-	-	-	-	10	-
472	02-324	69	-	-	-	-	0	-
473	02-323	70	-	-	-	-	12	-
474	02-326	71	-	-	-	-	7	-
475	02-338	72	-	-	-	-	13	-
476	02-325	73	-	-	-	-	1	-
477	02-327	74	-	-	-	-	0	-
478	02-381	75	-	-	-	-	0	-
479	02-396	76	-	-	-	-	2	-
480	02-375	77	+	+	+	+	1677	+
481	02-341	78	-	-	-	-	30	+
482	03-330	85	-	-	-	-	8	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
483	03-315	86	-	-	-	-	0	-
484	03-289	87	-	-	-	-	10	-
485	03-310	88	-	-	-	-	9	-
486	03-344	89	-	-	-	-	12	-
487	03-284	90	-	-	-	-	26	-
488	03-295	91	-	-	-	-	9	-
489	03-319	92	-	-	-	-	6	-
490	03-356	93	-	-	-	-	7	-
491	03-358	94	-	-	-	-	1	-
492	03-369	95	-	-	-	-	4	-
493	03-313	96	-	-	-	-	2	-
494	03-366	97	-	-	-	-	2	-
495	03-291	98	-	-	-	-	19	-
496	03-366	1	-	-	-	-	2	-
497	03-291	2	-	-	-	-	19	-
498	03-310	3	-	-	-	-	9	-
499	03-285	4	-	-	-	-	13	-
500	03-286	5	-	-	-	-	15	-
501	03-303	6	-	-	-	-	11	-
502	03-316	7	-	-	-	-	13	-
503	03-290	8	-	-	-	-	22	-
504	03-312	9	-	-	-	-	16	-
505	03-298	10	-	-	-	-	10	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
506	03-292	11	-	-	-	-	13	-
507	03-293	12	-	-	-	-	17	-
508	03-294	13	-	-	-	-	9	-
509	03-308	14	-	-	-	-	23	-
510	03-287	15	-	-	-	-	68	+
511	03-327	16	-	-	-	-	14	-
512	03-314	17	-	-	-	-	24	-
513	03-299	18	-	-	-	-	11	-
514	03-297	19	-	-	-	-	14	-
515	06-128	20	-	-	-	-	13	-
516	06-295	21	-	-	-	-	10	-
517	06-296	22	-	-	-	-	22	-
518	06-306	23	-	-	-	-	18	-
519	06-308	24	+	+	+	+	197	+
520	06-325	25	-	-	-	-	20	-
521	06-326	26	-	-	-	-	17	-
522	06-327	27	-	-	-	-	7	-
523	06-329	28	-	-	-	-	22	-
524	06-330	29	-	-	-	-	7	-
525	06-331	30	-	-	-	-	7	-
526	06-332	31	-	-	-	-	12	-
527	06-333	32	-	-	-	-	8	-
528	06-334	33	-	-	-	-	24	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
529	06-337	34	-	-	-	-	17	-
530	06-339	35	-	-	-	-	17	-
531	06-346	36	-	-	-	-	13	-
532	06-349	37	-	-	-	-	11	-
533	06-348	38	-	-	+	+	14	-
534	06-351	39	-	-	-	-	12	-
535	06-352	40	-	-	-	-	13	-
536	06-365	41	-	-	-	-	9	-
537	06-367	42	-	-	-	-	9	-
538	06-369	43	-	-	-	-	12	-
539	06-395	44	-	-	-	-	9	-
540	06-396	45	-	-	-	-	14	-
541	06-397	46	-	-	-	-	14	-
542	06-401	47	-	-	-	-	16	-
543	06-406	48	-	-	-	-	14	-
544	07-354	67	-	-	-	-	19	-
545	07-356	68	-	-	-	-	11	-
546	07-357	69	-	-	-	-	190	+
547	07-266	70	-	-	-	-	7	-
548	07-107	71	-	-	-	-	26	-
549	07-366	72	-	-	-	-	9	-
550	07-361	73	-	-	-	-	12	-
551	07-362	74	-	-	-	-	12	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
552	07-363	75	-	-	-	-	15	-
553	07-365	76	-	-	-	-	9	-
554	07-364	77	-	-	-	-	8	-
555	07-367	78	-	-	-	-	10	-
556	07-368	79	-	-	-	-	5	-
557	07-369	80	-	-	-	-	0	-
558	07-373	81	-	-	-	-	2	-
559	07-398	82	-	-	-	-	7	-
560	08-111	83	-	-	-	-	9	-
561	08-275	84	-	-	-	-	8	-
562	08-278	85	-	-	-	-	12	-
563	08-282	86	-	-	-	-	11	-
564	08-283	87	-	-	-	-	6	-
565	08-284	88	-	-	-	-	8	-
566	08-293	89	-	-	+	+	135	+
567	08-294	90	-	-	-	-	6	-
568	08-295	91	-	-	-	-	10	-
569	08-296	92	-	-	-	-	12	-
570	08-298	93	-	-	-	-	8	-
571	08-299	94	-	-	-	-	4	-
572	08-301	95	+	+	-	-	178	+
573	08-319	96	-	-	-	-	8	-
574	08-327	97	-	-	-	-	22	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
575	08-328	98	-	-	-	-	17	-
576	08-330	1	+	+	+	+	1002	+
577	08-331	2	-	-	-	-	19	-
578	08-339	3	-	-	-	-	91	+
579	08-342	4	-	-	-	-	0	-
580	08-343	5	+	+	-	-	280	+
581	08-344	6	-	-	-	-	0	-
582	08-347	7	-	-	-	-	81	+
583	08-349	8	-	-	-	-	0	-
584	08-352	9	-	-	-	-	0	-
585	08-354	10	-	-	-	-	0	-
586	08-355	11	-	-	-	-	0	-
587	08-356	12	-	-	-	-	0	-
588	08-357	13	-	-	+	+	0	-
589	08-362	14	-	-	-	-	22	-
590	08-358	15	-	-	-	-	0	-
591	08-359	16	-	-	-	-	12	-
592	08-360	17	-	-	-	-	3	-
593	09-051	18	-	-	-	-	6	-
594	09-250	19	-	-	-	-	0	-
595	09-329	22	-	-	-	-	6	-
596	09-297	23	-	-	-	-	23	-
597	09-298	24	-	-	-	-	6	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
598	09-299	25	-	-	-	-	5	-
599	09-301	26	-	-	-	-	2	-
600	09-302	27	-	-	-	-	0	-
601	09-303	28	-	-	-	-	0	-
602	09-304	29	-	-	-	-	6	-
603	09-305	30	-	-	-	-	0	-
604	09-307	31	-	-	-	-	0	-
605	09-310	32	-	-	-	-	5	-
606	09-320	33	-	-	-	-	7	-
607	09-323	34	-	-	-	-	0	-
608	09-332	35	-	-	-	-	13	-
609	09-333	36	-	-	-	-	10	-
610	09-334	37	-	-	-	-	6	-
611	09-335	38	-	-	-	-	9	-
612	09-336	39	-	-	-	-	4	-
613	09-338	40	-	-	-	-	8	-
614	09-339	41	-	-	-	-	5	-
615	09-340	42	-	-	-	-	0	-
616	09-341	43	-	-	-	-	3	-
617	09-342	44	-	-	+	+	0	-
618	09-345	45	-	-	-	-	2	-
619	09-346	46	-	-	-	-	0	-
620	09-348	47	-	-	-	-	2	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
621	09-350	48	-	-	-	-	9	-
622	10-022	49	-	-	-	-	47	+
623	10-264	50	-	-	-	-	5	-
624	10-267	51	-	-	-	-	0	-
625	10-280	52	-	-	-	-	9	-
626	10-290	53	+	+	-	+	36	+
627	10-292	54	-	-	-	-	0	-
628	10-293	55	+	+	-	-	1513	+
629	10-294	56	-	-	-	-	11	-
630	10-295	57	-	-	-	-	0	-
631	10-296	58	-	-	-	-	0	-
632	10-302	59	-	-	-	-	0	-
633	10-353	60	+	+	+	+	19	-
634	10-306	61	-	-	-	-	0	-
635	10-308	62	-	-	-	-	0	-
636	10-337	63	-	-	-	-	0	-
637	10-340	64	-	-	-	-	3	-
638	10-345	65	-	-	-	-	5	-
639	10-347	66	-	-	-	-	8	-
640	10-349	67	-	-	-	-	0	-
641	10-356	68	-	-	-	-	11	-
642	10-360	69	-	-	-	-	1	-
643	10-359	70	-	-	-	-	12	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
644	13-301	71	-	-	-	-	1	-
645	13-302	72	-	-	-	-	0	-
646	13-303	73	-	-	-	-	0	-
647	13-304	74	-	-	-	-	0	-
648	13-305	75	-	-	-	-	1	-
649	13-306	76	-	-	-	-	0	-
650	13-307	77	-	-	-	-	0	-
651	13-314	78	-	-	-	-	5	-
652	13-316	79	-	-	-	-	0	-
653	13-318	80	-	-	-	-	2	-
654	13-332	81	+	+	-	-	10	-
655	13-364	82	-	-	-	-	75	+
656	13-376	83	-	-	-	-	0	-
657	13-418	84	-	-	-	-	0	-
658	13-443	85	-	-	-	-	0	-
659	13-452	86	-	-	-	-	1	-
660	13-470	87	-	-	-	-	0	-
661	13-558	88	-	-	-	-	0	-
662	13-654	89	-	-	-	-	0	-
663	13-655	90	-	-	-	-	0	-
664	13-656	91	-	-	-	-	0	-
665	14-290	92	-	-	-	-	5	-
666	14-329	93	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
667	14-330	94	-	-	-	-	3	-
668	14-331	95	-	-	-	-	5	-
669	14-333	96	-	-	-	-	0	-
670	14-334	97	+	+	+	+	1443	+
671	08-293	98	-	-	-	-	120	+
672	14-336	1	-	-	-	-	0	-
673	14-339	2	-	-	-	-	12	-
674	14-352	3	-	-	-	-	0	-
675	14-354	4	-	-	-	-	19	-
676	14-356	5	-	-	-	-	0	-
677	14-379	6	-	-	-	-	0	-
678	14-397	7	-	-	-	-	0	-
679	14-400	8	-	-	-	-	0	-
680	14-401	9	-	-	-	-	0	-
681	15-141	10	+	+	-	-	27	-
682	15-272	11	-	-	-	-	0	-
683	15-277	12	-	-	-	-	0	-
684	15-294	13	-	-	-	-	0	-
685	15-295	14	-	-	-	-	0	-
686	15-296	15	-	-	-	-	0	-
687	15-297	16	-	-	-	-	0	-
688	15-298	17	-	-	-	-	0	-
689	15-299	18	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
690	15-301	19	-	-	-	-	0	-
691	15-302	20	-	-	-	-	0	-
692	15-317	21	-	-	-	-	4	-
693	15-319	22	-	-	-	-	0	-
694	15-322	23	-	-	-	-	0	-
695	15-342	24	-	-	-	-	0	-
696	15-343	25	-	-	-	-	0	-
697	16-036	26	-	-	-	-	0	-
698	16-270	27	-	-	-	-	0	-
699	16-315	28	-	-	-	-	0	-
700	16-319	29	-	-	-	-	0	-
701	16-321	30	-	-	-	-	4	-
702	16-322	31	-	-	+	+	1	-
703	16-323	32	-	-	-	-	8	-
704	16-325	33	-	-	-	-	0	-
705	16-327	34	-	-	-	-	0	-
706	16-330	35	-	-	-	-	0	-
707	16-331	36	-	-	-	-	0	-
708	16-333	37	-	-	-	-	0	-
709	16-335	38	-	-	-	-	0	-
710	16-339	39	-	-	-	-	0	-
711	16-344	40	-	-	-	-	0	-
712	16-346	41	-	-	-	-	11	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
713	16-352	42	+	+	-	-	0	-
714	16-357	43	-	-	-	-	0	-
715	16-359	44	-	-	-	-	6	-
716	16-361	45	-	-	-	-	0	-
717	16-364	46	-	-	-	-	5	-
718	16-365	47	-	-	+	+	0	-
719	16-368	48	-	-	-	-	0	-
720	16-369	49	-	-	-	-	1	-
721	16-373	50	-	-	-	-	0	-
722	17-258	51	-	-	-	-	3	-
723	17-263	52	-	-	-	-	2	-
724	17-286	53	-	-	-	-	1	-
725	17-287	54	-	-	-	-	3	-
726	17-291	55	-	-	-	-	0	-
727	17-292	56	-	-	-	-	4	-
728	17-302	57	-	-	-	-	0	-
729	17-304	58	-	-	-	-	0	-
730	17-307	59	-	-	-	-	0	-
731	17-308	60	-	-	-	-	0	-
732	17-313	61	-	-	-	-	1	-
733	17-320	62	-	-	-	-	4	-
734	17-321	63	-	-	-	-	3	-
735	17-324	64	-	-	-	-	11	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
736	17-331	65	-	-	-	-	7	-
737	17-325	66	-	-	-	-	5	-
738	17-327	67	-	-	-	-	0	-
739	17-343	68	-	-	-	-	1	-
740	17-356	69	+	+	-	-	43	+
741	17-364	70	-	-	-	-	0	-
742	17-365	71	-	-	-	-	3	-
743	17-369	72	-	-	-	-	0	-
744	17-451	73	-	-	-	-	0	-
745	17-154	74	-	-	-	-	11	-
746	20-162	75	+	+	-	-	64	+
747	20-184	76	-	-	-	-	0	-
748	20-316	77	-	-	-	-	0	-
749	20-322	78	-	-	-	-	0	-
750	20-323	79	-	-	-	-	1	-
751	20-324	80	-	-	-	-	0	-
752	20-326	81	-	-	-	-	0	-
753	20-340	82	-	-	-	-	0	-
754	20-341	83	-	-	-	-	0	-
755	20-342	84	-	-	-	-	0	-
756	20-343	85	-	-	-	-	0	-
757	20-345	86	-	-	-	-	0	-
758	20-352	87	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
759	20-362	88	-	-	-	-	3	-
760	20-365	89	-	-	-	-	0	-
761	20-367	90	-	-	-	-	6	-
762	20-369	91	-	-	-	-	6	-
763	20-370	92	-	-	-	-	0	-
764	20-372	93	-	-	-	-	0	-
765	20-376	94	-	-	-	-	0	-
766	20-381	95	+	+	+	+	121	+
767	20-384	96	-	-	-	-	3	-
768	20-387	97	-	-	-	-	23	-
769	20-396	98	-	-	-	-	0	-
770	20-405	99	-	-	-	-	8	-
771	20-586	100	-	-	-	-	10	-
772	13-627	1	-	-	-	-	5	-
773	13-631	2	-	-	-	-	0	-
774	20-678	3	-	-	-	-	0	-
775	20-679	4	-	-	-	-	5	-
776	20-680	5	-	-	-	-	7	-
777	20-681	6	-	-	-	-	0	-
778	20-683	7	-	-	-	-	1	-
779	20-686	8	+	+	-	-	266	+
780	20-688	9	-	-	-	-	0	-
781	20-690	10	-	-	-	-	23	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
782	21-081	11	-	-	-	-	0	-
783	21-141	12	-	-	-	-	0	-
784	21-194	13	+	+	+	+	46	+
785	21-304	14	-	-	-	-	0	-
786	21-315	15	-	-	-	-	0	-
787	21-317	16	-	-	-	-	0	-
788	21-318	17	-	-	-	-	0	-
789	21-326	18	+	+	-	-	28	-
790	21-327	19	-	-	-	-	1	-
791	21-329	20	-	-	-	-	5	-
792	21-331	21	-	-	-	-	10	-
793	21-332	22	-	-	-	-	0	-
794	21-349	23	-	-	-	-	0	-
795	21-351	24	-	-	-	-	0	-
796	21-352	25	-	-	-	-	0	-
797	21-353	26	-	-	-	-	0	-
798	21-361	27	-	-	-	-	0	-
799	21-365	28	-	-	-	-	0	-
800	21-366	29	-	-	-	-	0	-
801	21-367	30	-	-	-	-	7	-
802	21-375	31	-	-	-	-	0	-
803	21-377	32	-	-	-	-	0	-
804	21-382	33	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
805	21-383	34	-	-	-	-	0	-
806	21-384	35	-	-	-	-	0	-
807	21-385	36	-	-	-	-	0	-
808	21-386	37	-	-	-	-	0	-
809	21-393	38	+	+	-	-	134	+
810	22-293	39	-	-	-	-	13	-
811	22-313	40	-	-	-	-	0	-
812	22-316	41	-	-	-	-	5	-
813	22-318	42	-	-	-	-	0	-
814	22-320	43	-	-	-	-	0	-
815	22-322	44	-	-	-	-	0	-
816	22-323	45	-	-	-	-	0	-
817	22-325	46	-	-	-	-	0	-
818	22-326	47	-	-	-	-	0	-
819	22-327	48	-	-	-	-	0	-
820	22-328	49	-	-	-	-	0	-
821	22-311	50	-	+	-	-	11	-
822	22-315	51	-	-	-	-	6	-
823	22-330	52	-	-	-	-	12	-
824	22-333	53	-	-	-	-	0	-
825	22-338	54	-	-	-	-	0	-
826	22-339	55	-	-	-	-	0	-
827	22-341	56	-	-	-	-	6	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
828	22-342	57	-	-	-	-	0	-
829	22-347	58	-	-	-	-	0	-
830	22-348	59	-	-	-	-	0	-
831	22-349	60	-	-	-	-	0	-
832	22-350	61	-	-	-	-	0	-
833	22-352	62	-	-	-	-	0	-
834	22-353	63	-	-	-	-	0	-
835	22-354	64	-	-	-	-	0	-
836	22-356	65	-	-	-	-	0	-
837	22-360	66	-	-	-	-	0	-
838	22-361	67	-	-	-	-	1	-
839	22-362	68	-	-	-	-	0	-
840	22-363	69	-	-	-	-	4	-
841	22-364	70	-	-	-	-	0	-
842	23-311	1	-	-	-	-	16	-
843	23-316	2	-	-	-	-	0	-
844	23-318	3	-	-	-	-	0	-
845	23-319	4	+	+	-	-	29	-
846	23-324	5	-	-	-	-	2	-
847	23-334	6	-	-	-	+	0	-
848	23-336	7	-	-	-	-	0	-
849	23-340	8	-	-	-	-	4	-
850	23-343	9	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
851	23-344	10	-	-	-	-	2	-
852	23-345	11	-	-	-	-	0	-
853	23-346	12	+	+	+	+	147	+
854	23-149	13	-	-	-	-	0	-
855	23-234	14	-	-	-	-	0	-
856	23-257	15	-	-	-	-	11	-
857	23-267	16	-	-	-	-	0	-
858	23-287	17	-	-	-	-	0	-
859	23-288	18	-	-	-	-	0	-
860	23-289	19	-	-	-	-	0	-
861	23-290	20	-	-	-	-	0	-
862	23-291	21	-	-	-	-	0	-
863	23-292	22	-	-	-	-	0	-
864	23-293	23	-	-	-	-	0	-
865	23-300	24	-	-	-	-	76	+
866	23-301	25	+	+	-	-	241	+
867	23-303	26	-	-	-	-	0	-
868	23-304	27	-	-	-	-	26	-
869	23-305	28	-	-	-	-	0	-
870	23-306	29	-	-	-	-	0	-
871	23-354	30	+	+	-	+	946	+
872	23-359	31	-	-	-	-	0	-
873	23-361	32	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
874	24-064	33	-	-	-	-	0	-
875	24-177	34	-	-	-	-	0	-
876	24-271	35	-	-	-	-	147	+
877	24-272	36	-	-	-	-	0	-
878	24-273	37	-	-	-	-	0	-
879	24-276	39	-	-	-	-	0	-
880	24-278	40	-	-	-	-	0	-
881	24-279	41	-	-	-	-	0	-
882	24-282	42	-	-	-	-	0	-
883	24-285	43	-	-	-	-	4	-
884	24-293	44	-	-	-	-	2	-
885	24-296	45	-	+	-	-	0	-
886	24-304	46	-	-	-	-	9	-
887	24-305	47	-	-	-	-	0	-
888	24-320	48	-	-	-	-	0	-
889	24-319	49	-	-	-	-	4	-
890	24-321	50	-	-	-	-	0	-
891	24-328	51	-	-	-	-	0	-
892	24-329	52	-	-	-	-	0	-
893	24-330	53	-	-	-	-	21	-
894	24-332	54	-	-	-	-	0	-
895	24-337	55	-	-	-	-	0	-
896	24-340	56	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
897	24-352	57	-	-	-	-	0	-
898	28-111	58	+	+	-	-	921	+
899	28-283	59	-	-	-	-	0	-
900	28-304	60	+	+	-	-	89	+
901	28-327	61	-	-	-	-	14	-
902	28-329	62	-	-	-	-	0	-
903	28-330	63	-	-	-	-	19	-
904	28-331	64	-	-	-	-	0	-
905	28-332	65	-	-	-	-	8	-
906	28-333	66	-	-	-	-	200	+
907	28-335	67	-	-	-	-	0	-
908	28-337	68	-	-	-	-	0	-
909	28-338	69	-	-	-	-	2	-
910	28-339	70	-	-	-	-	0	-
911	28-359	71	-	-	-	-	0	-
912	28-363	72	-	-	-	-	0	-
913	28-365	73	-	-	-	-	5	-
914	28-366	74	-	-	-	-	4	-
915	28-367	75	-	-	-	-	0	-
916	28-374	76	-	-	-	-	0	-
917	28-377	77	-	-	-	-	2	-
918	28-379	78	-	-	-	-	9	-
919	28-380	79	-	-	-	-	6	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
920	28-382	80	-	-	-	-	0	-
921	28-383	81	-	-	-	-	0	-
922	28-431	82	-	-	-	-	22	-
923	29-324	83	-	-	-	-	13	-
924	29-326	84	-	-	-	-	22	-
925	29-328	85	-	-	-	-	56	+
926	29-330	86	-	-	-	-	0	-
927	29-336	87	-	-	-	-	16	-
928	29-337	88	-	-	-	-	0	-
929	29-390	89	-	-	-	-	0	-
930	29-340	90	-	-	-	-	0	-
931	29-354	91	-	-	-	-	0	-
932	29-357	92	-	-	-	-	8	-
933	29-359	93	-	-	-	-	4	-
934	29-361	94	-	-	-	-	0	-
935	29-363	95	-	-	-	-	0	-
936	29-371	96	-	-	-	-	0	-
937	29-377	97	-	-	-	-	0	-
938	29-379	98	-	-	-	-	0	-
939	29-385	99	-	-	-	-	0	-
940	29-388	100	-	-	-	-	22	-
941	29-389	101	-	-	-	-	0	-
942	29-392	102	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
943	29-394	103	-	-	-	-	0	-
944	29-405	1	-	-	-	-	0	-
945	30-028	2	-	-	-	-	8	-
946	30-249	3	-	-	-	-	0	-
947	30-276	4	+	+	-	-	54	+
948	30-250	5	-	-	-	-	0	-
949	30-256	6	-	-	-	-	6	-
950	30-320	7	-	-	-	-	2	-
951	30-280	8	-	-	-	-	0	-
952	30-281	9	-	-	-	-	0	-
953	30-282	10	-	-	-	-	0	-
954	30-283	11	-	-	-	-	2	-
955	30-284	12	-	-	-	-	5	-
956	30-285	13	-	-	-	-	5	-
957	30-286	14	-	-	-	-	2	-
958	30-287	15	-	-	-	-	0	-
959	30-291	16	-	-	-	-	0	-
960	30-292	17	-	-	-	-	0	-
961	30-294	18	-	-	-	-	0	-
962	30-295	19	-	-	-	-	0	-
963	30-299	20	-	-	-	-	0	-
964	30-302	21	-	-	-	-	0	-
965	30-313	22	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
966	30-314	23	+	+	-	-	62	+
967	30-315	24	-	-	-	-	0	-
968	30-322	25	-	+	-	-	22	-
969	30-324	26	-	-	-	-	0	-
970	30-327	27	-	+	-	-	4	-
971	30-331	28	-	-	-	-	0	-
972	30-333	29	-	-	-	-	7	-
973	31-152	30	-	-	-	-	0	-
974	31-288	31	-	-	-	-	1	-
975	31-289	32	-	-	-	-	0	-
976	31-290	33	-	-	-	-	15	-
977	31-291	34	-	-	-	-	0	-
978	31-292	35	-	-	-	-	0	-
979	31-293	36	-	-	-	-	0	-
980	31-295	37	-	-	-	-	0	-
981	31-297	38	-	-	-	-	0	-
982	31-299	39	-	-	-	-	5	-
983	31-298	40	-	-	-	-	0	-
984	31-300	41	-	-	-	-	0	-
985	31-301	42	-	-	-	-	0	-
986	31-302	43	-	-	-	-	17	-
987	31-303	44	-	-	-	-	6	-
988	31-304	45	-	-	-	-	7	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
989	31-332	46	-	-	-	-	0	-
990	31-337	47	-	-	-	-	0	-
991	31-339	48	-	-	-	-	0	-
992	31-344	49	-	-	-	-	0	-
993	31-346	50	-	+	-	-	105	+
994	31-352	51	-	-	-	-	1	-
995	31-361	52	-	-	-	-	0	-
996	03-343	53	-	-	-	-	1	-
997	03-346	54	-	-	-	-	12	-
998	03-348	55	-	-	-	-	0	-
999	03-350	56	-	+	-	+	2	-
1000	03-354	57	-	-	-	-	1	-
1001	03-360	58	-	-	-	-	0	-
1002	03-368	59	-	-	-	-	0	-
1003	03-371	60	-	-	-	-	0	-
1004	03-374	61	-	-	-	-	0	-
1005	03-410	62	-	-	+/-	+	7	-
1006	03-412	63	-	-	-	-	3	-
1007	03-414	64	-	-	-	-	0	-
1008	03-416	65	-	-	-	-	3	-
1009	03-426	66	-	-	-	-	13	-
1010	03-448	67	-	-	-	-	2	-
1011	03-449	68	-	-	-	-	5	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
1012	03-450	69	-	-	-	-	3	-
1013	03-458	70	-	-	-	-	0	-
1014	04-347	71	-	-	-	-	0	-
1015	04-348	72	-	-	-	-	15	-
1016	04-350	73	-	-	-	-	4	-
1017	04-349	74	-	-	-	+/-	0	-
1018	04-407	75	-	-	-	-	12	-
1019	04-354	76	-	-	-	-	0	-
1020	04-341	77	-	-	-	-	0	-
1021	04-398	78	-	-	-	-	0	-
1022	04-345	79	-	-	-	-	0	-
1023	04-344	80	-	-	-	-	0	-
1024	04-362	81	-	-	-	-	1	-
1025	04-346	82	-	-	-	-	0	-
1026	04-342	83	-	-	-	-	0	-
1027	04-056	84	-	-	-	-	0	-
1028	04-044	85	-	-	-	-	0	-
1029	04-292	86	-	-	-	-	0	-
1030	04-382	87	-	-	-	-	0	-
1031	04-371	88	-	-	-	-	0	-
1032	04-340	89	-	-	-	-	0	-
1033	04-402	90	-	-	-	-	0	-
1034	04-367	91	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
1035	04-437	92	-	-	-	-	0	-
1036	04-438	93	-	-	-	-	2	-
1037	04-439	94	-	-	-	-	0	-
1038	04-441	95	-	-	-	-	0	-
1039	04-440	96	-	-	-	-	0	-
1040	04-449	97	-	-	-	-	4	-
1041	05-034	98	-	-	-	-	14	-
1042	05-028	99	-	+	-	-	237	+
1043	05-319	1	-	-	-	-	0	-
1044	05-313	2	-	-	-	-	0	-
1045	05-265	3	-	-	-	-	0	-
1046	05-315	4	-	-	-	-	0	-
1047	05-311	5	-	-	-	-	0	-
1048	05-298	6	-	-	-	-	0	-
1049	05-299	7	-	-	-	-	0	-
1050	05-048	8	-	-	-	-	0	-
1051	05-047	9	-	-	-	-	21	-
1052	05-305	10	-	-	-	-	0	-
1053	05-295	11	-	-	-	-	0	-
1054	05-302	12	-	-	-	-	0	-
1055	05-296	13	-	-	-	-	4	-
1056	05-294	14	-	-	-	-	0	-
1057	05-310	15	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
1058	05-333	16	-	-	-	-	0	-
1059	05-322	17	-	-	-	-	0	-
1060	05-297	18	-	-	-	-	0	-
1061	05-329	19	-	-	-	-	0	-
1062	05-301	20	-	-	-	-	0	-
1063	05-308	21	-	-	-	-	0	-
1064	05-332	22	-	-	-	-	0	-
1065	05-353	23	-	-	-	-	0	-
1066	05-345	24	-	-	-	-	0	-
1067	05-300	25	-	-	-	-	0	-
1068	05-358	26	-	-	-	-	0	-
1069	05-344	27	-	-	-	-	0	-
1070	05-341	28	-	-	-	-	0	-
1071	05-312	29	-	-	-	-	58	+
1072	05-377	30	-	-	-	-	0	-
1073	05-426	31	-	-	-	-	0	-
1074	05-419	32	-	-	-	-	0	-
1075	05-422	33	-	-	-	-	0	-
1076	05-425	34	-	-	-	-	0	-
1077	06-300	35	-	-	-	-	13	-
1078	06-323	36	-	-	-	-	8	-
1079	06-305	37	-	-	-	-	3	-
1080	06-308	38	-	-	-	-	8	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
1081	06-299	39	-	-	-	-	0	-
1082	06-335	40	-	-	-	-	0	-
1083	06-322	41	-	-	-	-	0	-
1084	06-333	42	-	-	-	-	1	-
1085	06-304	43	-	-	-	-	0	-
1086	06-320	44	-	-	-	-	0	-
1087	06-169	45	-	-	-	-	16	-
1088	06-325	46	-	-	-	-	1	-
1089	06-326	47	-	-	-	-	0	-
1090	06-311	48	-	-	-	-	0	-
1091	06-306	49	-	-	+/-	+	0	-
1092	06-399	50	-	-	-	-	0	-
1093	06-362	51	-	-	-	-	2	-
1094	07-315	52	-	+	-	-	40	+
1095	07-325	53	-	-	-	-	0	-
1096	07-321	54	-	-	-	-	0	-
1097	07-316	55	-	-	-	-	0	-
1098	07-319	56	-	-	-	-	0	-
1099	07-345	57	-	-	-	-	0	-
1100	07-356	58	-	-	+	+	0	-
1101	07-377	59	-	-	-	-	0	-
1102	07-312	60	-	-	-	-	0	-
1103	07-354	61	-	-	-	-	0	-

#	Muestra		Método manual				Método automatizado	
			Sangre Oculta		Transferrina		Concentración [ng/mL]	Interpretación punto de corte 30 ng/mL
			15	30	15	30		
1104	07-342	62	-	-	-	-	0	-
1105	07-323	63	-	-	-	-	0	-
1106	07-339	64	-	-	-	-	0	-
1107	07-317	65	-	-	-	-	0	-
1108	07-350	66	-	-	-	-	0	-
1109	07-150	67	-	-	-	-	14	-
1110	07-362	68	-	-	-	-	0	-
1111	07-366	69	-	-	-	-	0	-
1112	07-313	70	-	-	-	-	0	-
1113	07-314	71	-	-	-	-	0	-
1114	07-318	72	+	+	-	-	11	-
1115	07-348	73	-	-	-	-	0	-
1116	07-327	74	-	-	-	-	0	-
1117	07-359	75	-	-	-	-	0	-
1118	07-357	76	-	-	-	-	0	-
1119	06-361	61	-	-	-	-	0	-