



Article original

Evaluation de Performances analytiques de l'hémoglobinomètre HEMOCUE® Hb 201+ : étude observationnelle analytique monocentrique réalisée aux Cliniques Universitaires de Kinshasa, République Démocratique du Congo

Evaluation of analytical performance of the hemoglobinometer HEMOCUE® Hb 201+ : A monocentric study from the Kinshasa University Hospital, Democratic Republic of Congo

Clélie Mbwinzo¹, Jérémie Masidi Muwonga¹, Gustave Ntita Ilunga¹, Blaise Matondo Sumbu¹, Mamy Zita Ngole¹, Dophie Tshibuela Beya¹, Jonathan Imana Kukila¹, Donat Kalombo Muamba¹, Jonathan Muwonga¹, Bernadette Tshilobo¹, Alain Byaene Chabo¹

Auteur correspondant

Clélie Mbwinzo, MD

Courriel : cleliemb@gmail.com

Biologie clinique, Biologie Médicale, Cliniques Universitaires de Kinshasa, République démocratique du Congo

Summary

Context and objective

The dosage of hemoglobin (Hb) is challenging particularly in rural setting. This dosage can be done using "Point of Care" (POC) material within rural areas and emergency situations. The present study aimed to assess the POC HemoCue® Hb 201+. *Methods.* This was an analytical cross-sectional study comparing the rates of the dosage of Hb carried out on HemoCue® Hb 201+ hemoglobinometer and those obtained with Mindray BC-5150 automaton in Kinshasa University Hospital, Democratic Republic of Congo (DRC). *Results.* Two hundred subjects were involved in the study. Mean and median Hb rates were $10,438 \pm 2,741$ g/dl and 10,600 g/dl (IQR: 8,675-12,300 g/dl) by Mindray BC-5150, respectively and mean rate of Hb was $10,5 \pm 2,756$ g/dl and the median rate was 10,900 g/dl (IQR: 8,775 - 12,300 g/dl) by the HemoCue® Hb 201+, respectively. The linear regression revealed a positive relationship between the Hb rates obtained on an automaton Mindray BC- 5150 and those obtained on the HemoCue® Hb 201+. The diagram of Bland Altman showed limits of agreement between automaton Mindray BC- 5150 and HemoCue® Hb

Résumé

Contexte & objectif

Le dosage du taux de l'hémoglobine est un véritable défi en milieu rural où les laboratoires sont moins équipés. Et pourtant, cette analyse, réalisée au moyen des équipements plus au moins sophistiqués, permettant de confirmer une anémie, peut être facilitée par l'utilisation des Points of care (POC). Le POC HemoCue® Hb 201+, utilisé dans certains sites pour ce faire, n'a jamais été évalué. L'objectif de la présente étude était d'évaluer les performances du POC HemoCue® Hb 201+ à Kinshasa /RDC. *Méthodes.* Il s'agissait d'une étude transversale, analytique comparant les taux d'Hb obtenus sur HemoCue® Hb 201+ et sur Mindray BC-5150 comme référence, aux Cliniques Universitaires de Kinshasa. *Résultats.* Deux cents sujets ont été inclus. Les taux moyen et médian d'Hb sur l'automate Mindray BC-5150 ont été respectivement, de $10,438 \pm 2,741$ g/dl et de 10,600 g/dl (IQR : 8,675-12,300 g/dl). Le taux moyen d'Hb sur le POC HemoCue® Hb 201 a été de $10,5 \pm 2,756$ g/dl et le taux médian de 10,900 g/dl (IQR : 8,775 - 12,300 g/dl). La régression linéaire a mis en évidence une relation positive entre les taux d'Hb dosés sur automate Mindray BC- 5150 et ceux dosés sur HemoCue® Hb 201+. Le diagramme de Bland Altman a montré des limites d'accord entre l'automate Mindray BC- 5150 et HemoCue® Hb 201. *Conclusion.* Cette étude a montré que le POC HemoCue® Hb 201+ fournissait des résultats

e5468



201+. **Conclusion.** This study showed that the POC HemoCue® Hb 201+ provided similar results to those of the automaton Mindray BC-5150. Thus, HemoCue® Hb 201+ can be used in emergency services or even in medical institutions that do not have or do not meet the conditions for the use of hematology analyzers in the DRC.

Keywords: Evaluation, performances, HemoCue® Hb 201+, Mindray BC-5150

Received: May 25th, 2023

Accepted: November 5th, 2023

<https://dx.doi.org/10.4314/aamed.v17i1.4>

1. Biologie médicale, Cliniques Universitaires de Kinshasa, Université de Kinshasa, RD Congo

Introduction

La détermination du taux de l'hémoglobine (Hb) dans le sang est l'indicateur le plus pertinent pour diagnostiquer l'anémie. Cette analyse très courante est généralement réalisée au laboratoire disposant des automates ou semi automates et un personnel qualifié (1-2). Bien que ces automates ou semi-automates soient d'une grande précision, ils restent néanmoins coûteux et requièrent une logistique (électricité, intrants, maintenance...) qui n'est pas à la portée de beaucoup de pays à ressources limitées et particulièrement des établissements de santé surtout en milieu rural. C'est la situation de la République Démocratique du Congo (RDC), avec plus de 90 millions d'habitants dont 57 % vivent en milieu rural, où la couverture en électricité n'est que de 19,1 % (3). Dans ce contexte, il serait efficient d'utiliser des « Point Of Care (POC) et des tests de laboratoire peu exigeants, simples, rapides et précis au chevet du patient, où des décisions cliniques immédiates et efficaces sont censées être prises (4). Cependant, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande la validation d'un équipement ou d'une méthode avant son utilisation dans un laboratoire ou un contexte déterminé (5). Le POC HemoCue®

identiques à ceux de l'automate Mindray BC-5150. Ainsi, l'HemoCue® Hb 201+ peut être utilisé dans les services d'urgence ou dans les institutions médicales ne possédant pas ou ne remplissant pas les conditions d'utilisation des automates d'hématologie en RDC

Mots-clés : Evaluation, performances, HemoCue® Hb 201+, Mindray BC-5150

Reçu le 25 mai 2023

Accepté le 5 novembre 2023

<https://dx.doi.org/10.4314/aamed.v17i1.4>

Hb 201+, destiné au dosage de l'Hb et déjà utilisé dans certains milieux, n'a jamais été évalué dans le contexte de la RDC. Dès lors une validation de celui-ci s'avère opportune pour une généralisation éventuelle de son utilisation dans le pays (6-8). Ainsi, la présente étude à rechercher à évaluer les performances du POC HemoCue® Hb 201+ dans le contexte des pays à ressources limitées.

Méthodes

Nature, période et cadre de l'étude

Il s'agissait d'une étude transversale analytique conduite au cours de la période allant du 22 février au 9 mai 2023, dans le Service de Biologie Clinique, des Cliniques Universitaires de Kinshasa (CUK).

Population d'étude et échantillonnage

Les patients reçus à l'Unité de Prélèvements de Service de biologie Clinique des Cliniques Universitaires de Kinshasa (CUK) et munis d'un bon de demande d'analyses comprenant l'hémogramme ou le dosage de l'Hb, tous âges et sexes confondus ont constitué la population de l'étude.

Le type d'échantillon était de convenance, conforme aux recommandations du *Clinical and Laboratory Standards Institute* ($n \geq 40$)



pour la comparaison des méthodes utilisées en laboratoire de biologie médicale (9).

Pour chaque patient, un échantillon de sang veineux était prélevé dans un tube avec EDTA par ponction veineuse effectuée au niveau du pli du coude ou du dos de la main pour certains cas. Ces échantillons ne présentaient ni caillot, ni hémolyse ou lactescence et ont été sélectionnés après mesure de la concentration d'hémoglobine sur Mindray BC-5150 dans les lots journaliers successifs d'échantillons reçus des patients pour la NFS.

Critères d'inclusion

- avoir fait une prise de sang en vue de l'hémoграмme dont le dosage de l'Hb,
- avoir donné son consentement éclairé pour participer à l'étude ou celui des parents ou tuteur, le cas échéant (des mineurs)

Critères de non inclusion

- une prise de sang infructueuse n'ayant pas permis de réaliser l'analyse

Durant la période d'étude, plus de 3112 patients ont été reçus à l'Unité de prélèvement du Service de Biologie Clinique, Mais seulement 200 patients ont été retenus pour l'étude, puisque remplissant les critères de sélection (Figure 1).

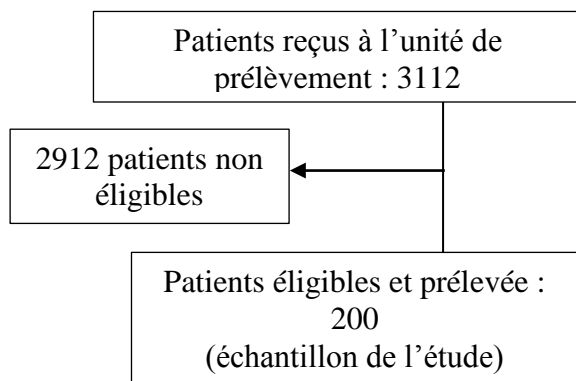


Figure 1. Diagramme de flux des patients de la réception dans l'Unité de prélèvement à la sélection pour l'étude

Mode de recrutement : une méthode d'échantillonnage aléatoire simple a été utilisée. Tous les patients venus au cours de la période d'étude avaient les chances égales d'être sélectionnés. Ceux qui répondaient aux critères et consentaient, étaient recrutés.

Analyses biologiques

Les analyses de dosage de l'Hb étaient immédiatement réalisées de façon concomitante, respectivement sur l'automate Mindray BC-5150 ayant servi de référence (gold standard) puis sur HemoCue® Hb 201+. La mesure de la concentration d'hémoglobine sur Mindray BC-5150 : l'automate Mindray a servi au dosage de l'hémoglobine et était utilisée en routine pour les analyses de la numération formule sanguine (NFS). Cet automate utilise l'un des procédés qui est la colorimétrie pour le dosage de l'hémoglobine. La lyse des érythrocytes contenus dans 15 microlitres de sang, à l'aide d'une solution de lyse (LH M-52) qui va convertir l'hémoglobine en complexe coloré stable et ce dernier sera lu à une longueur d'onde de 530 nanomètres. La densité optique (DO) était proportionnelle à la quantité d'hémoglobine.

Mesure de la concentration d'hémoglobine sur HemoCue® Hb 201+ : l'HemoCue® Hb 201+ est un photomètre, portable ayant servi à mesurer la concentration en hémoglobine des échantillons de sang veineux recueillis dans le contexte de la comparaison de méthode. 10 microlitres du sang contenu dans les tubes avec EDTA ont été prélevés et introduits par capillarité dans la micro cuvette spécifique d'HemoCue® Hb 201+. La micro cuvette contenait le désoxycholate de sodium, un réactif qui sert à lyser les érythrocytes et dès qu'il est en contact avec l'hémoglobine libérée après lyse des érythrocytes, ils forment ensuite le complexe méthémoglobinazide. La densité optique (DO) de cette solution quantifiée a été mesurée à une longueur d'onde de 570 nanomètres (nm) et corrigée qui en fonction des erreurs pouvant être liées à la présence des lipides, leucocytes ou aux autres sources de turbidité à une longueur d'onde de 880 nm.

Analyses statistiques

La variable étudiée était le paramètre biologique (taux d'Hb). Les données collectées ont été saisies et codées à l'aide du logiciel Excel. L'information issue de cette variable à analyser a été résumée sous forme de figures et des tableaux scientifiques.

La précision a été calculée par le coefficient de variation (CV) exprimé en pourcentage



(%). Ce coefficient ne devait pas être supérieur à $\pm 15\%$ ($\pm 20\%$ pour la plus faible concentration). La linéarité a été appréciée par le calcul du coefficient de corrélation (r^2) qui devait être supérieur à 0,990.

Le modèle multivarié notamment la régression linéaire a été utilisée pour comparer les résultats de dosage d'Hb obtenus par HemoCue® Hb 201+ et l'Automate Mindray BC-5150. Les valeurs β de la pente, et α de l'ordonnée à l'origine des différentes droites de régression ainsi que leurs intervalles de confiance à 95% ont été estimées.

Les deux méthodes comparées ont été considérées différentes de la valeur constante (biais) si le test d'hypothèse nulle afférent au paramètre d'ordonnée à l'origine (α) était rejeté. Pour le paramètre de pente (β), le rejet de l'hypothèse était synonyme de l'existence d'au moins une différence proportionnelle entre les deux méthodes comparées. Cependant, les deux méthodes ont été estimées identiques si aucune des hypothèses nulles c'est-à-dire, ni celle de l'ordonnée à l'origine, ni celle de la pente n'a été rejetée.

La méthode de concordance de Bland et Altman a été utilisée pour déterminer le biais et les limites de concordance (écarts des valeurs de taux de l'Hb entre les deux méthodes comparées) d'une méthode de dosage d'Hb par rapport à l'autre. La différence entre les deux méthodes de dosage d'Hb était toujours exprimée en fonction de la moyenne obtenue avec chacune des méthodes.

L'erreur de la première espèce (α) était égale à 5 % et le degré de signification statistique (p – valeur ou p) considérée pour une différence statistique significative était de 0,05. L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées sous le logiciel R version 3.6.3.

Considérations éthiques

Tous les patients inclus dans la présente étude avaient donné leur consentement éclairé. En plus, le protocole de cette enquête a été réalisé en accord avec la Déclaration d'Helsinki. Une autorisation du Comité Éthique de l'École de Santé Publique (ESP) de l'Université de

Kinshasa avait été obtenue sous le numéro ESP/CE/044/2023.

Résultats

Un total de 200 échantillons du sang total collectés auprès des patients reçus à l'Unité de Prélèvement du Service de Biologie Clinique des Cliniques Universitaires de Kinshasa a été inclus dans la présente étude.

Distribution des différents taux d'Hb

Les taux moyen et médian d'Hb sur l'automate Mindray BC-5150 ont été respectivement, de $10,438 \pm 2,741$ g/dl et de 10,600 g/dl (IQR : 8,675-12,300 g/dl). Le taux moyen d'Hb sur le POC HemoCue® Hb 201+ qui a comme principe la photométrie a été de $10,5 \pm 2,756$ g/dl et le taux médian de 10,900 g/dl (IQR : 8,775 - 12,300 g/dl).

La figure 2 renseigne sur la distribution des taux d'hémoglobine selon l'automate Mindray BC- 5150 et le POC HemoCue® Hb 201+.

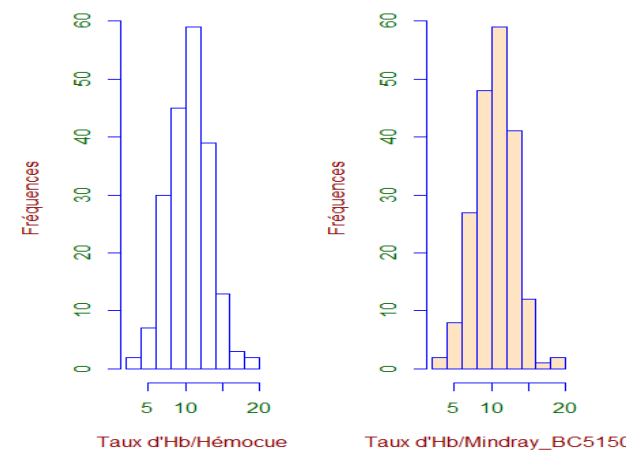


Figure 2 : distribution des taux d'hémoglobine selon l'automate Mindray BC- 5150 et POC HemoCue® Hb 201+

Validation des performances de l'HemoCue® Hb 201+ : droite de régression linéaire

Le coefficient β de la droite de régression ainsi estimé a été de 1 [0,98, 1,01] d'où la régression linéaire a mis en évidence une relation positive entre les taux d'Hb dosés au moyen de l'automate Mindray BC- 5150 et les taux d'Hb (g/dl) sur HemoCue® Hb 201+.

La figure 3 montre le degré de concordance entre les taux d'Hb (g/dl) sur l'automate



Mindray BC- 5150 et ceux sur HemoCue® Hb 201+.

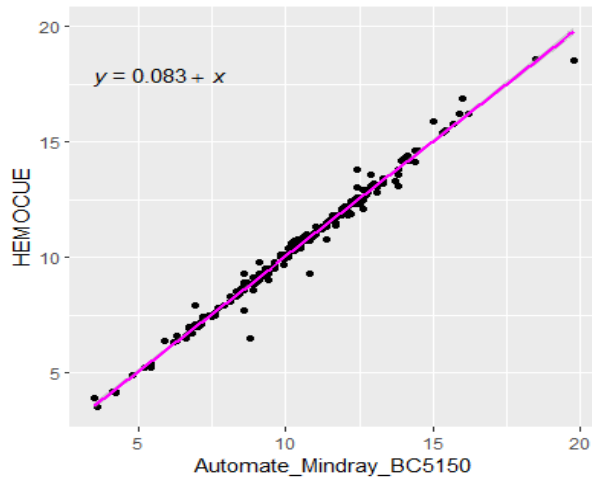


Figure 3 : droite de régression des taux d'Hb dosés par **HemoCue® Hb 201+** en fonction des taux d'Hb dosés par Mindray BC- 5150

Validation des performances de l'HemoCue® Hb 201+ : diagramme de Bland et Altman

La moyenne des différences a été évaluée à 0,047 (-0,610 – 0,703) g/dl. Il y a eu donc 0,047 degré d'écart en faveur de l'HemoCue® Hb 201+ par rapport à l'automate Mindray BC- 5150. La différence entre les deux mesures pour chaque point (la distance par rapport à l'axe $y = 0$) a été très faible, et ce quelle que soit la valeur de la variable qui était mesurée. La différence entre les deux méthodes a été statistiquement non significative ($p > 0,05$).

La figure 4 ci-après montre qu'il n'existe que sept points discordants, avec 7 autres points sur les limites d'agrément et donne les détails sur le graphique de Bland et Altman de la comparaison entre HemoCue® Hb 201+ et l'automate Mindray BC- 5150 pour le dosage d'Hb.

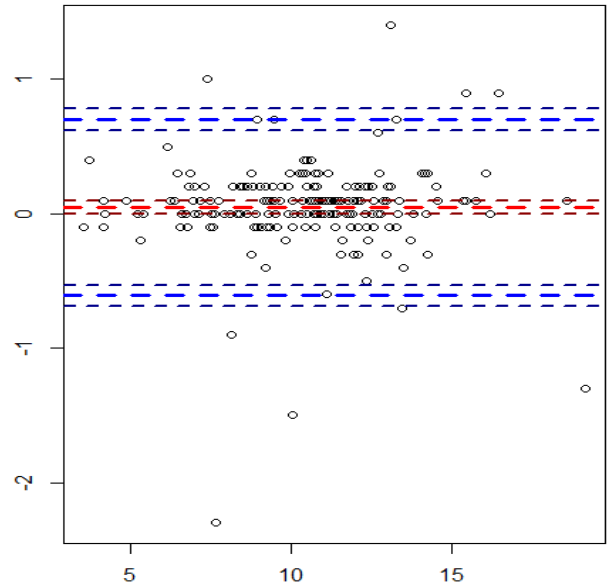


Figure 4 : différence médiane entre HemoCue® Hb 201+ et Mindray BC-5150

Discussion

La présente étude a évalué les performances du POC HemoCue® Hb 201+.

Le taux moyen d'Hb dosé par HemoCue® Hb 201+ (10,581 g/dl), n'était pas significativement différent ($p=0,061$) de celui dosé par automate Mindray BC- 5150. Ces résultats divergent de ceux trouvés en Malaisie par Kumar *et al.* (10) qui ont noté un taux moyen d'Hb plus élevé sur automate (Sysmex) que sur HemoCue® Hb 201+ ; tandis que Adam *et al.* (11) et Kouassi *et al.* (12) respectivement, au Soudan et au Togo, ont observé un taux moyen d'Hb élevé sur HemoCue® Hb 301+ que sur automate (Sysmex). La différence entre ces observations pourrait s'expliquer par la différence de types et la performance des équipements utilisés dans ces différentes études. La régression linéaire a mis en évidence une relation positive entre les taux d'Hb dosés sur automate Mindray BC- 5150 et ceux dosés sur HemoCue® Hb 201+. Les résultats de la présente étude corroborent ceux de Vovor *et al.* au Togo (13) et de Lamhaut *et al.* à Paris (14). Cependant, ces résultats sont différents de ceux trouvés par Seguin *et al.* en France (15) qui ont montré un de corrélation entre les taux d'Hb déterminés par l'HemoCue® Hb 201+ et ceux rendus par la



méthode automatisée. Cette divergence pourrait s'expliquer par la différence de sites de prélèvements entre les études. En effet, les échantillons utilisés dans ces différentes études étaient prélevés respectivement, au niveau capillaire sur l'HemoCue® Hb 301+ et veineux sur l'automate Sysmex (15), mais aussi par les conditions de conservation et de transport (durée, température, humidité...) pouvant affecter les échantillons, les cuvettes... (16).

Le diagramme de Bland Altman a montré des limites d'accord (intervalles de confiance à 95 %) de -0,61 degré en-dessous et de 0,70 degré au-dessus entre les deux méthodes.

Ces données étaient en accord avec celles trouvées en Angleterre par Paddle (17) et celles de Lamhaut *et al.* à Paris (14), mais différent de celles trouvées par Tagny *et al.* au Cameroun (18) et par Vovor *et al.* au Togo (13) qui ont trouvé des limites de dispersion importantes. Cette différence pourrait s'expliquer de même par le fait que les échantillons utilisés ont été prélevés respectivement, au niveau capillaire sur l'HemoCue® Hb 301+ et veineux sur l'automate Sysmex. En effet, le sang capillaire peut donner les résultats erronés s'il était en contact avec les résidus d'alcool, après désinfection du site de prélèvement, pouvant ainsi contaminer l'échantillon, mais aussi s'il était en contact avec les liquides tissulaires, conduisant à une dilution qui pourrait entraîner des taux bas d'Hb (19).

Force et limites

La présente étude comporte quelques limites notamment qu'elle était monocentrique et n'a pris en compte que la version HemoCue® Hb 201+. Cependant, elle était la première de ce genre réalisée en RDC proposant ainsi un POC d'utilisation facile, validé localement, pouvant contribuer à l'amélioration de la prise en charge d'un problème majeur de santé publique dans le pays, à savoir l'anémie.

Conclusion

Cette étude a montré que le POC HemoCue® Hb 201+ fournissait des résultats identiques à ceux de l'automate Mindray BC-5150. Ainsi, le POC HemoCue® Hb 201+ peut être utilisé en backup pour le dosage de l'Hb dans les

services d'urgence ou dans les institutions médicales ne possédant pas ou encore ne remplissant pas les conditions pour l'utilisation des automates d'hématologie dans les pays à ressources limitées.

Conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt dans la réalisation de l'étude, ni concernant la publication de cet article

Contribution

Conception, collecte de données, interprétation et rédaction : MC

Conception, Supervision et rédaction : MMJ

Conception et élaboration du protocole : ING, TBD, NZM, CBA,

Collecte de données : KIJ, MKJ, MKD, M L, TB,

Analyses Statistiques et interprétation : SMMB.

Tous les auteurs ont lu et approuvé la version et révisée du manuscrit.

Références

1. Bandyopadhyay N, Sharma J, Pandey S, Zaidi N, Bhattacharya M, Kar R *et al.* Diagnostic accuracy of point-of-care devices for detection of anemia in community setting in India. *BMC Health Services Research* 2020; **20**: 468.
2. An R, Huang Y, Man Y, Valentine RW, Kuchukal E, Goreke U *et al.* Emerging Point-of-Care technologies for Anemia detection. *Lab Chip* 2021; **21** (10): 1843-1865.
3. Banque Mondiale. Données. Accès à l'électricité (% de la population). <https://donnees.banquemondiale.org/indicateur/EG.ELC.ACCS.ZS> accessed Janvier 2023.
4. Briggs C, Kimber S, Green L. Where are we at with point-of-care testing in haematology. *Br J Haematol* 2012, **158** : 679-690.
5. OMS 2013 : Manuel du système de gestion de la qualité de laboratoire. www.who.int. Janvier 2023.
6. Sanchis-Gomar F, Cortell-Ballester J, Pareja-Galeano H, Banfi G, Lippi G. Hemoglobin point-of-care testing: the HemoCue system. *J Lab Autom* 2013; **18** (3):198–205.



7. Giraud B, Frasca D, Debaene B, Mimosz O. Comparison of haemoglobin measurement methods in the operating theatre. *Br J Anaesth* 2013; **111** (6):946–954.
8. Layibo L, Mawussi K, Padaro E, Magnang H, feteke L, Kuéviakoé. Performance de l'hémocue 201+ dans la mesure du taux d'hémoglobine chez les donneurs de sang au centre national de transfusion sanguine de Lome, Togo. *J Rech Sci Uni.Lomé* 2018; **20** (4): 391-398.
9. Budd JR, Durban AP, Iriarte B, Kallner A, Linnet K, Magari R *et al.* Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline, Clinical and Laboratory Standards Institute. *Medecine* 2013; **33** (11): 1-15.
10. Kumar SV, Ramalingam K. Comparison of hemoglobin assessment by Hemocue 301 and automated hematology analyser using flowcytometry among school going children: a one-year study at a tertiary care hospital. *Int J Res Med Sci.* 2020; **8** (1):15-19.
11. Adam I, Ahmed S, Mahmoud MH, Yassin MI. Comparison of HemoCue® hemoglobin-meter and automated hematology analyzer in measurement of hemoglobin levels in pregnant women at Khartoum hospital, Sudan. *Diagn Pathol.* 2012 ; **7** :30.
12. Kouassi K, Tettekpoe M, Katawa G, Hounogbe A, Karou D. Dépistage de l'anémie en urgence au CHU Campus : Validation du degré de concordance entre les résultats de l'hémocue® Hb 301 et ceux du sysmex Xn-1000®. *European scientific journal, ESJ* 2020 ; **16** (33) : 355.
13. Vovor A, Dorkenoo A, Layibo Y. Performance d'Hémocue Hb 201+ dans le diagnostic de l'anémie de l'enfant dans les structures sanitaires du niveau périphérique au Togo. *Afr J Lab Med* 2013; **2** (1) :5.
14. Lamhaut L, Apriotesei R, Combes X, Lejay M, Carli P, Vivien B. Comparison of the Accuracy of Noninvasive Hemoglobin Monitoring by Spectrophotometry (SpHb) and HemoCue® with Automated Laboratory Hemoglobin Measurement. *Anesthesiology* 2011; **115** (3): 548-554.
15. Seguin P, Kleiber A, Chanavaz C, Morcet J, Malledant Y. Determination of capillary hemoglobin levels using the HemoCue system in intensive care patients. *Journal of Critical Care* 2011; **26** (4): 423-427.
16. Macknet MR, Allard M, Applegate RL, Rook J: The accuracy of noninvasive and continuous total hemoglobin measurement by pulse CO-Oximetry in human subjects undergoing hemodilution. *Anesth Analg* 2010; **111** (6): 1424-1426.
17. Paddle JJ. Evaluation of the Haemoglobin Colour Scale and Comparison with the HemoCue Haemoglobin Assay. *Bull. World Health Organ* 2002 ; **80** (10) : 813–816.
18. Tagny C.T, Kouam L, Mbanya D. Évaluation du nouvel appareil HemoCue Hb® dans le dosage de l'hémoglobine chez des femmes enceintes camerounaises. *Ann Biol Clin* 2008 ; **66** (1): 1-15.
19. Nkrumah B, Nguah B, Sarpong N, Dekker D, Idriss A, May J, Adu-Sarkodie Y. Hemoglobin Estimation by the HemoCue® Portable Hemoglobin Photometer in a Resource Poor Setting. *BMC Clin Pathol* 2011; **11** (1): 5.

Voici comment citer cet article : Mbwinzo C, Muwonga JM, Ilunga GN, Sumbu BM, Ngole MZ, Beya DT, *et al.* Evaluation de Performances analytiques de l'hémoglobinomètre HEMOCUE® Hb 201+ : étude observationnelle analytique monocentrique réalisée aux Cliniques Universitaires de Kinshasa, République démocratique du Congo. *Ann Afr Med* 2023; **17** (1): e5468-e5474. <https://dx.doi.org/10.4314/aamed.v17i1.4>