



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO**

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“DETERMINACIÓN DE VALORES REFERENCIALES DEL
CONTAJE DE LEUCOCITOS, ERITROCITOS Y PLAQUETAS,
HEMATOCRITO Y HEMOGLOBINA, EN PERSONAS DE
EIDADES COMPRENDIDAS ENTRE 18 Y 25 AÑOS ATENDIDOS
EN EL LABORATORIO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS DESDE EL AÑO 2008 AL 2012”**

TESIS DE GRADO

**PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR

GABRIELA ALEXANDRA RIVADENEIRA BONIFAZ

RIOBAMBA-ECUADOR

2013

DEDICATORIA

Esta investigación está dedicada a Dios, a mi madre que siempre han sido el pilar fundamental y el ejemplo a seguir, a mi hija y esposo que siempre me han dado su apoyo incondicional para cumplir con esta meta.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por las bendiciones recibidas, a mi madre, abuelos y tíos por ser mi apoyo incondicional en mis estudios y comprenderme.

A mi esposo y mi hija que me ayudaron a crecer y esforzarme cada día para ser una mejor persona y cumplir con mis metas.

A la Dra. Fonseca Directora del Departamento médico de la ESPOCH por permitir la realización de la investigación además de brindarme su apoyo, junto con todas las personas que están junto a ella.

Al Dr. Francisco Portero y al Dr. Julio Idrovo por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente Tesis.

A las Doctoras Isabel Ortiz, Aida Fierro y Patricia Layedra del Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH que me brindaron su amistad y apoyo incondicional.

A todos mis amigos y amigas por las palabras de aliento y de seguir luchando en la culminación de la presente Tesis siempre estarán en mi corazón.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“DETERMINACIÓN DE VALORES REFERENCIALES DEL CONTAJE DE LEUCOCITOS, ERITROCITOS Y PLAQUETAS, HEMATOCRITO Y HEMOGLOBINA, EN PERSONAS DE EDADES COMPRENDIDAS ENTRE 18 Y 25 AÑOS ATENDIDOS EN EL LABORATORIO CLÍNICO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DESDDE EL AÑO 2008 AL 2012”**, de responsabilidad de la señorita egresada Gabriela Alexandra Rivadeneira Bonifaz, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dr. Silvio Álvarez DECANO FAC.CIENCIAS	_____	_____
Dr. Iván Ramos DIRECTOR DE ESCUELA BIOQUÍMICA Y FARMACIA	_____	_____
Dr. Francisco Portero DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
Dr. Julio Idrovo MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Dra. Ana Albuja MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Lcdo. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, **Gabriela Alexandra Rivadeneira Bonifaz**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

GABRIELA ALEXANDRA RIVADENEIRA BONIFAZ

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

D	Indicador para la prueba de Kolmogorov – Smirnov
DE	Desviación Estándar
D ²	Suma de las diferencias corregidas al cuadrado en la Prueba de Shapiro Wilks
dl	Decilitro
Epo	Hormona eritropoyetina
F	Indicador para la prueba de Fisher
F _n	Función de distribución muestral
F _o	Función teórica (población normal)
G	Indicador de la prueba de Grubbs
g	Gramos
gl	Grados de libertad
Hb	Hemoglobina
Hto	Hematocrito
H+	Protones de Hidrógeno
H _o	Hipótesis nula
H ₁	Hipótesis alternativa
IFCC	Federación Internacional de Química Clínica
IgE	Inmunoglobulina E
L	Litro
máx	Máximo
mL	Mililitro
mm ³	Milímetros cúbicos
msnm	Metros sobre el nivel del mar
N	Número de unidades de la población (estudiantes)
n	tamaño de la muestra
<i>n</i>	Media en la Prueba de Shapiro Wilk

No.	Número
μm	Micrómetros
μl	Microlitros
pH	Potencial de Hidrógeno
p	Nivel de significación observado
P2.5	Percentil 2.5
P97.5	Percentil 97.5
Q_1	Primer cuartil
Q_3	Tercer cuartil
t	indicador para la prueba estadística de Student
S	Desviación estándar
SESE	Sistema e- Salud ESPOCH (Departamento médico)
sig	Nivel de significación observado (dado por el programa SPSS)
S^2	Varianza muestral
S_1^2	Varianza del grupo 1
S_2^2	Varianza del grupo 2
SPSS	Statistical Package for tSocial Sciences
$S_{x_1x_2}$	Estimador de la desviación estándar común de ambas muestras
SEQC	Sociedad Española de Bioquímica Clínica
\bar{x}	Media
\bar{x}_1 y \bar{x}_2	Medias del grupo 1 y 2 en Prueba t de Student.
X_1	Valor mínimo en la Prueba de Grubbs
X_n	Valor máximo en la Prueba de Grubbs
W	Indicador para la prueba de Shapiro Wilks
α	Nivel de significancia

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS
ÍNDICE DE TABLAS
ÍNDICE DE CUADROS
ÍNDICE DE GRÁFICOS
INTRODUCCIÓN

1	MARCO TEÓRICO.....	1
1.1	Sangre.....	1
1.1.1	Funciones de la sangre.....	2
1.1.2	Extracción de la muestra de sangre.....	2
1.1.2.1	Obtención de sangre venosa.....	3
1.1.2.2	Elección de la zona para realizar la venopunción.....	3
1.2	Glóbulos rojos.....	3
1.3	Glóbulos blancos.....	4
1.3.1	Granulocitos.....	5
1.3.2	Agranulocitos.....	7
1.4	Hematocrito.....	8
1.5	Hemoglobina.....	9
1.6	Plaquetas.....	9
1.7	Normas de bioseguridad.....	10
1.8	Valores de referencia.....	12
1.8.1	Determinación de valores de referencia.....	14
1.8.2	Fase preanalítica.....	14
1.8.2.1	Tratamiento al paciente.....	14
1.8.2.2	Análisis de datos.....	15
1.8.3	Fase analítica.....	18
1.8.3.1	Tratamiento al paciente.....	18
1.8.3.2	Análisis de datos.....	18
1.8.4	Fase postanalítica.....	19

1.8.4.1	Tratamiento al paciente.....	19
1.8.4.2	Análisis de datos.....	19
1.8.5	Análisis de los datos de referencia.....	19
1.8.5.1	Procedimiento para la determinación del Intervalo de Referencia.....	20
1.9	Utilización de los valores de referencia.....	27
1.10	Presentación de los valores de referencia.....	28
2	PARTE EXPERIMENTAL.....	29
2.1	Lugar de investigación.....	29
2.2	Materiales y métodos.....	29
2.3	Análisis estadístico.....	30
2.3.1	Descripción de la muestra.....	30
2.3.2	Determinación de la prueba F y prueba t de Student.....	31
2.3.3	Determinación de los valores atípicos.....	31
2.3.3.1	Cálculos de los valores atípicos del conteo de leucocitos.....	31
2.3.3.2	Cálculos de los valores atípicos del conteo de eritrocitos.....	32
2.3.4	Elaboración del histograma y comprobación de la normalidad de los datos.....	33
2.3.5	Determinación del intervalo de referencia.....	33
2.3.6	Comparación de los valores de referencia obtenidos frente a los valores de referencia Nacionales e Internacionales.....	33
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
3.1	Determinación de la prueba F y prueba t de Student.....	35
3.2	Determinación de los valores atípico.....	36
3.2.1	Determinación de valores atípicos del conteo de leucocitos.....	36
3.2.2	Determinación de valores atípicos del conteo de eritrocitos.....	37
3.2.3	Determinación de valores atípicos para hemoglobina.....	38
3.2.4	Determinación de valores atípicos para hematocrito.....	39
3.2.5	Determinación de valores atípicos del conteo de plaquetas.....	40

3.3	Elaboración del histograma y comprobación de la normalidad de los datos.....	41
3.3.1	Histograma y pruebas de normalidad para el conteo de leucocitos.....	42
3.3.2	Histograma y pruebas de normalidad para el conteo de eritrocitos.....	43
3.3.3	Histograma y pruebas de normalidad para hemoglobina.....	44
3.3.4	Histograma y pruebas de normalidad para hematocrito.....	45
3.3.5	Histograma y pruebas de normalidad para el conteo de plaquetas.....	46
3.4	Determinación del Intervalo de Referencia.....	47
3.5	Comparación de los valores de referencia obtenidos frente a los valores de referencia Nacionales e Internacionales.....	48
4	CONCLUSIONES.....	50
5	RECOMENDACIONES.....	52
6	RESUMEN.....	53
	SUMMARY.....	55
7	BIBLIOGRAFÍA.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Criterios de exclusión recomendados por SEQC.....	15
TABLA No. 2	Criterios de participación recomendados por SEQC.....	16
TABLA No. 3	Estrategias para el establecimiento de límites de referencia en el laboratorio clínico.....	17

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Descripción de la muestra de los valores hematológicos de acuerdo a la altitud y género en número y porcentaje. Departamento Médico. ESPOCH. Riobamba. 2008 al 2012.....	34
CUADRO No. 2	Comparación significativa para altitud y género. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	35
CUADRO No. 3	Promedios y desviación estándar por parámetro al inicio y luego de la limpieza de valores atípicos por grupo de partición. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	41
CUADRO No. 4	Pruebas de normalidad del conteo de leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) por grupo de partición. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	42
CUADRO No. 5	Pruebas de normalidad de la determinación del conteo eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$) por grupo de partición. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	43
CUADRO No. 6	Pruebas de normalidad de la determinación de hemoglobina (g/dl) por grupo de partición. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	44
CUADRO No. 7	Pruebas de normalidad de la determinación de hematocrito (%) por grupo de partición. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	45
CUADRO No. 8	Pruebas de normalidad del conteo de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$) por grupo de partición. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	46
CUADRO No. 9	Valores de referencia por parámetro y grupo de partición. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	47
CUADRO No. 10	Valores de referencia hematológicos de la población estudiada frente a estudios en otras poblaciones. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	48

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Parámetros de diagrama de caja.....	25
GRÁFICO No. 2	Diagrama de cajas del contejo de leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) con relación al género y presencia de valores atípicos. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	36
GRÁFICO No. 3	Diagrama de cajas del contejo de leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) con relación al género sin valores atípicos. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	36
GRÁFICO No. 4	Diagrama de cajas del contejo de eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$) con relación al género y presencia de valores atípicos. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	37
GRÁFICO No. 5	Diagrama de cajas del contejo de eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$) con relación al género sin valores atípicos. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	37
GRÁFICO No. 6	Diagrama de cajas de la determinación de hemoglobina (g/dl) con relación al género. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	38
GRÁFICO No. 7	Diagrama de cajas de la determinación de hematocrito (%) con relación al género. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	39
GRÁFICO No. 8	Diagrama de cajas del contejo de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$) con relación al género. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	40
GRÁFICO No. 9	Histograma del contejo de leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) por grupo de partición y curva de comprobación de normalidad. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	42
GRÁFICO No. 10	Histograma del contejo de leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) por grupo de partición y curva de comprobación de normalidad. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	43
GRÁFICO No. 11	Histograma de la determinación de hemoglobina (g/dl) por grupo de partición y curva de comprobación de normalidad. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	44
GRÁFICO No. 12	Histograma de la determinación de hematocrito (%) por grupo de partición y curva de comprobación de normalidad. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	45
GRÁFICO No. 13	Histograma del contejo de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$) por grupo de partición y curva de comprobación de normalidad. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. 2013.....	46

INTRODUCCIÓN

El Laboratorio Clínico constituye una herramienta indispensable en el diagnóstico médico o quirúrgico de numerosas patologías, dentro de esta actualización hay procesos acelerados de cambios tanto tecnológicos como sociales, llevando a la humanidad a un desarrollo vertiginoso de ciencia.

El objetivo primordial del laboratorio clínico es la detección de las variaciones de los distintos constituyentes sanguíneos, de origen endógeno o exógeno, originadas por la propia actividad fisiológica o por circunstancias patológicas, aportando una serie de valores cuantitativos, con fines preventivos, diagnósticos y de control de tratamiento. Los valores del Laboratorio Clínico se comparan con los “valores de referencia” o también llamados “valores normales” (31)

En 1969 con ocasión del XII Congreso de la Sociedad Escandinava de Química Clínica, R. Grasbeck y N.E. Saris propusieron la denominación de valores de referencia en sustitución de lo hasta entonces se conocía como valores normales. En 1970 la *Internacional Federation of Clinical Chemistry* (IFCC) designó un comité de expertos para establecer recomendaciones en la teoría de valores de referencia. (31)

Los valores de referencia hace mención a las medidas que han sido observadas en personas normales o en buen estado de salud; es decir, un valor de referencia se define como el resultado analítico obtenido en un individuo de referencia. (31)

Este individuo es una persona que pertenece a la comunidad y que se caracteriza fundamentalmente por disfrutar de un estado de salud definido por el propio investigador, no un estado de salud “absoluto”. (31)

El individuo de referencia permite establecer valores normales utilizando grupos peculiares tanto por su estado fisiológico (mujeres embarazadas, por ejemplo), patológico (insuficiencias renales en tratamiento con diálisis), o historia farmacológica (mujeres tomando anticonceptivos orales), sin menoscabo de los fundamentos teóricos. (31)

Al ser competencia del laboratorio clínico la producción e interpretación de valores analíticos, le corresponde el establecer los valores de referencia en función de la población a la que presta sus servicios y de la metodología que utiliza, generando un aporte estandarizado de los valores de referencia hematológicos.

Por lo expuesto el objetivo de este trabajo fue determinar los valores de referencia del conteo de leucocitos, eritrocitos y plaquetas, hematocrito y hemoglobina en individuos de edades comprendidas entre 18 a 25 años que fueron atendidos en el laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias desde el año 2008 al 2012.

Obteniendo como resultado la eliminación de 3 valores atípicos correspondientes a 2 datos de los leucocitos correspondientes al género femenino y un dato de los eritrocitos correspondiente al género masculino. Los parámetros hematológicos presentaron una distribución asimétrica que se determinó por las pruebas de normalidad.

La determinación de los valores de referencia se determinó por el método no paramétrico de los percentiles 2.5 y 97.5 correspondiente al límite inferior y superior respectivamente, dando como resultado diferencias significativas de los valores hematológicos calculados y los reportados por otras poblaciones.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 SANGRE

Es una suspensión de células en un medio acuoso, es impulsada por el corazón a través de los vasos sanguíneos. Es un fluido opaco, denso y con sabor metálico, su color varía desde escarlata cuando es rica en oxígeno a rojo oscuro cuando carece de oxígeno. (29)

El pH es de 7.35 – 7.45, el volumen medio de sangre es 5-6 litros en los hombre y 4-5 litros para las mujeres.

Se encuentra constituida por dos fracciones cuando la coagulación sanguínea se la evita con un anticoagulante:

- Fracción forme conformada por hematíes, leucocitos, plaquetas
- Fracción líquida es el plasma es un líquido amarillo, el cual contiene una proteína soluble denominada fibrinógeno. Contiene los factores de coagulación y agua.

La sangre coagulada se separa en dos componentes:

- El suero, un líquido amarillo, no contiene fibrinógeno pues este se transforma en fibrina; la cual es insoluble que juntos con los eritrocitos forman el coagulo.

- El coágulo que engloba a una masa semisólida de color rojo formado por el paquete globular.

1.1.1 FUNCIONES DE LA SANGRE

Transporte:

- a. Nutrientes, agua, sales,
- b. Metabolitos celulares
- c. Gases O₂/CO₂
- d. Moléculas reguladoras

Homeostasis: control (hormonas, citoquinas) y regulación pH (amortiguadores)

Hemostasia: coagulación y formación de trombo

Defensa: fagocitosis, producción de anticuerpos, sistema del complemento, proteínas de fase aguda.

Termorregulación (32) (42)

1.1.2 EXTRACCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE

Según el tipo de análisis a practicarse se utiliza sangre capilar, venosa, sangre arterial.

Para el análisis Hematológico la obtención de muestras debe realizarse con especial cuidado en la extracción y tratamiento de la sangre.

1.1.2.1. Obtención de sangre venosa

La mayor parte de las muestras de sangre se obtiene por punción venosa, siendo el método más sencillo para obtener sangre suficiente, permitiendo realizar diferentes pruebas de laboratorio, es también conocida como flebotomía. (3)(5)

La sangre puede ser dividida en varios tubos secos, para obtener suero, con anticoagulante para obtener sangre total o plasma, etc.

Todo profesional que vaya a realizar cualquier tipo de toma de muestras, debe tener en cuenta, que la calidad del resultado, comienza por una correcta obtención de la muestra. (5)

1.1.2.2. Elección de la zona para realizar la venopunción

La elección del lugar de realización de la punción representa una parte vital del diagnóstico. Existen diversos lugares que pueden ser elegidos para la venopunción.

La zona más idónea para las venopunciones es la fosa antecubital, en la parte anterior del brazo, frente y bajo el codo, donde se localiza un gran número de venas, relativamente próximas a la superficie de la piel.

Las venas de esta zona varían de persona en persona, sin embargo, hay dos tipos comunes de sistemas de distribución venosa: Uno con forma de H y otro parecido a una M. El patrón H se denominó de este modo debido a las venas que lo componen (cefálica, cubital mediana y basilica) se distribuyen como si fuesen una H, y representa alrededor del 70% de los casos. (3) (5)

1.2 GLÓBULOS ROJOS

Llamados también hematíes o eritrocitos. Son las células más numerosas de la sangre, su número fluctúa entre 4 a 5 millones por milímetro cúbico, se caracterizan por carecer de núcleo y organelas, tienen la forma de un disco bicóncavo de diámetro promedio de 7.2 a 7.8 μ m, con un espesor de 2 a 2.8 μ m en los bordes y de 0.8 a 1 μ m en la parte central.

El eritrocito, tiene en su citoplasma una proteína básica denominada hemoglobina, esta proteína es afín por la eosina por lo que el eritrocito se tiñe de color rosado claro o asalmonado. (3) (45)

La vida de los eritrocitos alcanza en promedio los 120 días, cuando llegan a la vejez, por la incapacidad de sintetizar enzima, pierden su elasticidad y la capacidad de intercambio iónico. En la superficie de la membrana celular, aparece un grupo de oligopolisacáridos que marcan a las células, de manera que al ser reconocidas por los macrófagos del bazo, hígado y médula ósea son destruidas. (45)

La principal función del eritrocito es la de contener hemoglobina asociada con O₂ o CO₂, por lo tanto transportan el oxígeno de los pulmones a las células del cuerpo y el anhídrido carbónico desde éstas hacia los pulmones. (19)

El proceso de eritropoyesis en el ser humano demora entre 5 y 6 días, y ocurre en la médula ósea del esternón, de los huesos largos y de las costillas.

La formación de eritrocitos es controlada por una hormona denominada eritropoyetina (Epo). La misma estimula la proliferación y diferenciación de células progenitoras, hecho que determina la aparición de eritrocitos circulantes. (19)

1.3 GLÓBULOS BLANCOS

También llamados leucocitos. A diferencia de los eritrocitos, los leucocitos no funcionan dentro del torrente sanguíneo, pero lo utilizan para desplazarse.

Cuando llegan a su destino migran entre las células endoteliales de los vasos sanguíneos (diapédesis), penetran en el tejido conjuntivo y llevan a cabo su función. (29)

Al igual que los glóbulos rojos los leucocitos se forman en la médula ósea y son creados por una célula madre este proceso se denomina granulocitopoyesis. Los valores de referencia oscilan entre 4000 a 11000 leucocitos/mm³. (3)

Normalmente la proporción de los mismos es constante y responde a la denominada fórmula leucocitaria. Se clasifican en dos grupos:

1.3.1 GRANULOCITOS

Los granulocitos tienen gránulos específicos en su citoplasma y estos a su vez se subdividen en:

a. Neutrófilos

Los leucocitos neutrófilos son los más numerosos y más significativos, su función es la fagocitosis y destrucción de sustancias extrañas (bacterias, cuerpos extraños, tejidos, etc.). Las formas inmaduras que aparecen cuando hay un estímulo intenso medular para su producción se llaman cayados (por la forma del núcleo); suele indicar la existencia de actividad intensa de las defensas contra infecciones por bacterias. (32) (42)

Son multilobulares (3 a 4 lóbulos), su vida media es de 6 a 7 horas. Comprenden entre 50 a 70% de los leucocitos en sangre periférica.

Se encuentran en su citoplasma tres tipos de gránulos:

- **Gránulos específicos:** contienen varias enzimas y agentes farmacológicos que ayudan al neutrófilo a llevar a cabo sus funciones antimicrobianas.
- **Gránulos azurófilos:** son lisosomas que contienen hidrolasas ácidas, mieloperoxidasa, el agente antibacteriano lisozima, proteína bactericida, catepsina G, elastasa y colagenasa inespecífica.
- **Gránulos terciarios:** contienen gelatinasa y catepsina y también glucoproteínas insertadas en el plasmalema. (32)

b. Eosinófilos

Los eosinófilos son los granulocitos maduros que responden a infecciones parasitarias y condiciones alérgicas. Es una célula fácilmente identificable por la presencia de grandes gránulos color naranja en su citoplasma.

El eosinófilo maduro es redondeado, con un diámetro entre 12 a 17 μm y un núcleo generalmente bilobulado. Comprenden entre 1 a 4% de los leucocitos en sangre periférica.

Los eosinófilos tienen una igual actividad motriz que los neutrófilos y aunque poseen propiedades fagocíticas, participan menos en la ingestión y muerte de las bacterias. Un aumento en su número frecuentemente acompaña a reacciones alérgicas o procesos inmunológicos. (38)

c. Basófilos

Constituyen menos de 1% de la población total de leucocitos. Son células redondas cuando están en suspensión pero pueden ser pleomorfas durante su migración a través del tejido conjuntivo. Diámetro: 8 a 10 micrómetros. Su núcleo en forma de S suele estar oculto por los gránulos grandes específicos que se encuentran en el citoplasma.

En su superficie tienen receptores IgE de alta afinidad, lo que da lugar a que la célula libere el contenido de sus gránulos. (43)

La liberación de histamina causa vasodilatación, contracción del músculo liso (en el árbol bronquial) y aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos. Participa en las reacciones inflamatorias y en las reacciones de sensibilización.

1.3.2 AGRANULOCITOS

Los Agranulocitos carecen de gránulos específicos. Linfocitos y Monocitos. Son una parte importante del sistema inmunológico, su función principal es proteger el organismo de infecciones producida por gérmenes.

a. Linfocitos

Los linfocitos tienen un diámetro de $8\mu\text{m}$; presenta un núcleo esférico y grande, está rodeado por una capa delgada de citoplasma homogéneo. Miden alrededor de $7\mu\text{m}$. Comprende entre 20 a 30 % de los leucocitos en sangre periférica.

La mayoría de los linfocitos derivan de hemocitoblastos del tejido linfático.

Carecen de funciones en el torrente sanguíneo pero en el tejido conjuntivo se encargan del funcionamiento apropiado del sistema inmunitario. (42)(43)

Se subdividen en tres categorías funcionales:

- Linfocitos B o células B
- Linfocitos T o células T
- Células nulas

Después de la estimulación por un antígeno específico, proliferan las células B y T se diferencian en dos subpoblaciones:

1. Células de memoria: son parte de una clona de “memoria inmunológica” y están preparadas para responder de forma inmediata contra una exposición subsecuente a un antígeno o sustancia extraña particular.
2. Células efectoras: son linfocitos con capacidad inmunitaria (eliminar antígenos) y se clasifican en células B y T y sus subtipos. (43)

b. Monocitos

Son las células más grandes de la sangre circulante. Su diámetro es de 12 a 15 micrómetros. El núcleo es grande, acéntrico, en forma de riñón o hendidura, su citoplasma es gris azulado y tiene múltiples gránulos azurófilos. Los monocitos son los grandes fagocitos mononucleares de la sangre periférica. Comprenden entre 4 a 9 % de los leucocitos en sangre periférica. (29)

Son un sistema de células fagocíticas producidas en la médula ósea, que viajan como tales por la sangre, para luego emigrar a diferentes tejidos como hígado, bazo, pulmones, ganglios linfáticos, hueso, cavidades serosas, etc., para convertirse en esos tejidos en macrófagos libres o fijos, cuyas funciones se corresponden con lo que se conoce como sistema mononuclear-fagocitario.

Su citoplasma es abundante y de color gris azulado contentivo de muchos y finos gránulos púrpura, pudiendo estar acompañados de vacuolas blanquecinas. (38)

1.4 HEMATOCRITO

El hematocrito describe el porcentaje de células transportadoras de oxígeno con respecto a la volumen total de sangre. Es el porcentaje que ocupa los eritrocitos en un volumen de sangre centrifugada. El examen no requiere ayuno.

El índice bajo de hematocrito indica la posible presencia de anemia, hipertiroidismo, leucemias, Insuficiencia de la médula ósea, hemorragias etc.; un índice alto de hematocrito puede deberse a cardiopatías, deshidratación, eritrocitosis, quemaduras entre otros.

Sus valores de referencia oscila de 42-50% en hombres y de 36-45% en mujeres. (3)

1.5 HEMOGLOBINA

La hemoglobina (Hb) es una proteína globular, que está presente en altas concentraciones en los glóbulos rojos y se encarga del transporte de O₂ del aparato respiratorio hacia los tejidos periféricos; y del transporte de CO₂ y protones (H⁺) de los tejidos periféricos hasta los pulmones para ser excretados.

Es una proteína grande conformada con cuatro cadenas polipeptídicas, cada una de las cuales está unida de manera covalente a un grupo hem, cuyo átomo de hierro es capaz de unirse de forma reversible al oxígeno. Tiene dos cadenas polipeptídicas alfa y dos cadenas polipeptídicas beta. (43)

Sus valores de referencia oscilan de 14.0-17.5g/dl en hombres y 12.3-15.3g/dl en mujeres.

1.6 PLAQUETAS

Los trombocitos o plaquetas son células, de unos 3 µm de diámetro, que se encuentran en la sangre, son irregulares, sin núcleo ni otros orgánulos. Su concentración normal en la sangre es de 150 a 350 x 10⁶/mL y su tiempo de vida media en sangre es de 7 a 10 días. (18)

Cumplen con un papel muy importante en la coagulación. Para ello forman nudos en la red fibrina, liberan sustancias importantes para acelerar la coagulación y aumentan la retracción del coágulo sanguíneo. (43)

Los trombocitos o plaquetas se adhieren a la superficie interna de la pared de los vasos sanguíneos en el lugar de la lesión y ocluyen el defecto de la pared vascular. Conforme se destruyen, liberan agentes coagulantes que conducen a la formación local de trombina que ayuda a formar un coágulo, el primer paso en la cicatrización de una herida. (43)

Su aspecto es redondeado y liso, aunque al activarse, en caso de herida, se conectan unas a otras adquiriendo un aspecto más rugoso y se adhieren a la pared del vaso sanguíneo dañado, creando una especie de tapón provisional que detiene la pérdida de sangre.

Las plaquetas se sirven de la fibrina, una proteína que se halla presente en la sangre y que utilizan para formar una red en la que atrapan hematíes para formar el coágulo. (43)

1.7 NORMAS DE BIOSEGURIDAD

Las normas básicas de bioseguridad son pautas destinadas a reducir el riesgo de transmisión de microorganismos de fuentes reconocidas o no reconocidas de infección en servicios de salud vinculados a accidentes por exposición a sangre y fluidos corporales. (2)

Es necesario que el personal de laboratorio tenga conocimiento de todos los riesgos a los que está expuesto continuamente en todas las áreas de ejercicio de la profesión del bioanálisis. Asimismo, que los accidentes en el trabajo de laboratorio pueden disminuir con el cumplimiento de las normas de seguridad específicas para cada caso, por lo que es indispensable que las mismas sean conocidas y puestas en práctica. (2).

Las reglas básicas son un conjunto de prácticas en sentido común realizadas en forma rutinaria, el elemento clave es la actividad proactiva hacia la seguridad y la información que permita reconocer y combatir los riesgos presentes en el laboratorio.

Así se encuentran que:

- Las puertas del laboratorio deber estar cerradas y el acceso al mismo es restringido mientras se lleva a cabo trabajos con materiales biológicos. La puerta debe portar el emblema que diga “Prohibido pasar – Peligro biológico”.

- El director del laboratorio es responsable de la capacitación del personal a su cargo, por sí o por intermedio de un profesional debidamente formado y registrar por escrito un informe detallado y firmado de que la capacitación ha sido proporcionada y recibida.
- El laboratorio debe mantenerse limpio, ordenado y libre de materiales extraños.
- No se permite comer, beber, fumar y/o almacenar comidas dentro del área de laboratorio.
- Usar bata manga larga en perfectas condiciones y limpia o uniforme dentro del laboratorio, esta ropa protectora debe quitarse inmediatamente antes de abandonar el área de trabajo.
- Usar guantes de látex de buena calidad para todo manejo de material biológico o donde exista el riesgo de exposición a sangre o fluidos corporales.
- Las manos deben lavarse luego de trabajar con material viable, luego de sacar los guantes y antes de salir del laboratorio.
- Está prohibido pipetear con la boca, para ello se debe usar propipetas y pipetas automáticas.
- La protección ocular y el uso de tapabocas tienen como objeto proteger membranas mucosas de ojos y nariz, en aquellas situaciones en las que puedan producirse derrames, salpicaduras o aerosoles.
- Evitar el trabajo con cabello largo no recogido, lentes de contacto, collares y prendas en general.
- No tocarse los ojos, nariz o piel, ni caminar fuera del laboratorio con las manos enguantadas.
- Todos los procedimientos deben ser realizados cuidadosamente para evitar derrames, salpicaduras y formación de aerosoles.
- La utilización de agujas, jeringas y cualquier otro instrumento similar deberá ser restringido a su uso indispensable, las agujas y otros elementos punzantes deberán ser descartados en un recipiente resistente.
- En todo laboratorio deben existir como dispositivo de protección los extinguidores de fuego en número suficiente, ubicados especialmente a la salida de las áreas del laboratorio, mantenerlos totalmente cargados y en condiciones operables, asimismo el personal debe ser entrenado en el manejo de los mismos.

- En todo laboratorio debe existir un botiquín debidamente equipado para prestar los primeros auxilios de emergencias.
- Las superficies del área de trabajo tienen que ser descontaminadas cuando se termine la tarea diaria.
- Si durante la centrifugación se destapa o rompe algún tubo se debe desinfectar la centrifuga.
- No detener la centrifuga manualmente ni destaparla mientras gira y emplear tubos de tapas herméticas (tapa de goma o de rosca).
- Descontaminar los objetivos, perillas, oculares del microscopio antes y después de usarlos.
- Todo material corrosivo, tóxico, inflamable, oxidante, radiactivo, explosivo o nocivo deberá estar adecuadamente etiquetado.
- No se permitirán instalaciones eléctricas precarias o provisionales.
- Las prácticas que produzcan gas, vapores, humos o partículas o aquellas que pueden ser riesgosas por inhalación deben llevarse a cabo bajo campana de extracción.
- Toda persona que trabaje con material infeccioso si es factible debe estar previamente inmunizado.
- Informar inmediatamente a su superior de cualquier accidente ocasionado con elementos de laboratorio y llevar un protocolo escrito de tales accidentes e incidentes. (2)(8)

1.8 VALORES DE REFERENCIA

Valores de referencia se refiere a las medidas que han sido observadas en personas “normales” o en buen estado de salud, estos valores se pueden usar para definir estados fisiológicos, como es el caso de diferentes ambientes, condiciones posturales o condiciones sin o con medicamentos. Los valores de referencia pueden también determinarse en personas con una enfermedad, o en pacientes que están en diferentes estados de enfermedad. (8)

La caracterización de los valores de referencia para un parámetro clínico es fundamental si se desea disponer de una herramienta diagnóstica eficaz. Los parámetros de interés se referirán a concentraciones de metabolitos, actividad enzimática, elementos sanguíneos, etc., permitiendo calcular intervalos de referencia apropiados a partir de una muestra recolectada correctamente. (8)

El concepto de valores de referencia ha sido formulado por el experto panel de la IFCC y recogido, en ocasiones, con algunos matices diferentes, por comisiones “ad hoc” Nacionales con el propósito de unificar conceptos, métodos y terminología, habida cuenta de la importancia formal y conceptual de la comparación antes aludida.

Un valor de referencia se define como el resultado analítico obtenido en un Individuo de Referencia. (34)

Es importante conocer algunas definiciones que fueron propuestas por la Federación Internacional de Químicos Clínicos y han sido adoptados por la Organización Mundial de Salud y otras organizaciones en diferentes partes del mundo.

1. **Grupo de referencia** es un número suficiente de individuos seleccionados en forma tal que representan adecuadamente la población de referencia.
2. **Distribución de referencia** es la distribución de los valores de referencia. Las hipótesis con respecto a la distribución de una población de referencia puede hacerse usando un grupo de referencia y métodos estadísticos adecuados.
3. **Límites de referencia** se deriva de la distribución de referencia y se usa como propósito descriptivo, los límites de referencia describen los valores de referencia.
4. **Intervalo de referencia** es el intervalo de valores que comprende e incluye los límites de referencia inferior y superior. (8)

El intervalo de referencia se define usualmente mediante métodos estadísticos y seleccionando límites bien definidos.

1.8.1 DETERMINACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA

La determinación de valores de referencia en un laboratorio clínico es necesaria en dos situaciones:

- Instaurar la medición de un nuevo constituyente;
- Utilizar un método nuevo o diferente.

Para la determinación de los valores de referencia hay que cumplir una serie de requisitos tanto en la fase preanalítica como en las fases analítica y postanalítica.

1.8.2 FASE PREANALÍTICA

1.8.2.1 Tratamiento al paciente

Es el conjunto de operaciones que se realiza desde que el médico solicita el examen hasta que se inicia la fase analítica. La realizan el personal médico, enfermeras, laboratorio clínico; el cual debe tener instrucciones precisas escritas en un manual de procedimientos.
(36) (37)

Esta fase hace énfasis en:

- Preparación del individuo que corresponde a la dieta anterior, ayuno, régimen de drogas, actividad física, estrés.
- Obtención de la muestra donde interviene las condiciones ambientales durante la toma de la muestra, sitio de la toma de la muestra, equipos y técnicas de extracción que se esté utilizando.

- Manipulación de la muestra que corresponde al transporte, utilización de anticoagulantes. La manipulación es la preparación de la muestra para el análisis. (36)

1.8.2.2 Análisis de datos

Es un punto clave, es la selección de los individuos de referencia y quizás la parte más crítica del trabajo, ya que cuanto más estrictos seamos en la definición de individuo de referencia, se obtendrán valores de referencia mejores y más representativos, pero el número de individuos se verá disminuido marcadamente.

El mayor de los problemas es definir el estado de salud. Por esto deberían definirse claramente los criterios utilizados en la literatura. Dadas las dificultades en la definición de Salud, conviene aplicar los criterios de exclusión, basándose en una serie de exámenes, historia clínica, examen físico y pruebas de laboratorio. (31)

La Sociedad Española de Química Clínica ha preparado una lista de criterios de exclusión como indica la tabla No. 1.

TABLA No 1. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN RECOMENDADO POR SEQC

FACTORES	VARIACIONES
Condiciones patológicas o intervención médica	Hospitalización
	Cirugía reciente
	Transfusión reciente
Drogas	Anticonceptivos orales
	Drogas prescritas
	Drogas de abuso
	Abuso de vitaminas
	Alcoholismo
	Tabaquismo
Factores de riesgo	Obesidad
	Ocupación
	Factores genéticos
Estados fisiológicos	Embarazo
	Lactancia
	Presión sanguínea

FUENTE: COMISIÓN VALORES DE REFERENCIA DE LA SEQC. (12) (31)

También es apropiado establecer, mediante criterios de partición, los subgrupos de referencia elegidos como indica la Tabla No. 2

TABLA No 2. CRITERIOS DE PARTICIPACIÓN RECOMENDADO POR SEQC

FACTORES	VARIACIONES
Edad	
Factores genéticos	Raza Sexo Grupos sanguíneo
Factores fisiológicos	Variación circadiana Momento del ciclo menstrual Momento del embarazo
Hábitos personales	Dieta Ejercicio Consumo de alcohol Consumo de tabaco
Factores preanalíticos	Hora del día en que se hace el muestreo Tipo de extracción sanguínea
Factores ambientales	Altitud Época del año

FUENTE: COMISIÓN VALORES DE REFERENCIA DE LA SEQC. (12) (31)

Los individuos clasificados como “saludables” deben por lo menos, serlo según su propio testimonio, no deben sufrir ninguna enfermedad aparente y no deben estar dentro de los criterios de exclusión; una mejor selección se puede lograr mediante la historia y el examen médico hecho por un profesional competente.

Para la toma de muestra se puede aplicar un muestreo directo cuando se toman individuos al azar de una población sana.

A veces se encuentra la dificultad de no lograr el número apropiado de individuos, por lo que se puede emplear dos estrategias: prospectiva y retrospectiva como indica la Tabla No. 3

TABLA No. 3 ESTRATEGIAS PARA EL ESTABLECIMIENTO DE LÍMITES DE REFERENCIA EN EL LABORATORIO CLÍNICO

Estrategia	Muestra	Comentario
Prospectiva	Empleando rigurosamente seleccionadas. (N < 200)	Alto costo en términos de tiempo, dinero y esfuerzo.
Retrospectiva	Utiliza datos de casos clínicos estudiados durante la rutina de trabajo. (N > 2,000)	Muy conveniente en laboratorios con grandes volúmenes de trabajo. Se puede fragmentar la base de datos por edad, sexo, etcétera.

Fuente: Térrez A. (26)

También puede ser por muestreo indirecto como el que se hace sobre una población no seleccionada, aunque estos métodos dan distribuciones sesgadas hacia los valores patológicos y con desviaciones típica mayores. (31)

Otros tipos de muestreo para la determinación de los valores de referencia pueden ser:

- 1. A priori** de los individuos de referencia que son seleccionados antes de la recolección y procesamiento de los especímenes, este tipo de muestreo es mejor controlado pero puede ser más complicado y costoso. Es el mejor método para procedimientos de laboratorio bien estudiados y donde se conocen las causas de variabilidad biológica.
- 2. A posteriori** se puede aplicar cuando se está seguro de que existe una completa historia clínica de los individuos que se está tomando la muestra para el análisis. Puede ser apropiado para procedimientos nuevos o poco estudiados y cuando se tiene poca información. (8)(34)

1.8.3 FASE ANALÍTICA

1.8.3.1 Tratamiento al paciente

Esta fase corresponde todas las actividades para la realización del análisis de la muestra, hace énfasis en la selección, calibración, verificación y revisión de los procedimientos analíticos. (37)

Se debe tomar en cuenta:

- Competencia del personal.
- Reactivos de calidad, estables garantizando un buen resultado en la etapa analítica.
- La calibración, mantenimiento y verificación del correcto funcionamiento de los equipos.
- El desarrollo correcto de la técnica para la obtención de la muestra. (37)

1.8.3.2 Análisis de datos

Los métodos preanalíticos y analíticos deben ser los mismos, tanto para la determinación de los valores de referencia como para los pacientes.

Es importante definir los métodos analíticos y la instrumentación ya que se debe realizar tanto para el individuo de referencia como para los pacientes que asisten al laboratorio clínico. (8)

Cuando se cambia de método, preparación de los reactivos, casa comercial de los reactivos o la instrumentación se sugiere restablecer los valores de referencia para evitar datos erróneos.

Es frecuente que un laboratorio utilice más de un método o instrumento para medir el mismo analito, lo que dificulta obtener resultados comparables, por ende es necesario establecer valores de referencia separados. (8)

1.8.4 FASE POSTANALÍTICA

1.8.4.1 Tratamiento al paciente

En esta fase incluye la confirmación de los resultados, la determinación del intervalo o rango de referencia, informe del laboratorio clínico en el formato establecido por el mismo y la confidencialidad de los resultados. Se verifican que las metodologías informadas y sus valores de referencia correspondan a la metodología utilizada. (37)

1.8.4.2 Análisis de datos

El análisis de los datos se puede hacer de dos formas dependiendo del tipo de distribución:

- si se trata de una población con distribución normal se puede calcular la media y la desviación estándar para crear el intervalo de confianza del 95%.
- si la población no sigue una distribución normal el método paramétrico es el más sencillo y directo. Se calcula los percentiles 2,5 y 97,5 como límites de referencia. (8)

1.8.5 ANÁLISIS DE LOS DATOS DE REFERENCIA

Mediante la determinación del analito del grupo o población de referencia se obtiene el intervalo de referencia el cual indica que es representativo de la población en estudio y comúnmente es definido por los fractiles (medida de posición) de grupo de referencia. (8)(39)

El intervalo de referencia debe comprender 95% de los valores referenciales, por lo tanto los límites de referencia pueden ser calculados como los fractiles 0,025 y 0,975 en caso de la distribución que presenta dos colas. (39)

1.8.5.1 Procedimiento para la determinación del Intervalo de Referencia

1. Recopilar los valores de referencia.

La recopilación de los valores de referencia es muy importante ya que se debe realizar la selección de los individuos de referencia aplicando los criterios de inclusión y exclusión, es la parte más crítica del trabajo, ya que cuanto más estrictos seamos en la definición de individuos de referencia, se obtendrá valores de referencia mejores y más representativos. (27) (31)

2. Distribuir los valores de referencia en subclases.

Se debe examinar los valores de referencia para identificar diferencias significativas y determinar si es necesario dividirlos en subclases como sexo, edad, raza, etc. Se puede usar pruebas como: Prueba de Student, Análisis de Varianza, Prueba de Fisher, etc.

a) Prueba de Fisher o Prueba F

A diferencia de otras pruebas de medias que se basan en la diferencia existente entre dos valores, la prueba de Fisher se utiliza para comparar las varianzas de dos poblaciones.

Esta razón F fue creada por Ronald Fisher (1890-1962), matemático británico, cuyas teorías estadísticas hicieron mucho más precisos los experimentos científicos. Sus proyectos estadísticos, primero utilizados en biología, rápidamente cobraron importancia y fueron aplicados a la experimentación agrícola, médica e industrial. (24)

El valor estadístico de prueba resultante se debe comparar con un valor tabular de F, que indicará el valor máximo del valor estadístico de prueba que ocurría si H_0 fuera verdadero, a un nivel de significación seleccionado. (24)

La distribución F para muestras de tamaños desiguales se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

donde S_1^2 = varianza de los valores correspondientes al grupo 1.

S_2^2 = varianza de los valores correspondientes al grupo 2. (29)

La distribución F está relacionada con el cociente de varianza, pues esta distribución se le conoce como distribución de la razón de varianzas. Antes de proceder a efectuar este cálculo, se debe considerar las características de la distribución F:

- Es una distribución continua
- No puede ser negativa
- A medida que aumentan los valores, la curva se aproxima al eje X, pero nunca la toca. (11) (22)

b) **Prueba t de Student**

La prueba t-Student se utiliza para contrastar hipótesis sobre medias en poblaciones con distribución normal. También proporciona resultados aproximados para los contrastes de medias en muestras suficientemente grandes cuando estas poblaciones no se distribuyen normalmente. (40)

Existen dos versiones de la prueba t-Student: una que supone que las varianzas poblacionales son iguales y otra versión que no asume esto último. Para decidir si se puede suponer o no la igualdad de varianza en las dos poblaciones, se debe realizar previamente la prueba F de Fisher comparando las varianzas.

La prueba t de Student puede ser calculada para una muestra o dos muestras. Cuando la prueba t es para una muestra, contrasta si la media de una población difiere

significativamente de un valor dado conocido o hipotetizado (referencia), se aplica la siguiente fórmula:

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{S/\sqrt{n}}$$

donde \bar{x} media de la muestra de estudio
 μ media de la muestra de referencia
 S desviación estándar
 n tamaño de la muestra

Prueba t de Student para dos muestras se calcula mediante la fórmula:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_{x_1x_2} \times \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Donde

$$S_{x_1x_2} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) S_{x_1}^2 + (n_2 - 1) S_{x_2}^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$S_{x_1x_2}$ es un estimador de la desviación estándar común de ambas muestras

n_1 y n_2 corresponden al grupo 1 y 2 respectivamente

\bar{x}_1 y \bar{x}_2 corresponden a las medias del grupo 1 y 2 respectivamente. (22)

La prueba t-Student fue desarrollada en 1899 por el químico inglés William Sealey Gosset (1876-1937), mientras trabajaba en técnicas de control de calidad para las destilerías Guinness en Dublín. Debido a que en la destilería, su puesto de trabajo no era inicialmente de estadístico y su dedicación debía estar exclusivamente encaminada a mejorar los costes de

producción, publicó sus hallazgos anónimamente firmando sus artículos con el nombre de "Student". (11) (40)

3. Elaborar un Histograma de los valores de referencia e inspeccionar la distribución y preparar un gráfico de probabilidad.

La inspección del histograma es un método confiable para la identificación de valores aberrantes o que se salen del gráfico. La apariencia del histograma depende del intervalo de clase o del tamaño de la barra ya que puede parecer distribución unimodal (Gaussiana), bi o polimodal (excesiva asimetría). Para determinar la distribución normal de los datos de una manera concreta se utiliza la prueba de Kolmogorov-Smirnov o Shapiro wilk. (28) (41)

c) Kolmogorov – Smirnov

La prueba Kolmogorov-Smirnov se aplica para contrastar la hipótesis de normalidad de la población, el estadístico de prueba es la máxima diferencia:

$$D = \text{máx} |F_n(x) - F_0(x)|$$

siendo $F_n(x)$ la función de distribución muestral y $F_0(x)$ la función teórica o correspondiente a la población normal especificada en la hipótesis nula.

La distribución del estadístico de Kolmogorov-Smirnov es independiente de la distribución poblacional especificada en la hipótesis nula y los valores críticos de este estadístico están tabulados. (29)

Los datos ajustados a la Distribución Gaussiana, se calcula la media (\bar{x}), y la desviación estándar (S_x); para los fractiles 0,025 y 0,975 los respectivos límites de referencia son $\bar{x} \pm 1,96 S_x$ con un intervalo de confianza de 95%.

d) **Prueba Shapiro Wilks**

Se basa en estudiar el ajuste de los datos graficados sobre un gráfico probabilístico en el que cada dato es un punto cuyo valor observado de probabilidad para un valor determinado de la variable, y el de ordenada el valor esperado de probabilidad. (11) (41)

$$W = \frac{D^2}{nS^2}$$

donde D es la suma de las diferencias corregidas

n media

S² varianza muestral

En este test la hipótesis nula H₀ postulas que el conjunto de datos siguen una distribución normal, y la hipótesis Alternativa H₁ que no sigue una distribución normal.

El estadístico W de Shapiro-Wilks mide la fuerza del ajuste con una recta. Cuanto mayor sea este estadístico mayor desacuerdo habrá con la recta de normalidad, por lo que podremos rechazar la hipótesis nula, esta prueba se considera como la prueba más potente para muestra inferiores a 30 casos. (41)

4. **Identificar posibles errores en los datos.** Corregir o eliminar los datos erróneos. Identificar y eliminar los valores extremos.

Estos datos se deben a una desviación en el procedimiento para la obtención de los valores de referencia, en cualquier etapa desde la preparación del paciente del individuo, recolección de la muestra o en los cálculos y resultados.

Los valores aberrantes deben ser recalculados, si no se halla la causa de un valor extremo se usan varios procedimientos matemáticos, por ejemplo la Prueba de Grubbs y se los puede identificar por el Diagrama de caja y bigotes.

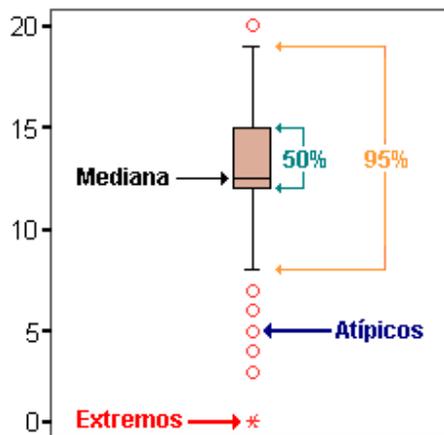
e) **Diagrama de cajas y bigotes**

También denominados boxplots o diagramas de la mediana en recuadro, basados en la mediana, que resisten mejor las modificaciones ocasionadas por estos “outliers” que perturban la media. (1) (4)

Son representaciones gráficas que reflejan directamente 5 parámetros (límite inferior, primer cuartil, mediana, tercer cuartil y límite superior) e indirectamente el rango y el rango intercuartílico. (4)

También dan una idea de la simetría, el sesgo y la dispersión de los datos. Un recuadro encierra todos los datos que se encuentran entre el primer cuartil (Q_1) y el tercer cuartil (Q_3), indicando mediante una línea vertical donde se encuentra la mediana, los bigotes, filamentos o líneas van desde cualquier extremo hasta el mínimo o máximo dato de la distribución. Ver Gráfico No. 1. (4)

GRÁFICO No. 1 PARÁMETROS DEL DIAGRAMA DE CAJA



FUENTE: RAMOS JULIO. (35)

f) **Prueba de Grubbs**

La prueba de Grubbs permite la identificación de datos atípicos en un conjunto de datos, utiliza una estadística de prueba, G, que es la diferencia absoluta entre el valor atípico, X_0 , y el promedio de la muestra \bar{X} dividida por la desviación estándar de la muestra, S. (7) (46)

$$G = \frac{|x_0 - \bar{X}|}{S}$$

El procedimiento de la prueba de Grubbs es el siguiente:

Paso 1: Ordenar los datos ascendentemente $X_1 < X_2 < X_3 < \dots \dots \dots X_n$

Paso 2: Decidir si X_1 o X_n es una valor sospechoso.

Paso 3: Calcular el promedio \bar{X} y la desviación estándar S del conjunto de datos.

Paso 4: Se calcula T si se considera sospechoso el primer valor o el último

$$\text{Si } X_1 \text{ es sospechoso } G = \frac{\bar{x} - x_1}{S}$$

$$\text{Si } X_n \text{ es sospechoso } G = \frac{x_n - \bar{x}}{S}$$

Paso 5: Escoger el nivel de confianza para la prueba y calcular G y compáralo con el valor correspondiente de acuerdo con una tabla de valores críticos. Si el valor de G es mayor que el valor crítico, se dice que el dato es un valor extremo. (1) (46)

5. Seleccionar el método de estimación y determinar los límites e intervalos de referencia.

Para estimar lo límites de referencia se puede escoger método paramétrico o no paramétrico.

g) Método no paramétrico

El método no paramétrico se recomienda para uso general, debido a su confiabilidad, consiste en eliminar un determinado porcentaje de los valores en cada extremo de la distribución de referencia, estimando los fractiles.

Implica el ordenamiento de los valores en orden ascendente y calculando los porcentajes acumulados de todos los puntos en cada nivel numérico que son fractiles 0,025 y 0,975, son los límites inferior y superior respectivamente. (8)

Se calcula:

$$\text{fractil } 0,025 (N + 1) = \text{Rango numérico inferior}$$

$$\text{fractil } 0,975 (N + 1) = \text{Rango numérico superior}$$

donde N son los datos de referencia que se ordenan en forma ascendente; de esta manera obtenemos el Intervalo de referencia, por el método no paramétrico.

1.9 UTILIZACIÓN DE LOS VALORES DE REFERENCIA

Los intervalos de referencia pueden utilizarse para comparar entre sí diferentes poblaciones o para comparar un valor aislado con los valores de referencia, con el objetivo de realizar:

- A. Estudios epidemiológicos o antropológicos –que resultan obligados cuando se considere la posibilidad de transferir los valores hallados en una población a otra diferente;
- B. Estudios de selección de determinaciones bioquímicas, en que la población de referencia actúa de control en la valoración de la efectividad clínica de una determinación analítica;
- C. Estudios de valoración de efectos de medicamentos y otros agentes exteriores sobre las determinaciones bioquímicas.(31)

1.10 PRESENTACIÓN DE LOS VALORES DE REFERENCIA

Existen varias formas de presentar al clínico los valores de referencia para comparar con los datos del paciente. Cuando los valores son pocos se presentan todos, y cuando el número es extenso se puede presentar la distribución en forma de tabla o de histograma.

Sin embargo la forma más usual de presentar los valores de referencia es mediante el intervalo de referencia que incluye el 95% de los valores de la población de referencia.

Es importante suministrar al médico toda la información acerca de los valores de referencia, para una correcta interpretación de los exámenes del paciente, usualmente los intervalos de referencia se presenta al médico en un folleto, junto con la información de los métodos analíticos, imprecisiones, descripción de la población de referencia, y la determinación de los valores de referencia o los intervalos. (31)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio Clínico de la Facultad de Ciencias y en el Departamento Médico de la ESPOCH.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo para el cálculo de valores referenciales hematológicos, empleando metodología “a posteriori”. Las determinaciones hematológicas fueron: leucocitos, eritrocitos, plaquetas, hemoglobina (Hb) y hematocrito (Hto).

Los valores de las distintas determinaciones hematológicas fueron recopilados de las historias clínicas y de forma manual del Departamento médico de la ESPOCH a través del Sistema e- Salud ESPOCH (SESE) y de la base de datos del Contador Hematológico ABACUS que se encuentra en el área de Laboratorio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

Se recopiló toda la información desde el año 2008 a 2012 con un total de 3280 individuos que fueron atendidos en el laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, de ambos sexos, con edades comprendidas entre 16 y 53 años de edad.

Para la población de estudio se aplicaron los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

a) **CRITERIO DE INCLUSIÓN**

- Individuos aparentemente sanos que ingresaron a la ESPOCH desde el 2008 al 2012.
- Edades comprendidas entre 18 a 25 años.
- Ambos sexos.

b) **CRITERIO DE EXCLUSIÓN**

- Mujeres en estado de gestación
- Individuos que presentaban signos o síntomas de enfermedad.

De acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión antes mencionados se obtuvo una población total de estudio de 2440 individuos que ingresaron a la ESPOCH desde el 2008 al 2012 en edades comprendidas entre 18 a 25 años, de ambos sexos.

2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Con la finalidad de facilitar el análisis estadístico de la presente investigación se utilizó el programa estadístico SPSS (versión 18.0) y el programa Microsoft Excel 2010 para todos los análisis y gráficas.

2.3.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

El total de la población estudiada fue de 2440, los individuos procedentes de la altitud menor a 1000 msnm corresponden al 17.62% (n= 430) y los individuos procedentes de la altitud mayor a 1000 msnm corresponden al 82.38% (n= 2010).

De acuerdo al género el 50.57% (n=1234) corresponde al género femenino y el 49.43% (1206) corresponde al género masculino, como indica el Cuadro No. 1

2.3.2 DETERMINACIÓN DE LA PRUEBA F Y PRUEBA t DE STUDENT

Utilizando el Test t Student permite comparar si existen diferencias significativas entre las variables altitud y género de cada parámetro hematológico. Puesto que el test t depende de la igualdad de las varianzas se aplica la prueba F para poder realizar las respectivas decisiones. Se consideró un nivel de significancia del 95% ($\alpha = 0.05$).

2.3.3 DETERMINACIÓN DE VALORES ATÍPICOS

Se consideró el análisis de los outliers empleando las gráficas de caja y bigotes el cual permite identificar los posibles valores atípicos y se comprobó aplicando la fórmula de la prueba de Grubbs y tomando la decisión de aceptación o rechazo de la H_0 de acuerdo al criterio de Grubbs (G)

$$G_{\text{CALCULADO}} < G_{\text{CRÍTICO}} ; \text{Valor atípico}$$

2.3.3.1 Cálculos de los valores atípicos del conteo de leucocitos

DATOS 1		$G = \frac{ x_0 - \bar{X} }{s}$
N	1027	
\bar{X}	6,908	
S	1,7184	$G = \frac{ 15,70 - 6,908 }{1,7184} = 5,12$
X_0	15,70	
$G_{\text{crítico}}$	4,20	$G_{\text{CALCULADO}} < G_{\text{CRÍTICO}} ; \text{Valor atípico}$

5,12 < 4,20 ; es un valor atípico

DATOS 2

N	1026
\bar{X}	6,900
S	1,697
X_o	15,20
$G_{crítico}$	4,20

$$G = \frac{|15,20 - 6,900|}{1,697} = 4,89$$

$G_{CALCULADO} < G_{CRÍTICO}$; *Valor atípico*

4,89 < 4,20 ; *es un valor atípico*

DATOS 3

N	1025
\bar{X}	6,892
S	1,678
X_o	13,5
$G_{crítico}$	4,20

$$G = \frac{|13,5 - 6,892|}{1,678} = 3,93$$

$G_{CALCULADO} < G_{CRÍTICO}$; *Valor atípico*

3,93 < 4,20 ; *no es un valor atípico*

2.3.3.2 Cálculos de los valores atípicos del conteo de eritrocitos

DATOS

N	1026
\bar{X}	5,337
S	0,525
X_o	7,68
$G_{crítico}$	4,24

$$G = \frac{|7,68 - 5,337|}{0,525} = 4,45$$

$G_{CALCULADO} < G_{CRÍTICO}$; *Valor atípico*

4,45 < 4,24 ; *es un valor atípico*

2.3.4 ELABORACIÓN DEL HISTOGRAMA Y COMPROBACIÓN DE LA NORMALIDAD DE LOS DATOS

El histograma permite ver un perfil de la distribución de los datos, si presenta una distribución simétrica se observa una curva en forma de campana y si presenta una distribución asimétrica se observará la curva hacia un lado ya sea derecho o izquierdo.

Se determinó la normalidad de los datos mediante las pruebas de Kolmogorov – Smirnov y Shapiro – Wilk. El criterio para la aceptación o rechazo de la hipótesis nula fue de acuerdo al “nivel de significación observada” (p):

Si: $p < 0.05$ se rechaza la H_0

$p > 0.05$ se acepta la H_1

2.3.5 DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE REFERENCIA

Una vez realizada la eliminación de los valores atípicos y determinando la distribución que siguen los datos (distribución simétrica o asimétrica), los valores de referencia se calcularon considerando métodos no paramétricos con un nivel de significación del 95% usando como límites inferior y superior del valor de referencia los percentiles 2.5 y 97.5, respectivamente.

2.3.6 COMPARACIÓN DE LOS VALORES DE REFERENCIA OBTENIDOS FRENTE A LOS VALORES DE REFERENCIA NACIONALES E INTERNACIONALES

El cálculo para determinar la existencia de diferencia significativa entre los valores de referencia obtenidos y otros valores de referencia, se realizó con la prueba t de Student para una población frente a un valor de referencia en el programa estadístico SPSS. Se utilizó el criterio de “nivel de significación observada” (p) al igual que las anteriores pruebas realizadas en el programa SPSS (pruebas de normalidad).

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CUADRO No. 1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA DE LOS VALORES HEMATOLÓGICOS DE ACUERDO A LA ALTITUD Y GÉNERO EN NÚMERO Y PORCENTAJE. DEPARTAMENTO MÉDICO. ESPOCH. RIOBAMBA. 2008 AL 2012

ALTITUD/GÉNERO	FEMENINO	MASCULINO	TOTAL
< 1000 msnm	207	223	430
> 1000 msnm	1027	983	2010
TOTAL	1234	1206	2440
< 1000 msnm (%)	8.48	9.14	17.62
> 1000 msnm (%)	42.09	40.29	82.38
TOTAL (%)	50.57	49.43	100.00

Se obtuvo una población de estudio de 2440 individuos de los cuales 1234 individuos fueron mujeres que corresponde a 50,57% y 1206 individuos fueron hombres que corresponde a 49,43%, en edades comprendidas entre 18 y 25 años como indica el Cuadro No. 1.

El número de individuos provenientes de lugares a menos de 1000 msnm fue de 430 que equivale a 17,62%, y 2010 individuos que equivale al 82,38% provienen de lugares a más de 1000 msnm, obteniendo como resultado una diferencia significativa en los leucocitos, por lo que el análisis de este parámetro se realizó tomando en consideración solo a los individuos procedentes de la altura ya que esta población de estudio es mayor con un 82,38%, como indica el Cuadro No. 1

3.1 DETERMINACIÓN DE LA PRUEBA F Y PRUEBA t DE STUDENT

CUADRO No. 2 COMPARACIÓN SIGNIFICATIVA PARA ALTITUD Y GÉNERO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Parámetros	Prueba F			Test t		Medias
	Fcalculado	Fcrítico 0,025	Varianzas	tcalculado	tcrítico 0,05	
ALTITUD (msnm)						
> 1000 msnm						
< 1000 msnm						
Contaje Leucocitos (x 10 ³ /μl)	1,072		Igual	2,112		diferentes
Contaje Eritrocitos (x 10 ⁶ /μl)	1,032		Igual	-0,327		iguales
Determinación Hemoglobina (g/dl)	1,007	1,155	Igual	0,114	1,961	iguales
Determinación Hematocrito (%)	1,002		Igual	1,146		iguales
Contaje Plaquetas (x 10 ³ /μl)	1,068		Igual	1,827		iguales
GÉNERO						
Hombre y Mujeres						
Contaje Leucocitos (x 10 ³ /μl)	0,779		Igual	-0,377		iguales
Contaje Eritrocitos (x 10 ⁶ /μl)	0,854		Igual	-2,888		diferentes
Determinación Hemoglobina (g/dl)	0,810	0,860	Igual	4,624	1,961	diferentes
Determinación Hematocrito (%)	0,853		Igual	3,871		diferentes
Contaje Plaquetas (x 10 ³ /μl)	0,981		Diferentes	8,470		diferentes

Según el Cuadro No. 2 existe diferencia significativa de los leucocitos con respecto a la altitud por tanto para la determinación de los valores de referencia se considera a los valores de leucocitos de individuos provenientes de una altitud mayor a 1000 msnm. Con respecto al género se puede determinar que existe diferencia significativa para todos los parámetros hematológicos excepto los leucocitos.

3.2 DETERMINACIÓN VALORES ATÍPICOS

3.2.1 DETERMINACIÓN DE VALORES ATÍPICOS DEL CONTAJE DE LEUCOCITOS

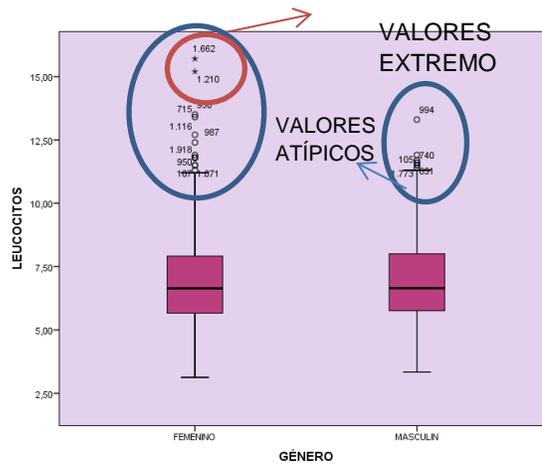


GRÁFICO No. 2 DIAGRAMA DE CAJA DEL CONTAJE DE LEUCOCITOS (x 10³/μl) CON RELACIÓN AL GÉNERO Y PRESENCIA DE VALORES ATÍPICOS. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

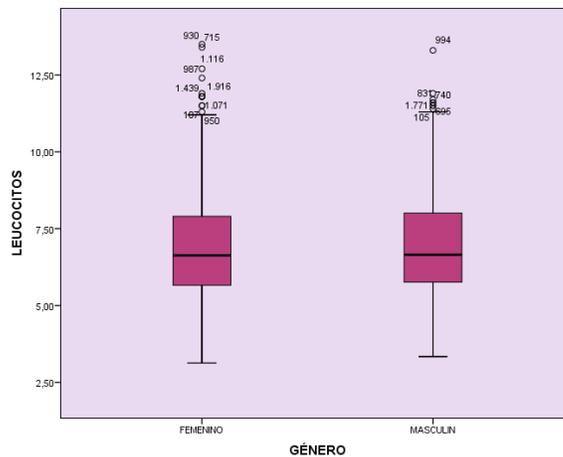


GRÁFICO No. 3 DIAGRAMA DE CAJA DEL CONTAJE DE LEUCOCITOS (x 10³/μl) CON RELACIÓN AL GÉNERO SIN VALORES ATÍPICOS. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Según el Gráfico No. 2 se presentó 2 valores atípicos pertenecientes a los valores de leucocitos (x 10³/μl) 15,20 y 13, 5 del género femenino, los cuales fueron eliminados al cumplir el criterio $G_{\text{calculado}} < G_{\text{crítico}}$ indicando que son valores atípicos con resultado de 5,116 y 4,89 (mayor a 4,20) respectivamente. Ver Gráfico No. 3

3.2.2 DETERMINACIÓN DE VALORES ATÍPICOS DEL CONTAJE DE ERITROCITOS



GRÁFICO No. 4 DIAGRAMA DE CAJA DEL CONTAJE DE ERITROCITOS ($\times 10^6/\mu\text{l}$) CON RELACIÓN AL GÉNERO Y PRESENCIA DE VALORES ATÍPICOS. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

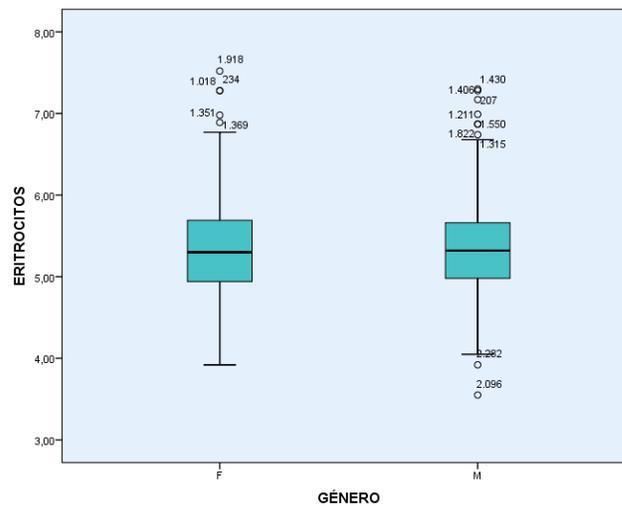


GRÁFICO No. 5 DIAGRAMA DE CAJA DEL CONTAJE DE ERITROCITOS ($\times 10^6/\mu\text{l}$) CON RELACIÓN AL GÉNERO SIN VALORES ATÍPICOS. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Según el Gráfico No. 4 se presentó 1 valor atípico que corresponde a los eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$) 7,68 del género masculino el cual fue eliminado al cumplir con el criterio $G_{\text{calculado}} < G_{\text{crítico}}$ indicando que es un valor atípico con resultado 4,45 (mayor a 4,24). Ver Gráfica No. 5.

3.2.3 DETERMINACIÓN DE VALORES ATÍPICOS PARA HEMOGLOBINA

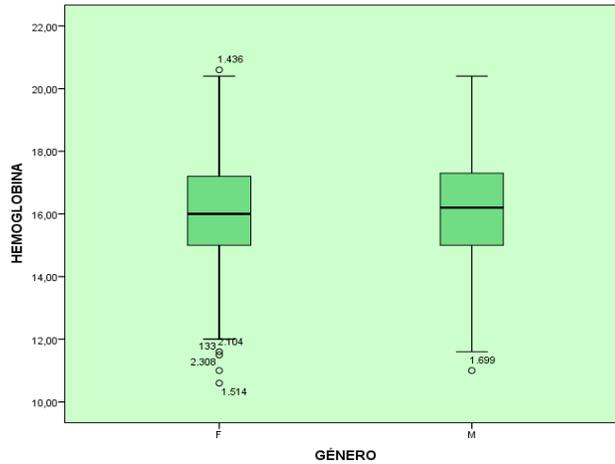


GRÁFICO No. 6 DIAGRAMA DE CAJA DE LA DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA (g/dl) CON RELACIÓN AL GÉNERO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013.

Según el Gráfico No. 6 se observa datos en la parte superior e inferior de los bigotes que se los puede considerar como valores atípicos. Los cuales fueron confirmados con la prueba de Grubbs dando como resultado que no son valores atípicos.

3.2.4 DETERMINACIÓN DE VALORES ATÍPICOS PARA HEMATOCRITO

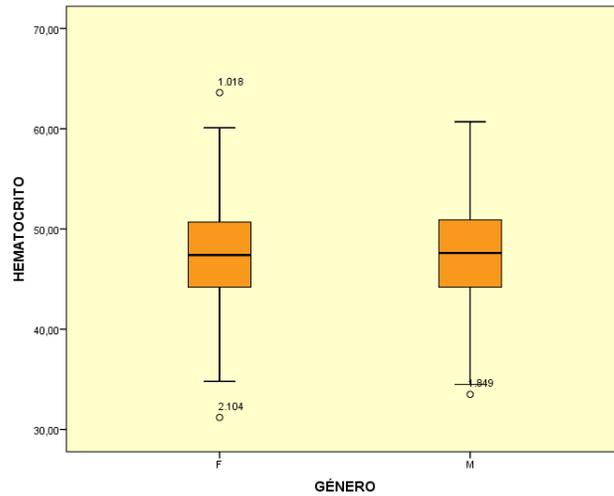


GRÁFICO No. 7 DIAGRAMA DE CAJA DE LA DETERMINACIÓN DE HEMATOCRITO (%) CON RELACIÓN AL GÉNERO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Según el Gráfico No. 7 se puede observar datos que se encuentran por encima y por debajo de los bigotes superiores e inferiores, que se pueden considerar como valores atípicos, los cuales fueron confirmados con la prueba de Grubbs, dando como resultado que no son valores atípicos.

3.2.5 DETERMINACIÓN DE VALORES ATÍPICOS DEL CONTAJE DE PLAQUETAS

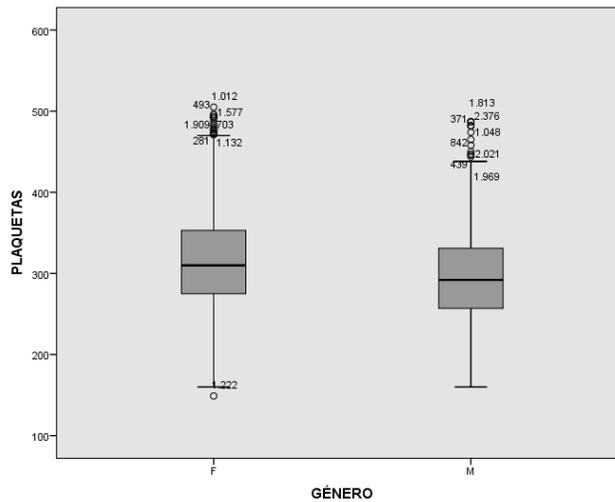


GRÁFICO No. 8 DIAGRAMA DE CAJA DEL CONTAJE DE PLAQUETAS ($\times 10^3/\mu\text{l}$) CON RELACIÓN AL GÉNERO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Según el Gráfico No. 8 se puede observar datos que se encuentran por encima y por debajo de los bigotes superiores e inferiores, que se pueden considerar como valores atípicos, los cuales fueron confirmados con la prueba de Grubbs, dando como resultado que no son valores atípicos.

CUADRO No. 3 PROMEDIOS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR POR PARÁMETRO AL INICIO Y LUEGO DE LA LIMPIEZA DE VALORES ATÍPICOS POR GRUPO DE PARTICIÓN. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Parámetro Género	Inicio			Postlimpieza		
	n	Promedio	DE	n	Promedio	DE
Leucocitos (x 10 ³ /μl)						
Masculino	983	6,953	1,667	983	6,953	1,667
Femenino	1027	6,908	1,718	1025	6,892	1,678
Eritrocitos (x 10 ⁶ /μl)						
Masculino	1206	5,337	0,525	1205	5,336	0,521
Femenino	1234	5,324	0,539	1234	5,324	0,539
Hemoglobina (g/dl)						
Masculino	1206	16,119	1,528	1206	16,119	1,528
Femenino	1234	16,075	1,560	1234	16,075	1,560
Hematocrito (%)						
Masculino	1206	47,496	4,580	1206	47,496	4,580
Femenino	1234	47,357	4,639	1234	47,357	4,639
Plaquetas (x 10 ³ /μl)						
Masculino	1206	294,62	55,905	1206	294,62	55,905
Femenino	1234	314,63	60,743	1234	314,63	60,743

Según el Cuadro No. 3 posterior a la eliminación de los valores atípicos correspondientes a los leucocitos y eritrocitos el número de datos disminuyó a 2008 y 2439 respectivamente; mientras que la hemoglobina, hematocrito y plaquetas no presentaron valores atípicos por lo que su número de datos a estudiar pertenece igual que la inicio de 2440.

3.3 ELABORACIÓN DEL HISTOGRAMA Y COMPROBACIÓN DE LA NORMALIDAD DE LOS DATOS

Luego de analizar el tipo de distribución de los datos hematológicos se encontró que mediante los histogramas se observa una distribución simétrica los Gráficos No. 10 y 12 correspondiente a los Eritrocitos y Hematocrito de ambos sexos que siguen aparentemente una distribución normal, los Gráficos No. 9, 11 y 13 correspondientes a Leucocitos, Hemoglobina y Plaquetas de ambos sexos se observa una distribución asimétrica yéndose ligeramente a la derecha o izquierda.

3.3.1 HISTOGRAMA Y PRUEBAS DE NORMALIDAD PARA EL CONTAJE DE LEUCOCITOS

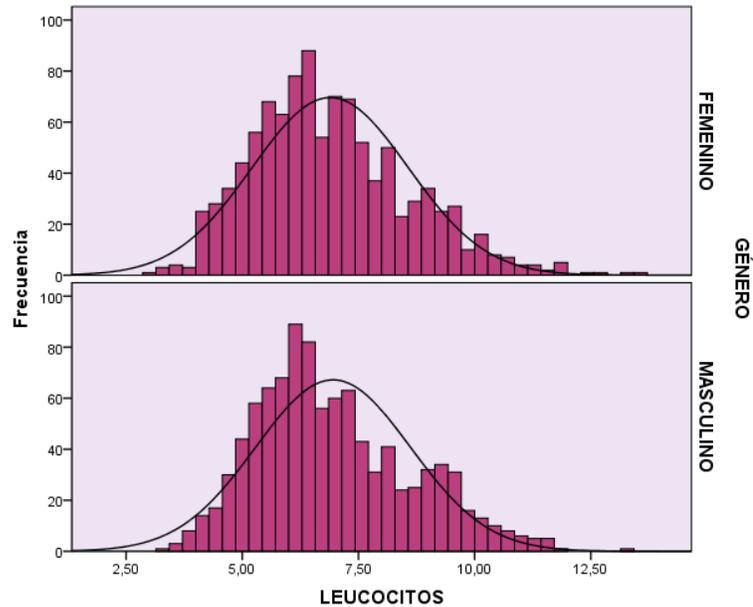


GRÁFICO No. 9 HISTOGRAMAS DE LA DISTRIBUCIÓN PARA EL CONTAJE DE LEUCOCITOS ($\times 10^3/\mu\text{l}$) POR GRUPO DE PARTICIÓN Y CURVA DE COMPROBACIÓN. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Según el Gráfico No. 9 se observa que los datos no siguen una distribución normal, ya que los datos se encuentran inclinándose para la izquierda.

CUADRO No. 4 PRUEBAS DE NORMALIDAD DEL CONTAJE DE LEUCOCITOS ($\times 10^3/\mu\text{l}$) POR GRUPO DE PARTICIÓN. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

	GÉNERO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
LEUCOCITOS ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	FEMENINO	,065	1025	,000	,977	1025	,000
	MASCULINO	,079	983	,000	,971	983	,000

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Según el Cuadro No. 4 el nivel de significación obtenido es menor al 5% de los datos de leucocitos en las pruebas de Kolmogorov y Shapiro por lo que se rechaza la hipótesis nula, es decir los datos no siguen una distribución normal.

3.3.2 HISTOGRAMA Y PRUEBAS DE NORMALIDAD PARA EL CONTAJE DE ERITROCITOS

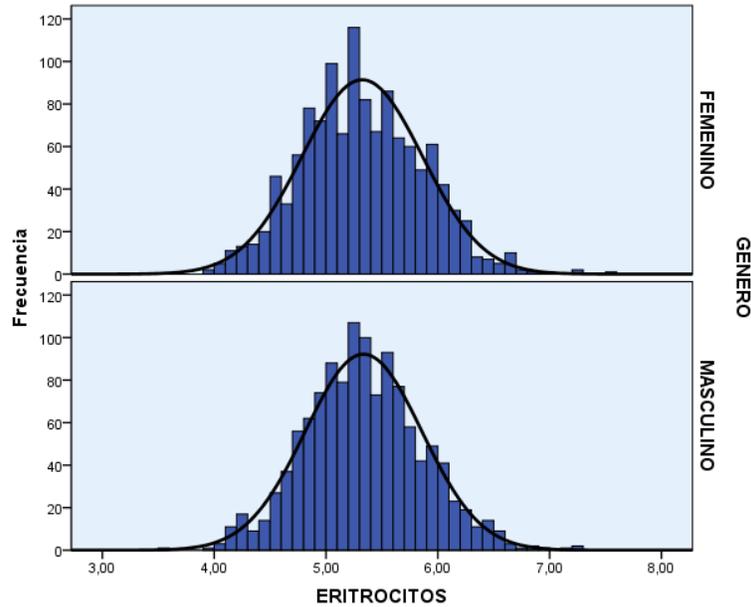


GRÁFICO No. 10 HISTOGRAMAS DEL CONTAJE DE ERITROCITOS ($\times 10^6/\mu\text{l}$) POR GRUPO DE PARTICIÓN Y CURVA DE COMPROBACIÓN DE NORMALIDAD. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Según el Gráfico No. 10 se observa que los datos de los eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$) con respecto al género siguen aparentemente una distribución normal.

CUADRO No. 5 PRUEBAS DE NORMALIDAD DEL CONTAJE DE ERITROCITOS ($\times 10^6/\mu\text{l}$) POR GRUPO DE PARTICIÓN. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

GÉNERO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
ERITROCITOS ($\times 10^6/\mu\text{l}$) FEMENINO	,032	1234	,004	,995	1234	,001
MASCULINO	,029	1205	,000	,997	1205	,000

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Según el Cuadro No. 5 el valor de significación de los datos de eritrocitos es menor al 5% para ambos género en las pruebas de Kolmogorov y Shapiro por lo que se rechaza la hipótesis nula, es decir los datos no siguen una distribución normal.

3.3.3 HISTOGRAMA Y PRUEBAS DE NORMALIDAD PARA HEMOGLOBINA

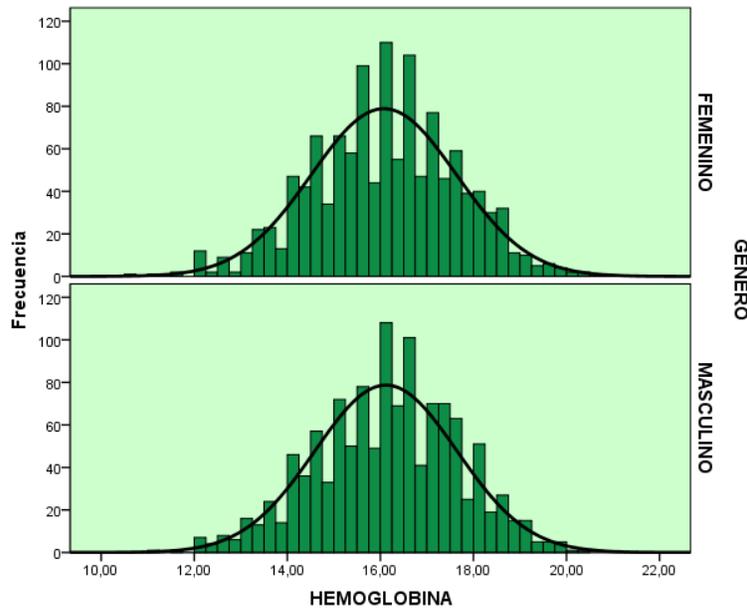


GRÁFICO No. 11 HISTOGRAMAS DE LA DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA (g/dl) POR GRUPO DE PARTICIÓN Y CURVA DE COMPROBACIÓN DE NORMALIDAD. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Según el Gráfico No. 11 se puede observar que los datos no siguen una distribución normal, se encuentran inclinados ligeramente a la derecha.

CUADRO No. 6 PRUEBAS DE NORMALIDAD DE LA DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA (g/dl) POR GRUPO DE PARTICIÓN. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

	GÉNERO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
HEMOGLOBINA (g/dl)	FEMENINO	,032	1234	,004	,997	1234	,000
	MASCULINO	,042	1206	,000	,997	1206	,001

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Según el Cuadro No. 6 el nivel de significación es menor al 5% de los datos de hemoglobina para ambos géneros en las pruebas de Kolmogorov y Shapiro por lo que se rechaza la hipótesis nula, es decir los datos no siguen una distribución normal.

3.3.4 HISTOGRAMA Y PRUEBAS DE NORMALIDAD PARA HEMATOCRITO

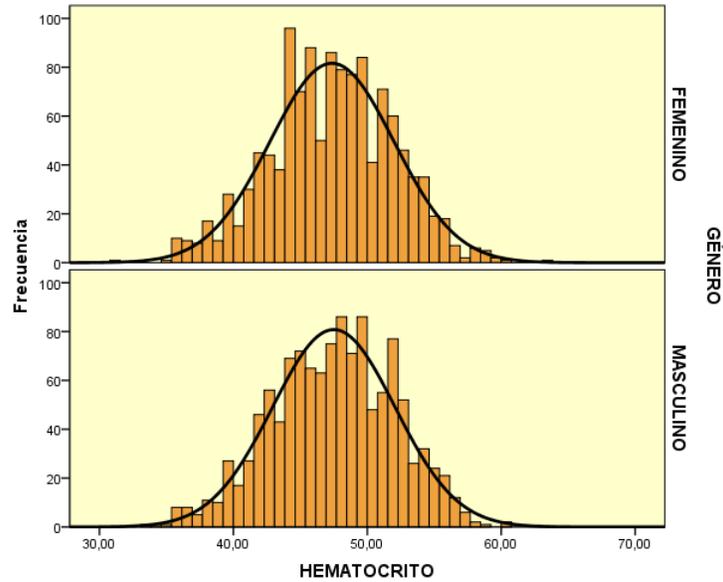


GRÁFICO No. 12 HISTOGRAMAS DE LA DETERMINACIÓN DE HEMATOCRITO (%) POR GRUPO DE PARTICIÓN Y CURVA DE COMPROBACIÓN DE NORMALIDAD. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Según el Gráfico No. 12 se puede observar que los datos siguen aparentemente una distribución normal.

CUADRO No. 7 PRUEBAS DE NORMALIDAD DE LA DETERMINACIÓN DE HEMATOCRITO (%) POR GRUPO DE PARTICIÓN. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

	GÉNERO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
HEMATOCRITO (%)	FEMENINO	,032	1234	,003	,997	1234	,004
	MASCULINO	,039	1206	,000	,995	1206	,001

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Según el Cuadro No. 7 el nivel de significación obtenido es menor al 5% de los datos de hematocrito para ambos géneros en las pruebas de Kolmogorov y Shapiro por lo que se rechaza la hipótesis nula, es decir los datos no siguen una distribución normal

3.3.5 HISTOGRAMA Y PRUEBAS DE NORMALIDAD PARA PLAQUETAS

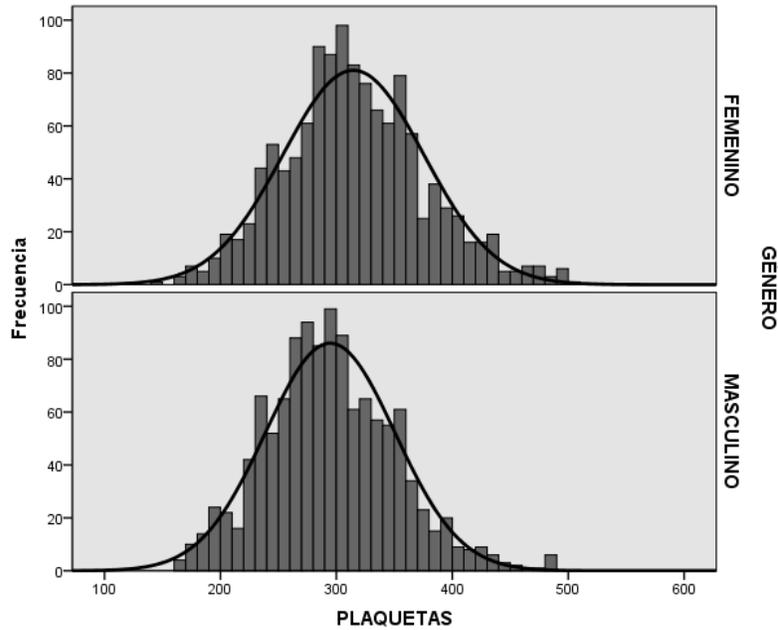


GRÁFICO No. 13 HISTOGRAMAS DEL CONTAJE DE PLAQUETAS ($\times 10^3/\mu\text{l}$) POR GRUPO DE PARTICIÓN Y CURVA DE COMPROBACIÓN DE NORMALIDAD. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Según el Gráfico No. 13 se observa que los datos no siguen una distribución normal se encuentran inclinados hacia la izquierda.

CUADRO No. 8 PRUEBAS DE NORMALIDAD DEL CONTAJE DE PLAQUETAS ($\times 10^3/\mu\text{l}$) POR GRUPO DE PARTICIÓN. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

	GÉNERO	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
PLAQUETAS ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	FEMENINO	,040	1234	,000	,993	1234	,000
	MASCULINO	,050	1206	,000	,990	1206	,000

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Según el Cuadro No. 8 el nivel de significación obtenido es menor al 5% de los datos de hematocrito para ambos géneros en las pruebas de Kolmogorov y Shapiro por lo que se rechaza la hipótesis nula, es decir los datos no siguen una distribución normal

3.4 DETERMINACIÓN DEL INTERVALO DE REFERENCIA

CUADRO No. 9 VALORES DE REFERENCIA POR PARÁMETRO Y GRUPOS DE PARTICIÓN. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

Parámetros	Género	Valores de referencia				
		n	Promedio	DE	P2.5	P97.5
Contaje Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	Masculino	983	6,953	1,678	4,28	10,6
	Femenino	1025	6,892	1,667	4,188	10,54
Contaje Eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	Masculino	1205	5,335	0,521	4,3	6,4
	Femenino	1234	5,324	0,538	4,302	6,218
Determinación Hemoglobina (g/dl)	Masculino	1206	16,119	1,528	13,012	19
	Femenino	1234	16,075	1,560	13,082	18,9
Determinación Hematocrito (%)	Masculino	1206	47,496	4,580	38,1	55,888
	Femenino	1234	47,357	4,639	38	55,7
Contaje Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	Masculino	1206	294,622	55,905	192	417
	Femenino	1234	314,633	60,743	204	443,175

Los valores referenciales obtenidos en la población de estudio son: contaje de leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) es de 4,3 – 10,6 para hombres y de 4,1 – 10,5 para mujeres; contaje de eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$) es de 4,3 – 6,4 para hombres y 4,3 – 6,2 para mujeres; determinación de hemoglobina (g/dl) es de 13,01 – 19 para hombres y 13,08 – 18,9 para mujeres; determinación de hematocrito (%) 38,1 – 55,9 para hombres y 38,1 – 55,7 para mujeres y el contaje de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$) es de 192 – 417 en hombre y 204 – 443,2 para mujeres, según el Cuadro No. 9.

3.5 COMPARACIÓN DE LOS VALORES DE REFERENCIA OBTENIDOS FRENTE A LOS VALORES DE REFERENCIA NACIONALES E INTERNACIONALES

CUADRO No. 10 VALORES DE REFERENCIA HEMATOLÓGICOS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA FRENTE A ESTUDIOS EN OTRAS POBLACIONES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. 2013

PARÁMETROS	VALOR OBTENIDO				VALOR OTRA REFERENCIA		P *
	GÉNERO	PROMEDIO	± DE	RANGO	PROMEDIO	RANGO	
Contaje Leucocitos (x10 ⁹ /μl)	Masculino	6,953	1.678	4,280 - 10,600	6,729	4,287 - 9,870 ^e	< 0.05
					7,5	5,000 - 10,000 ^b	
					9	7,000 - 11,000 ^d	
	Femenino	6,892	1.667	4,188 - 10,540	7,07	4,320 - 10,421 ^e	< 0.05
					7,5	5,000 - 10,000 ^b	
					9	7,000 - 11,000 ^d	
Contaje Eritrocitos (x10 ⁹ /μl)	Masculino	5,335	0.521	4,300 - 6,400	5,465	4,880 - 6,119 ^e	< 0.05
					4,75	4,000 - 5,500 ^b	
					4,55	3,900 - 5,200 ^c	
	Femenino	5,324	0.538	4,302 - 6,218	5	4,900 - 5,100 ^f	< 0.05
					4,845	4,274 - 5,452 ^d	
					4,75	4,000 - 5,500 ^b	
Determinación Hemoglobina (g/dl)	Masculino	16.119	1.528	13.01 - 19.00	16.7	14.90 - 18.30 ^e	< 0.05
					14.7	12.00 - 17.40 ^b	
					13.70	11.90 - 15.40 ^c	
	Femenino	16.075	1.56	13.08 - 18.9	15.66	15.49 - 15.83 ^f	< 0.05
					16.60	14.40 - 18.80 ^a	
					14.5	12.70 - 16.20 ^e	
Determinación Hematocrito (%)	Masculino	47,496	4,58	38,1 - 55,88	48.03	43.30 - 52.80 ^e	< 0.05
					44.00	36.00 - 52.00 ^b	
					40.50	35.00 - 46.00 ^c	
	Femenino	47,357	4,639	38,1 - 55,7	46.45	45.95 - 46.95 ^f	< 0.05
					49.80	43.40 - 56.20 ^a	
					42.60	37.90 - 47.00 ^e	
Contaje Plaquetas (x10 ⁹ /μl)	Masculino	294,622	55,905	192 - 417	256.63	177.00 - 349.70 ^e	< 0.05
					275	150.00 - 400.00 ^b	
					251.33	177.00 - 377.00 ^d	
	Femenino	314,633	60,743	204 - 443,175	284.03	194.00 - 382.00 ^e	< 0.05
					275	150.00 - 400.00 ^b	
					271.72	191.00 - 401.00 ^d	

* = t de diferencia de promedios para un promedio de referencia.

^a Coy Velandia LS et al. (Bogotá – 2600 msnm) 2007. 59 sujetos. Adultos 18 – 50 años. Rango ± 2 DE. ¹⁵

^b Equipo Hematológico ABACUS.

^c Fernández LE et al. (Caracas – 900 msnm) 2006. 250 sujetos. Adultos 18 – 45 años. Rango P2.5 – P97.5. ¹²

^d Gómez de la Torre PJC et al. (Lima – 90 msnm) 2001. 72 sujetos. Adultos 20 – 49 años. Rango P3 – P97. ²⁰

^e Sáenz Klever et al. (Quito – 2800 msnm) 2008. 2613 sujetos. Adultos de 18 - 45 años. Rango P2.5 – P97.5. ²⁵

^f Rodríguez MA et al. (Chiapas/México – 1609 msnm) 2007. 120 sujetos. Adultos 18-50 años. Rango intervalo de confianza 95% ⁹

^g Sysmex Corporation. XE – 2100 Analizador automático – instrucciones de uso. Los rangos se ajustan a 2 DE.

Los valores de referencia de la población en estudio no son similares a los registrados en la literatura (1, 18, 43, 45,), en los parámetros de leucocitos y hematocrito se obtuvo resultados menores, mientras que en las Plaquetas sobrepasan los valores establecidos.

Analizados los valores de referencia encontrados frente a los reportados por otras publicaciones en poblaciones de diferente altitud, en todos los parámetros se evidenciaron diferencias significativas. Las diferencias en los diferentes parámetros hematológicos persistieron incluso al compararlos con poblaciones de altitud similar a la de Riobamba, como en el caso de Quito y de Bogotá localizadas a 2,800 y 2,600 msnm.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Se determinó los valores referenciales del conteo de leucocitos, eritrocitos y plaquetas, de la determinación de hemoglobina y hematocrito de individuos en edades comprendidas entre 18 a 25 años atendidos en el laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH desde el año 2008 al 2012, teniendo como resultado: conteo de leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) es de 4,3 – 10,6 para hombres y de 4,1 – 10,5 para mujeres; conteo de eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$) es de 4,3 – 6,4 para hombres y 4,3 – 6,2 para mujeres; determinación de hemoglobina (g/dl) es de 13,01 – 19 para hombres y 13,08 – 18,9 para mujeres; determinación de hematocrito (%) 38,1 – 55,9 para hombres y 38,1 – 55,7 para mujeres y en el conteo de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$) es de 192 – 417 en hombre y 204 – 443,2 para mujeres. Ver Cuadro No.9.
2. La comparación de los promedios del conteo de leucocitos considerando la altitud es significativa diferente (p menor a 0,05), mientras que para los otros parámetros no fue significativamente diferente.
3. La comparación de los promedios del conteo de eritrocitos, determinación de hemoglobina, determinación de hematocrito y conteo de plaquetas considerando el

género es significativamente diferente (p menor a 0,05), mientras que para el conteo de leucocitos no fue significativamente diferente.

4. Con 95% de confianza las pruebas de normalidad fueron significativamente diferentes (p menor a 0,05), por lo cual el análisis se realizó con pruebas estadísticas no paramétricas. Ver Cuadros 4 – 8.

5. Los valores referenciales del conteo de leucocitos, eritrocitos y plaquetas, de la determinación de hemoglobina y hematocrito de acuerdo a la prueba t de Student presentaron variación significativa respecto a estudios similares realizados en poblaciones de diferente altitud como Quito (Sáenz K. 2007), Bogotá (Coy Velandia LS et. Al. 2001), Chiapas (Rodríguez MA, et al. 2007), Caracas (Fernández LE, et al. 2006) y Lima (Gómez de la Torre JC, et al. 2000-2001); ya que el valor de significación de los datos hematológicos es menor al 5%.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Los laboratorios clínicos deben calcular los valores de referencia de acuerdo a la población que se atiende ya que existe diferencias de acuerdo a la ubicación geográfica.
2. Los valores de referencia deben ser revisados periódicamente cuando un Laboratorio Clínico cambia un procedimiento analítico.
3. Para determinar los valores de referencia se debe plantear los criterios de inclusión y de exclusión de acuerdo al estudio.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue la determinación de los valores referenciales del conteo de leucocitos, eritrocitos y plaquetas, hematocrito y hemoglobina en personas de edades comprendidas entre 18 y 25 años atendidos en el laboratorio clínico de la Facultad de Ciencias desde el año 2008 al 2012. Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo utilizando metodología de selección a posteriori es decir; se contó con las historias clínicas de los individuos recopilando 3280 datos hematológicos los cuales se aplicó criterios de inclusión y exclusión obteniendo 2440 valores hematológicos de sujetos de ambos sexo.

Utilizando métodos estadísticos del total de población estudiada el 50,57% corresponde al sexo femenino y un 49,43% al sexo masculino. Para la determinación de los valores de referencia se aplicó métodos no paramétricos usando como límites inferior y superior los percentiles 2.5 y 97.5 respectivamente. Se encontraron diferencias significativas entre los valores de referencia calculados y los reportados por otras publicaciones en poblaciones a diferentes altitudes en todos los parámetros evaluados aplicando la prueba t de Student para una población frente a un valor de referencia.

Se determinó los valores referenciales teniendo como resultado: conteo de Leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$) es de 4,3 – 10,6 para hombres y de 4,1 – 10,5 para mujeres; conteo de Eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{l}$) es de 4,3 – 6,4 para hombres y 4,3 – 6,2 para mujeres; determinación de Hemoglobina (g/dl) es de 13,01 – 19 para hombres y 13,08 – 18,9 para mujeres;

determinación de Hematocrito (%) 38,1 – 55,9 para hombres y 38,1 – 55,7 para mujeres y en el conteo de Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$) es de 192 – 417 en hombre y 204 – 443,2 para mujeres.

Estos valores referenciales dan una visión a los profesionales médicos que atienden a este grupo de personas mejorando su estado de salud. Por lo expuesto es importante que cada Laboratorio Clínico determine los valores referenciales de acuerdo a la población que se atiende ya que existen diferencias de acuerdo a la ubicación geográfica.

Se recomienda que los valores de referencia sean revisados periódicamente cuando un laboratorio clínico cambie de procedimiento analítico o la implementación de nuevos equipos.

SUMMARY

The objective of this thesis was to determine the referential values of leukocytes, erythrocytes and platelets, hematocrit and hemoglobin from people between 18 and 25 years old attending in the clinical laboratory from the Science Faculty since 2008 to 2012. It was made a descriptive retrospective study using a selection methodology that means it was counted all the people medical records collecting 3280 hematological data. Inclusion and exclusion criteria were applied obtaining 2440 hematological values of genders male and female.

Using statistical methods from the total study population was: female 50.57% and 49.43% male. For the determination of the reference values it was applied nonparametric methods using lower and upper limits respectively 2.5 and 97.5 percentiles. Significant differences were found between the reference values calculated and reported by other publications in different altitudes populations in all the evaluated parameters using the Student t test for a population against a reference value.

It was determined the resulting reference values: leukocytes count ($\times 10^3/\mu\text{l}$) is from 4.3 to 10.6 4.1 to 10.5 for men and for women, erythrocyte count ($\times 10^6/\mu\text{l}$) is 4.3 to 6.4 for men and 4.3 to 6.2 for women; hemoglobin determination (g/dl) is 13.08 to 18.9 13.01 to 19 for men and for women, hematocrit determination (%) 38.1 to 55.9 for men and 38.1 to 55.7 for women and platelet counts ($\times 10^3/\mu\text{l}$) 192-417 is 204 to 443.2 in men and women.

These reference values provide a vision to the medical professionals who attend for this group of people improving their health status. It is important that each clinical laboratory determined reference values according to the population because there are differences according to geographical location.

It is recommended to review the reference values periodically, also when a clinical laboratory changes the analytical procedure or the implementation of new equipment.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **GALINDO, E.**, Estadística Métodos y Aplicaciones., 2da. ed., Prociencia., Quito – Ecuador., 2006., Pp. 42-44, 138-140, 291-292.
2. **HERNÁNDEZ, Y., ROMERO, M.**, Normas Básicas De Bioseguridad en los Laboratorios Clínicos Privados De Puerto Ordaz., s. ed., Bolívar-Venezuela., s. edt., 2010., Pp. 5-8.
3. **JAIME, J.**, Hematología de la sangre y sus enfermedades. 2da. ed., México D.F.-México., Mc Graw Hill., 2009., Pp. 17-21
4. **MARTÍN, A.**, Diagrama de cajas y bigotes., Llameria–Asturia., s. edt., 2010., Pp. 22-25.
5. **MASSAKAZU, N., Y OTROS.**, Extracción de sangre venosa Sociedad brasilera de patología clínica., 2da. ed., Brasilia-Brasil., s. edt., 2010., Pp. 18-19.

6. **MILTON, S.**, Estadística para la biología y Ciencias de la Salud., 2da. ed., Madrid-España., McGraw Hill., 1994., Pp 152-158.
7. **MURPHY, T., Y OTROS.**, Manejo de valores atípicos. Standardization news., 2da. ed., Washington-USA., s. edt., 2008., Pp. 20-25.
8. **NIÑO, H., BARRERA, L.**, Garantías de calidad en el Laboratorio Clínico., Panamericana., 1993., Pp. 263-271.
9. **RODRÍGUEZ, M., Y OTROS.**, Intervalos de confianza de la fórmula eritrocítica en habitantes adultos de la ciudad de Comitán de Domínguez., s. ed., Chiapas-México., s. edt., 2007., Pp. 270-275.
10. **SEMPERTEGUIO, F.**, La investigación en medicina: Reflexiones teóricas y fundamentos metodológicos., 2da. ed., Quito-Ecuador., Universitaria., 1999., Pp. 211-215.
11. **TRIOLA, M.**, Estadística elemental., 7ma. ed., México D.F.-México., Addison Wesley Longman., 2000., Pp. 577 – 580.
12. **DÍAZ, P., FERNÁNDEZ, P.**, Revista Médica., Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística., Bogotá-Colombia., s. edt., Vol. 8 No. 1., 2001., Pp. 268-274.

13. **ALMAGUER, C.,** Revista Médica., Interpretación clínica de la Biometría Hemática., Bogotá-Colombia., Medicina Universitaria., Vol. 5 No. 18., 2003., Pp. 35-40.
14. **CORTINA, L., LÓPEZ, M.,** Revista Cubana de Hematología., Inmunología y Hemoterapia., Habana- Cuba., s. edt., Vol. 16 No. 2., 2006., Pp. 15-17.
15. **COY, V., Y OTROS.,** Revista Médica., Características hematológicas de donantes de sangre de Bogotá., Bogotá-Colombia. Medicina Universitaria., Vol. 15 No. 1., 2007., Pp. 40-47.
16. **FERNÁNDEZ, L., Y OTROS.,** Revista Médica., Valores de referencia obtenidos con el autoanalizador Coulter Gen-S., Caracas-Venezuela., s. edt., Vol. 29 No. 1., 2006., Pp. 38-43.
17. **FONSECA, C.,** Revista Médica., Valores de Referencia de Hemoglobina y Hematocrito en una población laboral colombiana., Bogotá-Colombia., s. edt., Vol. 28 No. 2., 2001., Pp. 63-70.
18. **GARCIA, M., COMA, C.,** Revista Cubana., Características estructurales y funcionales de las plaquetas., Habana-Cuba., s. edt., Vol. 1 No. 2., 2000., Pp. 36-38.
19. **GIGLIO, M.,** Revista de divulgación científica y tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy., La formación de glóbulos Rojos., Buenos Aires-Argentina., s. edt., 2002., Vol. 1 No. 2., Pp. 23-25.

20. **GÓMEZ, P., Y OTROS.,** Revista Clínica., Valores de referencia de algunas pruebas bioquímica y hematológicas en personas adultas sanas del Hospital Central de la Fuerza Aérea del Perú., Lima-Perú., s. edt., 2003., Vol. 50 No. 1., Pp. 41–49.
21. **GÓMEZ, J., HUARACHI, A.,** Revista Mexicana de Patología Clínica., Valores de referencia de algunas pruebas bioquímicas y hematológicas., México D.F.-México., s edt., Vol. 50 No. 1., 2003., Pp. 42-44.
22. **MONTILLA, J.,** Revista Científica., Relevancia de los Tests estadísticos t y F en comparación de medias para muestras independientes., Caracas-Venezuela., s. edt., Vol. 9 No. 18., 2010., Pp. 4-14
23. **ORREGO, M.,** Revista Redalyc., Valores de Hematocrito y de Hemoglobina en deportistas evaluados en Instituto de deportes de Medellín., Medellín-Colombia., s. edt., Vol. 32 No. 4., 2007., Pp. 197–200.
24. **QUEVEDO, F.,** Revista Medwave., Normal distribución estadística aplicada a la Investigación en salud., Santiago de Chile-Chile., s. edt., Vol. 50 No. 33., 2011., Pp. 42-45.
25. **SÁENZ K., Y OTROS.,** Revista Patología Clínica., Valores de Referencia Hematológicos en población altoandina ecuatoriana., Quito-Ecuador., s. edt., Vol. 55 No.4., 2008., Pp. 207-215.

26. **TERRÉS, S. RAZO, M.,** Revista Mexicana., Fórmula Roja límites de referencia., México D.F.-México., s. edt., Vol. 38 No. 4., 2000., Pp. 26-29.
27. **DI BASIO, A.,** Análisis de variables hematológicas en nuestra población Hospitalaria., Carrera Medicina., Universidad Abierta Interamericana., Junín-Argentina., **TESIS.**, 2003., Pp. 4-11.
28. **SUÁREZ, M.,** Interaprendizaje de probabilidad y estadística inferencial con Excel, Winstats y Graph., Asociación de Facultades Ecuatoriana de Fisiología y Ciencias de la Educación., Universidad Técnica del Norte., Ibarra – Ecuador., **TESIS.**, 2012., Pp. 164–165.
29. **CARACTERÍSTICAS DE LA SANGRE.**
<http://es.scribd.com/doc/13316569/Caracteristicas-de-La-Sangre>
2012/11/28
30. **CÉLULAS Y ÓRGANOS DEL SISTEMA INMUNE.**
[http://www.inmunologiaenlinea.es/index.php?option=com_content&view=article&id=60:celulas-tipo-inmune&catid=38:celulas-y-organos&Itemid=126.](http://www.inmunologiaenlinea.es/index.php?option=com_content&view=article&id=60:celulas-tipo-inmune&catid=38:celulas-y-organos&Itemid=126)
2012/10/14

31. COMISIÓN VALORES DE REFERENCIA DE LA SEQC.

Concepto de valores de referencia en Química Clínica.

[http://www.seqc.es/es/Publicaciones/2/32/Comision de Valores de referencia - Documentos definitivos/](http://www.seqc.es/es/Publicaciones/2/32/Comision%20de%20Valores%20de%20referencia%20-%20Documentos%20definitivos/)

2012/10/16

32. COMPONENTES DE LA SANGRE: GLÓBULOS ROJOS, BLANCOS Y PLAQUETAS.

[http://suite101.net/article/componentes-de-la-sangre-globulos-rojos-blancos-y-plaquetas-a72496.](http://suite101.net/article/componentes-de-la-sangre-globulos-rojos-blancos-y-plaquetas-a72496)

2012/09/30

33. CONCEPTO Y FUNCIÓN DE LAS PLAQUETAS.

[http://emecolombia.foroactivo.com/t187-plaquetas-concepto-y-funcion.](http://emecolombia.foroactivo.com/t187-plaquetas-concepto-y-funcion)

2012/09/12.

34. CURSO DE ESTADÍSTICA PARA EL LABORATORIO CLÍNICO.

[http://www.seqc.es/es/Varios/7/21/Modulo_1: Estadistica descriptiva/](http://www.seqc.es/es/Varios/7/21/Modulo_1:_Estadistica_descriptiva/)

2013/01/23

35. DIAGRAMA DE CAJAS Y BIGOTES.

<http://jaramose.blogspot.com/2008/05/diagrama-de-cajas-o-box-plot-qu-es-y-qu.htm>

2013/02/10

36. ETAPA PREANALÍTICA, ANALÍTICA, POSTANALÍTICA.

<http://zunigamartinez.blogspot.com/2011/05/etapa-preanalitica-analitica.html>
2013/01/30

37. FASES ANALÍTICA Y POSTANALÍTICA.

<http://es.scribd.com/doc/56979783/Etapas-preanalitica-analitica-postanalitica>
2013/02/08

38. GLÓBULOS BLANCOS. Venezuela-Caracas.

http://www.medicinapreventiva.com.ve/laboratorio/globulos_blanco.htm
2012/10/10

39. MEDIDAS DE POSICIÓN Y DE DISPERSIÓN.

<http://www.slideshare.net/zoraidaperezs/guia-contenido2>
2013/01/28

40. PRUEBA t STUDENT

<http://virtual.uptc.edu.co/ova/estadistica/docs/libros/tstudent.pdf>
2013/02/24

41. PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS

http://www.uclm.es/actividades0708/cursos/estadistica/pdf/descargas/SPSS_PruebasNoParametricas.pdf
2012/11/20

42. SANGRE Y COMPONENTES. Universidad Nacional de Colombia.

<http://www.mvzunipaz.com/documentos/bloques/morfodinamica/charlas/sangre-y-sus-componentes.pdf>

2012/12/10

43. SANGRE Y HEMATOPOYESIS.

http://www.facmed.unam.mx/deptos/biocetis/PDF/Portal%20de%20Recurçosos%20en%20Linea/Presentaciones/SANGRE_HEMATOPOYESIS.pdf

2012/12/20

44. SANGRE Y SUS CARACTERÍSTICAS.

<http://suite101.net/article/14-de-junio-dia-mundial-del-donante-de-sangre>

2010/06/24

45. SANGRE Y HEMATOPOYESIS.

http://medicina.unmsm.edu.pe/publicaciones_online/LIBRO%20HISTOLOGIA/Sangre%20hematopoyesis%20capitulo%208.pdf

2012/12/16

46. TÉCNICA DE APRENDIZAJE ESTADÍSTICO. Prueba de Grubbs.

<http://tecaprendizajeest.wikispaces.com/file/view/Taller+1+Grupo+4.pdf>

2012/11/15.