



40
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

OBTENCION DE VALORES DE REFERENCIA
EN LA BIOMETRIA HEMATICA EN
PACIENTES EMBARAZADAS DE LA UMF No. 75
(CD. NEZAHUALCOYOTL)

297246

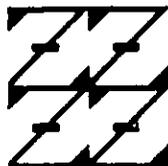
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

FILIBERTA LOPEZ MANCERA

U N A M
F E S
Z A R A G O Z A



LO MUEBANO E JE
DE NUESTRA REFLEXION

MEXICO, D.F.,

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA.**

F.E.S. ZARAGOZA.

Nombre del alumno(a):

FILIBERTA LOPEZ MANCERA.

Número de Cuenta:

8554191-9.

Número de Folio:

15711.

Carrera:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO.

Tema de Tesis:

**Título: Obtención de Valores de Referencia en la
Biometría Hemática de Pacientes Embarazadas de
la UMF No.75 (Cd. Netzahualcoyotl)**

DEDICATORIA:

A mi esposo que con su apoyo me ha ayudado a superarme.

A mis hijas Julia Irene y Martha Azucena.

A mis padres Hermilo y María de Jesús (aunque ya no esta presenta siempre estará conmigo), y a mis hermanos y hermanas.

Amelia

Esther

Arturo

Rodolfo

Graciela

Lidia

Abiatar

y

Tamara.

AGRADECIMIENTOS

AGRADEZCO

A mis maestros que con su ayuda, comprensión y apoyo hicieron posible que terminara una carrera.

A el Sr. Dr. Juan Sergio Rivera Escamilla Jefe de Educación e Investigación de la UMF No.75 del IMSS por su apoyo y ayuda en la realización de esta tesis.

A la Actuaría Margarita Cruz Millán Técnico Académico de la División de Ciencias Químico Biológicas por su amable colaboración en la edición y presentación de este trabajo.

A mis Sinodales:

Profa. QFB Araceli Garcia del Valle

Profa. QFB Georgina Ríos Olivera

Profa. QFB Patricia Vidal Millán

Prof. QFB José Oscar Gonzalez Moreno

Prof. QBP Joel Saucedo Constantino.

Por su tiempo, por sus opiniones, por su apoyo, por experiencia y por todo lo que han hecho para mejorar y obtener un buen trabajo.

Al QBP Joel Saucedo Constantino Jefe de Laboratorio de la UMF No.75 del IMSS por el apoyo brindado dentro de las instalaciones de la UMF para el mejor desarrollo de este trabajo

A todos ellos

Muchas Gracias.

INDICE

Introducción.....	1
Antecedentes.....	5
Fundamentos del Tema.....	28
Planteamiento del Problema.....	29
Objetivos.....	30
Hipótesis.....	30
Diagrama de Flujo.....	31
Criterios de Inclusión y Exclusión.....	32
Cuestionario sobre datos del Paciente.....	33
Diseño Experimental.....	36
VARIABLES.....	37
Análisis Estadístico.....	38
Metodología (resumen).....	40
Metodología (técnicas).....	41
Material y Equipo.....	43
Resultados (selección de individuos de referencia.....	44
Tabla de Resultados.....	45
Tablas de Datos.....	46
Gráficas.....	51
Discusión de Resultados.....	55
Conclusiones.....	57
Bibliografía.....	58
Anexo A (Técnicas).....	61
Anexo B (Preparación de Reactivos).....	67
Anexo C (Calibración de Material y Equipo).....	69
Abreviaturas.....	82

INTRODUCCIÓN.

FISIOLOGIA MATERNA DURANTE EL EMBARAZO.

La fisiología de la madre durante el embarazo cambia de diversas maneras. En primer lugar ocurren cambios notorios en sus órganos de la reproducción y sus mamas para garantizar el desarrollo del feto y brindarle nutrición al nacer; en segundo lugar se incrementan sus funciones metabólicas para ofrecer nutrición suficiente al feto en crecimiento y en tercer lugar la enorme producción de hormonas por la placenta durante el embarazo produce muchos efectos colaterales no relacionados directamente con la reproducción.(25).

NUTRICION EN EL EMBARAZO.

La nutrición en el embarazo afecta de manera importante la salud materna y el tamaño y bienestar del niño. Las mujeres embarazadas deben recibir asesoría nutricional al inicio de los cuidados prenatales y tener acceso a programas de alimentación complementaria si carecen de fondos para su nutrición adecuada. La asesoría debe resaltar la abstención de alcohol, tabaco y drogas. La cafeína y los edulcorantes artificiales sólo deben usarse en pequeñas cantidades . Hay que evitar " calorías vacías "y la dieta debe contener los siguientes alimentos: proteínas de origen animal y vegetal; leche y productos lácteos; cereales; frutas y verduras, en especial de hojas verdes.

El aumento de peso en el embarazo puede ser cuando menos de 11kilogramos, que incluyen el peso añadido del feto, la placenta, el líquido amniótico y los tejidos líquidos y maternos de la reproducción y el aumento de los depósitos de grasa y de la masa corporal magra. Los depósitos maternos de grasa son una reserva calórica para el embarazo y la lactancia, la restricción del peso en la gestación para evitar que los depósitos de grasa se formen puede afectar el desarrollo de otros líquidos fetales y maternos y no es aconsejable. La ingestión calórica adecuada ayuda a evitar lactantes de bajo peso al nacer.

No se requiere restricción rígida de sal. Si bien no es aconsejable que se consuman alimentos o bocadillos muy salados. El aumento de las necesidades de Calcio en el embarazo se satisface con leche, productos lácteos, verduras verdes, productos de soja, tortillas de maiz y suplementos de carbonato de calcio.

Las mayores necesidades de hierro y ácido fólico deben satisfacerse con alimentos y suplementos vitamínicos y minerales.(26).

ANEMIA:

Definición:

Se define como la disminución en el número de los glóbulos rojos o de la concentración de hemoglobina en los mismos por debajo de las cifras de referencia correspondiente a la edad y sexo del individuo (alrededor de 4.5 millones de glóbulos rojos en el adulto y 13.5 gramos por 100 mililitros de hemoglobina para las mujeres).

Toda anemia puede ser producto de cuatro causas fundamentales:

- a) Pérdida de sangre; correspondiente a las anemias hemorrágicas.
- b) Disminución en la producción de glóbulos rojos; pueden ser por carencias alimenticias.
- c) Destrucción incrementada de los glóbulos rojos; habitualmente congénito y hereditario ó por sustancias plasmáticas que actúan sobre el glóbulo rojo no patológico.
- d) Carencias vitamínicas y minerales causada por la falta de Hierro (Fe), Vitamina B 12 ácido fólico etc.

Los síntomas generales de la anemia son:

Palidez en la piel y mucosas, fatiga, irritabilidad y disnea.

ANEMIA EN EL EMBARAZO.

La anemia en el embarazo resulta de no cubrir adecuadamente los requerimientos de hierro y ácido fólico. El organismo materno en un principio compensa el déficit hemático con el volumen de plasma en un 50%, en tanto que el de glóbulos rojos se eleva a un 25%, originando hemodilución con valores bajos de hemoglobina y hematocrito. La anemia verdadera del embarazo suele definirse como un valor de hemoglobina menor de 11gr/dl o un hematocrito inferior a 33%. La anemia es muy común en el embarazo y origina fatiga, anorexia, disnea y edema.

Es aconsejable prevenirla con una nutrición óptima y suplementos de hierro y ácido fólico.

La anemia materna causa hipoxia fetal lo cual trae como consecuencia un estado de sufrimiento fetal crónico con baja eliminación urinaria de estrógeno, las complicaciones fetales son mayores cuanto mayor sea el grado de anemia materna, aumentando notablemente la mortalidad cuando la hemoglobina es menor a 4gr/dl.

Los datos ya mencionados nos muestran la llamada " anemia fisiológica del embarazo " en realidad representa una patología materna y fetal que puede traer consigo una elevación de la morbi-mortalidad en el binomio, por lo cual se debe tomar una actitud mas activa en el manejo de los valores hemáticos de la mujer embarazada.(25)(26).

La Organización Mundial de la Salud ha señalado " desde el punto de vista fisiológico, el embarazo no puede ser considerado como un simple crecimiento de un feto sobreañadido al metabolismo de la mujer . El desarrollo del feto se acompaña de cambios importantes en el metabolismo de la madre ".(25). Por esta razón se considera necesario efectuar un análisis minucioso de los cambios presentes en la Biometría Hemática durante el embarazo en la fisiología materna.

CAMBIOS HEMATOLOGICOS:

Los ajustes en el sistema hemático de la mujer son necesarios con base en las características creadas por el feto en la madre, el aporte de oxígeno y nutrientes tanto para el feto como para los tejidos hipertróficos de la madre y el control de la hemorragia durante el embarazo y el parto.(25).

GLOBULOS BLANCOS.

Durante el embarazo hay un aumento de glóbulos blancos a expensas de los polimorfonucleares neutrófilos ,este cambio esta en relación con el estímulo

estrogénico elevado en el embarazo, en valores que van desde 10,000 por milímetro cúbico a 15,000 por milímetro cúbico de glóbulos blancos.

De cualquier modo es necesario descartar la existencia de un proceso infeccioso para considerar normal esta Leucocitosis.(25). Este aumento se inicia alrededor de los 45 días de gestación, aumentando progresivamente hasta alcanzar el máximo en el 2do. y 3er.trimestre. Existe otro aumento al inicio del trabajo de parto y que después del día 6 de puerperio descienden a los valores de la mujer no embarazada. Es frecuente que aparezcan en la sangre materna formas jóvenes de leucocitos (mielocitos y metamielocitos) pero que desaparecen al final del embarazo.Junto con la elevación en el número de leucocitos se han observado cambios en la actividad metabólica de los mismos tales como; aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina del leucocito, aumento de la actividad de la mieloperóxidasa(importante para la destrucción intracelular de hongos y bacterias), mayor actividad del monofosfato de hexosa y la oxidación de la glucosa. Estos cambios en la actividad metabólica están encaminados a favorecer la actividad fagocítica de los leucocitos.(25).

GLOBULOS ROJOS

Durante el embarazo existe un estado de eritropoyesis acelerada con aumento del volumen total de glóbulos rojos y rápida incorporación de hierro. Hay aparición de formas jóvenes (reticulocitos) cuyos valores normales van de 0.5 al 1.5% de la semana 16,alcanzando el máximo de 2.0 al 6.0% entre las semanas 25 y 35.El mecanismo exacto de esta eritropoyesis acelerada no se conoce se cree que el lactógeno placentario actúa sobre la eritropoyetina que a su vez actúa en la diferenciación de la célula madre. Otros estímulos posibles para la producción de eritropoyetina son: la placenta(que actúa como fistula arteriovenosa), el aumento de renina y la disminución del riego sanguíneo en el riñón. En términos generales se considera que deben existir otros mecanismos de estimulación aparte de la hipoxia renal y tisular.(25)(26).Aunque no hay un acuerdo para determinar el grado de aumento de la masa de glóbulos rojos, se ha llegado a observar que el volumen normal fuera del embarazo (1,400ml) aumenta unos 50ml a las 20 semanas, 150ml.a las 30 semanas y 250ml en el embarazo a término. Este aumento en la masa de glóbulos rojos no esta en relación con la supervivencia de los mismos la cual no se modifica. La masa de los glóbulos rojos disminuye inmediatamente después del parto o consecuencia de la pérdida de sangre y además éste es seguido por hipoplasia eritroide temporal que lleva los valores a la normalidad en un tiempo promedio de tres semanas.El número de glóbulos rojos, la concentración de hemoglobina y el valor del hematocrito

disminuyen a expensas de un aumento del volumen plasmático que es mayor que el aumento de la masa globular.

El valor normal mas bajo de hemoglobina en la mujer no embarazada es de 12g dl(aceptado por la Organización Mundial de la Salud) y según el aumento del volumen plasmático y de glóbulos rojos el valor en el embarazo normal con aporte adecuado de hierro debe de ser en promedio. de 10.6g dl(aceptado por la Organización Mundial de la Salud).(25).

ANTECEDENTES.

VALORES DE REFERENCIA.

CONCEPTOS DE LA FEDERACION INTERNACIONAL DE QUIMICA CLINICA. (IFCC)

El panel de expertos en Teoría de los Valores de Referencia (EPTRV) fue creado en 1970 por el Comité de Estándares (al presente: Comité Científico) de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC). Su labor consistió en desarrollar una nomenclatura y procedimientos recomendados para la producción de los Valores de Referencia y su tratamiento, así como la presentación de los valores observados en relación con los datos de referencia.

En 1977 fue establecido por el Comité Internacional para Estandarización en Hematología (ICSH) el correspondiente Comité Permanente en Valores de Referencia (SCRV). Este grupo decidió adoptar para el campo de la hematología cuando fuese oportuno recomendaciones ya producidas por otras organizaciones científicas.

En 1984 se reunió el Comité Internacional sobre la Estandarización en Hematología para establecer la Teoría sobre los Valores de Referencia y conceptos de los mismos.

DEFINICIONES:

La nomenclatura de uso común para describir la relación entre los valores observados y los valores de referencia es frecuentemente ambigua, por lo que es necesario que sean adoptados para este propósito términos concisos y bien definidos. Los siguientes términos permiten una descripción menos ambigua, así como la discusión del tema de los Valores de Referencia.

Individuo de Referencia .- Es un individuo seleccionado para comparación usando un criterio definido.

Población de Referencia .- Consiste en todos los posibles individuos de referencia

Grupo Muestra de Referencia .- Es un número adecuado de individuos de referencia tomados para representar la población de referencia.

Valor de Referencia .- Es el valor obtenido por la observación ó medición de un tipo particular de magnitud o de un individuo perteneciente al grupo muestra de referencia.

Distribución de Referencia .- Es la distribución estadística de los valores de referencia.

Límite de Referencia .- Es deducido de la distribución de referencia y es usado para propósitos descriptivos.

Intervalo de Referencia .- Es el intervalo entre dos límites de referencia incluyendo éstos.

Valores observados .- Son los valores de un tipo particular de magnitud obtenidos por observación o medición y producidos para obtener una decisión médica. Pueden ser comparados con los valores de referencia, límites de referencia o intervalos de referencia.

PRODUCCION DE VALORES DE REFERENCIA

Para obtener los valores de referencia, primero debe definirse explícitamente el propósito y el uso que se pretende hacer de los valores de referencia que se plantea producir. Los procedimientos utilizados durante la producción de los valores de referencia deben relacionarse con el propósito de permitir la evaluación de los valores observados y obtenidos en una situación que debe estar más o menos bien definida. Los procedimientos para la producción de los valores de referencia deben relacionarse con este propósito y pueden ser dependiente del tipo de la magnitud medida.

La fuente y la magnitud de la variación patológica, la localización y descripción de otros conjuntos de valores de referencia relevantes obtenidos de varias clases clínicas y la relación costo-beneficio de la clínica y el laboratorio influirán en el procedimiento y el uso de los valores de referencia.

Los valores de referencia de un individuo o un grupo de individuos son significativos solo cuando el (los) individuo (s) y los métodos de producción de los valores son descritos adecuadamente. De esta manera es esencial que los factores sean especificados cuando se establezcan y usen los valores de referencia.

A continuación se especifican estos factores :

- 1.-Los criterios de inclusión y exclusión usados para definir la población de referencia.
- 2.-El criterio de partición; empleado para caracterizar sub-conjuntos de la población de referencia con respecto a la edad, sexo, grupos étnicos, factores genéticos y socioeconómicos, etc. (15).
- 3.-Las condiciones fisiológicas y ambientales bajo las cuales fue estudiada la población de referencia y fueron obtenidos los especímenes del grupo muestra de referencia (15) (16). Por ejemplo :
 - a) Fecha y Técnica para la obtención del espécimen.
 - b) Ingestión de Drogas y /o alimentos (incluyendo alcohol y anticonceptivos)
 - c) Posición del Paciente.
 - d) Estado de reposo previo.
 - e) Hábito de fumar.
 - f) Grado de Obesidad.
 - g) Embarazo o etapa del ciclo menstrual (14).
- 4.-El procedimiento de obtención del espécimen incluyendo la preparación del individuo, sitio de obtención (punción de la piel o sangre venosa) manipuleo y almacenamiento del espécimen (16).

- 5.-El método analítico empleado incluyendo detalles de su límite de detección, especificidad, precisión y exactitud con especial énfasis de las variaciones a largo plazo si la población o los individuos son estudiados a través de un periodo largo de tiempo (17).
- 6.-El método estadístico utilizado para la estimación de límites de referencia (18).

SELECCIÓN DE INDIVIDUOS DE REFERENCIA

Las condiciones bajo las cuales son obtenidos los Valores de Referencia deben estar completamente descritas y estandarizadas, de acuerdo al uso pretendido.

La descripción debe de incluir :

- 1.- Las características de los individuos de referencia y del grupo muestra de referencia tales como edad, sexo, masa corporal, factores genéticos, étnicos y socioeconómicos.
- 2.- Las condiciones fisiológicas y ambientales de los individuos de referencia y el momento de recolección del espécimen (16).
- 3.- El procedimiento para la obtención y tratamiento de las muestras (16).
- 4.- Los métodos analíticos y el procedimiento de control de calidad (17).

SELECCIÓN DE METODOS PARA VALORES DE REFERENCIA

La selección para la determinación de Valores de Referencia ha sido enfocada desde muchos ángulos, de acuerdo con las diferentes filosofías, necesidades y recursos disponibles.

Los métodos mas utilizados son :

La selección **A posteriori (retrospectiva)** de individuos de una gran muestra de población obtenida al azar o no al azar seguida por el agrupamiento y exclusión de acuerdo a las características del grupo muestra de referencia. El criterio de agrupamiento y exclusión diferirá dependiendo del tipo de magnitud a ser estudiada.

La selección **A priori (prospectiva)** de una población general usando criterios de exclusión y partición establecidos determinados previos estudios sobre la población u obtenidos de la literatura.

Una selección a posteriori de grandes grupos de muestras al azar es ideal para el estudio de los criterios de exclusión y partición; tales grupos muestra representan los elementos mas importantes de la población general.

Una selección a priori es mas conveniente, pero requiere conocer o fijar arbitrariamente los criterios de partición y exclusión .En la medida que haya mas datos disponibles a partir de la literatura este tipo de selección será mas representativa.

Para ambos tipos de selección el tamaño de los grupos muestra es determinado por naturaleza del criterio de exclusión y por el número de criterios de partición aplicado.

EXCLUSION DE INDIVIDUOS DEL GRUPO DE REFERENCIA

Muchos factores contribuyen a la variabilidad biológica y pueden causar la exclusión o la partición de los individuos de referencia. Además el uso que se hará de los valores de referencia determinará el criterio de exclusión de ser aplicado. Así es que, dependiendo del uso pretendido de los valores de referencia y del tipo de magnitud medida deberían ser aplicados algunos o todos los siguientes criterios de exclusión. De lo contrario, los valores medidos pueden mostrar desplazamientos y /o dispersión aumentada.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN Y PARTICIÓN

Para propósitos específicos los criterios descritos a continuación pueden considerarse como criterios de partición y exclusión para obtener valores de referencia de grupos muestra bien definidos, tales como bebedores, fumadores, mujeres que toman anticonceptivos, mujeres embarazadas, individuos obesos ,etc.

Estados Fisiopatológicos .- Los individuos que padecen enfermedades sistémicas y desordenes patológicos tales como falla renal, enfermedad cardíaca congestiva, enfermedades respiratorias crónicas, enfermedades hepáticas, síndromes de mala absorción y anemias nutricionales deberían ser excluidos mediante exámenes clínicos, investigación de laboratorio y cuestionarios, en el momento de la entrevista y de la obtención de la muestra.

Ingestión de Agentes activos farmacológicamente .-Deben excluirse los individuos que reciban agentes para tratamiento de enfermedades, así como terapia de suplemento o sustitución, o abuso de fármacos. La lista de agentes también incluye anticonceptivos orales, alcohol y tabaco. Los bebedores también deben ser excluidos ya que el alcoholismo induce a grandes disturbios metabólicos. Además, en vista de los efectos variables de una moderada ingesta de alcohol en los individuos, se recomienda excluir también a aquellos que hayan ingerido bebidas alcohólicas dentro de las 24 horas previas a la obtención de sangre (16).

Estados fisiológicos modificados.- Los individuos deben ser excluidos si presentan cualquiera de las condiciones siguientes :

- 1.-Ejercicio o actividad física.
- 2.-Desordenes mentales y/o psicológicos, tales como estrés o depresión.
- 3.-La ingestión de alimentos previa obtención de la sangre antes de tomar la muestra sanguínea puede modificar la concentración de los componentes del suero(16).
- 4.-Otros factores como la obesidad y la hipertensión, además de otras causas que aún no se han identificado.

PARTICION DE LOS GRUPOS DE REFERENCIA

La necesidad de fraccionar los grupos estudiados puede diferir con las cantidades medidas y con los usos pretendidos para los valores de referencia. Las subclasificaciones deben limitarse a los mismos, que exhiben diferencias en ubicación y dispersión.

Edad y sexo

La edad no debe necesariamente estar fraccionada mediante intervalos iguales. Los rangos de edad deben elegirse teniendo en cuenta la variación en periodos tales como pubertad y menopausia. La edad ósea, altura y masa corporal son mejores indicadores que la edad real para categorizar a los niños. Sexualmente también se pueden observar variaciones de acuerdo con las manifestaciones sexuales secundarias, la menopausia y andropausia.

Criterios genéticos ,socioeconómicos y ambientales.

- a) Para algunas cantidades puede ser significativa la subclasificación de acuerdo a orígenes étnicos, ubicación geográfica, o pigmentación de la piel.
- b) Los marcadores genéticos tales como los grupos sanguíneos (ABO) y los antígenos de histocompatibilidad (HLA), pueden ser mas adecuados.
- c) En algunos casos, la adaptación de los individuos a su entorno ecológico, así como su estatus socioeconómico, puede ser el origen de grandes diferencias.
- d) Los efectos de las dietas a largo plazo también deben considerarse separadamente de aquellos a corto plazo (16).

Criterios Biológicos .

La hemodinamia, la perfusión renal y el balance hormonal son diferentes cuando el sujeto se encuentra parado, sentado o recostado. Siempre se debe separar los grupos muestra ya sean hospitalarios o ambulantes.

Para algunas cantidades puede ser necesario considerar factores cronobiológicos como criterios de partición.

Estados de Referencia .

La noción de estado de referencia puede usarse para facilitar comparaciones de poblaciones y para estudiar transferibilidad de los datos de los valores de referencia. Para tales comparaciones, la influencia de las variaciones biológicas deben ser mínimas. La mayoría de los constituyentes están sujetos a la menor variación biológica entre las edades de 20 a 30 años, luego que han sido excluidos otros factores de variación. Para ser apto para el estado de referencia, los individuos deben tener 20 a 30 años de edad, masa corporal ideal, haber ayunado durante 10 horas, no tomar medicamentos, no consumir alcohol, no fumar, y no tener enfermedad aparente.

La obtención de valores de referencia de cualquier población de individuos requiere de la selección adecuada y a menudo la subclasificación. Esto solo puede ser hecho mediante cuidadosa descripción de las características de los individuos de referencia y mediante la aplicación de criterios claramente establecidos (15).

PREPARACION DEL INDIVIDUO PARA LA DETERMINACION DE VALORES DE REFERENCIA Y OBTENCION DE ESPECIMENES.

Un valor observado de una magnitud biológica proporciona información significativamente solamente cuando es comparado con valores de referencia del mismo tipo de magnitud. Las bases de comparación con otros valores del mismo tipo de magnitud obtenidos de la misma persona u obtenidos en individuos de referencia adecuados en donde todas las mediciones son susceptibles a ser realizadas con base de exactitud aceptable (14).

Muchos factores causan aumento en la variabilidad de los tipos biológicos de una magnitud. La estandarización de procedimientos preanalíticos, pueden eliminar o minimizar desviaciones y variabilidad a partir de estos factores. Esto reducirá el " ruido " biológico que por otra parte podría ocultar " señales " biológicas de la enfermedad, riesgo o efecto del tratamiento.

Estos factores pueden tener origen biológico o pueden estar relacionados con los procedimientos para la obtención de la muestra, manipuleo, tratamiento previo al análisis o al análisis en sí mismo.

Factores Biológicos.

Obviamente no es posible eliminar la influencia de los efectos del sexo, edad, raza y factores similares los cuales pueden ser usados como criterios de agrupamiento para permitir comparaciones relevantes (15).

Factores Metabólicos.

Entre los factores biológicos son de gran importancia aquellos que modifican el metabolismo de los lípidos, aminoácidos y carbohidratos. Las comidas o el ayuno prolongado pueden tener una influencia directa sobre la concentración de sustancia de muchos metabolitos. Las sustancias farmacológicamente activas también pueden afectar la concentración de metabolitos, tanto directa como indirectamente a través de acción hormonal (16).

La terapia de suplementación hormonal, tiene obviamente un profundo efecto sobre el estado metabólico del individuo de referencia.

Lo mismo se aplica a el uso de fármacos anticonceptivos. El estrés y el ejercicio físico a través de la medición por catecolaminas y corticosteroides modifican en variada extensión el metabolismo intermedio de lípidos y carbohidratos.

En el sitio de la punción venosa pueden aparecer algunos cambios metabólicos locales, si es que el torniquete se aplica mucho tiempo y el trabajo muscular es prolongado.

Factores Hemodinámicos.

Las concentraciones de muchas sustancias no difusibles y de ligandos unidos a proteínas tales como; calcio, bilirrubina, ácidos grasos, pueden aumentar posteriormente a un cambio de posición ya sea parado o acostado, ejercicio reciente o por presión hidrostática local como el torniquete.

La hemoperfusión disminuida del riñón también modifica la secreción hormonal.

Inducción de Enzimas.

La ingestión de sustancias farmacológicamente activas como el etanol y anticonvulsivos entre otros, pueden inducir la síntesis de enzimas hepáticas (γ -glutamyltransferasa) conduciendo a una concentración catalítica aumentada de estas enzimas en suero.

Daño celular.

El daño de los tejidos puede provocar escape de los componentes celulares a la corriente sanguínea por ejemplo en; ejercicio físico, masaje muscular, palpación de próstata. La punción venosa también puede causar daño celular como la fragilidad de los eritrocitos aumentada en personas de edad avanzada.

Otros factores.

Las sustancias que están ausentes en el suero, o bien aparecen en concentración baja pueden ser traídas de su comportamiento original a la corriente sanguínea como por ejemplo la fosfatasa alcalina después de una comida con grasa.

Factores metodológicos.

Estos factores se relacionan con la obtención de la muestra, manipulación y análisis de la misma.

Obtención de la muestra; durante la obtención de la muestra las interferencias pueden ser introducidas por:

- a) Las técnicas de obtención de la sangre; torniquete, vacío, etc.
- b) Equipamiento; aguja, recipiente, etc.

- c) Aditivos; anticoagulante, promotor de separación, etc.
- d) Orden de llenado de tubos (17).

Las interferencias pueden ser el resultado de :

- a) Daño a la célula que conduce a la liberación de los componentes intracelulares.
- b) Introducción de contaminantes como los metales pesados.
- c) Inhibición de sustancias activas (inhibición de enzimas por EDTA).

Manipulación de las muestras.

Las condiciones de separación, almacenamiento y transporte de la muestra pueden alterar muchas sustancias. El tratamiento de las muestras previo al análisis (coagulación, centrifugación, congelamiento, descongelamiento, mezcla, etc.), también puede ser un factor importante en la conservación de la muestra.

Fuentes de variabilidad y estandarización.

A menudo la situación clínica es diferente a aquella que prevalece cuando se producen los valores de referencia. Por lo tanto el médico necesita información adicional para la interpretación de resultados en relación con los valores de referencia establecidos obtenidos bajo condiciones estandarizadas.

Factor específico.

En ciertos tipos de magnitudes, el grado y la importancia de un factor de variabilidad puede hacer necesaria la producción de varios conjuntos de valores de referencia para sujetos acostados y parados o para individuos ambulantes y hospitalizados.

Factores múltiples.

Los valores de referencia podrían ser obtenidos bajo condiciones bien definidas y la información cuantitativa con respecto al efecto de varios factores como son; ejercicios, comidas, posición, etc. Así mismo deben interpretarse con respecto a condiciones pre-analíticas variables y a los métodos usados, así como a problemas inherentes, tales como interferencias. Sin embargo, son necesarios más estudios de tales efectos, especialmente con respecto a la amplitud y a la dirección de la conjunción de efectos de dos o más fuentes de variabilidad.

Recomendaciones generales.

En la selección de los individuos, la obtención y posterior manipuleo de las muestras durante la producción de los valores de referencia y en la de valores observados clínicamente deben de ser lo más similares posibles.

Un valor observado debe interpretarse tomando en consideración los efectos de cualquier desviación del procedimiento recomendado (17),(19).

Las desviaciones siempre deberían ser anotadas de modo que sus efectos puedan estudiarse sistemáticamente, así como ser tenidos en cuenta en su interpretación.

LISTA DE CONTROL

En la planificación y obtención de los valores de referencia a partir de individuos de referencia seleccionados apropiadamente, deben estandarizarse los siguientes factores.

A) Preparación del Individuo.

Dieta Previa:

Tipo (alimento habitual o dieta restringida).

Cantidad (puede ser habitual o restringida, aumentada o suplementada).

Duración (día previo, semana previa, etc.).

Ayuno o no ayuno:

Duración.- puede ser horas, hasta una noche (o máximo 10 horas).

Alcance .- solamente alimentos, tanto alimentos como bebidas.

Abstinencia de:

Sustancias activas farmacológicamente (alcohol, bebidas que contengan cafeína, tabaco, etc.).

Duración .- pueden ser horas, días, semanas previas a la toma de muestra.

Régimen de Fármacos:

Tipo de Fármaco.

Vía de administración del fármaco.

Cantidad y tiempo.

Duración.

Tiempo entre la última dosis y la obtención de la muestra.

Sincronización en relación a los ritmos biológicos :

- Duración .- días.
- Sueño (duración y tiempo).
- Comidas (tiempo).
- Ciclo reproductivo.

Actividad física.

- A largo plazo (ejercicio físico y actividad relacionada al trabajo).
- A corto plazo (caminar antes de la obtención de la muestra).

Periodo de descanso (previo a la obtención de muestra).

- Posición (sentado, acostado).
- Duración de la Toma (minutos, horas).

Estrés.

- Estrés Emocional.
- Desmayo previo o durante la obtención de la muestra.

B) Obtención de la Muestra :

Condiciones ambientales durante la obtención.

- Temperatura.
- Humedad relativa.
- Altura.

Tiempo.

- Momento del día.
- Relativo (con respecto al sueño, a las comidas, u otros factores exógenos).
- Estación del año.

Posición del Cuerpo.

- General (parado, acostado, sentado).
- Posición relativa al sitio de obtención de la muestra.

Tipo de Muestra.

- Sangre Arterial.
- Sangre venosa.
- Sangre del lecho capilar (Sangre de punción en el pie).
- Otros tipos.

Sitio de Obtención.

- Dependiendo del tipo de muestra.

Preparación del sitio de obtención.

- Desinfectantes.

Promoción del Flujo.

- Calentamiento o fármacos locales.

Torniquete.(duración y presión aplicada).

Trabajo muscular de la mano(bombeo).

Equipamiento.

Dispositivo de punción.(tipo, dimensiones, forma y material).

Recipiente (Tubo capilar, tubo largo de vidrio, plástico u otro tipo de material).

Tubo de vacío o tubo sin vacío.

Aditivos (anticoagulante, conservador, silicona u otro tipo de promotor de la separación, etc.).

Técnica.

Punción

Recolección (ya sea por flujo libre o por succión).

Qué hacer en caso de fallar.

Sitios de Recolección Alternativos.

Duración del período de descanso entre los intentos.

C)Manipuleo de la Muestra.

Transporte.

Envase, conservadores.

Temperatura.

Duración.

Coagulación.

Tiempo.

Temperatura.

Agente promotor.

Separación de sueros o plasma y elementos particulados.

Fuerza y tiempo de centrifugación.

Temperatura.

D)Almacenamiento.

Envase.

Conservador, si lo hay.

Temperatura (especificada en grados Celsius).

Duración.

Preparación para el análisis.

Descongelamiento.

Mezclados (16).

CONTROL DE LA VARIACION ANALITICA DE LA OBTENCION, TRANFERENCIA Y APLICACIÓN DE LOS VALORES DE REFERENCIA.

Es importante establecer y mantener un conocimiento realista de la contribución que pueden tener sobre la producción de los valores de referencia, la imprecisión y la inexactitud analítica. La variación biológica es un factor importante para tener en consideración cuando se determinan la inexactitud y la imprecisión tolerables; de esta manera deben realizarse esfuerzos para establecer el nivel de la imprecisión e inexactitud aceptables para los usos que se pretenden de los valores de referencia. Para eliminar la variabilidad biológica se establecen las características propias de la población a estudiar.

Necesidad de Métodos confiables.

El método incluyendo los reactivos y el equipo usado, debe ser descrito con suficiente detalle, tal que los analistas suficientemente entrenados lo procesen todos de la misma manera y obtengan los resultados reproducibles (15).

El desarrollo de valores de referencia es una tarea costosa que lleva mucho tiempo. Como resultado, es esencial que los valores puedan tener aplicación en un período de tiempo largo.

En la producción de los valores de referencia es deseable mantener la variación analítica de aproximadamente la misma magnitud que la obtenida por análisis de rutina de buena calidad. Por lo tanto, se recomienda que las mediciones para la producción de valores de referencia sean hechas bajo condiciones de rutina realistas pero estrictamente controladas, incluyendo la imprecisión de cada día.

La complejidad, el costo y el esfuerzo de establecer valores de referencia son a menudo comparados con el problema de obtener un número adecuado de especímenes para la producción de los valores de referencia.

Como consecuencia, a menudo es necesario transferir los valores de referencia de una institución a otra. En este caso es necesario obtener resultados comparables para los laboratorios involucrados. Esto puede conseguirse mediante la evaluación de la exactitud y precisión del método analítico en uso, a través de estudios interlaboratoriales a largo plazo.

PROCEDIMIENTOS DE MONITOREO.

Pautas en los procedimientos de C.C. (Control de Calidad) :

Hay numerosos procedimientos de Control de Calidad que pueden monitorear la exactitud y la precisión de los análisis y asegurar la transferibilidad de los datos. Se supone que los laboratorios que llevan acabo este trabajo tendrán materiales seguros y facilidades disponibles que probablemente estarán en uso de rutina. Sin embargo, es esencial que sean reunidas las siguientes condiciones.

Material de Calibración.

El material utilizado debe ser calibrado tomando en cuenta la presencia de componentes no específicos que pueden influir en la lectura.

Las bases para el cálculo deben ser definidas y desglosadas, por ejemplo la absorbancia.

Los especímenes de control convenientes deben ser o estar disponibles comercialmente o ser preparados por el analista. Los materiales de control deben ser validados para asegurar el monitoreo correcto de la exactitud, precisión y confianza del método.

Recomendaciones para un Esquema de Laboratorio Múltiple..

Si en este programa participan varios laboratorios en la producción de valores de referencia debe ser primero evaluada la comparabilidad de los resultados de estos laboratorios. Si esta no es la adecuada deben ser realizados los cambios apropiados en el sistema analítico. Siempre que estén involucrados varios laboratorios debe haber chequeos progresivos de comparabilidad, mientras sean producidos los valores de referencia.

Antes de analizar los especímenes de los individuos de referencia los laboratorios deberán evaluar la comparabilidad de sus resultados analíticos mediante el uso del mismo material de control. Cuando lo permita la estabilidad del componente, es conveniente corroborar la comparabilidad mediante el intercambio de especímenes humanos nativos entre los laboratorios.

Si los datos del estudio comparativo muestran que el resultado tiene un efecto no significativo sobre el tamaño del intervalo de referencia, entonces puede hacerse un estudio multilaboratorial.

Transferencia de los Datos de Referencia.

La diversidad de los procedimientos analíticos ha complicado el establecimiento de los valores de referencia transferibles. Por lo tanto, el empleo de malos procedimientos de control de calidad mencionados antes junto con la metodología documentada y bien aplicada es un prerrequisito para la transferencia de datos de valores de referencia de un laboratorio a otro; así como también esta involucrada la comparabilidad de las poblaciones.

Sin embargo, es importante darse cuenta de que el entorno clínico es dinámico y que los valores de referencia y los datos asociados pueden no ser válidos o ser inadecuados a lo largo de un período de tiempo. A efectos de prevenir que los valores de referencia una vez obtenidos publicados y establecidos se vuelvan obsoletos, es imperativo asegurar lo siguiente:

- a) Monitorear cambios en la exactitud y precisión del método.
- b) Verificar la relevancia de los datos de los valores de referencia en los individuos y/o grupos que están siendo evaluados.
- c) Almacenar los datos de los valores de referencia originales.
- d) Cuando sea necesario actualizar la información de los valores de referencia.

Control de Exactitud.

Es esencial detectar cambios en la curva de calibración a través del tiempo y monitorear la especificidad del método analítico.

Esto requiere especímenes de control exactos, a niveles de concentración normales y patológicos del tipo de magnitud para la cual se producen los valores de referencia. Estos especímenes de control deberán contener clases de matrices diferentes y también otros componentes que pudieran alterar el análisis. Si las diferentes concentraciones del componente "blanco" son obtenidas de la misma matriz o por el agregado de diferentes cantidades del espécimen durante la reconstitución, la exactitud y la precisión no son adecuadamente monitoreadas.

Control de Precisión.

Para asegurarse de la precisión requerida sea mantenida y para detectar tendencias, se recomienda que sea incluido un número adecuado de especímenes de control en posiciones fijas o al azar en cada corrida analítica.

El control de la precisión ideal debería ser empleado a diferentes niveles de concentración. Si solo se usa un control de precisión debería coincidir con el nivel de discriminación clínica (17).

TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS VALORES DE REFERENCIA

Una vez que han sido recolectados adecuadamente los valores de referencia por los métodos recomendados por la Federación Internacional de Química Clínica, se debe hacer la agrupación de datos de manera tal que se puedan trabajar adecuadamente para reducir la variación en subclases de acuerdo a edad, sexo, etc. Por lo tanto entre menor sea la variación de los mismos se obtendrán intervalos mas angostos y mas sensibles para el diagnóstico oportuno de enfermedades.

Las pruebas estadísticas son herramientas necesarias para lograr la Obtención de los Valores de Referencia, entre ellas se encuentra la "t" de Student, Análisis de Varianza; utilizadas en el establecimiento de diferencias significativas en la localización o prueba de "F" de Fisher, test de Bartlett, etc. que pueden indicar necesidad de subagrupar el conjunto de valores (15).

Se debe examinar la distribución de los valores de referencia recopilados trazando gráficas de los valores en un histograma. Debe buscarse el sesgo, la curtosis, los valores marginales y la bi o polimodalidad.

La presencia de bi/polimodalidad, excesivo sesgo u otras peculiaridades de la distribución pueden indicar que es mixta. Entonces puede ser necesario evaluar nuevamente los criterios de inclusión y exclusión usados para definir la población de referencia (15) (16). La inspección visual es también un resguardo seguro contra la aplicación errónea de métodos estadísticos, o la equívoca interpretación de sus conclusiones.

Valores Aberrantes y Valores Marginales.

Un valor aberrante puede ser originado en una gran desviación del procedimiento prescrito para la producción de los valores de referencia. Algunos valores aberrantes pueden ser detectados como valores marginales que se ubican inesperadamente lejos de la mayoría de los otros valores de referencia.

La inspección visual de un histograma es un método confiable para la identificación de posibles valores marginales.

Los valores identificados como posibles marginales no deben ser descartados. La inclusión de la preparación y la recolección de muestras de individuos a los que éstos valores pertenecen, deberán reevaluarse (15) (16). Los valores aberrantes deberían ser corregidos, si fuera posible, o si no descartados. Si no puede hallarse una causa para los valores extremos, las decisiones acerca de su inclusión o eliminación deberían ser tomadas de acuerdo con el mejor criterio (18).

METODO SELECCIONADO PARA LA ESTIMACION DE LIMITES DE REFERENCIA .

Cuando la muestra de los valores de referencia o una subclase de ella (14) consta de un número suficiente de valores (17) se puede elegir estimar los fractiles ya sea por un método Paramétrico o por un método No Paramétrico (15), (19).

Método Paramétrico.

El método paramétrico para estimar los límites de referencia supone la distribución que los valores de referencia es próxima a la distribución gaussiana.

Método No Paramétrico.

Hay varios métodos no paramétricos para estimar un fractil (percentil), el método basado en el rango es confiable y muy simple de aplicar y el también permite la estimación del intervalo de confianza para los fractiles. Este método se utiliza. cuando la distribución es no gaussiana.

Pruebas de Bondad de Ajuste.

Otro método para decidir si la distribución es o no gaussiana se basa en trazar la gráfica de datos, llamada también Prueba de Bondad de Ajuste, la cual tiene las siguientes hipótesis:

Hipótesis Nula: No hay diferencia significativa ($p > 0.05$) entre la distribución de referencia y la distribución gaussiana.

Hipótesis Alterna: Las diferencias entre la distribución gaussiana y la de referencia son significativas ($p < 0.05$).

Si se rechaza la hipótesis nula, entonces la distribución de referencia es considerada no gaussiana y la estimación de los límites de referencia se realiza por el método no paramétrico y si se rechaza la hipótesis alterna entonces se considera que la distribución es gaussiana y se utiliza el método paramétrico.

La significación estadística de la diferencia de formas entre la distribución de los valores de referencia y la distribución gaussiana puede ser probada por la Prueba de Chi- cuadrada. Las pruebas de bondad de ajuste descritas mas adelante son mas confiables que la clásica prueba de Chi- cuadrada.

Prueba de Kolmogorov -Smirnov.

Es una prueba estadística simple de realizar y es considerada como la analogía matemática del procedimiento gráfico, en otras palabras es una alternativa para probar que una muestra proviene de una distribución continua (Normal). Esta prueba se basa en la comparación entre la distribución acumulada de una distribución teórica con la función acumulada de muestra.

$$D_{\max} = \max(D^+, D^-)$$

Prueba de Anderson -Darling

Es una prueba aún mas potente (es decir, tiene mayor probabilidad de rechazar la hipótesis de forma gaussiana cuando la hipótesis es falsa), pero la estimación de su estadístico de prueba A necesita mas cálculo que el necesario para D_{\max} .

El estadístico de prueba A^2 es calculado como sigue ($i = 1, \dots, N$)

$$A = -N - \left[(2_i - 1) \left[\ln(w_i) + \ln(1 - w_{N+1-(i)}) \right] \right] \frac{1}{N}$$

Corrección por Redondeo de Datos.

Los valores de referencia son a menudo redondeados al dígito significativo más próximo. Las dos pruebas descritas más arriba no suponen ningún redondeo de datos. Ellas se tornan más confiables cuando corrigen por redondeo. Se han sugerido dos métodos.

- 1) Se puede adicionar ruido al azar a cada valor de referencia antes de realizar las pruebas.

$$X_i + S(ir - 0.5)$$

donde i es igual a $1, \dots, N$, S es el tamaño del escalón de la escala de valores y el valor ri es un número al azar entre 0 y 1.

- 2) La prueba de Kolmogorov -Smirnov puede ser efectuada sobre 2^N valores obtenidos por adición y sustracción de $S/2$ a cada valor de referencia X_i .

Coefficientes de Sesgo y Curtosis.

Los coeficientes de sesgo g_s y curtosis g_k son medidas estadísticas de la asimetría y de la agudeza de la distribución respectivamente. Sus valores muestran un tipo de desviación respecto a la distribución gaussiana:

$g_s < 0$; sesgo negativo (cola izquierda demasiado larga).

$g_s > 0$; sesgo positivo (cola derecha demasiado larga).

$g_k < 0$; curtosis negativa(curva demasiado plana en la parte central y con colas cortas comparada con la gaussiana).

$g_k > 0$; curtosis positiva(curva mas aguda en la parte central y con colas largas comparadas con la gaussiana).

TRANSFORMACIÓN DE DATOS

Cuando la distribución de los valores de referencia es no gaussiana una transformación de estos valores por medio de funciones matemáticas puede generar una distribución de valores transformados que tiene forma aproximadamente gaussiana.

Las distribuciones de cantidades biológicas son a menudo asimétricas, siendo la anormalidad mas frecuente un sesgo positivo.

En algunos casos no gaussianos, una curtosis positiva es el único problema. Muy frecuentemente se observa que las distribuciones transformadas para simetría necesitan corrección para curtosis no gaussiana remanente.

El ajuste completo para aproximar a una distribución gaussiana requiere entonces frecuentemente dos pasos o etapas de transformación; corrección para sesgo seguida por corrección para curtosis remanente no gaussiana (19).

La transformación de los datos debe ser guiado por los Coeficientes de Sesgo y Curtosis. La distribución final transformada debe ser evaluada por una Prueba de Bondad de Ajuste. Las estimaciones paramétricas de los límites de referencia son confiables solo si esta prueba muestra que la distribución no difiere significativamente de la forma gaussiana (18) (19).

FUNDAMENTACION DEL TEMA.

Los valores de referencia empleados en poblaciones completamente diferentes a la cual nosotros pertenecemos es un problema común en nuestro medio para realizar una evaluación clínica de esta población. Por lo que es necesario y/o recomendable el diseño de trabajos de investigación para la obtención de los valores de referencia de esta población, puesto que como ya se dijo es muy diferente a las otras poblaciones tomando en cuenta su nivel socioeconómico, cultural, vida sobre el nivel del mar, etc. Además los valores de referencia que se utilizan son obtenidos para individuos de poblaciones sanas y sin ninguna complicación; por lo que nace la inquietud de obtener los valores de referencia en pacientes femeninos en estado de Gestación, para los cuales no se cuenta con los valores de referencia requeridos respecto a los parámetros de la Biometría Hemática (14) (1).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El laboratorio clínico actualmente tiene un papel muy importante en el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de un número cada vez mayor de padecimientos en los que se alteran los diversos componentes de la sangre y los fluidos biológicos que repercuten en resumen en el estado de salud del paciente. Los resultados que emite el laboratorio son solo útiles si se garantiza su confiabilidad y si se cuenta con marcos de comparación que permiten su adecuada interpretación. La confiabilidad de los resultados solo se logra con la estructuración de un programa integral de Control de Calidad que asegure su reproducibilidad y exactitud. El marco de comparación que hace posible la interpretación de los resultados lo constituyen los valores de referencia, los cuales deben de ser obtenidos bajo las mas estrictas normas de control establecidas en poblaciones con características semejantes a la que pertenece el paciente(14) (7).

El presente estudio se realiza con la finalidad de establecer los valores de referencia de los principales parámetros hematológicos medidos en el laboratorio de rutina de nuestro medio considerando los métodos analíticos habituales en el laboratorio y las características predominantes en la población a estudiar. De esta manera será posible saber o determinar el grado de variabilidad que se presenta en esta población así como la influencia de los factores culturales, sociales y económicos.

OBJETIVOS

- Obtención de los Valores de Referencia para la Biometría Hemática (rutina) para las pacientes embarazadas de la población, adscrita a la UMF No.75.
- Corroborar como estos valores varían o están influenciados por varios factores (Nivel socioeconómico, cultural, vida sobre el nivel del mar, tiempo de gestación, etc.).
- Se obtendrán los valores de Referencia dentro del periodo de gestación comprendido entre la semana 8 y la semana 28.

HIPOTESIS NULA

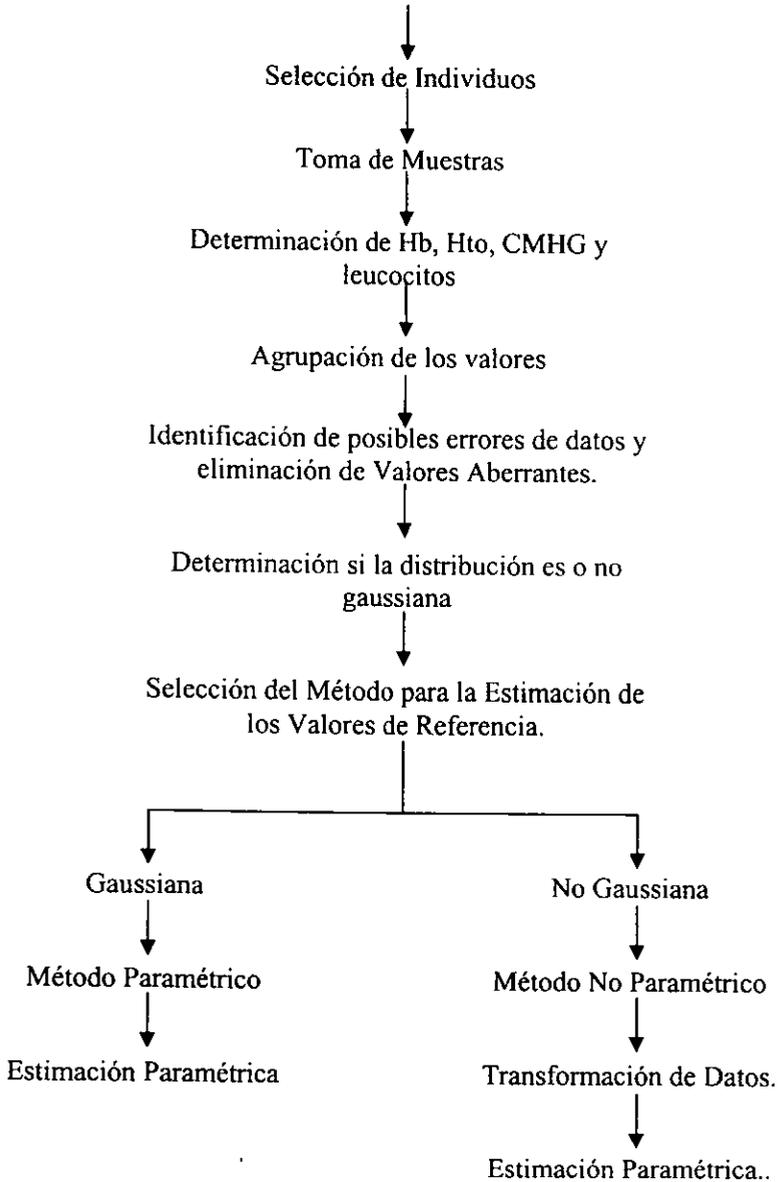
- Los valores de referencia son iguales en todas las poblaciones independientemente de los factores culturales, económicos y sociales, y pueden aplicarse indistintamente a las personas embarazadas o no embarazadas.

HIPOTESIS ALTERNA :

- Los valores de referencia varían y están directamente influenciados por los factores culturales, sociales, ambientales y son diferentes para cada población y para las personas en estado de gestación.

DIAGRAMA DE FLUJO.

PROCEDIMIENTO PARA ESTIMAR LOS LIMITES DE REFERENCIA.



CRITERIOS DE INCLUSION Y CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

CRITERIOS DE INCLUSION:

- Edad; mujeres en edad fértil (16 a 35 años).
- Pacientes sin patologías crónicas.
- Ayuno previo (de 8 a 10 horas).
- No fumadoras.
- No alcohólicas.
- Pacientes sin ningún tipo de tratamiento.
- Mujeres Embarazadas (de 2 a 7 meses de gestación).
- Derechohabientes de la UMF No.75.
- Pacientes con alimentación adecuada.
- Posición en la toma de muestra; sentada.

CRITERIOS DE EXCLUSION.

- Diabéticas.
- Hipertensas.
- Estados Patológicos Crónicos.
- Personas con Tratamientos Prolongados.
- Fumadoras.
- Alcohólicas.
- Personas que no sean derechohabientes de la UMF No.75 IMSS.

Datos del Paciente

Nombre: Estado civil.....
 Dirección :CalleNo..... Colonia
 No. de Afiliación.....No. de Consultorio.....
 Turno Nombre de su Médico Familiar.....
 Unidad de Medicina Familiar

Historia sobre embarazos

- 1.- ¿ a qué edad tuvo usted su primer embarazo? años
- 2.- ¿ a qué edad tuvo usted su primer parto? años
- 3.- ¿ cuál es el tiempo que lleva en su actual embarazo? meses
- 4.- ¿ cuántos embarazos ha tenido? embarazos
- 5.- ¿ cuántos partos ha tenido? partos
- 6.- ¿ cuantos abortos ha tenido?..... abortos
- 7.- ¿ el tiempo que paso entre sus embarazos fue de:
 1ro . y 2do. Embarazo..... 2do. y 3ro..... 3ro. Y 4to.....
 4to. y 5to
- 8.- ¿ cuántos hijos vivos o muertos ha tenido?..... hijos.

Historia clínica

Enfermedades:

Marque con una X en el paréntesis sí o no ha padecido algunas de las enfermedades que se mencionan abajo:

	si	no		si	no
1.- Anemia	()	()	6.- Hepatitis	()	()
2.- Parasitosis	()	()	7.- Gonorrea	()	()
3.- Diabetes	()	()	8.- Dismenorrea	()	()
4.- Tifoidea	()	()	9.- Ninguna de las anteriores	()	()
5.- Sífilis	()	()	10.- Otra (s) ¿ cual (es) ?		

Hábitos alimenticios

Marque con una X Si o No consume usted los productos que aparecen abajo y cada cuando lo hace.

	Si	No	Diario	Cada tercer día	1 vez a la semana
1.- Carne de Res	()	()	()	()	()
2.- Pollo	()	()	()	()	()
3.-Pescado	()	()	()	()	()
4.-Huevo	()	()	()	()	()

- | | | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|
| 5.-Frijol | () | () | () | () | () |
| 6.-Arroz | () | () | () | () | () |
| 7.-Frutas | () | () | () | () | () |
| 8.-Pan | () | () | () | () | () |
| 9.-Frituras . | () | () | () | () | () |
| 10.- Lentejas | () | () | () | () | () |
| 11.- Refrescos | () | () | () | () | () |
| 12.- Golosinas | () | () | () | () | () |
| 13.- Habas | () | () | () | () | () |
| 14.- Soya | () | () | () | () | () |
| 15.- Verduras Verdes | () | () | () | () | () |
| 16.- Leche | () | () | () | () | () |
| 17.- Tortillas | () | () | () | () | () |
| 18.- Antojitos (sopes, quesadillas, pambazos, tacos, tortas, tostadas, etc.). | () | () | () | () | () |
- 19.-El número de comidas que hace al día es decomidas.

Malos Hábitos.

- 1.- ¿Consume usted alcohol ? si () no()
- 2.-Si usted consume alcohol. ¿cuántas veces lo hace ?
..... a la semana al mesal año .
- 3.- ¿Consume usted tabaco ? si.() no()
- 4.- Si usted consume tabaco. ¿Cuántos cigarros consume al día?
..... cigarros.

Nivel Socioeconómico .

Coloque una X ó conteste según corresponda.

- 1.-¿Cuántos hijos tiene ? hijos.
- 2.-¿Trabaja usted ? si () no ()
- 3.-¿Trabaja su cónyuge si.() no ()
- 4.-Si usted trabaja su salario mensual es de pesos
- 5.-¿Tiene otra entrada económica en su hogar ? si() no()
- 6.-Si tiene otra entrada económica. ¿Cuánto recibe al mes?.... pesos.
- 7.- La casa donde usted vive es:
a) propia b) rentada.
- 8.- La casa donde vive tiene techo de:
a)concreto (losa) b)lámina
- 9.-¿Tiene usted automóvil ? si() no()

10.- Los servicios que tiene su casa son:

Luz Eléctrica	si ()	no ()
Teléfono	si ()	no ()
Agua potable	si ()	no ()
Pavimentación	si ()	no ()
Drenaje	si ()	no ()

11.- Usted estudió hasta ?(marque con una X)

a) Primaria Terminada.

b) Secundaria Terminada.

c) Bachillerato Terminado (Preparatoria, C C H, Vocacional, etc.)

d) Carrera Técnica Terminada.

e) Licenciatura Terminada (UNAM, IPN, etc.)

12.- ¿Cuál es su ocupación ? (subraye)

a) Ama de casa b) Profesora c) Comerciante.

d) Empleada e) Obrera f) Profesionista.

DISEÑO EXPERIMENTAL.

POBLACION:

Para esta investigación se contó con una población de 70 mujeres embarazadas de entre 2 y 7 meses de gestación. Sana, no alcohólicas, no fumadoras, de entre 16 y 35 años de edad, seleccionadas de acuerdo a los criterios de inclusión.

TIPO DE INVESTIGACION.

Observacional.:

Las variables no se manipulan y solo se describe el fenómeno (inferencia del investigador en las variables).

Prospectivo

La información del estudio se plantea y se obtiene durante el desarrollo de la investigación (periodo en que se capta la investigación).

Transversal

La medición de las variables se realiza una sola vez u ocasión. (Evolución del fenómeno estudiado).

Descriptivo.

Solo se cuenta con una población, la cual se pretende describir en función de un grupo de variables.

VARIABLES

DEPENDIENTES	INDEPENDIENTES
Concentración de Hemoglobina	Tiempo(meses) de gestación.
Hematócrito	Edad
CMHG	Altitud
Leucocitos	Alimentación
	Ambiente

VALORES DE REFERENCIA UTILIZADOS EN LA UMF No.75 IMSS.

En mujeres en edad fértil No embarazadas a 2240 metros sobre el nivel del mar (23).

HEMOGLOBINA : 13.5 - 17.0g por 100 ml.

HEMATOCRITO : 40.0 - 52.0%

CONCENTRACION MEDIA DE HEMOGLOBINA GLOBULAR:

(CMHG): = 32 - 36%

LEUCOCITOS : 5,000 - 10,000 por mm³ (8) (13) (21) (23).

ANALISIS ESTADISTICO.

Hipótesis Nula:

Los valores de referencia son iguales en todas las poblaciones independientemente de los factores culturales, económicos y sociales y pueden aplicarse indistintamente a las personas embarazadas y No embarazadas.

Hipótesis Alterna:

Los Valores de Referencia varían y están directamente influenciados por los factores culturales, sociales, ambientales y son diferentes para cada población y para las personas en estado de gestación.

Tipo de Prueba:

La prueba que se utiliza es bilateral de dos colas. Tratando de demostrar que H_0 es verdadera.

$$H_0: X = \mu$$

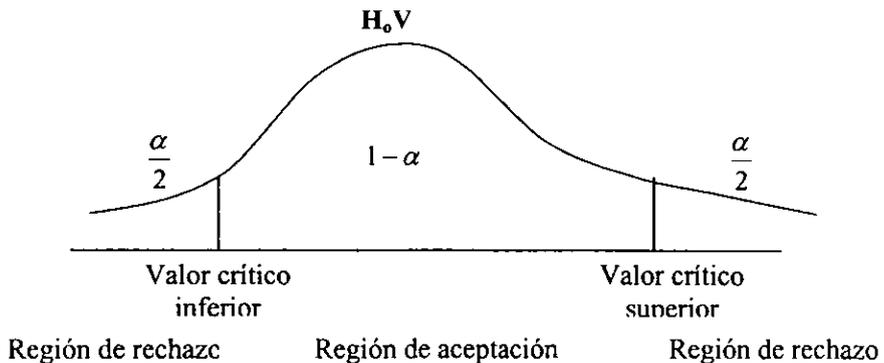
$$H_a: X \neq \mu$$

Nivel de Significación: = 0.01 con una confianza del 0.99%.

Prueba Estadística:

La estadística que se utiliza por ser distribución normal es Inferencial o Paramétrica.

Región Crítica:



Cálculo del Estadístico de Prueba.

$$Z = \frac{x - \mu_0}{\frac{\sigma}{n}}$$

Discusión y Conclusión.

Se acepta H_0 si los Valores de Referencia se encuentran dentro de la región de aceptación y de ahí se realizará la conclusión.

Población.

La cantidad de mujeres embarazadas seleccionadas para esta investigación fue de 70 pacientes que acuden durante el mes de Marzo del año de 1998.

Las pacientes seleccionadas presentaban un embarazo de entre 2 a 7 meses de gestación y son derechohabientes de la UMF No.75 alimentadas adecuadamente y no presentan ningún tipo de enfermedad crónica.

Estadística.

Siguiendo las recomendaciones de la IFCC se estudiaron la distribución de frecuencias de cada uno de los componentes en estudio. Se realizaron las pruebas de Bondad de Ajuste a la distribución gaussiana de hemoglobina, hematocrito, concentración de hemoglobina globular y leucocitos. Si la distribución resulta de tipo gaussiana se establecerán los Valores de Referencia mediante el método Paramétrico, si no lo es, se utilizará el método No Paramétrico.

METODOLOGIA

Resumen .

De la población adscrita a la UMF No.75 se seleccionaron 70 pacientes del sexo femenino embarazadas de entre 2 y 7 meses de gestación, en edad fértil(16 a 35 años), alimentadas adecuadamente, con ayuno previo de 10 horas fueron seleccionadas de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión. Se les aplico un cuestionario para llevar a cabo esta selección tomando en cuenta las características de la población.

Una vez que fueron seleccionadas se les tomaron sus muestras, se realizaron los análisis, y se determinaron los valores de hemoglobina, hematocrito, concentración media de hemoglobina globular y su cuenta de leucocitos en sangre.

Las muestras se recolectaron mediante el sistema Vacutainer con anticoagulante EDTA, procediendo a su estudio 30 minutos después de su recolección.

La hemoglobina se valoró espectrofotométricamente empleando el método de la Cianometahemoglobina.

El hematocrito se valoró empleando métodos de centrifugación (micrométodo), a 1200rpm.utilizando tubos capilares, y a temperatura ambiente. Tomando las lecturas inmediatamente después de la centrifugación (la centrifugación fue de 5 minutos).

La concentración media de hemoglobina globular es la expresión en porcentaje y se obtiene por la concentración de hemoglobina por unidad de volumen de glóbulos rojos.

Los leucocitos se contaron por métodos hematocimétricos, utilizando la cámara de Neubauer, el microscopio y como solución diluyente el líquido de Turk.

METODOLOGIA.

TECNICAS.

A)Determinación de Hemoglobina.

La cuantificación de la hemoglobina de la sangre sigue teniendo un papel predominante en las detecciones bioquímicas múltiples y en medicina clínica.

Método de Cianometahemoglobina.

Este método es el resultado de una necesidad sentida desde hace mucho tiempo y es actualmente el método de elección.

Todas las formas de hemoglobina que pueden encontrarse en la sangre (oxi-hemoglobina, metahemoglobina, hemoglobina reducida, carboxihemoglobina, pero no la sulfahemoglobina) se convierten íntegramente en cianometahemoglobina por la adición de un simple reactivo. Las soluciones de cianometahemoglobina son las más estables de los diversos pigmentos hemoglobínicos.

Puede afirmarse que las soluciones de cianometahemoglobina se mantienen estables no menos de seis meses en congelación. La banda de absorción de la cianometahemoglobina se encuentra en la región de 540 nanómetros.

B)Determinación de Hematócrito.

La determinación del hematocrito se realiza para medir el volumen que ocupan los glóbulos rojos (eritrocitos, hematíes) en muestras de sangre capilar o venosa. Se mide por medio de centrifugación y se expresa en porcentaje.

La determinación del hematocrito es un método sencillo y confiable para detectar presencia o ausencia de Anemia o Policitemia y presencia de paquetes Leucocitarios o Plaquetarios Anormales. El hematocrito puede emplearse conjuntamente con la hemoglobina para calcular la Concentración Media de Hemoglobina Globular.

Existen dos métodos a escoger; el micrométodo y el macrométodo. Estos métodos han sido seleccionados por su amplio uso y sus niveles aceptables de exactitud y precisión, empleando equipo relativamente sencillo. En este caso se utilizó el micrométodo.

En ambos métodos se centrifuga una columna de sangre sin embargo, tanto en el micrométodo como el macrométodo el plasma permanece atrapado

en los glóbulos rojos centrifugados e incrementa la longitud aparente de la columna en un 2% en la sangre normal y aun en condiciones anormales. Esto debe tomarse en cuenta cuando se requiere un grado alto de exactitud. Para este propósito se ha desarrollado un método de referencia con corrección para el plasma atrapado.

El método de referencia es demasiado largo y complicado para ser empleado de rutina (3) (.9).

Cálculo para la Concentración Media de Hemoglobina Globular.

La concentración media de hemoglobina globular (CMHG), este importante valor absoluto expresa en porcentaje la concentración por unidad de volumen de glóbulos rojos.

$$C.M.H.G. = \frac{\text{Hb. en gr/100 ml.}}{\text{Hematocrito}} \times 100$$

Cuenta Total de Leucocitos.

En el recuento de leucocitos totales no existe distinción entre los cinco tipos de células normales (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos, en orden decreciente de cantidad).

En el método general hematocitómetro comprende el empleo de una solución hipotónica ácida que hemoliza los glóbulos rojos pero que no altera a los leucocitos o células nucleadas (con o sin tinción nuclear). La solución ácida se utiliza para diluir la sangre en una pipeta especial para leucocitos. Los leucocitos se tiñen ligeramente para observarse mejor. La mezcla de sangre anticoagulada y el líquido se coloca en la cámara de recuento, se cubre con un cubreobjetos especial (cubrehematocitómetro) y se deje en reposo para que se estabilicen los leucocitos.

A continuación se efectúa el recuento leucocitario en el microscopio.

Recuento Celular Manual.

En este método suelen utilizarse los hematocitómetros con rallado de Neubauer modificado. La zona rallada de la cámara es un cuadrado de 3mm de lado. Este cuadrado esta dividido en 9 cuadros de 1 x 1mm llamado "cuadros grandes "ó " cuadros secundarios ".

Los leucocitos se cuentan en los cuadros secundarios de las esquinas; A, B,C, y D. Cada cuadro secundario de las esquinas de la zona rallada esta dividida en 16 cuadros cada uno de los cuales es de 0.25 x 0.25mm y se llaman "cuadros terciarios ".

Entre la superficie inferior del cubrehematímetro y la superficie de la zona rallada de la cámara existe una profundidad de 0.1mm (8).

MATERIAL Y EQUIPO.

- Pipeta de Sahli de 0,02ml.(20 lamdas).
- Boquilla.
- Pipetas volumétricas de 1,2,3,4,5,ml.(Pyrex).
- Celdas espectrofotométricas.12 x 75.
- Matraz volumétrico de 1000ml.(Pyrex,).
- Tubos de ensaye (Pyrex).
- Capilares especiales de banda roja.
- Pipeta de Thoma para Glóbulos Blancos.
- Gasas.
- Torundas con Alcohol.
- Ligadura de Hule.
- Jeringas de 5.0ml. para toma de muestra.

- Espectrofotómetro (COLEMAN Junior II).
- Microcentrifuga para tubo capilar(Type BHG 1100).
- Agitador de pipeta de Thoma.
- Mechero o plastilina.
- Microscopio (Carl Zeiss fabricado en Alemania).
- Cámara de Neubauer.
- Cubrehematocitómetro.
- Agitador para tubos de 13 x 100.
- Gradillas para tubo capilar.
- Gradilla para tubos de 13 x 100.
- Frascos de desecho.

RESULTADOS

Selección de los Individuos de Referencia.

Para llevar a cabo la selección de los individuos de referencia dentro de la población que se investigó se les aplicó un cuestionario en donde se les preguntó su nivel académico, tipo de alimentación, enfermedades que ha padecido, como vive, cuanto gana, si trabaja o no trabaja, el número de hijos, etc. Una vez que entregan este cuestionario y en base a sus respuestas se determinó su nivel socioeconómico siendo este:

- Pacientes con dos sueldos mínimos (80 pesos diarios).
- Nivel académico : Secundaria.
- Sanas (sin enfermedades crónicas Diabetes Mellitus, hipertensión arterial).
- No toman alcohol, no fuman.
- Edad : entre 24 y 32 años.
- De los consultorios 1 al 40 del turno matutino y vespertino.

Una vez que fueron seleccionadas se procedió a tomarles las muestras preguntando previamente el tiempo de ayuno que tenían (mínimo 8 horas).

Estas muestras fueron analizadas, se les determinó hemoglobina, hematocrito, leucocitos y se cálculo la Concentración de Hemoglobina Globular, si se encontraba alteración en alguno estos parámetros por ejemplo leucocitos elevados (por encima de 10,000/mm) se buscaban las solicitudes de laboratorio se revisaba el diagnóstico y también los demás estudios que se les habían solicitado (Glucosa, Creatinina, Exámen General de Orina, etc.) si se presentaba anomalía alguna en ellos (por ejemplo Infección de Vías Urinarias) esta paciente era descartada debido a que no llenó los requisitos de no presentar ninguna enfermedad.

**TABLA DE RESULTADOS.
VALORES DE REFERENCIA OBTENIDOS**

	Edad de Gestación (meses)		
	2 a 7	2 a 5	5 a 7
HEMOGLOBINA (g/%)	12.4 a 12.9	12.5 a 13.0	12.0 a 12.7
HEMATOCRITO (%)	39.0 a 40.0	39.0 a 41.0	38.0 a 40.0
C.M.H.G. (%)	31.0 a 32.0	31.0 a 32.0	31.0 a 32.0.
LEUCOCITOS (por mm ³)	8550 a 9100	8400 a 9050	8650 a 9450.

VALORES DE REFERENCIA UTILIZADOS EN LA UMF No.75 IMSS.

En mujeres en edad fértil no embarazadas a 2240 metros sobre el nivel del mar (23).

HEMOGLOBINA : 13.5 - 17.0 gr. por dl.

HEMATOCRITO : 40.0 - 52.0 %

CONCENTRACION MEDIA DE HEMOGLOBINA GLOBULAR (CMHG) = 32.0 - 36.0 %

LEUCOCITOS: 5,000 - 10,000 por mm³. (8) (13) (21) (23).

Tabla 1. BIOMETRIA HEMATICA DE PACIENTE DE 2 A 7 MESES DE GESTACION.

No.de mta.	T.de Gest.	Hb.g/dl	Hto. %	CMHG	Leuc/mm ³
1	6	12.5	41	30	9800
2	7	12.1	37	32	9600
3	5	12.1	37	32	9800
4	4	12.9	41	32	8800
5	4	11.8	39	30	7900
6	3	13.8	44	31	9700
7	7	11.9	38	32	9000
8	2	12.9	42	31	7200
9	7	13.1	41	32	8700
10	7	12.1	37	32	9900
11	3	12.9	41	32	8700
12	6	12.3	40	31	9300
13	3	13.6	43	31	7800
14	5	13.6	42	32	9400
15	4	11.8	36	32	6800
16	6	12.1	39	32	9300
17	2	12.1	37	32	7100
18	7	13.2	41	32	8700
19	6	12.1	40	30	7900
20	6	12.7	39	32	9300
21	3	13.6	42	32	9100
22	4	13.1	41	32	9100
23	3	11.7	39	30	6900
24	3	13.6	43	31	8100
25	2	13.8	44	31	9600
26	7	12.3	42	31	8700
27	6	12.3	38	32	7700
28	6	13.6	42	32	9100
29	3	13.4	41	32	8900
30	6	12.1	39	32	9500
31	4	12.8	38	32	9800
32	4	13.2	40	33	9900
33	2	12.3	39	31	9100
34	6	11.8	36	32	8400
35	4	11.8	38	31	8200
36	6	12.3	38	32	9800
37	4	13.8	44	31	8200
38	5	13.4	41	32	9900
39	3	12.1	37	32	8100
40	2	13.8	42	32	9200
41	7	11.9	37	32	9880

No.de mta.	T.de Gest.	Hb.g/dl	Hto. %	CMHG	Leuc/mm ³
42	3	12.9	40	32	9700
43	4	12.8	40	32	8300
44	5	12.9	41	32	9500
45	4	13.4	42	32	7300
46	3	13.6	42	31	8400
47	7	13.8	43	32	7600
48	3	13.8	43	32	8100
49	5	12.7	39	32	9500
50	2	12.3	38	32	8300
51	4	12.7	39	32	8300
52	7	12.7	41	31	9800
53	3	12.3	39	31	8500
54	7	12.3	38	32	7200
55	4	13.2	41	32	9200
56	4	12.1	37	32	8100
57	7	12.3	38	32	9600
58	4	12.3	38	32	9700
59	4	12.3	38	32	8600
60	7	12.5	38	32	9900
61	5	12.9	41	32	9500
62	4	12.8	40	32	8300
63	3	12.9	40	32	9700
64	5	13.4	41	32	9900
65	6	12.8	38	32	9800
66	2	12.3	39	31	9100
67	4	13.1	41	32	9100
68	3	11.7	39	30	6900
69	6	12.7	39	32	9300
70	6	12.1	40	30	7900

Fuente: Datos tomados de Pacientes de la UMF No.75 del IMSS, de Marzo a Abril de 1998

Hb. = Hemoglobina

g/dl = gramos por decilitro

Hto. = Hematocrito

T.de Gest. = Tiempo de Gestación en meses

CMHG = Concentración Media de Hemoglobina Globular

No.de mta. = Número de muestra

Tabla 2 BIOMETRIA HEMATICA DE PACIENTES DE 2 A 5 MESES DE GESTACION.

No.de mta.	T.de Gest.	Hb.g/dl	Hto. %	CMHG	Leuc/mm ³
1	4	11.8	38	31	8200
2	3	12.1	37	32	9800
3	4	12.9	41	32	8800
4	4	11.8	39	30	7900
5	3	13.8	44	31	9700
6	2	12.9	42	31	7200
7	3	12.9	41	32	8700
8	3	13.6	43	31	7800
9	2	13.6	42	32	9400
10	4	11.8	36	32	6800
11	2	12.1	37	32	7100
12	3	13.6	42	32	9900
13	4	13.1	41	32	9100
14	3	11.7	39	30	6900
15	3	13.6	43	31	8100
16	2	13.8	44	31	9600
17	3	13.4	41	32	8900
18	4	12.8	38	32	9800
19	4	13.2	41	32	9900
20	2	12.3	39	31	9100
21	2	13.8	42	32	9200
22	4	13.8	44	31	8200
23	3	12.1	37	32	8100
24	2	13.8	42	32	9200
25	3	12.9	40	32	9700
26	4	12.8	40	32	8300
27	4	12.9	41	32	9500
28	4	13.4	42	32	7300

No.de mta.	T.de Gest.	Hb.g/dl	Hto.%	CMHG	Leuc/mm ³
29	3	13.6	42	32	8400
30	3	13.8	43	32	8100
31	3	12.7	39	32	9500
32	4	12.7	39	32	8300
33	3	12.3	39	31	8500
34	4	13.2	41	32	9200
35	4	12.1	37	32	8100
36	4	12.3	38	32	9700
37	4	12.3	38	38	8600
38	2	12.3	38	32	8300
39	3	12.9	41	32	9500
40	4	12.8	40	32	8300

Fuente: Datos tomados de Pacientes de la UMF No.75 del IMSS, de Marzo a Abril de 1998

Hb. = Hemoglobina

g/dl = gramos por decilitro

Hto. = Hematocrito

T.de Gest. = Tiempo de Gestación en meses

CMHG = Concentración Media de Hemoglobina Globular

No.de mta. = Número de muestra

Tabla 3. BIOMETRIA HEMATICA DE PACIENTE DE 5 A 7 MESES DE GESTACIÓN

No.de mta.	T.de Gest.	Hb.g/dl	Hto. %	CMHG	Leuc./mm ³
1	6	12.5	41	30	9800
2	7	12.1	37	32	9600
3	5	11.9	38	32	9000
4	7	12.1	37	32	9900
5	7	13.1	41	32	8700
6	7	12.1	37	32	9900
7	6	12.3	40	31	9300
8	6	12.3	40	31	9300
9	6	12.1	39	32	9100
10	5	13.2	41	32	8700
11	6	12.1	40	30	7900
12	6	12.7	39	32	9300
13	7	12.3	42	31	8700
14	6	12.3	38	32	7700
15	5	13.6	42	32	9100
16	6	12.1	39	32	9500
17	6	11.8	36	32	8400
18	6	12.3	38	32	9800
19	6	12.3	38	32	9700
20	5	11.9	37	32	9800
21	6	12.3	38	32	8400
22	7	13.8	43	32	7600
23	6	12.3	38	39	7700
24	7	12.7	41	31	9800
25	7	12.3	38	32	7200
26	5	12.5	38	32	9600
27	7	12.5	38	32	9900
28	6	12.3	38	32	9800
29	6	12.7	39	32	9300
30	5	12.1	40	30	7900

Fuente: Datos tomados de Pacientes de la UMF No.75 del IMSS, de Marzo a Abril de 1998

Hb. = Hemoglobina

g/dl = gramos por decilitro

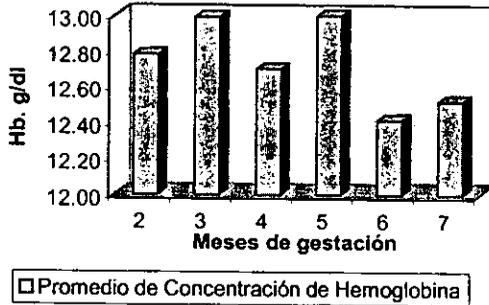
Hto. = Hematocrito

T.de Gest. = Tiempo de Gestación en meses

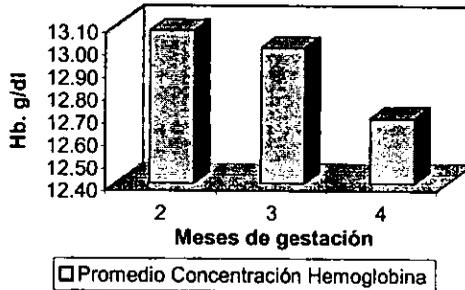
CMHG = Concentración Media de Hemoglobina Globular

No.de mta. = Número de muestra

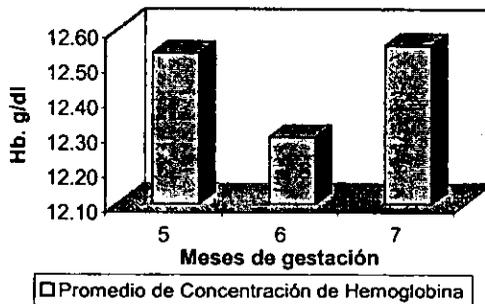
Gráfica 1: Concentración de Hemoglobina en pacientes de 2 a 7 meses de gestación

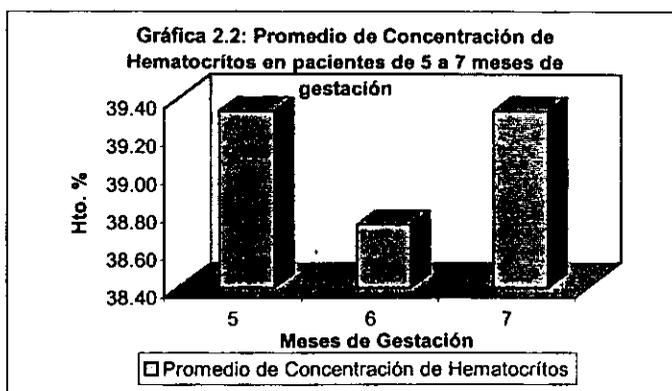
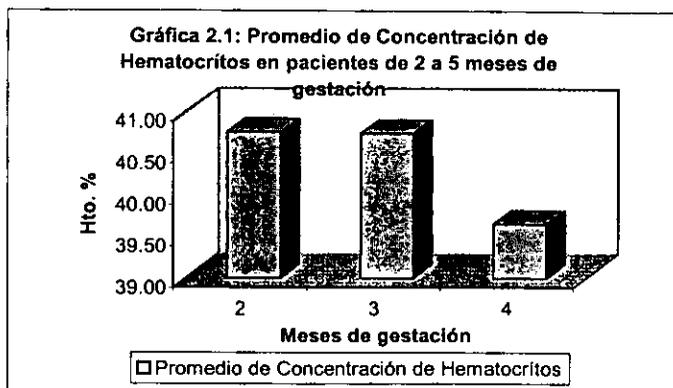
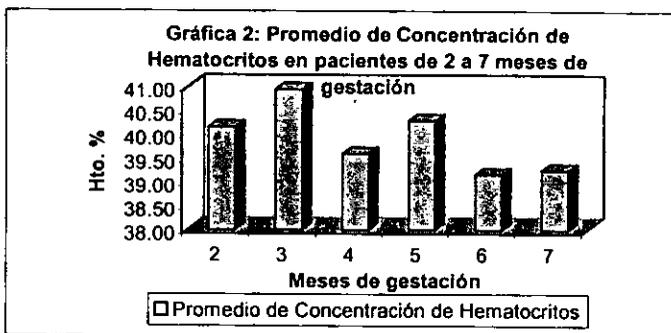


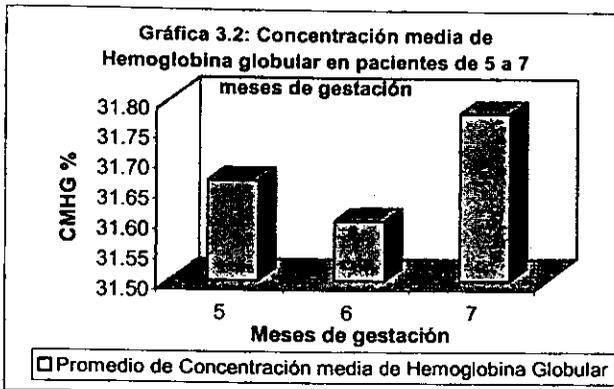
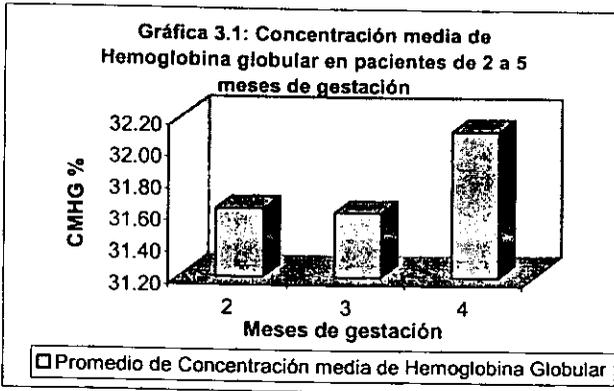
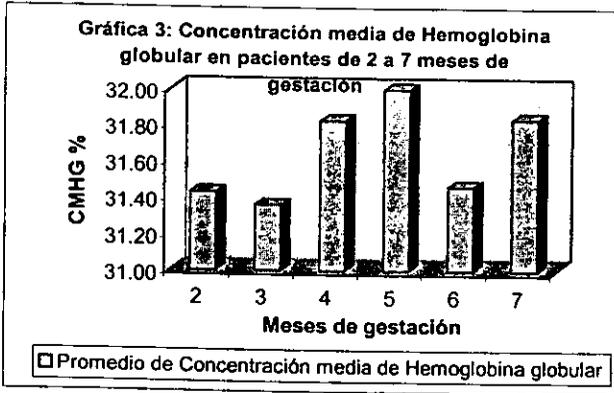
Gráfica 1.1: Promedio Concentración Hemoglobina



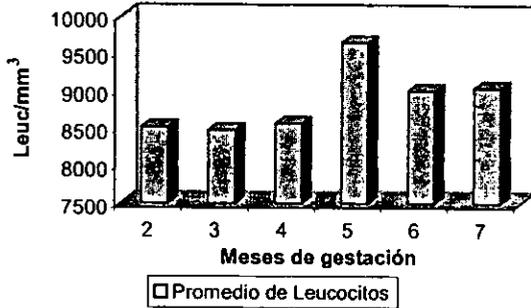
Gráfica 1.2: Promedio de Concentración de Hemoglobina



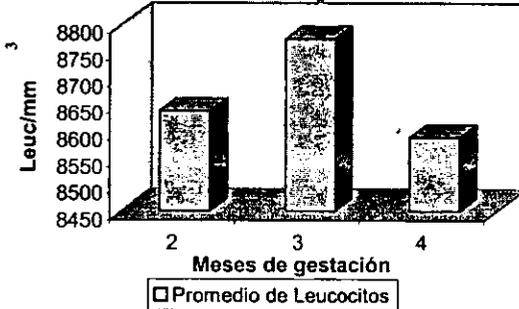




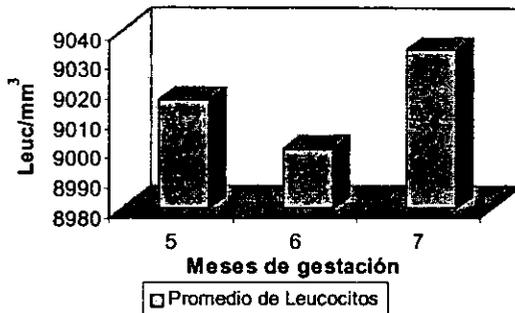
Gráfica 4: Promedio de Leucocitos en pacientes de 2 a 7 meses de gestación



Gráfica 4.1: Promedio de Leucocitos en pacientes de 2 a 5 meses de gestación



Gráfica 4.2: Promedio de Leucocitos en pacientes de 5 a 7 meses de gestación



DISCUSION DE RESULTADOS

Es importante antes de iniciar este análisis, que para obtener estos resultados se llevó a cabo un control de calidad adecuado teniendo el debido cuidado en el material, equipo y reactivos utilizados en cuanto a su calibración (espectrofotómetro, pipetas, centrífuga, microscopio, etc.) limpieza (material y equipo) y el manejo de métodos y reactivos.

Para obtener los valores de referencia se realizaron pruebas estadísticas, en este caso se utilizó como tipo de prueba la prueba bilateral de dos colas con un nivel de significación de 0.01 y con un nivel de confianza del 0.99%.

La estadística que se utiliza por ser distribución normal es inferencial o paramétrica. El estadístico de prueba fue la de Z para diferencia de medias.

Una vez que se han obtenido los valores de referencia para la población motivo de nuestro estudio, se hizo la comparación y análisis de los mismos con respecto a los que se utilizan en la UMF No.75.

Se trazaron las gráficas correspondientes.

En la gráfica No.1 que se refiere a la Concentración de Hemoglobina (valores de hemoglobina obtenidos) se observa como estos valores encontrados si difieren o hay diferencia significativa de acuerdo con la prueba estadística que fue utilizada con los valores de referencia utilizados en la UMF No 75 para pacientes no embarazadas. En esta misma gráfica se nota que la población fue dividida en dos partes tomando en cuenta el tiempo de gestación entre ellas. Esto se hizo con la finalidad de observar el comportamiento en cuanto a la Biometría Hemática conforme se lleva a cabo el avance del embarazo. Una porción de esta población (40 pacientes)(gráfica 1.1) presentaba un embarazo entre los 2 y 5 meses y la otra parte (30 pacientes) (gráfica 1.2) tenía un embarazo entre 5 y 7 meses. Los datos obtenidos de estas dos porciones nos produjo el gráfico No.1 el cual analizándolo nos lleva a la conclusión de que no hay diferencia significativa entre ellas (de 2 a 5 y de 5 a 7 meses de gestación), aunque hay un ligero aumento de hemoglobina entre los meses 2° al 5°. Después de este ligero aumento se manifiesta una disminución muy ligera entre los meses 5° y 7° de gestación.

En las gráficas No.2, 2.1 y 2.2 que nos muestran los valores de referencia obtenidos para el hematócrito vemos que también hay diferencia significativa con los que a la fecha están siendo utilizados, sin embargo estos valores (los obtenidos para las mujeres embarazadas) no muestran un grado de diferencia significativa conforma va avanzando el periodo de gestación.

En las gráficas 3, 3.1 y 3.2 en lo que se refiere a la Concentración Media de Hemoglobina Globular los valores encontrados demuestran diferencia significativa entre estos y los utilizados hasta ahora en la UMF No 75 siendo éstos (los valores obtenidos en este estudio) un poco más bajos. Aunque durante el periodo de gestación este valor se mantiene constante.

Leucocitos: Los valores determinados para la población embarazada se encuentran dentro de los valores de referencia utilizados en la UMF No 75 como se puede confirmar en el gráfico No.4. Apreciamos en este gráfico como estos valores tienen una ligera fluctuación durante el periodo de gestación, pero sin rebasar los valores de referencia utilizados, ya sea por debajo o por arriba de los límites de referencia. El hecho de haber separado en dos partes la población en estudio nos facilito de alguna manera el análisis de la misma, observando el hecho de que esta se comporta de cierta manera (en cuanto a los valores de σ en la Biometría Hemática) conforme avanza el tiempo de embarazo. Tomando en consideración este tipo de comportamiento se obtuvieron los Valores de Referencia para esta población.

CONCLUSIONES

Al término de esta investigación podemos concluir que si hay diferencia significativa entre los valores de referencia obtenidos y los valores de referencia utilizados en la UMF No.75, en los siguientes parámetros; Hemoglobina, Hematócrito y Concentración Media de Hemoglobina Globular. Respecto a los leucocitos no hay diferencia significativa. Por lo que estos valores determinados como valores de referencia pueden ser utilizados para la población embarazada, puesto que estos valores fueron determinados con base en las características propias de esta población.

Podemos decir que en esta investigación se cumplieron los objetivos planteados ya que se obtuvieron los valores de referencia los cuales serán de gran ayuda para los médicos. El médico podrá tener un mejor control prenatal sobre sus pacientes en lo que se refiere a la Biometría Hemática y en un momento dado poder determinar en que grado la paciente necesitara algún tratamiento complementario y/o suplementario y a la vez de esta forma se estará beneficiando la paciente ya que el médico podrá darle las indicaciones adecuadas para un mejor control durante su periodo de gestación. Los valores de referencia obtenidos en esta investigación pueden ser utilizados o aplicados durante las determinaciones en la biometría hemática en las pacientes embarazadas ya que estos valores de referencia se obtuvieron tomando en consideración las características propias de esta población (mujeres en periodo de gestación).

Se sugiere la utilización de estos valores de referencia en la población embarazada adscrita a la UMF No. 75, y de acuerdo a estos el médico pueda decidir si la paciente necesita un tratamiento complementario o el control que ha llevado hasta ese momento es el adecuado o en su defecto utilizar como ya se dijo antes su propio criterio para obtener un mejor control sobre la mujer embarazada.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Lewis. S. M. "Garantía de la Calidad en Hematología". Preparado para la OMS. Vol. 15, Oct.- Nov.- Dic. Bioq. Vol. 15 No. 60, 1990; 18.
- 2.- Assendelf O. W. Holtz A.H., Lewis S. M. "Método Recomendado para la Determinación de la Concentración de Hemoglobina en Sangre". Abril-Mayo-Junio. 1990. Bioq. Vol. 15 ; 33 - 38.
- 3.- England, J.M. Rown y cols. "Método para la Determinación de Hematócrito". Vol.14 No.4 Oct.- Nov.- Dic. 1989. Núm.56; 23 - 26.
- 4.- Alberts J.J., Halkennedy y Marcovina S M. "Evaluación y Selección de Candidatos a materiales de Referencia" ABCL, Vol. XXVII No. 1-000-000. 1993. Incorporado a Chemical Abstracts Service. ABCL. Vol. XXVII Marzo 1993; 99.
- 5.- Abouzahr Carla y Royston Erica. "Riesgos excesivos del Embarazo y del Parto en el Tercer Mundo". Foro Mundial de la Salud. Vol.XIII.No.4 1992; 340 - 342.
- 6.- Frank Odile, Frieman Herbert, Ching Li Hu y Cols. Mesa Redonda "La mujer y el Tabaco". Foro Mundial de la Salud. Vol. XI No.1, 1990.; 3 - 9.
- 7.- López S. S. "Valores de Referencia para Glucosa, Acido Urico, Hemoglobina y Hematócrito en la Población Adulta". Bioq. 4-1991.Vol.XVI No.64.;22-26.
- 8.- Manual de Practicas y procedimientos de Laboratorio. Departamento de Bioquímica. ENCB - IPN 1978. Pags. 49-55.
- 9.- Rice, E. W. "Hematocrito" (Volumen de Paquete Globular) en Métodos Selectos para el pequeño Laboratorio de Química Clínica. W.R. Faulkner y Meites, S. EDS. AMBC. México 1984; 259 - 262.
- 10.- Rice, E. W. "Hemoglobina" En Métodos Selectos para el pequeño Laboratorio de Química Clínica. W. R. Fulkner y Meites, S. EDS. AMBC. México, 1984; 263 -266.
- 11.- Wintrobe, M. M. "Hematología Clínica". 4ª.edición 1979, Argentina. Edit. Intermedica ; 718.
- 12.- Baez B. J. "Hematología Clínica". 7ª edición 1981. Reeditado en México. Edit. Francisco Mendéz Oteo; 351 Apéndice III.
- 13.- Lynch, Raphael, et al. "Métodos de Laboratorio". 2ª edición 1977 Edit. Interamericana; 710 - 713, 755 - 756.

- 14.- Solberg, H. E. Recomendación Aprobada (1986) Sobre la Teoría de los Valores de Referencia. 1ª parte. " Concepto de los Valores de Referencia ". Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 1988, 22; 297 - 303.
- 15.- Petitclerc, C. Solberg, H. E. Recomendación Aprobada (1987) Sobre la Teoría de los Valores de Referencia 2ª parte. " Selección de individuos para la Producción de los Valores de Referencia ". ABCL, 1988, 22 ; 443 - 450.
- 16.- Solberg, H. E. Recomendación Aprobada (1988) Sobre la Teoría de los Valores de Referencia.3ª parte " Preparación de Individuos y Obtención de Especímenes para la producción de Valores de referencia ". ABCL 1988,22; 603 - 610.
- 17.- Solberg, H.E. y Stamm D. La teoría de los Valores de Referencia. 4ª parte " Control de la Variación Analítica en la Producción, Transferencia y Aplicación de los Valores de Referencia ". ABCL 1992, 24; 105 - 110.
- 18.- Solberg, H. E. Recomendación Aprobada (1987) Sobre la Teoría de los Valores de Referencia. 5ª parte " Tratamiento Estadístico de los Valores de Referencia Obtenidos ". Determinación de los Límites de Referencia. ABCL 1988, 22; 453 - 471.
- 19.- Dybkar, R., Solberg H. E. Recomendación Aprobada (1989) Sobre la Teoría de los Valores de Referencia. 6ª parte " Presentación de Valores Observados relacionados con los Valores de Referencia ". ABCL 1988, 22; 613-620.
- 20.- Márquez de Cantú M.J. " Probabilidad y Estadística para Ciencias Químico - Biológico " Edit. UNAM, 1988 ; 342 - 347.
- 21.- Davidsohn I. y Bernard Henry J. " Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el Laboratorio ". Tood Sanford. Tomo I, 8ª edición, Barcelona. De. Salvat,1988; 777 - 871.
- 22.- Rapaport, " Introducción a la Hematología ". 2ª edición. México. Edit. Salvat, 1988; 1 - 208.
- 23.- Manual de Practicas del Instituto Mexicano del Seguro Social (1993).
- 24.- Loria, A. " Programa INS de Control de Calidad ". " Uso de una Estrategia de programa Interno ". Rev. Invest. Clín. México. 1988, 40; 317 - 323.
- 25.- Rodríguez Robles, J.E. " Fisiología Materna durante el Embarazo ". Asociación de Médicos del Hospital de Ginecología y obstetricia No.3 del IMSS A. C. Ginecología y Obstetricia; AM - HGO - 3. 3ª edición. Edit. Méndez S. A. de C.V. México, 1997; 61 - 78. Cap. 5.

ANEXO A.

DETERMINACION DE HEMOGLOBINA.

Procedimiento para la Curva de calibración con la solución valorada de Cianometahemoglobina (Concentración Conocida).

- a) Efectuar las diluciones siguientes en tubos de ensaye de 13 x 100 como se indica en la tabla siguiente:

Curva de Calibración para hemoglobina.

No. de Tubo	Vol. de Sol. Drabkin (ml).	Vol. de Sol. Est.(ml).	Concentración g / dl.	Absorbancia.
Blanco	5	0	-	
1	4	1	5	
2	3	2	10	
3	2	3	15	
4	1	4	20	
5	0	5	25	

Dejar reposar de 10-15 minutos.

- b) Colocar las diferentes diluciones de los tubos en celdas espectrofotométricas.
c) Medir la absorbancia de los tubos usando el tubo indicado como blanco y leyendo a 540nm.
d) Se emplea la siguiente fórmula :

$$\frac{\text{Volumen del estándar (ml) x Concentración del estándar (g/dl)}{\text{Volumen Total (ml.)}} \times 251 = \frac{\text{g}}{\text{dl}}$$

251 = La dilución de la muestra de sangre.

Procedimiento para la muestra Problema.

- 1.- Recolectar 5 mililitros de sangre venosa en un tubo que contenga anticoagulante y con tapón de hule (el anticoagulante puede ser EDTA).
- 2.-Homogenizar perfectamente bien la sangre haciendo girar el tubo circularmente.

- 3.-Colocar en un tubo de ensaye de 13 x 100 con una pipeta de 5ml del reactivo de Drabkin (5 ml.).
- 4.-Llenar la pipeta de Sahli con la muestra de sangre hasta la marca de 0.02. En caso de utilizar el método de punción capilar tomar la muestra directamente de la herida.
- 5.-Limpiar la sangre adherida al exterior de la pipeta de Sahli con una gasa.
- 6.-Descargar el contenido de la pipeta en los 5 ml. de la solución de Drabkin, enjugando ahí mismo la pipeta aspirando y expeliendo cuidadosamente a fin de arrastrar toda la sangre de las paredes internas de la pipeta. La dilución es de 1: 251.
- 7.-Mezclar la sangre con la solución reactiva por burbujeo brusco con la misma pipeta mediante rotación brusca del tubo.
- 8.-Dejar reposar la mezcla durante 10 min. Para que la conversión de hemoglobina a cianometahemoglobina sea total.
- 9.-Colocar la solución de cianometahemoglobina en las celdas espectrofotométricas. Lea las absorbancias a 540nm. en el espectrofotómetro. Use blanco de reactivo (diluyente de Drabkin).

Cálculos

- a) Determinación de la Concentración de hemoglobina en g /dl. a cada una de las diluciones de la curva de calibración utilizando la fórmula indicada.
- b) Con los datos de concentración de hemoglobina (g / dl) de cada dilución y su correspondiente lectura de absorbancia, trazar la gráfica $A = f(C)$ en papel milimétrico y ajustar los puntos.
- c) Interpolar la lectura de absorbancia de la muestra problema en la gráfica de la curva estándar para obtener el resultado de hemoglobina en g / dl.

Cálculos con Factor:

Absorbancia del Problema $\times 37 =$ gramos de Hemoglobina / 100 ml.

Debido a las grandes diferencias que existen en el control de calidad de los equipos, se recomienda la utilización de la Curva de Calibración en lugar del uso del factor (8) (11) (13).

Valores de Referencia: 13.5 - 17.0 g% Mujeres.

DETERMINACION DEL HEMACRITO.

Micrométodo.

Procedimiento para la Muestra Problema

- a) Homogeneizar la muestra de sangre perfectamente haciendo girar el tubo circularmente (muestra de sangre con anticoagulante EDTA).
- b) Los capilares de vidrio se llenan de sangre hasta las dos ó tres cuartas partes de la longitud total.
- c) Sellar el extremo seco por donde no se ha llenado el capilar con plastilina o bien con el mechero, en todos los casos el sello debe quedar interno y plano en la punta.
- d) Colocar en la microcentrífuga los capilares debe registrarse la posición de cada capilar.
- e) Centrifugar a 1200 rpm durante 15 minutos.
- f) Los capilares se leen uno por uno. Si los tubos capilares no se leen inmediatamente deben retirarse de la centrífuga y colocarse en posición vertical hasta que se lean.
- g) Las mediciones pueden hacerse colocando el tubo capilar contra papel milimétrico gráfico o contra una regla. Las capas de plaquetas y leucocitos se excluyen tanto como sea posible.
- h) La prueba se hace por duplicado para propósitos de control de calidad los resultados no deben de diferir de 0.021 / 1 (8) (11) (13).

Valores de Referencia: 40 - 52% Mujeres

CALCULO PARA LA CONCENTRACION MEDIA DE HEMOGLOBINA GLOBULAR.

La concentración Media de Hemoglobina Globular (CMHG) este importante valor absoluto expresa en porcentaje la concentración por unidad de volumen de glóbulos rojos (8) (11) (13).

$$CMHG = \frac{\text{Hb. en gr/dl}}{\text{hematocrito}} \times 100$$

Valores de Referencia.: 32-36 %. Mujeres

CUENTA TOTAL DE LEUCOCITOS.

TECNICA MANUAL.

- a) Recolectar 5ml. de sangre venosa en un tubo con anticoagulante (puede ser EDTA, heparina) y tapón de hule.
- b) Homogeneizar perfectamente la sangre haciendo girar el tubo.
- c) Se aspira con cuidado la sangre hasta la marca 0.5 de la pipeta de Thoma.
- d) Se seca la parte exterior de la punta de la pipeta con una gasa para retirar la sangre adherida y se termina de aspirar con el líquido diluyente hasta la marca 11 así se obtiene una dilución 1: 20.
- e) Se agita la pipeta durante 3 minutos.
- f) Se desechan las tres primeras gotas de la pipeta puesto que contienen solamente liquido diluyente.
- g) Se cargan las dos cámaras de recuento teniendo cuidado que la gota no salga de la marca señalada.
- h) Se coloca la cámara en la platina del microscopio y se deja reposar de 3 a 5 minutos para que las células se distribuyan.
- i) Cerrar el diafragma condensador del microscopio para poder contemplar con claridad los leucocitos con un objetivo de poco aumento 10x y localizar los cuadros secundarios A, B, C y D. Si la distribución de los leucocitos en los cuatro cuadrados no es uniforme, el método debe repetirse con un hemocitómetro y pipeta limpios.
- j) Se cuentan los leucocitos en cada uno de los cuadros grandes.
- k) La norma para incluir o excluir las células es contar las que tocan la parte izquierda y superior de la línea límite y excluir las células que tocan la parte derecha e inferior de dicha línea.
- l) En los 16 cuadros terciarios se inicia el recuento de izquierda a derecha contando los cuatro primeros cuadros terciarios y luego de derecha a

izquierda los cuatro cuadros terciarios de la línea inferior y así sucesivamente.

- ll) Se cuenta separadamente el número de leucocitos en cada cuadro grande y se suman los resultados. El recuento de cada cuadro grande no debe variar en más de 10 células. 3
- m) Calcular el número de leucocitos /mm . Recuento de Leucocitos por el factor 50.
- n) Los normoblastos no se destruyen por lo que se deben de tomar en cuenta para corregir los resultados. Debe efectuarse una corrección de recuento celular para obtener un recuento leucocitario exacto.

Cuando las extensiones sanguíneas ofrezcan glóbulos rojos si existen estos en número considerable se corrige el número de leucocitos con la siguiente fórmula :

$$\begin{array}{l} \text{Recuento} \\ \text{Leucocitario} \\ \text{Corregido} \end{array} = \frac{\text{Recuento Total de leucocitos}}{\text{incluyendo normoblastos}} - \text{el \% de Normoblastos observados en frotis.}$$

Cuando el número de leucocitos es bajo (menos de 4000 /mm³) es preferible para lograr más exactitud, emplear una dilución 1:10 (0.1ml de sangre en 0.9ml.de diluyente).

Cálculos:

El recuento de leucocitos totales solo se calcula exactamente si se tienen en cuenta las mediciones del espacio de la cámara, cubrehematocitómetro y las diluciones de la pipeta. Se calcula mejor el número de leucocitos por mm de sangre cuando se toman en cuenta el área contada, la profundidad de la cámara y la dilución según la siguiente fórmula: (8) (11) (13).

Células por mm = × dilución.....(1)

Sustituyendo valores en ecuación 1 se tiene:

Leucocitos contados

$$Células/mm^3 = \frac{\text{Leucocitos contados}}{4(1\text{ mm})(0.1)} \times 20 = N \times 50$$

Donde:

N = Número de Leucocitos contados.

4 = Número de cuadros secundarios.

1mm = Área de cada cuadro secundario.

0.1mm = Altura de la cámara.

20 = Dilución de la muestra.

50 = Factor(variara si cambia el área contada, profundidad de la cámara y la dilución).

Valores de Referencia: 5,000 - 10,000 por mm^3

ANEXO B

PREPARACION DE REACTIVOS

HEMOGLOBINA:

Reactivos.

- Frasco de 100 ml. de solución de Drabkin concentrada (cianometahemoglobina).
- Agua Destilada (solución diluyente de Drabkin).
- Solución Estándar de Cianometahemoglobina (concentración conocida).

Preparación de la Solución diluyente de Drabkin.

En un matraz volumétrico de 1000 ml. que contenga agua destilada (250 ó 300 ml.). Agregue el contenido de un frasco de 100 ml. de reactivo concentrado y afore a la marca con agua destilada.

Una vez preparada la solución, guardarla en un frasco ámbar de preferencia de vidrio en un lugar fresco y seco (refrigerador) evitando la exposición excesiva a la luz.

Concentración de esta Solución.

- Bicarbonato de Sodio 12 milimoles.
- Cianuro de Potasio 0.768 milimoles.
- Ferricianuro de Potasio 0.06074 milimoles.

NOTAS:

- Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad siempre y cuando se evite la contaminación química y/o bacteriana.
- Utilizar agua destilada y fría (el agua debe ser hervida, debe dejarse enfriar a temperatura ambiente).

CUENTA TOTAL DE LEUCOCITOS.

Reactivo:

- Líquido de Turk.

Concentración del reactivo :

- Ácido Acético Glacial 2.0 ml.
- Solución acuosa de Violeta de Genciana al 1%.
- Agua destilada 100ml.

Pipetas para diluir Leucocitos.

La pipeta de Thoma tiene un tubo y una ampolla para mezclar. El tubo está dividido en 10 partes que miden el volumen de la muestra de sangre. La graduación quinta y décima están marcadas como 0.5 y 1 respectivamente. Si se aspira sangre hasta la marca 0.5 (un volumen) y la solución diluyente hasta la marca 11 (11 volúmenes) la dilución de la muestra es de 1:20 y el factor de dilución es de 20.

Líquido de Dilución.

El líquido diluyente debe destruir a los glóbulos rojos para que no obscurezcan a los leucocitos. El más sencillo es una solución de ácido acético al 2 ó 3 % con una cantidad de Violeta de Genciana suficiente para dar un color azul violeta pálido. La solución hipotónica de ácido acético destruye a los glóbulos rojos. Se utiliza el líquido de Turk.

El violeta de Genciana permite reconocer fácilmente el líquido y observar mejor los glóbulos blancos a los que tiñe ligeramente.

ANEXO C.

CALIBRACION DE EQUIPOS Y MATERIAL DE LABORATORIO.

TERMOMETROS.

Objetivo: Contar con termómetros verificados, que permitan asegurar que los procesos de incubación se realicen a temperatura adecuada.

Alcance: Este procedimiento es aplicable para la certificación de los termómetros de alcohol y de mercurio.

Reactivos, Materiales e instrumentos :

- Termómetro de referencia.
- Baño de agua
- Agua destilada
- Hielo.

PROCEDIMIENTO :

La calibración de los termómetros incluye tres pruebas:

1.- Verificación de la columna de mercurio (o de alcohol).

En caso de que la columna se encuentre fragmentada, seguir alguno de los métodos siguientes:

a) Si la columna se encuentra fragmentada introducirla en agua hirviendo hasta que la columna fragmentada penetre en la cámara de expansión. Saque el termómetro del agua y rápidamente golpee suavemente el bulbo de hule para permitir la eliminación de la burbuja. Permita que el termómetro se enfríe y verifique la columna.

b) Si la columna se encuentra fragmentada en la parte inferior; sumerja el bulbo del termómetro en una solución de etanol-hielo seco, hasta que la columna se retraiga en el interior del bulbo cuidando que el termómetro tenga una posición vertical. Saque el termómetro del baño frío y agite el termómetro formando un pequeño arco para permitir la eliminación de la burbuja. Permita que el bulbo se caliente y la columna de vuelva a penetrar en el capilar del termómetro antes de tocar el bulbo. Verifique la columna.

2.- Verificación de la graduación a 0 °C.

Sumerja el bulbo del termómetro en una solución preparada en partes iguales de hielo - agua, y verifique que la temperatura que marque el termómetro sea de 0 °C.

3.- Verificación de la escala del Termómetro.

La escala del termómetro se debe verificar por comparación con un termómetro de referencia, de la siguiente forma :

- a) Colocar el termómetro que se desea verificar, junto con el termómetro de referencia en un baño de agua, a la temperatura en la que normalmente se utilizará, compruebe que los bulbos estén completamente inmersos en el agua.
- b) Esperar 10 minutos para asegurarse que los termómetros registren la temperatura.
- c) Observar y anotar la lectura de cada termómetro.
- d) Repetir los pasos 2 a 4 veces más.
- e) Cálculo de resultados: Calcular el promedio de las lecturas para cada termómetro.

Interpretación de Resultados :

El termómetro verificado es aceptado si: la columna no presenta fragmentaciones, la verificación a 0 °C es correcta y si el promedio de las lecturas a la temperatura de prueba no varía en °C con respecto al promedio de las lecturas del termómetro certificado.

PIPETA DE SAHLI PARA DETERMINACION DE HEMOGLOBINA.

Objetivo:

Verificar el buen funcionamiento de la pipeta de Sahli con la calibración adecuada para asegurar que el volumen medido sea el indicado para el procedimiento que se este realizando en el laboratorio.

Equipo y Material :

- Vaso de precipitados
- Jeringa
- Tubo de hule o de plástico
- Pipeta de Salí.

Método:

- 1.- Pesar un vaso de 10 mililitros.
- 2.- Lubricar la camisa de una jeringa con una grasa suave.
- 3.- Unir la jeringa con un tubo de hule o de plástico a la base de la pipeta a calibrar.
- 4.- El embolo de la jeringa se empuja suavemente hasta el tope.
- 5.- La pipeta se sumerge en un recipiente que contenga mercurio a temperatura ambiente.
- 6.- Llenar la pipeta con mercurio por aspiración de la jeringa.
- 7.- Mantener la jeringa arriba del vaso previamente pesado.
- 8.- Dejar caer el mercurio por manipulación de la jeringa.
- 9.- Pesar el vaso con mercurio y por diferencia se calcula el peso del mercurio.
- 10.- Registrar la temperatura ambiente.
- 11.- El volumen de la pipeta en ul. se calcula dividiendo el peso del mercurio (en mg) por el Factor dependiente de la temperatura.

Cálculos:

$$\frac{\text{Peso de Hg}}{F} = \text{ul}$$

TABLA DE CONVERSION

El volumen de la pipeta (en ul)se calcula dividiendo el peso del mercurio (en mg) por uno de los factores dependientes de la temperatura (Factor b), de la tabla adjunta.

Temperatura °C	Factor b
18	13.556
19	13.549
20	13.546
21	13.544
22	13.541
23	13.539
24	13.536
25	13.534
26	13.532
27	13.529
28	13.527
29	13.524
30	13.522

La calibración de cada pipeta debe ser por duplicado.

CALIBRACION DE CENTRIGUGAS.

Objetivo :

Verificar el funcionamiento de las centrifugas, para asegurar que los procesos de centrifugado en los distintos procedimientos realizados en el laboratorio son los adecuados.

Alcance :

Este procedimiento es aplicable para la verificación de los distintos tipos de centrifugas existentes en el laboratorio.

Materiales :

- Centrifuga de micro hematocrito.
- Tubos capilares
- Sellador para tubos capilares
- Cronómetro de referencia.
- Fototacómetro de referencia.
- Termómetro de referencia.
- Papel aluminio

Procedimiento :

La calibración de las centrifugas se puede realizar con los métodos siguientes:

1.- Calibración Mecánica, la cual incluye :

a) Reloj de la Centrifuga.

.- Poner en funcionamiento simultáneamente el reloj de la centrifuga que se esta evaluando y un cronómetro de referencia.

.- Al final del tiempo programado anotar la diferencia existente entre los dos relojes.

.- Repetir los dos pasos anteriores dos veces más.

.- Calcular el promedio de las tres lecturas.

b) Velocidad. 3

.- Cortar un pedazo de papel aluminio de 2cm aproximadamente.

- .- Pegar el papel con diurex en la parte superior del cabezal de la centrifuga.
- .- En el caso de las centrifugas de micro hematocrito quitar la tela de alambre del centro de la tapa.
- .- Cerrar la tapa de la centrifuga.
- .- Poner en funcionamiento de la centrifuga.
- .- Dirigir el haz luminoso del fototacómetro hacia la zona en donde se encuentra la zona reflejante.
- .- Esperar que la lectura del fototacómetro se estabilice.

CENTIFUGA DE MICROHEMATOCRITO.

La centrifuga se calibra centrifugando tubos capilares idénticos con sangre anticoagulada en intervalos crecientes de tiempo hasta que el empaquetamiento de los glóbulos rojos sea máximo sin producir hemólisis. Tal calibración utiliza normalmente seis determinaciones de micro hematocrito por duplicado de acuerdo a la siguiente tabla:

Minutos	Tubo A	Tubo B
2	48	47
3	46	46
4	45	44
5	44	44
6	44	44
7	43	44

Interpretación de Resultados :

Calibración mecánica:

- El criterio de aceptación para la verificación del reloj y la velocidad de la centrifuga, varía de acuerdo al tiempo y velocidad del centrifugado, sin embargo en forma genérica se acepta una desviación máxima de 5% en cada una de estas pruebas.
- Se considera que la temperatura de la centrifuga es correcta si esta no varía en 1 °C con respecto a la temperatura que registra el termómetro certificado.
- Centrifuga de Microhematocrito.
El tiempo óptimo de centrifugado se define como aquel en el que se obtiene el mejor producto en el menor tiempo posible. De acuerdo a los resultados obtenidos se determina este tiempo y se acepta la calibración.

CALIBRACION DE PIPETAS.

Objetivo :

Obtener le volumen exacto durante la medición de esté en las pipetas.

Materiales :

- Vaso de precipitados de 50 ml.
- Balanza granataria.
- Pipetas
- Gasas.

Procedimiento:

- 1.- Pesar un vaso de precipitado de 50 ml. y apuntar el peso.
- 2.- Seleccionar la pipeta que no esta despuntada.
- 3.- Llenar la pipeta arriba de la marca de calibración con agua destilada.
- 4.- Limpiar la pipeta por fuera con una gasa seca, y quitar el excedente tocando la punta de la pipeta.
- 5.- Descargar el agua en el vaso previamente pesado con una caída normal (no soplar).
- 6.- Pesar el frasco con el agua. Anotar.
- 7.- Anotar la temperatura ambiente.
- 8.- Mantener la temperatura constante e igual a la indicada en la pipeta durante todo el procedimiento de pipeteo.
- 9.- Se calcula el peso del agua
- 10.- El volumen de la pipeta se calcula dividiendo el peso del agua (en mg) por el factor dependiente de la temperatura (según tablas).
O también :
Dividiendo el peso del agua por el peso específico de la misma a esta temperatura (la del ambiente medida)

Cálculos:

$$\frac{\text{Peso del agua}}{F} = \text{volumen de agua}$$
$$\text{Volumen} = \frac{\text{Peso del agua}}{\text{Densidad del agua}}$$

TABLA DE CONVERSION

Calibración de Pipetas.

El volumen de la pipeta (en ml.) se calcula dividiendo el peso del agua (en mg) por uno de los factores de la tabla adjunta (factor a) dependiendo de la temperatura.

Temperatura °C	Factor a
18	0.9986
19	0.9984
20	0.9982
21	0.9980
22	0.9978
23	0.9976
24	0.9973
25	0.9971
26	0.9968
27	0.9965
28	0.9963
29	0.9960
30	0.9957

La calibración debe ser por duplicado.

CALIBRACION DEL ESPECTROFOTOMETRO.

Introducción :

Las mediciones de lectura instrumental están sujetas a fuentes de errores determinados, hecho que debe tomarse en cuenta no importando que tan precisas y exactas sean las mediciones, por tanto es necesario usar procedimientos que reduzcan el error instrumental a un nivel que no sea significativo para la precisión y la exactitud del método utilizado. Existen varias pruebas que deben realizarse para verificar que el espectrofotómetro esta trabajando dentro de las especificaciones establecidas, lo que corresponde a efectuar la calibración del instrumento. Puesto que los errores instrumentales afectan a los sistemas químicos que obedecen la ley general de la fotometría, ocasionando desviaciones negativas a dicha ley, es importante realizar, periódicamente, la calibración del instrumento.

Objetivo :

- Obtener la correcta calibración del aparato para lograr tener las lecturas con el menor error posible.

Materiales:

- Espectrofotómetro (con cuvetas).
- Filtro de Didymium.

Procedimiento:

Antes de utilizar un instrumento este debe ser verificado y ajustado esto se hace por medio de la calibración. Para calibrar el espectrofotómetro se hace de acuerdo a los siguientes procedimientos.

Galvanómetro a Cero Mecánico.

- a) Conectar el espectrofotómetro, encienda y deje calentar 5 minutos. Gire el control grueso del galvanómetro hasta 100 % de T o cerca del 100% de T, con el control fino puede colocar exactamente el valor de 100% de T (esto se hace con el control fino pero sin llegar al límite de rotación del control).
- b) Inserte el adaptador de cuvetas, girando al ángulo correcto dentro del portaceldas, este debe coincidir con la marca en el aparato (el adaptador).

- c) El galvanómetro debe indicar exactamente 0% de T. Si no es así ajuste con la palanca de control Zero. El ajuste fino puede hacerse suavemente por movimiento en la escala ya sea a la derecha o izquierda.
- d) Quite el adaptador de cuvetas.

Calibración de Longitud de Onda.

Después de la instalación o transportación de un instrumento, o si la lámpara de extinción a sido cambiada o modificada, el procedimiento siguiente es adecuado para la calibración de la Longitud de Onda.

Este procedimiento esta basado en el uso del filtro de Didimium (Sdt) y a una longitud de onda de 585nm. El filtro de Didimium es usado frecuentemente para llevar a cabo la calibración de longitud de onda o según sea el caso verificarla.

Procedimiento:

- 1.- Limpiar ambos lados del filtro (siempre limpie las superficies del filtro con un paño suave antes de utilizarlo).
- 2.- Conectar el espectrofotómetro y dejar calentar por lo menos 5 minutos.
- 3.- Ajuste el galvanómetro a cero mecánico.
- 4.- Colocar el selector de longitud de onda exactamente a 585 nanómetros.
- 5.- Gire el filtro selector a posición visible. Inserte el filtro de Didymium en el portacuvetas con los ángulos rotados a 90°.
- 6.- Retire el filtro, cubra la abertura con la tapa especial del instrumento y ajuste el índice del galvanómetro a 0% de Transmitancia (blanco de aire).
- 7.- Ajustar con agua destilada a 100% de transmitancia (blanco de agua).
- 8.-Insertar el filtro de didimium en el portacuvetas y leer a 100% de transmitancia en 585nm. Si el color en el portaceldas se observa de color amarillo omite el paso siguiente. Si el color no es amarillo siga los pasos siguientes.
- 9.- Gire el tornillo de calibración hasta que la luz en el portaceldas sea amarilla
- 10.- Usando los controles grueso y fino ajuste el instrumento reduciendo la escala a 50 ó 60% de T (transmitancia).
- 11.- Anote el %T indicado en el control de longitud de onda si es realizado un cambio en la longitud de onda en un rango de 580 a 590nm (puede observarse un cambio o variación fuera de la escala en algunas longitudes de onda en este rango, si este cambio es grande esta indicando un error en la calibración de la longitud de onda).El mínimo cambio de

transmitancia que puede presentarse es de 1nm (585 1). Si esto no ocurre siga el siguiente paso.

- 12.- Gire dos veces lentamente el tornillo de calibración en dirección opuesta a las manecillas del reloj dando un cuarto de vuelta o hasta que aparezca el color amarillo.
- 13.- Si el mínimo cambio de %T encontrado es por debajo del valor de 585nm gire el tornillo de calibración en dirección opuesta a las manecillas del reloj por 5 ó 6 veces por cada nm de error en la calibración de la longitud de onda. Si el mínimo cambio observado es por arriba de los 585nm gire el tornillo de calibración en dirección a las manecillas del reloj 5 ó 6 veces por cada nm de error en la calibración de la longitud de onda.
- 14.- Repita los pasos 10 al 13 hasta obtener la lectura de 585 1nm .Una vez obtenido este valor se dice que el espectrofotómetro se encuentra calibrado en la longitud de onda.

EL MICROSCOPIO CORRECTAMENTE ENFOCADO.

Iluminación según Kohler.

VENTAJAS :

- Campo visual uniformemente iluminado.
- Imagen brillante, sin reflejo o deslumbramiento.
- Amplia protección de la preparación.

EXIGENCIAS :

- Diafragma de campo luminoso reproducido en la preparación
- Pupila del objetivo iluminada.

CONDICIONES PREVIAS :

- Condensador centrable y desplazable verticalmente.
- Lámpara con colector y diafragma Iris.
- Microscopio ZEISS.

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Subir completamente el condensador con la lente frontal introducida.
- 2.- Enfocar la preparación con los objetivos 6,3 ó 10.
- 3.- Observar y cerrar el diafragma de campo luminoso dispuesto en el pie del microscopio.
- 4.- Bajar algo el condensador, hasta obtener máxima nitidez de la imagen del diafragma.
- 5.- Centrar el diafragma de campo luminoso en el campo visual, recurriendo a los dos tornillos del condensador.
- 6.- Abrir el diafragma de campo luminoso casi hasta el borde del campo visual, centrarlo con exactitud y abrirlo hasta que desaparezca detrás del borde del campo visual.
- 7.- Regular el contraste de la imagen con la ayuda del diafragma del condensador.
- 8.- Comprobación: mirar sin ocular en el tubo.
La abertura visible del objetivo debería ser iluminada unas 3/4 partes.
- 9.- Regular la luminosidad de la imagen con filtros o bien con el voltaje de la lámpara.
- 10.- Al cambiar el objetivo solo adaptar el diafragma de campo luminoso al tamaño del campo visual y el diafragma del condensador a la abertura del objetivo.

ABREVIATURAS.

IFCC.....	Federación Internacional de Químicos Clínicos.
EPTRV.....	Expertos en Teoría de los Valores de Referencia.
ICSH.....	Comité Permanente de Estandarización en Hematología.
SCRV.....	Comité Permanente de Valores de Referencia.
C.C.....	Control de Calidad.
UMF No.75.....	Unidad de Medicina Familiar Número 75.
IMSS.....	Instituto Mexicano del Seguro Social.
Hb.....	Hemoglobina.
Hto.....	Hematócrito.
C.M.H.G.....	Concentración Media de Hemoglobina Globular.
Leuc.....	Leucocitos.
G.R.....	Glóbulos Rojos.
G.B.....	Glóbulos Blancos.
g/dl.....	gramos por decilitro.
%.....	por ciento.
No.....	Número.
págs.....	páginas.
ml.....	mililitros.
mm.....	milímetros.
E.D.T.A.....	Etilen-diamino-tetra-ácetico.
nm.....	nanómetros.