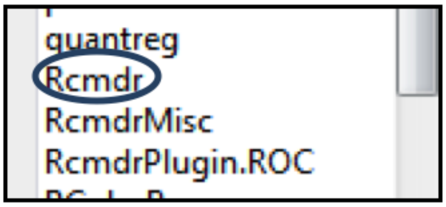
CASO PRÁCTICO: CÁLCULO DE LOS VALORES DE REFERENCIA

El presente trabajo consiste en determinar los valores de referencia para AST y ALT. Para ello vamos a estudiar 130 muestras seleccionadas en nuestro laboratorio de las solicitudes procedentes de los servicio de Medicina Preventiva y Riesgos Laborales, de los exámenes de salud solicitados.

En este caso vamos a valorar los valores de referencia de la ALT y os dejo a los participantes hacer lo mismo con la AST

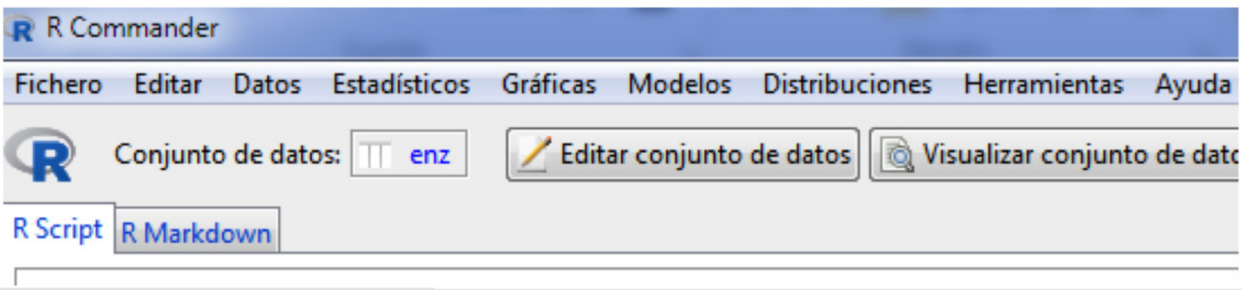
Nosotros procesamos la ALT en Advia 2400 de Siemens Medical Healthcare. En sus IFUs (Instruction for use) constan unos valores de referencia de 7 a 40 UI/L. El procedimiento de referencia de la IFCC, calcula estos valores como el percentil 97,5 %, siendo de 34 para mujeres (IC 90 % 31-36 UI/L) y de 45 UI/L para hombres (IC 90 % 42-45 UI/L). Por tanto queremos verificar si los datos que aporta el fabricante son correctos.

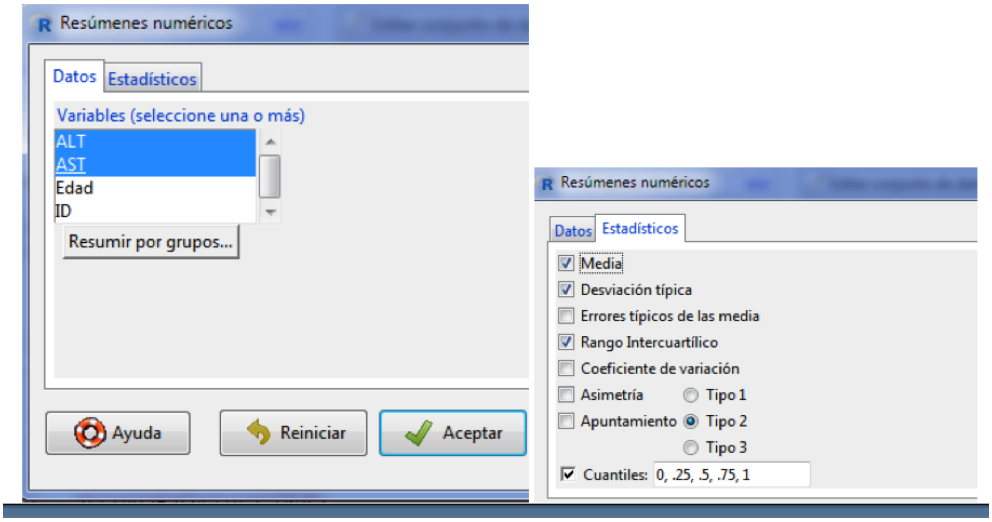
Como sabéis se define el rango de referencia según el CLSI como el percentil 95 central de la población sana, excluidos los "*outliers*". El trabajo nos lo planteamos al observar que el rango de normalidad definido en el IFU difería del que se describe en el documento de estandarización de estas enzimas de la IFCC



Para el estudio comenzamos cargando el archivo "astalt". Abrimos el programa de R, cargamos el Rcmdr, bien con el comando >library(Rcmdr) o bien con las pestañas de R paquetes→Cargar paquete,seleccionamos Rcmdr y nos aparecerá la venta de R Commander.

En esta nos vamos a la pestaña de Datos→Importar datos→Desde Excel... damos nombre a nuestro archivo (enz) y nos aparecerá el explorador. Buscamos nuestro archivo (astalt), y seleccionamos la hoja que queremos importar (en nuestro caso la "hoja 1"). Observamos que en la venta-na de "Conjunto de datos" aparece el nombre de nuestro archivo. Ya estamos listos para trabajar, vamos entonces a calcular el percentil 95, que será el percentil 0,25 por abajo y el 0,975 en el rango superior.





Para ello nos vamos a la pestaña Estadisticos→Resúmenes→Resúmenes numéricos, seleccionamos las variables que queremos estudiar, en nuestro caso ALT y AST, y a continuación seleccionamos la ventana estadísticos, y en esta ventana seleccionaremos los estudios que queramos obtener. Como podéis observar tenemos marcado la media, la desviación estándar el rango intercuartílico y los cuartiles, pero veréis que no figura el percentil 95, que es el que nos interesa. Para ello nos ponemos en la ventana de los cuartiles, borramos su contenido y escribimos “0,25 , 0,975”, con el ratón seleccionamos aceptar y el resultado es

```
+   quantiles=c(0.25,0.975))
         mean       sd 25%  97.5%   n
ALT 20.90769 7.442228  15 37.775 130
AST 21.99231 5.043218  19 32.775 130
```

Como podéis observar nuestros valores de referencia serian entre 15 y 37,8 para la ALT y 19 a 32,8 para la AST.

Ahora nos podríamos plantear si estos valores son válidos o habría que separarlos por género, como hace la IFCC. Para ello nos tenemos que plantear si la media de los hombres es igual a la de las mujeres. Nos planteamos nuestra hipótesis nula en la que abogamos por que no hay diferencias y la hipótesis alternativa que efectivamente afirme que hay.

Vamos a comparar las medias mediante la t de Student para muestras independientes. Para ello nos vamos a Estadisticos→Medias→test t para muestras independientes, seleccionamos la variable “género” y la variable “ALT” y le damos a aceptar, el resultado es el siguiente:

```
        Welch Two Sample t-test

data:  ALT by Género
t = -4.8033, df = 68.921, p-value = 8.778e-06
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -9.216564 -3.807279
sample estimates:
mean in group F mean in group M
       18.85393        25.36585
```

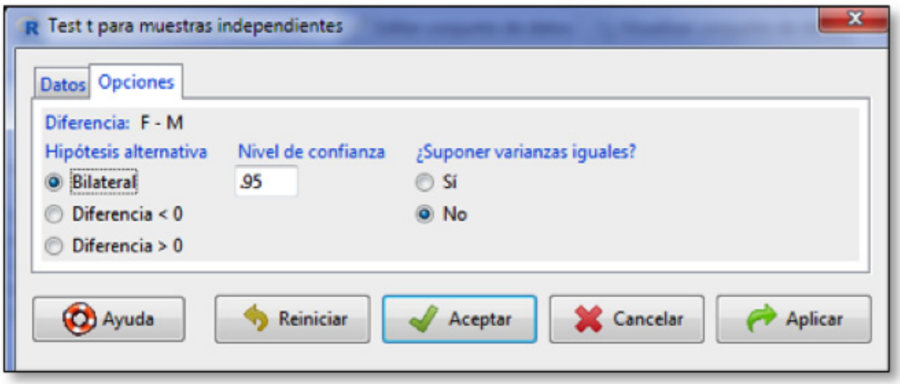
Como podéis observar las medias son diferentes; 18,9 para las mujeres y 25,4 para hombres, y las diferencias están con un 95 % de probabilidad de error entre -9,2 y -3,8. Dado que la P (p-value) es muy pequeña podemos rechazar la hipótesis nula y afirmar que habría que informar valores de referencia diferentes para hombres y mujeres.

Ya hablamos que para aplicar este test necesitábamos dos condiciones saber si las varianzas son iguales y si cumple los criterios de distribución normal.

Para estudiar la varianza acudimos a Estadisticos→Varianzas→test de Levene, seleccionamos las variable género y ALT y el resultado que obtenemos es el siguiente:

```
> leveneTest(ALT ~ Género, data=enz, center="median")
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = "median")
       Df F value Pr(>F)
group   1  1.0961 0.2971
      128
```

Como podéis observar la P es bastante grande (0,3). Por tanto si rechazamos la hipótesis nula cometemos un gran error. El resultado pues es que las varianzas son iguales. Por tanto al calcular la t de Student tenemos que decirle a R que las varianzas son iguales. Esto se hace en la pantalla del cálculo de la t de Student para muestras independientes marcando la pestaña opciones



Habría que seleccionar “Sí” a la pregunta ¿Suponer varianzas iguales? El resultado es el siguiente:

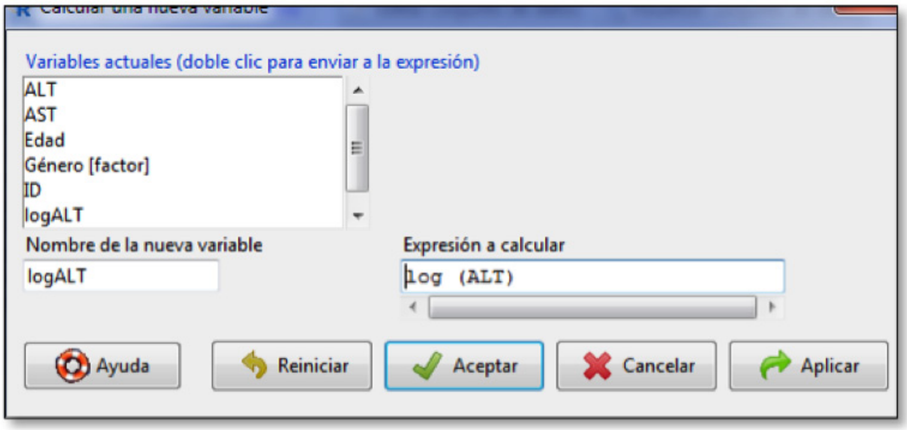
```
        Two Sample t-test

data:  ALT by Género
t = -5.0583, df = 128, p-value = 1.433e-06
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -9.059221 -3.964621
sample estimates:
mean in group F mean in group M
       18.85393        25.36585
```

Nos quedaría valorar la hipótesis de normalidad. Esto lo hacemos mediante el test de Shapiro, en el que se asume que la hipótesis nula es la normalidad. Para ello nos vamos a Estadisticos→Resúmenes→Test de normalidad de Shapiro Wilk… El resultado es el siguiente:

```
        Shapiro-Wilk normality test

data:  ALT
W = 0.94799, p-value = 7.966e-05
```

P es bastante pequeña por lo que rechazamos la hipótesis nula o lo que es lo mismo decir que la distribución no es normal, lo que nos invalida el test de Student. En principio tendríamos que acudir a un método no paramétrico, pero estos, son métodos menos robustos que los paramétricos. Para obviar el método no paramétrico, podemos transformar la variable, para intentar que tenga una distribución normal. En nuestro caso vamos a probar con una transformación logarítmica.

Vamos a crear una nueva variable que sea el logaritmo de la ALT. Ello lo conseguimos en Datos→Modificar variables del conjunto de datos→calcular una nueva variable, entramos en la siguiente pantalla:



Seleccionamos la variable ALT, le damos un nombre a la nueva variable (logALT) y en la casilla de expresión a calcular escribimos: log (ALT). Le damos a aceptar y observareis que tenemos una nueva variable, vamos pues a realizar el test de normalidad para esta nueva variable. El resultado es el siguiente:

```
        Shapiro-Wilk normality test

data:  logALT
W = 0.99299, p-value = 0.7682
```

La P ahora es muy alta y por tanto rechazamos la hipótesis alternativa o lo que es lo mismo afirmar que la distribución es normal

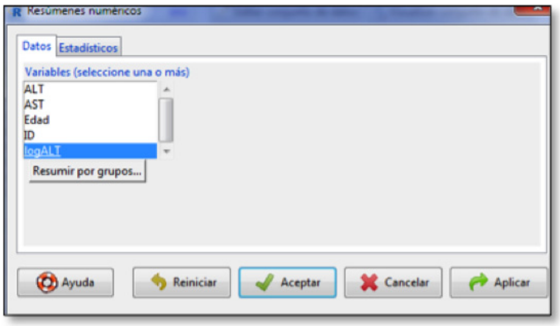
Ahora habría que valorar la varianza y el resultado sería:

```
> leveneTest(logALT ~ Género, data=enz, center="mean")
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = "mean")
       Df F value Pr(>F)
group   1  0.7805 0.3786
      128
```

Como podéis ver las varianzas son iguales y por tanto ahora si es posible aplicar la t de Student, para la variable logALT:

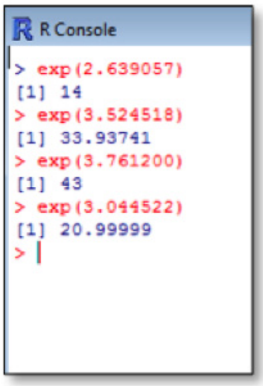
```
        Two Sample t-test

data:  logALT by Género
t = -5.118, df = 128, p-value = 1.103e-06
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -0.4301089 -0.1902653
sample estimates:
mean in group F mean in group M
       2.881564        3.191751
```

Las medias son diferentes por tanto concluimos que hay que separar los valores de referencia para hombres y mujeres y tendríamos que calcular los percentiles 0,25 y 0,975 separados para hombres y mujeres



Para ello nos vamos a estadísticos, resúmenes, resúmenes numéricos, y seleccionamos la pestaña de resumir por grupos. Se nos abre una ventana, seleccionamos "género", seleccionamos la variable logALT, y en opciones los percentiles 0,25 y 0,975. El resultado es el siguiente:

```
> numSummary(Enz2[,"logALT"], groups=Enz2$Genero, st
+   quantiles=c(0.25,0.975))
      mean        sd      25%    97.5% data:n
F 2.881564 0.3331061 2.639057 3.524518     89
M 3.191751 0.2929584 3.044522 3.761200     41
```



Los valores de referencia serian de 2,63 logUI/L. a 3,52 logUI/L para mujeres frente a 3,04 logUI/L a 3,76 logUI/L para hombres, pero estos son los logaritmos, ahora habría que calcular el exponencial, que lo podemos hacer usando la consola de R como calculadora, la función es "exp":

El resultado sería valores de referencia para mujeres de 14 UI/L a 34 UI/L y para hombres de 21 UI/L a 43 UI/L. Como podéis observar nuestro resultados coinciden plenamente con los aportado por la IFCC, en el caso de mujeres, y en el caso de los hombres, obtenemos dos puntos menos que lo que nos dice la IFCC, pero este resultado cae dentro del intervalo de confianza. Por tanto, podemos afirmar que los datos obtenidos coinciden con los que indica la IFCC y habría que comunicar al fabricante que modificara los datos que contiene su IFU

Quedaría hacer lo mismo para la AST.