



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
ESCUELA DE POSGRADO VICTOR ALZAMORA CASTRO

**EVALUACIÓN DEL PERFIL
HEMATOLÓGICO Y BIOQUÍMICO EN
GAMITANA (*COLOSSOMA
MACROPOMUM*) DE LA AMAZONÍA
PERUANA**

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRO EN
SANIDAD ACUÍCOLA

MVZ. ANA PAULA MINAYA IBÁÑEZ
LIMA – PERÚ

2018

RESUMEN

Se colectaron 30 muestras de sangre de Gamitanas (*Colossoma macropomum*) de un criadero ubicado en el km 34.2 de la carretera Iquitos-Nauta, se colocaron en tubos con heparina de litio. Se realizó el frotis de cada muestra y se fijó con metanol. Los peces fueron eutanasiados con metanosulfonato de triclaína para extraer las branquias y almacenarlas en envases de plástico con formol al 10%. La hematología se realizó manualmente usando los métodos: cianometahemoglobina, microhematocrito, recuento eritrocitario y leucocitario con el dilutor Natt&Herrick y diferencial leucocitario con tinción Giemsa, para evaluar también la presencia de hemoparásitos. Los índices hematimétricos se calcularon usando fórmulas validadas (Wintrobe, 1934). El análisis bioquímico se realizó con la máquina automatizada AbaxisVetScan2 y rotores perfil ave/reptil de 12 analitos. El análisis tanto de las branquias como de los frotices sanguíneos no evidenció presencia de parásitos. Los resultados hematológicos muestran confiabilidad moderada con coeficiente de variación entre 10% y 20%, así como también los siguientes analitos: aspartato aminotransferasa, ácido úrico, calcio, proteínas totales, albúmina, globulinas y potasio y una alta confiabilidad para ácidos biliares y sodio con coeficiente de variación inferior a 10%. Los resultados obtenidos de los analitos creatin quinasa, fósforo y glucosa fueron de baja confiabilidad con un coeficiente de variación superior a 30%.

Palabras clave: hematología, Gamitana, bioquímica

ABSTRACT

Thirty blood samples of Gamitana (*Colossoma macropomum*) from a hatchery located in the Iquitos-Nauta highway (km 34.2) were collected in tubes with lithium heparin. Smear of each sample was fixed with methanol. Fish were euthanized with methanesulfonate tricaine and gills preserved in plastic containers with formaldehyde 10%. Hematology was performed manually by method of cyanmethemoglobin, microhematocrit, erythrocyte and leukocyte count using the Natt Herrick dilutor and leukocyte differential with Giemsa stain, which was also used to evaluate the presence of hemoparasites. The hematimetric indices were calculated using validated formulas (Wintrobe, 1934). For biochemical analysis, the Abaxis VetScan 2 automated machine was used with avian/reptile profile rotors for 12 analytes. Analysis of both gills and blood smears did not show parasites. Results of the haematological panel showed a moderate reliability with a coefficient of variation between 10 and 20%, as well as the following analytes of the biochemical panel: aspartate aminotransferase enzyme, uric acid, calcium, total protein, albumin, globulin and potassium and a high reliability for bile acids and sodium with coefficient of variation less than 10%. The results obtained for creatine kinase, phosphorus and glucose showed low reliability with a coefficient of variation higher than 30%.

Keywords: hematology, biochemistry, *Colossoma*

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	Pág. 1
2. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	
2.1 Planteamiento del problema.....	Pág. 4
2.2 Marco teórico.....	Pág. 5
2.3 Justificación del estudio.....	Pág. 10
2.4 Objetivos	
2.4.1 General.....	Pág. 11
2.4.2 Específicos.....	Pág. 12
3. METODOLOGÍA	
3.1 Diseño del estudio.....	Pág. 13
3.2 Población.....	Pág. 14
3.3 Muestra.....	Pág. 15
3.4 Operacionalización de variables.....	Pág. 16
3.5 Procedimientos y técnicas	
3.5.1 Toma de muestras.....	Pág. 17
3.5.2 Procesamiento de muestras.....	Pág. 19
3.6 Consideraciones éticas.....	Pág. 22
3.7 Plan de análisis.....	Pág. 23
4. RESULTADOS.....	Pág. 24
5. DISCUSIÓN.....	Pág. 29
6. CONCLUSIONES.....	Pág. 39

7. RECOMENDACIONES.....	Pág. 40
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	Pág. 41
9. ANEXOS	

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de variables.....	Pág. 16
Tabla 2. Valores del perfil hematológico de Gamitana.....	Pág. 26
Tabla 3. Valores del diferencial leucocitario de Gamitana.....	Pág. 27
Tabla 4. Valores del perfil bioquímico de Gamitana.....	Pág. 28

ASESOR DE TESIS

Marcos Enrique Serrano Martínez

A mi amada familia por el apoyo incondicional que me ha brindado durante estos años.

AGRADECIMIENTOS

- Agradezco a Cienciaactiva del CONCYTEC por el apoyo financiero brindado al programa de Maestría en Sanidad Acuícola de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (Convenio de Gestión N° 230-2015 FONDECYT), que permitió los análisis y la capacitación técnica para la ejecución del estudio.
- Un agradecimiento especial a la Srta. Rosario Lapa, por ayudarme siempre amablemente con los trámites de la Universidad
- Deseo agradecer también a mi colega y amiga Stefanie Garro por brindarme su ayuda de forma voluntaria para la toma de muestras de mi Tesis.

1. INTRODUCCIÓN

La evaluación de las características sanguíneas puede brindarnos información complementaria para poder hacer un diagnóstico o para pronosticar la morbilidad en una población, adicionalmente, sirve para identificar situaciones de estrés y como control de enfermedades que puedan surgir a partir de éste, con el objetivo de mantener un estado de salud óptimo en los peces (Centeno *et al.*, 2007). Las variaciones de los parámetros hematológicos como hematocrito, leucocitos, recuentos celulares y concentración de hemoglobina pueden ser utilizados como indicadores de contaminación y disfunción orgánica por estrés (Valenzuela *et al.*, 2003). Los parámetros hematológicos y la química sanguínea suelen ser herramientas para identificar rápidamente alguna alteración fisiológica que pueda afectar la salud de los peces; más aún en la actualidad, donde es común el cultivo intensivo, que aumenta la susceptibilidad a infecciones, enfermedades nutricionales y diversas reacciones al ambiente (Sadnes *et al.*, 1988). Se ha demostrado que los peces sufren variaciones considerables de los valores hematológicos después de la captura y el estrés, afectando principalmente la concentración de hemoglobina, el tamaño de los eritrocitos, la concentración y las fracciones proteínicas del plasma (Salazar *et al.*, 2011). La Gamitana, *Colossoma macropomum*, es una especie endémica de la cuenca amazónica, pertenece al orden de los Carácidos, el de mayor diversidad de especies piscícolas de agua dulce en Sudamérica (Aliaga, 2004). Está ampliamente distribuida en América del Sur y es muy abundante en las cuencas de los ríos Amazonas y Orinoco (Salazar *et al.*, 2011). La Gamitana es considerada el carácido más grande de la Amazonía (Baca, 2015), Esta especie es conocida como “Gamitana” en Perú,

“cachama” en Venezuela y Ecuador, “cachama negra” en Colombia y “tambaqui” en Brasil (Vinatea, 2005). Actualmente, constituye una especie de valor comercial en la acuicultura de países de Sudamérica, siendo considerada una especie resistente al manejo y enfermedades (Tomalá *et al.*, 2014). , puede alcanzar hasta 90 centímetros de longitud y 30 kilos de peso y es altamente apreciada en el mercado amazónico, siendo considerada un pez de consumo de alta calidad (Gomes *et al.*, 2006) Sin embargo, debido a su gran demanda, la población de Gamitanas ha sufrido una reducción en la región amazónica (Santos y Santos, 2005). El cultivo de la Gamitana es entonces una solución a la sobre explotación en distintos ríos de la amazonia y por eso se ha convertido es una de las especies cultivadas con más frecuencia (Alcántara *et al.*, 2003). La explotación intensiva permite el manejo de grandes densidades de individuos por unidad de área, este tipo de manejo frecuentemente conlleva a un desbalance entre patógenos y hospedero, consecuentemente resulta en la emergencia de enfermedades infecciones y parasitarias, que pueden causar varios problemas desde enlentecer el crecimiento, reducir parámetros de fertilidad hasta la aparición de epidemias severas que resultan en alta mortalidad (Scholz, 1999). La evaluación de los parámetros hematológicos puede servir para diagnosticar enfermedades y monitorear el estado fisiológico y sanitario de los peces. En la amazonia peruana, los parásitos son los principales organismos que perjudican a los peces (Soberon *et al.*, 2014). Dentro de los parásitos reportados en Gamitanas por el FONDEPES (Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero, 2014) tenemos: *Ichthyophthirius multifiliis*, protozoo ciliado que causa la “enfermedad del punto blanco”, el *Dactylogirus* sp. y otros tremátodes monogeneos como *Cleidodiscus*, *Ancyrocephalus*, *Neogyrodactylus*,

Gyrodactylus, Gyrodactyloides, que infestan la piel, aletas y branquias, causando destrucción de las laminillas branquiales y *Perulernaea Gamitanae*, copépodo que parasita las fosas nasales y parte superior interna de la boca de las Gamitanas, causando una enfermedad conocida como “Lerniasis”. Según Ruane *et al.* (2000) en tal sentido, en el cultivo intensivo y semi intensivo, estas alteraciones pueden afectar la resistencia natural de los peces contra los parásitos. Actualmente los estudios relacionados con la Gamitana (*Colossoma macropomum*) en Perú se limitan a abordar aspectos biológico-pesqueros, como edad y crecimiento, madurez sexual, hábitos alimenticios y dinámica poblacional. Sin embargo, son escasos los trabajos publicados que muestren el estado de salud de *Colossoma macropomum* en criaderos, basándose en la valoración sanguínea y bioquímica como indicadores de vulnerabilidad por lo tanto resulta de gran importancia determinar las características hematológicas y bioquímicas de esta especie, con la finalidad de asegurar un buen estado sanitario y equilibrio metabólico.

2. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El hemograma y el perfil bioquímico, son algunas de las pruebas de laboratorio que se pueden usar para evaluar el estado sanitario de los peces, la información sanguínea es frecuentemente utilizada para obtener un panorama de la condición fisiológica de los peces en los centros de cultivo, principalmente a nivel internacional. Una de las razones por las que no se realiza esta práctica en nuestro país es la inversión para llevar a cabo la toma y procesamiento de muestras, se requiere de personal capacitado y equipos modernos que permitan la obtención de resultados rápidamente, ya que el tiempo es crítico a niveles productivos y puede ser perjudicial en el plano económico para los piscicultores de la amazonía. Por otro lado, algunos valores de referencia para ciertas especies aún no han sido determinados, por lo que la posibilidad de evaluar la composición sanguínea y otros analitos se ve limitada a pesar de ser considerados buenos indicadores del equilibrio homeostático de los peces ya sea en su hábitat natural o en confinamiento (De Pedro *et al.*, 2004). Existen algunos trabajos sobre los parámetros hematológicos de la especie en ambientes naturales, sin embargo, son escasos los trabajos publicados sobre esta especie en centros piscícolas (Salazar *et al.*, 2011).

2.2 MARCO TEÓRICO

La Gamitana, tambaqui o cachama pertenece a la clase Actinopteygii, orden Characiformes, familia Serrasalmidae. Es una especie nativa de la cuenca amazónica sudamericana, posee hábitos solitarios aunque migra en grupos grandes (Goulding y Carvalho, 1982). En temporada no reproductiva los adultos se sitúan en bosques inundados entre 4 a 7 meses y cuando el nivel de agua decrece, migran a los canales principales de los ríos donde desovan entre Noviembre y Febrero, para luego separarse y volver a los bosques inundados. La madurez sexual se alcanza a los 60cm aproximadamente (Araujo y Ruffino, 2003). La dieta de la Gamitana consiste en frutas y semillas, principalmente de especies angiospermas y herbáceas. En un estudio durante época de creciente, es decir, temporada lluviosa donde aumenta el caudal del río, el 78 a 98% de la dieta fueron frutas (Lucas, 2008). Otro estudio sobre el contenido estomacal de 138 especímenes durante la misma época encontró que el 44% del peso fue frutas y semillas, 30% zooplancton, 22% arroz salvaje y en menores cantidades insectos, caracoles, langostinos, pequeños peces y algas filamentosas (Goulding y Carvalho, 1982). La producción mundial de Gamitana expresada en toneladas en el año 2009 fue de 60.244 TM, cuyo valor total de cosecha se estima en \$135 millones de dólares. Los países con mayor participación son Brasil 77,11%, Colombia 14,91%, Venezuela 6,63%, Perú 0,94%, Bolivia 0,4% (FAO, 2009). Para el año 2015, la producción mundial de peces de agua dulce fue de 44, 046, 063 TM (FAO, 2015). Las principales regiones productoras de Gamitana en Perú en el año 2014 fueron San Martín 56,03% y Loreto 24,46% y en menor porcentaje Ucayali 11,26%,

Amazonas 7,21% y Madre de Dios 1,04%, alcanzando una cosecha de 504 TM (PRODUCE, 2014). Se ha evidenciado un crecimiento exponencial para el año 2015 con una producción de 298,50 TM, desglosado por departamentos tenemos Amazonas 0,12 TM, Loreto 62,67 TM, Madre de Dios 9,14 TM, San Martín 190,48 TM y Ucayali 27,91 TM (PRODUCE, 2015). Uno de los primeros trabajos dedicados a determinar las características hematológicas de la Gamitana fue el realizado por Tavares-Dias *et al.* (1999), para esto se enfocó en la serie leucocitaria de 30 individuos de un año de edad mantenidos en un sistema de monocultivo intensivo, dando como media aritmética $2663 \pm 1288 \mu\text{l}$ para el número de leucocitos y en el diferencial con los siguientes valores: neutrófilos $1566.2 \pm 754 \mu\text{l}$, linfocitos $973.6 \pm 447 \mu\text{l}$, monocitos $86.7 \pm 123 \mu\text{l}$ y células granulocíticas $7.8 \pm 144 \mu\text{l}$, donde todas las células fueron morfológicamente similares a las observadas en otros teleósteos brasileños descritos en la literatura. Luego, tenemos el trabajo publicado por Tavares-Dias *et al.* (2001), donde se evaluó la respuesta fisiológica de la Gamitana ante el estrés agudo por captura y manipulación, para lo cual tomaron muestras de sangre de 30 especímenes de un centro piscícola en la ciudad de Sao Paulo, Brasil, observando que el número de eritrocitos, leucocitos, hematocrito, hemoglobina, volumen corpuscular medio (VCM), glucosa y cortisol presentaron variaciones antes y después mientras que no hubo variación para el recuento de monocitos, concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) y células granulocíticas. Centeno *et al.* (2007) estudió en Gamitana las características hematológicas vinculadas con la condición sanitaria de los peces, para ello utilizó 30 ejemplares para cada categoría: reproductores, juveniles y

alevines, los cuales fueron mantenidos en condiciones de cautiverio en lagunas de una estación experimental en el estado de Delta Amacuro en Venezuela. Las variables del perfil hematológico que se incluyó en la investigación fueron el hematocrito, hemoglobina, número de eritrocitos y leucocitos y finalmente los índices hematimétricos. Sus resultados evidenciaron diferencias significativas entre grupos, principalmente entre alevinos - juveniles y alevinos – reproductores para el hematocrito y concentración de hemoglobina. El índice de concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) fue de mucha confiabilidad con valores comprendidos entre 33.27 – 33.34 g/dL, los datos de hematocrito para alevinos entre 28.58 – 31.16%, juveniles 30.70 – 32.84% y adultos 30.66 – 36.74%, mientras que los valores de hemoglobina para alevinos fueron 9.51 – 10.37 g/dL, juveniles 10.22 – 10.92 y adultos 10.77 – 12.15 g/dL. En otro estudio , se evaluaron los parámetros hematológicos en la respuesta inmune inespecífica de la Gamitana expuesta a cadmio (Salazar-Lugo *et al.*2011) , donde se estudiaron las variables de hemoglobina, hematocrito, número de eritrocitos, hemoglobina corpuscular media, volumen corpuscular medio y concentración de hemoglobina corpuscular media en 110 ejemplares juveniles con tallas de 13.46 ± 0.5 cm de largo y 40.69 ± 0.1 g de peso, en el grupo control obtuvo los siguientes resultados: hemoglobina 3-7.5g/dL, hematocrito 8-22%, VCM (fl) 295 ± 26 , HCM (pg) 122 ± 87 , CHCM (%) 33 ± 1 y para los valores absolutos de leucocitos expresado en células/ml: linfocitos 8299 ± 4575 , neutrófilos 1245 ± 905 , eosinófilos 0-253 y monocitos 0-286. Salazar-Lugo *et al.* (2012) reportó un trabajo sobre la morfología y citoquímica de leucocitos de Gamitana en Venezuela, para lo cual

examinaron frotices sanguíneos pudiendo visualizar seis tipos de leucocitos: granulocitos I y II, basófilos, eosinófilos, linfocitos, monocitos y plasmocitos o células inmaduras, los valores observados fueron para linfocitos 19%, granulocitos tipo I 18% y monocitos y basófilos 0-2% y plasmocitos 2%. Entre los estudios más destacados publicados recientemente se encuentra el de Pinheiro *et al.* (2015) donde evaluaron parámetros del perfil hematológico y bioquímico en Gamitana alimentada con diferentes concentraciones de una dieta homeopática, cuya población control obtenida de centros de cultivo en Macapá, Brasil, que no fue alimentada con el producto comercial Homeopatila 100 presentó los siguientes valores: glucosa 93.4 ± 5.4 mg dl⁻¹, proteína 3.6 ± 0.5 mg dl⁻¹, hematocrito $19.7 \pm 1.5\%$, hemoglobina 7.2 ± 1.3 g/dl⁻¹, recuento total de eritrocitos $0.99 \pm 0.17 \times 10^6/\mu\text{l}^{-1}$, volumen corpuscular medio 204.5 ± 33.9 fl⁻¹, concentración de hemoglobina corpuscular media 36.8 ± 6.1 g/dl⁻¹, trombocitos 19.000 ± 6577 μ^{-1} , leucocitos 48.877 ± 9706 μ^{-1} , linfocitos 20.938 ± 5151 μ^{-1} , monocitos 18.397 ± 6083 μ^{-1} , neutrófilos 4589 ± 2927 μ^{-1} y eosinófilos 3269 ± 2494 μ^{-1} . Dentro de los hemoparásitos que se pueden encontrar en peces figuran Haemogregarina, cuyo ciclo de vida es aún desconocido, pero se considera un hallazgo accidental usualmente en peces en hábitat natural, son causantes de anemia y granulomas en órganos internos y posiblemente tenga un hospedero intermediario como sanguijuelas o copépodos (Roberts, 2001), otro hemoparásito importante es Trypanosoma, descrito por primera vez por Gruby en 1843, posee un cuerpo esbelto, elongado con flagelo libre y membrana ondulante, las sanguijuelas sirven de vectores y pasan los tripomastigotes infecciosos al pez al picarlos (Rowley,

1988), *Cryptobia* es un género de hemoparásitos biflagelados con forma triangulada elongada, también tiene como vector a la sanguijuela por lo tanto la transmisión es horizontal (Kuperman *et al.*, 2002; Bruno *et al.*, 2006). Otro estudio que evidencia la importancia de los parámetros hematológicos como reflejo del estado funcional de los peces y como herramienta diagnóstica para parasitosis es el llevado a cabo en bagres, donde se observó que hubo variaciones significativas en los valores entre la población infestada y no infestada, uno de los principales indicadores de presencia de parásitos fue la eosinofilia, seguido de linfocitosis y disminución de hemoglobina y número de eritrocitos (Nnabuchi *et al.*, 2015). Con estos antecedentes, resulta evidente que estas herramientas son efectivas para diagnosticar parasitosis.

2.3 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Debido al incremento del cultivo de Gamitana en el país (*Colossoma macropomum*), resulta importante conducir estudios para controlar los niveles de productividad y para evaluar la condición fisiológica de los peces. Muchas enfermedades parasitarias resultan ser perjudiciales ya que favorecen la aparición de otras infecciones y pueden conllevar a la muerte del animal, afectando la productividad de los centros de cultivo debido a las pérdidas económicas. Por esa razón la información sanguínea es usada cada vez más para las evaluaciones ictiopatólogicas ya que brindan información útil para pronosticar o diagnosticar morbilidad en una población.. Por esta razón se optó por realizar el perfil bioquímico usando la máquina automatizada VetScan2 de la empresa Abaxis, dentro de las ventajas que posee está el tiempo de procesamiento que es de 12 minutos y el tamaño de muestra utilizado en cada rotor (100µl). Ante la falta de investigaciones sobre las características del perfil hematológico y bioquímico en especies autóctonas en nuestro país y ausencia de reportes de hemoparásitos en Gamitanas de la amazonía peruana se consideró necesaria la ejecución de un estudio sobre la evaluación de estos parámetros, contribuyendo con el conocimiento técnico necesario para establecer los controles sanitarios.

2.4 OBJETIVOS

2.4.1 GENERAL

- Evaluar el perfil hematológico y bioquímico de la Gamitana (*Colossoma macropomum*) de la amazonía peruana en el Km 34.2 de la carretera Iquitos-Nauta, Loreto (Latitud 3°55'6.12"S y Longitud 73°21'47.19"O)

2.4.2 ESPECÍFICOS

- Determinar las características del perfil hematológico de la Gamitana cultivada en el Km 34.2 de la carretera Iquitos-Nauta, Loreto (Latitud 3°55'6.12"S y Longitud 73°21'47.19"O)
- Determinar las características del perfil bioquímico de la Gamitana cultivada en el Km 34.2 de la carretera Iquitos-Nauta, Loreto (Latitud 3°55'6.12"S y Longitud 73°21'47.19"O)
- Identificar parásitos en sangre y branquias de la Gamitana cultivada en en el Km 34.2 de la carretera Iquitos-Nauta, Loreto (Latitud 3°55'6.12"S y Longitud 73°21'47.19"O)

3. METODOLOGÍA

3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de tipo observacional descriptivo

3.2 POBLACIÓN

La población evaluada constituye el conjunto total de 50 individuos (*Colossoma macropomum*) de tamaño comercial de una edad promedio de 8 meses, provenientes del centro piscícola ubicado en la carretera Iquitos-Nauta, provincia de Maynas, departamento de Loreto, Perú, criados bajo las mismas condiciones: temperatura de agua 28°C, concentración de oxígeno disuelto 6.8mg/L y pH 7.1, durante el mes de Mayo (otoño) del 2017, con temperatura promedio de 29°C, con una variación de temperatura anual de 22°C a 32°C (SENAMHI, 2017).

3.3 MUESTRA

La muestra constituye el subconjunto de individuos de Gamitana que fueron colectados en una unidad de cultivo ubicada en el km34.2 de la carretera Iquitos-Nauta, departamento de Loreto. Se muestrearon en total 30 individuos de acuerdo al Teorema del Límite Central, el cual señala que el mínimo de muestras recolectadas para obtener una distribución normal debe ser igual o mayor a 30 (Alvarado y Batanero, 2008). Las Gamitanas muestreadas tenían un peso promedio de $820\text{g} \pm 14.5$ y una longitud promedio de $24\text{cm} \pm 2.1$.

3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 1. Operacionalización de variables

VARIABLES	CLASIFICACIÓN DE LA VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	TIPO DE VARIABLE	UNIDAD DE MEDIDA
Hemoglobina (Hb)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	g/dL
Hematocrito (Ht)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	%
Recuento de eritrocitos	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	$\times 10^9/\mu\text{l}$
Recuento de leucocitos	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	$\times 10^3/\mu\text{l}$
Diferencial leucocitario	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	%
Volumen corpuscular medio (VCM)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	fL
Hemoglobina corpuscular media (HCM)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	pg
Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	g/dL
Aspartato aminotransferasa (AST)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	U/L
Ácidos biliares	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	$\mu\text{mol/L}$
Creatin quinasa (CK)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	U/L
Ácido úrico	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	mg/dL
Glucosa	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	mg/dL
Fósforo (P)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	mg/dL
Calcio (Ca)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	mg/dL
Proteínas totales	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	g/dL
Albumina	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	g/dL
Globulina	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	g/dL
Potasio (K)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	mmol/L

3.5 PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS

3.5.1 Toma de muestras

En la recolección de muestras los peces fueron capturados uno por uno con red de pescar y colocados en bateas de plástico de 1 metro de diámetro, la sujeción e inmovilización fue con ayuda de un paño húmedo para evitar que el individuo resbale. Las muestras de sangre fueron extraídas mediante punción de la vena caudal, para ello se inyectó la aguja en la línea media ventral posterior a la aleta anal, se atravesó el músculo hasta llegar a la columna vertebral y ubicar la vena caudal, el proceso se realizó en un lapso de tiempo no mayor a 60 segundos por cronómetro para evitar el estrés en los individuos (Barton y Zitzow, 1995; Davis y Schreck, 1997), se usaron jeringas de 3ml de las cuales se tomó una gota para realizar el frotis sanguíneo de cada muestra y fijarlos con metanol. El resto del contenido fue vertido en tubos de heparina de litio, anticoagulante recomendado por la empresa Abaxis para hacer uso de los rotores en la máquina automatizada VetScan2 (Abaxis Inc WebSite, 2006), por otro lado la hemólisis de eritrocitos es posible en algunas especies de peces al usar EDTA como anticoagulante (Walsh y Luer, 2004). Estos fueron almacenados en una caja de poliestireno hasta ser llevados al Laboratorio de Patología Clínica. Los peces fueron sacrificados después de la toma de muestras mediante sobredosis de metanosulfonato de triclaína, cuyo mecanismo de acción es la prevención de la generación y conducción de impulsos nerviosos (Gleed y Ludders, 2001), actuando directamente sobre el sistema nervioso central, sistema cardiovascular, uniones neuromusculares y sinapsis de ganglios y que luego es metabolizado por el hígado

y una fracción por los riñones, sangre y músculo, siendo la conjugación y la hidrólisis las principales vías metabólicas - según el protocolo descrito por Hinostroza y Serrano (2013). Los peces fueron introducidos en baldes de 10L de capacidad donde la triclaína fue disuelta a dosis de 250mg/L, y luego de un lapso de 10 minutos se procedió a la extracción de las branquias, las cuales fueron colocadas en envases de plástico de tapa ancha con formol al 10% para conservar la arquitectura del tejido y evitar la putrefacción, el fijador fue preparado de la siguiente manera: formaldehído al 40% 100 c.c y agua corriente 900 c.c, resultando en una concentración real de 4% ya que el formol llamado puro posee una concentración real de 40%. ANEXO 1.

3.5.2 Procesamiento de muestras

El procesamiento de las muestras fue realizado en los laboratorios de Parasitología y de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El recuento total de eritrocitos ($\times 10^6/\mu\text{L}$) y leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$) se determinó de manera óptica usando una cámara de Neubauer (Goldenfarb *et al.*, 1971) y dilutor Natt Herrick, para ello se colocó 0.5 de sangre en la pipeta de thoma y se completó hasta la mitad del bulbo de la pipeta con el dilutor Natt y Herrick, se dejó reposar 2 horas a temperatura ambiente y se procedió a echar una gota en la cámara de Neubauer para la observación microscópica a 40x. La fórmula utilizada para calcular el número de eritrocitos fue:

$$\text{Recuento de eritrocitos} = \# \text{células en 5 cuadrantes} \times 10\,000$$

Y para calcular el número de leucocitos se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Recuento de leucocitos} = (\# \text{células en 9 cuadrantes} + 10\%) \times 200$$

Para el diferencial de leucocitos los frotices sanguíneos fijados con metanol, fueron teñidos con solución Giemsa de la marca Biodis (Tavares-Dias y Moraes, 2006), tinción también óptima para la observación de hemoparásitos como Haemogregarina, Cryptobia y Trypanosoma. Los valores de hematocrito (%) se determinaron por el método de microhematocrito (Goldenfarb *et al.*, 1971) para lo cual se usaron capilares no heparinizados de la marca Biotech para absorber la muestra, luego se sellaron en la placa de cera para capilares de la marca Vitrex y

se colocaron en la máquina centrífuga Adams ct-2900 a 2000rpm durante 5 minutos, la lectura se realizó con la cartilla para microhematocrito VIN (Veterinary Information Network). La concentración de hemoglobina se realizó mediante la técnica de cianometahemoglobina usando el reactivo de Drabkin de la marca Biolabtest, se prepararon dos tubos, uno blanco conteniendo 5ml de reactivo y el tubo de muestra a razón de 20ul de sangre con 5ml de reactivo (Collier, 1944; Schoen y Solomon, 1962), luego se realizó la lectura en el espectrofotómetro de la marca Rayto calibrado a una absorbancia de 540nm. Los índices hematimétricos: volumen corpuscular medio (VCM) (fL), hemoglobina corpuscular media (HCM) (pg) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) (g/dL), se calcularon usando las siguientes fórmulas validadas (Wintrobe,1934); para el VCM se multiplica el hematocrito por 100 y el resultado se divide entre el número de eritrocitos, para el HCM se multiplica la hemoglobina por 100 y el resultado se divide entre el número de eritrocitos y para CHCM se multiplica la hemoglobina por 100 y el resultado se divide entre el hematocrito. El perfil bioquímico se determinó mediante el uso de rotores perfil ave/reptil para 12 analitos (AST, Ácidos biliares, creatin quinasa, Ácido úrico, glucosa, calcio, fósforo, proteínas totales, albúmina, globulinas, potasio y sodio), se tomaron 100ul del plasma obtenido luego de centrifugar a 2000 rpm durante 5 minutos en la centrífuga Tomos modelo 4000A y se colocó en el rotor que luego se analizó con la máquina automatizada Abaxis VetScan2. El análisis de branquias se hizo por observación microscópica a 40x en el microscopio de la marca Nikon modelo eclipse E100. El

examen de hemoparásitos se realizó mediante observación microscópica a 100x usando aceite de inmersión,

3.6 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El proyecto de investigación de la presente tesis, titulado “Evaluación del perfil hematológico y bioquímico de Gamitana *Colossoma macropomum* de la amazonía peruana” con código de Inscripción SIDISI 100153, fue aprobado en la sesión CIEA (Comité Institucional de Ética para el uso de animales) el día 08 de junio del 2017, por lo que los procedimientos desarrollados en la presente investigación están de acuerdo a lo estipulado en el protocolo del comité de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

3.7 PLAN DE ANÁLISIS

La información obtenida fue transferida a una base de datos en hojas de cálculo del programa Microsoft Excel 2010. Las variables consideradas en este estudio fueron: hemoglobina, hematocrito, número de glóbulos rojos y de glóbulos blancos, examen diferencial de leucocitos, volumen corpuscular medio, concentración de hemoglobina corpuscular media, aspartato aminotransferasa, ácidos biliares, creatin quinasa, ácido úrico, glucosa, fósforo, calcio, proteínas totales, albúmina, globulina, potasio y sodio. Los resultados fueron expresados según su unidad de medición. Se utilizó estadística descriptiva para resumir la información, empleando la media aritmética como medida de tendencia central y la desviación estándar con valores extremos como medidas de dispersión, adicionalmente se calculó el coeficiente de variación para determinar la confiabilidad de los resultados, tomando en cuenta la clasificación de Gomes (1984), valores bajos inferiores a 10% indican alta confiabilidad, valores medios comprendidos entre 10% y 30% indican moderada confiabilidad y valores altos superiores a 30% indican baja confiabilidad. Se realizó también la Prueba de Kolmogorov Smirnov para confirmar la normalidad de los datos (ANEXO 2).

4. RESULTADOS

Los resultados del panel hematológico muestran una confiabilidad moderada (Gomes, 1984) con un coeficiente de variación entre 10 y 20%, mientras que los valores obtenidos del panel bioquímico muestran una alta confiabilidad (Gomes, 1984) para ácidos biliares y sodio con coeficiente de variación inferior a 10% y una moderada confiabilidad en los siguientes analitos: Aspartato aminotransferasa, ácido úrico, calcio, proteínas totales, albúmina, globulinas y potasio. Por otro lado, se evidenció una baja confiabilidad para la enzima creatin quinasa, fósforo y glucosa, con un coeficiente de variación superior a 30%. Los promedios y desviación estándar del perfil hematológico fueron: recuento de eritrocitos $0.96 \pm 0.13 \times 10^6/\text{ul}$, recuento de leucocitos $13.77 \pm 2.27 \times 10^3/\text{ul}$, hemoglobina $10.77 \pm 2.15 \text{ g/dL}$, hematocrito $29.93 \pm 3.2 \%$, volumen corpuscular medio $316.17 \pm 43.66 \text{ fL}$, hemoglobina corpuscular media $112.95 \pm 19.76 \text{ pg}$ y concentración de hemoglobina corpuscular media $36.18 \pm 6.66 \text{ g/dL}$ (Tabla 2). Los promedios y desviación estándar de los valores de la fórmula leucocitaria fueron: neutrófilos $58.53 \pm 9.97 \%$, metamielocitos $1.73 \pm 2.35 \%$, abastionados $1.3 \pm 1.32 \%$, segmentados $55.5 \pm 9.39 \%$, linfocitos $35.77 \pm 9.24 \%$, monocitos $0.33 \pm 1.12 \%$ y eosinófilos $3.33 \pm 2.78 \%$ (Tabla 3). Los promedios y desviación estándar del panel bioquímico fueron: aspartato aminotransferasa $159.97 \pm 32 \text{ U/L}$, ácidos biliares $33.87 \pm 2.13 \text{ umol/L}$, creatinquinasa $1915.03 \pm 1452.49 \text{ U/L}$, ácido úrico $0.37 \pm 0.09 \text{ mg/dL}$, glucosa $75.47 \pm 49.92 \text{ mg/dL}$, calcio $12.93 \pm 1.6 \text{ mg/dL}$, fósforo $11.8 \pm 4.74 \text{ mg/dL}$, proteínas totales $4.18 \pm 0.58 \text{ g/dL}$, albúmina $2.52 \pm 0.42 \text{ g/dL}$, globulina

1.65±0.31 g/dL, potasio 3.03±0.87 mmol/L y sodio 148±11.12 mmol/L (Tabla 4). El examen de las branquias no evidenció presencia de parásitos. Se evaluaron 30 frotices sanguíneos de Gamitanas, ninguno resultó positivo a la presencia de hemoparásitos.

Tabla 2. Valores del perfil hematológico de Gamitana

Variable	Media ± DE	Rango	CV (%)
Eritrocitos (x10⁶/ul)	0.96 ± 0.13	0.66 - 1.16	13.54
Leucocitos (x10³/ul)	13.77 ± 2.27	10.25 - 19.36	16.49
Hemoglobina (g/dl)	10.77 ± 2.15	7.6 - 17.1	19.96
Hematocrito (%)	29.93 ± 3.2	24 - 35	10.69
VCM (fl)	316.17 ± 43.66	236.4 - 391.9	13.81
HCM (pg)	112.95 ± 19.76	85.74 - 157.32	17.49
CHCM (g/dl)	36.18 ± 6.66	23.29 - 49	18.41

Tabla 3. Valores del diferencial leucocitario de Gamitana

Variable	Media \pm DE	Rango
Neutrófilos (%)	58.53 \pm 9.97	45 - 82
Metamielocitos (%)	1.73 \pm 2.35	0 - 11
Abastionados (%)	1.3 \pm 1.32	0 - 4
Segmentados (%)	55.5 \pm 9.39	42 - 76
Linfocitos (%)	35.77 \pm 9.24	16 - 52
Monocitos (%)	0.33 \pm 1.12	0 - 6
Eosinófilos (%)	3.33 \pm 2.78	0 - 8

¹²³ **Tabla 4.** Valores del perfil bioquímico de Gamitana

Variable	Media ± DE	Rango	CV (%)
AST (U/L)	159.97 ± 32	113 - 258	20.00
Ác. Bil (umol/L)	33.87 ± 2.13	30 - 37	6.29
CK (U/L)	1915.03 ± 1452.49	1035 - 7296	75.85
Ac. Úrico (mg/dL)	0.37 ± 0.09	0.3 - 0.6	24.32
GLU (mg/dL)	75.47 ± 49.92	10 - 192	66.15
Ca (mg/dL)	12.93 ± 1.6	10.1 - 14.9	12.37
FOS (mg/dL)	11.8 ± 4.74	1.7 - 17.8	40.17
PT (g/dL)	4.18 ± 0.58	3.2 - 6.5	13.88
ALB (g/dL)	2.52 ± 0.42	2 - 4.4	16.67
GLOB (g/dL)	1.65 ± 0.31	1.1 - 2.5	18.79
K+ (mmol/L)	3.03 ± 0.87	1.5 - 4.5	28.71
Na+ (mmol/L)	148 ± 11.12	132 - 168	7.51

5. DISCUSIÓN

Los valores promedio de hematocrito, hemoglobina, recuento leucocitario y concentración de hemoglobina corpuscular media no difieren mucho del estudio realizado por Centeno *et al.*(2007), sin embargo para el recuento leucocitario se obtuvo un mejor grado de confiabilidad. Gomes (1984) señala que el coeficiente de variación por ser un número abstracto indica el grado de confiabilidad del experimento y está vinculado a la precisión con que se llevó a cabo, por tal motivo se incluyen los valores obtenidos en la discusión. El número de eritrocitos difiere ligeramente con Centeno *et al.* (2007) que obtuvo $1,19 \times 10^6/\mu\text{l}$ pero con un coeficiente de variación de 28,78%, el cual es moderado también. Las variaciones más notables en la serie eritrocítica fueron en el volumen corpuscular medio y la hemoglobina corpuscular media que evidencian mayor promedio pero igual grado de confiabilidad, sin embargo, se ha reportado mayor variabilidad en Gamitanas adultas, lo que pareciera indicar que es propio de las condiciones fisiológicas de esta especie. Tavares-Dias y Sandrim (1998) encontraron valores medios elevados de hemoglobina y hematocrito en Gamitanas mantenidas en diferentes ambientes, al encontrarse ciertas discrepancias con los resultados obtenidos se sugiere que las comparaciones de índices hematimétricos deben ser hechas bajo condiciones ambientales y etapa de crecimiento similar. Las variaciones inter-específicas en los parámetros hematológicos se han reportados para peces en hábitat natural (Vuren y Hattinhg, 1978; Ranzani-Paiva *et al.*, 1999). Por otro lado, los índices hematimétricos coinciden con los resultados de la población control del estudio

llevado a cabo por Salazar *et al.* (2011). Con respecto a los valores del diferencial de leucocitos, el porcentaje de monocitos y eosinófilos coincide con un estudio hecho en otra especie amazónica como el paiche (Serrano *et al.*, 2013), sin embargo la media aritmética obtenida de neutrófilos, abastionados, segmentados y linfocitos difiere con los estudios realizados por Tavares-Dias *et al.* (1999) y Pinheiro *et al.* (2015). Estas diferencias pueden verse influenciadas por las condiciones ambientales o ser atribuidas a factores como variación genética, estrés por captura y transporte (Kori-Siakpere, 1985; Tavares-Dias *et al.*, 2001; Svobodova *et al.*, 2001), así como también por procedimientos de muestreo sanguíneo (Lukosva, 1988; Tavares-Dias *et al.*, 1998). En peces, el recuento leucocitario es una herramienta importante para inferir sobre el estado sanitario debido a las diversas funciones que realizan estas células. Según Stosik *et al.*, (2001), los mecanismos de inmunidad específica en peces son significativamente menos desarrollados y juegan un papel menos importante que en otros animales como aves o mamíferos. Sin embargo, los peces poseen un sistema de resistencia no específico que juega un papel vital en la línea de defensa del organismo contra agentes patógenos (Passantino *et al.*, 2005). Los linfocitos están envueltos en diferentes funciones inmunes como la producción de inmunoglobulinas y modulación del mecanismo de defensa, los neutrófilos son los primeros leucocitos que fagocitan en respuesta a alguna infección, los monocitos son fagocitos que migran al lugar de inflamación durante un proceso infeccioso y los eosinófilos son células que participan en la defensa contra parásitos (Moura *et al.*, 1997; Ranzani-Paiva *et al.*, 2013; Santos y Tavares-

Dias, 2011). Diferentes tipos celulares han sido descritos en especies de teleósteos de esta familia (Tavares-Dias *et al.*, 2003) y de manera general con pequeñas variaciones para otros teleósteos marinos y dulceacuícolas (Silveira-Coffigny *et al.*, 2005; Galeano *et al.*, 2010). Comparando con el estudio realizado por Tavares-Dias *et al.*, (2001), los valores de hemoglobina, concentración de hemoglobina corpuscular media y glucosa coinciden con la población control antes de ser sometidas a un estrés agudo, los valores que difieren son volumen corpuscular medio y hematocrito posiblemente debido a la diferencia de edad en ambas poblaciones, siendo juveniles los muestreados en ese estudio. Otra observación interesante es el proceso de toma de sangre, para el cual en el presente estudio no se sometieron a anestesia ya que se realizó la colección en un período inferior a 30 segundos, mientras que el realizado por Tavares-Dias *et al.* (2001) se llevó a cabo en un lapso de 60 segundos, razón por la cual pueden también existir ciertas diferencias. Los principales cambios sanguíneos ante situaciones de estrés por captura y sujeción se ven reflejados en la serie leucocitaria, siendo el recuento de leucocitos, linfocitos y neutrófilos los más afectados, probablemente se deba a la migración leucocitaria desde el bazo a circulación, como ha sido observada en otras especies como *Limanda limanda* (Pulsford *et al.*, 1994), por otro lado, no existe diferencia significativa con respecto a los valores de monocitos y células granulocíticas post estrés. En cuanto al panel bioquímico, los resultados son comparables con el estudio de otra especie amazónica *Arapaima gigas* (Paredes *et al.*, 2013), donde la media aritmética de las proteínas totales coincide con el rango de este estudio.

presentase observa una gran diferencia con la enzima aspartato aminotransferasa (AST) y glucosa, siendo los resultados de moderada y baja confiabilidad respectivamente. La glucosa en el plasma de la Gamitana es responsable de proveer energía pero cuando los niveles de glucosa son altos puede ser un indicador importante en la producción de hormonas como cortisol y adrenalina relacionada al estrés por cautiverio (Gustavenson *et al.*, 1991). También se ha relacionado la hiperglicemia con la presencia de parásitos como es el caso de *Dolops carvalhoi* en un híbrido como la Pacotana (Tavares-Dias *et al.*, 2007) y en *Oncorhynchus mykiss* infectado con *lepeophtherius salmonis* (Ruane *et al.*, 2000). Otros estudios (Groff *et al.*, 1999; Hrubec *et al.*, 2000) han reportado concentraciones de glucosa tan bajas como 30mg/dL. Los analitos que evidenciaron gran confiabilidad fueron sodio y ácidos biliares. Existen reportes que indican que ciertos electrolitos como el potasio, sodio y cloro, junto con el nivel de proteínas totales no se ve afectado por la densidad de animales hasta de 3 peces/m² (Gusmao-Affonso, *et al.*, 2017). Se sabe que la concentración plasmática de proteína totales es un parámetro muy útil para la evaluación del estado nutricional y de salud en general de los peces (Rehulka, 1996; Rehulka, 1998), sin embargo para otros analitos si se han reportado diferencias estacionales y sexuales en otras especies como es el caso de *Tinca tinca*, lo cual indica que es posible que existan variaciones significativas y por lo tanto es necesario ejecutar más estudios para que se establezcan realmente los valores referenciales de la Gamitana. Para el caso de la medición de sodio, cabe mencionar que el analizador usa un colorímetro en lugar de un método

electroquímico lo cual puede hacer que disminuya la precisión de los resultados, sin embargo, se encontró un nivel alto de confiabilidad en el resultado; por otro lado, el anticoagulante de elección pudo haber influido en la conservación de las muestras, siendo reportado como mejor el de heparina de sodio (Groff, 1999), pero otros estudios demuestran que no afecta significativamente ya que la cantidad es mínima (Bolten, 1992). Reportes en especies ornamentales como el Koi indican niveles bajos de ácido úrico, debido a que los desechos nitrogenados en peces son excretados como amoníaco a través de las branquias (Palmeiro *et al.*, 2007). La mayoría de especies de peces poseen la enzima biliverdina reductasa, la cual convierte la biliverdina en bilirrubina. La presencia de bilirrubina circulante o biliverdina varía con la especie (Cornelius, 1991), poco se sabe sobre el metabolismo de ácidos biliares, ha sido reportada una variabilidad amplia en niveles pre y post pandriales en concentraciones séricas de ácidos biliares en Paco rojo *Colossoma brachypomum* sin un patrón de respuesta después de alimentarlos (Wagner *et al.*, 1996), por lo que se concluyó que los peces pueden continuamente secretar ácidos biliares al intestino, sin embargo se necesita más investigaciones para determinar si la concentración anormal es un potencial indicador de enfermedades hepatobiliares en peces. Por otro lado, se sabe que la enzima creatinquinasa es la más específica para señalar si existe un daño muscular, las altas actividades de esta enzima reflejada en los resultados probablemente sea secundario a la captura, manejo y venopunción. Otra enzima relacionada a este evento es la aspartato aminotransferasa, que ha evidenciado incremento a la

manipulación de las especies debido a un daño muscular (Harms *et al.*, 2005), además se reportó la enzima alanino aminotransferasa como la más específica para determinar la existencia de daño hepático, por lo tanto, no se debería diagnosticar esta condición basándose sólo en datos de la enzima aspartato aminotransferasa (Tripathi *et al.*, 2003). Otro analito que presentó un nivel de confiabilidad moderado fue el calcio, existen estudios que reportan altas concentraciones en especies de cultivo como la tilapia (Wagner *et al.*, 1996), y ornamentales como goldfish (*Carassius auratus*), también niveles altos han sido atribuidos secundariamente a procesos de hemólisis, que no queda descartado para el presente estudio ya que las muestras fueron transportadas vía aérea al lugar de procesamiento. Las ventajas de usar los rotores para el análisis del perfil bioquímico son la cantidad necesaria mínima de 0.1ml, el incremento del uso a nivel nacional e internacional, comodidad de procesamiento al ser automático y el tiempo de espera de resultados al ser 12 minutos, además es un equipo que puede usarse en campo, dentro de las desventajas tenemos que la evaluación del panel bioquímico se ve limitada a los analitos incluye el rotor elegido y a su rango de medición , ya que si algún resultado se encuentra fuera no será confiable (Abaxis Inc WebSite, 2006). Un aspecto adicional a considerar en la discusión es el tamaño de muestra, para este trabajo se optó por muestrear 30 ejemplares como mínimo basándose en el Teorema del Límite Central, el cual señala que esa cantidad es la mínima necesaria para que se obtenga una distribución normal (Alvarado y Batanero, 2008), por lo tanto es estadísticamente suficiente, también se buscó respaldo en otros estudios, uno de

ellos tenía como objetivo la caracterización morfológica y citoquímica de leucocitos de *Colossoma macropomum* para lo cual se extrajo sangre de 30 peces de la laguna Caigual en Venezuela sin hacer uso de anestésicos (Salazar-Lugo *et al.* 2012), otro tenía como objetivo determinar las características hematológicas que puedan vincularse para diagnosticar la condición de salud de *Colossoma macropomum* en tres categorías: reproductores, juveniles y alevines en el estado de Delta Amacuro, Venezuela para lo cual se colectaron 30 muestras de peces para cada etapa de crecimiento (Centeno *et al.*, 2007), otro estudio importante buscó las respuestas fisiológicas de *Colossoma macropomum* a estrés agudo para lo cual se colectaron 30 muestras de peces juveniles de un centro piscícola en Sertãozinho, Brasil (Tavares-Dias *et al.*, 2001), otro estudio llevado a cabo en trucha arco iris tuvo como objetivo establecer valores sanguíneos normales, para lo cual se muestrearon 35 especímenes con peso promedio de 420g y longitud promedio de 32.5cm cultivados en Cundinamarca, Colombia (Rodríguez, 1995) y, finalmente el estudio que tuvo como objetivo establecer intervalos de referencia para el perfil bioquímico en adultos de Koi utilizando entre 15 y 38 ejemplares (Palmeiro *et al.*, 2007). Con respecto a los resultados del análisis físico de branquias, existen estudios que reportan una baja incidencia para la infestación con monogeneos como *Anacanthorus spathulatus*, tal es el caso de Soberon *et al.* (2014), que reportó un 27.8% de parasitismo (50/180) en Gamitanas provenientes de un centro de cultivo ubicado en la carretera Iquitos-Nauta y sin lesiones aparentes como el presente estudio. Otro trabajo de investigación reporta que el parásito

encontrado con más frecuencia es *Ichthyophthirius multifiliis* con una prevalencia de 100% en Gamitanas de centros de cultivo de la localidad de Macapá, Amapá, Brasil (Pinheiro *et al.*, 2015). Adicionalmente, el manejo llevado a cabo en el centro de cultivo puede haber influenciado en los resultados del análisis parasitológico, tanto del examen físico de las branquias como de los frotices sanguíneos que no evidenciaron presencia de parásitos, ya que emplean cal como tratamiento de agua, siendo un producto que sirve para regular el pH aumentando la alcalinidad para evitar el crecimiento de ciertas bacterias o virus, los cuales son los agentes que favorecen la disminución de defensas en las especies, favoreciendo la infección parasitaria de aquellos organismos oportunistas (Cruz-Barreras *et al.*, 2001). Asimismo, la dieta empleada consiste en alimento flotante comercial (Purigamitana de la empresa Purina) de alta digestibilidad con 20% de proteína, 3% grasa, 7% fibra, humedad máxima de 14% y 10% de cenizas, posee un tamaño de partícula de 10mm y está elaborada específicamente para el engorde de peces amazónicos lo cual favorece su aprovechamiento y la conversión alimenticia, brindando los nutrientes necesarios para que se mantengan saludables. Por otro lado, el análisis del agua ejecutado con el multiparámetro Hach HQ40d, evidenció una concentración de oxígeno disuelto de 6.8mg/L, temperatura de 28°C y un pH de 7.1. La temperatura del agua obtenida se encuentra en el rango de temperatura de cultivo establecido para esta especie (Baca, 2015; PRODUCE, 2017). Los valores obtenidos de concentración de oxígeno disuelto y pH son considerados óptimos (Ascón, 1998; Baca, 2015), Para otras especies amazónicas del género

Piaractus se ha reportado mayor susceptibilidad a los factores ambientales, principalmente la temperatura del agua, relacionado a la presencia de parásitos en etapa de alevinaje (Dinis-Vásquez *et al.*, 2014), además está reportado que los serrasalmidos del género *Colossoma* poseen respiración branquial obligada incluso a concentraciones de oxígeno menores a 0.5 mg/L, también son capaces de utilizar el oxígeno de la capa superficial del agua para respirar, lo que les permite sobrevivir en ambientes con hipoxia inducida (Saint-Paul y Soares, 1987). Otro factor que puede haber contribuido a la ausencia de parásitos es la edad de las Gamitanas, al tratarse de juveniles de 8 meses de edad aproximadamente, el tiempo de exposición al ambiente es más reducido y las mallas mosquiteras que se colocan en las cochas sirven para evitar la posible contaminación parasitaria por vectores. El análisis de frotis sanguíneo no evidenció tampoco presencia de hemoparásitos, no es sorpresa en nuestra realidad pues no existen investigaciones llevadas a cabo en Perú que reporten Haemogregarina, Cryptobia o Trypanosoma a diferencia de estudios en otros países sudamericanos como Brasil.

6. CONCLUSIONES

- ❖ Los resultados del perfil hematológico obtuvieron un coeficiente de variación entre 10% y 20%.
- ❖ Los siguientes analitos del perfil bioquímico obtuvieron un coeficiente de variación entre 20 y 30%: aspartato aminotransferasa, ácido úrico, calcio, potasio, proteínas totales, albúmina, y globulina.
- ❖ Los resultados de sodio y ácidos biliares obtuvieron un coeficiente de variación inferior a 10%.
- ❖ Los analitos glucosa, fósforo y creatin quinasa obtuvieron un coeficiente de variación superior a 30%
- ❖ No se evidenció presencia de parásitos.

7. RECOMENDACIONES

- ❖ Se recomienda ejecutar proyectos con un tamaño de muestra más alto para la evaluación del perfil bioquímico con el analizador Abaxis VetScan2 para poder comparar y discutir los resultados de forma más amplia.
- ❖ También se recomienda llevar a cabo el procesamiento de muestras *in situ* para evitar complicaciones por traslado que puedan influenciar en los resultados.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abaxis Inc. Website. Package inserts. 2006. Disponible en: www.abaxis.com/support/package_inserts.html.

Alcántara FB, Chávez CV, Rodríguez LC, Kohler CC, Kohler ST, Camargo WC, Colace M, Tello S. 2003. Gamitana (*Colossoma macropomum*) and paco (*Piaractus brachypomus*) cultured in floating cages in the Peruvian Amazon. *World Aquac* 34:22–24.

Aliaga C. 2004. Variabilidad genética de *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus* en la región del Alto Madera (Amazonía Boliviana) para el análisis del polimorfismo de la longitud de secuencias intrónicas (EPIC-PCR). Tesis Licenciatura en Biología, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, 103 pp.

Alvarado H, y Batanero C. 2008. Significado del teorema central del límite en textos universitarios de probabilidad y estadística. *Estudios Pedagógicos* 34(2):7-28.

Araujo-Lima ARM. y Ruffino ML. 2003. Migratory fishes of South America: Biology, fisheries and conservation status. Edition 1a. Chapter: Migratory fishes of the Brazilian Amazon. Publisher: Alaris Design. Editors: Joachim Carosfeld, Brian Harvey, Carmen Ross, Anton Baer. pp. 233-301.

Baca LE. 2015. El cultivo de la Gamitana en Latinoamérica. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana. 1ra. Edición.

Barton, BA y Zitzow, RE. 1995. Physiological responses of juvenile walleyes to handling stress with recovery in saline wáter. Prog Fish Culturist 57: 267-276.

*Bolten AB, Jacobson ER, Bjorndal KA. 1992. Effects of anticoagulant and auto analyzer on blood biochemical values of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). Am J Vet Res 53:2224–2227.*

Bruno DW, Nowak B, Elliott DG. 2006. Guide to the identification of fish protozoan and metazoan parasites in stained tissue sections. Dis Aquat Organ70(1-2):1-36.

*Centeno L, Silva-Acuña R., Barrios R., Salazar-Lugo R., Matute C, Pérez J. 2007. Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) en tres etapas de crecimiento cultivadas en el estado Delta Amacuro. Zooecnia Trop. 5(4):237-243.*

Collier HB. 1944. The standardization of blood hemoglobin determinations. Can. Med. Assoc. J., 50: 550-552

Cornelius CE. 1991. Bile pigments in fishes: a review. Vet Clin Pathol 20:106–115.

*Cruz-Barreras C, Lares-Villa F, Casillas-Hernández R y Ibarra-Gómez JC. 2001. Efectos de la cal sobre la calidad de agua en un cultivo de camarón blanco *Pennaeus vannamei* y sobre bacterias que le causan enfermedades. ECUACAMARÖN. Cámara de Productores de Camarón 1(2):22-26.*

Davis, KB y Parker NC. 1986. Plasma corticosteroid stress response of fourteen species of warmwater fish to transportation. *Trans Amer Fish Soc* 115:495-499.

De Pedro N, Guijarro A, López-Patiño MA, Martínez-Álvarez RM., Alonso-Bedate M., Delgado MJ. 2004. Parámetros hematológicos y bioquímicos en la Tenca (*Tinca tinca*): ritmos diarios y estacionales. *Comunicación Científica CIVA* 2004: 173-190.

Dinis-Vásquez N, Soplín M, Pizango E, Chu F y Verdi L. 2014. Índices parasitarios eb larvas, post larvas y alevinos de *Piaractus brachypomus* en relación a los factores ambientales. *Ciencia Amazónica* 2(2):160-171.

Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero FONDEPES. 2014. Manual de la Gamitana.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2009. Fishery and aquaculture statistics yearbook. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/016/aq187t/aq187t.pdf>

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2015. Fishery and aquaculture statistics yearbook. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-i7989t.pdf>

Galeano NA, Prat MI, Guagliardo SE, Schwerdt CB, Tanzola RD. 2010. Características hematológicas de *Porichthys porosissimus* (Pisces: Batrachoidiformes) en el estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Analecta Vet.* 30(1):5-11.

Gleed RD, Ludders JW. 2001. Recent advances in veterinary anesthesia and analgesia: companion animals. International Veterinary Information Service. Disponíble en: <http://www.ivis.org>

Goldenfarb P, Bowyer FP, Hall E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. Am. J. Clinical Pathol. 56: 35-39.

*Gomes LC, Chagas EC, Martins H, Roubach R, Ono EA, Lourenço JNP. 2006. Cage cultured of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a central Amazon floodplain lake. Aquaculture 253:374–384*

Gomes PF. 1984. A estatística moderna na pesquisa agropecuária. Associação brasileira para pesquisa da potassa e do fosfato. Piracicaba, sp. Brasil. 160 pp.

*Goulding M, Carvalho M. 1982. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*): an important Amazonian food fish. Revta. Bras. Zool. S.Paulo. 1(2): 107-133.*

Groff JM, Zinkl JG. 1999. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish. Common carp and goldfish. Vet Clin North Am Exot Anim Pract 2:741–776.

*Gusmão Affonso, E, Araujo P, Costa da Silva L, Waichman V, Indrusiak J. 2017. Physiological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to stocking density in intensive culture.*

Gustavenson AW, Widoski RS, Wedemeyer, GA. 1991. Physiological-response of largemouth bass to angling stress. Trans. Amer. Fisher. Soc., 120 (5): 629-636.

Harms CA, Lewbart GA, Swanson CR. 2005. Behavioral and clinical pathology changes in koi subjected to anesthesia and surgery with and without intra-operative analgesics. Comp Med 55:221–226.

*Hinostroza E, Serrano E. 2013. Efecto anestésico de metasulfonato de triclaína en paiches (*Arapaima gigas*) juveniles. Rev Inv Vet Perú; 24(4): 451-458*

Hrubec TC, Cardinale JL, Smith SA. 2000. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia. Vet Clin Pathol; 29:7–12.

*Kori-Siakpere O. 1985. Haematological characteristics of *Clarias isheriensis*. Sydenham. J. Fish. Biol., 27:259-263.*

*Kuperman BI, Matey VE, Barlow SB.2002. Flagellate *Cryptobia branchialis*, ectoparasite of tilapia from the Salton Sea. Hydrobiologia 473(1-3):93-102.*

Lucas C. 2008. Within Flood Season Variation in Fruit Consumption and Seed Dispersal by Two Characin Fishes of the Amazon. Biotropica. 40(5): 581–589.

Lukosva V. 1998. Factors affecting haematological indices in free living fish populations. Acta Vet. Brno. 67:649-255.

*Moura, MAF, Oliveira, MIS, Val, AL. 1997. Effects of hypoxia on leucocytes of two Amazon fish *Colossoma macropomum* and *Hoplosternum littorale*. Rev. UA. Série: Ciências Biológicas 1(2): 13-22.*

Nnabuchi O, Ejikeme G, Didiugwu C, Ncha S, Onahs P et al., 2015. Effect of parasites on the biochemical and haematological indices of some clariid (Siluriformes) catfishes from Anambra River, Nigeria. Int Journal of Fish and Aquat Stud 3(2):331-336.

Palmeiro BS, Rosenthal K, Lewbart G, Shofer F. 2007. Plasma biochemical reference intervals for koi. JAVMA, 230(5): 708-712.

*Paredes D, Alvarez C, Valencia T. 2013. Caracterización hematológica y bioquímica de juveniles de *Arapaima gigas* bajo condiciones de cultivo en selva alta. Investigación y amazonia 3(2): 67-70.*

Passantino L, Cianciotta A, Patruno R, Ribaud MR., Jirillo E, Passantino GF. 2005. Do fish thombocytes play an immunological role? Their cytoenzimatic profiles and fuction during an accidental piscine candidiasis in aquarium. Immunopharmacol Immunotoxicol 27:345–356

*Pinheiro DA, Cave, BAS, Vargas L, Braccini GL, Yoshioka ETO, Oliveira MSB, Tavares-Dias M. 2015. Performance, parasitic infections, hematology and hepatic histology of *Colossoma macropomum* (tambaqui) fed on homeopathic product. Afr. J. Pharm. Pharmacol.9:82–90*

Produce. Ministerio de la Producción. Anuario estadístico de pesca y acuicultura. 2014. Disponible en: <http://www.produce.gob.pe/documentos/estadisticas/anuarios/anuario-estadistico-pesca-2014.pdf>

Produce. Ministerio de la Producción. Anuario estadístico de pesca y acuicultura. 2015. Disponible en: <http://www.produce.gob.pe/documentos/estadisticas/anuarios/anuario-estadistico-pesca-2015.pdf>

Pulsford A, Lemaire-Gony S, Tomlinson M, Collingwood N, Glynn PJ. 1994. Effects of acute stress on the immune system of the Dab, *Limanda limanda*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*. 109. 129-139.

Ranzani-Paiva MJT, Salles FA, Erias JC, Eiras AC, Ishikawa CM, Alexandrino AC. 1999. Análisis hematológica de curimbata (*Prochilodus scrofa*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) das estacoes de piscicultura do Instituto de Pesca, estado de Sao Paulo. *Bol. Inst. Pesca*. 25:77-83.

Ranzani-Paiva MJT, Pádua SB, Tavares-Dias M., Egami MI. 2013. Métodos para análises hematológicas em peixes. Maringá: Eduem. p140.

Rehulka J. 1996. Blood parameters in common carp with spontaneous spring viremia. *Aquacul. Int*(4):175-82

Rehulka J. 1998. Blood indices of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in aeromonas-induced ulcerous dermatitis. *Acta Vet. Brno*(67):317-22

*Roberts RJ. 2001. Fish Pathology 3rd edition**Rodríguez A.1995. Determinación de algunos aspectos hematológicos de *Oncorhynchus mykiss* (Salmonidae), en Cundinamarca, Colombia. Rev.Biol.Trop. 43(1-3):283-288.*

Rowley AF. 1988. Vertebrate Blood Cells. Cambridge: Cambridge University Press.

*Ruane NM, Nolan DT, Rotlant J., Costello E., Weendellar BSE. 2000. Experimental exposure of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) to the infective stages of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* (Kroyer) influences the physiological response to an acute stressor. Fish Shellfish Immunol 10:451–463*

*Sadnes K, Lie O, Waaybo R. 1988. Normal ranges of some blood chemistry parameters in adulated farmed Atlantic salmon *Salmo salar*. J. Fish. Biol.129-136.*

Saint-Paul U y Soares M. 1987. Diurnal distribution and behavioral responses of fishes to extreme hypoxia in an Amazon Floodplain lake. Environmental Biology of Fishes 20:15-13.

*Salazar LR, Romero Z, Centeno L. 2012. Caracterización morfológica y citoquímica de leucocitos del pez dulceacuícola *Colossoma macropomum*. Saber, Universidad de Oriente, Venezuela. Vol. 24, núm. 1: 49-55.*

Salazar LR., Blanco Y, Centeno L, Lemus M. 2011. Variaciones en los parámetros hematológicos y en la respuesta inmune inespecífica de la cachama negra expuesta a cadmio. Saber, Universidad de Oriente, Venezuela. 23(1): 28-35.

Santos GM, Santos ACM. 2005. Amazon sustainability of fisheries. Estudos Avançados 19:165–182

*Santos RBS, Tavares-Dias M. 2011. Células sanguíneas e resposta hematológica de *Oxydoras niger* (Pisces, Doradidae) oriundos da bacia do médio Rio Solimões, estado do Amazonas (Brasil), naturalmente parasitados. Bol. Inst. Pesca. 36:283-292.*

Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (Senamhi). 2017. Disponible en: www.senamhi.gob.pe/?p=mapa-climatico-del-peru

*Serrano E, Leguia G, Quispe M., Casas G. 2013. Valores hematológicos del paiche *Arapaima gigas* de la amazonia peruana. Rev Inv Vet Perú 24(2): 248-251*

Schoen I, Solomon M. 1962. Control of blood haemoglobin determination by a simple effective method. J. Clin. Pathol 15:44.

Scholz T. 1999. Parasites in culture and feral fish. Vet Parasitol 84:317–335

*Silveira-Coffigny R., Martinez-Perez M, Ascensio-Valle F. 2005. Características morfológicas e histoquímicas de las células de la sangre periférica de *Oreochromis aureus* S. Cichlidae. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET 6(10).*

*Soberon L, Mathews P, Malherios A. 2014. Haematological parameters of *Colossoma macropomum* naturally parasitized by *Anacanthorus spathulatus* in fish farm in the peruvian amazon. Int. Aquat. Res. 6(4):251-255.*

Stosik H, Deptula W, Travnicek M. 2001. Studies on the number and ingesting ability of thrombocytes in sick carps (Cyprinus carpio). Vet Med 46:12–16

*Svobodová Z, Flajshans M., Kolárová J, Modra H, Svoboda M., Vajcová V.2001. Leukocyte profiles of diploid and triploid tench *Tinca tinca* L. Aquaculture 198:159-68*

*Tavares-Dias M, Moraes FR. 2006. Hematological parameters for the *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1850 (Osteichthyes, Characidae) intensively bred. Hidrobiologica16, 271–274.*

*Tavares-Dias M., Sandrim E., Sandrim A. 1998. Característica hematológica de Tambaquí (*Colossoma macropomum*) Cuvier, 1818. (Osteichthyes: Characidae) en Sistema de Monocultivo Intensivo. I. Serie eritrocitaria. Rev. Brasil. Biol. 58: 197-202.*

Tavares-Dias M., Schalch SCH, Moraes FR. 2003. Hematological characteristics of Brazilian teleosts. VII. Parameters of seven species collected in Guariba, Sao Paulo State, Brazil. Bol. Inst. Pesca, 29(2): 109-115.

*Tavares-Dias M., Sandrim E, Moraes FR, Carneiro P. 2001. Physiological responses of “tambaqui” *Colossoma macropomum* (Characidae) to acute stress. Bol. Inst. Pesca, 27:43-48.*

Tavares días M., Sandrim E., Campos E. 1999. Características hematológicas do tambaqui em sistema de monocultivo intensivo II leucocitos. Rev. Bras. Zool. 16: 175-84.

Tavares-Dias M., Ruas de Moraes EM., Onaka PC, Rezende B. 2007. Changes in blood parameters of hybrid tambacu fish parasitized by *Dolops carvalhoi* (Crustacea, Branchiura), a fish louse. Vet Arh 77:355–363

Tomalá D, Chavarría J, Escobar B. 2014. Evaluación de la tasa de consumo de oxígeno de *Colossoma macropomum* en relación al peso corporal y temperatura del agua. Lat. Am. J. Aquat. Res. 42(5): 971-979.

Tripathi NK, Latimer KS, Lewis TL, et al. 2003. Biochemical reference intervals for koi. Comp Clin Pathol 12:160-165

Valenzuela A, Oyarzún C, Silva V. 2003. Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): serie blanca. Gayana, 67(1):130 – 137.

Vinatea, L. 2005. Presentación: prevención de enfermedades a través del manejo de la calidad del agua en camaronicultura marina. Curso Calidad de Agua y Comunidades Microbiológicas, NICOVITA, Salinas. 8-9 pp.

Vuren JHJ. y Hattingh A. 1978. A seasonal study of the haematology of wild fish. J. Fish. Biol., 13:305-313.

Wagner JL, Lewbart GA, Nunch SE. 1996. Serum bile acids in normal red pacu (Colossoma brachypomum), in Proceedings. Int Assoc Aquatic Anim Med Annu Conf 1996;31

Walsh CJ y Luer CA. 2004. Elasmobranch hematology: identification of cell types and practical applications. Vet Clin Path 13(2):27-31.

.Wintrobe MM. 1934. Variation on the size and haemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia Haematol., 51: 32-49.

ANEXO 1

Toma de muestras



Materiales empleados en la toma de muestras



Selección de Gamitanas usando red de pescar

ANEXO 1



Gamitanas colocadas en batea para ser eutanasiadas



Extracción de sangre por punción de vena

ANEXO 1



Extracción de branquias



Branquias colocadas en envases de plástico de tapa ancha

c) Recuento de eritrocitos

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
660,000	1	1	0.0333	-2.2	0.0141	0.0192
720,000	1	2	0.0667	-1.75	0.0403	0.0264
740,000	1	3	0.1	-1.6	0.055	0.045
768,000	1	4	0.1333	-1.39	0.0825	0.0508
800,000	1	5	0.1667	-1.15	0.1252	0.0415
806,000	1	6	0.2	-1.1	0.1347	0.0653
875,000	1	7	0.2333	-0.59	0.278	0.0447
892,000	1	8	0.2667	-0.46	0.3221	0.0554
894,000	1	9	0.3	-0.45	0.3275	0.0275
894,786	1	10	0.3333	-0.44	0.3296	0.0037
900,000	1	11	0.3667	-0.4	0.3438	0.0229
950,000	1	12	0.4	-0.03	0.4887	0.0887
950,600	1	13	0.4333	-0.02	0.4905	0.0572
960,990	1	14	0.4667	0.05	0.5214	0.0547
980,000	1	15	0.5	0.2	0.5776	0.0776
990,000	1	16	0.5333	0.27	0.6066	0.0733
990,680	1	17	0.5667	0.28	0.6086	0.0419
998,000	1	18	0.6	0.33	0.6294	0.0294
1,000,000	1	19	0.6333	0.35	0.6351	0.0018
1,030,000	1	20	0.6667	0.57	0.7155	0.0488
1,048,900	1	21	0.7	0.71	0.7614	0.0614
1,086,950	1	22	0.7333	1	0.8402	0.1069
1,090,000	1	23	0.7667	1.02	0.8457	0.079
1,100,000	3	26	0.8667	1.09	0.8627	0.004
1,105,000	1	27	0.9	1.13	0.8708	0.0292
1,106,000	1	28	0.9333	1.14	0.8723	0.061
1,110,000	1	29	0.9667	1.17	0.8785	0.0882
1,155,000	1	30	1	1.5	0.9337	0.0663
30						
				z=valor-mu/desvet		0.1069
valor maximo absoluto:	Dcalculada	0.1037				
	Dtabla=	0.2417				
la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla						

d) Recuento de leucocitos

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
10254	1	1	0.0333	-1.63	0.052	0.0187
10546	1	2	0.0667	-1.5	0.0671	0.0004
10599	1	3	0.1	-1.47	0.0702	0.0298
11368	1	4	0.1333	-1.13	0.1282	0.0051
11440	1	5	0.1667	-1.1	0.135	0.0317
11500	1	6	0.2	-1.08	0.1408	0.0592
11568	1	7	0.2333	-1.05	0.1476	0.0857
11880	1	8	0.2667	-0.91	0.1816	0.0851
12310	1	9	0.3	-0.72	0.2359	0.0641
12693	1	10	0.3333	-0.55	0.291	0.0423
12743	1	11	0.3667	-0.53	0.2986	0.0681
12760	1	12	0.4	-0.52	0.3012	0.0988
12980	1	13	0.4333	-0.42	0.3358	0.0975
13440	1	14	0.4667	-0.22	0.4125	0.0542
13526	1	15	0.5	-0.18	0.4273	0.0727
13584	1	16	0.5333	-0.16	0.4374	0.0959
13640	1	17	0.5667	-0.13	0.4471	0.1196
14520	1	18	0.6	0.26	0.6007	0.0007
14578	1	19	0.6333	0.28	0.6106	0.0227
14620	1	20	0.6667	0.3	0.6177	0.049
14925	1	21	0.7	0.43	0.6678	0.0322
14962	1	22	0.7333	0.45	0.6737	0.0596
15138	1	23	0.7667	0.53	0.7012	0.0655
15263	1	24	0.8	0.58	0.72	0.08
15400	1	25	0.8333	0.64	0.74	0.0933
15634	1	26	0.8667	0.75	0.7723	0.0944
16500	1	27	0.9	1.13	0.8704	0.0296
17600	1	28	0.9333	1.61	0.9467	0.0134
17894	1	29	0.9667	1.74	0.9594	0.0073
19360	1	30	1	2.39	0.9916	0.0084
30						
				z=valor-mu/desvet		0.1196
valor maximo absoluto:	Dcalculada	0.1196				
	Dtabla=	0.2417				
la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla						

e) Volumen Corpuscular Medio

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob(Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
236.36	1	1	0.0333	-1.83	0.0338	0.0005
253.16	1	2	0.0667	-1.44	0.0745	0.0078
254.55	1	3	0.1	-1.41	0.0791	0.0209
259.74	1	4	0.1333	-1.29	0.0981	0.0352
261.26	1	5	0.1667	-1.26	0.1043	0.0624
266.06	1	6	0.2	-1.15	0.1256	0.0744
272.73	1	7	0.2333	-0.99	0.1599	0.0734
285.71	1	8	0.2667	-0.7	0.2427	0.024
286.01	1	9	0.3	-0.69	0.2449	0.0551
291.37	1	10	0.3333	-0.57	0.285	0.0483
300.00	1	11	0.3667	-0.37	0.3556	0.0111
305.26	1	12	0.4	-0.25	0.4013	0.0013
307.69	1	13	0.4333	-0.19	0.423	0.0103
312.50	1	14	0.4667	-0.08	0.4665	0.0002
313.20	1	15	0.5	-0.07	0.4729	0.0271
318.18	1	16	0.5333	0.05	0.5184	0.0149
322.00	1	17	0.5667	0.13	0.5531	0.0136
323.01	1	18	0.6	0.16	0.5622	0.0378
325.11	1	19	0.6333	0.2	0.5811	0.0522
333.33	1	20	0.6667	0.39	0.6528	0.0139
339.81	1	21	0.7	0.54	0.7059	0.0059
340.68	1	22	0.7333	0.56	0.7127	0.0206
357.63	1	23	0.7667	0.95	0.8288	0.0621
359.80	1	24	0.8	1	0.8412	0.0412
365.71	1	25	0.8333	1.13	0.8717	0.0384
368.19	1	26	0.8667	1.19	0.8832	0.0165
377.60	1	27	0.9	1.41	0.9203	0.0203
377.78	1	28	0.9333	1.41	0.9209	0.0124
378.79	1	29	0.9667	1.43	0.9242	0.0425
391.89	1	30	1	1.73	0.9586	0.0414
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.0744
			valor maximo absoluto Dcalculada			0.0744
			Dtabla=			0.2417
			la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla			

f) Hemoglobina Corpuscular Media

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob(Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
85.74	1	1	0.0333	-1.38	0.0842	0.0509
86.86	1	2	0.0667	-1.32	0.0933	0.0266
87.38	1	3	0.1	-1.29	0.0978	0.0022
87.45	1	4	0.1333	-1.29	0.0984	0.0349
92.76	1	5	0.1667	-1.02	0.1534	0.0133
94.95	1	6	0.2	-0.91	0.1811	0.0189
98.1	1	7	0.2333	-0.75	0.2261	0.0072
99.9	1	8	0.2667	-0.66	0.2544	0.0123
102.02	1	9	0.3	-0.55	0.29	0.01
102.5	1	10	0.3333	-0.53	0.2984	0.0349
103.64	1	11	0.3667	-0.47	0.3187	0.048
104.03	1	12	0.4	-0.45	0.3257	0.0743
105.99	1	13	0.4333	-0.35	0.3622	0.0711
107.62	1	14	0.4667	-0.27	0.3936	0.0731
108.18	1	15	0.5	-0.24	0.4045	0.0955
108.6	1	16	0.5333	-0.22	0.4128	0.1205
112.22	1	17	0.5667	-0.04	0.4852	0.0815
114.41	1	18	0.6	0.07	0.5294	0.0706
114.55	1	19	0.6333	0.08	0.5322	0.1011
117.35	1	20	0.6667	0.22	0.588	0.0787
117.43	1	21	0.7	0.23	0.5896	0.1104
120.83	1	22	0.7333	0.4	0.6549	0.0784
122.4	1	23	0.7667	0.48	0.6837	0.083
125.26	1	24	0.8	0.62	0.7333	0.0667
128.38	1	25	0.8333	0.78	0.7825	0.0508
136.48	1	26	0.8667	1.19	0.8831	0.0164
147	1	27	0.9	1.72	0.9576	0.0576
149.3	1	28	0.9333	1.84	0.9671	0.0338
150	1	29	0.9667	1.87	0.9696	0.0029
157.32	1	30	1	2.25	0.9876	0.0124
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.1205
			valor maximo absoluto Dcalculada			0.1205
			Dtabla=			0.2417
			la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla			

g) Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob(Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
23.29	1	1	0.0333	-1.94	0.0265	0.0068
23.75	1	2	0.0667	-1.87	0.031	0.0357
25.71	1	3	0.1	-1.57	0.058	0.042
25.94	1	4	0.1333	-1.54	0.0621	0.0712
29.71	1	5	0.1667	-0.97	0.1657	0.001
32.41	1	6	0.2	-0.57	0.2858	0.0858
32.76	1	7	0.2333	-0.51	0.3039	0.0706
32.8	1	8	0.2667	-0.51	0.306	0.0393
32.81	1	9	0.3	-0.51	0.3065	0.0065
33.1	1	10	0.3333	-0.46	0.322	0.0113
33.21	1	11	0.3667	-0.45	0.328	0.0387
33.67	1	12	0.4	-0.38	0.3533	0.0467
34.29	1	13	0.4333	-0.28	0.3885	0.0448
35.29	1	14	0.4667	-0.13	0.447	0.0197
36	1	15	0.5	-0.03	0.4894	0.0106
36.25	1	16	0.5333	0.01	0.5044	0.0289
36.34	1	17	0.5667	0.02	0.5098	0.0569
37.41	1	18	0.6	0.19	0.5735	0.0265
37.93	1	19	0.6333	0.26	0.6039	0.0294
38.75	1	20	0.6667	0.39	0.6505	0.0162
39.6	1	21	0.7	0.51	0.6965	0.0035
40	1	22	0.7333	0.57	0.7171	0.0162
41.03	1	23	0.7667	0.73	0.767	0.0003
41.07	1	24	0.8	0.74	0.7689	0.0311
42.5	1	25	0.8333	0.95	0.8289	0.0044
43.82	1	26	0.8667	1.15	0.8746	0.0079
43.85	1	27	0.9	1.15	0.8755	0.0245
44.14	1	28	0.9333	1.2	0.8842	0.0491
48.86	1	29	0.9667	1.91	0.9716	0.0049
49	1	30	1	1.93	0.973	0.027
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.0858
		valor maximo absoluto Dcalculada	0.0858			
		Dtabla=	0.2417			
			la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla			

h) Aspartato aminotransferasa

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob(Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
113	1	1	0.0333	-1.47	0.0711	0.0378
120	1	2	0.0667	-1.25	0.1058	0.0391
128	2	4	0.1333	-1	0.1589	0.0256
130	1	5	0.1667	-0.94	0.1745	0.0078
135	3	8	0.2667	-0.78	0.2176	0.0491
140	3	11	0.3667	-0.62	0.2663	0.1004
154	1	12	0.4	-0.19	0.426	0.026
155	2	14	0.4667	-0.16	0.4383	0.0284
156	1	15	0.5	-0.12	0.4507	0.0493
158	1	16	0.5333	-0.06	0.4755	0.0578
160	3	19	0.6333	0	0.5004	0.1329
161	1	20	0.6667	0.03	0.5129	0.1538
163	1	21	0.7	0.09	0.5378	0.1622
167	1	22	0.7333	0.22	0.587	0.1463
168	1	23	0.7667	0.25	0.5991	0.1676
170	1	24	0.8	0.31	0.6231	0.1769
184	1	25	0.8333	0.75	0.7737	0.0596
190	1	26	0.8667	0.94	0.826	0.0407
204	1	27	0.9	1.38	0.9156	0.0156
205	1	28	0.9333	1.41	0.9203	0.013
227	1	29	0.9667	2.09	0.9819	0.0152
258	1	30	1	3.06	0.9989	0.0011
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.1769
		valor maximo absoluto Dcalculada	0.1769			
		Dtabla=	0.2417			
			la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla			

i) Ácidos biliares

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
30	2	2	0.0667	-1.82	0.0347	0.032
31	3	5	0.1667	-1.35	0.0891	0.0776
32	5	10	0.3333	-0.88	0.1903	0.143
33	2	12	0.4	-0.41	0.342	0.058
34	3	15	0.5	0.06	0.525	0.025
35	8	23	0.7667	0.53	0.7027	0.064
36	4	27	0.9	1	0.8418	0.0582
37	3	30	1	1.47	0.9294	0.0706
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.143
valor maximo absoluto:	Dcalculada=		0.143			
	Dtabla=		0.2417			
			la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla			

j) Creatinquinasa

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
1035	1	1	0.0333	-0.61	0.2723	0.239
1050	2	3	0.1	-0.6	0.2757	0.1757
1052	1	4	0.1333	-0.59	0.2762	0.1429
1133	1	5	0.1667	-0.54	0.2951	0.1284
1144	1	6	0.2	-0.53	0.2978	0.0978
1145	1	7	0.2333	-0.53	0.298	0.0647
1230	1	8	0.2667	-0.47	0.3186	0.0519
1235	1	9	0.3	-0.47	0.3198	0.0198
1281	1	10	0.3333	-0.44	0.3312	0.0021
1312	1	11	0.3667	-0.42	0.339	0.0277
1316	1	12	0.4	-0.41	0.34	0.06
1319	1	13	0.4333	-0.41	0.3408	0.0925
1328	1	14	0.4667	-0.4	0.343	0.1237
1334	1	15	0.5	-0.4	0.3446	0.1554
1343	1	16	0.5333	-0.39	0.3469	0.1864
1345	1	17	0.5667	-0.39	0.3474	0.2193
1425	1	18	0.6	-0.34	0.3679	0.2321
1456	1	19	0.6333	-0.32	0.376	0.203
1616	1	20	0.6667	-0.21	0.4184	0.24
1678	1	21	0.7	-0.16	0.4352	0.215
1955	1	22	0.7333	0.03	0.511	0.2223
1980	1	23	0.7667	0.04	0.5178	0.238
1983	1	24	0.8	0.05	0.5187	0.2135
1986	1	25	0.8333	0.05	0.5195	0.241
1989	1	26	0.8667	0.05	0.5203	0.2402
3720	1	27	0.9	1.24	0.893	0.007
3745	1	28	0.9333	1.26	0.8961	0.0372
5370	1	29	0.9667	2.79	0.9974	0.0307
7296	1	30	1	3.7	0.9999	1E-04
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.241
valor maximo absoluto:	Dcalculad.		0.241			
	Dtabla=		0.2417			
			la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla			

k) Ácido Úrico

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
0.3	13	13	0.4333	-0.72	0.2349	0.1984
0.35	4	17	0.5667	-0.18	0.4283	0.1384
0.4	8	25	0.8333	0.36	0.6411	0.1922
0.5	3	28	0.9333	1.45	0.9259	0.0074
0.6	2	30	1	2.53	0.9943	0.0057
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.1984
		Dcalculada=	0.1984			
valor maximo absoluto:		Dtabla=	0.2417			
la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla						

l) Glucosa

Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
10	6	6	0.2	-1.31	0.0949	0.1051
11	1	7	0.2333	-1.29	0.0983	0.135
12	1	8	0.2667	-1.27	0.1018	0.1649
43	1	9	0.3	-0.65	0.2577	0.0423
52	1	10	0.3333	-0.47	0.3192	0.0141
62	1	11	0.3667	-0.27	0.3937	0.027
69	2	13	0.4333	-0.13	0.4485	0.0152
75	1	14	0.4667	-0.01	0.4963	0.0296
78	1	15	0.5	0.05	0.5202	0.0202
90	1	16	0.5333	0.29	0.6145	0.0812
95	1	17	0.5667	0.39	0.6522	0.0855
96	2	19	0.6333	0.41	0.6596	0.0263
97	2	21	0.7	0.43	0.6669	0.0331
98	2	23	0.7667	0.45	0.6741	0.0926
101	1	24	0.8	0.51	0.6955	0.1045
112	1	25	0.8333	0.73	0.7679	0.0654
130	1	26	0.8667	1.09	0.8627	0.004
132	1	27	0.9	1.13	0.8713	0.0287
135	1	28	0.9333	1.19	0.8835	0.0498
164	1	29	0.9667	1.77	0.9619	0.0048
192	1	30	1	2.33	0.9902	0.0098
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.1649
valor maximo absoluto:		Dcalculada=	0.1649			
		Dtabla=	0.2417			
la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla						

m) Calcio

Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
10.1	2	2	0.0667	-1.77	0.0384	0.0283
10.3	1	3	0.1	-1.64	0.05	0.05
10.4	1	4	0.1333	-1.58	0.0568	0.0765
10.5	1	5	0.1667	-1.52	0.0643	0.1024
10.8	1	6	0.2	-1.33	0.0915	0.1085
11.2	1	7	0.2333	-1.08	0.1398	0.0935
11.3	1	8	0.2667	-1.02	0.1542	0.1125
11.9	1	9	0.3	-0.64	0.2601	0.0399
12.5	1	10	0.3333	-0.27	0.3947	0.0614
12.7	1	11	0.3667	-0.14	0.4436	0.0769
13.2	1	12	0.4	0.17	0.568	0.168
13.4	2	14	0.4667	0.3	0.6165	0.1498
13.5	4	18	0.6	0.36	0.6402	0.0402
13.6	1	19	0.6333	0.42	0.6634	0.0301
13.8	1	20	0.6667	0.55	0.7078	0.0411
14	1	21	0.7	0.67	0.7492	0.0492
14.1	1	22	0.7333	0.73	0.7687	0.0354
14.3	1	23	0.7667	0.86	0.8051	0.0384
14.4	3	26	0.8667	0.92	0.8219	0.0448
14.6	2	28	0.9333	1.05	0.8526	0.0807
14.9	2	30	1	1.24	0.8917	0.1083
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.168
valor maximo absoluto:	Dcalculada=	0.168				
	Dtabla=	0.2417				
						la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla

n) Fósforo

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
1.7	1	1	0.0333	-2.13	0.0165	0.0168
2.7	1	2	0.0667	-1.92	0.0274	0.0393
3	1	3	0.1	-1.86	0.0317	0.0683
3.3	1	4	0.1333	-1.79	0.0364	0.0969
6.3	1	5	0.1667	-1.16	0.1229	0.0438
6.9	1	6	0.2	-1.03	0.1505	0.0495
7.5	1	7	0.2333	-0.91	0.182	0.0513
8	1	8	0.2667	-0.8	0.2112	0.0555
10.6	1	9	0.3	-0.25	0.3998	0.0998
11.4	2	11	0.3667	-0.09	0.4661	0.0994
12.4	2	13	0.4333	0.13	0.5501	0.1168
12.6	1	14	0.4667	0.17	0.5667	0.1
12.7	1	15	0.5	0.19	0.575	0.075
13.1	1	16	0.5333	0.27	0.6078	0.0745
13.2	1	17	0.5667	0.29	0.6158	0.0491
13.5	1	18	0.6	0.36	0.6398	0.0398
15	3	21	0.7	0.67	0.7499	0.0499
15.2	1	22	0.7333	0.72	0.7631	0.0298
15.3	1	23	0.7667	0.74	0.7696	0.0029
15.4	1	24	0.8	0.76	0.776	0.024
15.5	1	25	0.8333	0.78	0.7822	0.0511
15.8	1	26	0.8667	0.84	0.8004	0.0663
16.3	1	27	0.9	0.95	0.8286	0.0714
17.3	1	28	0.9333	1.16	0.8768	0.0565
17.8	2	30	1	1.26	0.897	0.103
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.1168
valor maximo absoluto:	Dcalculada	0.1168				
	Dtabla=	0.2417				
						la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla

o) Proteínas totales

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
3.2	1	1	0.0333	-1.68	0.0464	0.0131
3.3	1	2	0.0667	-1.51	0.0657	0.001
3.4	1	3	0.1	-1.34	0.0907	0.0093
3.5	1	4	0.1333	-1.16	0.1221	0.0112
3.7	1	5	0.1667	-0.82	0.206	0.0393
3.8	2	7	0.2333	-0.65	0.2584	0.0251
3.9	1	8	0.2667	-0.48	0.317	0.0503
4.1	5	13	0.4333	-0.13	0.4475	0.0142
4.2	6	19	0.6333	0.04	0.516	0.1173
4.3	4	23	0.7667	0.21	0.584	0.1827
4.4	2	25	0.8333	0.38	0.6496	0.1837
4.5	1	26	0.8667	0.56	0.711	0.1557
4.6	1	27	0.9	0.73	0.7668	0.1332
4.7	2	29	0.9667	0.9	0.8161	0.1506
6.5	1	30	1	4	1	0
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.1837
valor maximo absoluto:	Dcalculada=	0.1837				
	Dtabla=	0.2417				
	la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla					

p) Albúmina

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
2	2	2	0.0667	-1.25	0.105	0.0383
2.1	2	4	0.1333	-1.01	0.1553	0.022
2.2	2	6	0.2	-0.77	0.2193	0.0193
2.3	2	8	0.2667	-0.53	0.2963	0.0296
2.4	2	10	0.3333	-0.3	0.3838	0.0505
2.5	7	17	0.5667	-0.06	0.4777	0.089
2.6	8	25	0.8333	0.18	0.5729	0.223
2.7	3	28	0.9333	0.42	0.6639	0.2153
2.9	1	29	0.9667	0.9	0.8166	0.1501
4.4	1	30	1	4.5	1	0
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.223
valor maximo absoluto:	Dcalculada=	0.223				
	Dtabla=	0.2417				
	la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla					

q) Globulinas

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
1.1	2	2	0.0667	-1.78	0.0379	0.0288
1.2	2	4	0.1333	-1.46	0.0728	0.0605
1.3	1	5	0.1667	-1.13	0.1284	0.0383
1.4	1	6	0.2	-0.81	0.2081	0.0081
1.5	4	10	0.3333	-0.49	0.3113	0.022
1.6	5	15	0.5	-0.17	0.432	0.068
1.7	5	20	0.6667	0.15	0.5595	0.1072
1.8	3	23	0.7667	0.47	0.6811	0.0856
1.9	3	26	0.8667	0.79	0.7858	0.0809
2	1	27	0.9	1.11	0.8671	0.0329
2.1	2	29	0.9667	1.43	0.9242	0.0425
2.5	1	30	1	2.72	0.9967	0.0033
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.1072
valor maximo absoluto:	Dcalculada=	0.1072				
	Dtabla=	0.2417				
la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla						

r) Potasio

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
1.5	2	2	0.0667	-1.77	0.0384	0.0283
1.7	1	3	0.1	-1.54	0.062	0.038
1.9	1	4	0.1333	-1.31	0.0955	0.0378
2	1	5	0.1667	-1.19	0.1166	0.0501
2.2	1	6	0.2	-0.96	0.1682	0.0318
2.3	1	7	0.2333	-0.85	0.1988	0.0345
2.4	3	10	0.3333	-0.73	0.2325	0.1008
2.5	1	11	0.3667	-0.62	0.2692	0.0975
2.7	1	12	0.4	-0.38	0.3503	0.0497
2.9	2	14	0.4667	-0.15	0.4389	0.0278
3.1	2	16	0.5333	0.08	0.5307	0.0026
3.3	1	17	0.5667	0.31	0.6208	0.0541
3.5	3	20	0.6667	0.54	0.7049	0.0382
3.7	3	23	0.7667	0.77	0.7791	0.0124
3.8	1	24	0.8	0.88	0.8118	0.0118
4	2	26	0.8667	1.12	0.8676	0.0009
4.1	3	29	0.9667	1.23	0.8908	0.0759
4.5	1	30	1	1.69	0.9547	0.0453
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.1008
valor maximo absoluto:	Dcalculada=	0.1008				
	Dtabla=	0.2417				
la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla						

s) Sodio

Prueba de Kolmogorov Smirnov de Una Muestra						
Valor	Frecuencia	Fa	Prob (Fa)	Z	Prob(z)	Prob(Fa)-Prob(z)
132	1	1	0.0333	-1.44	0.075	0.0417
135	3	4	0.1333	-1.17	0.1211	0.0122
138	3	7	0.2333	-0.9	0.1842	0.0491
140	2	9	0.3	-0.72	0.2359	0.0641
143	1	10	0.3333	-0.45	0.3264	0.0069
144	2	12	0.4	-0.36	0.3595	0.0405
145	4	16	0.5333	-0.27	0.3936	0.1397
146	4	20	0.6667	-0.18	0.4286	0.2381
148	1	21	0.7	0	0.5	0.2
149	1	22	0.7333	0.09	0.5358	0.1975
160	2	24	0.8	1.08	0.8598	0.0598
164	1	25	0.8333	1.44	0.925	0.0917
165	2	27	0.9	1.53	0.9369	0.0369
167	1	28	0.9333	1.71	0.9563	0.023
168	2	30	1	1.8	0.964	0.036
	30					
				z=valor-mu/desvet		0.2381
valor maximo absoluto:	Dcalculada=	0.2381				
	Dtabla=	0.2417				
la variable si sigue la distribucion normal porque la diferencia calculada es menor a la diferencia de tabla						