



Universidad de Concepción
Facultad Farmacia

**“PROCEDIMIENTO DE VERIFICACIÓN ANALÍTICA
BASADO EN CLSI EP15-A3 Y CONSTRUCCIÓN DE
CARTA DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE
CISTATINA C EN EL SISTEMA DE NEFELOMETRÍA
ATELLICA® NEPH630 REALIZADO EN EL
LABORATORIO CLÍNICO DIAGNOMED S.A.”**

POR ALEX MATÍAS CABEZAS ROMÁN

Trabajo de Internado en Sector Salud presentado en la Facultad de Farmacia de la Universidad de
Concepción para optar al título profesional de Bioquímico

Profesora patrocinante: Dra. Liliana Lamperti Figueroa

Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología Facultad de Farmacia
Universidad de Concepción

Profesional guía: BQ. Paolo Giraudo Torres, MSc.

Director Técnico
Laboratorio Clínico Diagnomed S.A.

Profesional co-guía: BQ. Jorge Gower Pastenes

Encargado de Calidad del Laboratorio
Laboratorio Clínico Diagnomed S.A.

Abril, 2024

Concepción, Chile

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

AGRADECIMIENTOS

A mi querida familia, a mi mamá, papá, hermana y pareja. Su amor incondicional ha sido el pilar fundamental que me ha sostenido durante cada etapa de mi paso por la universidad. Gracias a su apoyo inquebrantable he podido alcanzar mis metas y sueños. Crecer en un hogar donde el amor, la empatía y la pasión por lo que hacemos ha sido un regalo invaluable. No tengo palabras suficientes para expresar mi profunda gratitud por su constante presencia y aliento. Ustedes son mi mayor inspiración y el motor que me impulsa a seguir adelante.

A mis amigos, tesoros que la vida universitaria me ha regalado. Compañeros de camino, con quienes comparto alegrías y tristezas, confidentes de mis sueños y anhelos, y yo de los suyos. Su felicidad es la mía, y nuestras historias, un reflejo de la conexión profunda que nos une. Son una pieza clave en mi camino, y su amistad, el mayor regalo que me llevo de esta etapa.

Al equipo del Laboratorio Clínico Diagnomed S.A. quiero expresar mi más profunda gratitud por su invaluable apoyo durante mi internado. Su calidez me acogió como un integrante más desde el primer momento, su paciencia y dedicación me guiaron en el camino del aprendizaje, y su pasión por la profesión me inspiró a convertirme en un profesional íntegro, con la visión y misión que el laboratorio clínico necesita. Gracias por abrirme las puertas a este mundo y por mostrarme la belleza y el significado de ser un profesional de la salud.

A todos y todas quienes han aportado a mi desarrollo profesional.

Qué hermoso es sentir ese llamado, esa vocación que brota desde lo más profundo de nuestro ser. Un anhelo que busca manifestarse a través de una profesión, un camino donde volcar nuestro conocimiento, dedicación y pasión. Es un privilegio poder convertir ese llamado interno en una labor tangible, en un servicio al mundo que nos llena de significado y realización.

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS.....	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	6
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	7
RESUMEN.....	8
ABSTRACT.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
PROBLEMA.....	20
PREGUNTA.....	20
HIPÓTESIS.....	21
OBJETIVO GENERAL.....	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
MATERIALES E INSUMOS.....	22
METODOLOGÍA.....	23
RESULTADOS.....	28
1) Verificar la precisión y estimación de sesgo mediante el protocolo CLSI EP15-A3 de la determinación de cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el Laboratorio Clínico Diagnomed.....	28
1.1 Estudio de Precisión intracorrida e intercorrida.....	28
1.1.1 Análisis del nivel de control 1 para estudio de precisión.....	29
1.1.2 Análisis del nivel de control 2 para estudio de precisión.....	34
1.2 Estimación del Sesgo (BIAS).	39
1.2.1 Análisis del nivel de control 1 para estimación de sesgo (BIAS).....	40
1.2.2 Análisis del nivel de control 2 para estimación de sesgo (BIAS).....	42
1.3 Estudio del Error Total.....	45
1.3.1 Estudio del nivel de control 1 del Error Total.....	45
1.3.2 Estudio del nivel de control 2 del Error Total.....	46

2) Determinar la competencia analítica de la determinación de cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el Laboratorio Clínico Diagnomed.....	47
2.1 Análisis de la Carta Normalizada OPSpecs.....	47
2.1.1 Análisis de la Carta Normalizada OPSpecs para el control de nivel 1	48
2.1.2 Análisis de la Carta Normalizada OPSpecs para el control de nivel 2.	49
2.2 Análisis de Sigma.....	51
2.2.1 Cálculo de Sigma para el control de nivel 1.....	52
2.2.2 Cálculo de Sigma para el control de nivel 2.....	53
3) Construir la carta de control Levey-Jennings para cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el laboratorio clínico Diagnomed...	54
3.1 Construcción de Carta Control Levey-Jennings para el control de nivel 1	55
3.2 Construcción de Carta Control Levey-Jennings para el control de nivel 2	58
4) Elaborar la ficha técnica para la determinación de cistatina C en el Laboratorio Clínico Diagnomed.....	61
DISCUSIÓN.....	63
CONCLUSIÓN.....	72
BIBLIOGRAFÍA	74
ANEXOS.....	81
1) Certificación de usuario básico para el instrumento Atellica® NEH630.....	81
2) Inserto del kit comercial N Látex Cistatina C.....	82
3) Inserto controles de primera opinión N Latex Cystatin C CONTROL 1 Y CONTROL 2.....	92
4) Inserto calibrador N Protein Standard UY.....	93
5) Planilla Excel© entregada por Siemens y reconstruida por el usuario para la verificación de la precisión y sesgo según el protocolo EP15-A3 del CLSI.....	94
6) Datos para la construcción de la carta control Levey-Jennings para el control de nivel 1.....	95
7) Datos para la construcción de la carta control Levey-Jennings para el control de nivel 2.....	95

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Compilación de datos para el análisis del nivel 1 de control.....	29
Tabla 2: Comparación de estimaciones de imprecisión con el UVL para el control de nivel 1.	33
Tabla 3: Comparación de estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante para el control de nivel 1.....	34
Tabla 4: Compilación de datos para el análisis del nivel 2 de control.....	34
Tabla 5: Comparación de estimaciones de imprecisión con el UVL para el control de nivel 2.	38
Tabla 6: Comparación de estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante para el control de nivel 2.	39
Tabla 7: Comparación del %Sesgo obtenido y el %Sesgo máximo permitido para el control de nivel 1.....	42
Tabla 8: Comparación del %Sesgo obtenido y el %Sesgo máximo permitido para el control de nivel 2.....	44
Tabla 9: Comparación del Error total obtenido y el Error total permitido para el control de nivel 1.....	46
Tabla 10: Comparación del Error total obtenido y el Error total permitido para el control de nivel 2.....	47
Tabla 11: Relación entre el valor Sigma y el desempeño del método analítico.....	52
Tabla 12: Sigma del procedimiento de verificación del control de nivel 1.....	52
Tabla 13: Sigma del procedimiento de verificación del control de nivel 2.....	53

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1: Diagrama de flujo del procedimiento de evaluación de precisión. CV= coeficiente de variación, UVL= Límite superior de verificación, Lab= laboratorio (usuario), Fab= fabricante. Elaboración propia basado en las indicaciones del protocolo EP15-A3 del CLSI.....	24
Figura 2: Diagrama de flujo del estudio de estimación de sesgo (BIAS). Elaboración propia basado en las indicaciones del protocolo EP15-A3 del CLSI.	25
Figura 3: Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 25 mediciones diarias del nivel 1 de control. Se graficó la concentración de Cistatina C (mg/L) vs. número de réplicas realizadas. En naranja se representaron los Límites Superior (1,1342 mg/L) e Inferior (1,0058 mg/L), en gris la concentración del inserto (1,07 mg/L) y en azul los 25 valores resultantes de los 5 días de medición.....	30
Figura 4: Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 25 mediciones diarias del nivel 2 de control. Se graficó la concentración de Cistatina C (mg/L) vs. número de réplicas realizadas. En naranja se representaron los Límites Superior (2,3744 mg/L) e Inferior (2,1056 mg/L), en gris la concentración del inserto (2,24 mg/L) y en azul los 25 valores resultantes de los 5 días de medición.....	35
Figura 5: Gráfico OPSpecs normalizado para procedimiento de control de nivel 1, con 90% AQA. Se graficó la inexactitud permitida (%sesgo como %ETP) vs imprecisión permitida (%CV como %ETP).....	49
Figura 6: Gráfico OPSpecs normalizado para procedimiento de control de nivel 2, con 90% AQA. Se graficó la inexactitud permitida (%sesgo como %ETP) vs imprecisión permitida (%CV como %ETP).....	50
Figura 6: Gráfico OPSpecs normalizado para procedimiento de control de nivel 2, con 50% AQA. Se graficó la inexactitud permitida (%sesgo como %ETP) vs imprecisión permitida (%CV como %ETP).....	51
Figura 7: Carta de Control Levey-Jennings para el control de nivel 1. Se registraron los días de medición con su correspondiente resultado obtenido tras el análisis del control. En la línea central gris se marca la media de las mediciones del control correspondiente y las líneas punteadas representan los límites de control.....	57
Figura 8: Carta de Control Levey-Jennings para el control de nivel 2. Se registraron los días de medición con su correspondiente resultado obtenido tras el análisis del control. En la línea central gris se marca la media de las mediciones del control correspondiente y las líneas punteadas representan los límites de control.....	60

RESUMEN

La creatinina, el principal biomarcador para la Insuficiencia Renal Aguda (IRA), presenta limitaciones por su variabilidad según la edad, dieta o masa muscular del paciente. En este contexto, la cistatina C emerge como una alternativa prometedora.

Esta proteína, de bajo peso molecular y producción constante, no se ve afectada por los factores mencionados. Se filtra libremente en el glomérulo y se reabsorbe y cataboliza en el túbulo proximal, sin reingresar al torrente sanguíneo.

Su principal ventaja radica en su capacidad de aumentar de 36 a 48 horas antes que la creatinina en la IRA, permitiendo un diagnóstico más precoz, crucial en la población pediátrica por las potenciales secuelas a largo plazo.

En este estudio, se verificó con éxito la determinación de cistatina C en el sistema Atellica® NEPH630 del Laboratorio Clínico Diagnomed S.A., siguiendo el protocolo EP15-A3 del CLSI para la evaluación de la imprecisión y sesgo de los datos.

Esta verificación abre la puerta a la puesta en marcha de la medida de la cistatina C como un biomarcador más preciso y temprano para la IRA, especialmente en la población pediátrica, mejorando la calidad del diagnóstico y el pronóstico de la enfermedad.

ABSTRACT

Creatinine, the main biomarker for Acute Kidney Injury (AKI), has limitations due to its variability depending on the patient's age, diet or muscle mass. In this context, cystatin C emerges as a promising alternative.

This protein, with a low molecular weight and constant production, is not affected by the aforementioned characteristics. It is freely filtered in the glomerulus and reabsorbed and catabolised in the proximal tubule, without re-entering the bloodstream.

Its main advantage lies in its ability to rise 36 to 48 hours earlier than creatinine in AKI, allowing early diagnosis, which is crucial in the paediatric population because of the potential long-term sequelae.

In this study, cystatin C determination was successfully verified on the Atellica® NEPH630 system of Laboratorio Clínico Diagnomed S.A., following the CLSI EP15-A3 protocol for the evaluation of data imprecision and bias.

This verification opens the door to the implementation of cystatin C as a more accurate and earlier biomarker for AKI, especially in the paediatric population, improving the quality of diagnosis and prognosis of the disease.

INTRODUCCIÓN

La Insuficiencia Renal Aguda (IRA) es la disminución brusca en la capacidad que poseen los riñones para filtrar y eliminar productos nitrogenados de desecho que produce alteración del equilibrio hidroelectrolítico. Puede desarrollarse en pacientes pediátricos y adultos, alterando la homeostasis renal y del organismo. Se relaciona con diferentes factores de riesgo, por ejemplo, comorbilidades (diabetes, hipertensión arterial, autoinmunidad, obesidad o tabaquismo), polifarmacia (uso de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, diuréticos, antibióticos, entre otros) o procesos infecciosos (del tracto urinario o sepsis). La presencia de estos factores de riesgo aumenta la probabilidad de desarrollar esta patología. Si la IRA no se trata de manera oportuna o no se diagnostica a tiempo, puede progresar a una enfermedad renal crónica (IRC) (Gainza 2023).

A nivel mundial, se presenta en 1 de cada 3 pacientes pediátricos (Rewa et al. 2014) y en pacientes adultos hospitalizados existe en 1 de cada 5 (Clec'h et al. 2011), aumentando en unidades pacientes críticos (UPC) en un 4 - 67% (Da Hora et al. 2018). En Chile, se presenta en la población pediátrica en 90 de cada 1 millón de niños, de ellos un 5% son hospitalizados, 3 a 10% son provenientes de neonatología y hasta un 20% en paciente en UPC (Pedrero, 2016). En la población hospitalizada adulta, sólo en la Región Metropolitana se presenta entre un 27 y 67% siendo específicamente la incidencia de IRA grave (requerimiento de diálisis) de 1,03

casos cada 1.000 egresados, con una mortalidad del 45% (Vukusich et al. 2004).

Además, en UPC existe un desarrollo de IRA de un 28,9% asociada a factores de riesgo para su desarrollo como la edad, hipertensión arterial y diabetes mellitus (Boltansky et al. 2015).

Para evaluar la función renal se utilizan biomarcadores, que son características que se miden y evalúan los procesos biológicos fisiológicos, patológicos y farmacológicos (BGWG 2001). Estos biomarcadores pueden ser urinarios como la microalbuminuria o la proteinuria total, así como también sanguíneos, tales como la urea o la creatinina, siendo esta última, en la actualidad, el principal biomarcador para evaluar la IRA. La manera más conocida para medir la concentración de creatinina sanguínea es una reacción colorimétrica, conocida como “Reacción de Jaffé” (Darren, et al. 2002), que se basa en la interacción entre creatinina y picrato alcalino para producir un complejo de creatinina-picrato de color rojo, llamado “complejo de Janovsky”. La velocidad de formación del complejo es proporcional a la concentración de creatinina. En esta determinación, en fase analítica, se debe considerar la temperatura del procedimiento, ya que puede afectar a la velocidad del proceso, también el pH, ya que se ve alterada la forma del producto formado, así como el color del producto final, si es que no se mantiene dentro del rango ideal (Siemens, 2022). Actualmente se ha determinado que la reacción enzimática es la ideal para poder determinar la creatininemia (Huidobro et al. 2018), que consiste en una serie de reacciones enzimáticas simultáneas, para producir un pigmento de quinona, donde se debe considerar la temperatura de la reacción, ya que la mayoría de las enzimas tienen una temperatura de catálisis óptima a la que trabajan de mejor manera, por lo que algún tipo de alteración

podría resultar en la reducción de la actividad enzimática, así como, también, el pH la puede reducir (Siemens, 2023). A pesar de existir estas dos maneras de medir la creatininemia en el laboratorio clínico, la concentración de la creatinina en sangre presenta alteraciones como biomarcador renal en pacientes con dietas estrictas, ya que las dietas ricas en proteínas o con suplementos de creatina o creatinina suelen aumentar la creatininemia, especialmente en personas con enfermedad renal preexistente y las dietas basadas en plantas pueden disminuir la creatininemia (Gainza, 2023). También las alteraciones musculares como amputaciones, pérdida de masa muscular, enfermedades musculares y parálisis, puesto que la disminución de masa muscular puede disminuir su valor (Pagana et al. 2010). Las hepatopatías pueden aumentar la creatininemia debido a la disminución de la secreción tubular renal de creatinina y en el embarazo puede disminuir, especialmente en el segundo y tercer trimestre (MINSAL, 2017), lo que lleva a una interpretación errónea y monitoreo inadecuado de la función renal (Chen et al. 2019).

En consecuencia a lo anterior se ha hecho necesaria la investigación de nuevos biomarcadores de IRA que no dependan de factores que varían de paciente en paciente y que permitan detectar precozmente con mayor certeza una IRA (Fernández et al. 2010), tales como lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilo (NGAL), N-acetil-D-glucosaminidasa (NAG), molécula de injuria renal 1 (KIM-1), interleuquina-18 (IL-18), inhibidor tisular de las metaloproteinasas-2 (TIMP-2), proteína 7 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina (IGFBP-7) y cistatina C (Lombi et al. 2017). A partir del 2017, El Ministerio de Salud (MINSAL) de Chile establece que “Se recomienda la medición de moléculas endógenas que tienen eliminación principalmente renal como la Creatinina y Cistatina C” (MINSAL, 2017). Según la

literatura, la cistatina C ha significado un gran aporte para la evaluación de la función renal, ya que posee características que la hacen un biomarcador ideal para la detección de IRA.

La cistatina C es una proteína de bajo peso molecular (13,3 kDa) (Ortuño-Anderiz et al. 2015) perteneciente a la familia de las cisteín-proteasas que tiene como función la inhibición de las catepsinas B, H L y S que participan en el metabolismo intracelular de proteínas, catabolismo del colágeno y degradación de matriz celular (Fernández et al. 2011). También se produce constantemente en todas las células nucleadas del organismo y está presente en casi todos los fluidos biológicos, abundando en plasma, líquido cefalorraquídeo, líquido seminal y leche materna (Arrobas et al. 2013). Su concentración sanguínea es estable ($< 0,7$ mg/L), no interacciona con proteínas plasmáticas y su presencia en la sangre no depende de variables propias del paciente, ya sean no modificables o modificables, como edad, sexo, masa muscular, dieta o raza (Fraga et al. 2012, Huidobro et al. 2021). En el riñón, se filtra libremente por el glomérulo y se reabsorbe en el túbulo proximal en un proceso de endocitosis mediada por receptor, siendo catabolizada por las células tubulares para que no retorne al torrente sanguíneo (Moya et al. 2015). Además, su concentración sérica aumenta de 36 a 48 horas antes que la creatinina en la IRA (Benavides et al. 2019). Por estas características la cistatina C es un biomarcador superior a la creatinina para el diagnóstico precoz de la enfermedad renal. Sin embargo, a pesar de sus características ventajosas como biomarcador, la cistatina C no se utiliza tan ampliamente como la creatinina, por lo que es crucial divulgar las ventajas de este biomarcador entre la comunidad médica para que pueda ser

utilizado de forma más adecuada en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad renal, incluyendo la IRA en ciertos grupos de pacientes.

Grubb y colaboradores estudiaron el uso de la cistatina C en el contexto clínico (Grubb et al. 1985), quienes diseñaron un estudio en el que se compararon los recíprocos de las concentraciones séricas de creatinina y cistatina C para estimar la velocidad de filtración glomerular (VFG), en comparación con el clearance de creatinina, mediante inmunodifusión radial amplificada con enzimas, en un total de 135 pacientes entre 7 y 77 años. Determinaron la distribución de los datos obtenidos de las VFG calculadas, siendo para cistatina C y creatinina una distribución normal. Los resultados de los coeficientes de correlación de Pearson (r) fueron para cistatina C de 0,77 y para creatinina de 0,75; lo que significa que existe una relación positiva entre el aumento de la VFG y el aumento del recíproco de la concentración de cistatina C sérica, o bien, al disminuir la VFG, aumenta la concentración de cistatina C sérica.

En 2002 Dharnidharka y colaboradores (Dharnidharka et al. 2002) ejecutaron un metanálisis de los valores del área bajo la curva “Característica Operativa del Receptor” (AUC-ROC) para los recíprocos de cistatina C y creatinina en 14 conjuntos de datos que realizaron inmunodifusión radial amplificado con enzimas, ELISA sándwich, inmunoturbidimetría e inmunonefelometría en un total de 1643 sujetos de estudio. Los datos presentaron una distribución normal y los coeficientes de relación de Pearson (r) globales fueron iguales a 0,816 para el recíproco de cistatina C y 0,742 para el recíproco de creatinina, con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$). Se mostró que los valores del AUC-ROC

para cistatina C fluctuaron entre 0,75000 y 1,000, mientras que creatinina tuvo valores entre 0,5070 – 0,9600, lo que es estadísticamente significativo ($p < 0,001$). Esto quiere decir que en ambos casos la prueba sirve para detectar a pacientes con disminución de la VFG, pero con cistatina C presenta un mejor desempeño en relación a la sensibilidad y especificidad clínica.

La medición de la cistatina C sérica presenta algunas consideraciones importantes. Una de ellas es su mayor utilidad diagnóstica en pacientes con pesos extremos, como anorexia (Delnaye et al. 2008) u obesidad (Schuck et al. 2004), presencia de alteraciones musculares como amputaciones y/o enfermedades neuromusculares (Viollet et al. 2009). También se ha aconsejado en embarazos (Babay et al. 2005) y en pacientes portadores del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (Odden et al. 2007). Cabe decir que la determinación de cistatina C sérica podría verse alterada en pacientes con patologías tiroideas no tratadas, disminuyendo en un 14% en hipotiroidismo y aumentando un 21% en hipertiroidismo (Jayagopal et al. 2003). También en personas que usan inmunosupresores dosis dependiente, ya que en dosis bajas podría aumentar entre 0,20 a 1,85 mg/L (Risch et al. 2001). Estas alteraciones son producidas, principalmente, por la disminución o el aumento de la síntesis proteica, asociados a la enfermedad de base. Sin embargo, estas condiciones no invalidan su uso como biomarcador de la función renal. De hecho, la cistatina C, junto con los biomarcadores tradicionales, ofrece una evaluación más completa y precisa de la función renal, lo que permite detectar de forma más temprana y precisa el daño renal.

El diagnóstico temprano de la IRA en niños es crucial para evitar complicaciones graves e incluso la muerte, por lo que la cistatina C surge como un biomarcador de gran relevancia en este ámbito. La IRA tiene incidencia mundial en 1 de cada 3 pacientes, asociada a un 14% de mortalidad en niños hospitalizados (Antón et al. 2014), en consecuencia, se recomienda la medición de la concentración sanguínea de cistatina C en este grupo, ya que, al ser un marcador precoz de la IRA, se puede diagnosticar y tratar a tiempo, lo que llevaría a la reducción de secuelas, por lo que prevendría la evolución de una enfermedad renal en la adultez. Aquellas condiciones que alteran el valor de la cistatina C sérica son estadísticamente bajas, ya que el hipotiroidismo se presenta entre 1 de cada 3500 a 4000 nacidos vivos (Sanz et al. 2015) y el hipertiroidismo en 0,1 de cada 100.000 niños prepúberes, y en adolescentes en 1 de cada 100.000 (Godoy et al. 2009). Si bien no hay estadísticas precisas sobre el uso de inmunosupresores en la población pediátrica, se sabe que su efecto varía en función de la dosis administrada.

La incorporación de la cistatina C a la evaluación clínica habitual es un avance fundamental que permite una valoración integral del paciente, fortaleciendo significativamente la detección y el manejo temprano de la disfunción renal. Esta herramienta aporta información complementaria a la creatinina, mejorando la sensibilidad y precisión del diagnóstico y la evaluación del riesgo cardiovascular en poblaciones con características especiales, como diabetes o edad avanzada. Su uso facilita la toma de decisiones clínicas oportunas, permitiendo la implementación de estrategias de prevención y tratamiento personalizadas que mejoran el pronóstico y la calidad de vida de los pacientes. Este biomarcador se

presenta como una herramienta valiosa para la evaluación clínica, lo que brinda una visión más completa del estado de salud del paciente y contribuye a la detección temprana y el manejo eficaz de la disfunción renal. Al tener en cuenta lo anterior, se hace necesario contar con este examen en los laboratorios clínicos para que los profesionales de la salud puedan acceder a estos datos y tomar decisiones informadas sobre el cuidado de sus pacientes.

La cistatina C no solo representa un avance en la evaluación renal, sino también una oportunidad para mejorar la salud. Su implementación en los laboratorios clínicos permitirá la identificación temprana de personas con riesgo de enfermedad renal, posibilitando la intervención oportuna y la prevención de mayores complicaciones.

Cuando el laboratorio clínico necesita implementar un nuevo biomarcador, como la cistatina C, es necesario establecer el método analítico para determinar su concentración. El gold standard para medir cistatina C es la espectrometría de masas, ya que permite detectar concentraciones bajas de analitos y genera un espectro único para cada molécula a analizar, siendo sensible y selectiva en la determinación de muestras complejas, pero las desventajas son que es muy costosa y necesita mantenimiento constante y especializado (Domon et al. 2006), por lo que se requiere de otras alternativas, como las opciones de realizarse por inmunodifusión radial simple amplificada con enzimas, ELISA sándwich, inmunoturbidimetría o inmunonefelometría. (Kyhse et al. 1994, Pergande et al. 1993). Investigaciones recientes han utilizado métodos inmunoturbidimétricos o inmunonefelométricos, ya que tienen una buena correlación con la VFG, aunque la

inmunonefelometría tiene mejor rendimiento y precisión ya que es capaz de detectar concentraciones bajas de los analitos (Dhamidharka et al. 2002). La nefelometría es la medición de la luz dispersa o reflejada hacia un detector que se encuentra en un ángulo determinado, generalmente 90°, con respecto con el haz de luz incidente a la muestra. Esta técnica se recomienda en muestras con concentraciones bajas de analito, ya que la dispersión de la luz es débil. Se fundamenta en la dispersión de la luz que provocan las partículas de materia. Al incidir la luz en un medio transparente con partículas sólidas en suspensión, ésta se dispersa en todas direcciones, por lo que la cantidad de luz dispersada es proporcional a la cantidad de partícula en análisis (Chianese et al. 2012). En el mercado actual existen kits para la determinación de cistatina C sérica, siendo el elegido un kit de método nefelométrico de la empresa Siemens, exclusivo para el sistema Atellica® NEPH630.

Para garantizar la precisión y confiabilidad de los resultados, la implementación de una nueva determinación en el laboratorio clínico exige un meticuloso proceso que asegure el cumplimiento de los estándares de calidad. Esto implica la elaboración de un plan de trabajo que detalle las etapas del proceso, desde la selección del método analítico hasta la evaluación del desempeño del mismo. Para garantizar la confiabilidad de los resultados en el laboratorio clínico, se establece una metodología óptima para el análisis de reactivos. El primer paso es verificar la precisión y el sesgo (BIAS) de la información presente en el inserto del reactivo (ISO 2020). Este paso es crucial para determinar si los resultados obtenidos serán analíticamente confiables (Gella et al., 2011). El protocolo CLSI EP15-A3 del *Clinical &*

Laboratory Standard Institute (CLSI, 2014) proporciona las indicaciones para realizar la estimación de la imprecisión y del sesgo en los procedimientos de medición cuantitativa. Si la verificación cumple con los requisitos de calidad y se implementa el reactivo, es necesario realizar una evaluación de desempeño de la técnica mediante un control de calidad interno y externo, ya que este análisis compara la precisión y exactitud analítica del laboratorio con el error tolerable máximo para el biomarcador y con otros que usan reactivos e instrumentos similares o diferentes. Estos procesos tienen como objetivo demostrar la calidad analítica de los resultados entregados por el laboratorio clínico.

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El método actual para evaluar la función renal, basado en la creatinina, tiene limitaciones que pueden llevar a un diagnóstico tardío o erróneo de la IRA.

La cistatina C se propone como un biomarcador más preciso que, a diferencia de otros, no se modifica con una serie de variables altamente prevalentes. Su implementación permite un diagnóstico temprano y un tratamiento oportuno, mejorando el pronóstico y la calidad de vida de los pacientes con IRA, especialmente en el paciente pediátrico.

En el Laboratorio Clínico Diagnomed no existe un ensayo que determine la concentración sérica de cistatina C, por lo que se hace necesaria su implementación. Este proceso debe llevarse a cabo a través de la verificación de la precisión y estimación de sesgo según el protocolo EP15-A3 del CLSI. Esta iniciativa representa una oportunidad para mejorar la atención a los pacientes con IRA.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el grado de cumplimiento del procedimiento de verificación del ensayo N Latex Cystatin C de Siemens para la medición de cistatina C sérica, según el protocolo CLSI EP15-A3 de precisión y estimación de sesgo en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el Laboratorio Clínico Diagnomed?

HIPÓTESIS

El ensayo N Latex Cystatin C de Siemens para cistatina C sérica cumple satisfactoriamente con el procedimiento de verificación CLSI EP15-A3 de precisión y estimación de sesgo en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

OBJETIVO GENERAL

Verificar el ensayo N Latex Cystatin C de Siemens para la medición de cistatina C según el protocolo CLSI EP15-A3 de precisión y estimación de sesgo en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Verificar la precisión y estimación de sesgo mediante el protocolo CLSI EP15-A3 de la determinación de cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el Laboratorio Clínico Diagnomed.
- 2) Construir la carta de control Levey-Jennings para cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el laboratorio clínico Diagnomed.
- 3) Determinar la competencia analítica de la determinación de cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el Laboratorio Clínico Diagnomed.
- 4) Elaborar la ficha técnica para la determinación de cistatina C en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

MATERIALES E INSUMOS

Este estudio se realizó en la sección de química clínica del Laboratorio Clínico Diagnomed S.A. Para el análisis se utilizó el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 (certificado de capacitación nivel usuario en anexo 1). Se realizó el procedimiento de verificación del ensayo N Latex Cystatin C de Siemens para la medición de cistatina C según las indicaciones del protocolo CLSI EP15-A3.

Para realizar el análisis se utilizó el Kit N Latex Cystatin C de Siemens, el cual incluye:

- **Reactivo N Cystatin C (3 x 2 mL):** partículas de poliestireno recubiertas de anticuerpos anti-Cistatina C humana, conejo (concentración de anticuerpos activos: 0,016 g/L) (inserto en anexo 2).
- **Control N Cystatin C, nivel 1 (3 x 1 mL):** liofilizado que contiene poligeli-na, proteínas de orina, humanas y azida sódica (reconstituido:<1 g/L). (inserto en anexo 3).
- **Control N Cystatin C, nivel 2 (3 x 1 mL):** liofilizado que contiene poligeli-na, proteínas de orina, humanas y azida sódica (reconstituido:<1 g/L). (inserto en anexo 3).
- **Reactivo adicional A N Cystatin C (3 x 0,5 mL):** inmunoglobulina, conejo (14 g/L), azida sódica (< 1 g/L), tampón.
- **Reactivo adicional B N Cystatin C (3 x 1,6 mL):** polietilenglicol sorbitán monolaureat (85 g/L), azida sódica (< 1 g/L).

Para generar las curvas de calibración se usó el calibrador **N Standard Protein UY** (1,69 mg/L) de Siemens, mediante diluciones seriadas preparadas automáticamente por el equipo (inserto en anexo 4).

METODOLOGÍA

1.- Verificar la precisión y estimación de sesgo mediante el protocolo CLSI EP15-A3 de la determinación de cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

Se prepararon 5 diluciones de igual volumen en tubos Eppendorf de cada nivel de control (Nivel 1= 1,07 mg/L; Nivel 2= 2,24 mg/L), que fueron medidas por quintuplicado 1 vez al día, por 5 días hábiles en copas tipo Hitachi en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630. Se mantuvieron similares las condiciones de trabajo todas las veces que se realizó el procedimiento, de modo que no se aplicaron factores externos que pudieran generar diferencias en los resultados, tales como medir las réplicas de los controles durante la mañana (09:00-12:00 horas), realizar el mantenimiento del equipo previamente a la medición de los controles y conservar las alícuotas de los controles a 5 °C aproximadamente. Los valores de la medición por nivel de control se ingresaron a una planilla de Excel® para analizar los datos estadísticamente y se evaluaron en busca de valores atípicos con el “Outlier Calculator” del software “GraphPad” con una prueba de Grubbs. El análisis estadístico incluyó análisis de imprecisión (Figura 1) entendiendo como verificado si el CV_R y CV_{WL} obtenidos son menores al UVL y/o al CV_R y CV_{WL} informados por el fabricante y estimación del sesgo (Figura 2), entendiendo como sesgo aceptable que el promedio observado se encuentra dentro del intervalo de verificación y/o que el sesgo observado sea menor al sesgo definido por el usuario (5,75%, proveniente del requisito de calidad de un 11,5%

Excel® de Siemens utilizada para la verificación por parte del usuario.

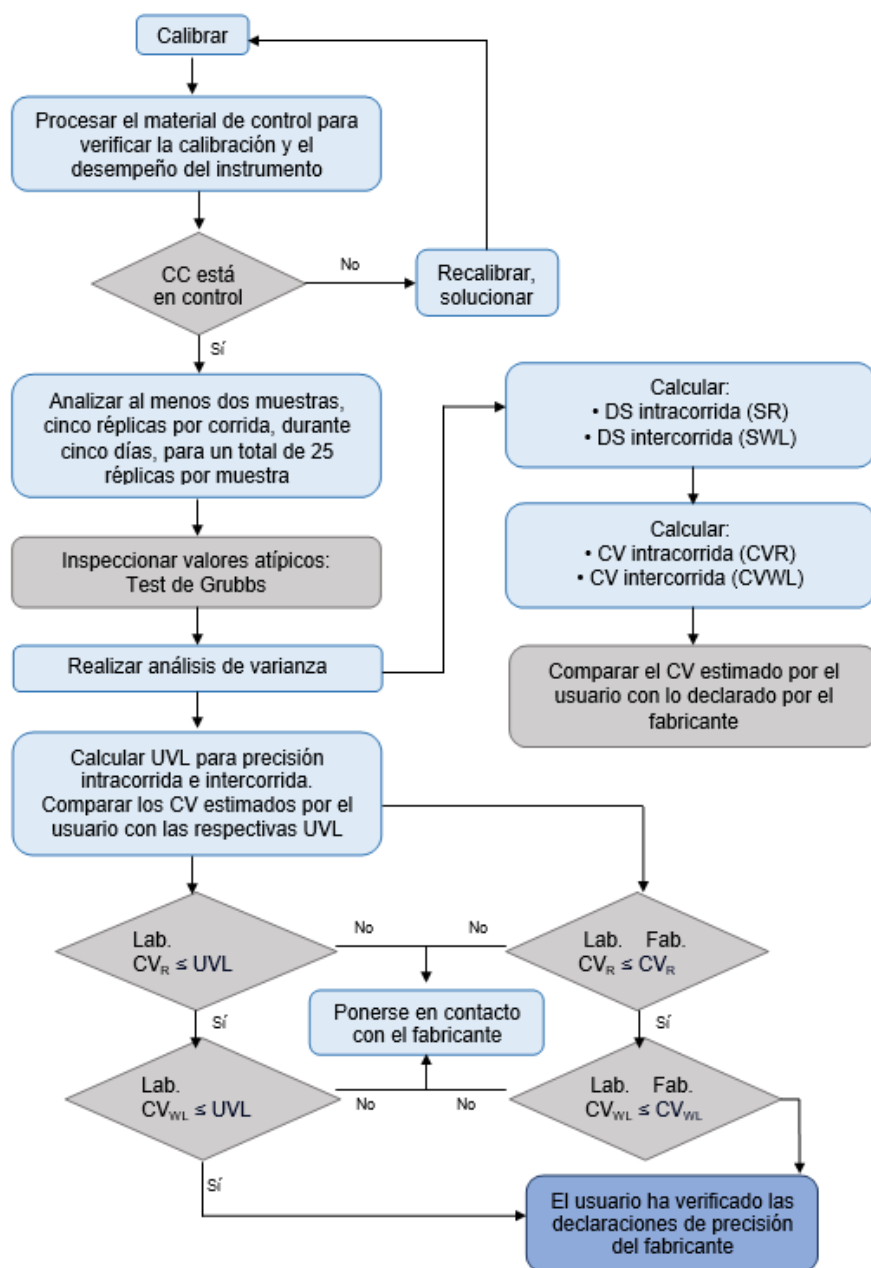


Figura 1: Diagrama de flujo del procedimiento de evaluación de precisión. CV= coeficiente de variación, UVL= Límite superior de verificación, Lab= laboratorio (usuario), Fab= fabricante. Elaboración propia basado en las indicaciones del protocolo EP15-A3 del CLSI.

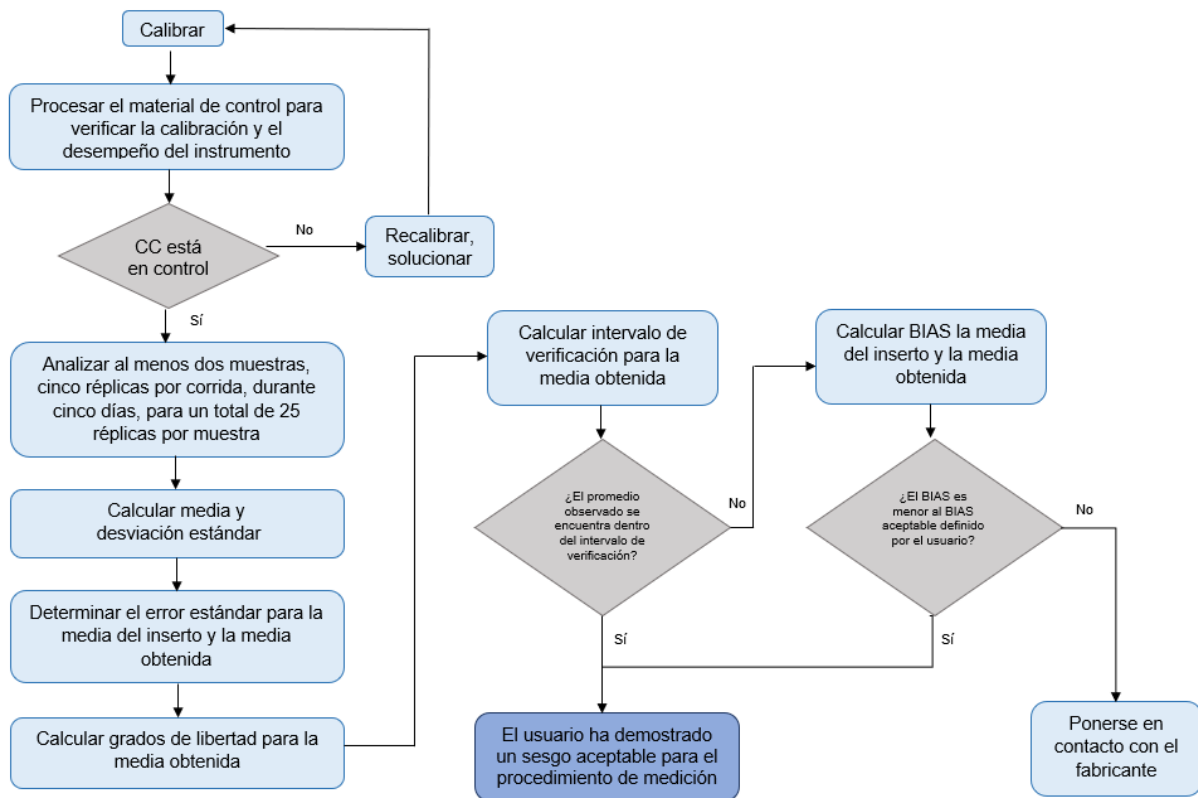


Figura 2: Diagrama de flujo del estudio de estimación de sesgo (BIAS). Elaboración propia basado en las indicaciones del protocolo EP15-A3 del CLSI.

2.- Determinar la competencia analítica de la determinación de cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

De manera orientativa, la carta OPSpecs es una herramienta gráfica que permitió correlacionar las imprecisiones e inexactitudes del método con el control de calidad necesario para lograr los requisitos de calidad especificados (ISP, 2009), para lo cual se utilizó los valores de CV_R , sesgo máximo permitido y % sesgo obtenido,

para cada nivel de control. Además, como guía, se determinó el desempeño de la técnica mediante el cálculo del valor Sigma, que es una medida que relacionó la tolerancia máxima para el proceso, con el rendimiento analítico y la frecuencia probable de defectos, o sea, su desempeño ^(ISP, 2009), por lo que se utilizó el valor del error total permitido, % sesgo obtenido y CV_R para cada nivel de control.

3.- Construir la carta de control Levey-Jennings para cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el laboratorio clínico Diagnomed.

Usando los datos recaudados en los 5 días de verificación, se le sumaron 20 días hábiles más en los cuales se midieron diariamente los controles de cistatina C hasta obtener un $N=25$, tomando en cuenta que podrían existir determinaciones aberrantes, ya que se necesita un mínimo de 20 datos para construir la carta de control. Si se obtiene el $N=20$ antes, sin valores aberrantes, se finalizará la medición en el día 20 de medición. Se mantuvieron similares las condiciones de trabajo todas las veces que se realizó el procedimiento, de modo que no se aplicaron factores externos que pudieran generar diferencias en los resultados, tales como medir las réplicas de los controles durante la mañana (09:00-12:00 horas), realizar el mantenimiento del equipo previamente a la medición de los controles y conservar las alícuotas de los controles a 5 °C aproximadamente. Luego, los datos se sometieron a análisis estadísticos en una planilla Excel® para calcular el Z-score y los límites de control, con lo cual se construyó la carta de control en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

4.- Elaborar la ficha técnica para la determinación de cistatina C en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

Mediante datos recaudados al finalizar los objetivos específicos 1 y 2, se diseñó la ficha técnica a modo de conclusión de la determinación de cistatina C en el laboratorio clínico Diagnomed. Ésta incluyó el nombre del examen, uso clínico, método, principio del método, intervalo de referencia, valor crítico, preparación del paciente, muestra requerida, estabilidad de la muestra, datos de la calibración, control y verificación.

RESULTADOS

1.- Verificar la precisión y estimación de sesgo mediante el protocolo CLSI EP15-A3 de la determinación de cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el laboratorio clínico Diagnomed.

1.1 Estudio de Precisión intracorrida e intercorrida.

La verificación de la precisión por parte del usuario se comparó con las especificaciones operativas publicadas por el fabricante y/o las especificaciones de calidad analítica adoptadas por el laboratorio. El laboratorio debió evaluar la precisión del procedimiento analítico bajo dos condiciones:

- Precisión en condiciones de intracorrida (repetibilidad).
- Precisión en condiciones intercorrida.

Para la precisión en condiciones de repetibilidad se consideró la utilización del mismo procedimiento de medida, el mismo laboratorio, el mismo equipo, el mismo operador, el mismo reactivo (lote y envase), la misma calibración y repeticiones en un intervalo corto de tiempo dentro de la misma corrida analítica. A esto se le denominó precisión intracorrida o intraserie, en cuyo caso las variables que pudieron generar dispersión en los resultados fueron muy limitadas.

Para la precisión en condiciones intercorrida se consideró la utilización del procedimiento de medida, el mismo laboratorio, el mismo equipo, el mismo operador o no y repeticiones en un intervalo prologado de tiempo. Durante un largo periodo de tiempo existen más variables que pueden generar dispersión de

los resultados, como cambios de lote de reactivos, calibraciones, cambios en las condiciones ambientales, mantenimiento y reparaciones del instrumento. Según lo establecido en la Guía EP15-A3 del CLSI:

-Para condiciones de repetibilidad o intracorrída se procesó cada material de control por quintuplicado (5 réplicas diarias) durante 5 días. A partir de estos resultados se calculó el coeficiente de variación intracorrída ($\%CV_R$).

- Para condiciones intercorrída se procesó cada material de control por quintuplicado durante 5 días. A partir de estos resultados se calculó el coeficiente de variación intercorrída ($\%CV_{WL}$).

1.1.1 Análisis del nivel de control 1 para estudio de precisión.

Resultados de la medición del Nivel 1.

Los resultados de las 25 repeticiones realizadas al nivel 1 de control se trazaron como una tabla (Tabla 1) y como representación gráfica (Figura 3).

Tabla 1: Compilación de datos para el análisis del nivel 1 de control.

Día	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Réplica	11/01/23	12/01/23	13/01/23	15/01/23	16/01/23
Réplica 1	1,10 mg/L	1,06 mg/L	1,08 mg/L	1,09 mg/L	1,10 mg/L
Réplica 2	1,12 mg/L	1,08 mg/L	1,10 mg/L	1,10 mg/L	1,07 mg/L
Réplica 3	1,12 mg/L	1,07 mg/L	1,07 mg/L	1,11 mg/L	1,06 mg/L
Réplica 4	1,11 mg/L	1,07 mg/L	1,09 mg/L	1,08 mg/L	1,08 mg/L
Réplica 5	1,09 mg/L	1,11 mg/L	1,05 mg/L	1,09 mg/L	1,10 mg/L

El protocolo, además, recomienda un análisis visual con el fin de considerar posibles valores atípicos. Para la gráfica obtenida en este análisis no se observaron datos con comportamiento atípico.

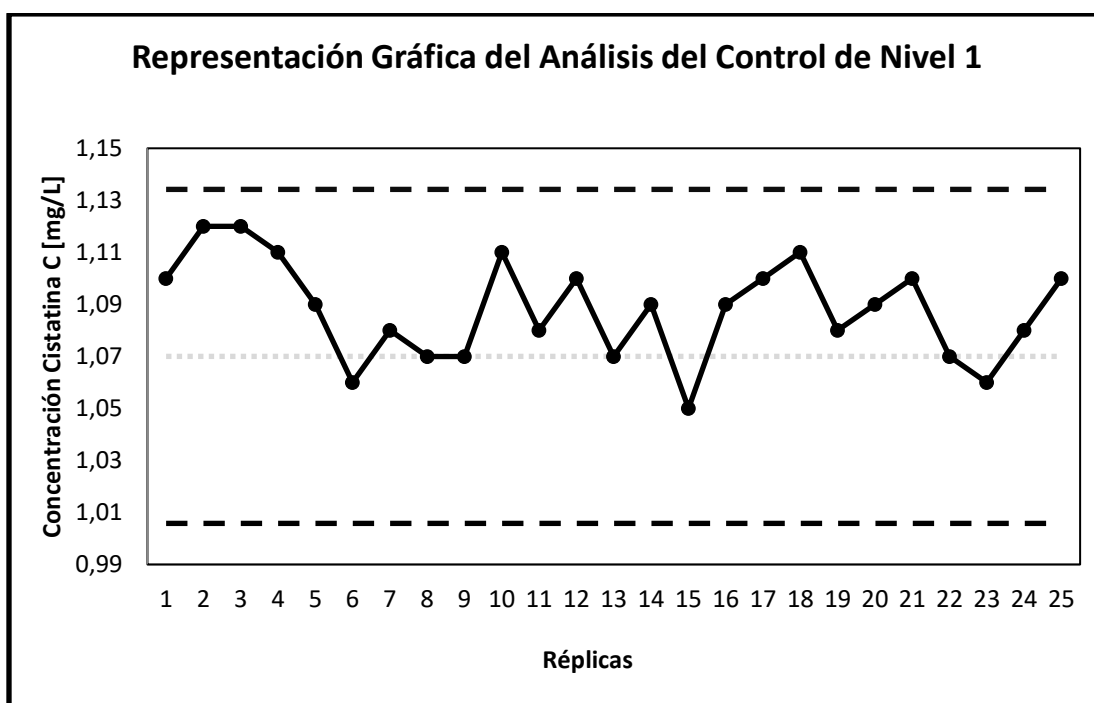


Figura 3: Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 25 mediciones diarias del nivel 1 de control. Se graficó la concentración de Cistatina C [mg/L] vs. número de réplicas realizadas. En guiones se representaron los Límites Superior [1,1342 mg/L] e Inferior [1,0058 mg/L], en la línea punteada la concentración del inserto [1,07 mg/L] y en la línea continua los 25 valores resultantes de los 5 días de medición.

Análisis estadístico

A través de un análisis estadístico de los 25 datos se obtuvo una media de 1,09 mg/L y una desviación estándar (SD) de 0,02.

El resultado más bajo que se obtuvo fue de 1,05 mg/L y el más alto resultó en 1,12 mg/L.

Prueba de Grubbs para valores atípicos

Según la prueba de Grubbs, un valor es atípico si este es mayor que el límite de Grubbs ($G \times DS$) de la media de la muestra, donde G es el coeficiente de Grubbs y DS es la desviación estándar de los datos sin procesar, incluidos los valores atípicos sospechosos. El factor G de Grubbs para $N=25$ es 3,135. A esto le siguió el cálculo de los límites de Grubbs:

$$G \times DS = Media \pm G \times DS$$

Siendo la media= 1,09 mg/dL y la SD= 0,02. Reemplazando, se obtiene los límites de Grubbs:

$$G \times DS = 1,09 \text{ mg/dL} \pm (3,135 \times 0,02)$$

$$\text{Límite inferior de Grubbs} = 1,03 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Límite superior de Grubbs} = 1,15 \text{ mg/dL}$$

Dado que todos los valores obtenidos se encontraron dentro de los límites, no se detectaron valores atípicos.

Cálculo del Límite Superior de Verificación Intracorrida (UVL_R)

$$UVL_R = \%CV_R \text{ fabricante} + (\%CV_R \text{ fabricante} \times 0,3)$$

$$UVL_R = 2,6 \text{ mg/dL} + (2,6 \text{ mg/dL} \times 0,3)$$

$$UVL_R = 3,38 \text{ mg/dL}$$

Cálculo del Límite Superior de Verificación Intercorrida (UVL_{WL})

$$UVL_{WL} = \%CV_{WL} \text{ fabricante} + (\%CV_{WL} \text{ fabricante} \times 0,3)$$

$$UVL_{WL} = 2,9 \text{ mg/dL} + (2,9 \text{ mg/dL} \times 0,3)$$

$$UVL_{WL} = 3,77 \text{ mg/dL}$$

Cálculo del Error Intracorrida (S_R)

$$S_R = \sqrt{MS \text{ intercorrida}}$$

Siendo MS= cuadrados medios

$$S_R = \sqrt{0,000274}$$

$$S_R = 0,0165$$

Cálculo del Error Intercorrida (S_{WL})

$$S_{WL} = \sqrt{MS \text{ intercorrida} + \frac{(MS \text{ intracorrida} - MS \text{ intercorrida})}{5}}$$

$$S_{WL} = \sqrt{0,000272 + \frac{(0,00084 - 0,000272)}{5}}$$

$$S_{WL} = 0,0196$$

Así se obtuvo que la desviación estándar en condiciones de repetibilidad o intracorrida (S_R) es de 0,0165 y la desviación estándar en condiciones de precisión intercorrida (S_{WL}) es de 0,0196.

Conversión de S_R a coeficiente de variación intracorrida (% CV_R) y de S_{WL} a coeficiente de variación intercorrida (% CV_{WL})

$$\%CV_R = \frac{S_R}{media} \times 100 = 1,5\%$$

$$\%CV_{WL} = \frac{S_{WL}}{media} \times 100 = 1,8\%$$

Así tenemos que el coeficiente de variación intracorrida (CV_R) es de 1,5%, mientras que el coeficiente de variación intercorrida (CV_{WL}) es de 1,8%.

Las estimaciones de imprecisión obtenidas del estudio se compararon con los límites superiores de verificación (UVL) (Tabla 2) y con las afirmaciones del fabricante (Tabla 3).

Tabla 2: Comparación de estimaciones de imprecisión con el UVL para el control de nivel 1.

Material de prueba	Media [mg/L]	N	Imprecisión Intracorrida		Análisis	Imprecisión Intercorrida		Análisis
			CV Intracorrida Obtenido	UVL Intracorrida		CV Intercorrida Obtenido	UVL Intercorrida	
Control nivel 1	1,09	25	1,5%	3,38%	Cumple	1,8%	3,77%	Cumple

Tabla 3: Comparación de estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante para el control de nivel 1.

Material de prueba	Media [mg/L]	N	Imprecisión Intracorrida		Análisis	Imprecisión Interacorrida		Análisis
			CV Intracorrida Obtenido	CV Intracorrida Fabricante		CV Interacorrida Obtenido	CV Interacorrida Fabricante	
Control nivel 1	1,09	25	1,5%	2,6%	Cumple	1,8%	2,9%	Cumple

1.1.2 Análisis del nivel de control 2 para estudio de precisión.

Resultados de la medición del Nivel 2.

Los resultados de las 25 repeticiones realizadas al nivel 2 de control se trazaron como una tabla (Tabla 4) y como representación gráfica (Figura 4).

Tabla 4: Compilación de datos para el análisis del nivel 2 de control.

Día	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Réplica	11/01/23	12/01/23	13/01/23	15/01/23	16/01/23
Réplica 1	2,28 mg/L	2,24 mg/L	2,24 mg/L	2,31 mg/L	2,24 mg/L
Réplica 2	2,29 mg/L	2,29 mg/L	2,17 mg/L	2,19 mg/L	2,29 mg/L
Réplica 3	2,24 mg/L	2,25 mg/L	2,28 mg/L	2,33 mg/L	2,16 mg/L
Réplica 4	2,33 mg/L	2,32 mg/L	2,24 mg/L	2,25 mg/L	2,31 mg/L
Réplica 5	2,17 mg/L	2,21 mg/L	2,26 mg/L	2,27 mg/L	2,23 mg/L

El protocolo, además, recomienda un análisis visual con el fin de considerar posibles valores atípicos. Para la gráfica obtenida en este análisis no se observaron datos con comportamiento atípico.

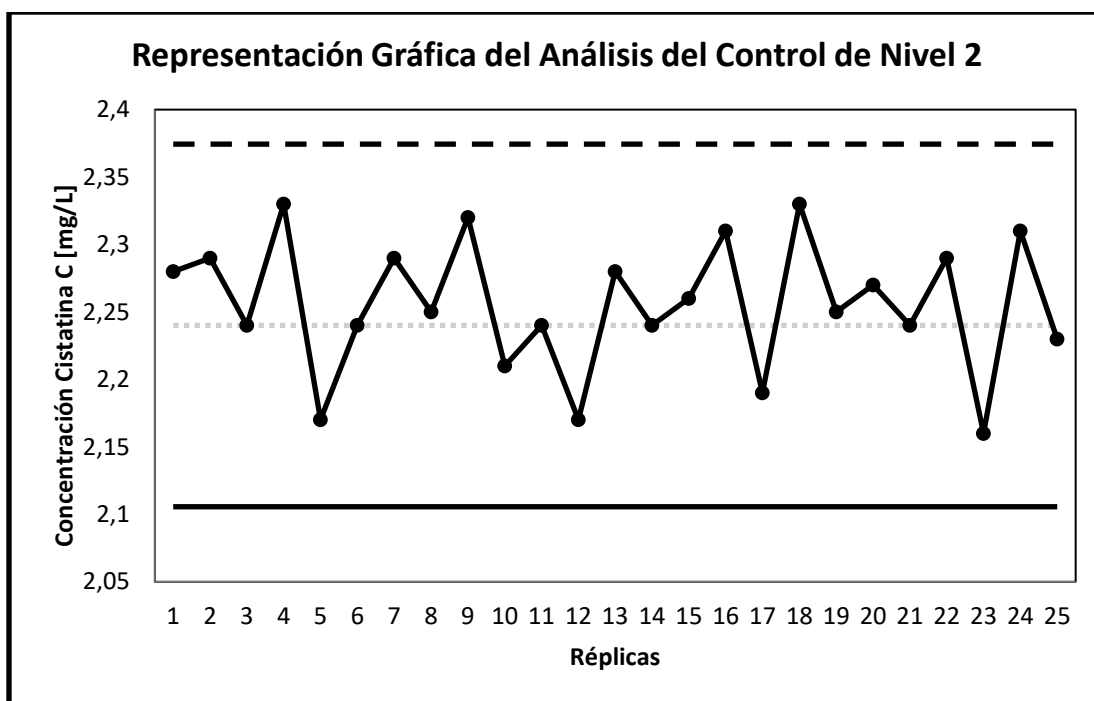


Figura 4: Representación gráfica de los resultados obtenidos en las 25 mediciones diarias del nivel 2 de control. Se graficó la concentración de Cistatina C [mg/L] vs. número de réplicas realizadas. En guiones se representaron los Límites Superior [2,3744 mg/L] e Inferior [2,1056 mg/L], en la línea punteada la concentración del inserto [2,24 mg/L] y en la línea continua los 25 valores resultantes de los 5 días de medición.

Análisis estadístico

A través de un análisis estadístico de los 25 datos se obtuvo una media de 2,26 mg/L y una desviación estándar (SD) de 0,05.

El resultado más bajo que se obtuvo fue de 2,16 mg/L y el más alto resultó en 2,33 mg/L.

Prueba de Grubbs para valores atípicos

Según la prueba de Grubbs, un valor es atípico si este es mayor que el límite de Grubbs ($G \times DS$) de la media de la muestra, donde G es el coeficiente de Grubbs y DS es la desviación estándar de los datos sin procesar, incluidos los valores atípicos sospechosos. El factor G de Grubbs para $N=25$ es 3,135. A esto le siguió el cálculo de los límites de Grubbs:

$$G \times DS = Media \pm G \times DS$$

Siendo la media= 2,26 mg/dL y la SD= 0,05. Reemplazando, se obtiene los límites de Grubbs:

$$G \times DS = 2,26 \text{ mg/dL} \pm (3,135 \times 0,05)$$

$$\text{Límite inferior de Grubbs} = 2,10 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Límite superior de Grubbs} = 2,41 \text{ mg/dL}$$

Dado que todos los valores obtenidos se encontraron dentro de los límites, no se detectaron valores atípicos.

Cálculo del Límite Superior de Verificación Intracorrída (UVL_R)

$$UVL_R = \%CV_R \text{ fabricante} + (\%CV_R \text{ fabricante} \times 0,3)$$

$$UVL_R = 2,4 \text{ mg/dL} + (2,4 \text{ mg/dL} \times 0,3)$$

$$UVL_R = 3,12 \text{ mg/dL}$$

Cálculo del Límite Superior de Verificación Intercorrída (UVL_{WL})

$$UVL_{WL} = \%CV_{WL} \text{ fabricante} + (\%CV_{WL} \text{ fabricante} \times 0,3)$$

$$UVL_{WL} = 2,9 \text{ mg/dL} + (2,9 \text{ mg/dL} \times 0,3)$$

$$UVL_{WL} = 3,77 \text{ mg/dL}$$

Cálculo del Error Intracorrída (S_R)

$$S_R = \sqrt{MS \text{ intercorrída}}$$

Siendo MS= cuadrados medios

$$S_R = \sqrt{0,002738}$$

$$S_R = 0,0523$$

Cálculo del Error Intercorrída (S_{WL})

$$S_{WL} = \sqrt{MS \text{ intercorrída} + \frac{(MS \text{ intracorrída} - MS \text{ intercorrída})}{5}}$$

$$S_{WL} = \sqrt{0,002738 + \frac{(0,000864 - 0,002738)}{5}}$$

$$S_{WL} = 0,0486$$

Así se obtuvo que la desviación estándar en condiciones de repetibilidad o intracorrida (S_R) es de 0,0523 y la desviación estándar en condiciones de precisión intercorrida (S_{WL}) es de 0,0486.

Conversión de S_R a coeficiente de variación intracorrida (% CV_R) y de S_{WL} a coeficiente de variación intercorrida (% CV_{WL})

$$\%CV_R = \frac{S_R}{media} \times 100 = 2,3\%$$

$$\%CV_{WL} = \frac{S_{WL}}{media} \times 100 = 2,2\%$$

Así tenemos que el coeficiente de variación intracorrida (CV_R) es de 2,3%, mientras que el coeficiente de variación intercorrida (CV_{WL}) es de 2,2%.

Las estimaciones de imprecisión obtenidas del estudio se compararon con los UVL (Tabla 5) y con las afirmaciones del fabricante (Tabla 6).

Tabla 5: Comparación de estimaciones de imprecisión con el UVL para el control de nivel 2.

Material de prueba	Media [mg/L]	N	Imprecisión Intracorrida		Análisis	Imprecisión Intercorrida		Análisis
			CV Intracorrida Obtenido	UVL Intracorrida		CV Intercorrida Obtenido	UVL Intercorrida	
Control nivel 2	2,26	25	2,3%	3,12%	Cumple	2,2%	3,77%	Cumple

Tabla 6: Comparación de estimaciones de imprecisión con la afirmación del fabricante para el control de nivel 2.

Material de prueba	Media [mg/L]	N	Imprecisión Intracorrida		Análisis	Imprecisión Intercorrida		Análisis
			CV Intracorrida Obtenido	CV Intracorrida Fabricante		CV Intercorrida Obtenido	CV Intercorrida Fabricante	
Control nivel 2	2,26	25	2,3%	2,4%	Cumple	2,2%	2,9%	Cumple

1.2 Estimación del Sesgo (BIAS).

La estimación de sesgo, en la evaluación de la veracidad, se define como el grado de concordancia existente entre la media aritmética y un gran número de resultados y el valor verdadero o aceptado como referencia.

La verificación de la veracidad se basa en demostrar el sesgo (error sistemático) logrado por el laboratorio en el procedimiento evaluado.

Se verificó que la media obtenida en el procedimiento de 5 corridas y 5 replicados diarios se encontrara en la media que declara el inserto hecho por el fabricante (valor verdadero, TV).

En este estudio, el sesgo del ensayo “Cystatin C” se estimó comparando la media de 25 repeticiones que se obtuvieron mediante mediciones por quintuplicado de alícuotas del mismo nivel de control realizadas durante un total de 5 días hábiles consecutivos utilizando 2 niveles (Nivel1 y Nivel 2) de material de control de calidad “Control N Cystatin C” de Siemens, con la medida correspondiente a cada nivel de control, siguiendo el protocolo EP15-A3 del CLSI, 2024.

1.2.1 Análisis del nivel de control 1 para estimación de sesgo (BIAS).

Análisis estadístico

A partir de los 25 datos obtenidos de la medición de la precisión para el nivel 1 de control, en la sección 2.1.1 se calculó la media, resultando en 1,09 mg/L, la cual se comparó con la media entregada por el inserto para este nivel, siendo de 1,07 mg/L.

Prueba de Grubbs para valores atípicos

Tal como dice la sección 2.1.1, no se estimaron valores atípicos sobre los límites de Grubbs.

$$\text{Límite inferior de Grubbs} = 1,03 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Límite superior de Grubbs} = 1,15 \text{ mg/dL}$$

Determinación del Sesgo Máximo Permitido

El sesgo máximo permitido se define como:

$$\text{Sesgo Máximo Permitido} = \frac{ETP}{2}$$

Calculando previamente el ETP:

$$ETP = \frac{\text{Requisito de Calidad SEKK 2024}}{2} = \frac{23\%}{2} = 11,5\%$$

Se obtuvo que:

$$\text{Sesgo Máximo Permitido} = \frac{11,5\%}{2} = 5,75\%$$

Siendo ETP= Error Total Permitido. A partir de las especificaciones de calidad del SEKK 2024, con un requisito de calidad del 23%, error total permitido del 11,5%, el Sesgo Máximo permitido es de 5,75%, para un grado de confianza del 95%.

Cálculo del Intervalo de Verificación (IV)

$$(IV\ 95\%) = Media\ inserto \pm \frac{Sesgo\ Máx\ Perm(95\%) \times Media\ inserto}{100\%}$$

$$(IV\ 95\%) = 1,07\ mg/L \pm \frac{5,75\% \times 1,07\ mg/L}{100\%}$$

$$Límite\ de\ Aceptación\ Superior = 1,13\ mg/L$$

$$Límite\ de\ Aceptación\ Inferior = 1,01\ mg/L$$

La media obtenida por este análisis fue de 1,09 mg/L, la cual estuvo dentro del IV, por lo tanto, el sesgo no fue estadísticamente significativo.

Cálculo del %Sesgo

$$\%Sesgo = \frac{Media\ obtenida - Media\ inserto}{Media\ inserto} \times 100$$

$$\%Sesgo = \left| \frac{1,09\ mg/L - 1,07\ mg/L}{1,07\ mg/L} \right| \times 100$$

$$\%Sesgo = 1,86\%$$

Se comparó el %sesgo obtenido y el %sesgo permitido, según las especificaciones del SEKK 2024 (Tabla 7).

Tabla 7: Comparación del %Sesgo obtenido y el %Sesgo máximo permitido para el control de nivel 1.

Material de prueba	Media [mg/L]	Media inserto [mg/L]	%Sesgo		Análisis
			%Sesgo Obtenido	%Sesgo Máximo Permitido	
Control nivel 1	1,09	1,07	1,86%	5,75%	Cumple

1.2.2 Análisis del nivel de control 2 para estimación de sesgo (BIAS).

Análisis estadístico

A partir de los 25 datos obtenidos de la medición de la precisión para el nivel 2 de control, en la sección 2.1.2 se calculó la media, resultando en 2,26 mg/L, la cual se comparó con la media entregada por el inserto para este nivel, siendo de 2,24 mg/L.

Prueba de Grubbs para valores atípicos

Tal como dice la sección 2.1.2 no se estimaron valores atípicos sobre los límites de Grubbs.

$$\text{Límite inferior de Grubbs} = 2,10 \text{ mg/dL}$$

$$\text{Límite superior de Grubbs} = 2,41 \text{ mg/dL}$$

Determinación del Sesgo Máximo Permitido

El sesgo máximo permitido se define como:

$$\text{Sesgo Máximo Permitido} = \frac{ETP}{2}$$

Calculando previamente el ETP:

$$ETP = \frac{\text{Requisito de Calidad SEKK 2024}}{2} = \frac{23\%}{2} = 11,5\%$$

Se obtuvo que:

$$\text{Sesgo Máximo Permitido} = \frac{11,5\%}{2} = 5,75\%$$

Siendo ETP= Error Total Permitido. A partir de las especificaciones de calidad del SEKK 2024, con un requisito de calidad del 23%, error total permitido del 11,5%, el Sesgo Máximo permitido es de 5,75%, para un grado de confianza del 95%.

Cálculo del Intervalo de Verificación (IV)

$$(IV\ 95\%) = \text{Media inserto} \pm \frac{\text{Sesgo Máx Perm}(95\%) \times \text{Media inserto}}{100\%}$$

$$(IV\ 95\%) = 2,24\ mg/L \pm \frac{5,75\% \times 2,26\ mg/L}{100\%}$$

$$\text{Límite de Aceptación Superior} = 2,37\ mg/L$$

$$\text{Límite de Aceptación Inferior} = 2,11\ mg/L$$

La media obtenida por este análisis fue de 2,26 mg/L, la cual estuvo dentro del IV, por lo tanto, el sesgo no fue estadísticamente significativo.

Cálculo del %Sesgo

$$\%Sesgo = \frac{Media\ obtenida - Media\ inserto}{Media\ inserto} \times 100$$

$$\%Sesgo = \left| \frac{2,26\ mg/L - 2,24\ mg/L}{2,24\ mg/L} \right| \times 100$$

$$\%Sesgo = 0,90\%$$

Se comparó el %sesgo obtenido y el %sesgo permitido, según las especificaciones del SEKK 2024 (Tabla 8).

Tabla 8: Comparación del %Sesgo obtenido y el %Sesgo máximo permitido para el control de nivel 2.

Material de prueba	Media [mg/L]	Media inserto [mg/L]	%Sesgo		Análisis
			%Sesgo Obtenido	%Sesgo Máximo Permitido	
Control nivel 2	2,26	2,24	0,90%	5,75%	Cumple

1.3 Estudio del Error Total

El error total (ET) es la diferencia entre el valor medido y el valor real de una magnitud. Se compone del error sistemático (sesgo) y el error aleatorio (imprecisión). Se expresa de la siguiente manera:

$$Error\ Total\ (ET) = \%Sesgo + (1,65 \times CV\ intercorrida)$$

Además, se definió el Error Total Permitido (ETP):

$$Error\ Total\ Permitido\ (ETP) = \frac{Requisito\ de\ Calidad\ (SEKK\ 2024)}{2}$$

$$ETP = \frac{23\%}{2} = 11,5\%$$

1.3.1 Estudio del nivel de control 1 del Error Total

Análisis estadístico

A partir de los 25 datos obtenidos de la medición de la precisión para el nivel 1 de control, en la sección 2.3.1 se calculó el %Sesgo= 1,86% y en la sección 2.1.1 el CV intercorrida, resultando en 1,8%. Además, se consideró el ETP= 11,5%.

Cálculo del error total

$$Error\ Total\ (ET) = \%Sesgo + (1,65 \times CV\ intercorrida)$$

$$ET = 1,86\% + (1,65 \times 1,8\%)$$

$$ET = 4,83\%$$

Se comparó el error total obtenido con el error total permitido, según el SEKK 2024 (Tabla 9).

Tabla 9: Comparación del Error total obtenido y el Error total permitido para el control de nivel 1.

Material de prueba	%Sesgo Obtenido	%CV intercorrida	Error Total Obtenido	Error Total Permitido	Análisis
Control nivel 1	1,86%	1,8%	4,83%	11,5%	Cumple

Dado que el ET es menor que el ETP ($4,83\% < 11,5\%$), el procedimiento completo de medición cumple con los requerimientos de calidad.

1.3.2 Estudio del nivel de control 2 del Error Total

Análisis estadístico

A partir de los 25 datos obtenidos de la medición de la precisión para el nivel 2 de control, en la sección 2.3.2 se calculó el %Sesgo= 0,70% y en la sección 2.1.2 el CV intercorrida, resultando en 2,2%. Además, se consideró el ETP= 11,5%.

Cálculo del error total

$$\text{Error Total (ET)} = \%Sesgo + (1,65 \times CV \text{ intercorrida})$$

$$ET = 0,70\% + (1,65 \times 2,2\%)$$

$$ET = 4,33\%$$

Se comparó el error total obtenido con el error total permitido, según el SEKK 2024 (Tabla 10).

Tabla 10: Comparación del Error total obtenido y el Error total permitido para el control de nivel 2.

Material de prueba	%Sesgo Obtenido	%CV intercorrida	Error Total Obtenido	Error Total Permitido	Análisis
Control nivel 2	0,70%	2,2%	4,33%	11,5%	Cumple

Dado que el ET es menor que el ETP ($4,33\% < 11,5\%$), el procedimiento completo de medición cumple con los requerimientos de calidad.

2.- Determinar la competencia analítica de la determinación de cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

2.1 Análisis de la Carta Normalizada OPSpecs.

Una carta normalizada OPSpecs muestra la relación entre la calidad de prueba requerida, la imprecisión e inexactitud, el control de calidad requerido para garantizar que la calidad sea alcanzable en cada análisis, y muestra la imprecisión permisible en el eje Y para la imprecisión de coordenadas, así como los límites operativos correspondientes a diferentes bases y diferentes números para las medidas de control. En base a lo anterior, se determinó el punto de operación normalizado el cual, en su imprecisión e inexactitud observadas, se expresan como un porcentaje del error total permitido, así se calculó $\%CV_{NORM}$ y $\%\text{Sesgo}_{NORM}$ para cada nivel de control.

2.1.1 Análisis de la Carta Normalizada OPSpecs para el control de nivel 1.

Cálculo de %CV_{NORM}

$$\%CV_{NORM} = \frac{\%CV \times 100\%}{\%ETP}$$

$$\%CV_{NORM} = \frac{1,5\% \times 100\%}{11,5\%}$$

$$\%CV_{NORM} = 13,04\%$$

Cálculo de %Sesgo_{NORM}

$$\%Sesgo_{NORM} = \frac{\%Sesgo \times 100\%}{\%ETP}$$

$$\%Sesgo_{NORM} = \frac{1,86 \times 100\%}{11,5\%}$$

$$\%Sesgo_{NORM} = 16,17\%$$

Aplicando los valores normalizados a la carta normalizada OPSpecs se obtuvo como valor X: %CV_{NORM} y como valor Y: %Sesgo_{NORM}. Así, reemplazando el punto (13,04 ; 16,17) en el gráfico OPSpecs de la figura 5 se extrae de la gráfica que el análisis de cistatina C tiene un desempeño excelente.

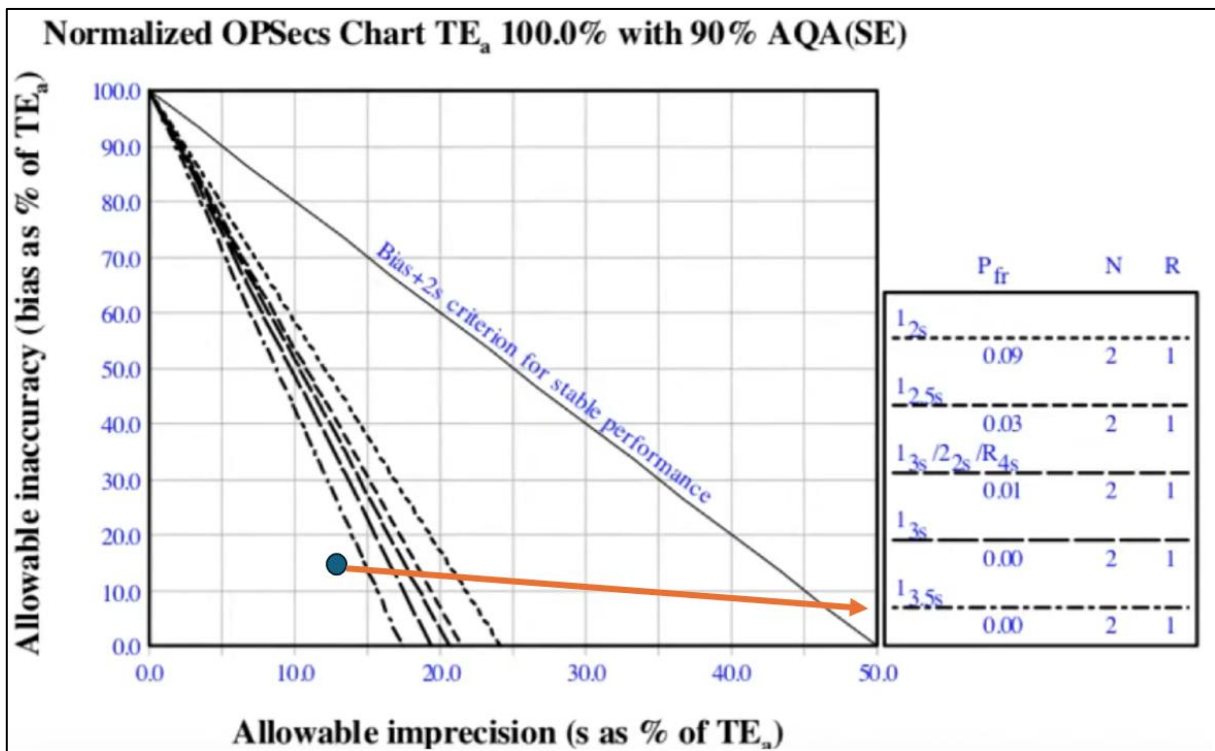


Figura 5: Gráfico OPSecs normalizado con 90% AQA para procedimiento de control de nivel 1, con 90% AQA. Se graficó la inexactitud permitida (%sesgo como %ETP) vs imprecisión permitida (%CV como %ETP).

2.1.2 Análisis de la Carta Normalizada OPSecs para el control de nivel 2.

Cálculo de $\%CV_{NORM}$

$$\%CV_{NORM} = \frac{\%CV \times 100\%}{\%ETP}$$

$$\%CV_{NORM} = \frac{2,3\% \times 100\%}{11,5\%}$$

$$\%CV_{NORM} = 20\%$$

Cálculo de %Sesgo_{NORM}

$$\%Sesgo_{NORM} = \frac{\%Sesgo \times 100\%}{\%ETP}$$

$$\%Sesgo_{NORM} = \frac{0,90 \times 100\%}{11,5\%}$$

$$\%Sesgo_{NORM} = 7,83\%$$

Aplicando los valores normalizados a la carta normalizada OPSpecs se obtuvo como valor X: %CV_{NORM} y como valor Y: %Sesgo_{NORM}. Así, reemplazando el punto (20 ; 7,83) en el gráfico OPSpecs de la figura 6 se extrae de la gráfica que el análisis de cistatina C tiene un desempeño bueno.

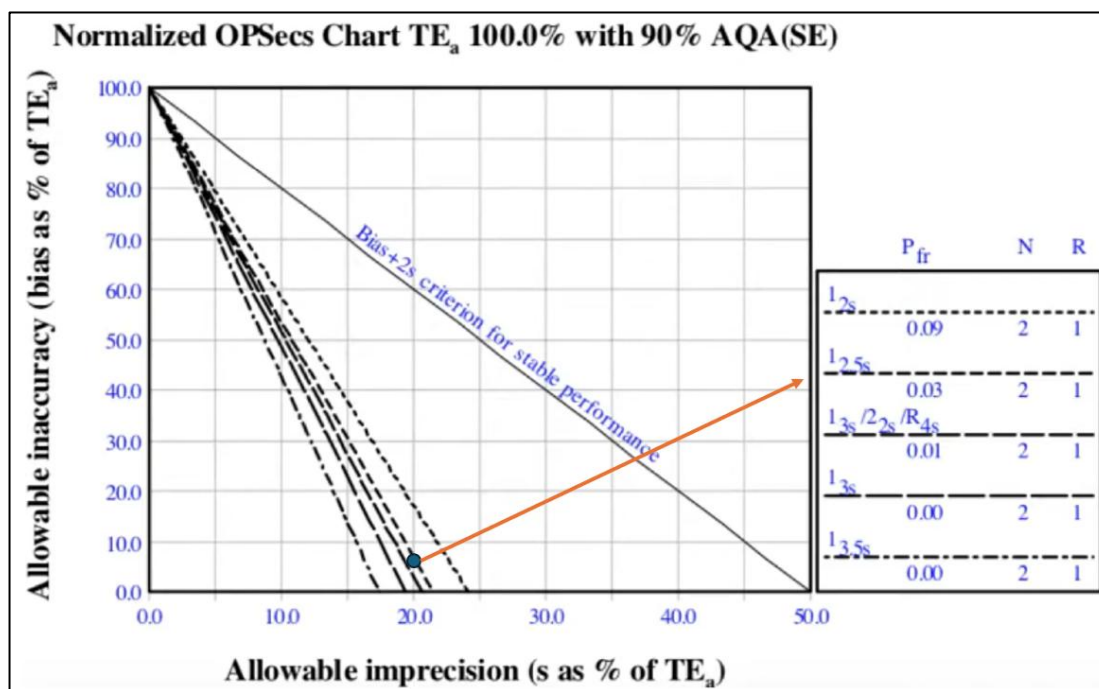


Figura 6: Gráfico OPSpecs normalizado para procedimiento de control de nivel 2, con 90% AQA. Se graficó la inexactitud permitida (%sesgo como %ETP) vs imprecisión permitida (%CV como %ETP).

Dado el resultado de la imprecisión para el nivel 2 se realizó una nueva carta normalizada OPSpecs con 50% AQA (Figura 7), con el fin de utilizar un gráfico más permisivo, en términos del porcentaje de detección de error.

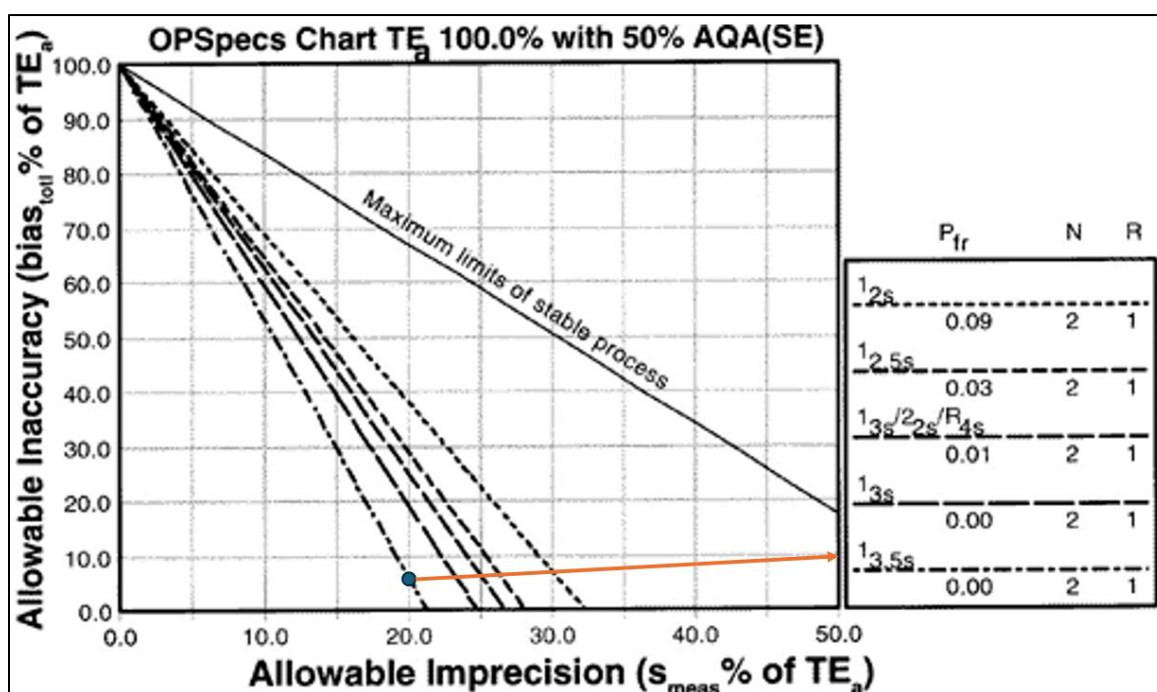


Figura 7: Gráfico OPSpecs normalizado para procedimiento de control de nivel 2, con 50% AQA. Se graficó la inexactitud permitida (%sesgo como %ETP) vs imprecisión permitida (%CV como %ETP).

2.2 Análisis de Sigma

La estimación del nivel sigma es una medida que relaciona la tolerancia máxima para un proceso, con el rendimiento analítico y la frecuencia probable de defectos, o sea, su desempeño. En base al modelo “Seis-Sigma” se calculó el número de desviaciones estándar o “sigma” que se encuentran dentro de los límites de tolerancia especificados. Ese valor significó un grado de desempeño (Tabla 11).

Se utilizó la siguiente fórmula:

$$Sigma = \frac{ETP - \%Sesgo}{\%CV\ intercorrida}$$

Tabla 11: Relación entre el valor Sigma y el desempeño del método analítico.

3Valor Sigma	Desempeño
>6,0	Excelente
>5,0 y <6,0	Bueno
>4,0 y <5,0	Marginal, mejorar la imprecisión
<4,0	Pobre, mejorar imprecisión e inexactitud.

Elaboración propia, realizada a partir de las indicaciones del CLSI 2014.

2.2.1 Cálculo de Sigma para el control de nivel 1

Sabiendo que ETP= 11,5%, %Sesgo= 1,86% y CV intercorrida= 1,8%:

$$Sigma = \frac{11,5\% - 1,86\%}{1,8\%}$$

$$Sigma = 5,36$$

Al valor sigma obtenido se le otorgó un grado de desempeño (Tabla 12).

Tabla 12: Sigma del procedimiento de verificación del control de nivel 1.

Material de prueba	Error Total Permitido	%Sesgo	%CV intercorrida	Sigma	Desempeño
Control nivel 1	11,5%	1,8%	1,86%	5,36	Bueno

2.2.2 Cálculo de Sigma para el control de nivel 2

Sabiendo que ETP= 11,5%, %Sesgo= 0,70% y CV intercorrida= 2,2%:

$$\text{Sigma} = \frac{11,5\% - 0,70\%}{2,2\%}$$

$$\text{Sigma} = 4,91$$

Al valor sigma obtenido se le otorgó un grado de desempeño (Tabla 13).

Tabla 13: Sigma del procedimiento de verificación del control de nivel 2.

Material de prueba	Error Total Permitido	%Sesgo	%CV intercorrida	Sigma	Desempeño
Control nivel 2	11,5%	0,70%	2,20%	5,01	Bueno

3.- Construir la carta de control Levey-Jennings para cistatina C en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el laboratorio clínico Diagnomed.

La carta de control Levey-Jennings es un método gráfico que muestra los resultados de la medición de los controles. La construcción de la carta de control tuvo como objetivo evaluar el desempeño del sistema de medición para establecer que todas las muestras del laboratorio fueron procesadas bajo las mismas condiciones de trabajo. Este análisis permitió encontrar alteraciones y variabilidad del sistema analítico, y así tomar acciones preventivas para mejorar el desempeño del proceso.

El laboratorio fue el responsable de seleccionar el material de control considerando que sea similar a muestras de pacientes, de primera opinión (fabricante) y/o tercera opinión (independiente), que pueda prepararse en el laboratorio (pool de plasma normal), que tengan valores asignados con anterioridad al sistema de medición o no valorados, estableciendo intervalos de aceptación. Es necesario utilizar, al menos, 2 niveles de control, escoger según estabilidad y disponibilidad en cantidad a lo largo del tiempo, dentro de lo posible, la concentración del control debe estar dentro del intervalo de referencia biológico normal y bajo o sobre éste, se debe establecer un instructivo de preparación y conservación de materiales de control y calibradores. Para una corrida analítica con pocas muestras se recomienda ubicar los controles al inicio y final de ésta, o también al azar entre las muestras para detectar algún cambio o error. Si la corrida analítica tiene un gran volumen de muestras, ésta se puede definir como un

intervalo de tiempo y los controles serían analizados al inicio del proceso o posteriormente.

Se graficaron los valores obtenidos secuencialmente en el tiempo (eje X) y el resultado de la medición (eje Y). Para su construcción se obtuvieron 20 resultados en 20 días distintos de cada uno de los niveles de controles a realizar, se asignó la media aritmética (X) y desviación estándar (DS) con los resultados obtenidos, considerando los límites de control $X+1DS$ (68,26% de los datos), $X+2DS$, límite de precaución (95,44% de los datos) y $X+3DS$, límite de control o alarma (99,73% de los datos).

3.1 Construcción de Carta Control Levey-Jennings para el control de nivel 1

En el anexo 7 se muestra la planilla Excel© donde se registraron los datos obtenidos de la medición del control de nivel 1 durante 20 días. Se calculó la media (1,10 mg/L) y la DS (0,015 mg/L). Además, se calculó el Z-score, parámetro que indicó la distancia entre un resultado individual y la media del material de control expresadas en mg/L, ayudando a identificar valores atípicos. También se calcularon los límites de control. Una vez calculados los datos necesarios, se construyó la carta de control Levey-Jennings correspondiente al nivel 1 (Figura 8).

Ejemplo de cálculo del Z-score para el día 3 de medición (1,09 mg/L):

$$Z - score = \frac{\text{Valor individual} - \text{Media del control}}{DS \text{ control}}$$

$$Z - score = \frac{1,09 \text{ mg/L} - 1,10 \text{ mg/L}}{0,015 \text{ mg/L}}$$

$$Z - score = -0,7 \text{ mg/L}$$

Cálculo del Límite de Control $X \pm 1DS$:

$$X \pm 1DS = \text{Media del control} \pm 1 \times DS$$

$$X \pm 1DS = 1,10 \text{ mg/L} \pm 1 \times 0,015 \text{ mg/L}$$

$$\underline{X + 1DS = 1,12 \text{ mg/L}}$$

$$\underline{X - 1DS = 1,09 \text{ mg/L}}$$

Cálculo del Límite de Control $X \pm 2DS$:

$$X \pm 2DS = \text{Media del control} \pm 2 \times DS$$

$$X \pm 2DS = 1,10 \text{ mg/L} \pm 2 \times 0,015 \text{ mg/L}$$

$$\underline{X + 2DS = 1,13 \text{ mg/L}}$$

$$\underline{X - 2DS = 1,07 \text{ mg/L}}$$

Cálculo del Límite de Control $X \pm 3DS$:

$$X \pm 3DS = \text{Media del control} \pm 3 \times DS$$

$$X \pm 3DS = 1,10 \text{ mg/L} \pm 3 \times 0,015 \text{ mg/L}$$

$$\underline{X + 3DS = 1,14 \text{ mg/L}}$$

$$\underline{X - 3DS = 1,06 \text{ mg/L}}$$

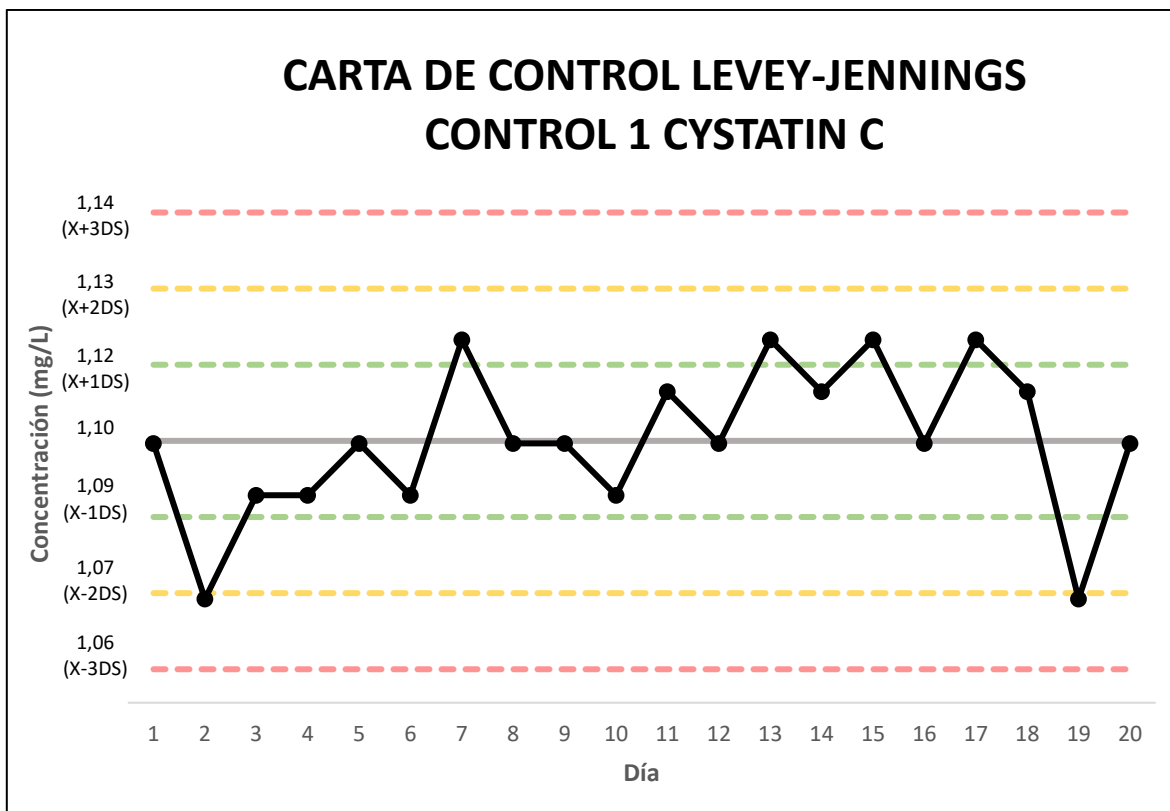


Figura 8: Carta de Control Levey-Jennings para el control de nivel 1. Se registraron los días de medición con su correspondiente resultado obtenido tras el análisis del control. En la línea central gris se marca la media de las mediciones del control correspondiente, las líneas punteadas representan los límites de control y la línea negra con puntos son los datos recopilados.

3.2 Construcción de Carta Control Levey-Jennings para el control de nivel 2

En el anexo 8 se muestra la planilla Excel© donde se registraron datos obtenidos de la medición del control de nivel 2 durante 20 días. Se calculó la media (2,29 mg/L) y la DS (0,041 mg/L). Además, se calculó el Z-score, parámetro que indica la distancia entre un resultado individual y la media del material de control expresadas en mg/L, ayudando a identificar valores atípicos. También se calcularon los límites de control. Una vez calculados los datos necesarios, se construyó la carta de control Levey-Jennings correspondiente al nivel 2 (Figura 9).

Ejemplo de cálculo del Z-score para el día 3 de medición (2,24 mg/L):

$$\begin{aligned} Z - score &= \frac{\text{Valor individual} - \text{Media del control}}{DS \text{ control}} \\ Z - score &= \frac{2,24 \text{ mg/L} - 2,29 \text{ mg/L}}{0,041 \text{ mg/L}} \\ Z - score &= -1,2 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

Cálculo del Límite de Control $X \pm 1DS$:

$$\begin{aligned} X \pm 1DS &= \text{Media del control} \pm 1 \times DS \\ X \pm 1DS &= 2,29 \text{ mg/L} \pm 1 \times 0,041 \text{ mg/L} \\ \underline{X + 1DS} &= \underline{2,33 \text{ mg/L}} \\ \underline{X - 1DS} &= \underline{2,25 \text{ mg/L}} \end{aligned}$$

Cálculo del Límite de Control $X \pm 2DS$:

$$X \pm 2DS = \text{Media del control} \pm 2 \times DS$$

$$X \pm 2DS = 2,29 \text{ mg/L} \pm 2 \times 0,041 \text{ mg/L}$$

$$\underline{X + 2DS = 2,37 \text{ mg/L}}$$

$$\underline{X - 2DS = 2,20 \text{ mg/L}}$$

Cálculo del Límite de Control $X \pm 3DS$:

$$X \pm 3DS = \text{Media del control} \pm 3 \times DS$$

$$X \pm 3DS = 2,29 \text{ mg/L} \pm 3 \times 0,041 \text{ mg/L}$$

$$\underline{X + 3DS = 2,41 \text{ mg/L}}$$

$$\underline{X - 3DS = 2,16 \text{ mg/L}}$$

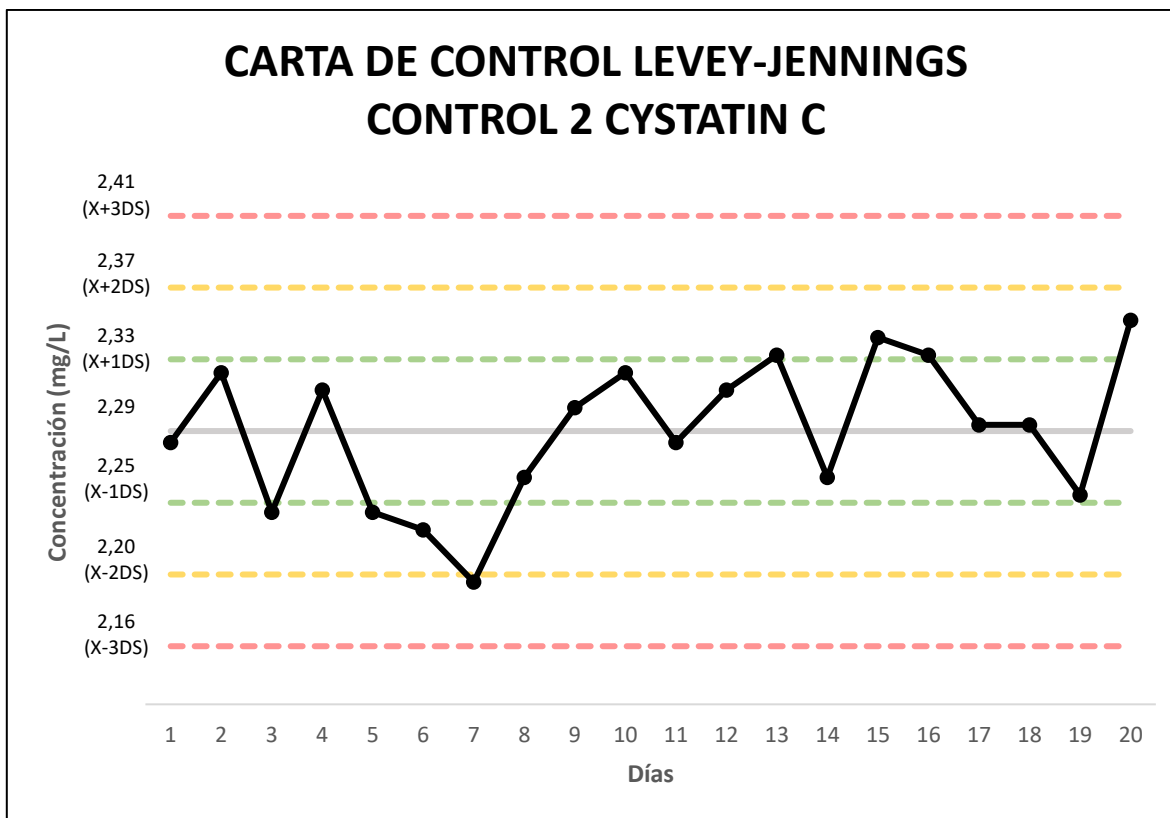


Figura 9: Carta de Control Levey-Jennings para el control de nivel 2. Se registraron los días de medición con su correspondiente resultado obtenido tras el análisis del control. En la línea central gris se marca la media de las mediciones del control correspondiente, las líneas punteadas representan los límites de control y la línea negra con puntos son los datos recopilados.

4.- Elaborar la ficha técnica para la determinación de cistatina C en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

Mediante datos recaudados al finalizar el objetivo específico 1, 2 y 3, se diseñó la ficha técnica a modo de conclusión de la determinación de cistatina C en el laboratorio clínico Diagnomed. Ésta incluyó nombre del examen, uso clínico, método, principio del método, intervalo de referencia, valor crítico, preparación del paciente, muestra requerida, estabilidad de la muestra, datos de la calibración, control y verificación.

CISTATINA C

Nombre del Examen: Cistatina C

Uso clínico: Ayuda en el diagnóstico y la monitorización de la enfermedad renal en pacientes con riesgo o signos de enfermedad renal.

Método: Inmunonefelometría potenciada por partículas.

Principio del método: Las partículas de poliestireno recubiertas de anticuerpos específicos frente a la cistatina C humana se agregan al mezclarse con muestras que contienen cistatina C humana. Estos complejos dispersan un haz de luz proyectado a través de la muestra. La intensidad de la luz dispersada es proporcional a la concentración de la proteína correspondiente en la muestra. El resultado se evalúa en comparación con un estándar de concentración conocida.

Intervalo de referencia: 0,62-1,1 mg/L

A partir de una población de sujetos aparentemente sanos sin antecedentes de enfermedades renales. Se analizó un total de 413 muestras obtenidas de 194 hombres y 219 mujeres con edades comprendidas entre los 1 y los 78 años.

Valor crítico: No aplica.

Preparación del paciente: No requiere preparación.

Muestra requerida: Son aptas las muestras de suero humano o plasma con heparina que estén lo más frescas posibles (conservadas durante un máximo de siete días de 2 a 8 °C) o conservadas congeladas.

Estabilidad de la muestra:

Muestra	T° Ambiente (20-25 °C)	Refrigerada (2-8 °C)	Congelada (-20 °C)
Sangre Total	2 horas	4 horas	No aplica
Suero/Plasma	2 horas	7 días	1 mes

Datos de la calibración: Si se utiliza un lote de reactivo distinto, será necesario realizar una nueva curva de referencia. Las curvas de referencia se generan mediante calibración multipunto mediante diluciones seriadas de N PROT STANDARD UY preparadas automáticamente por el equipo. La curva de referencia tiene una validez de dos semanas.

Control: Analice N CYSC CONTROL 1 y N CYSC CONTROL 2 después de elaborar cada curva de referencia, después de usar un frasco de reactivo por primera vez, así como con cada serie de muestras. Si el resultado de un control está fuera del intervalo, el análisis se debe repetir. Si la repetición confirma la desviación, se deberá establecer una nueva curva de referencia.

Verificación: CUMPLE SATISFACTORIAMENTE con el Estudio de Verificación CLSI EP15-A3.

Referencias: Siemens Healthineers, 2023. Instrucciones de Uso: N Látex Cistatina C. Revisión 11.

DISCUSIÓN

La creatininemia, principal indicador de la función renal se ve afectada por diversos factores como el metabolismo muscular, la dieta y el embarazo, dificultando el diagnóstico preciso de la IRA (MINSAL, 2017). Para superar estas limitaciones, el Laboratorio Clínico Diagnomed ha implementado el examen de cistatina C, lo que representa un avance significativo para la detección oportuna de la IRA, permitiendo una atención más oportuna y manejo de los pacientes con esta patología.

La introducción de un nuevo examen en un laboratorio para la entrega de resultados a pacientes exige una evaluación previa del rendimiento analítico del procedimiento. Este análisis debe confirmar que el rendimiento cumple con los requisitos reglamentarios y de utilidad médica.

La guía EP15-A3 del CLSI establece que el usuario verifique la declaración de precisión del fabricante en el inserto del kit comercial y estime el sesgo del procedimiento. Este protocolo posee una base científica sólida, respaldada por estudios y pruebas realizadas que demuestran su eficacia en la evaluación del rendimiento de los métodos analíticos; un enfoque integral basado no solo en la precisión y exactitud, sino también en otros aspectos analíticos importantes, como la sensibilidad, especificidad, repetibilidad y reproducibilidad; es de fácil uso ya que está desarrollado con un lenguaje claro, una estructura lógica y ejemplos prácticos para ayudar a implementarlo correctamente; cada edición nueva tiene actualizaciones que incorporan avances científicos y tecnológicos en la verificación de métodos analíticos, garantizando el acceso a las mejores prácticas

disponibles; está armonizado con documentos normativos importantes, como la norma ISO 15189:2012, relacionada a la implementación de un sistema de gestión de calidad en el laboratorio y es beneficiosa para los pacientes, ya que al verificar los métodos analíticos contribuye a mejorar la calidad de los resultados de laboratorio, beneficiando a los pacientes al garantizar un diagnóstico y tratamiento más precisos.

Esta guía no tan sólo se puede utilizar para verificar un nuevo método analítico, sino, también, para verificar un método analítico después de un cambio significativo en el procedimiento, un método analítico después de la calibración o el mantenimiento del equipo, un método analítico después de un cambio en el personal del laboratorio o un método analítico como parte de una auditoría interna o externa.

Por estas razones, se recomienda utilizar el protocolo EP15-A3 como principal guía para la verificación de métodos analíticos en el laboratorio.

En este estudio se verificó la determinación de cistatina C con el Kit N Látex Cystatin C de Siemens en el sistema automatizado Atellica® NEPH630. De esta forma se definió la técnica en el equipo y se revisaron los parámetros declarados por el fabricante sobre especificaciones técnicas. Se utilizaron 2 niveles de material de control de primera opinión como muestra para el procedimiento, siendo útil tanto en la verificación de la precisión, como en la estimación del sesgo (BIAS) debido a que es un material de concentración conocida.

Los resultados del estudio de precisión arrojaron las estimaciones en forma de $\%CV_R$ y $\%CV_{WL}$, las cuales fueron comparadas con los UVL del procedimiento y los datos entregados en el inserto del fabricante, σ_R y σ_{WL} .

En el control de nivel 1 se obtuvo un $\%CV_R=1,5\%$ y un $\%C_{WL}=1,8\%$. El UVL_R resultó igual a $3,38\%$ y el UVL_{WL} resultó igual a $3,77\%$ y los CV declarados por el fabricante fueron $\sigma_R=2,6\%$ y $\sigma_{WL}=2,9\%$. Los datos obtenidos fueron menores a los UVL y lo declarado por el fabricante, por consiguiente, se cumplió con los requerimientos de calidad, y se aceptó el procedimiento de verificación de la precisión para el nivel 1.

Para el control de nivel 2 se obtuvo un $\%CV_R=2,3\%$ y un $\%C_{WL}=2,2\%$. El UVL_R resultó igual a $3,12\%$ y el UVL_{WL} resultó igual a $3,77\%$ y los CV declarados por el fabricante fueron $\sigma_R=2,4\%$ y $\sigma_{WL}=2,9\%$. Los datos obtenidos fueron menores a los UVL y lo declarado por el fabricante, por consiguiente, se cumplió con los requerimientos de calidad, y se aceptó el procedimiento de verificación de la precisión para el nivel 2.

Luego, la estimación del sesgo (BIAS) se realizó usando la media del inserto para cada nivel de control y las especificaciones de calidad del SEKK 2024, la cual indicó un sesgo máximo permitido de $5,75\%$, calculando así el intervalo de verificación.

En el control de nivel 1 la media del inserto fue de $1,07 \text{ mg/L}$, el sesgo permitido fue de $5,75\%$ y el intervalo de verificación se encontró entre el límite de aceptación inferior igual a $1,01 \text{ mg/L}$ y el límite de aceptación superior igual a $1,13 \text{ mg/L}$. La

media obtenida resultó en 1,09 mg/L, la cual se encuentra dentro del intervalo de verificación. El sesgo obtenido fue de 1,86%, el cual es menor al sesgo máximo permitido ($1,86\% < 5,75\%$). Con estos resultados se cumplió con los requerimientos de calidad, por lo que se aceptó el procedimiento de verificación de la estimación de sesgo (BIAS) para el nivel 1.

Para el control de nivel 2 la media del inserto fue de 2,24 mg/L, el sesgo máximo permitido fue de 5,75% y el intervalo de verificación se encontró entre el límite de aceptación inferior igual a 2,11 mg/L y el límite de aceptación superior igual a 2,37 mg/L. La media obtenida fue de 2,26 mg/L, la cual se encuentra dentro del intervalo de verificación. El sesgo obtenido fue de 0,90%, el cual es menor al sesgo máximo permitido ($0,90\% < 5,75\%$). Con estos resultados se cumplió con los requerimientos de calidad, por lo que se aceptó el procedimiento de verificación de la estimación de sesgo (BIAS) para el nivel 2.

La verificación de la precisión y la estimación de sesgo para el procedimiento nos confirmó que el método produjo resultados consistentes, lo que generó confianza en las declaraciones del fabricante. También podría ser posible contrastar con la precisión de diferentes métodos analíticos, ya que se logró comparar los resultados obtenidos con los del fabricante, pudiendo dar cumplimiento a los requisitos reglamentarios que establecen límites máximos para el coeficiente de variación de los métodos analíticos.

A continuación, el estudio del error total se realizó comparando el error total obtenido, calculado a partir del %sesgo obtenido y el $\%CV_{WL}$, y el error total permitido igual a 11,5% según especificaciones de calidad del SEKK 2024.

En el control de nivel 1 resultó con un %sesgo obtenido= 1,86% y un %CV_{WL}= 1,8%. Con estos datos se calculó el error total obtenido, que fue igual a 4,83%, el cual es menor al error total permitido (4,83%<11,5%). Con estos resultados el nivel 1 de control cumplió con las exigencias de calidad requeridas para el estudio realizado.

Para el control de nivel 2 el %sesgo obtenido fue de 0,70% y el %CV_{WL} resultó en 2,2%. Con estos datos se calculó el error total obtenido, que fue igual a 4,33%, el cual es menor al error total permitido (4,33%<11,5%). Con estos resultados el nivel 2 de control cumplió con las exigencias de calidad requeridas para el estudio realizado.

Al obtener un error total menor al error total permitido se redujo la probabilidad de obtener resultados equivocados que pueden afectar el diagnóstico o tratamiento de los pacientes ya que se logró obtener resultados precisos que otorgan consistencia al análisis y exactos, más cercanos al valor real.

Se realizó, de manera orientativa, un análisis de desempeño a través de los gráficos OPSpecs normalizados, que analizaron la técnica según su imprecisión e inexactitud y el análisis de sigma, que otorga una evaluación de la técnica completa. Al tener un sigma bueno el proceso fue, es y será capaz de producir resultados confiables dentro de los límites de especificación con una alta probabilidad.

Para el nivel 1 de control se calculó el punto operacional para una carta OPSpecs normalizada con 90% AQA, correspondiente a (13,04 ; 16,17), de lo que se concluyó que la competencia analítica para el nivel de control 1 es excelente.

Para el nivel 2 de control se calculó el punto operacional para una carta OPSpecs normalizada con 90% AQA, correspondiente a (20 ; 7,83), de lo que se concluyó que la competencia analítica para el nivel de control 2 es regular, por lo que se utilizó otra carta OPSpecs normalizada con 50% AQA, obteniendo que la competencia analítica para el nivel de control 2 es excelente. Esta competencia regular pudo deberse a imprecisiones aleatorias causadas por el instrumento, tornando necesaria la búsqueda de mejoras continuas.

Luego, el análisis de sigma se realizó comparando el valor sigma obtenido con las referencias entregadas por el protocolo EP15-A3 del CLSI.

En el control de nivel 1 se obtuvo un sigma igual a 5,36, cuyo desempeño corresponde a bueno, ya que este valor se encuentra entre 5 y 6. Esto significa que se encuentran 5,36 desviaciones estándar dentro de los límites de tolerancia especificados, por lo que mientras mayor sea el sigma (máximo: mayor a 6) dentro de los límites aceptables, habrá menos resultados no conformes que permiten verificar el funcionamiento de un análisis por un proceso determinado.

Para el control de nivel 2 resultó un sigma de 5,01, cuyo desempeño corresponde a bueno, ya que este valor se encuentra entre 5 y 6. Esto significa que se encuentran 4,91 desviaciones estándar dentro de los límites de tolerancia especificados, por lo que mientras mayor sea el sigma (máximo: mayor a 6) dentro de los límites aceptables, habrá menos resultados no conformes que permiten verificar el funcionamiento de un análisis por un proceso determinado.

Realizada la verificación se construyó la carta de control Levey-Jennings para cistatina C, a través de la realización de 20 mediciones de control de cada nivel (1 y 2) en 20 días hábiles consecutivos. Posterior a su recopilación se calcularon los z-score para cada dato y los límites de control ($X \pm 1DS$, $X \pm 2DS$ y $X \pm 3DS$).

La carta de control resultante para el nivel 1 no contó con ningún valor atípico, según el “Outlier Calculator” del software “GraphPad” que realiza una prueba de Grubbs en los datos.

La carta de control resultante para el nivel 2 no contó con ningún valor atípico, según el “Outlier Calculator” del software “GraphPad” que realiza una prueba de Grubbs en los datos.

Una vez recopilada la información de la carta de control Levey-Jennings para la determinación de cistatina C sérica en ambos niveles de control, se construyó y se estableció como parte del control rutinario en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

Finalmente se elaboró la ficha técnica para la determinación de cistatina C en el Laboratorio Clínico Diagnomed con las indicaciones hechas en el inserto del kit de reactivo por parte del fabricante, Siemens.

Tras confirmar la incorporación de la medición de cistatina C sérica en el Laboratorio Clínico Diagnomed, se torna interesante discutir su utilidad clínica en la población pediátrica, considerando su rol esencial en la detección temprana de la IRA.

El diagnóstico precoz de la IRA en pacientes pediátricos es primordial para prevenir y/o minimizar las graves consecuencias a corto y largo plazo. Uber y

colaboradores (Uber et al., 2018) confirmaron que la IRA, ya sea al ingreso hospitalario o durante la estancia del niño, conlleva riesgos considerables.

A corto plazo, la IRA en pacientes pediátricos se asocia a un aumento significativo de la estadía en las unidades de cuidados intensivos, con un promedio de 2,3 días extra en comparación a aquellos sin IRA ($p < 0,001$). La severidad de la IRA también influye en la duración de la hospitalización, requiriendo más días de estancia en casos más graves. Adicionalmente, se observa una mayor necesidad de ventilación mecánica en pacientes con IRA, con un 38,2%, 40,5% y 50,2% de los casos en los estadios 1, 2 y 3 de la clasificación KDIGO, respectivamente. Por último, la IRA en pacientes pediátricos hospitalizados se asocia a un aumento del 10% en la mortalidad.

Las consecuencias a largo plazo de la IRA en pacientes pediátricos son variadas y pueden tener un impacto significativo en su salud y calidad de vida. Entre las más comunes se encuentra el aumento de la proteinuria, desarrollo de hipertensión, disminución de la VFG, lo que conlleva a la progresión de la enfermedad hacia una IRC.

Si bien se ha establecido concretamente que la cistatina C posee un carácter diagnóstico precoz de la IRA, también se han demostrado su utilidad en otras dos situaciones de gran relevancia clínica. En un estudio (Tomino et al. 2001) se analizó la relación entre los niveles de cistatina C sérica en pacientes con probable nefropatía y los estadios pronósticos realizados por biopsia, concluyendo que en pacientes con buen pronóstico tenían una concentración de cistatina dentro de la normalidad [0,68 mg/L], pacientes con pronóstico relativamente bueno mostraron

una concentración más elevada de cistatina C [0.82 mg/L], pacientes con pronóstico relativamente malo poseían una concentración aún mayor de cistatina C [0,99 mg/L] y los pacientes con mal pronóstico fueron quienes resultaron con la concentración de cistatina C más aumentada de todo el estudio [1,06 mg/L], pudiendo concluir que la cistatina C posee un carácter pronóstico de la IRA en pacientes con probable nefropatía.

Además, se consideró a la cistatina C para evaluar la función renal en pacientes con probable nefropatía indetectable frente a creatinina, para la estimación de la VFG (Martínez et al. 2003). Se obtuvieron los coeficientes de determinación (R^2) para creatinina y cistatina C, siendo 0,72 y 0.95 respectivamente. Esto significa que la cistatina C es un biomarcador endógeno más preciso y confiable que la creatinina sérica para detectar daño renal temprano, ya que discrimina depuraciones normales de las levemente reducidas, en comparación con la creatinina, lo que le otorga un carácter predictivo de la disfunción renal y la IRA.

CONCLUSIÓN

La cistatina C es un biomarcador esencial para la detección precoz de la IRA en pacientes con pesos extremos, alteraciones musculares, embarazo y pacientes con VIH, especialmente en pacientes pediátricos, ya que estos desarrollan complicaciones y secuelas que afectan gravemente su desarrollo y calidad de vida.

En el presente procedimiento se verificó la determinación de cistatina C, mediante el Kit N Latex Cystatin C desarrollado por Siemens y fue implementado en el sistema Atellica® NEPH630 de Siemens en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

El procedimiento de verificación se realizó mediante el uso de controles de calidad de 2 niveles (1 y 2) de primera opinión. Se comparó el coeficiente de variación en condiciones de repetibilidad y precisión con los coeficientes de variación de la precisión en las mismas condiciones declaradas por el fabricante. Como los coeficientes de variación obtenidos por el laboratorio fueron menores a los UVL y a los coeficientes de variación declarados por el fabricante, la verificación de la precisión fue aceptada.

La estimación del sesgo fue verificada mediante los mismos materiales de control y resultados obtenidos. De esta forma el promedio obtenido de la medición fue comparado con un intervalo de verificación calculado según las especificaciones de calidad indicadas por el SEKK 2024, la media obtenida por la medición de cada control y la media indicada en el inserto. Con estos datos se obtuvo que la media obtenida se encontró dentro del intervalo de verificación para ambos niveles de

control. Además, el %sesgo fue inferior al permitido por la especificación de calidad indicada para este ensayo, por lo que se aceptó la estimación del sesgo para el procedimiento.

El estudio del error total arrojó que el error total obtenido fue menor al error total permitido según las especificaciones de calidad indicadas por el SEKK 2024 en ambos niveles de control de calidad.

El análisis de desempeño a través de las cartas normalizadas OPSpecs y sigma concluyó que el procedimiento tiene una competencia analítica buena para ambos niveles de control, según las indicaciones del CLSI.

Finalmente se aceptó la hipótesis planteada, ya que el ensayo N Latex Cystatin C de Siemens para cistatina C sérica se verificó satisfactoriamente cumpliendo con el protocolo CLSI EP15-A3 de verificación de la precisión y sesgo en el equipo de nefelometría Atellica® NEPH630 en el Laboratorio Clínico Diagnomed.

BIBLIOGRAFÍA

Abrahamson M, Grubb A, Olafsson I, Lundwall A. (1987). Molecular cloning and sequence analysis of cDNA coding for the precursor of the human cysteine proteinase inhibitor cystatin C. FEBS Lett.. 29-33.

Antón M, Fernández A. (2014). Daño renal agudo. Protocolos de Nefrología Pediátrica, 355–371.

Arrobas Velilla, Teresa, García Sánchez, María Isabel, González Rodríguez, Concepción, Bermudo Guitarte, Carmen, Izquierdo Ayuso, Guillermo, Fabiani Romeroa, Fernando. (2013). Análisis de anticuerpos antifosfolipídicos y cistatina C en pacientes con esclerosis múltiple. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana.

Babay Z, Al-Wakeel J, Addar M, Mittwalli A, Tarif N, Hammad D, Ali N, Al-Askar A, Choudhary AR. (2005). Serum cystatin C in pregnant women: reference values, reliable and superior diagnostic accuracy. Clin Exp Obstet Gynecol. 32(3)

Becerra, A. T., Enciso, R. B., Meza Coria, C., Irma Chávez Zúñiga, M., Enrique, V., Morales, G. (2010). Medición de la filtración glomerular comparativa por cistatina C y métodos convencionales basados en la depuración de creatinina. Revista Hospital Juarez de México. 22-27.

Biomarkers Definition Working Group (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Therapeutics. 89–95.

Boltansky, Andrés, Bassa, Cristóbal, Melani, Sophia, Sepúlveda, Andrés, Maldonado, Isabel, Postigo, Javiera, Sotta, Esperanza, Vidueira, Paloma, Cavagnaro, Catalina, Cavada, Gabriel, Benavente, Cecilia, Villamizar, Guillermo, Vukusich, Antonio, & Irarrázabal, Carlos E. (2015). Incidencia de la injuria renal aguda en unidad de paciente crítico y su mortalidad a 30 días y un año. *Revista médica de Chile*, 143(9), 1114-1120. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872015000900003>

Chen TK, Knicely DH, Grams ME. (2019). Chronic Kidney Disease Diagnosis and Management: A Review. *JAMA*. 2019 Oct 1;322(13):1294-1304.

Chianese A, Bravi M, Fazio E. (2012). Turbidimetry and Nephelometry. *Industrial Crystallization Process Monitoring and Control*. Wiley-VCH. 51–57

Clec'h C, Gonzalez F, Lautrette A, Nguile-Makao M, Garrouste-Orgeas M, Jamali S, Golgran-Toledano D, Descorps-Declere A, Chemouni F, Hamidfar-Roy R, Azoulay E, Timsit JF. (2011). Multiple-center evaluation of mortality associated with acute kidney injury in critically ill patients: a competing risks analysis. *Crit Care*. 2011;15(3):R128. doi: 10.1186/cc10241. PMID: 21586153; PMCID: PMC3218994.

Darren A. Johns, Eithne Dempsey. *Analytica Chimica Acta*, 459 (2002) 187-198.

da Hora Passos R, Ramos JGR, Gobatto A, Caldas J, Macedo E, Batista PB. (2018). Inclusion and definition of acute renal dysfunction in critically ill patients in randomized controlled trials: a systematic review. *Crit Care*. 22(1):106. doi: 10.1186/s13054-018-2009-x. PMID: 29690893; PMCID: PMC5979001.

Delanaye P, Cavalier E, Radermecker RP, Paquot N, Depas G, Chapelle JP, Scheen AJ, Krzesinski JM. (2008). Cystatin C or creatinine for detection of stage 3 chronic kidney disease in anorexia nervosa. *Nephron Clin Pract.* 158-63.

Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. (2002). Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: A meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases.* 221–226.

Domon B, Aebersold R. (2006). Mass Spectrometry and Protein Analysis. *Science.* 212-217.

Fernández García M, Coll E, Ventura Pedret S, Bermudo Guitarte C, Cárdenas Fernández MC, Cortés Rius M, et al. (2010). Cistatina C en la evaluación de la función renal. *Rev del Lab Clin.* 50-62.

Fraga GM, Melgar A. (2012). La determinación de los valores plasmáticos de cistatina C como método de valoración de la función renal en pediatría. *An Ped Contin.* 95-100.

Gainza de los Ríos FJ (2023). Insuficiencia Renal Aguda. En: Lorenzo V., López Gómez JM (Eds). *Nefrología al día.* ISSN: 2659-2606. Disponible en: <https://www.nefrologiaaldia.org/317>

Gella Tomás, N. Alonso Nieva, B. Boned Juliani, F. Canalias Reverter, S. Izquierdo Álvarez, R. López Martínez. (2011) Especificaciones para la exactitud de los procedimientos de medida en el laboratorio clínico. Recomendación. Documentos de la SEQC. 12-15.

Godoy C, Acevedo M, Barrera A, Yismeyián A, Ugarte F. (2009). Hipertiroidismo en niños y adolescentes. *Revista chilena de pediatría*. 21-29.

Grubb A, Simonsen O, Sturfelt G, Truedsson L, Thysell H. (1985). Serum concentration of cystatin C, factor D and beta 2-microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. *Acta Med Scand*. 499-503.

Huidobro E., Juan Pablo, Tagle, Rodrigo, & Guzmán, Ana María. (2018). Creatinina y su uso para la estimación de la velocidad de filtración glomerular. *Revista médica de Chile*, 44-350.

Huidobro E., Juan Pablo, Guzmán, Ana María, Tagle, Rodrigo. (2021). Uso de la cistatina C como biomarcador para estimar la tasa de filtración glomerular. *Revista médica de Chile*. 98-102

Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio. (2014) Verificación del usuario de la precisión y estimación del sesgo. CLSI documento EP15-A3.

ISO (2012) Medical laboratories - Requirements for quality and competence, ISO 1518. Geneva.

ISP (2009) GUÍA TÉCNICA PARA CONTROL DE CALIDAD DE MEDICIONES CUANTITATIVAS EN EL LABORATORIO CLÍNICO. 10-13.

https://www.ispch.cl/sites/default/files/Guia_Tecnica_Control_Calidad_Mediciones_Cuantitativas.pdf

Jayagopal V, Keevil BG, Atkin SL, Jennings PE, Kilpatrick ES. (2003). Paradoxical changes in cystatin C and serum creatinine in patients with hypo- and hyperthyroidism. Clin Chem. 680-1.

Kyhse-Andersen J, Schmidt C, Nordin G. (1994). Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. Clin Chem. 1921-1926.

Lombi, F., Muryan, A., Canzonieri, R., Trimarchi, H. (2016). Biomarcadores en la lesión renal aguda: ¿paradigma o evidencia? Rev Soc Esp Nefrología. 339–346.

Martínez, K. Domínguez, J. (2003). Utilidad clínica de la cistatina C como marcador de función renal. An Med Asoc Med Hosp ABC. 216-222.

MINSAL (2017). Guías de práctica clínicas GES: Prevención secundaria de la enfermedad renal crónica.

Moya Y, Toro J, Cruz G. (2015). Evaluación de la función renal: el concepto de clearance renal y su aplicación diagnóstica. Rev Farmacol Chile. 25-34.

Odden MC, Scherzer R, Bacchetti P, Szczech LA, Sidney S, Grunfeld C, Shlipak MG. Cystatin C level as a marker of kidney function in human immunodeficiency virus infection: the FRAM study. Arch Intern Med. 2007 Nov 12;167(20):2213-9. doi: 10.1001/archinte.167.20.2213. PMID: 17998494; PMCID: PMC3189482.

Ortuño-Andériz F, Cabello-Clotet N, Vidart-Simón N, Postigo-Hernández C, Domingo-Marín S, Sánchez-García M. (2015). Cystatin C as an early marker of acute kidney injury in septic shock. Rev Clin Esp. 83-90.

Pagana KD, Pagana TJ (2010). Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests, 4th ed. St. Louis: Mosby Elsevier.

Pedrero, Matilde (2016). Insuficiencia renal aguda. Síntesis de Conocimientos es una iniciativa de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile a través del Departamento de Educación en Ciencias de la Salud. Uchile.cl. <https://sintesis.med.uchile.cl/condiciones-clinicas/condiciones-clinicas-pediatria-general/11810-insuficiencia-renal-aguda>

Pergande M, Jung K. (1993). Sandwich enzyme immunoassay of cystatin C in serum with commercially available antibodies. Clin Chem. 1885-1890.

Rewa O, Bagshaw SM. (2014). Acute kidney injury - epidemiology, outcomes and economics. Nat Rev Nephrol. 2014;10:193-207; doi:10.1038/nrneph.2013.282

Risch L, Herklotz R, Blumberg A, Huber AR. (2001). Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin C concentrations in renal transplant patients. Clin Chem. 2055-9.

Sanz M, Rodríguez A, González, E. (2015). Patología tiroidea en el niño y el adolescente. Pediatr Integral XIX (7): 467–476.

Budina M. (2024). SEKK: Acceptable differences. 1-3 https://www.sekk.cz/eqa/Dmax_1.pdf

Schück O, Teplan V, Stolova M, Skibova J. (2004). Estimation of glomerular filtration rate in obese patients with chronic renal impairment based on serum cystatin C levels. Clin Nephrol. 92-6.

Tomino Y, Suzuki S, Gohda T, Kobayashi M, Horikoshi S, Imai H, Saito T, Kawamura T, Yorioka N, Harada T, Yasumoto Y, Kida H, Kobayashi Y, Endoh M, Sato H, Saito K. (2001). Serum cystatin C may predict the prognostic stages of patients with IgA nephropathy prior to renal biopsy. *J Clin Lab Anal.* 15-25

Uber AM, Sutherland SM. Acute kidney injury in hospitalized children: consequences and outcomes. *Pediatr Nephrol.* 2020 Feb;35(2):213-220. doi: 10.1007/s00467-018-4128-7. Epub 2018 Nov 1. PMID: 30386936; PMCID: PMC7223774.

Viollet L, Gailey S, Thornton DJ, Friedman NR, Flanigan KM, Mahan JD, Mendell JR. (2009). Utility of cystatin C to monitor renal function in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve.* 438-42.

Vukusich C, Antonio, Alvear M, Felipe, Villanueva A, Pablo, González T, Claudio, Olivari P, Francisco, Alvarado A, Nelly, & Zehnder B, Carlos. (2004). Epidemiología de la Insuficiencia Renal Aguda grave: Un estudio prospectivo multicéntrico en la Región Metropolitana. *Revista médica de Chile*, 132(11), 1355-1361. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872004001100003>

1.- Certificación de usuario básico para el instrumento Atellica® NEH630.



2.- Inserto del kit comercial N Látex Cistatina C.



N Látex Cistatina C

N CYSC

La barra de revisión indica una actualización de la versión anterior.

C€0197

Sistema Atellica® NEPH 630 / Sistema BN II / Sistema BN ProSpec®

Uso Previsto

N CYSC es un reactivo de diagnóstico in vitro para la determinación cuantitativa de cistatina C, estandarizada por la IFCC, como ayuda en el diagnóstico y la monitorización de la enfermedad renal en pacientes con riesgo o signos de enfermedad renal en suero humano y plasma con heparina por medio de sistemas inmunonefelométricos automatizados de Siemens Healthineers.

El ensayo **N CYSC** se puede usar para calcular la tasa de filtración glomerular estimada (eGFR), que es una medida de la función de filtración renal.

Resumen y Explicación

La cistatina C es un inhibidor de la cisteína proteasa con un peso molecular relativo de 13,250 Da y se forma en todas las células nucleadas investigadas. Puesto que se forma a una velocidad constante y es filtrada libremente por el riñón sano, esta proteína representa un buen marcador de la función renal. Las concentraciones en suero de cistatina C son casi totalmente dependientes de la tasa de filtración glomerular¹⁻³. Una reducción de la tasa de filtración glomerular (GFR) provoca un aumento de la concentración de cistatina C. Se ha observado que la cistatina C no se ve afectada por factores tales como la masa muscular o la nutrición, factores que se han demostrado que afectan a los valores de la creatinina, por ejemplo. Además, no se hace evidente un aumento de la creatinina hasta que la GFR se ha reducido en aproximadamente un 50 %.

La cistatina C se puede usar para calcular la eGFR (tasa de filtración glomerular estimada), una medida que se usa en combinación con la eliminación de la albúmina en la orina para el diagnóstico y la estadificación de la enfermedad renal^{4,5}.

Existen indicios de que el aumento de los niveles de cistatina C en suero se asocia a un mayor riesgo de mortalidad por cualquier causa y por causas cardiovasculares en las poblaciones generales. En particular, se observa una correlación lineal entre los niveles séricos de cistatina C y la mortalidad cardiovascular⁶.

Principio del Método

Las partículas de poliestireno recubiertas de anticuerpos específicos frente a la cistatina C humana se agregan al mezclarse con muestras que contienen cistatina C humana. Estos complejos dispersan un haz de luz proyectado a través de la muestra. La intensidad de la luz dispersada es proporcional a la concentración de la proteína correspondiente en la muestra. El resultado se evalúa en comparación con un estándar de concentración conocida.

11539771_es Rev. 11

2023-06

1/10

Reactivos

Reactivo	Descripción	Almacenamiento	Estabilidad
N Látex Cistatina C			
[N CYSC]			
[REAGENT]	Líquido listo para su uso que contiene: - partículas de poliestireno recubiertas de anticuerpos anti-Cistatina C humana, conejo (concentración de anticuerpos activos: 0,016 g/L) - Conservantes: - Sulfato de gentamicina (~6,25 mg/L) - Anfotericina B (~0,625 mg/L)	2–8 °C Puede utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta si se ha conservado sin abrir.	2–8 °C: una vez abierto, 2 semanas ^{a,b} ¡No congelar!
[CONTROL 1]	Reactivo liofilizado que contiene: - poligelina - proteínas de orina, humanas - Azida sódica (reconstituido: < 1 g/L)	2–8 °C Puede utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta si se ha conservado sin abrir.	2–8 °C: reconstituido, 4 semanas ^{a,b} ¡No congelar!
[CONTROL 2]	Reactivo liofilizado que contiene: - poligelina - proteínas de orina, humanas - Azida sódica (reconstituido: < 1 g/L)	2–8 °C Puede utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta si se ha conservado sin abrir.	2–8 °C: reconstituido, 4 semanas ^{a,b} ¡No congelar!
[SUPPLEMENT A]	Líquido listo para su uso que contiene: - Inmunoglobulina, conejo (14 g/L) - Azida sódica (< 1 g/L) - Tampón	2–8 °C Puede utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta si se ha conservado sin abrir.	n/d ^c
[SUPPLEMENT B]	Líquido listo para su uso que contiene: - polietilenglicol sorbitán monolaureat (85 g/L) - Azida sódica (< 1 g/L)	2–8 °C Puede utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta si se ha conservado sin abrir.	2–8 °C: una vez abierto, 12 semanas ^{a,b} ¡No congelar!

^a si se tapa bien inmediatamente después de su uso
^b si se excluye cualquier contaminación (por ejemplo, por microorganismos)

^c **Mezcla** de reactivo suplementario N Cistatina C: 2 semanas a 2 a 8 °C^{a,b}

[N CYSC] [CONTROL 1] y **[N CYSC] [CONTROL 2]**: la concentración de cistatina C tras la reconstitución aparece en la tabla adjunta. La concentración de **[N CYSC] [CONTROL 1]** y **[N CYSC] [CONTROL 2]** está calibrada con referencia a preparados estándar de proteínas de Siemens Healthineers y es específica de cada lote.

Estabilidad en el sistema

Un mínimo de 5 días, durante 8 horas al día o un período de tiempo comparable.

Nota: La estabilidad dentro del equipo puede variar en función del respectivo sistema utilizado y de las condiciones de laboratorio. Para obtener más información, consulte el documento de protocolos de ensayo que corresponda.

La estabilidad dentro del equipo de **[N CYSC] [CONTROL 1]** y **[N CYSC] [CONTROL 2]** en el sistema Atellica® NEPH 630 y el sistema BN ProSpec® se especifica en el documento de protocolos de ensayo que corresponda.

Advertencias y Medidas de Seguridad

Sólo para diagnóstico *in vitro*.

Para uso profesional en laboratorio.

De acuerdo con el reglamento de la UE 2017/746, cualquier incidente grave que se haya producido relativo al dispositivo debe informarse al fabricante y la autoridad competente del estado miembro de la UE en la que esté establecido el usuario y/o el paciente.

Las fichas de datos de seguridad (MSDS/SDS) están disponibles en [siemens-healthineers.com/sds](https://www.siemens-healthineers.com/sds).

**¡Advertencia!** [N CYSC] [CONTROL 1], [N CYSC] [CONTROL 2]

Ingrediente peligroso: Azida sódica (1,58 % [p/p]).

H302 + H312: Nocivo en caso de ingestión o en contacto con la piel. **H412:** Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P264: Lavarse las manos concienzudamente tras la manipulación. **P280:** Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. **P273:** Evitar su liberación al medio ambiente. **P312:** Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar. **P501:** Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales.

**¡PRECAUCIÓN! POSIBLE PELIGRO BIOLÓGICO**

[N CYSC] [REAGENT], [N CYSC] [CONTROL 1], [N CYSC] [CONTROL 2]

Cada donante o unidad de donación ha sido analizado para detectar la presencia del virus de inmunodeficiencia humana 1 y 2 (VIH), virus de la hepatitis B (VHB) y virus de la hepatitis C (VHC), utilizando análisis con la marca CE o la autorización de la FDA para este fin. Como no hay ninguna prueba que ofrezca la completa seguridad de ausencia de agentes infecciosos, todos los productos obtenidos a partir de material de origen humano, deben ser manipulados con las debidas precauciones.

Precaución

[N CYSC] [REAGENT], [N CYSC] [CONTROL 1], [N CYSC] [CONTROL 2], [N CYSC] [SUPPLEMENT A]

Este dispositivo contiene material de origen animal y se debe manipular como potencial portador y transmisor de enfermedades.

Contiene azida sódica como conservante. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de cobre y plomo y formar azidas metálicas explosivas. Cuando se eliminen los reactivos, enjuagar con agua abundante para evitar la acumulación de azidas, si la eliminación es a través de los desagües sanitarios de acuerdo con la normativa vigente.

Deseche los materiales peligrosos o que presenten contaminación biológica conforme el protocolo de su centro. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y de conformidad con todos los requisitos gubernamentales.

El resumen de seguridad y rendimiento (SSP) está disponible en la base de datos europea sobre productos sanitarios (consulte el sitio web público de Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>). En caso de que Eudamed no esté disponible, Siemens Healthineers puede facilitar el SSP bajo petición.

Preparación de reactivos

[N CYSC] [REAGENT]: El reactivo es líquido y puede usarse sin preparación adicional. Agítelo con cuidado para mezclarlo bien antes de usarlo por primera vez.

[N CYSC] [CONTROL 1] y [N CYSC] [CONTROL 2]: Reconstituya el contenido liofilizado de un vial con 1,0 mL de agua destilada. Agítelo con cuidado para mezclarlo. El [N CYSC] [CONTROL 1] y el [N CYSC] [CONTROL 2] están listos para su uso 30 minutos después de la reconstitución.

N reactivo adicional Cistatina C: Pipetee 0,5 mL de [N CYSC] [SUPPLEMENT B] en un vial de [N CYSC] [SUPPLEMENT A] y mézclelo con cuidado.

Muestras**Extracción de la muestra**

Son aptas las muestras de suero humano o plasma con heparina que estén lo más frescas posibles (conservadas durante un máximo de siete días de 2 a 8 °C) o conservadas congeladas. Las muestras pueden conservarse a temperaturas inferiores a -20 °C hasta un máximo de tres meses si se congelan durante las primeras 24 horas después de ser extraídas y se evitan los ciclos de congelación-descongelación.

Las muestras de suero deben estar completamente coaguladas y, después de la centrifugación, no deben contener ni partículas ni restos de fibrina. Las muestras lipémicas o las muestras congeladas que estén turbias tras descongelarlas deben ser centrifugadas (10 minutos a 15 000 × g aproximadamente) antes de analizarlas.

Procedimiento

Materiales suministrados

REF	Contenido		
OQNM17	N Látex Cistatina C N CYSC		
	N Reactivo Cistatina C N CYSC REAGENT	3 ×	2 mL
	N Control Cistatina C, nivel 1 N CYSC CONTROL 1	3 × →	1 mL
	N Control Cistatina C, nivel 2 N CYSC CONTROL 2	3 × →	1 mL
	N Reactivo adicional A Cistatina C N CYSC SUPPLEMENT A	3 ×	0,5 mL
	N Reactivo adicional B Cistatina C N CYSC SUPPLEMENT B	1 ×	1,6 mL

Materiales necesarios pero no suministrados

Producto	Descripción
REF OQLV05	N PROT STANDARD UY, N estándar proteínas UY
REF OQUB19	Cleaner SCS (para los sistemas Atellica® NEPH 630, BN II y BN ProSpec®)
REF OUMT65	N DILUENT, N diluyente
REF OVLE21	Tampones protectores de evaporación BN II (opcional)
Instrumentos ^d , como:	- Sistema Atellica® NEPH 630 - Sistema BN II - Sistema BN ProSpec®

Materiales y suministros adicionales descritos en el correspondiente manual de instrucciones del sistema.

^d La disponibilidad de los analizadores puede variar según el país.

Notas

Consulte el manual de instrucciones correspondiente a su sistema para ver información detallada acerca del funcionamiento del instrumento.

Los controles liofilizados no deben utilizarse hasta que estén debidamente reconstituidos (mínimo 30 minutos después de añadir agua destilada).

Con los sistemas Atellica® NEPH 630, BN II o BN ProSpec®, los reactivos y muestras almacenados a una temperatura entre 2 y 8 °C pueden colocarse directamente en el analizador.

Protocolo de ensayo en el sistema Atellica® NEPH 630 y para los sistemas BN

Los protocolos de ensayo para suero y plasma se encuentran en los documentos de protocolos de ensayo y en el software del equipo que correspondan. El sistema realiza automáticamente todos los pasos.

Calibración del ensayo

Las curvas de referencia se generan mediante calibración multipunto. Las diluciones seriadas de N PROT STANDARD UY son preparadas automáticamente por el equipo utilizando N DILUENT. Las diluciones del estándar deben usarse en un plazo máximo de cuatro horas. La curva de referencia tiene una validez de dos semanas, y se puede utilizar una vez transcurrido este período de tiempo siempre y cuando los controles con sus correspondientes valores objetivo dependientes del método, p. ej.,

[N CYSC] [CONTROL 1] y **[N CYSC] [CONTROL 2]**, se encuentren dentro de sus respectivos intervalos de confianza.

Si se utiliza un lote de reactivo distinto, será necesario realizar una nueva curva de referencia. El intervalo de medición exacto depende de la concentración de la proteína en cada lote de **[N PROT] [STANDARD] [UY]**. Los intervalos de medición típicos se proporcionan en los documentos de protocolos de ensayo que correspondan.

Medición de muestras

Las muestras se diluyen automáticamente en una proporción de 1:100 con **[N DILUENT]**. Las muestras diluidas han de ser analizadas en un plazo máximo de cuatro horas. Si los resultados obtenidos se encuentran fuera del intervalo de medición, el análisis puede repetirse utilizando una dilución mayor o menor de la muestra. Consulte el manual de instrucciones del sistema que corresponda para averiguar cómo se repiten las mediciones utilizando otras diluciones.

Control de Calidad Interno

Analice **[N CYSC] [CONTROL 1]** y **[N CYSC] [CONTROL 2]** después de elaborar cada curva de referencia, después de usar un frasco de reactivo por primera vez, así como con cada serie de muestras. Los controles se analizan y evalúan igual que las muestras de los pacientes. El valor y el intervalo asignados aparecen indicados en la tabla adjunta.

Los valores se pueden introducir mediante un dispositivo de almacenamiento de datos en los sistemas Atellica® NEPH 630 y BN ProSpec®.

Los valores asignados indicados están pensados para el uso como control intralaboratorio valorado para la evaluación de la precisión y del sesgo analítico. Si se utiliza para el control de la precisión, el usuario deberá establecer el valor de la concentración y los límites de confianza durante una fase preliminar.

Si el resultado de un control está fuera del intervalo, el análisis se debe repetir. Si la repetición confirma la desviación, se deberá establecer una nueva curva de referencia. No validar los resultados del paciente hasta haber identificado y corregido la causa de la desviación.

Resultados

La evaluación se lleva a cabo automáticamente en mg/L o en una unidad elegida por el usuario.

Limitaciones del procedimiento

Las interferencias por factores reumatoideos se suprimen con el uso del N Reactivo adicional Cistatina C. La turbidez y las partículas de la muestra pueden interferir en la determinación. Por tanto, las muestras que contengan partículas deben ser centrifugadas antes de analizarlas. Las muestras turbias o lipémicas que no pueden aclararse mediante centrifugación (10 minutos a 15000 × g aproximadamente) no deben usarse. No se han detectado interferencias con los medicamentos inmunosupresores (ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, micofenolato o azatioprina). No se ha evaluado la interferencia de los anticuerpos monoclonales o policlonales utilizados en el tratamiento de pacientes trasplantados.

Siemens Healthineers ha validado el uso de estos reactivos en diversos analizadores para optimizar el rendimiento del producto y cumplir con las especificaciones del mismo. Tenga en cuenta que el fabricante del instrumento puede validar las aplicaciones en otros analizadores de conformidad con los requisitos del REGLAMENTO (UE) 2017/746 bajo su responsabilidad, siempre y cuando no se modifiquen la finalidad y el rendimiento previstos. Las modificaciones definidas por el usuario no están garantizadas por Siemens Healthineers, dado que pueden afectar al rendimiento del sistema y a los resultados del ensayo. Es responsabilidad del usuario validar las modificaciones realizadas en estas instrucciones o el uso de los reactivos en analizadores distintos a los incluidos en las hojas de aplicación de Siemens Healthineers o en estas instrucciones de uso.

Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, la sintomatología clínica y otras observaciones.

Debido a efectos de la matriz, las muestras de estudios entre laboratorios y las muestras de control pueden dar resultados diferentes de los obtenidos por otros métodos. Por tanto podría ser necesario evaluar estos resultados en relación con los valores objetivos específicos del método.

Las concentraciones de cistatina C pueden verse alteradas por diferentes factores independientes de la función renal¹⁷. Por ejemplo, cuando la cistatina C se utiliza como marcador de la función renal, debe

tenerse en cuenta la función tiroidea. Los niveles de cistatina C son más bajos en el estado hipotiroideo y más altos en el estado hipertiroideo cuando se comparan con los del estado eutiroideo⁸. Las concentraciones de cistatina C también pueden encontrarse elevadas de manera artificial durante los tratamientos con dosis altas de corticosteroides⁹.

Intervalo de referencia

El intervalo de referencia se determinó a partir de una población de sujetos aparentemente sanos sin antecedentes de enfermedades renales. Se analizó un total de 413 muestras obtenidas de 194 hombres y 219 mujeres con edades comprendidas entre los 1 y los 78 años. El intervalo de referencia se calculó de forma no paramétrica y se determinó con un valor de 0,62 a 1,11 mg/L. Esto representa el 95 % central de la población.

No obstante, cada laboratorio debería determinar sus propios intervalos de referencia puesto que los valores pueden variar en función de la población analizada.

Características específicas del test

Nota: Los valores indicados para las características específicas de rendimiento del ensayo representan resultados típicos y no deben considerarse especificaciones para **N CYSC**.

Intervalo de medición

El intervalo de medición de los ensayos **N CYSC** se establece usando el límite inferior de la curva de referencia y, por tanto, depende de la concentración de la proteína en el **N PROT STANDARD UY**. Los intervalos de medición típicos se proporcionan en el documento de protocolos de ensayo que corresponda.

Especificidad

No se conoce reactividad cruzada del anticuerpo aplicado.

Sensibilidad

La sensibilidad analítica del ensayo se determina usando el límite inferior de la curva de referencia y, por tanto, depende de las concentraciones de la proteína respectiva en el **N PROT STANDARD UY**. Un límite típico de detección (LoD) para el ensayo de CysC es <0,055 mg/L para las mediciones efectuadas usando una dilución de muestra de 1:20.

Precisión

El ensayo **N CYSC** se usó para medir las concentraciones de cistatina C de **N CYSC**, **CONTROL 1** y **N CYSC**, **CONTROL 2**, tres mezclas de suero y tres mezclas de plasma que oscilaban entre 1,0 y 8,4 mg/L. Se obtuvieron determinaciones duplicadas de dos tandas de análisis durante un período de veinte días mediante un sistema BN.

Muestra	Media [mg/L]	CV de repetibilidad [%]	CV de precisión intrasistema/ intralaboratorio [%]
N CYSC , CONTROL 1	1,1	2,6	2,9
N CYSC , CONTROL 2	2,1	2,4	2,9
Pool suero 1	1,0	2,6	2,6
Pool suero 2	2,7	2,6	4,3
Pool suero 3	8,4	1,7	2,9
Mezcla de plasma 1	1,0	3,2	3,2
Mezcla de plasma 2	3,0	1,5	3,4
Mezcla de plasma 3	7,6	2,5	2,7

Se ha confirmado la equivalencia para Sistema Atellica® NEPH 630.

Siemens Healthineers evaluó la reproducibilidad de **N CYSC** basándose en la información sobre pruebas de aptitud disponible públicamente en 2019/2020. La mediana del CV% de reproducibilidad global

obtuvo un resultado < 10 %, incluidos los factores de variabilidad según el lote, el instrumento, el laboratorio y el operador.

Comparación de métodos

Se analizaron en total 698 muestras (con concentraciones de cistatina C de hasta 8,89 mg/L) en un sistema BN II (y) con el ensayo **N CYSC** y se compararon con los resultados de creatinina (x).

Resumen del análisis de regresión de comparación de métodos			
	Regresión de Passing Bablok	Coefficiente de correlación	n
Centro A	$1,0226 \times + 0,5147 \text{ mg/L}$	0,8911	100
Centro B	$1,2231 \times - 0,1600 \text{ mg/L}$	0,8326	499
Centro C	$1,1047 \times - 0,0652 \text{ mg/L}$	0,8434	99

Exceso de antígeno

El reactivo **N CYSC** no demostró un efecto de gancho por dosis alta en el ensayo para una concentración de CysC de hasta 13,9 mg/L.

Sensibilidad y especificidad clínica

Se incluyeron quinientos sujetos seleccionados entre pacientes sometidos a un procedimiento de aclaramiento del iotalamato para la evaluación de la GFR. De estos, se encontró que 363 (73 %) presentaron una GFR anormal sobre la base de los resultados de aclaramiento del iotalamato. Las muestras también se analizaron mediante un ensayo comparativo de creatinina. El **N CYSC** en un sistema BN II y el ensayo de creatinina demostraron unas especificidades similares ($p = 0,175$). La especificidad de **N CYSC** fue del 82 % en comparación con el 88 % de la creatinina. Se observó una sensibilidad significativamente mayor para **N CYSC** que para la creatinina ($p < 0,001$). La sensibilidad de **N CYSC** fue del 94 % en comparación con solo el 81 % para la creatinina.

Sensibilidad clínica y especificidad		
	Resultado [%]	95 % Intervalo de confianza [%]
Cistatina C		
Sensibilidad diagnóstica	94	(91; 96)
Especificidad diagnóstica	82	(74; 88)
Valor predictivo positivo	93	(90; 95)
Valor predictivo negativo	83	(76; 88)
Creatinina		
Sensibilidad diagnóstica	81	(77; 85)
Especificidad diagnóstica	88	(82; 93)
Valor predictivo positivo	95	(92; 97)
Valor predictivo negativo	64	(57; 70)

Conversión de resultados de cistatina C a GFR estimada

Diversos grupos profesionales nacionales e internacionales han recomendado que los laboratorios clínicos informen de las tasas de filtración glomerular estimada (eGFR) y del valor analítico del marcador de la función renal¹⁰⁻¹². Se han desarrollado varias fórmulas para convertir los valores de cistatina C en eGFR con ajustes para el área de superficie corporal (mL/min/1,73 m^2) y sin ajustes (mL/min); dos de estas fórmulas publicadas por Grubb y col.¹³ (ecuación CAPA) y la directriz del consorcio KDIGO¹⁰ se indican a continuación:

eGFR según Grubb y col.¹³:

$$\text{eGFR (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 130 \times \text{cistatina}^{-1,069} \times \text{edad}^{-0,117} \cdot 0,7$$

eGFR según KDIGO (2012 ERC-EP)¹⁰:

si $\text{CisC} \leq 0,8$:

$$\text{eGFR (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 133 \times (\text{CysC}/0,8)^{-0,499} \times 0,996^{\text{edad}} (\times 0,932 \text{ si es mujer})$$

si $CisC > 0,8$:

$$eGFR \text{ (mL/min/1,73 m}^2\text{)} = 133 \times (CysC/0,8)^{-1,3289} \times 0,996^{\text{edad}} (\times 0,932 \text{ si es mujer})$$

Los valores de **N CYS C** convertidos a eGFR según la ecuación CAPA para un paciente de 60 años se resumen en la tabla siguiente, con los resultados clasificados según las fases de la enfermedad renal crónica (ERC) definida en la NOMENCLATURA DE ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA (ERC) UTILIZADA POR KDIGO¹⁰.

Fase	Descripción	Intervalo de GFR (a partir de la ecuación CAPA) [mL/min/1,73 m ²]	N CYS C [mg/L]
1	GFR normal o aumentada	≥90	<0,84
2	GFR ligeramente reducida	60–89	0,85–1,19
3a	GFR de ligera a moderadamente reducida	45–59	1,20–1,51
3b	GFR de moderada a fuertemente reducida	30–44	1,52–2,09
4	GFR fuertemente reducida	15–29	2,10–3,42
5	Insuficiencia renal	<15	>3,43

La utilidad de la ecuación CAPA se evaluó en una población de 4690 personas con GFRs diversas según lo determinaba el aclaramiento renal o plasmático de la inulina o el aclaramiento plasmático del iohexol.

Asistencia técnica

Para obtener asistencia, póngase en contacto con el proveedor local de asistencia técnica o con el distribuidor.

siemens-healthineers.com

Versión actual de los protocolos del ensayo

N CYS C puede utilizarse con varios analizadores automáticos. Siemens Healthineers proporciona protocolos de ensayo para los instrumentos enumerados en la sección "Materiales necesarios pero no suministrados", página 4 en este enlace dedicado:

siemens-healthineers.com/ap

Como Siemens Healthineers supervisa continuamente el rendimiento y la seguridad del producto, los usuarios deben asegurarse de que trabajan con la revisión correcta de las instrucciones para los lotes de producto en uso. Revise periódicamente la disponibilidad de nuevas revisiones de etiquetado electrónico para garantizar un uso seguro del producto.

El número de versión de las instrucciones de uso aparece en la etiqueta de la caja de cada producto. Siemens Healthineers se asegura de que todos los lotes de productos con el mismo número de versión de las instrucciones de uso sean compatibles con el etiquetado electrónico proporcionado a través del sitio web de siemens-healthineers.com/elFU.

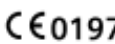
Bibliografía

1. Filler G, Boekenkamp A, Hofmann W, et al. Cystatin C as a marker of GFR-history, indications, and future research. Clin Biochem 2005; 38:1-8.
2. Chew JS, Saleem M, Florkowski CM, et al. Cystatin C—a paradigm of evidence based laboratory medicine. Clin Biochem Rev 2008; 29:47-62.
3. Séronie-Vivien S, Delanaye P, Piéroni L, et al. Cystatin C: current position and future prospects. Clin Chem Lab Med 2008; 46:1664-86.
4. Levey AS, Inker LA, Coresh J. GFR estimation: from physiology to public health. Am J Kidney Dis. 2014; 63:820-34.
5. Levey AS, Becker C, Inker LA. Glomerular filtration rate and albuminuria for detection and staging of acute and chronic kidney disease in adults: a systematic review. JAMA. 2015; 313:837-46

6. Jung E, Sun Ro Y, Ho Ryu H, et al. Cystatin C and mortality risk in the general population: systematic review and dose response meta-analysis. *Biomarkers*. 2002;27(3):2229. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2021.1989489>.
7. Teaford HR, Barreto JN, Vollmer KJ, et al. Cystatin C: A Primer for Pharmacists. *Pharmacy*. 2020;8(1): 35. doi: 10.3390/pharmacy8010035.
8. Fricker M, Wiesli P, Brändle M, et al. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney International*. 2003;63 1944–7.
9. Tsushita H, Tanaka R, Suzuki Y, et al. Effects of dose and type of corticosteroids on the divergence between estimated glomerular filtration rates derived from cystatin C and creatinine. *J Clin Pharm Ther*. 2020;45(6):1390–7. doi: 10.1111/jcpt.13235.
10. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease, *Kidney International Supplements* 2013; 3 (1), S1–150.
11. Mathew TH; Australasian Creatinine Consensus Working Group. Chronic kidney disease and automatic reporting of estimated glomerular filtration rate: a position statement. *Med J Aust* 2005;183:138–41.
12. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, et al. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2005; 67:2089–100.
13. Grubb et al.: Generation of a New Cystatin C–Based Estimating Equation for Glomerular Filtration Rate by Use of 7 Assays Standardized to the International Calibrator. *Clin Chem*. 2014;60:974–986.

Definición de símbolos

Los siguientes símbolos pueden aparecer en el etiquetado del producto:

	No reutilizar		Fecha de caducidad
	Código de lote		Número de catálogo
	Atención, ver instrucciones de uso		Fabricante
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Representante autorizado en Suiza
	Contenido suficiente para <n> ensayos		Riesgos biológicos
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>		Límite de temperatura
	Consulte las instrucciones de uso		No estéril
	Marca CE		Marca CE con número de ID de organismo notificado. El número de ID de organismo notificado puede variar.
	Contenido		Volumen de reconstitución
	Nivel		Mantener protegido de la luz solar y del calor
	Advertencia		Peligro
	Dispositivo bajo prescripción (solo en EE. UU.)		Código de barras de identificación del producto (UDI)
	xx/xx/xx Número de autorización REACH		

Información legal

Atellica y BN ProSpec son marcas comerciales de Siemens Healthineers.

Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© Siemens Healthineers, 2011–2023. Reservados todos los derechos.

Siemens Healthineers Headquarters

Siemens Healthcare GmbH
Henkestraße 127
91052 Erlangen
Germany
Phone: +49 9131 84-0
[siemens-healthineers.com](https://www.siemens-healthineers.com)



Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH

Emil-von-Behring-Str. 76
35041 Marburg
Germany
[siemens-healthineers.com](https://www.siemens-healthineers.com)

3.- Inserto controles de primera opinión N Latex Cystatin C CONTROL 1 Y CONTROL 2.



11526543 (11901)



 2025-03-20

N Latex Cystatin C

N CYSC

Table of Assigned Values for Atellica® NEPH 630 System and BN Systems / Tabelle der Sollwerte für Atellica® NEPH 630 System und BN Systeme /
 Tableau des valeurs-cibles pour système Atellica® NEPH 630 et systèmes BN / Tabella de valori teorici per i sistema Atellica® NEPH 630 y sistemi BN /
 Tabla para los valores teóricos con los sistema Atellica® NEPH 630 y sistemas BN / Tabla de valores atribuidos para os sistema Atellica® NEPH 630 e
 sistemas BN / Tabel med Assigned Values for Atellica® NEPH 630 Systemet og BN Systemer / Tabell med åsatta värden för Atellica® NEPH 630 system
 och BN system / Τίνακας τιμών αναφοράς για το Σύστημα Atellica® NEPH 630 και Σύστημα BN

N CYSC

CONTROL 1

LOT 041491

	Concentration/Konzentration/Concentration Concentrazione/Concentración/Concentração Κονκέντρωση/Συγκέντρωση	Confidence Interval/Vertrauensbereich/Domaine de confiance Interv. di accettabilità/Rango de confianza/Intervalo de confiança Konfidensin- terval/Konfidensintervall/Διάστημα εμπιστοσύνης
Cystatin C*	1.07 mg/L	0.86 - 1.28 mg/L

* in combination with [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / in Kombination mit [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / en association avec [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / in combinazione con [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / en combinación con [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / em combinação com [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / i kombination med [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / σε συνδυασμό με [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05)

BN II:



N CYSC

CONTROL 2

LOT 041591

	Concentration/Konzentration/Concentration Concentrazione/Concentración/Concentração Κονκέντρωση/Συγκέντρωση	Confidence Interval/Vertrauensbereich/Domaine de confiance Interv. di accettabilità/Rango de confianza/Intervalo de confiança Konfidensin- terval/Konfidensintervall/Διάστημα εμπιστοσύνης
Cystatin C*	2.24 mg/L	1.79 - 2.69 mg/L

* in combination with [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / in Kombination mit [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / en association avec [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / in combinazione con [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / en combinación con [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / em combinação com [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / i kombination med [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05) / σε συνδυασμό με [NPROT][STANDARD][UY] ([REF] OQLV05)

BN II:



4.- Inserto calibrador N Protein Standard UY.



SIEMENS
Healthineers



11529829 (12260)

N Protein Standard UY

NPROT|STANDARD|UY

LOT 049886

 2025-09-26



Table of Analytical Values for Atellica® NEPH 630 System, BN II System and BN ProSpec® System / Tabelle der Analysenwerte für Atellica® NEPH 630 System, BN II System und BN ProSpec® System / Table des valeurs théoriques pour systèmes Atellica® NEPH 630, BN II et BN ProSpec® / Tabella dei valori analitici per Sistemi Atellica® NEPH 630, BN II e BN ProSpec® / Tabla de valores analíticos para los sistemas Atellica® NEPH 630, BN II y BN ProSpec® / Tabela de Valor Analítico para os sistemas Atellica® NEPH 630, BN II e BN ProSpec® / Tabel med analyseværdier for Atellica® NEPH 630, BN II og BN ProSpec®-systemerne / Tabell över de analytiska värdena för Atellica® NEPH 630, BN II- och BN ProSpec®-systemen / Πίνακας τιμών ανάλυσης για το Σύστημα Atellica® NEPH 630, BN II και BN ProSpec®

Proteins/Proteine/Protéines/Proteína/Proteiner/Πρωτεΐνες	Analytical value/ Analysenwert/ Valeur d'analyse/ Valore analitico/ Valor analítico/ Valores da análise/ Analyseværdi/ Analytiska värden/ Αναλυτική τιμή mg/L
α ₂ -Microglobulin/α ₂ -Mikroglobulin/α ₂ -Microglobuline/α ₂ -microglobulina/α ₂ -mikroglobulina/α ₂ -Μικροσφαιρίνη	447
Cystatin C/cystatine C/Cistatina C/cistatina C/cystatin C/Κυστατίνης C*	1.69
β-Trace Protein/protéine/protéin/proteína/proteiner/Πρωτεΐνες	1.25

* in combination with **NCYS** (OQNM17) / in Kombination mit **NCYS** (OQNM17) / en combinaison avec **NCYS** (OQNM17) / in combinazione con **NCYS** (OQNM17) / en combinación con **NCYS** (OQNM17) / em combinação com **NCYS** (OQNM17) / i kombination med **NCYS** (OQNM17) / i kombination med **NCYS** (OQNM17) / σε συνδυασμό με **NCYS** (OQNM17)

The values can be entered via data storage device on the Atellica® NEPH 630 System and BN ProSpec® System.
Am Atellica® NEPH 630 System und BN ProSpec® System können die Werte auch mit Hilfe eines Datenträgers eingelesen werden.
Les valeurs peuvent être entrées via un périphérique de stockage de données sur Atellica® NEPH 630 System et BN ProSpec® System.
I valori possono essere inseriti tramite il dispositivo di archiviazione dati presente nel Sistema Atellica® NEPH 630 e nel Sistema BN ProSpec®.
Los valores se pueden introducir mediante el dispositivo de almacenamiento de datos de los sistemas Atellica® NEPH 630 y BN ProSpec®.
Os valores podem ser introduzidos no Sistema Atellica® NEPH 630 e Sistema BN ProSpec® através de um dispositivo de armazenamento de dados.
Værdierne kan indlæses via datalagringsenheden på Atellica® NEPH 630-systemet og BN ProSpec®-systemet.
Värdena kan matas in via datalagringsenhet på Atellica® NEPH 630- och BN ProSpec®-systemet.
Οι τιμές μπορούν να καταχωριστούν μέσω συσκευής αποθήκευσης δεδομένων στο σύστημα Atellica® NEPH 630 και στο σύστημα BN ProSpec®.

BN II:



5.- Planilla Excel© entregada por Siemens y reconstruida por el usuario para la verificación de la precisión y sesgo según el protocolo EP15-A3 del CLSI.

Prueba		Cys C		LABORATORIO CLÍNICO DIAGNOMED	
Unidades	mg/L	167831	41431	Imprecisión Intracorrída (Repetibilidad)	
Lote de Reactivo				Interpretación	Nivel 1 Nivel 2
Día de Estudio	N° dato	Nivel 1	Nivel 2	Media Obtenida	1,03 2,26
Día 1	1	1,1	2,28	CV Intracorrída Obtenido	1,52 2,32
	2	1,12	2,29	CV Intracorrída Manufactura	2,60 2,40
	3	1,12	2,24	UWL	3,38 3,12
	4	1,11	2,33	Análisis	Cumple Cumple
	5	1,09	2,17		
Día 2	1	1,06	2,24	Imprecisión Intercorrída	
	2	1,08	2,29	Interpretación	Nivel 1 Nivel 2
	3	1,07	2,25	Media Obtenida	1,03 2,26
	4	1,07	2,32	CV Intercorrída Obtenido	1,60 2,16
	5	1,11	2,21	CV Intercorrída Manufactura	2,30 2,30
Día 3	1	1,08	2,24	UWL	3,17 3,17
	2	1,1	2,17	Análisis	Cumple Cumple
	3	1,07	2,28		
	4	1,09	2,24	Estimación de Sesgo (BIAS)	
	5	1,05	2,26	Interpretación	Nivel 1 Nivel 2
Día 4	1	1,09	2,31	Sesgo Máximo Permitido	5,15 5,15
	2	1,1	2,19	Límite Inferior Inserto	0,86 1,73
	3	1,11	2,33	Límite Superior Inserto	1,28 2,63
	4	1,08	2,25	Media Inserto	1,07 2,24
	5	1,09	2,27	DS Inserto a 3 DS	0,07 0,15
Día 5	1	1,1	2,24	Media Obtenida	1,03 2,26
	2	1,07	2,29	Límite de Aceptación Superior	1,13 2,37
	3	1,06	2,16	Límite de Aceptación Inferior	1,01 2,11
	4	1,08	2,31	Estimación de Sesgo en %	1,68 0,70
	5	1,1	2,23	Análisis	Cumple Cumple
Cálculos Estadísticos				Error Total	
Media	1,03	2,26		Interpretación	Nivel 1 Nivel 2
DS	0,02	0,05		Error Total	4,66 4,25
n	25,00	25,00		Error Total Permitido	11,50 11,50
Resultado más bajo	1,05	2,16		Fuente	SEKK 2024 SEKK 2024
Resultado más alto	1,12	2,33		Análisis	Cumple Cumple
Límite inferior de Grubbs	1,03	2,10			
Límite superior de Grubbs	1,15	2,41		Sigma	
Sr	0,02	0,05		Interpretación	Nivel 1 Nivel 2
SwL	0,02	0,05		Sigma	5,44 5,01
CV intracorrída	1,52	2,32		Análisis	Bueno Bueno
CV intercorrída	1,60	2,16			

6.- Datos para la construcción de la carta control Levey-Jennings para el control de nivel 1.

DÍA	CONTROL 1	MEDIA C1	Z SCORE	X-3DE	X-2DE	X-1DE	X+3DE	X+2DE	X+1DE
1 (11/01)	1,1	1,10	-0,03	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
2 (12/01)	1,07	1,10	-2,08	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
3 (13/01)	1,09	1,10	-0,72	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
4 (15/01)	1,09	1,10	-0,72	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
5 (16/01)	1,1	1,10	-0,03	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
6 (17/01)	1,09	1,10	-0,72	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
7 (18/01)	1,12	1,10	1,33	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
8 (19/01)	1,1	1,10	-0,03	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
9 (22/01)	1,1	1,10	-0,03	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
10 (23/01)	1,09	1,10	-0,72	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
11 (24/01)	1,11	1,10	0,65	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
12 (25/01)	1,1	1,10	-0,03	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
13 (26/01)	1,12	1,10	1,33	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
14 (27/01)	1,11	1,10	0,65	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
15 (29/01)	1,12	1,10	1,33	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
16 (30/01)	1,1	1,10	-0,03	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
17 (31/01)	1,12	1,10	1,33	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
18(01/02)	1,11	1,10	0,65	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
19 (02/02)	1,07	1,10	-2,08	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12
20 (03/02)	1,1	1,10	-0,03	1,06	1,07	1,09	1,14	1,13	1,12

Media C1	1,10
DS C1	0,01

7.- Datos para la construcción de la carta control Levey-Jennings para el control de nivel 2.

DÍA	CONTROL 2	MEDIA C2	Z SCORE	X-3DE	X-2DE	X-1DE	X+3DE	X+2DE	X+1DE
1 (11/01)	2,28	2,29	-0,16	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
2 (12/01)	2,32	2,29	0,82	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
3 (13/01)	2,24	2,29	-1,13	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
4 (15/01)	2,31	2,29	0,57	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
5 (16/01)	2,24	2,29	-1,13	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
6 (17/01)	2,23	2,29	-1,38	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
7 (18/01)	2,2	2,29	-2,11	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
8 (19/01)	2,26	2,29	-0,65	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
9 (22/01)	2,3	2,29	0,33	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
10 (23/01)	2,32	2,29	0,82	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
11 (24/01)	2,28	2,29	-0,16	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
12 (25/01)	2,31	2,29	0,57	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
13 (26/01)	2,33	2,29	1,06	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
14 (27/01)	2,26	2,29	-0,65	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
15 (29/01)	2,34	2,29	1,30	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
16 (30/01)	2,33	2,29	1,06	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
17 (31/01)	2,29	2,29	0,09	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
18(01/02)	2,29	2,29	0,09	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
19 (02/02)	2,25	2,29	-0,89	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33
20 (03/02)	2,35	2,29	1,55	2,16	2,20	2,25	2,41	2,37	2,33

Media C2	2,29
DS C2	0,041