

Servicio de Laboratorio Clínico. Hospital Clínico quirúrgico “Hermanos Ameijeiras”. La Habana

## INTERVALOS DE REFERENCIA PARA LA CISTATINA C SÉRICA EN LA POBLACIÓN ADULTA CUBANA

Dailén Darias Rivera<sup>1</sup>.

### RESUMEN

**Introducción:** La cistatina C despierta un interés creciente como indicador precoz y sensible de la presencia de enfermedad renal crónica (ERC). La cistatina C también puede indicar un riesgo mayor de accidentes vasculares agudos, y por traslación, de una mortalidad superior. Se hace necesario entonces determinar el comportamiento esperado de este analito con el propósito dual de asegurar el diagnóstico clínico por un lado; y establecer pautas adecuadas de calidad analítica. **Objetivo:** Establecer los intervalos de referencia (IR) de la cistatina C sérica para adultos cubanos aparentemente sanos. **Diseño del estudio:** Transversal, analítico. **Locación del estudio:** Servicio de Laboratorio Clínico, Hospital Clínico quirúrgico “Hermanos Ameijeiras” (La Habana, Cuba). **Serie de estudio:** Doscientos cincuenta adultos donantes de sangre (*Hombres:* 50.0%; *Edad promedio:*  $27.9 \pm 10.1$  años). **Métodos:** La cistatina C sérica se determinó en muestras de sangre venosa mediante un método inmunoturbidimétrico (CPM<sup>®</sup>, Italia). Se evaluó la influencia del sexo y la edad del sujeto sobre los valores obtenidos. Los IR se estimaron de forma tal que reunieron al 95% de los sujetos muestreados. Los IR así obtenidos se compararon con los propuestos por el proveedor del método analítico. **Resultados:** Los valores de la cistatina C sérica fueron marginalmente superiores en los hombres: *Hombres:*  $0.875 \pm 0.12$  mg.L<sup>-1</sup> vs. *Mujeres:*  $0.845 \pm 0.12$  mg.L<sup>-1</sup> ( $\Delta = +0.030$ ;  $p = 0.0465$ ). La edad del sujeto no influyó en el valor determinado de la cistatina C sérica ( $r^2 = 0.020$ ;  $p > 0.05$ ). Las cotas del IR paramétrico al 95% de la cistatina C sérica fueron como sigue:  $[0.62 - 1.10$  mg.L<sup>-1</sup>]. La transformación Box-Cox ( $\lambda = 0.122$  vs.  $\lambda = 1.00$ ) no mejoró las cotas estimadas del IR. Los percentiles semiconservativos [3, 97] de la serie de valores determinados del analito se comportaron como:  $[0.63 - 1.08$  mg.L<sup>-1</sup>]. Los IR estimados localmente fueron más anchos que los provistos por el productor. **Conclusiones:** En ausencia de valores de referencia de alcance poblacional, se recomienda la construcción de IR locales mediante el análisis de valores obtenidos de sujetos aparentemente sanos mediante protocolos validados. **Darias Rivera D. Intervalos de referencia para la cistatina C sérica en la población adulta cubana. RCAN Rev Cubana Aliment Nutr 2019;29(2):542-557. RNPS: 2221. ISSN: 1561-2929.**

**Palabras clave:** *Intervalos de referencia / Percentiles / Transformación Box-Cox / Cistatina C sérica.*

<sup>1</sup> Médico, Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral. Especialista de Primer Grado en Laboratorio Clínico.

Recibido: 20 de Octubre del 2019. Aceptado: 18 de Noviembre del 2019.

Dailén Darias Rivera. Servicio de Laboratorio Clínico. Hospital Ortopédico “Frank País García”. La Lisa. La Habana. Cuba

Correo electrónico: [dailen.darias@infomed.sld.cu](mailto:dailen.darias@infomed.sld.cu)

## INTRODUCCIÓN

La cistatina C es una proteína sérica de baja masa molar que ha despertado un interés creciente desde que Simonsen *et al.* (1985)<sup>1</sup> demostraron que la concentración en el suero del enfermo se correlacionaba negativamente con la tasa de filtrado glomerular (TFG). Desde ese entonces la cistatina C es cada vez más aceptado como un indicador precoz y sensible de la enfermedad renal crónica (ERC).<sup>2-4</sup>

La determinación de la cistatina C sérica estaría indicada ante la sospecha de alguna enfermedad que afecte potencialmente la función renal, y que sea demostrable mediante una disminución de la TFG.<sup>5</sup> El médico también puede solicitar la determinación de la cistatina C cuando los resultados del aclaramiento de creatinina no les son suficientes; o cuando le interesa detectar precozmente el fallo renal presente, sobre todo en los ancianos,<sup>6</sup> y en los casos de insuficiencia hepática,<sup>7</sup> e infección por el virus del VIH/Sida.<sup>8</sup>

La determinación de la cistatina C sérica ofrece información útil sobre todo en la franja de valores de la TFG entre 20 – 60 mL.min<sup>-1</sup> \* 1.73 m<sup>-2</sup> cuando otras ecuaciones predictivas fallan en revelar la afectación ocurrida en el aparato glomerular. La determinación de cistatina C sérica es también efectiva cuando se quiere seguir a lo largo del tiempo una disfunción renal ya conocida. El aumento de la concentración sérica de la cistatina C puede también indicar un riesgo mayor de enfermedad cardiovascular y fallo cardíaco, y accidente vascular cerebral; a la vez que asociarse a una mayor mortalidad.<sup>9-11</sup> Asimismo, la cistatina C sérica es un indicador precoz de la insuficiencia renal aguda (IRA), puesto que las concentraciones séricas de la proteína se elevan entre 36 – 48 horas antes de que lo haga a su vez la creatinina sérica.<sup>12-13</sup>

La cistatina C sérica ha demostrado ser superior a las ecuaciones predictivas basadas en la creatinina sérica en los casos extremos del comportamiento del peso corporal (como la desnutrición energético-nutricional y la obesidad) cuando se afecta la tasa de generación endógena de creatinina; así como en los enfermos que han sufrido amputaciones, o se encuentran aquejados de enfermedades neuromusculares, u obligados a la postración y el encamamiento; por cuanto la concentración sérica de cistatina C no se afecta significativamente por los cambios que ocurren en la masa muscular.<sup>14-19</sup>

Para la interpretación de los cambios que ocurren en el comportamiento de la cistatina C sérica en un paciente especificado es necesario conocer el propio de un sujeto aparentemente sano y que vive sin restricciones en la comunidad. Estos “valores de referencia” (VR) podrían ser universales, o definidos por el propio Servicio hospitalario de Laboratorio Clínico de acuerdo con las características demográficas y nutricionales de las personas que atiende.<sup>20-21</sup> Los VR localmente definidos podrían así integrar información útil sobre las interferencias analíticas debidas al uso de fármacos, la concurrencia en la muestra de ensayo de sustancias exógenas, o las influencias de las comorbilidades que el paciente pueda presentar.

Como quiera que al Servicio de Laboratorio Clínico le compete la producción e interpretación de valores analíticos, le corresponde también el establecimiento de VR como una función tanto de la población a la que presta sus servicios como de la metodología analítica que utiliza en la determinación.<sup>22-23</sup> La determinación de los VR para un analito de interés bioquímico constituye entonces un requisito imprescindible llegada la hora de la implementación de un programa de aseguramiento continuo de la calidad

analítica. Los VR constituyen una herramienta poderosa en la Medicina clínica por cuanto asisten en la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas en los pacientes atendidos.<sup>24</sup>

De acuerdo con el sexo y la edad del sujeto, y la metodología analítica empleada, existe un amplio rango de VR para la cistatina C sérica. Tal como muestra la Tabla 1, y atendiendo a la multiplicidad de VR, la mayoría de los autores recomiendan un único rango de referencia para las edades comprendidas entre 1 – 50 años, mientras que en los niños menores de 1 año de vida, y los mayores de 50 años, los VR de la cistatina C sérica deberían estratificarse según el sexo y la edad.<sup>25-27</sup>

A pesar de las recomendaciones de las instituciones científicas sobre la producción de VR basados en las características biológicas de las poblaciones muestreadas por el Servicio hospitalario de Laboratorio clínico,<sup>28</sup> son pocos los que producen VR para cada magnitud. Las razones para ello serían veces, y muchas de ellas fuera del alcance del laboratorista. Es difícil conseguir voluntarios que sirvan como individuos de referencia, y por lo tanto, se hace necesario recurrir a poblaciones “cautivas” como los donantes de sangre o personal castrense. El elevado costo económico derivado de las determinaciones hechas con vistas a la producción de VR es otro elemento a tener en cuenta. El procesamiento de los datos, y la construcción estadístico-matemática de los VR, podría estar fuera del alcance de la preparación técnico-profesional del personal del Laboratorio clínico. Las soluciones temporales a este problema, como la “importación” de VR producidos en otros entornos solo serían válidas después de validación interna de los mismos.

La producción local de VR trazables hasta las características biológicas de la población a muestrear localmente requiere, por un lado, disponer de sendos procedimientos de medida suficiente de la

calidad analítica a la vez que de obtención, traslado y manipulación de los especímenes normalizados a tenor de la variabilidad premetrológica (léase también preanalítica) de la magnitud en estudio; respectivamente. Por otro lado, el personal de laboratorio debe reconocer las fuentes de variabilidad biológica de la magnitud de interés de forma tal que se definan los criterios de exclusión del sujeto a muestrear y la partición adecuada de los resultados determinados, como paso previo a la construcción del intervalo de referencia (IR).<sup>29-30</sup>

La cistatina C sérica ha sido integrada dentro del panel de análisis del Servicio de Laboratorio Clínico del Hospital Clínicoquirúrgico “Hermanos Ameijeiras” (La Habana, Cuba), pero el comportamiento de esta magnitud en los adultos cubanos no se ha validado. Tampoco se ha encontrado literatura nacional sobre el comportamiento de la cistatina C sérica en una población adulta cubana. La importancia de las aplicaciones clínicas de este analito (expuestas en los párrafos precedentes), junto con el conocimiento de las recomendaciones hechas por la IFCC (del inglés *International Federation of Clinical Chemistry*) y del CLSI (del inglés *Clinical and Laboratory Standards Institute*) para el mejor trabajo del Servicio de Laboratorio Clínico; fundamentan la realización del presente estudio que estuvo orientado a derivar los IR que sean (al menos localmente) válidos para adultos cubanos aparentemente sanos. La identificación oportuna de las alteraciones de las funciones renal, cardiovascular y neurológica se hace necesaria para lograr la instauración a tiempo del tratamiento médico que resulte en beneficios tanto clínicos como económicos.

Tabla 1. Propuestas de valores de referencia para la cistatina C sérica. Los valores de referencia se organizan según la metodología analítica empleada en la determinación, y el sexo y la edad de las poblaciones muestreadas.

Año de publicación	Método de determinación	Población muestreada	Intervalos 95% de referencia propuesto
1997	Turbidimétrico	Adultos: 20 – 50 años	0.70 – 1.21
		Adultos: 50 – 90 años	0.84 – 1.55
1998	Turbidimétrico	Lactantes: < 3 meses	1.51 – 2.40
		Lactantes: 4 – 12 meses	1.05 – 1.52
		Preescolares: 1 – 3 años	0.70 – 1.38
		Escolares y adolescentes: 4 – 16 años	0.70 – 1.38
1998	Nefelométrico	Adultos: Cualquier edad	0.37 – 1.22
1998	Turbidimétrico	Adultos: 20 – 65 años	0.54 – 1.21
2000	Turbidimétrico	Niños prematuros	1.34 – 2.57
		Recién nacidos: 1 – 8 días de nacido	1.36 – 2.23
		Niños: < 1 año de vida	0.75 – 1.87
		Niños: 1 – 3 años de edad	0.68 – 1.60
		Niños y adolescentes: 3 – 16 años	0.51 – 1.31
2000	Nefelométrico	Lactantes: < 3 meses de edad	0.81 – 2.32
		Lactantes: 4 – 12 meses de edad	0.65 – 4.49
		Niños: 1 – 3 años	0.50 – 1.25
		Niños y adolescentes: 4 – 16 años	0.49 – 1.29
		Adultos: Edades < 50 años	0.53 – 0.92
		Adultos: Edades > 50 años	0.58 – 1.02
2001	Nefelométrico	Adultos: Hombres	0.48 – 0.98
		Adultos: Mujeres	0.51 – 0.94
2018	Turbidimétrico <sup>¶</sup>	Adultos: Cualquier edad	0.59 – 1.03

<sup>¶</sup>Método analítico empleado en el presente estudio. Proveedor: CPM<sup>®</sup> (Italia).

Fuente: Elaboración propia de la autora.

## MATERIAL Y MÉTODO

**Locación del estudio:** Servicio de Laboratorio Clínico, Hospital Clínico quirúrgico “Hermanos Ameijeiras” (La Habana, Cuba).

**Diseño de estudio:** Transversal, analítico.

**Serie de estudio:** La serie de estudio estuvo conformada por los adultos de cualquier sexo, con edades entre 20 – 50 años, aparentemente sanos, que acudieron como donantes de sangre al Banco hospitalario de Sangre entre el Primero de Enero del 2016 y el 31 de Diciembre del

2016 (ambos inclusive), tiempo durante el cual se condujo la presente investigación.

También fueron elegibles para ser incluidos en la presente serie de estudio aquellos adultos que compartieron los criterios definidos de inclusión, y que acudieron al Banco de Sangre del Hospital Militar Central “Carlos Juan Finlay” (La Habana, Cuba) durante la ventana de conducción de la investigación.

Se consideraron los siguientes criterios de selección: adultos supuestamente sanos, de uno u otro sexo, con edades comprendidas entre 18 – 50 años; que calificaron como donantes de sangre según

los estándares del Banco hospitalario de Sangre; sin historia de tabaquismo, alcoholismo ni consumo de medicamentos y/o drogas y/o estupefacientes; sin antecedentes de enfermedad renal crónica, trastornos de la función tiroidea; ni enfermedad crónica no transmisible. Se aseguró, además, que los sujetos mostraran un peso corporal adecuado para la talla. En el caso de las mujeres, se comprobó que no estuvieran embarazadas mediante el interrogatorio orientado a la declaración de la fecha de la última menstruación. Por complementariedad, se excluyeron de la serie de estudio los sujetos con edades > 50 años, las mujeres embarazadas, y los sujetos con un peso no adecuado para la talla. También se excluyeron los sujetos con valores séricos de creatinina mayores que el punto de corte empleado en la definición de la normalidad biológica. Igualmente, se excluyeron los sujetos con valores aberrantes de cistatina C sérica (entendidos como aquellos situados a más de 3 desviaciones estándar del valor central de la distribución en cualquier sentido).

Los sujetos eventualmente incluidos en la serie de estudio fueron examinados físicamente como parte de los procedimientos establecidos por el Banco hospitalario de Sangre por su condición de donantes. Los datos demográficos, físicos y clínicos fueron asentados en los formularios prescritos por el diseño de la investigación. La edad del sujeto se dicotomizó ulteriormente como sigue: < 20 años; Entre 20 – 29 años; Entre 30 – 39 años; y Entre 40 – 50 años; respectivamente.

**Consideraciones éticas:** Los sujetos fueron incluidos en la serie de estudio solo si consintieron en ello. Antes de la inclusión en el estudio, a cada sujeto elegible se le explicó la naturaleza de la presente investigación, y la finalidad de la misma. Se asentó por escrito el consentimiento informado del sujeto acerca de la libre participación del mismo en el estudio. Se

tuvieron en cuenta los principios básicos del trato ético y respetuoso, de preservación de la autonomía de las personas, y de la beneficencia en el tratamiento y gestión de los datos colectados en el transcurso de la investigación, y sobre todo, de observación de la justicia. Por consiguiente, fueron excluidos de la serie de estudio aquellos sujetos que no consintieron en participar en el estudio, sin que ello representara merma en la calidad de la atención médica y hospitalaria que debían recibir.

**Determinación de la cistatina C sérica:** A cada sujeto se le retiró una muestra de sangre venosa después de punción antecubital (de preferencia) tras una noche en ayunas siguiendo los procedimientos establecidos por las “Buenas prácticas” y las normas bioseguridad del Servicio hospitalario de Laboratorio Clínico. La muestra de sangre fue depositada en un tubo de 12 x 75 mm, sin anticoagulante, y se dejó reposar a temperatura ambiente hasta la retracción del coágulo. Logrado esto, el tubo fue centrifugado, y el suero recuperado por aspiración y congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la determinación de la cistatina C sérica. Se aseguró en cualquier caso que el suero no permaneciera congelado por más de 2 meses.

En el día de la determinación, las muestras de suero fueron descongeladas a temperatura ambiente, y homogeneizadas convenientemente. La cistatina C sérica ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) se determinó mediante un método turbidimétrico que emplea anticuerpos inmovilizados sobre partículas de látex (CPM<sup>®</sup>, Italia) implementado en un analizador Inlab<sup>®</sup> 240 (CPM<sup>®</sup>, Italia). Los valores determinados de cistatina C sérica fueron anotados en los formularios correspondientes.

La imprecisión analítica de la determinación de la cistatina C sérica se comprobó mediante el ensayo en cada corrida de sendos materiales de control ajustados a concentraciones convenientes: *Control #1*: Valor asignado:  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC

95%:  $0.8 - 1.2 \text{ mg.L}^{-1}$ ): 1.7%; y *Control #2*: Valor asignado:  $3.8 \text{ mg.L}^{-1}$  (IC 95%:  $3.04 - 4.56 \text{ mg.L}^{-1}$ ): 3.7%; respectivamente. La imprecisión analítica local fue menor del 5.0%.

**Determinación de la creatinina sérica:** El contenido de creatinina sérica de las muestras fue determinado para desechar aquellos sujetos con valores elevados del analito que sugirieran afectación de la función renal. La determinación de creatinina sérica se realizó mediante un método enzimático (Creatinina PAP<sup>®</sup>, CPM<sup>®</sup>, Italia) implementado en el analizador Inlab<sup>®</sup> 240 (CPM<sup>®</sup>, Italia). Los puntos de corte para la exclusión del sujeto fueron como sigue: *Hombres*:  $> 115 \mu\text{mol.L}^{-1}$  vs. *Mujeres*:  $> 97 \mu\text{mol.L}^{-1}$ .

**Procesamiento de los datos y análisis estadístico-matemático de los resultados:** Los datos colectados en los sujetos fueron anotados en los formularios de la investigación, e ingresados en una hoja de cálculo electrónico construida sobre EXCEL para WINDOWS de OFFICE (Microsoft, Redmon, Estados Unidos).

Los datos fueron ulteriormente reducidos hasta estadígrafos de locación (media) y dispersión (desviación estándar) de acuerdo con el tipo de la variable. El programa EPIDAT<sup>®</sup> versión 3.0 (Consejería de Sanidad, Servicio Gallego de Salud, Junta de Galicia) se empleó en el procesamiento de los datos.

Los IR para la cistatina C sérica se derivaron mediante métodos paramétricos asumiendo la normalidad (léase también la gaussianidad) de la distribución de la serie de valores. Para ello, se condujo el test de verificación de la normalidad de acuerdo con Kolmogorov-Smirnov e incluyendo la corrección de Lilliefors.<sup>31-32</sup> Como se enunció en párrafos anteriores, los valores situados a más de 3 desviaciones estándar del centro de gravedad de la distribución empírica fueron excluidos como “aberrantes”. Los valores conservados de la

cistatina C sérica se emplearon en la construcción de los IR al 95% como la media  $\pm 2$  desviaciones estándar. Adicionalmente, se construyeron IR al 95% según el sexo y la edad del sujeto.

Anticipando la no-gaussianidad de la distribución empírica de los valores de cistatina C sérica, se administraron las transformaciones logarítmica y de Box-Cox a los valores originarios.<sup>33-34</sup> Los IR al 95% derivados mediante la anti-logaritmación de los valores transformados se compararon con los construidos con los valores “naturales”.

Por último, se construyeron IR (seminconservativos) al 95% como los percentiles 3 y 97 de la serie ordenada de valores “naturales” (léase también sin transformar) de la cistatina C sérica.<sup>35</sup>

Finalmente, los IR derivados localmente se compararon con los suministrados por el proveedor del estuche de reactivos empleados en la determinación de la cistatina C sérica. En todas las pruebas estadísticas realizadas se utilizó un nivel de significación del 5% y una confiabilidad del 95%.<sup>36-37</sup> Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas cuando el valor estimado de  $\alpha$  fue  $< 0.05$ .

## RESULTADOS

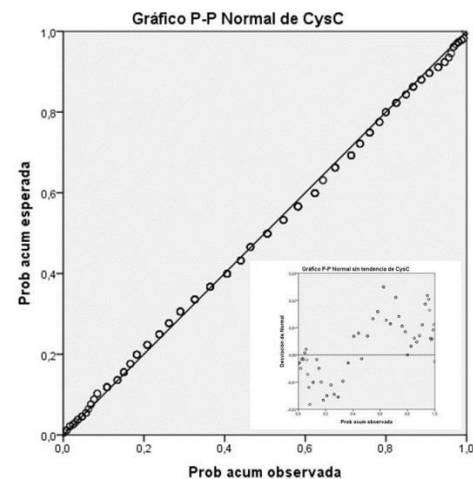
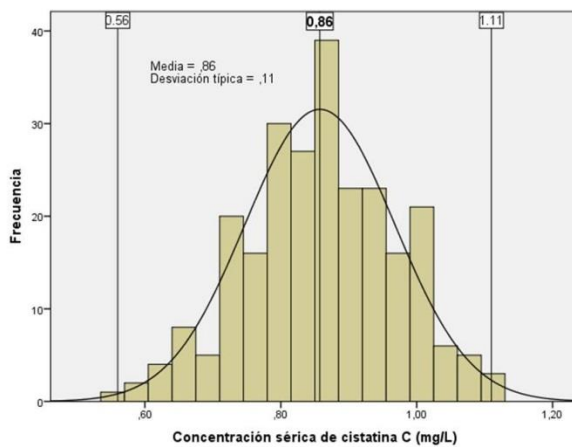
La serie de estudio quedó compuesta finalmente por 250 sujetos, repartidos equitativamente entre hombres y mujeres. La edad promedio fue de  $27.9 \pm 10.1$  años. La distribución por edades fue como sigue: *< 20 años*: 32.8%; *Entre 20 – 29 años*: 28.0%; *Entre 30 – 39 años*: 24.8%; y *Entre 40 – 50 años*: 14.4%; respectivamente.

La Figura 1 muestra el comportamiento de la cistatina C sérica en la serie de estudio. Los valores promedio de la cistatina C sérica en la serie de estudio fueron de  $0.86 \pm 0.11 \text{ mg.L}^{-1}$ . Se comprobó la gaussianidad de la distribución de los valores del analito ( $Z_{\text{Kolmogorov-Smirnov}} = 0.664$ ;  $p > 0.05$ ; test de Kolmogorov-Smirnov para el

ajuste de una distribución normal a una distribución empírica). Las cotas del intervalo al 99% para la cistatina C sérica fueron como sigue: *Percentil 1.0* (equivalente a dos desviaciones estándar hacia la izquierda):  $0.56 \text{ mg.L}^{-1}$  vs. *Percentil 99.0* (equivalente a tres desviaciones estándar hacia la derecha):  $1.11 \text{ mg.L}^{-1}$ ; respectivamente. Todos los valores obtenidos quedaron incluidos dentro de las 3 desviaciones estándar.

su parte, los valores promedio de la cistatina C sérica disminuyeron con la edad del sujeto: *< 20 años*:  $0.88 \pm 0.11 \text{ mg.L}^{-1}$ ; *Entre 20 – 29 años*:  $0.86 \pm 0.11 \text{ mg.L}^{-1}$ ; *Entre 30 – 39 años*:  $0.84 \pm 0.11 \text{ mg.L}^{-1}$ ; y *Entre 40 – 50 años*:  $0.83 \pm 0.11 \text{ mg.L}^{-1}$ ; respectivamente ( $\chi^2 = 9.155$ ; test de Kruskal-Wallis para las diferencias entre  $k \geq 2$  medias independientes;  $p < 0.05$ ). No obstante, se comprobó que la distribución empírica de los valores de la cistatina C sérica siguió una

Figura 1. Comportamiento de la distribución empírica de los valores naturales (no transformados) de cistatina C sérica determinados en adultos donantes voluntarios de sangre. *Izquierda*: Histograma de frecuencias. La línea continua representa la forma de la distribución gaussiana estimada para la muestra. Los números encerrados dentro de los cuadros se corresponden con las cotas a 3 desviaciones estándar del centro de gravedad de la distribución. *Derecha*: Gráfico P-P para la verificación de la gaussianidad de la distribución empírica de valores. Recuadro: Gráfico con los residuales (léase también diferencias) entre la probabilidad acumulada observada de los valores y la esperada según la distribución normal.

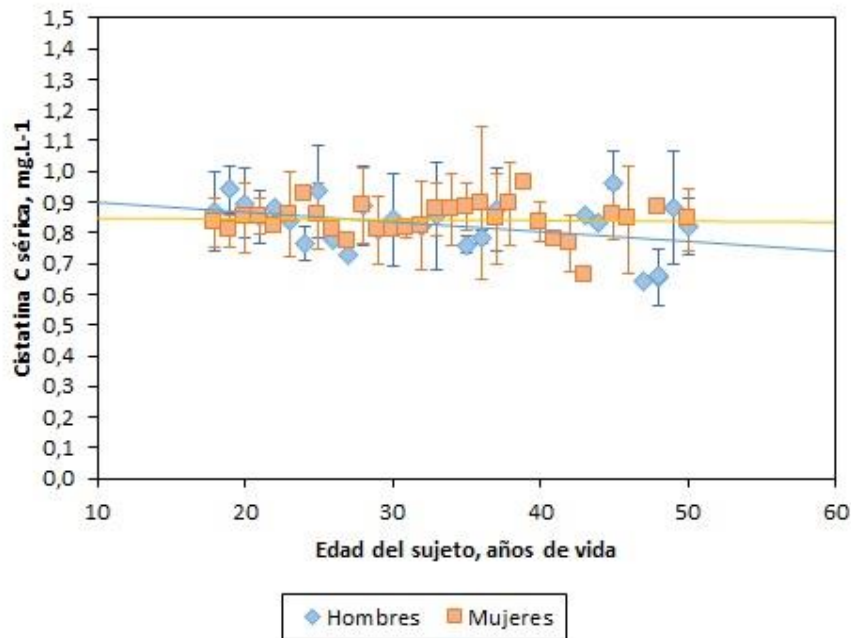


Fuente: Registros del estudio.  
Tamaño de la serie de estudio: 250.

El sexo del sujeto influyó marginalmente sobre el comportamiento de la cistatina C sérica: *Hombres*:  $0.87 \pm 0.12 \text{ mg.L}^{-1}$  vs. *Mujeres*:  $0.85 \pm 0.12 \text{ mg.L}^{-1}$  ( $\Delta = 0.02$ ; test t-Student = 2.00;  $p = 0.0465$ ). Por

distribución normal en cada subgrupo etario (datos no mostrados).

Figura 2. Influencia conjunta del sexo y la edad del sujeto en el comportamiento de la cistatina C sérica. Se presentan los valores promedio del analito para cada edad, junto con la desviación estándar asociada, distribuidos según el sexo del sujeto. Las líneas continuas se corresponden con las ecuaciones de regresión lineal Cistatina C sérica ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) =  $\alpha + \beta \cdot \text{Edad}$  (años), con  $\alpha$ ,  $\beta$ : parámetros de la ecuación. Para más detalles: Consulte el texto del presente artículo.



Fuente: Registros del estudio.  
Tamaño de la serie de estudio: 250.

La Figura 2 muestra el comportamiento de la cistatina C sérica según la influencia conjunta del sexo y la edad del sujeto, estimado mediante un modelo de regresión lineal que utilizó los valores promedio del analito para cada edad. Se aprecia que, para cualquier sexo, los valores (promedio) de la cistatina C sérica fueron (esencialmente) constantes en el rango examinado de edades. Las correspondientes ecuaciones de regresión lineal fueron como sigue: *Hombres*: Cistatina C sérica,  $\text{mg.L}^{-1} = -0.003 + 0.913 \cdot \text{Edad}$  ( $r^2 = 0.107$ ;  $p > 0.05$ ) vs. *Mujeres*: Cistatina C sérica,  $\text{mg.L}^{-1} = -0.0003 + 0.850 \cdot \text{Edad}$  ( $r^2 = 0.0018$ ;  $p >$

$0.05$ ); respectivamente. A modo de comparación, la ecuación de regresión lineal para el efecto aislado de la edad del sujeto sobre el analito fue como sigue: Cistatina C sérica,  $\text{mg.L}^{-1} = -0.002 + 0.898 \cdot \text{Edad}$  ( $r^2 = 0.0905$ ;  $p > 0.05$ ).

Finalmente, la Tabla 2 muestra los IR al 95% derivados de la modelación gaussiana de la distribución empírica de los valores originarios de la cistatina C sérica. De modo general, los IR al 95% derivados en este estudio fueron más “anchos” (al menos numéricamente) que el propuesto por el proveedor del estuche de reactivos empleado en la determinación del analito.



Tabla 2. Propuesta de intervalos de referencia al 95% para la cistatina C sérica en adultos cubanos de uno u otro sexo reconocidos como donantes voluntarios de sangre. Los resultados se muestran en  $\text{mg.L}^{-1}$ . Los intervalos de referencia se obtuvieron mediante métodos paramétricos a partir de la distribución empírica obtenida, y se presentan de acuerdo con el sexo y la edad del sujeto. Para más detalles: Consulte el texto del presente ensayo.

Cualquier sexo, cualquier edad	0.62 – 1.09
<i>Sexo</i>	
• Masculino	0.64 – 1.12
• Femenino	0.64 – 1.04
<i>Edad</i>	
• < 20 años	0.66 – 1.10
• 20 – 29 años	0.64 – 1.08
• 30 – 39 años	0.62 – 1.06
• 40 – 50 años	0.61 – 1.05
<i>Hombres</i>	
• < 20 años	0.69 – 1.13
• 20 – 29 años	0.65 – 1.09
• 30 – 39 años	0.57 – 1.05
• 40 – 50 años	0.58 – 1.10
<i>Mujeres</i>	
• < 20 años	0.69 – 0.97
• 20 – 29 años	0.63 – 1.07
• 30 – 39 años	0.57 – 1.02
• 40 – 50 años	0.60 – 1.04

Fuente: Registros del estudio.  
Tamaño de la serie de estudio: 250.

En este trabajo se comprobó la efectividad de la transformación de los valores originarios de la cistatina C sérica como forma de “forzar” a la distribución empírica obtenida a que siga una distribución gaussiana antes de proceder a la construcción de los correspondientes IR. Con tal objetivo, se ensayaron la logaritmación de los valores y la transformación Box-Cox, respectivamente. Las distribuciones resultantes también siguieron una distribución gaussiana:  $Z_{\text{Kolmogorov-Smirnov}}$ : *Transformación logarítmica*: 0.794 ( $p > 0.05$ ) vs. *Transformación Box-Cox*: 0.754 ( $p > 0.05$ ). Los IR al 95% construidos con los valores transformados fueron indistinguibles de los obtenidos con los valores originarios (léase

también no transformados): Para cualquier y cualquier edad: *Valores originarios*: 0.62 – 1.09  $\text{mg.L}^{-1}$ ; *Transformación logarítmica*: 0.65 – 1.12  $\text{mg.L}^{-1}$ ; y *Transformación Box-Cox*: 0.65 – 1.12  $\text{mg.L}^{-1}$ ; respectivamente. Igualmente, los nuevos IR fueron más “anchos” que el declarado por el proveedor del estuche de reactivos.

Asimismo, se construyeron IR al 95% no paramétricos para la cistatina C sérica a partir de los percentiles de la serie ordenada de los valores originarios. El IR (semiconservativo) al 95% para la cistatina C sérica quedó delimitado dentro de las cotas siguientes: *Percentil 2.8*: 0.64  $\text{mg.L}^{-1}$  vs. *Percentil 97.5*: 1.08  $\text{mg.L}^{-1}$ . De forma similar a lo anotado más arriba, el IR al 95%

no paramétrico fue más “ancho” que el declarado por el proveedor.

## DISCUSIÓN

Con el paso de los años, el tratamiento del problema de los valores de referencia de los analitos de interés biomédico ha cobrado interés hasta el punto en que hoy se cuenta con varios documentos tanto nacionales como internacionales que contienen recomendaciones actualizadas sobre la construcción y validación de IR, a la vez que se ha constituido una teoría de los valores de referencia que puede ser vista como uno de los pocos cuerpos doctrinarios propietarios de las ciencias del Laboratorio clínico.<sup>38</sup>

Todas las recomendaciones emitidas hasta la fecha se organizan alrededor de dos lemas (explícitos o implícitos) comunes: el primero, que cada Servicio de Laboratorio clínico debe producir sus propios valores de referencia; y el segundo, que cada médico clínico debe interpretar los datos emitidos por el Servicio de Laboratorio clínico según los IR establecidos por el servicio. No obstante, la realidad es otra. Se ha constatado una baja adherencia a las recomendaciones existentes, aunque en ello probablemente influyan las dificultades tecnológicas y económicas que conlleva la producción local de valores de referencia.<sup>39</sup>

La producción de valores de referencia propios de la población atendida en una institución especificada de salud es responsabilidad del Servicio local de Laboratorio clínico. Para ello, el servicio debe seguir las recomendaciones hechas por los grupos nacionales de expertos, en consonancia con las organizaciones suprarregionales como la IFCC. La adopción de pautas únicas de producción de valores de referencia permitiría entonces armonizar diferentes criterios teóricos y prácticos, a la vez que facilitar el análisis de la variabilidad biológica que pueda existir (naturalmente) entre sujetos y poblaciones que viven en

diferentes latitudes geográficas. Por lo anteriormente dicho, los valores tenidos tradicionalmente como “normales” estarían siempre sujetos a fuentes de variabilidad biológica individual y colectiva, y sería entonces necesario determinar los factores individuales y poblacionales que afecten el comportamiento “natural” del analito de interés para incorporarlos dentro de la definición del IR.<sup>40-41</sup>

Las recomendaciones proponen también que los Servicios de Laboratorio clínico revisen periódicamente los IR construidos y puestos en uso. Si el Servicio tiene razones para creer que un IR ya definido y en uso no es más apropiado para la población-diana, entonces debe conducir las acciones necesarias para la corrección y actualización.

A pesar del interés que ha cobrado la cistatina C sérica como un indicador novedoso de la función glomerular, existe comparativamente poca información sobre el comportamiento biológico de este analito en adultos sanos. Muchos trabajos se refieren a las edades pediátricas, donde la cistatina C sérica se ha empleado más profusamente, y datan de 10 (o más) años de publicados.<sup>42-44</sup>

La mayoría de los estudios consultados demuestra que pueden existir diferencias menores en las concentraciones de cistatina C *de-sexo-a-sexo*, con los hombres mostrando valores del analito numéricamente mayores, pero ello no justificaría la construcción de IR dependientes del sexo. No obstante, se han publicado IR por separado para hombres y mujeres adultos.<sup>45</sup> En lo que respecta a este trabajo, los IR dependientes del sexo fueron indistinguibles de los propuestos para un sexo u otro.

La edad del sujeto pudiera tener un efecto dual sobre el comportamiento de la cistatina C sérica.<sup>46</sup> Los valores de la cistatina C sérica serían mayores en las edades pediátricas, menores en los adultos jóvenes y maduros, y nuevamente elevados

después de los 50 años (en este último caso debido probablemente al “envejecimiento” de la función renal que ocurre en los adultos mayores y los ancianos). Este estudio comprobó que los valores promedio de la cistatina C sérica en las edades comprendidas entre 18 y 50 años tienden a disminuir, pero el cambio acumulado fue tan “pequeño” (de apenas 5 centésimas) que probablemente no tenga interés clínico; y responda más bien a factores analíticos (entre ellos, y por citar uno solo, la trazabilidad de las soluciones empleadas como calibrador del ensayo hasta un estándar primario). Un análisis independiente completado después del ajuste de un modelo de regresión lineal reveló que la cistatina C sérica tiende a permanecer constante en el rango examinado de edades. En consecuencia, no serían necesarios IR específicos para la edad del sujeto, al menos durante la juventud y la adultez. Aun así, se construyeron IR al 95% para los rangos etarios predefinidos en el diseño experimental, y se comprobó además que eran similares a los propuestos para cualquier sexo y cualquier edad.

Se han identificado varias prácticas que los servicios de Laboratorio clínico adoptan localmente para la definición de valores de referencia en el ejercicio diagnóstico cotidiano ante la imposibilidad de satisfacer las recomendaciones IFCC/CLIS y de otros cuerpos de profesionales.<sup>47-48</sup> La primera opción sería la producción propia de valores de referencia biológicos y la estimación del IR correspondiente (de acuerdo con la IFCC), incorporando las fuentes de la imprecisión *día-a-día* y el sesgo propio del sistema analítico empleado en la determinación. La segunda opción es la producción de valores de referencia biológicos comunes mediante un esfuerzo multicéntrico conducido simultáneamente por los Servicios de Laboratorios clínico que operan en la misma región, y que usan el mismo sistema

analítico. La tercera opción se correspondería con la adopción, tras su validación local, *in-house*, de un IR biológico que haya sido estimado previamente por un Servicio de Laboratorio clínico (o varios que hayan seguido un diseño multicéntrico) siguiendo las recomendaciones de expertos.

La cuarta solución sería la adopción, sin validación previa, de un IR biológico estimado anteriormente por otro Servicio que haya seguido las recomendaciones IFCC/CLIS, siempre y cuando las poblaciones que los dos servicios muestran sean parecidas entre sí, y que las propiedades metrológicas de los sistemas analíticos de determinación sean comparables.

Todavía quedaría una quinta opción, pero ésta debería evitarse, y que sería la adopción, sin validación previa, de un IR biológico que fue reportado en la literatura pero que no se acompaña de la descripción de la población de referencia, ni de las propiedades metrológicas del sistema de determinación.<sup>49</sup> Desafortunadamente, ésta es la opción más extendida entre los servicios de Laboratorio clínico que han sido encuestados con estos motivos. De forma general, muchos servicios de Laboratorio clínico utilizan en el ejercicio diagnóstico diario los IR que se incluyen en la literatura acompañante de los estuches de reactivos, pero ello oscurece el hecho de la heterogeneidad demográfica y biológica de las poblaciones muestreadas con el método analítico, así como de la variabilidad de las propiedades analíticas y operacionales de los sistemas de determinación del analito. Existen reportes que señalan la variabilidad de los IR suministrados por los proveedores de distintas metodologías analíticas, y cómo ésta variabilidad puede ser trazada hasta (entre otros factores) el sistema de calibración incorporado dentro de la determinación.

Lo anteriormente expuesto explicaría las diferencias encontradas entre los IR

obtenidos localmente y los propuestos por el proveedor del estuche de reactivos, siendo los construidos en el Servicio más “anchos” que los propuestos comercialmente. Tales resultados son una justificación adicional de que cada Servicio de Laboratorio clínico debe establecer sus propios valores de referencia, en atención de las propiedades biológicas y demográficas de la población-diana, y las características técnicas y operacionales de los sistemas analíticos. Se sugiere entonces que los IR derivados en esta investigación reemplacen los incluidos con el estuche de reactivos que se emplean en la determinación de la cistatina C sérica a los fines del estudio y diagnóstico de la función renal en la población atendida en el Hospital “Hermanos Ameijeiras”.

En este estudio se aseguró siempre la gaussianidad de la distribución empírica de los valores obtenidos de la cistatina C sérica. No obstante, si el caso no fuera, la gaussianidad de la distribución empírica se puede “forzar” mediante una transformación apropiada del valor originario. La transformación logarítmica es una de las más populares en este sentido. Por su parte, la transformación Box-Cox puede ser vista como integrante de una familia de funciones empleadas con este propósito,<sup>50</sup> y de las cuales la transformación logarítmica sería un caso particular. El estudio demostró que la transformación empleada no mejoraba apreciablemente las características del IR construido. Sin embargo, estas transformaciones podrían ser útiles cuando la serie originaria de valores se particiona según un predictor u otro, y en consecuencia, se tiene un efectivo muestral menor y/o no se puede asegurar la gaussianidad de la nueva distribución así obtenida.

En ocasiones se prefiere abandonar el dogma de la gaussianidad de la distribución de los valores del analito de interés en favor de una estrategia general de construcción de los IR. En este caso, el uso de los percentiles de la serie ordenada de los valores obtenidos

podría “captar” mejor la información incluida dentro de la distribución obtenida empíricamente. El IR (semiconservativo) al 95% para la cistatina C sérica quedó delimitado dentro de las cotas siguientes: *Percentil 2.8*: 0.64 mg.L<sup>-1</sup> vs. *Percentil 97.5*: 1.08 mg.L<sup>-1</sup>. Sin embargo, la efectividad de la solución “no paramétrica” de construcción de los IR para un analito pasa por el número de valores que se tiene para la administración de la misma.<sup>51</sup> En virtud de ello, no se intentó obtener los IR empíricos al 95% dependientes del sexo y/o la edad debido a que, con cada partición hecha según el predictor correspondiente, el número de casos se hacía insuficiente para asegurar la exactitud del resultado final. Igualmente, la efectividad de las estrategias no paramétricas de construcción de los IR depende también de la ocurrencia de observaciones coincidentes, las que introducen redundancias que suelen afectar la exactitud de las cotas deseadas del IR.

## CONCLUSIONES

El comportamiento de la cistatina C sérica en la población estudiada fue independiente del sexo y la edad, lo que justificó la construcción de IR al 95% universales para cualquier sexo y cualquier edad. Los IR al 95% así construidos fueron más anchos que los incluidos en el estuche de reactivos empleado en la determinación del analito. Estos resultados afianzan la necesidad de disponer en cada Servicio de Laboratorio clínico valores de referencia acordes con la población-diana y el sistema metrológico, según establecen las recomendaciones IFCC/CLSI.

### *Futuras extensiones*

Se recomienda que los servicios de Laboratorio Clínico que determinan la cistatina C sérica realicen estudios similares al reseñado en este trabajo a los fines de

estimar con mejor fidelidad los valores de cistatina C propios de la población cubana. Asimismo, se recomienda investigar el comportamiento de la cistatina C sérica en los adultos con edades > 50 años.

Se pueden obtener IR “suavizados” (esto es: no afectados por las discontinuidades implícitas en las particiones hechas *post-hoc* según el sexo y/o la edad) a partir de los intervalos de predicción (IP) al  $100(1 - \alpha)$  asociados a la ecuación de regresión lineal que vincula la cistatina C sérica con el sexo y la edad del sujeto. Esta solución ha sido aplicada previamente en otros escenarios para la derivación de IR al 95% para la creatinina sérica en niños y adolescentes cubanos,<sup>52</sup> la excreción urinaria de creatinina en los distintos segmentos de la población cubana,<sup>53-54</sup> y las características espirométricas de los trabajadores cubanos.<sup>55</sup>

## AGRADECIMIENTOS

Dr. Sergio Santana Porbén, Editor-en-Jefe de la RCAN Revista Cubana de Alimentación y Nutrición, por la ayuda prestada en la preparación de este trabajo.

## SUMMARY

**Rationale:** Serum C cystatin has become a subject of increasing interest as an early and sensitive marker of chronic kidney disease (CKD). Serum C cystatin might also indicate a higher risk of acute vascular accidents, and thus, an augmented mortality. It is then necessary to determine the expected behavior of this analyte with the dual purpose of ensuring the clinical diagnosis, on one hand; and to establish adequate guidelines of analytical guidelines, on the other. **Objective:** To establish the reference intervals (RI) for serum C cystatin in supposedly healthy Cuban adults. **Study design:** Cross-sectional, analytical. **Study location:** Clinical Laboratory Service, “Hermanos Ameijeiras” Clinical Surgical Hospital (Havana city, Cuba). **Study serie:** Two-hundred and fifty blood-donors adults (Males: 50.0%; Average age:  $27.9 \pm 10.1$

years). **Methods:** Serum C cystatin was determined in samples of venous blood by means of an immunoturbidimetric method (CPM<sup>®</sup>, Italy). Influence of the adult's sex and age upon determined values was assessed. RI were estimated in such way they encompassed 95% of the sampled subjects. RI thus obtained were compared with those ones proposed by the provider of the analytical method. **Results:** Serum C cystatin were marginally higher in men: Males:  $0.875 \pm 0.12 \text{ mg.L}^{-1}$  vs. Women:  $0.845 \pm 0.12 \text{ mg.L}^{-1}$  ( $\Delta = + 0.030$ ;  $p = 0.0465$ ). Subject's age did not influence upon determined serum C cystatin ( $r^2 = 0.020$ ;  $p > 0.05$ ). Parametric 95% RI boundaries for serum C cystatin were as follows:  $[0.62 - 1.10 \text{ mg.L}^{-1}]$ . Box-Cox transformation ( $\lambda = 0.122$  vs.  $\lambda = 1.00$ ) did not improve estimated RI boundaries. Semiconservative [3, 97] percentiles of the analyte's serie of determined values behaved as follows:  $[0.63 - 1.08 \text{ mg.L}^{-1}]$ . Locally estimated RI were wider than those ones provided by the manufacturer. **Conclusions:** In the absence of reference values of population reach, the construction of local RI after the analysis of values obtained from supposedly healthy subjects following validated protocols is recommended. **Darias Rivera D.** Reference intervals for serum C cystatin in the Cuban adult population. RCAN Rev Cubana Aliment Nutr 2019;29(2):542-557. RNPS: 2221. ISSN: 1561-2929.

**Subject headings:** Reference intervals / Percentiles / Box-Cox transformation / Serum C Cystatin.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate. Scand J Clin Lab Invest 1985;45:97-101.
2. Martínez Bru C. Cistatina C. Propiedades y utilidad clínica. Ed Cont Lab Clín 2006;9:36-41.
3. García MF, Coll E, Pedret SV, Guitarte CB, Fernández MCC, Rius MC; et al. Cistatina C en la evaluación de la

- función renal. Rev Lab Clín 2011;4: 50-62.
4. Fraga Rodríguez G. La determinación de los valores plasmáticos de cistatina C como método de valoración de la función renal en Pediatría. An Pediatr Contin 2012;10:95-100.
  5. Inker LA. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. New Engl J Med 2012;367: 20-9.
  6. Fliser D, Ritz E. Serum cystatin C concentration as a marker of renal dysfunction in the elderly. Am J Kid Dis 2001;37:79-83.
  7. Takeuchi M, Fukuda Y, Nakano I, Katano Y, Hayakawa T. Elevation of serum cystatin C concentrations in patients with chronic liver disease. Eur J Gastroenterol Hepatol 2001;13: 951-5.
  8. Overton ET, Patel P, Mondy K, Bush T, Conley L, Rhame F; *et al.*; for the SUN Study Investigators Joint Task Force. Cystatin C and baseline renal function among HIV-infected persons in the SUN Study. AIDS Res Human Retrovir 2012; 28:148-55.
  9. Ix JH, Shlipak MG, Chertow GM, Whooley MA. Association of Cystatin C with mortality, cardiovascular events, and incident heart failure among persons with coronary heart disease: Data from the Heart and Soul Study. Circulation 2007;115:173-9.
  10. Rodilla E, Costa JA, Pérez Lahiguera F, González C, Miralles A, Pascual JM. Relación del cistatina C con otros parámetros de riesgo vascular en pacientes con hipertensión arterial. Medicina Clínica [Barcelona] 2008;130: 6-9.
  11. García Sánchez N, León Álvarez JL. Sobre el comportamiento de biomarcadores de la arteriosclerosis en la hipertensión arterial. RCAN Rev Cubana Aliment Nutr 2016;26:252-74.
  12. Zhang Z, Lu B, Sheng X, Jin N. Cystatin C in prediction of acute kidney injury: A systemic review and meta-analysis. Am J Kidney Dis 2012;59:590-2.
  13. Seijas M, Lorente JA, Baccino C. Definición y biomarcadores de daño renal agudo: Nuevas perspectivas. Medicina Intensiva [Barcelona] 2014;38:376-85. Disponible en: <http://doi:10.1016/j.medin.2013.09.001>. Fecha de última actualización: 14 de Febrero del 2018.
  14. Grubb A, Bjork J, Lindstrom V, Sterner G, Bondesson P, Nyman U. A cystatin C-based formula without anthropometric variables estimates glomerular filtration rate better than creatinine clearance using the Cockcroft-Gault formula. Scand J Clin Lab Invest 2005;65:153-62.
  15. Grubb A, Nyman U, Bjork J, Lindstrom V, Rippe B, Sterner G; *et al.* Simple cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the Modification of Diet in Renal Disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children. Clin Chem 2005;51:1420-31.
  16. Borges RL, Hirota AH, Quinto BM, Ribeiro AB, Zanella MT, Batista MC. Is cystatin C a useful marker in the detection of diabetic kidney disease? Nephron Clin Pract 2010; 114(2):c127-c134.
  17. Malheiro J, Fonseca I, Martins LS, Almeida M, Pedroso S, Dias L; *et al.* A comparison between serum creatinine and cystatin C-based equations for estimation of graft function. Transplant Proc 2010;44:2352-6.
  18. Sharma AP, Kathiravelu A, Nadarajah R, Yasin A, Filler G. Body mass does not have a clinically relevant effect on cystatin C eGFR in children. Nephrol Dial Transplant 2009;24:470-4.
  19. Meeusen JW, Rule AD, Voskoboev N, Baumann NA, Lieske JC. Performance

- of cystatin C—and creatinine-based estimated glomerular filtration rate equations depends on patient characteristics. *Clin Chem* 2015;61:1265-72.
20. Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals: An update. *Clin Chim Acta* 2003;334:5-23.
  21. Solberg HE. The IFCC recommendation on estimation of reference intervals. The RefVal program. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:710-4.
  22. Horowitz GL. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; proposed guideline. CLSI document C28-P3. Third Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne [Pensylvania]: 2008.
  23. Cruz C. Valores de referencia. En: Laboratorio Clínico [Editores: Cruz C, Suardíaz J]. Editorial Ciencias Médicas. La Habana: 2004. pp. 61-65.
  24. Aytakin M, Emerk K. Accurate reference intervals are required for accurate diagnosis and monitoring of patients. *EJIFCC* 2008;19(2):137-137. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4975208/>. Fecha de última visita: 16 de Febrero del 2018.
  25. Reinhard M, Erlandsen EJ, Randers E. Biological variation of cystatin C and creatinine. *Scand J Clin Lab Invest* 2009;69:831-6.
  26. Galteau M, Guyon M, Gueguen R, Siest G. Determination of serum cystatin C: Biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med*. 2001;39:850-7.
  27. Croda-Todd MT, Soto-Montano XJ, Hernández-Cancino PA, Juárez-Aguilar E. Adult cystatin C reference intervals determined by nephelometric immunoassay. *Clin. Biochem* 2007;40:1084-7.
  28. Miller WG, Myers GL, Gantzer ML, Kahn SE, Schönbrunner ER, Thienpont LM. Roadmap for harmonization of clinical laboratory measurement procedures. *Clin Chem* 2012;57:1108-17. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2011.164012>. Fecha de última visita: 16 de Febrero del 2018.
  29. Fuentes X. Valores de referencia biológicos, acreditación y armonización. *Laboratorio Clínico* 2012;5:55-6. Disponible en: <http://doi:10.1016/j.labcli.2011.10.003>. Fecha de última visita: 16 de Febrero del 2018.
  30. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Statement on the use of ISO 15189 in the accreditation of medical laboratories. Disponible en: [http://www.ifcc.org/pdf/iso15189\\_c-clm.pdf](http://www.ifcc.org/pdf/iso15189_c-clm.pdf). Fecha de última visita: 22 de Octubre del 2018.
  31. Kolmogorov A. Sulla determinazione empirica di una legge di distribuzione. *G Inst Ital Attuari* 1933;4:83.
  32. Smirnov NV. Tables for estimating the goodness of fit of empirical distributions. *Ann Math Stat* 1948;19:279.
  33. Manning WG, Mullahy J. Estimating log models: To transform or not to transform? *J Health Econom* 2001;20:461-94.
  34. Box GEP, Cox DR. An analysis of transformations. *J Roy Stat Soc B Series* 1964;26:211-34.
  35. Efron B. Nonparametric standard errors and confidence intervals. *Canad J Stat* 1981;9:139-58.
  36. Santana Porbén S, Martínez Canalejo H. Manual de Procedimientos Bioestadísticos. Segunda Edición. EAE Editorial Académica Española. ISBN-13:9783659059629. ISBN-10:3659059625. Madrid: 2012.
  37. Santana Porbén S, Martínez Canalejo H. Manual de Estadísticas no Paramétricas.

- Editorial Publicia. Saarbrücken: 2013. ISBN: 978-3-639-55468-7.
38. Solberg HE. A guide to IFCC recommendations on reference values. *Clin Chim Acta* 1993;5:162-5.
  39. Aarsand AK, Sandberg S. How to achieve harmonisation of laboratory testing- The complete picture. *Clin Chim Acta* 2014;432:8-14.
  40. Walton RM. Subject-based reference values: Biological variation, individuality, and reference change values. *Vet Clin Pathol* 2012;41:175-81.
  41. Fraser CG. Inherent biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:758-64.
  42. Vinge E, Lindergård B, Nilsson-Ehle P, Grubb A. Relationships among serum cystatin C, serum creatinine, lean tissue mass and glomerular filtration rate in healthy adults. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:587-92.
  43. Finney H, Newman DJ, Thakkar H, Fell JME, Price CP. Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neonates, and older children. *Arch Dis Child* 2000;82:71-5.
  44. Roos JF, Doust J, Tett SE, Kirkpatrick CM. Diagnostic accuracy of cystatin C compared to serum creatinine for the estimation of renal dysfunction in adults and children- A meta-analysis. *Clin Biochem* 2007;40:383-91.
  45. Evangelopoulos AA, Vallianou NG, Bountziouka VP, Giotopoulou AN, Bonou MS, Barbetseas J; *et al.* The impact of demographic characteristics and lifestyle in the distribution of cystatin C values in a healthy Greek adult population. *Cardiol Res Pract* 2011;2011. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/crp/2011/163281/abs/>. Fecha de última visita: 16 de Febrero del 2018.
  46. Ognibene A, Mannucci E, Caldini A, Terreni A, Brogi M, Bardini G; *et al.* Cystatin C reference values and aging. *Clin Biochem* 2006;39:658-61.
  47. Karvanen J. The statistical basis of laboratory data normalization. *DIJ Drug Inf J* 2003;37: 101-7.
  48. de la Presa BG, Reverter FC, Poblador SE, Tomás FJG, Álvarez SI, Martínez RML; *et al.* Procedimiento para la transferencia y revisión de intervalos de referencia biológicos. *Rev Lab Clín* 2017;10:91-4.
  49. Groth T, de Verdier CH. Transferability of clinical laboratory data. *Upsala J Med Sci* 1993;98:259-74.
  50. Sweeting TJ. On the choice of prior distribution for the Box-Cox transformed linear model. *Biometrika* 1984;71: 127-34.
  51. Wade AM, Ades AE. Age-related reference ranges: Significance tests for models and confidence intervals for centiles. *Stat Med* 1994;13:2359-67.
  52. Salabarría JS, Santana S, Martínez H, Benítez LM. Intervalos de predicción como valores de referencia para la creatinina sérica en una población infantil. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1997; 54:115-23.
  53. Santana-Porbén S. Valores locales de referencia para la excreción urinaria de creatinina: Una actualización. *Rev Cubana Aliment Nutr* 2014;24:220-30.
  54. Monteagudo-Rodríguez Y, Santana-Porbén S, Salabarría-González JR. Intervalos locales de referencia para la excreción urinaria de creatinina en niños y adolescentes cubanos. *Rev Cubana Aliment Nutr* 2015;25(1 Suppl 1):S59-S90.
  55. Álvarez Porbén S, González Marrero A, Valdivieso Valdivieso JP, Santana Porbén S. Reference values for spirometric variables for allegedly healthy workers. *Rev Fac Med Bogotá* 2018;66:179-85.