Datos del Piloto de Química Clínica del Estudio Prospectivo de la Ciudad de México

Introducción

Entre 1998 y 2004, el estudio reclutó a más de 150,000 adultos mayores de 35 años, incluyendo 100,000 mujeres, quienes eran residentes de las delegaciones de Coyoacán e Iztapalapa en la Ciudad de México. Los participantes proporcionaron información sobre su estilo de vida y su historial de enfermedades, les tomaron medidas físicas incluyendo presión arterial, peso, circunferencia de cintura y cadera, y proporcionaron muestras de sangre.

Tras la obtención de las muestras de sangre venosa, la sangre total se refrigeró durante la noche a 4°C. A la mañana siguiente, las muestras se centrifugaron a 2,100 g durante 15 minutos a 4°C, y posteriormente se separaron el plasma y la capa leucoplaquetaria (*buffy coat*). Se prepararon alícuotas de las muestras en crioviales de 1.8mL con tapa de rosca, las cuales se conservaron temporalmente a −80°C en México antes de ser enviadas en hielo seco a Oxford, Reino Unido, en donde las muestras han estado almacenadas a largo plazo en vapor de nitrógeno líquido.

En junio de 2016 se inició un estudio piloto pequeño para evaluar la integridad de estas muestras de plasma con EDTA (ácido etilendiaminotetracético) mediante la medición de una serie de parámetros bioquímicos en aproximadamente 1,000 participantes del estudio.

Este documento se proporciona como complemento de los datos de biomarcadores del estudio piloto de plasma con EDTA disponibles a través del *Data Showcase* del Estudio Prospectivo de la Ciudad de México (EPCM). Su propósito es proporcionar información básica sobre la selección de los análisis, el alcance del proyecto, los métodos utilizados, el equipo empleado, la acreditación del laboratorio y las características de desempeño de los análisis.

Selección de los ensayos y alcance del Proyecto

Se seleccionó un total de 15 biomarcadores para su análisis, los cuales fueron medidos en las muestras basales de 1,041 participantes del estudio. Además, en estas muestras se determinaron los índices séricos (lipemia, ictericia y hemólisis). Estos se presentan, junto con un resumen de los métodos, la instrumentación utilizada, el fabricante, las unidades de medida y el rango analítico de los ensayos, en el Tabla A1 del Apéndice.

Este documento se centra exclusivamente en los biomarcadores medidos en plasma con EDTA.

Los biomarcadores fueron seleccionados para su análisis porque representan factores de riesgo establecidos para diversas enfermedades y constituyen marcadores utilizados en el diagnóstico clínico. Para la selección de las muestras se implementó un procedimiento sencillo, mediante el cual se eligieron aleatoriamente cajas de muestras para su análisis, con el fin de garantizar que los participantes representaran ambos distritos de reclutamiento y todo el periodo de reclutamiento. Este enfoque se adoptó para reducir el posible sesgo derivado de la selección geográfica y temporal de las muestras.

Métodos y equipo

Acreditación

El análisis de los biomarcadores en plasma con EDTA se realizó utilizando un analizador de química clínica Beckman Coulter AU680 y dos analizadores de nefelometría BN ProSpec de *Siemens Healthcare Diagnostics*. En el momento del análisis de las muestras, el *Wolfson Laboratory* del *Nuffield*

Department of Population Health (NDPH) contaba con la *United Kingdom Accreditation Service* conforme a la norma ISO 17025:2005 como laboratorio de ensayo (número de acreditación 2799). Los siguientes ensayos estaban incluidos dentro del alcance de dicha acreditación:

- En el analizador Beckman Coulter AU680: el colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos, ApoA, ApoB, creatinina, ácido úrico y albúmina se analizaron utilizando los reactivos del fabricante y estaban incluidos dentro del alcance de la acreditación.
- En los analizadores *Siemens Healthcare Diagnostics* BN ProSpec: la prueba de cistatina C se realizó utilizando los reactivos del fabricante y estaba incluida dentro del alcance de la acreditación.

La lipoproteína(a), Lp(a), se midió en un analizador Beckman Coulter AU680 utilizando reactivos de Randox con valores de calibración asignados por los *Northwest Lipid Metabolism and Diabetes Research Laboratories (NWRL)*. El ensayo establecido en el *Wolfson Laboratory* del *NDPH* fue certificado por el *NWRL* en cuanto a su exactitud mediante el método ELISA con anticuerpo monoclonal, el cual sirvió como *Reference Measurement Procedure (RMP)* de consenso utilizado para asignar los valores de referencia a los materiales de referencia secundarios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC)*.

Los siguientes ensayos no estaban acreditados:

- En el analizador Beckman Coulter AU680: hs-CRP, ALT, AST y GGT.

Todos los ensayos que no estaban incluidos dentro del alcance de la acreditación fueron validados siguiendo los estándares de acreditación de la norma ISO 17025:2005. El laboratorio verificó que cada uno de los ensayos alcanzara un desempeño acorde con las especificaciones del fabricante o superior a estas.

Monitoreo del desempeño de los ensayos

El análisis de las muestras se llevó a cabo durante un período de tres semanas. El desempeño de cada ensayo se verificó de forma continua durante todo el período de análisis mediante el uso de muestras de control interno de calidad (IQC) de terceros. Antes de cada lote de muestras de participantes (control de apertura) y después de cada lote (control de cierre), se analizaron al menos dos muestras de IQC con concentraciones conocidas altas, medias y bajas. Los resultados de los participantes se incorporaron a la base de datos únicamente cuando tanto los resultados del IQC de apertura como los del IQC de cierre se encontraban dentro de los límites de aceptación establecidos en términos de desviaciones estándar, con el fin de verificar la precisión del proceso analítico. El número de muestras de participantes por lote fue, en promedio, de aproximadamente 50. Cuando fue apropiado, también se utilizaron otras métricas de desempeño, por ejemplo, la verificación del sesgo mediante programas de evaluación externa de la calidad (EQA). En la Tabla A2 del Apéndice se presenta un resumen de los controles internos de calidad (IQC) de terceros y de los programas de evaluación externa de la calidad (EQA) utilizados.

Resultados fuera del rango de medición observado

Los experimentos de linealidad y límite de cuantificación permitieron determinar el rango de medición observado. Los rangos analíticos publicados por el fabricante para cada ensayo se presentan en la Tabla A1 del Apéndice. En la mayoría de los casos, el rango de medición observado abarcó el rango analítico especificado por el fabricante. Los límites inferior y superior del rango de medición observado se resumen en la Tabla 1.

Los métodos analíticos permitían diluir y volver a analizar las muestras cuyos resultados excedían el rango de medición del ensayo (dilución automática). Cuando había suficiente muestra disponible, esta se diluía y se volvía a analizar. En el caso de la Lp(a), la dilución automática fue validada hasta una dilución de 1:3 y no se realizaron diluciones superiores a ese nivel. Si se efectuaba una dilución manual, se conservaba un registro del resultado obtenido y del recálculo manual correspondiente.

Tabla 1. Indicadores del rango de reporte observado

Ensayo (unidades)	Resultado reportado si el resultado del instrumento se encuentra por debajo del rango de medición.	Se muestra la dilución automática si el resultado del instrumento supera el rango de medición.
Albúmina, g/L	<15	>60
Alanina aminotransferasa (ALT), U/L	<8	>500
Apolipoproteína A1, mg/dL	<40	>250
Apolipoproteína B, mg/dL	<10	>200
Aspartato aminotransferasa (AST), U/L	<11	>1000
Colesterol total, mmol/L	<0.5	>15
Creatinina, µmol/L	<30	>2000
Proteína C reactiva de alta sensibilidad (hs-CRP), mg/L	<0.08	>80
Cistatina C, mg/L	<0.08[1]	>5.14[†]
Gamma-glutamil transferasa (GGT), U/L	<5	>1200
Colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL), mmol/L	<0.06	>4.2
Colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL), mmol/L	<0.2	>7.8
Lipoproteína(a) [Lp(a)], nmol/L	<3.6	>203.7
Triglicéridos, mmol/L	<0.1	>11.3
Ácido úrico, µmol/L	<90	>990

[†]Rango reportable dependiente del lote del calibrador.

Interferencias en los ensayos

Diversas enfermedades y condiciones preanalíticas pueden provocar un aumento de las concentraciones de bilirrubina, hemoglobina y lípidos/turbidez en los fluidos corporales. Estas pueden interferir con la medición espectrofotométrica de algunos ensayos. Para identificar posibles interferencias, se determinaron los índices séricos utilizando el reactivo de lipemia/turbidez, ictericia y hemólisis (LIH) de Beckman Coulter. Se trata de una prueba fotométrica para la evaluación semicuantitativa de la interferencia por LIH, la cual se realizó en cada muestra. La Tabla A3 del Apéndice muestra la relación entre el indicador del instrumento y el resultado numérico generado por diferentes concentraciones de interferencia por LIH.

El instructivo de uso (IFU) de cada ensayo, proporcionado por el fabricante, contenía información relevante sobre los estudios de interferencia. Esta información se utilizó junto con los resultados de LIH para generar los indicadores correspondientes asociados a cada resultado medido. La Tabla A4 del Apéndice indica las concentraciones de LIH por debajo de las cuales no existe una interferencia significativa por lipemia/turbidez, ictericia o hemólisis. En las muestras con resultados de LIH > 5 (es decir, por encima del rango de medición), todos los resultados fueron suprimidos.

Características de desempeño de los ensayos

Durante todo el proceso de análisis de las muestras se aplicaron protocolos detallados de control de calidad y evaluación del desempeño de los métodos para garantizar que los ensayos funcionaran de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Para la mayoría de los ensayos cuantitativos de biomarcadores, la incertidumbre de la medición se estimó utilizando un enfoque descendente (“top-down”), basado en los resultados del control interno de calidad (IQC) a largo plazo y, cuando correspondía, en la incertidumbre del calibrador. Este enfoque refleja el desempeño real del ensayo bajo

condiciones rutinarias de operación. La incertidumbre de la medición de los 15 biomarcadores se resume en la Tabla A5 del Apéndice.

Apéndice

Tabla A1. Instrumentación de los ensayos y detalles técnicos

Assay (abbreviation)	Platform	Methodology	Units	Manufacturer's analytical range
Beckman-Coulter (UK), Ltd				
Albumin (ALB)	AU680	Colourimetric	g/L	15 - 60
Alanine Aminotransferase (ALT)	AU680	Enzymatic Rate	U/L	3 - 500
Apolipoprotein A1 (APOA1)	AU680	Immuno-turbidimetric	g/L	0.4 - 2.5
Apolipoprotein B (APOB)	AU680	Immuno-turbidimetric	g/L	0.4 - 2
Aspartate Aminotransferase (AST)	AU680	Enzymatic Rate	U/L	3 - 1000
Total Cholesterol (CHOL)	AU680	Enzymatic	mmol/L	0.5 - 18
Creatinine (CREA)	AU680	Jaffe	µmol/L	5 - 2200
High Sensitivity C-Reactive Protein (CRP)	AU680	Immuno-turbidimetric	mg/L	0.08 - 80
Gamma-Glutamyltransferase (GGT)	AU680	Enzymatic Rate	U/L	5 - 1200
High Density Lipoprotein (HDL)	AU680	Enzyme Immuno-inhibition	mmol/L	0.06 – 5.18
Low Density Lipoprotein (LDL)	AU680	Enzymatic Selective Protection	mmol/L	0.18 - 10.3
Lipoprotein (a) (LP-a)	AU680	Immuno-turbidimetric	nmol/L	N/A[†]
Triglyceride (TRIG)	AU680	Enzymatic	mmol/L	0.1- 11.3
Uric Acid (UA)	AU680	Enzymatic	µmol/L	89 - 1785
Siemens Healthcare Diagnostics				
Cystatin – C (CYSC)	BN Prospec	Immuno-turbidimetric	mg/L	0.23-8.0

[†]No disponible. Se utilizaron reactivos de Randox con valores de calibración asignados por los Northwest Lipid Metabolism and Diabetes Research Laboratories (NWRL).

Tabla A2. Esquemas de control interno de calidad (IQC) y evaluación externa de la calidad (EQA)

Assay	Source of IQC	EQA Scheme
Albumin	Randox General Chemistry Level 1 and 2	WEQAS Mainline Chemistry
Alanine Aminotransferase	Randox Custom Made Human General Chemistry Level 1 and 2 Technopath Multichem S plus Level 2	WEQAS Serum Chemistry
Apolipoprotein A1	Randox Custom Made Human Apo level 1-4	WEQAS Lipids UK NEQAS Lipids
Apolipoprotein B	Randox Custom Made Human Apo level 1-4	WEQAS Lipids UK NEQAS Lipids
Aspartate Aminotransferase	Randox Custom Made Human General Chemistry Level 1 and 2	WEQAS Serum Chemistry
Total Cholesterol	Randox General Chemistry Level 1 and 2 Randox Custom Made Human Apo level 2	WEQAS Lipids UK NEQAS Lipids
Creatinine	Randox General Chemistry Level 1 and 2	WEQAS Serum Chemistry
High Sensitivity C-Reactive Protein	Randox Custom Made Human Level 1 and 2	UK NEQAS uCRP
Gamma-Glutamyl transferase	Randox Custom Made internal quality control material	WEQAS Serum Chemistry
High Density Lipoprotein	Randox Custom Made Human General Chemistry Level 1 and 2	WEQAS Lipids UK NEQAS Lipids
Low Density Lipoprotein	Randox Custom Made Human General Chemistry Level 1 and 2 Randox Custom Made Human Apo level 2	WEQAS Lipids UK NEQAS Lipids
Lipoprotein (a)	Randox Custom Made Human	UK NEQAS Lipids
Triglyceride	Randox Custom Made Human General Chemistry Level 1 and 2	WEQAS Lipids UK NEQAS Lipids
Uric Acid	Randox General Chemistry Level 1 and 2	WEQAS Mainline Chemistry
Cystatin – C	Randox General Chemistry Level 1 and 2	EQUALIS - Cystatin C

Tabla A3. Relación entre el indicador LIH del instrumento y la concentración de interferencia por LIH.

Assay	LIP mg/dL (intralipid)	ICT mg/dL (Bilirubin)	Haem mg/dL (Haemoglobin)
Albumin	Less than 10% up to 800	Less than 10% up to 40	Less than 10% up to 450
Alanine Aminotransferase	Less than 3% up to 300	Less than 5% up to 40	Less than 10% up to 500
Apolipoprotein A1	Less than 10% up to 900	Less than 3% up to 40	Less than 3% up to 500
Apolipoprotein B	Less than 10% up to 900	Less than 3% up to 40	Less than 3% up to 500
Aspartate Aminotransferase	Less than 5% up to 1000	Less than 10% up to 40	N/A[†,‡]
Total Cholesterol	Less than 3% up to 1000	Less than 10% up to 8	Less than 10% up to 500
Creatinine	Less than 10% up to 600	Less than 10% up to 40	Less than 3% up to 500
High Sensitivity C-Reactive Protein	Less than 10% up to 1000	Less than 5% up to 40	Less than 5% up to 500
Gamma-Glutamyl transferase	Less than 3% up to 1000	Less than 3% up to 40	Less than 5% up to 250
High Density Lipoprotein	No significant effect up to 1500	No significant effect up to 40	No significant effect up to 500
Low Density Lipoprotein	No significant effect up to 900	No significant effect up to 40	No significant effect up to 500
Lipoprotein (a	N/A[†]	N/A[†]	N/A[†]
Triglyceride	-	Less than 3% up to 20	Less than 3% up to 500
Uric Acid	Less than 5% up to 1000	Less than 5% up to 40	Less than 5% up to 500
Cystatin – C	N/A[†,*]	N/A[†]	N/A[†]

[†]N/A: información no disponible por parte del fabricante; [‡]El Instructivo de Uso (IFU) indica que deben evitarse las muestras hemolizadas; * El Instructivo de Uso (IFU) indica que no deben utilizarse muestras lipémicas.

Tabla A4. Concentraciones por debajo de las cuales no existe interferencia significativa por lipemia/turbidez, ictericia y hemólisis (LIH).

Instrument flag	Result	LIP mg/dL (intralipid)	ICT mg/dL (Bilirubin)	Haem mg/dL (Haemoglobin)
N	0	<40	<2.5	<50
+	1	40 - 99	2.5 – 4.9	50.0 – 99
++	2	100 - 199	5.0 – 9.9	100 – 199
+++	3	200 - 299	10.0 – 19.9	200 – 299
++++	4	300 - 500	20.0 – 40.0	300 – 500
+++++	5	>500	>40.0	>500

Tabla A5. Incertidumbre de la medición

Assay	Measurement uncertainty*
Albumin	At a level of 29 g/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.87 g/L At a level of 54 g/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 1.08 g/L
Alanine Aminotransferase	At a level of 24 U/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 6.32 U/L At a level of 104 U/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 6.38 U/L At a level of 354 U/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 8.88 U/L
Apolipoprotein A1	At a level of 77 mg/dL the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 6 – 7 mg/dL At a level of 147 mg/dL the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 8 – 10 mg/dL At a level of 178 mg/dL the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 17 – 24 mg/dL
Apolipoprotein B	At a level of 36 mg/dL the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 6 mg/dL At a level of 66 mg/dL the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 8 mg/dL At a level of 130 mg/dL the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 9-13 mg/dL
Aspartate Aminotransferase	At a level of 30 U/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 2.72 U/L At a level of 669 U/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 12.88 U/L
Total Cholesterol	At a level of 1.8 mmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.09 mmol/L At a level of 3.5 mmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.14 mmol/L At a level of 7.7 mmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.23 mmol/L
Creatinine	At a level of 200 umol/L the expanded uncertainty with a coverage value factor (k) of 2 is 6 umol/L At a level of 412 umol/L the expanded uncertainty with a coverage value factor (k) of 2 is 12 umol/L
High Sensitivity C-Reactive Protein	At a level of 1.0 mg/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.1 mg/L At a level of 9.6 mg/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.19-0.77 mg/L
Gamma-Glutamyltransferase	At a level of 28 U/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 4.20 U/L At a level of 121 U/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 6.05 U/L
High Density Lipoprotein	At a level of 0.5 mmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.04 mmol/L At a level of 1.0 mmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.06 mmol/L At a level of 2.8 mmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.14 mmol/L
Low Density Lipoprotein	At a level of 1.7 mmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.12 mmol/L At a level of 3.6 mmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.22 mmol/L
Lipoprotein (a)	At a level of 19 nmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 3.15 nmol/L At a level of 36 nmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 3.62 nmol/L At a level of 130 nmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 10.87 nmol/L
Triglyceride	At a level of 1.2 mmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.06 mmol/L At a level of 2.9 mmol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.09 mmol/L

Tabla A5. Incertidumbre de la medición

Assay	Measurement uncertainty*
Uric Acid	At a level of 266 umol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 18.6 umol/L At a level of 468 umol/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 18.7 umol/L
Cystatin – C	At a level of 0.7 mg/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.06 mg/L At a level of 2.1 mg/L the expanded uncertainty with a coverage factor (k) of 2 is 0.13 mg/L

*La variación biológica no está incluida en el cálculo.