



Evaluación Técnica/Equipos

Estudio de intercambiabilidad entre dos métodos analíticos para la determinación del receptor soluble del activador del plasminógeno tipo urocinasa (suPAR) en el laboratorio de urgencias: inmunoensayo de flujo lateral frente a turbidimetría

Interchangeability study between two analytical methods for the determination of the soluble receptor of the urokinase-type plasminogen activator (suPAR) in the Emergency Laboratory: lateral flow immunoassay versus turbidimetry

María Esther Paniagua Arribas¹, Rosario Padilla Berdugo¹, Silvia Álvarez Kailis¹, Fernando Neria Serrano², Eva de las Nieves Rodríguez¹

¹Hospital Universitario de Móstoles. Móstoles, Madrid. ²Facultad de Medicina. Universidad Francisco de Vitoria. Majadahonda, Madrid

Recibido: 15/10/2022
Aceptado: 16/03/2023

Correspondencia: María Esther Paniagua Arribas. Hospital Universitario de Móstoles. C/ Dr. Luis Montes, s/n. 28935 Móstoles, Madrid
e-mail: esther.paniagua@salud.madrid.org

Palabras clave:

suPAR. Intercambiabilidad. Receptor soluble del activador del plasminógeno tipo urocinasa. suPARnostic®.

RESUMEN

El biomarcador suPAR (receptor soluble del activador del plasminógeno tipo urocinasa) es la forma soluble de una proteína sanguínea llamada uPAR, unida a la membrana celular y expresada principalmente en células inmunológicas y endoteliales. Altos niveles de suPAR están asociados con un aumento de la inflamación celular, progresión de la enfermedad y aumento del riesgo de mortalidad al ingreso hospitalario.

Cuantificar la concentración suPAR puede ser de utilidad para la estratificación del riesgo en los pacientes que acuden a un servicio de urgencias y para determinar la necesidad o no de un ingreso hospitalario y predecir la probabilidad de supervivencia.

Conflictos de intereses: los autores declaran no presentar conflictos de interés

DOI: 10.20960/revmedlab.00152

Fuentes de financiación: los reactivos suPARnostic® fueron cedidos por la casa comercial ViroGates (Dinamarca).

Paniagua Arribas ME, Padilla Berdugo R, Álvarez Kailis S, Neria Serrano F, de las Nieves Rodríguez E. Estudio de intercambiabilidad entre dos métodos analíticos para la determinación del receptor soluble del activador del plasminógeno tipo urocinasa (suPAR) en el laboratorio de urgencias: inmunoensayo de flujo lateral frente a turbidimetría. Rev Med Lab 2023;4(1):38-42

Se ha realizado un estudio de intercambiabilidad de métodos para la determinación del biomarcador suPAR mediante inmunoensayo de flujo lateral y turbidimetría. Hemos evaluado la intercambiabilidad de los dos métodos, su grado de concordancia y la equivalencia entre los resultados de ambos.

En ausencia de errores sistemáticos relevantes, el método turbidimétrico suPARnostic Roche Turbilatex puede ser intercambiable con el inmunoensayo de flujo lateral QuickTriage.

Por otra parte, aunque no sea el objetivo de este estudio, a partir de los valores de suPAR obtenidos se han agrupado los pacientes seleccionados según su riesgo de padecer eventos adversos.

Keywords:

suPAR. Interchangeability. Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor. suPARnostic®.

ABSTRACT

The biomarker suPAR (urokinase-like plasminogen activator receptor) is the soluble form of a blood protein called uPAR, bound to the cell membrane and expressed mainly in immune and endothelial cells. High levels of suPAR are associated with increased cellular inflammation, disease progression, and increased risk of mortality upon hospital admission.

Quantifying suPAR may be useful for risk stratification in patients attending an emergency department and for determining the need or not for hospital admission and predicting the likelihood of survival.

A comparative study of the determination of the suPAR biomarker by lateral flow immunoassay and turbidimetry has been carried out. We have evaluated the interchangeability of the two techniques, their degree of agreement and the equivalence between the results of both.

In the absence of relevant systematic errors, the suPARnostic Roche Turbilatex turbidimetric technique may be interchangeable with the QuickTriage lateral flow immunoassay.

On the other hand, the quantitative values of suPAR have been related to the prediction of adverse events that occurred in the selected patients.

INTRODUCCIÓN

Las principales garantías que deben proporcionar todos los laboratorios clínicos son asegurar que sus resultados son exactos (veraces y precisos), que permiten una interpretación clínica correcta y que son comparables con los resultados anteriores o posteriores y conmutables entre los distintos métodos analíticos y los laboratorios (1).

Los reactantes de fase aguda son proteínas plasmáticas que sufren alteraciones durante la inflamación. Aunque la velocidad de sedimentación globular y la proteína C reactiva han sido tradicionalmente las más utilizadas como marcadores de inflamación en condiciones infecciosas y no infecciosas (2), existen muchos otros biomarcadores, como la procalcitonina, la proteína amiloide sérica A, el fibrinógeno, la ferritina, alfa-1 antitripsina, haptoglobina, alfa-1 glicoproteína o ceruloplasmina, entre otros.

El receptor soluble del activador de plasminógeno tipo urocinasa (suPAR) es la forma soluble de la proteína

uPAR unida a la membrana celular, la cual está expresada principalmente en células inmunológicas, células endoteliales y en células de músculo liso (3). Fue descubierto en 1992 y se trata de un biomarcador de inflamación que interviene en la cascada de señales del activador de plasminógeno de urocinasa, que se ha sugerido que juega un papel clave en el desarrollo, en la presencia y en la gravedad de múltiples enfermedades (4) como activador inmune y de la inflamación.

Entre los métodos de medida disponibles en el mercado para la determinación de suPAR en nuestro laboratorio hemos seleccionado el inmunoensayo de flujo lateral suPARnostic® QuickTriage y el suPARnostic® TurbiLatex Reagents, un método turbidimétrico.

Los objetivos de este estudio fueron comprobar la intercambiabilidad entre el inmunoensayo de flujo lateral y la turbidimetría, disponibles en nuestro laboratorio, y establecer el grado de equivalencia de los resultados identificando previamente los posibles sesgos para asegurar la ausencia de errores sistemáticos relevantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras

Se han empleado muestras de plasma con EDTA o heparina de litio de 86 pacientes que acudieron al servicio de urgencias del Hospital Universitario de Móstoles (Madrid) durante un periodo de 3 semanas seleccionados de forma no consecutiva con los siguientes criterios de inclusión:

- Mayores de 16 años que acudieron a la urgencia general. Quedaron excluidos los que acudían por motivos de consulta relacionados con traumatología, ginecología, oftalmología y otorrinolaringología.
- Presentar alguno de los siguientes motivos de consulta: mareo, síncope, deterioro general, malestar general, dolor torácico, fiebre, disnea o dolor abdominal.
- Tener indicación médica de realización de análisis clínicos.
- Firmar el consentimiento de inclusión en el estudio (4).

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario de Móstoles (n.º de registro 2019/028) y los pacientes fueron atendidos según los criterios habituales.

Las muestras una vez extraídas y enviadas al laboratorio de urgencias fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 5 minutos para ser analizadas por ambos métodos.

En cuanto a los participantes, 86 pacientes se seleccionaron en una fase inicial del estudio y se les cuantificó suPAR a su llegada al servicio de urgencias por las dos técnicas disponibles.

Se dispone de los datos demográficos, información sobre comorbilidades y resultados bioquímicos de 85 de los 86 pacientes, por lo que un paciente queda excluido del estudio. La edad media de los pacientes fue de 58,2 años (\pm 21,3 años). En cuanto al sexo, 52 eran mujeres (61,2 %) y 33, hombres (38,8 %).

Las comorbilidades existentes en los pacientes seleccionados son las siguientes: diabetes mellitus de tipo 2, 12 pacientes (14,3 %); hipertensión arterial en tratamiento, 31 pacientes (36,5 %); enfermedad pulmonar obstructiva crónica en tratamiento, 12 pacientes (14,1 %); dislipemia en tratamiento, 27 pacientes (31,8 %); cardiopatía isquémica, 13 pacientes (15,3 %); insuficiencia cardiaca congestiva episodio agudo, 3 pacientes (3,5 %); fibrilación auricular, 8 pacientes (9,4 %) e insuficiencia renal crónica, 7 pacientes (8,2 %).

Los motivos de consulta más frecuentes fueron: dolor abdominal (24 casos, 28,2 %), disnea (16 casos, 18,8 %), malestar general (17 casos, 20,0 %), dolor torácico (10 casos, 11,8 %), fiebre (5 casos, 5,9 %), mareo (8 casos, 9,4 %), pérdida de consciencia (1 caso, 1,2 %) y deterioro (4 casos, 4,7 %).

51 fueron dados de alta sin eventos posteriores (grupo 1), 26 ingresaron o volvieron a urgencias durante el seguimiento (grupo 2) y 8 ingresaron en UCI o murieron en este tiempo (grupo 3).

Procedimientos de medida

suPARnostic® Quick Triage ViroGates A/S Denmark

Es el procedimiento evaluado. Permite la determinación cuantitativa de suPAR en el plasma. El dispositivo tiene fijados anticuerpos monoclonales de rata y ratón conjugados con oro contra suPAR humano. Las muestras de plasma con EDTA o heparina se mezclan con el *buffer* y se aplican al dispositivo suPARnostic® Quick Triage. Durante los 20 minutos de incubación, el suPAR de la muestra reacciona con los anticuerpos anti-suPAR conjugados con oro y migra a través de la membrana de nitrocelulosa. Los anticuerpos unidos al suPAR de la muestra se unen a los anticuerpos de captura en la línea de ensayo, mientras que los anticuerpos no unidos a suPAR serán capturados por la línea de control (anticuerpos antirratón).

El suPARnostic® Quick Triage se calibra internamente. Tiene un intervalo de medición de 2,5 ng/ml a 15,2 ng/ml (5).

suPARnostic® TurbiLatex Reagents

Es el procedimiento de comparación. Es un sistema de medida turbidimétrico validado para las plataformas de Roche Cobas c501/502.

Los anticuerpos anti-suPAR fijados al látex reaccionan con el antígeno de la muestra para formar complejos antígeno-anticuerpos que se determinan turbidimétricamente a 570/800 nm tras la aglutinación.

El intervalo de medida es de 1,8 ng/mL a 16,0 ng/mL (6).

Tratamiento de los resultados

Para analizar los resultados se han seguido las recomendaciones de la Comisión de Metrología de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, que recomienda la utilización de dos métodos estadísticos: el análisis de las diferencias (Concordancia de Bland-Altman) y la regresión lineal (*Passing-Bablok*) (1). Se denomina Y al método que está probándose (en este estudio, el inmunoensayo de flujo lateral) y X, al método de comparación o de referencia (en nuestro laboratorio, la turbidimetría) (7). Dado que el método de comparación es el de referencia, consideramos que la posible diferencia entre ambos es también el sesgo que presenta el método a evaluar.

RESULTADOS

Con el fin de comparar los resultados entre ambas pruebas diagnósticas, se hizo un estudio de regresión *Passing-Bablok* (Tabla I).

El valor de la ordenada en el origen es de 0,059, con un intervalo de confianza (IC) de 95 % (-1,040-1,209). Este intervalo contiene el cero, por lo que puede con-

Tabla I.

Medianas y rangos intercuartílicos obtenidos para la clasificación de los pacientes en distintos grupos (pacientes de bajo riesgo, riesgo moderado y riesgo alto) con cada una de las técnicas

	<i>n</i>	Grupo 1, <i>n</i> = 51 (60,5 %)	Grupo 2, <i>n</i> = 26 (30,2 %)	Grupo 3, <i>n</i> = 8 (9,3 %)
Turbidimetría				
Mediana (25-75 %)	85	3,4 (2,6-4,8)	4,9 (3,8-7,1)	7,7 (5,7-12,2)
Inmunoensayo de flujo lateral				
Mediana (25-75 %)	85	4,0 (3,0-6,0)	5,0 (2,2-8,8)	8,0 (4,8-11,8)

cluírse que el procedimiento evaluado no presenta diferencias sistemáticas constantes con respecto al turbidimétrico.

El valor de la pendiente es de 1,126, con un IC del 95 % (0,833-1,396). Este intervalo contiene el valor 1, lo que indica que no hay diferencias sistemáticas proporcionales y que los resultados obtenidos con el inmunoensayo de flujo lateral son equivalentes a los obtenidos por turbidimetría.

Mediante el estudio de concordancia de Bland-Altman se calculó que la media de las diferencias es de -0,28, con un IC 95% (-9,837-9,276), lo que indica que esta media de las diferencias no es significativa (Fig. 1).

El coeficiente de correlación *r* de Pearson es de 0,612, lo que indica una correlación positiva moderada.

DISCUSIÓN

Un papel fundamental de los analistas clínicos es garantizar la fiabilidad de los resultados mediante estudios de comparación y la validación de métodos.

En los estudios de veracidad, para considerar la existencia de un error sistemático, este debe ser significativo tanto en el análisis de las diferencias por Bland-Altman (Fig. 1) como en la regresión lineal (1) (Tabla I).

En nuestro estudio no se ha detectado la presencia de error sistemático, ni proporcional ni constante significativos, lo que evidencia que las diferencias analíticas entre los dos métodos no son estadísticamente significativas.

Estratificación del riesgo de los pacientes

Un estudio realizado con la sangre de 9305 donantes estableció que la concentración de suPAR en personas sanas es de alrededor de 2-3 ng/mL; en pacientes que acuden al servicio de urgencias suele ser de alrededor de 3-6 ng/ml, y en pacientes con enfermedad grave y fallo orgánico, suPAR, a menudo tiene dos dígitos (3). Así, pueden estratificarse a los pacientes en distintos grupos de riesgo en función de los niveles de suPAR.

En nuestro estudio las medianas obtenidas con ambos procedimientos para los tres grupos de pacientes fueron: 3,7 ng/ml para pacientes de bajo riesgo (grupo

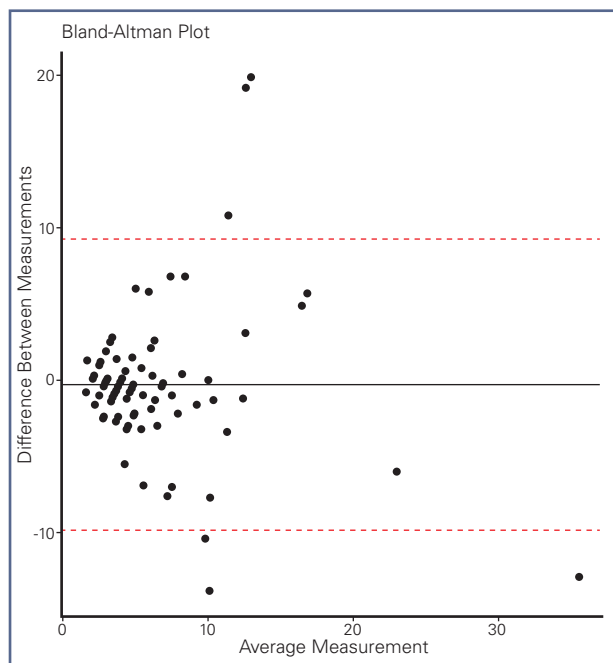


Figura 1 – Análisis de las diferencias por Bland-Altman.

1), 5 ng/ml para pacientes de riesgo moderado (grupo 2) y 7,9 ng/ml para pacientes de riesgo alto (grupo 3) (Tabla II).

Los valores medios de cada grupo fueron: 5,2 ng/ml para pacientes de bajo riesgo (grupo 1), 7,2 ng/ml para pacientes de riesgo moderado (grupo 2) y 9,8 ng/ml para pacientes de riesgo alto (grupo 3) (Tabla III).

Con base en la bibliografía, los puntos de corte utilizados en la práctica clínica para la clasificación de los pacientes a su llegada al servicio de urgencias son: niveles de suPAR < 3 ng/ml indican un buen pronóstico, pacientes con bajo riesgo de mortalidad o reingreso, ausencia de comorbilidades o que están bien tratadas y sujetos sanos; niveles de suPAR de 3,1 a 8,9 ng/ml indican que el riesgo de mortalidad y de reingreso están elevados, presencia de infecciones agudas o crónicas como cáncer, EPOC, enfermedades cardiovasculares, demencia, diabetes, hepatopatías y enfermedades renales; niveles de suPAR > 9 ng/ml se observan en pacientes graves y en condiciones de amenaza para la vida, como sepsis o daños graves de la función orgánica. El riesgo de mortalidad está significativamente elevado (3).

Tabla II.

Medias y desviaciones estándares obtenidas para la clasificación de los pacientes en distintos grupos (pacientes de bajo riesgo, riesgo moderado y riesgo alto) con cada una de las técnicas

	<i>n</i>	Grupo 1, <i>n</i> = 51	Grupo 2, <i>n</i> = 26	Grupo 3, <i>n</i> = 8
Turbidimetría				
Media ± DE	85	5,0 ± 4,6	7,0 ± 6,0	9,9 ± 6,4
Inmunoensayo de flujo lateral				
Media ± DE	85	5,4 ± 3,3	7,3 ± 8,1	9,7 ± 4,6

DE: desviación estándar.

Tabla III.

Estudio de regresión *Passing-Bablok*

	Valor	IC 95 %	
Ordenada origen	0,059	-1,040	1,209
Pendiente	1,126	0,833	1,396

Los valores medios obtenidos en nuestro estudio para cada grupo (Tabla III) coinciden con los de la bibliografía para el grupo de pacientes de riesgo moderado y alto. Sin embargo, para la clasificación de los pacientes de bajo riesgo, el valor medio obtenido en nuestro estudio es algo mayor (niveles de suPAR por debajo 5 ng/ml frente a 3 ng/ml). Este nuevo punto de corte reduce el tiempo medio de estancia de los pacientes en la urgencia al requerir un menor número de pruebas y de cuidados, lo que se traduce en menores costes hospitalarios.

CONCLUSIONES

Tanto el estudio de intercambiabilidad por regresión lineal de *Passing-Bablok* como el estudio de concordancia mediante el análisis de las diferencias de Bland-Altman concluyen que suPARnostic® Quick Triage

y suPARnostic® TurbiLatex Reagents son intercambiables para la determinación de suPAR.

BIBLIOGRAFÍA

- Martínez Morillo E, Gella Tomás FJ, Alonso Nieva N, et al. Recomendaciones para el estudio de la veracidad en el laboratorio clínico mediante la comparación de procedimientos de medida. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular Comité Científico. Comisión de Metrología. Abril de 2011; Documento K, Fase 3, Versión 2.
- Urquiza Ayala G, Arteaga Coarite R, Chacón Yucra P. Utilidad de los reactantes de fase aguda en el diagnóstico clínico. Rev Med La Paz 2019;25(2).
- suPAR Monografía. M017 ES. Versión 3. Agosto de 2019.
- Álvarez-Kailis S, Paniagua-Arribas E, Paderne-Díaz B, et al. Valor pronóstico de la forma soluble del receptor activador de plasminógeno de uroquinasa (suPAR) en la predicción de eventos adversos a los 30 días en los servicios de urgencias hospitalarios. Emergencias 2021;33(6):477-9.
- Instructions for Use suPARnostic® Quick Triage soluble urokinase Plasminogen Activator Receptor. Test Device REF A003. ViroGates A/S Denmark.
- Application Note suPARnostic® TurbiLatex Reagents Soluble Urokinase Plasminogen Activator Receptor. REF T001. ViroGates A/S Denmark.
- Bernabéu Andreu FA, Corcho Robleda MA, Redondo Fernández M, et al. Procedimiento de validación de magnitudes bioquímicas en un gasómetro. Aplicación al alcance flexible en la Norma ISO 15189. Laboratorio Clínico 2010;3:58-62.