

Bioquimia

Volumen 27
Volume

Número 2
Number

Junio 2002
June

Artículo:

Ecuaciones para eliminar la interferencia de sueros hemolisados, ictéricos e hiperglucémicos en las determinaciones rutinarias de química clínica

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

Otras secciones de
este sitio:

- 👉 Índice de este número
- 👉 Más revistas
- 👉 Búsqueda

*Others sections in
this web site:*

- 👉 *Contents of this number*
- 👉 *More journals*
- 👉 *Search*



Medigraphic.com

Ecuaciones para Eliminar la Interferencia de Sueros Hemolisados, Ictéricos e Hiperglucémicos en las Determinaciones Rutinarias de Química Clínica

Martha A. Sánchez-Rodríguez*¹, Rosa Colunga-Reyes², Ma. del Pilar Cedillo-Martínez³

¹ Laboratorio de Análisis Clínicos, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. ² Laboratorio de Análisis Clínicos, Hospital Regional No. 25, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F. ³ Laboratorio de Terapia Intensiva, Centro Médico Nacional 20 de noviembre, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado, México, D.F.

*Sobretiros: Nicolás San Juan No. 9-101 Col. Piedad Narvarte, México, D.F. CP 03000. e-mail masan57@hotmail.com

Recibido: 16/11/01 Aceptado: 20/04/02

RESUMEN

Introducción: Las muestras hemolisadas, ictericas o hiperglucémicas, pueden modificar cuantitativamente los resultados de una medición analítica por interferencia, ya que los métodos utilizados para las determinaciones en química clínica están basados en técnicas espectrofotométricas.

Objetivo: Cuantificar la interferencia *in vitro* producida por la presencia en el suero de glucosa, bilirrubina y hemoglobina, a diferentes concentraciones, en las técnicas de urea, creatinina, ácido úrico y colesterol por procedimientos manuales y automatizados.

Métodos: Se reunieron 300 mL de suero libre de hemólisis, bilirrubina y lipemia. Se les midió la concentración de glucosa, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol, hemoglobina y bilirrubina total, por ambos procedimientos. Se le añadieron diferentes concentraciones de hemoglobina, bilirrubina y glucosa, de acuerdo a la IFCC. Se obtuvo el punto de interferencia para cada componente con gráficas de correlación y los modelos lineales para hacer la corrección.

Resultados: La bilirrubina causa interferencia en todos los analitos con 3.0 mg/dL (51.3 μ mol/L), excepto en colesterol. La hemoglobina interfiere a partir de 1.0 g/L (0.062 mmol/L) para ácido úrico, creatinina y colesterol. La glucosa no produce ninguna interferencia. La ecuación de regresión para ácido úrico y bilirrubina no es significativa.

Conclusiones: Las muestras hemolisadas e ictericas producen interferencia en la mayoría de los analitos, principalmente por procedimientos manuales. Las ecuaciones propuestas permiten obtener el valor de los analitos sin interferencia.

Palabras clave: Interferencia espectral, Interferencia química, Fuente de variación, Hemólisis, Ictericia, Hiperglucemia.

ABSTRACT

Background: Specimens hyperglycemic, icteric or with hemolysis can produce interference at time of analysis, because the methods used in clinical chemistry determinations are based on spectrophotometric techniques.

Objective: To quantify the interference *in vitro* produced by different concentrations of glucose, bilirubin and hemoglobin in the usual techniques to analyze the serum levels of urea, creatinine, uric acid and cholesterol by manual and analyzer system procedures.

Methods: We collected 300 mL of free hemolysis, bilirubin, and lipemia serum. We measured glucose, urea, creatinine, uric acid, cholesterol, hemoglobin and total bilirubin serum concentration by both procedures. We add IFCC recommended concentrations of hemoglobin, bilirubin, and glucose, and we got the interference point for each component using correlation graphics and lineal equations to correct.

Results: Bilirubin serum concentration when reaches 3.0 mg/dL (51.3 μ mol/L) produces interference, except for cholesterol measurement. Hemoglobin serum concentration when reaches 1.0 g/L (0.062 mmol/L) produces interference in uric acid, creatinine, and cholesterol measurements. Serum glucose does not produce any interference. The regression model for uric acid and bilirubin is not significant.

Conclusions: The hemolysed and icteric specimens cause interference in most of the measurements, mainly from manual procedures. The equations obtained could be used to calculate the analytes without interference.

Key words: Spectral interference, Chemical interference, Source of variation, Hemolysis, Icteric serum, Hyperglycemic serum.

Introducción

La presencia de hemólisis, bilirrubina o concentraciones altas de glucosa es uno de los problemas más complejos y persistentes en las determinaciones químicas, por la producción de interferencias espectrales o químicas con los métodos de laboratorio, modificando cuantitativamente el resultado final¹. El grado de la interferencia es

dependiente de la concentración del interferente, la concentración de la variable analítica y la metodología empleada^{2,3}.

En el análisis de laboratorio existen 4 tipos de interferencia: 1) las originadas por limitaciones de los detectores de los instrumentos

Este trabajo fue desarrollado con el apoyo de la Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica.

de medición; 2) sustancias que interfieren *in vitro* directamente con el método analítico; 3) estados patológicos o agentes exógenos que modifican los procesos fisiológicos, cambiando las concentraciones de una variable analítica *in vivo*; 4) las producidas como consecuencia del procesamiento de la muestra⁴.

En este sentido, la hemoglobina y la bilirrubina, con un color característico, producen generalmente interferencias espectrales, las cuales pueden ser minimizadas si se evita la región de la luz del espectro en donde absorben, siendo posible sólo si el cromógeno final absorbe a longitudes de onda suficientemente alejadas del espectro de los interferentes.

Cuando la hemoglobina está presente en una concentración < 50 mg/L (< 0.003 mmol/L) la hemólisis es ligera, si está entre 50-300 mg/L (0.003-0.019 mmol/L) es de grado intermedio y con > 300 mg/L (> 0.019 mmol/L) se considera de alto grado²; tiene un espectro de absorción que comienza alrededor de 340 nm, afectando de esta manera los métodos basados en la propiedad de absorción del NADH y NADPH; aunque su banda característica está entre 500 y 600 nm, igual que la bilirrubina⁴. Por otro lado, se ha reportado que la glucosa produce una interferencia química con algunos métodos, como el de Jaffé para la determinación de creatinina^{4,5}.

Por ello es que como norma de control de calidad se dice que la presencia de interferentes analíticos potenciales como sueros ictericos, turbidez, hemólisis o lipemia pueden alterar un procedimiento específico y constituye una base de rechazo de la muestra^{1,3,4,6}; sin embargo, en la práctica diaria, las muestras bajo estas condiciones deben ser investigadas para determinar si es una interferencia *in vivo*, en cuyo caso debe ser procesada alertándose al personal del laboratorio, ya que se debe tomar en cuenta la condición de la muestra al emitir el resultado del análisis^{2,7,8}.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fué establecer cuantitativamente la magnitud de la interferencia de muestras hiperglucémicas, ictericas o hemolisadas en las determinaciones rutinarias en química clínica: urea, creatinina, ácido úrico y colesterol, tanto por procedimientos manuales como automatizados, obteniéndose la concentración inicial de interferencia y las ecuaciones de corrección.

Material y Métodos

Se recolectaron 300 mL de suero formándose un *pool* libre de hemólisis, lipemia o ictericia; proveniente de sujetos humanos de ambos sexos sin importar la edad y que fueran negativos para los virus de inmunodeficiencia humana (VIH), hepatitis B (VHB), hepatitis C (VHC) y para *Brucella*.

Después de conformado el *pool* se cuantificó la concentración basal, de glucosa (método GOD-PAP, Merck, México), bilirrubina total (método de van den Bergh modificado, Merck, México), hemoglobina (método de cianometahemoglobina, Merck, México), urea (método de Berthelot, Lakeside, México), creatinina (método cinético de Jaffé, Merck, México), ácido úrico (método de óxido-reducción, Bioxon, México), y colesterol (método CHOD-PAP, Merck, México) por procedimientos manuales, utilizando un espectrofotómetro Spectronic 20 Digital (Bauch & Lomb, México).

También se obtuvieron las concentraciones por procedimientos automatizados de urea (método cinético enzimático, Beckman, México), creatinina (método cinético de Jaffé modificado, Beckman, México), ácido úrico (método de punto final periódico, Beckman, México) y colesterol (método CHOD-PAP, Beckman, México) en un equipo Synchron CX7 (Beckman, México). Todas las determinaciones fueron llevadas a cabo por triplicado y bajo un estricto control de calidad utilizando como material de control sueros con valor dentro de rango normal y patológico (Qualitrol N y Qualitrol P, Merck, México).

El *pool* fue envasado en viales de 5 mL en condiciones de esterilidad y conservado en congelación a -20 °C hasta su uso.

Preparación del suero hemolisado

Se centrifugaron a 1500 rpm durante 5 min 6 mL de una muestra de sangre total con EDTA al 7% (p/v), negativa a los patógenos mencionados anteriormente, posteriormente se desechó el plasma y se lavó el paquete eritrocitario con 2 mL de solución salina isotónica (0.9% p/v) por inversión. Se centrifugó nuevamente a 1500 rpm por 5 min. y se descartó el sobrenadante, este procedimiento se repitió en tres ocasiones. En el último lavado se desechó el sobrenadante y se adicionó al paquete eritrocitario 3 mL de agua desionizada, agitándose vigorosamente con un agitador magnético durante 1 hora, centrifugando posteriormente a 4000 rpm por 10 min. Se descartó el sedimento y se cuantificó en el sobrenadante la concentración de hemoglobina libre por el método de cianometahemoglobina. Posteriormente se prepararon 7 diferentes concentraciones de hemoglobina, iguales y superiores a las propuestas por la IFCC en 1984⁹: 0.3, 0.7, 1.7, 2.5, 4.6, 6.9 y 9.2 g/L (0.018, 0.043, 0.105, 0.155, 0.285, 0.428, 0.571 mmol/L), utilizando como disolvente el *pool* de sueros. Las concentraciones fueron verificadas mediante la cuantificación por el método de cianometahemoglobina.

Preparación del suero icterico

Se hicieron diluciones, con el *pool* de sueros, de un estándar pediátrico de 20 mg/dL (342.0 μmol/L) de bilirrubina (Baxter, México) hasta alcanzar las concentraciones recomendadas⁹ y por

Cuadro 1. Concentraciones basales del pool de sueros.

Procedimiento	Urea mg/dL (mmol/L)	Creatinina mg/dL (μ mol/L)	Ácido úrico mg/dL (μ mol/L)	Colesterol mg/dL (mmol/L)
Manual	26 \pm 1.1 (4.33 \pm 0.18)	0.80 \pm 0.11 (70.72 \pm 9.72)	6.10 \pm 0.35 (362.9 \pm 20.8)	193 \pm 5.2* (4.98 \pm 0.13)
Automatizado	28 \pm 1.0 (4.67 \pm 0.16)	0.90 \pm 0.11 (79.56 \pm 9.72)	6.10 \pm 0.05 (362.9 \pm 2.97)	176 \pm 1.1* (4.54 \pm 0.03)

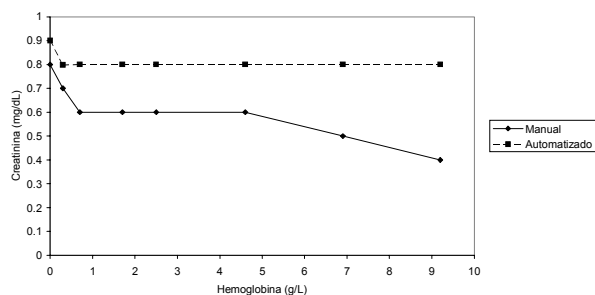
* *t* pareada, *p* < 0.05

Figura 1. Cuantificación de creatinina en el pool de sueros en presencia de diferentes concentraciones de hemoglobina por procedimiento manual y automatizado.

arriba de ellas: 1.0, 3.0, 4.0, 8.5, 15.0 y 18.0 mg/dL (17.1, 51.3, 68.4, 145.4, 265.5, 307.8 μ mol/L). Las concentraciones fueron verificadas mediante el método de van den Bergh modificado.

Preparación del suero hiperglucémico

Siguiendo el mismo esquema recomendado⁹, se adicionó al pool de sueros, glucosa en polvo (g.a. Merck, México) hasta obtener las concentraciones de 70, 114, 208 y 418 mg/dL (3.88, 6.33, 11.54, 23.20 mmol/L), verificándose las concentraciones por el método de GOD-PAP.

Determinación de la interferencia

Se cuantificaron nuevamente los analitos bajo estudio, por ambos procedimientos, en los sueros con las diferentes concentraciones de los interferentes. Todas las mediciones fueron hechas por triplicado.

Análisis estadístico

Se calculó el promedio y la desviación estándar de la concentración de cada uno de los analitos, tanto basal como con los interferentes, utilizándose como prueba de comparación entre la concentración inicial y la obtenida en presencia del interferente, la *t* pareada. Se realizó un análisis de regresión lineal simple de cada

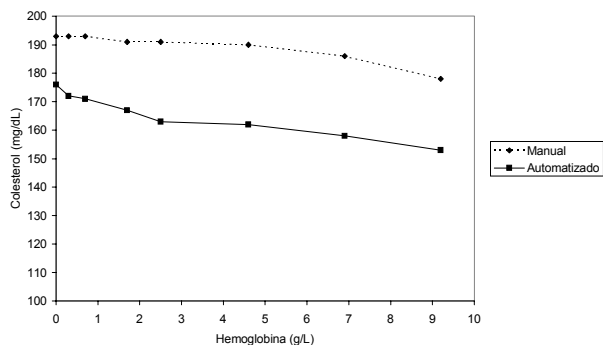


Figura 2. Cuantificación de colesterol por procedimientos manual y automatizado en presencia de diferentes concentraciones de hemoglobina.

analito con cada interferente, trazándose la gráfica. Se obtuvieron las ecuaciones de regresión para predecir la concentración del analito sin el interferente, considerándose únicamente los que tuvieron un coeficiente de correlación mayor de 0.8, de acuerdo al criterio de Saunders, por ser estadísticamente significativo¹⁰.

Los cálculos y gráficas fueron realizados con la hoja de cálculo Excel 2000 (Microsoft, USA).

Resultados

Las concentraciones basales de urea, creatinina y ácido úrico en el pool de sueros obtenidas por procedimientos manuales y automatizados fueron prácticamente iguales, no así para el colesterol que dio un resultado más alto por el procedimiento manual siendo la diferencia estadísticamente significativa (cuadro 1).

La hemoglobina produjo interferencia negativa con la creatinina (Figura 1) y el colesterol (Figura 2), y positiva con el ácido úrico (Figura 3) por los procedimientos manuales. Por los automatizados, solo se observó interferencia negativa para colesterol (Figura 2) y positiva para ácido úrico (Figura 3). La

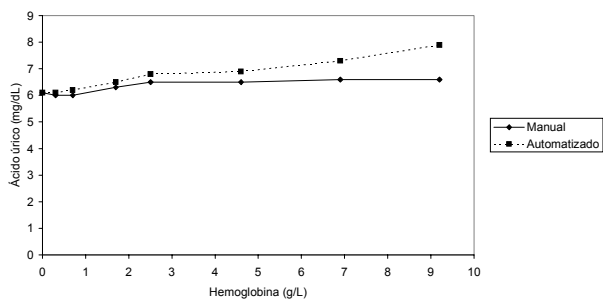


Figura 3. Concentración de ácido úrico por los procedimientos manual y automatizado en presencia de diferentes concentraciones de hemoglobina.

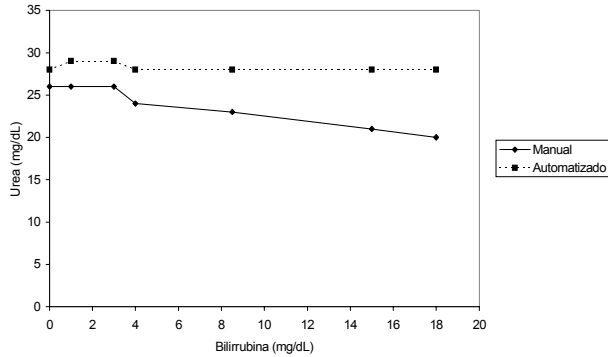


Figura 4. Cuantificación de urea por los procedimientos manual y automatizado en presencia de diferentes concentraciones de bilirrubina.

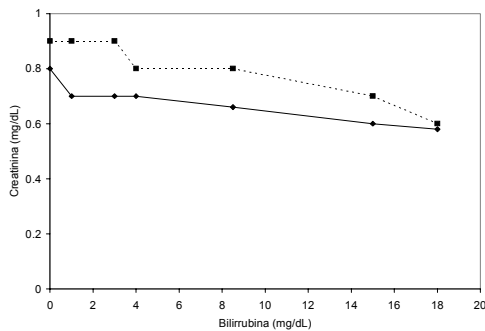


Figura 5. Concentración de creatinina obtenida por procedimientos manual y automatizado en presencia de diferentes concentraciones de bilirrubina.

interferencia inicia en una concentración aproximada de 1 g/L (0.062 mmol/L) para los tres analitos.

La bilirrubina afecta en diferentes concentraciones. Para los procedimientos manuales, con la urea produce una desviación negativa en 3.0 mg/dL (51.3 μ mol/L) (Figura 4), con creatinina a partir de 4.0 mg/dL (68.4 μ mol/L) (Figura 5). Con el ácido úrico (Figura 6) y el colesterol (Figura 7) se observa una desviación positiva para el primero y negativa para el segundo a una concentración aproximada de 1.0 mg/dL (17.1 μ mol/L). Por el procedimiento automatizado, se afectan negativamente la creatinina (Figura 5), el ácido úrico (Figura 6) y el colesterol (Figura 7), todos con una concentración aproximada de 4.0 mg/dL (68.4 μ mol/L).

Con la glucosa no se observaron cambios importantes en la concentración de los analitos con ambos procedimientos.

Las concentraciones promedio de interferencia fueron 4.3 mg/dL (73.5 μ mol/L) para bilirrubina y 1.0 g/dL (0.062 mmol/L) para hemoglobina.

Los modelos lineales obtenidos nos permiten calcular el valor de los analitos (y) sin los interferentes, sustituyendo el valor del interferente (x) en la ecuación. En el caso del ácido úrico, aunque

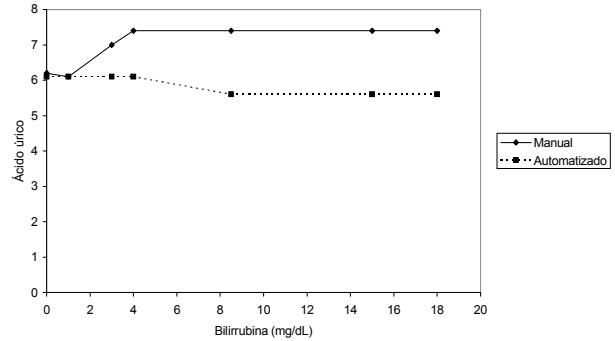


Figura 6. Concentración de ácido úrico en el pool de sueros por procedimientos manual y automatizado en presencia de diferentes concentraciones de bilirrubina.

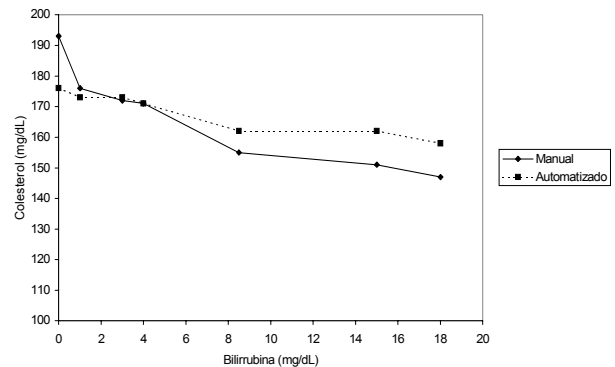


Figura 7. Concentración de colesterol determinado por procedimientos manual y automatizado en el pool de sueros con diferentes concentraciones de bilirrubina.

mostró interferencia gráfica con bilirrubina, el valor del coeficiente de correlación fue de 0.723, no estadísticamente significativo, por lo que la ecuación no fue incluida. (Cuadro 2 y 3)

Discusión

A pesar de la nueva tecnología y la mejora de los procedimientos para la cuantificación de los analitos rutinarios en el laboratorio clínico que incluyen el uso de métodos enzimáticos, cinéticos, o el agregar compuestos que inhiben la formación de complejos no específicos, aún nos encontramos con efectos no deseados cuando las muestras contienen componentes que no podemos evitar.

Se observó que la cantidad de los analitos en el pool de sueros analizados por procedimientos diferentes, fue semejante, a excepción del colesterol, en donde, a pesar de que se utilizó el mismo método, se cuantificó una concentración mayor procesándolo manualmente ($p < 0.05$); esto nos lleva a reflexionar que, aún utilizando métodos enzimáticos, el colesterol cuantificado por métodos manuales sigue siendo un problema analítico.

Cuadro 2. Ecuaciones de regresión y coeficientes de correlación para los analitos afectados por los interferentes bilirrubina y hemoglobina por procedimientos manuales

Analito	Interferente	Ecuación	r
Urea	Bilirrubina	$y = 26.173 - 0.348x$	-0.980
Creatinina	Bilirrubina	$y = 0.745 - 0.010x$	-0.925
	Hemoglobina	$y = 0.702 - 0.032x$	-0.888
Ácido úrico	Hemoglobina	$y = 6.108 + 0.067x$	0.864
Colesterol	Bilirrubina	$y = 181.510 - 2.13x$	-0.920
	Hemoglobina	$y = 194.060 - 1.45x$	-0.944

r = coeficiente de correlación; y = concentración del analito; x = concentración del interferente.

La hemoglobina y la bilirrubina son cromógenos que producen interferencia espectral^{2,6}, encontrándose en la literatura que producen modificaciones a diferentes concentraciones con diferentes analitos. Nosotros encontramos que la concentración de creatinina se ve modificada negativamente a partir de 1.0 g/L (0.062 mmol/L) de hemoglobina en el suero con el procedimiento manual, disminuyendo marcadamente a partir de una concentración interferente de 4.5 g/L (0.279 mmol/L), sin observarse ninguna alteración con el procedimiento automatizado. Al respecto, existe controversia en la literatura ya que Tietz reporta que la hemoglobina interfiere en esta determinación¹¹, lo cual es reafirmado por Murray que indica que la hemoglobina produce interferencia negativa a partir de una concentración de 1.0 g/dL (0.062 mmol/L)¹² y por Mora-Villalpando que observó lo mismo en el Express 550 y en el Alliance 570 a partir de una concentración 0.9 g/L (0.056 mmol/L) del interferente¹³; no obstante, otros autores no han encontrado modificación con concentraciones de hemoglobina hasta de 1.6 g/L (0.099 mmol/L)^{8,14,15}. Es posible que la interferencia sea producida porque la hemoglobina es fácilmente oxidable en medio básico fuerte, formando compuestos incoloros de creatinina con el método de Jaffé tradicional produciendo una desviación negativa¹⁶, sin embargo, cuando se utilizan equipos automatizados esto es variable ya que la concentración del picrato alcalino es modificada, además de que los métodos en los equipos indican la necesidad de utilizar un blanco de muestra o el uso de una dilución para evitar la interferencia.

Con respecto al colesterol, se empleó el método colorimétrico enzimático en los dos procedimientos, encontrándose que la hemoglobina producía una desviación negativa progresiva en ambos, comenzando con 1 g/L (0.062 mmol/L) del interferente. Es posible que esta desviación sea provocada por la descomposición prematura del peróxido de hidrógeno por la hemoglobina, evitando la reacción completa con el colesterol⁸.

Cuadro 3. Ecuaciones de regresión y coeficientes de correlación para los analitos afectados por los interferentes bilirrubina y hemoglobina por procedimientos automatizados.

Analito	Interferente	Ecuación	r
Creatinina	Bilirrubina	$y = 0.912 - 0.016x$	-0.964
Ácido úrico	Bilirrubina	$y = 6.127 - 0.034x$	0.899
	Hemoglobina	$y = 6.119 + 0.187x$	0.986
Colesterol	Bilirrubina	$y = 174.56 - 0.95x$	-0.952
	Hemoglobina	$y = 172.37 - 2.20x$	-0.960

r = coeficiente de correlación; y = concentración del analito; x = concentración del interferente.

Para el ácido úrico se observó una desviación positiva progresiva por ambos procedimientos a la misma concentración, aunque los métodos de determinación utilizados fueron diferentes. Por el procedimiento manual se utilizó un filtrado libre de proteínas y reactivo de ácido fosfotúngstico para la reacción, midiéndose la reducción del mismo, por lo que en el hemolisado pueden estar otras sustancias reductoras provenientes de los eritrocitos como ergotoneína, glutatión y cisteína¹⁷, que producen la interferencia. En el caso del procedimiento automatizado se utilizó el método enzimático con un sistema cromógeno formado por peróxido de hidrógeno/peroxidasa/ fenol/4-amino-antipirina cuya longitud de onda de lectura es a 520 nm, produciéndose una interferencia de tipo espectral, puesto que el máximo de absorción de la hemoglobina está en la banda de 500-600 nm, ocasionando un falso incremento en la concentración del ácido úrico¹⁶.

Con respecto a la bilirrubina como interferente, se observó una desviación negativa en la determinación de urea por el procedimiento manual a partir de 3.0 mg/dL (51.3 μmol/L), pero no con el automatizado. El método manual utilizado fue el de la reacción de Berthelot que, aunque es un método enzimático, tiene como producto de la reacción un complejo colorimétrico que puede inhibirse por la presencia de bilirrubina. Este hallazgo resultó controversial con lo reportado en la bibliografía ya que Giorgio¹⁷ indica que la bilirrubina no causa interferencia significativa en esta determinación.

Para creatinina, Weber observó que la cantidad de este analito disminuye por la presencia de bilirrubina en concentraciones entre 0.5 y 2.9 mg/dL (8.5 y 49.6 μmol/L) por procedimientos automatizados⁷, utilizando la reacción de Jaffé de punto final así como con procedimientos enzimáticos; Mora-Villalpando reporta lo mismo a una concentración de 3.1 mg/dL (53.0 μmol/L) para el Express 550 y el Alliance 570¹³; mientras que otros autores encontraron que esta interferencia se da negativamente cuando los

valores de bilirrubina son mayores a 5.8 mg/dL (99.2 $\mu\text{mol/L}$) al ser analizada en el Hitachi 737 y el Beckman CX 3^{18,19}. En este trabajo se observa que la bilirrubina causa desviación negativa a partir de 3.0 mg/dL (51.3 $\mu\text{mol/L}$) en el procedimiento automatizado y cercano a 4.0 mg/dL (68.4 $\mu\text{mol/L}$) en el manual. En este sentido, se ha demostrado que una base fuerte oxida la bilirrubina a un cromógeno no identificado llevando a un decremento en la absorción en la región de 400-500 nm produciendo, como consecuencia, la disminución de creatinina, siendo los equipos automatizados más sensibles a esta disminución²⁰⁻²².

En el caso de ácido úrico, la bilirrubina causó desviación positiva cuando se cuantificó manualmente (1.0 mg/dL, 17.1 $\mu\text{mol/L}$) y negativa analizada en el equipo automatizado (4.0 mg/dL, 68.4 $\mu\text{mol/L}$). A este respecto, los investigadores Feitchmeir y Wrenn¹⁷ proponen que existe una correlación muy pobre entre los resultados obtenidos con el método de fosfotungstato alcalino y los que se logran con las técnicas espectrofotométricas diferenciales con uricasa, de esta manera, el método de carbonato-fosfotungstato cuantifica habitualmente más ácido úrico que la técnica con uricasa, aunque nosotros no encontramos diferencias sustanciales entre los dos métodos. Por otro lado, se reporta que la bilirrubina causa interferencia positiva en el método de fosfotungstato alcalino a concentraciones mayores de 8.5 mg/dL (145.4 $\mu\text{mol/L}$)¹⁷, sin embargo, en este trabajo la interferencia fue desde 1.0 mg/dL (17.1 $\mu\text{mol/L}$) hasta 4.0 mg/dL (68.4 $\mu\text{mol/L}$) a partir de la cual se mantiene constante. Para la cuantificación por el método enzimático, Fossati y cols. demostraron que el uso de una longitud de onda de 520 nm para medir el complejo formado de quinoneimina evita la interferencia espectral de la bilirrubina²³, y Schultz indica que el ácido úrico no se ve afectado por la presencia de bilirrubina en el Olympus AU800, aún en concentraciones superiores a 8 mg/dL (136.8 $\mu\text{mol/L}$)²⁴ del interferente, sin embargo, nosotros observamos que disminuye la concentración a partir de 4.0 mg/dL (68.4 $\mu\text{mol/L}$) semejante a lo reportado por Beyne que encontró una disminución del ácido úrico de aproximadamente el 22% con una concentración de bilirrubina directa de 2.0 mg/dL (34.2 $\mu\text{mol/L}$)²⁵, por lo que pensamos que la bilirrubina pudo interferir químicamente en la reacción acoplada de peróxido de hidrógeno y la peroxidasa en la reacción de oxidación produciéndose la disminución, como lo han informado diferentes autores^{4,25,26}.

En la determinación de colesterol se encontró una desviación negativa cuando la bilirrubina tiene una concentración superior a 1.0 mg/dL (17.1 $\mu\text{mol/L}$) por ambos procedimientos, más notoriamente con el manual. Se piensa que los métodos enzimáticos se ven menos sujetos a posibles interferencias, no obstante, no hay una absoluta especificidad para el colesterol puesto que la bilirrubina, al ser una sustancia reductora, puede interferir químicamente de la misma forma que lo hace con el ácido úrico,

pues se emplea el mismo sistema enzimático en la reacción⁴, sobretodo si se utiliza fenol²⁷, como es el caso de los dos métodos empleados.

La glucosa, como sustancia interferente, no causó ninguna modificación en la concentración de los analitos estudiados. A este respecto, diversos investigadores mencionan que la glucosa es considerada una sustancia no proteica que puede afectar la determinación de creatinina por el método de Jaffé en muy altas concentraciones, entre 900 y 1000 mg/dL (50 y 55 mmol/L)^{7,16,20,28}, pero no se informa de interferencia alguna con los demás; por lo tanto, la causa de que no hayamos observado ningún efecto es porque la concentración máxima que se utilizó no es significativa para interferir.

Aunque Glick y Ryder^{9,29} proponen que las fórmulas de corrección están limitadas para cada analizador, método, reactivos y condiciones de laboratorio en donde se obtienen, debido al tipo de experimento llevado a cabo en este trabajo, las ecuaciones pueden ser aplicables a los resultados obtenidos en cualquier laboratorio, si los métodos utilizados son iguales a los aquí señalados.

Finalmente, podemos concluir que la bilirrubina es la sustancia interferente que más afecta las determinaciones rutinarias de química clínica. Vale la pena remarcar que los métodos manuales se ven más afectados por los interferentes, por lo que cuando trabajamos con estos procedimientos debemos tomar en cuenta la posible interferencia si es que tenemos una muestra icterica o hemolisada y calcular el valor ajustado utilizando las fórmulas propuestas.

Agradecimientos

Al Dr. Mariano Zacarías Flores por la traducción del resumen al inglés.

Referencias

1. Kroll HM, Ellin JR. Interference with clinical laboratory analyses. *Clin Chem* 1994; 40: 1996-2005.
2. Carraro P, Servidio G, Plebani M. Hemolyzed specimens: a reason for rejection or a clinical challenge? [Letter] *Clin Chem* 2000; 46: 306-307.
3. Morán-Villatoro L. Calidad en el laboratorio clínico. En: Morán-Villatoro L. Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica. Mejoría continua de la etapa preanalítica. México: Médica Panamericana; 2001. p. 28-32.
4. Kaplan L, Pesce A. Interferencias en el análisis espectral. En Kaplan L, Pesce A. Química clínica, técnicas de laboratorio, fisiopatología, métodos de análisis, teoría, análisis y correlación. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1988. p. 1163-1176.
5. Weber AJ, Zanten PA. Interferences in current methods for measurements of creatinine. *Clin Chem* 1991; 37: 695-700.

6. Pickard AN. Recolección y manipuleo de las muestras del paciente. En: Kaplan L, Pesce A. Química clínica, técnicas de laboratorio, fisiopatología, métodos de análisis, teoría, análisis y correlación. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1988. p. 50-55.
7. Yüsel D, Dalva K. Effect of *in vitro* hemolysis on 25 common biochemical tests. Clin Chem 1992; 38: 575-577.
8. Glick RM, Ryder WK. Double trouble: hemolysis and stabilized hemoglobins (so you think, you seeing red now?). Clin Chem 1993; 39: 1761-1763.
9. IFCC. Drug effects in clinical chemistry. Part 2. Guidelines for evaluation of analytical interferences. J Clin Chem Clin Biochem 1984; 22: 275-279.
10. Sauders BC, Trapp RG. Bioestadística médica. México: El Manual Moderno; 1993. p. 62-64, 187-214.
11. Tietz N. Clinical Guide to Laboratory Tests. 2nd. Ed. New York: WB Saunders. 1990. p. 174.
12. Murray RL. Creatinine. En: Pesce- Kaplan Publisher. Laboratory Medicine: A Scientific and Managerial Infobase. V. 4.2. 2000.
13. Mora-Villalpando CJ. Influencia de la bilirrubina, la hemoglobina y la glucosa en la determinación de creatinina por el método de Jaffé manual y automatizado. Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico Biólogo. FES Zaragoza, UNAM. 1998.
14. Carl HS, Landt M, Steelman M y cols. The Kodak Ektachem 400 analyser: evaluated for automated enzymatic determination of plasma creatinine. Clin Chem 1983; 29: 1422-1425.
15. Knapp ML, Mayne PD. Development of an automated kinetic Jaffé method designed to minimize bilirubin interference in plasma creatinine assays. Clin Chim Acta 1987; 68: 239-246.
16. Jones BA, Calam RR, Howanitz PJ. Chemistry specimen acceptability. A College of American Pathologists Q-Probes study of 453 laboratories. Arch Pathol Lab Med 1997; 121: 19-26.
17. Giorgio DJ. Sustancias nitrogenadas no proteicas. En: Henry JH, Cannon CD, Winkelman WJ. Química clínica. Principios y técnicas. Madrid: JIMS; 1980. p. 513-515, 531-537.
18. Guy MJ, Legg FE. Bilirubin interference in determinations of creatinine with the Hitachi 737 analyzer. Clin Chem 1990; 36: 1851-1852.
19. Sant VP, Kreutzer HJ. Artificial icteric plasmas: unreliable indicators for interference with creatinine assay on Beckman CX3. Clin Chem 1995; 41: 1773-1774.
20. Bowers DL, Wong TE. Kinetic serum creatinine assays. II. A critical evaluation and review. Clin Chem 1980; 26: 555-561.
21. Osselaer CJ, Lievens MM. More on interference of bilirubin in creatinine determination by Hitachi analyzers. Clin Chem 1991; 37: 1460-1461.
22. Ihara H, Nakamura H, Yoshida M, Wu TW. Effect of bilirubin covalently attached to albumin on measurement of serum creatinine. Clin Chem 1992; 38: 321-322.
23. Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymatic assay of uric acid in serum and urine. Clin Chem 1980; 26: 227-231.
24. Schultz AL. Uric acid. En: Pesce- Kaplan Publisher. Laboratory Medicine: A Scientific and Managerial Infobase. V. 4.2. 2000.
25. Beyne P, Lettéron P, Hervé C, Roulet JB, Delacoux E. Bilirubin interference with determination of creatinine, lactate, phosphorus, and uric acid on Beckman Synchron CX7. [Letter] Clin Chem 1996; 42: 988-989.
26. Aoki Y, Ihara H, Nakamura H, Aoki T, Yoshida M. Effects of serum bilirubin on determination of uric acid by uricase-peroxidase coupled reaction. Clin Chem 1992; 38: 1350-1352.
27. Pesce A, Bodowria H. Interference with enzymatic measurement of cholesterol in serum by use of five reagent kits. Clin Chem 1977; 23: 757-760.
28. Lindbäck B, Bergman A. A new commercial method for the enzymatic determination of creatinine in serum and urine evaluated: comparison with a kinetic Jaffé method and isotope dilution-mass spectrometry. Clin Chem 1989; 35: 835-837.
29. Ryder KW, Glick MR. Erroneous laboratory results from hemolyzed, icteric, and lipemic specimens. [Letter] Clin Chem 1993; 39: 175-176.