

Utilidad de los índices séricos para la valoración de las interferencias causadas por la hemólisis y la bilirrubina en la medición de distintos constituyentes bioquímicos

G.D. García Aguilar, M.Á. Pico Picos, L. Quintana Hidalgo, Á. Cabrera Argany, M. Lorenzo Medina, J. Á. Aguilar Doreste

Resumen

Objetivo: Evaluar mediante los índices séricos la interferencia producida por la hemoglobina (Hb) y la bilirrubina (BT) en la medición de 25 constituyentes utilizando un Sistema Analítico Modular Roche/Hitachi SWA (Módulos P,ISE y E-170).

Métodos: Se añadieron cantidades crecientes de hemolizado (hasta 5,11 g/L de Hb) y de BT (hasta 445 µmol/L) a alícuotas de una mezcla de sueros de pacientes y se determinó en ellas, por duplicado, la influencia del interferente en los constituyentes.

Resultados: No se encontró interferencia por la Hb en los métodos de: glucosa (GL), urato (AU), creatinina (CR), colesterol (CT), colesterol HDL (cHDL), colesterol LDL (cLDL), calcio (Ca), proteína (PT), vitamina B12 (vitB12), γ -glutamyltransferasa (γ -GT) y α -amilasa (AMY); interferencia positiva en urea (UR), triglicérido (TG), fosfato (P) magnesio (Mg), ión potasio (K), hierro (Fe), ferritina (FER), folato (FOL), aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), lactato deshidrogenasa (LDH) y creatina cinasa (CK); interferencia negativa en fosfatasa alcalina (ALP).

No se observó interferencia por la BT en: GL, UR, AU, cHDL, cLDL, TG, Ca, P, K, Fe, FER, FOL y vitB12; interferencia positiva en Mg; interferencia negativa en CR, PT, CT, AST, ALT, LDH, ALP, γ -GT, CK y AMY.

Conclusiones: En todos los constituyentes en los que se observa interferencia por la Hb y la BT es recomendable utilizar los índices séricos de hemólisis y de ictericia para la detección y cuantificación de dicho efecto.

Palabras clave: Técnicas y Procedimientos de Laboratorio.

Summary. Usefulness of serum indices to evaluate the interferences caused by hemolysis and bilirubin in the measurement of different biochemical constituents.

Objective: To evaluate by means of serum indices the interference by haemoglobin (Hb) and bilirubin (BT) in the measurement of 25 biochemical constituents using a Roche/Hitachi Modular System SWA (P, ISE and E-170 Modules).

Methods: Increasing quantities of hemolysate (up to 5,11g/L of Hb), and BT (up to 445 µmol/L) were added to aliquots of a mixture of sera and it was determined, in duplicate, how the interfering substance altered the measured concentrations of 25 different constituents.

Results: No interference by Hb was found in the methods of: glucose (GL), urate (AU), creatinine (CR), cholesterol (CT), HDL-cholesterol (cHDL), LDL-cholesterol (cLDL), calcium (Ca), protein (PT), vitamin B12 (vitB12), γ -glutamyltransferase (γ -GT) and amylase (AMY); positive interference in urea (UR), triglycerides (TG), phosphate (P), magnesium (Mg), potassium (K), iron (Fe), ferritin (FER), folate (FOL), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK); negative interference in alkaline phosphatase (ALP).

No interference for BT was found in: GL, UR, AU, cHDL, cLDL, TG, Ca, P, K, Fe, FER, FOL and vitB12; positive interference in Mg; negative interference in CR, PT, CT, AST, ALT, LDH, ALP, γ -GT, CK y AMY.

Conclusions: In all the constituents for whom interference by Hb or BT is observed, it is advisable to use the serum indices of hemolysis and jaundice to detect and quantify such effect.

Key words: Laboratory Techniques and Procedures.

INTRODUCCIÓN

El objetivo de los laboratorios clínicos es obtener datos analíticos exactos y precisos que permitan tomar las decisiones clínicas

Servicio de Análisis Clínicos
Hospital Universitario de Gran Canaria Dr Negrín
Las Palmas de Gran Canaria

apropiadas. Las interferencias, junto con la imprecisión y la inexactitud sistemática, son uno de los mayores contribuyentes al error total de un procedimiento analítico y, por tanto, ante la incorporación de un nuevo sistema analítico o en cualquier evaluación analítica de un procedimiento se debe incluir, al menos, el estudio de aquellas interferencias obvias que más frecuentemente afectan a los resultados de los laboratorios clínicos como son la hemólisis y la bilirrubina (1-3).

La hemólisis puede ocurrir *in vivo* o *in vitro*, siendo la mayoría de las muestras hemolizadas (>95%) atribuibles a procesos *in vitro* resultantes de la incorrecta obtención o transporte de la muestra (4,5). Los especímenes hemolizados presentan una prevalencia del 3,3% y constituyen aproximadamente el 60% de las causas de rechazo de las muestras en el laboratorio clínico (6). Generalmente, la hemólisis en el suero no es visible hasta que alcance una concentración de hemoglobina de 0,2 g/L (2). La presencia de hemoglobina puede causar un aumento o una disminución en los resultados de la medida de algunos constituyentes. Si esta interferencia excede de cierta magnitud, los resultados están afectados y la interferencia es clínicamente relevante. La hemólisis tiene un ligero efecto en los constituyentes que están presentes en menor concentración en eritrocitos que en plasma, pero tiene un marcado efecto en los que están en mayor concentración en los eritrocitos. Además, la hemoglobina también puede interferir directamente en la medición colorimétrica de los constituyentes ya que tiene un espectro de absorción que comienza alrededor de los 340 nm, aunque su banda característica está entre 500 y 600 nm, afectando de esta manera a la concentración o actividad de los constituyentes medidos en este intervalo de longitud de onda (7,8).

Habitualmente, las concentraciones de bilirrubina por encima de 35 $\mu\text{mol/L}$ son clínicamente definidas como hiperbilirrubinemia, mientras que las muestras ictericas tienen concentraciones de bilirrubina superiores a 100 $\mu\text{mol/L}$ (9) y son indicativas de un proceso fisiológico, posiblemente con repercusiones clínicas. La bilirrubina puede producir una interferencia espectral y una interferencia química. La interferencia espectral, se produce cuando la absorbancia de la bilirrubina y la del cromógeno producido en la reacción se solapan y es debida a la fuerte absorbancia de la bilirrubina entre 400 y 540 nm (10); este tipo de interferencia puede ser eliminado por medición de la absorbancia a una longitud de onda mayor de tal forma que pueda excluir en parte la contribución de la bilirrubina. La interferencia química, se produce cuando parte de la reacción intermedia es destruida por las altas concentraciones de bilirrubina, de ese modo disminuye en parte la concentración del cromógeno formado; este tipo de interferencia puede ser eliminada por adición de ferrocianida en la mezcla de la reacción, pues estabiliza la reacción intermedia (7,10).

El objetivo de este trabajo fue establecer mediante los índices séricos de hemólisis (H-índice) y de ictericia (I-índice), que actualmente se incorporan en los sistemas analíticos, la posibilidad de cuantificar los cromógenos que puedan interferir en la medición rutinaria de 25 constituyentes, con la finalidad de indicar en los informes de laboratorio cuando existe una limitación en los resultados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Instrumentación y reactivos

Los 25 constituyentes investigados, así como la bilirrubina, fueron valorados en un Sistema Modular Roche/Hitachi SWA que consta de los módulos P, ISE y E-170 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany), con reactivos y calibradores de Roche Diagnostic (tabla I), los métodos analíticos empleados se realizan según las indicaciones del fabricante. El Sistema Modular Roche puede detectar la hemólisis y la ictericia del suero o plasma, mediante la comparación de la absorbancia de la muestra a dos longitudes de ondas, y generar unos valores llamados H-índice e I-

índice que son una medida semicuantitativa fidedigna del grado de estas interferencias.

La medición de hemoglobina se realiza en un contador de células sanguíneas Cell-dyn Sapphire (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Germany).

Procedimiento

Se utiliza una mezcla de sueros de pacientes con concentraciones séricas de los constituyentes estudiados, próximas a los puntos de decisión (tabla I), a las que se les somete a los siguientes procesos:

- *Adición de hemolizado:* La hemoglobina fue añadida en forma de un hemolizado de eritrocitos preparado por disrupción osmótica con agua destilada según el procedimiento de Meites (11) recomendado por la SEQC (1). Se añadió cantidades crecientes del hemolizado a seis diferentes alícuotas de la mezcla de sueros de pacientes obteniéndose muestras con concentraciones crecientes de hemoglobina, hasta una concentración de 5,11 g/L. Se calculó en cada una de las alícuotas, las concentraciones de hemoglobina y se midió en ellas, por duplicado, como afecta el interferente a los constituyentes; obteniéndose la magnitud, tipo de interferencia y los H-índices.

- *Adición de bilirrubina:* Se preparó una solución madre de bilirrubina de 5130 mmol/L (300 mg/dL) a partir de sustancia pura de bilirrubina (Sigma Ref. B4126) disolviéndola con hidróxido sódico y agua destilada. La solución madre se añadió a siete diferentes alícuotas de la mezcla de sueros de pacientes, obteniéndose muestras con concentraciones crecientes de bilirrubina, hasta una concentración de 445 mmol/L (26 mg/dL). Se midió en cada una de las alícuotas, por duplicado, las concentraciones de bilirrubina y como afecta el interferente a los constituyentes; obteniéndose la magnitud, tipo de interferencia y los I-índices.

- *Evaluación de las interferencias:* Se realizó mediante el método de Glick et al (12), expresándose los resultados como un porcentaje del resultado original. Para ello, se hace una representación gráfica de esta relación mediante un interferograma, en el que se representa $(C/C_0) \times 100$ frente a H- e I-índice, donde (C_0) es la concentración inicial sin interferente y (C) la concentración medida experimentalmente del constituyente en estudio. Las interferencias se compararon con las actuales especificaciones de calidad analítica para la máxima inexactitud deseable (MID), derivada de la variación biológica intraindividual (13). Se consideró a la interferencia como clínicamente relevante cuando era superior a la MID (14).

Las interferencias se clasificaron en tres categorías: 1) Nula, cuando los resultados se desvían, del resultado inicial, menos de la MID. 2) Positiva o negativa, cuando se desvían, del resultado inicial, más de la MID pero menos del 20%: positiva cuando $120 > C/C_0 > \text{MID}$, negativa si $80 < C/C_0 < \text{MID}$. 3) Fuertemente positiva o fuertemente negativa, cuando se desvían más de un 20% del resultado inicial: fuertemente positiva cuando $C/C_0 > 120$, fuertemente negativa si $C/C_0 < 80$.

RESULTADOS

En las figuras 1-4 se representan las interferencias causadas por la hemólisis en la medición de urea, ferritina, magnesio, colesterol, fosfato, proteína, hierro, potasio, folato, creatina cinasa (CK),

Tabla I. Métodos, reactivos y concentraciones séricas de los constituyentes investigados

Constituyentes	Método	Estudio hemólisis	Estudio ictericia	Módulo
Glucosa	Hexoquinasa	5,94 mmol/L (108 mg/dL)	6,24 mmol/L (113 mg/dL)	P
Urea	Ureasa	6,06 mmol/L (37 mg/dL)	5,31 mmol/L (32 mg/dL)	P
Urato	Uricasa	0,305 mmol/L (5,14 mg/dL)	0,29 mmol/L (4,9 mg/dL)	P
Creatinina	Creatinasa	65,4 μ mol/L (0,74 mg/dL)	61,0 μ mol/L (0,7 mg/dL)	P
Proteína	Biuret	67,5 g/L (6,75 mg/dL)	70,0 g/L (7,0 mg/dL)	P
Colesterol	CHOD-PAP	5,69 mmol/L (220 mg/dL)	5,54 mmol/L (214 mg/dL)	P
Colesterol HDL	Directo	1,40 mmol/L (54 mg/dL)	1,42 mmol/L (55 mg/dL)	P
Colesterol LDL	Directo	3,69 mmol/L (143mg/dL)	3,87 mmol/L (149 mg/dL)	P
Triglicérido	GPO-PAP	1,68 mmol/L (149 mg/dL)	1,69 mmol/L (150 mg/dL)	P
Calcio	O-cresolfaleína	2,28 mmol/L (9,14 mg/dL)	2,29 mmol/L (9,2 mg/dL)	P
Fosfato	Fosfomolibdato	1,15 mmol/L (3,56 mg/dL)	1,22 mmol/L (3,8 mg/dL)	P
Magnesio	Azul de xilidil	0,73 mmol/L (1,77 mg/dL)	0,75 mmol/L (1,82 mg/dL)	P
Ión Potasio	Potenciometría ind	4,46 mmol/L (4,46 mEq/L)	4,20 mmol/L (4,2 mEq/L)	ISE
Hierro	Ferrozina	14,4 μ mol/L (81 μ g/dL)	17,3 μ mol/L (97 μ g/dL)	P
Ferritina	Electroquimiolum.	88,9 ng/mL (88,9 μ g/L)	91 ng/mL (91 μ g/L)	P
Folato	Electroquimiolum.	8,94 nmol/L (3,94 μ g/L)	2,94 nmol/L (6,7 μ g/L)	E-170
Vitamina B12	Electroquimiolum.	429 pg/mL (317 pmol/L)	454 pg/mL (335 pmol/L)	E-170
AST	IFCC	20 UI/L	27 UI/L	P
ALT	IFCC	18 UI/L	28 UI/L	P
LDH	DGKC	258 UI/L	300 UI/L	P
ALP	IFCC	82 UI/L	84 UI/L	P
γ -GT	Método Szasz	52 UI/L	54 UI/L	P
CK	DGKC, IFCC	85 UI/L	129 UI/L	P
α -Amilasa	IFCC	62 UI/L	86 UI/L	P

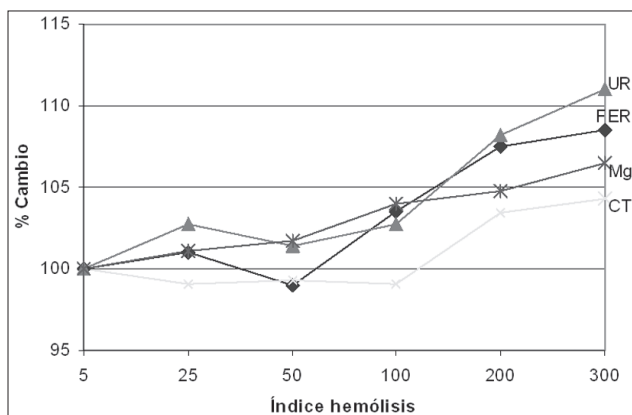


Figura 1. Interferencia causada por la hemólisis en la medición de urea (UR), ferritina (FER), magnesio (Mg) y colesterol (CT).

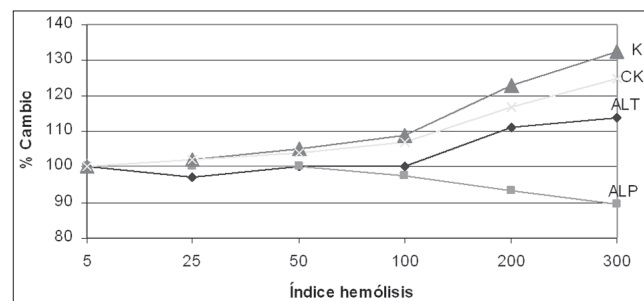


Figura 3. Interferencia causada por la hemólisis en la medición de potasio (K), creatina cinasa (CK), alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (ALP).

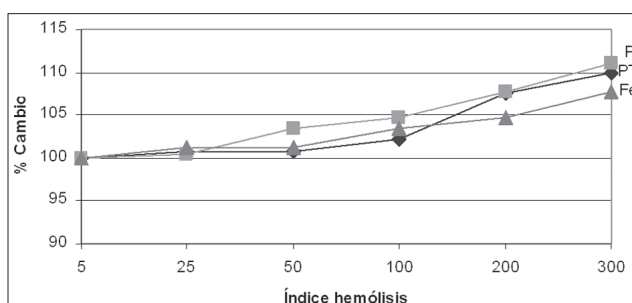


Figura 2. Interferencia causada por la hemólisis en la medición de fosfato (P), hierro (Fe) y proteína (PT).

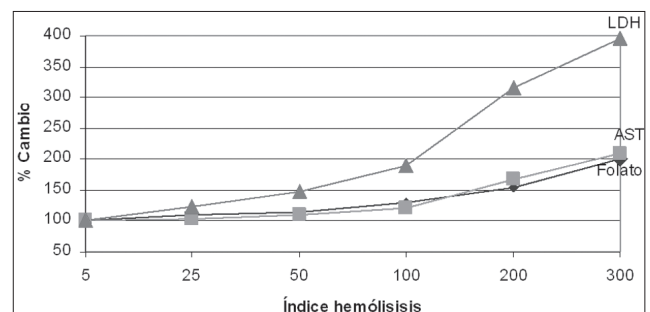


Figura 4. Interferencia causada por la hemólisis en la medición de lactato deshidrogenasa (LDH), aspartato aminotransferasa (AST) y folato (FOL).

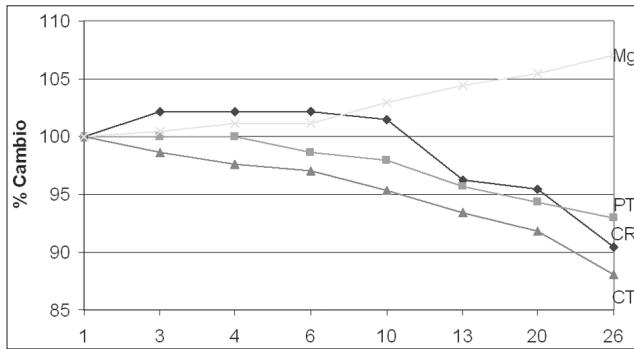


Figura 5. Interferencia causada por la bilirrubina en la medición de magnesio (Mg), proteínas (PT), creatinina (CR) y colesterol (CT).

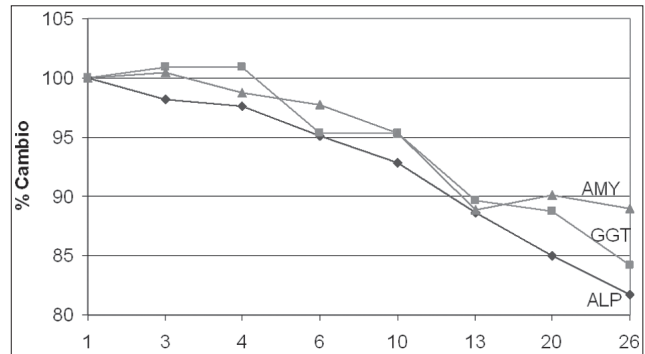


Figura 6. Interferencia causada por la bilirrubina en la medición de fosfatasa alcalina (ALP), γ-Glutamiltransferasa (γ-GT) y α-amilasa (AMY).

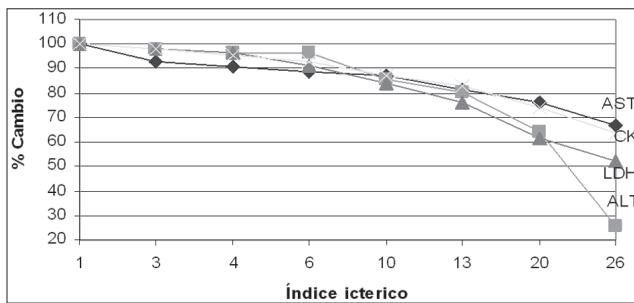


Figura 7. Interferencia causada por la bilirrubina en la medición de aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), lactato deshidrogenasa (LDH) y creatina cinasa (CK).

alanina aminotransferasa (ALT), fosfatasa alcalina (ALP), lactato deshidrogenasa (LDH) y aspartato aminotransferasa (AST).

En las figuras 5-7 se representan las interferencias causadas por la bilirrubina en la medición de magnesio, proteína, creatinina, colesterol, ALP, γ-glutamilttransferasa (γ-GT), a-amilasa (AMY), ALT, AST, LDH y CK.

En las tablas II y III, se exponen los porcentajes relativos de desviación de la concentración del constituyente con respecto al resultado inicial y las especificaciones de calidad analítica para la máxima inexactitud deseable.

En la tabla IV se refleja el tipo de interferencia e índices séricos en los que se detecta la interferencia clínicamente relevante para cada uno de los constituyentes.

Tabla II. Influencia de la hemólisis en la medición de los diferentes constituyentes. Porcentajes relativos de desviación de la concentración del constituyente con respecto al resultado inicial y especificaciones para la máxima inexactitud deseable (11)

Constituyentes	Inexactitud deseable, % (±)	Hemoglobina (g/L)					
		No lisis	0,36	0,73	1,46	3,65	5,11
		H-índice					
		6 (%)	25 (%)	50 (%)	100 (%)	200 (%)	300 (%)
Glucosa	2,3	0,0	0,0	-1,4	0,9	0,0%	0,9%
Urea*	5,5	0,0	2,7	1,4	2,7	8,2	11,0
Urato	4,8	0,0	-0,9	-0,9	-0,4	-1,4	-1,8
Creatinina	3,4	0,0	-1,4	-1,4	-2,0	-3,4	-1,4
Proteína*	2,9	0,0	0,7	0,7	2,2	4,4	4,4
Colesterol*	4,0	0,0	-0,9	-0,7	-0,9	3,4	4,3
Colesterol HDL	5,2	0,0	-0,9	-0,9	-0,9	-1,9	-0,9
Colesterol LDL	6,8	0,0	0,9	1,5	0,1	-2,6	1,7
Triglicérido	10,7	0,0	0,4	1,0	1,7	2,0	8,1
Calcio	0,8	0,0	0,2	-0,4	-0,7	0,1	0,8
Fosfato*	3,2	0,0	0,4	3,4	4,7	7,7	11,1
Magnesio*	1,8	0,0	1,1	1,7	4,0	4,8	6,5
Ión Potasio*	1,8	0,0	2,0	5,0	8,9	23,0	32,5
Hierro*	8,8	0,0	2,0	1,2	2,5	7,5	10
Ferritina*	5,0	0,0	2,2	1,0	3,5	7,5	8,5
Folato*	19,2	0,0	9,7	11,9	25,9	64,4	107,3
Vitamina B12	No dato	0,0	0,0	1,5	0,6	1,6	3,4
AST*	5,4	0,0	2,5	10,0	20,0	67,5	110,0
ALT*	12,0	0,0	2,8	0,0	0,0	11,1	13,9
LDH*	4,3	0,0	23,6	48,4	89,5	215,3	295,1
ALP*	6,4	0,0	0,0	0,0	-2,5	-6,8	-10,4
γ-GT	10,8	0,0	-4,8	-3,8	-3,8	-3,8	-4,8
CK*	11,5	0,0	0,6	3,6	7,1	17,8	24,9
α-Amilasa	7,8	0,0	0,0	-0,8	-2,4	-3,2	-4,0

Los resultados son comparados con las especificaciones de inexactitud deseable y los que exceden el error relativo deseable están marcados en cursiva y negrita (*) Constituyentes en los que se encuentra interferencia

Tabla III. Influencia de la bilirrubina en la medición de los diferentes constituyentes. Porcentajes relativos de desviación de la concentración del constituyente con respecto al resultado inicial y especificaciones para la máxima inexactitud deseable (11)

Constituyentes	Inexact deseable % (±)	Bilirrubina $\mu\text{mol/L}$ (mg/dL)								
		No lisis	39,3 (2,30)	57,1 (3,34)	101,7 (5,95)	169,3 (9,9)	239,4 (14,0)	345,4 (20,2)	445,0 (26,0)	
		I-índice								
		1 (%)	3 (%)	4 (%)	6 (%)	10 (%)	13 (%)	20 (%)	26 (%)	
Glucosa	2,3	0,0	0,4	0,4	-0,9	-0,4	0,0	-0,4	-0,9	
Urea	5,5	0,0	-1,6	-3,1	-4,7	0,0	-3,1	-1,6	-1,6	
Urato	4,8	0,0	-0,4	-0,2	-0,8	-1,3	-1,8	-3,2	-3,7	
Creatinina*	3,4	0,0	0,0	0,0	-0,7	-2,2	-5,8	-6,5	-9,4	
Proteína*	2,9	0,0	0,0	0,0	-1,4	-2,1	-4,3	-5,7	-7,1	
Colesterol*	4,0	0,0	-2,3	-3,0	-4,7	-4,7	-6,5	-8,2	-11,8	
Colest HDL	5,2	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	-0,9	-1,8	-0,9	
Colest LDL	6,8	0,0	-1,3	-1,3	-1,3	-1,0	-1,0	-1,7	-0,7	
Triglicérido	10,7	0,0	0,7	1,0	0,3	2,0	3,7	2,0	2,7	
Calcio	0,8	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,2	1,4	0,6	
Fosfato	3,2	0,0	-0,4	-0,7	-0,1	-0,4	-1,8	-0,9	-0,4	
Magnesio*	1,8	0,0	0,5	1,1	1,1	3,0	4,4	5,5	6,8	
Potasio	1,8	0,0	-1,3	-1,6	-1,5	-1,1	-1,6	-1,8	-1,1	
Hierro	8,8	0,0	0,0	0,0	1,6	3,1	3,1	3,6	5,1	
Ferritina	5,0	0,0	2,3	0,6	2,1	0,6	1,1	0,2	-1,9	
Folato	19,2	0,0	-1,3	1,8	0,9	3,2	4,1	2,1	-1,8	
Vit B12	No dato	0,0	-2,2	-1,9	-0,3	-1,7	-2,2	-2,5	-1,1	
AST*	5,4	0,0	-7,4	-9,3	-11,1	-13,0	-18,5	-25,9	-36,0	
ALT*	12,0	0,0	-1,8	-3,6	-3,6	-14,3	-19,6	-35,7	-74,5	
LDH*	4,3	0,0	-2,2	-3,5	-8,7	-15,8	-23,7	-38,3	-47,7	
ALP*	6,4	0,0	-1,8	-2,4	-4,2	-7,2	-11,4	-15	-18,3	
γ -GT*	10,8	0,0	0,0	0,0	-4,7	-4,7	-10,3	-11,2	-15,7	
CK*	11,5	0,0	-1,9	-4,7	-7,4	-12,8	-17,1	-26	-37,5	
α -Amilasa*	7,8	0,0	0,0	-1,2	-2,3	-4,7	-11,0	-11	-11,0	

Los resultados son comparados con las especificaciones de inexactitud deseable y los que exceden el error relativo deseable están marcados en cursiva y negrita. (*) Constituyentes en los que se encuentra interferencia

DISCUSIÓN

El Sistema Modular Roche/Hitachi tiene la capacidad de detectar la hemólisis y la ictericia en las muestras de suero o plasma mediante unos índices séricos que se correlacionan linealmente con las concentraciones del interferente. Los índices pueden ser usados para detectar la interferencia generando unas tablas de tolerancia, con unos índices de decisión que nos indican cuando hay una interferencia clínicamente relevante debida a la hemólisis o la bilirrubina (tabla IV). Sin embargo, los resultados de la interferencia en un sistema analítico no pueden ser generalizados para otros reactivos o instrumentos ya que puede ser que no se reproduzcan en otro sistema, lo que nos indica que es recomendable que cada laboratorio sea capaz de identificar y evaluar a los especímenes hemolíticos e ictericos.

Numerosos laboratorios consideran la existencia de interferencia en un resultado en base a la diferencia de un 5% con respecto al resultado inicial (12). Sin embargo, es obvio que diferentes criterios deben ser aplicados para los constituyentes con baja variación intraindividual (p. ej. calcio, potasio) en comparación con constituyentes con gran variación intraindividual (CK, triglicérido) (4). Los límites de decisión en este estudio, para considerar a la interferencia como clínicamente relevante, fueron escogidos en base a las variaciones intraindividuales tal como está publicado en la literatura (13).

En nuestro estudio no encontramos interferencia, clínicamente relevante, causada por la hemólisis en la medición de la concentración

de: glucosa, urato, creatinina, colesterol de HDL, colesterol de LDL, triglicérido, calcio, vitamina B12, γ -GT y AMY. La interferencia ha sido relacionada con el grado de lisis de los eritrocitos y por la especificidad de los métodos usados. Diversos estudios han encontrado que la interferencia por hemólisis en los resultados de diversos constituyentes, especialmente en los de potasio, LDH, AST, ALT, ALP, folato, fosfato y magnesio (14-16), es debida a las mayores concentraciones de estos constituyentes en el interior del eritrocito que en el suero. Así, Caraway (17) informa que los eritrocitos contienen aproximadamente 160 veces más de LDH, 40 veces más de AST y 22 veces más de potasio que las concentraciones contenidas en el suero, lo cual se refleja mediante una interferencia fuertemente positiva, mientras que el magnesio, cuya concentración en el interior de los eritrocitos es tres veces superior a la del plasma (18), presenta una interferencia positiva. La interferencia para la CK ha sido atribuida a que la adenilato cinasa intracelular no está completamente inhibida en el momento de la reacción (19). Mientras que para el hierro y la ALP el hemolizado puede originar una interferencia espectral y además, pueden reaccionar con los componentes de la reacción (14).

Observamos que, aunque diversos constituyentes bioquímicos son afectados por la hemólisis, ante una hemólisis ligera, con H-índice inferior a 100, sólo los resultados de potasio, folato, LDH, AST, fosfato y magnesio deben ser rechazados. Mientras que se necesita un H-índice >100 para que se produzca la interferencia en CK, ALT, ferritina, urea, proteína, hierro y colesterol. En concor-

Tabla IV. Índices séricos en los que detecta la interferencia

Constituyentes	Interferencia por hemólisis		Interferencia por bilirrubina	
	Tipo	H-índice	Tipo	I-índice
Glucosa	Nula	-	Nula	-
Urea	(+)	200	Nula	-
Urato	Nula	-	Nula	-
Creatinina	Nula	-	(-)	13
Proteína	(+)	200	(-)	13
Colesterol	(+)	300	(-)	6
Colesterol HDL	Nula	-	Nula	-
Colesterol LDL	Nula	-	Nula	-
Triglicérido	Nula	-	Nula	-
Calcio	Nula	-	Nula	-
Fosfato	(+)	50	Nula	-
Magnesio	(+)	100	(+)	10
Potasio	(++)	25	Nula	-
Hierro	(+)	300	Nula	-
Ferritina	(+)	200	Nula	-
Folato	(++)	25	Nula	-
Vitamina B12	Nula	-	Nula	-
AST	(++)	50	(-)	3
ALT	(+)	200	(-)	10
LDH	(++)	25	(-)	6
ALP	(-)	200	(-)	10
γ -GT	Nula	-	(-)	20
CK	(++)	200	(-)	10
α -Amilasa	Nula	-	(-)	13

Interferencia: (+) positiva; (++) fuertemente positiva; (-) negativa; (-) fuertemente negativa

dancia con los resultados de otros estudios (15,16), encontramos una interferencia negativa debida a la hemólisis en la medición de la actividad de la ALP, que se detecta a un H-índice >200.

Destaca, en nuestros resultados, el nulo efecto que causa la ictericia en la medición de la concentración de: glucosa, urea, urato, colesterol de HDL, colesterol de LDL, triglicérido, calcio, fosfato, potasio, hierro, ferritina, folato y vitamina B12.

Es bien conocida la interferencia negativa que causa la bilirrubina en los métodos enzimáticos que utilizan la reacción de Trinder (glucosa, urato, colesterol, triglicérido) debida a la oxidación de la bilirrubina por el sistema peróxido de hidrógeno-peroxidasa que conduce a una disminución de la concentración del cromógeno (10,20). Sin embargo, en nuestro estudio se observó una interferencia ligeramente negativa en la medición de colesterol que con un I-índice de 13 (240 μ mol/L de bilirrubina) causa una subestimación de la concentración de colesterol del 7% del valor inicial. La medición de la concentración de glucosa se realiza con el método de la glucosa hexoquinasa, lo que explica la interferencia nula hallada y que contrasta con los resultados obtenidos en las determinaciones mediante la glucosa-oxidasa, que utiliza el sistema de Trinder (21). La nula interferencia que encontramos en la medición de urato y triglicérido, los cuales usan el sistema indicador de Trinder, podría explicarse por la mejoría de la especificidad de la reacción en estos reactivos (8).

Observamos que con un I-índice <6 ya se produce interferencia negativa en la medida de colesterol, AST y LDH. Mientras que se necesita un I-índice entre 6-10 para que se produzca interferencia en las medidas de magnesio, ALT, ALP y CK, y un I-índice >10 para detectar la interferencia en creatinina, proteína, γ -GT y AMY.

En conclusión, nuestros datos indican que en los constituyentes interferidos por la hemólisis y la bilirrubina es conveniente detectar, cuantificar y evaluar la importancia de las interferencias en función de los índices séricos, con el fin de considerar la validez de los resultados obtenidos. Sin embargo, los resultados de la interferencia en un sistema

analítico no pueden ser generalizados para otros reactivos o instrumentos, lo que nos indica que es recomendable que cada laboratorio investigue los efectos de estas interferencias.

BIBLIOGRAFÍA

1. Estudio de las interferencias analíticas endógenas en química clínica. Sociedad Española de Química Clínica. Comisión efectos de los medicamentos en química clínica. *Quim Clin* 1994; 13:84-92.
2. Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analysis. *Clin Chem* 1994; 40:1996-2005.
3. Carraro P, Servidio G, Plebani M. Hemolysed specimens: a reason for rejection or a clinical challenge? *Clin Chem* 2000; 46:306-7.
4. Burns ER, Yoshikawa N. Hemolysis in serum samples drawn by emergency department personnel versus laboratory phlebotomist. *Lab Med* 2002; 33:378-80.
5. Vermeer HJ, Tomassen E, de Jonge N. Automated processing of serum indices used for interference detection by the laboratory information system. *Clin Chem* 2005; 51: 244-7.
6. 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.
7. Sonntag O. Haemolysis as an interference factor in clinical chemistry. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24:127-39.
8. Kaplan L, Pesce A. Interferencias en el análisis espectral. En Kaplan L, Pesce A, dirs. *Química Clínica, teoría, análisis y correlación*. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 1988:1163-76.
9. Steen G, Vermeer HJ, Naus AJM, Goevaerts B, Agricola PT, Schoenmakers CHH. Multicenter evaluation of the interference of hemoglobin, bilirubin and lipids on Synchron LX-20 assays. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44:413-9.
10. Spain MA, Wu AHB. Bilirubin interference with determination of uric acid, cholesterol, and triglycerides in commercial peroxides-coupled assays, and the effect of ferrocyanide. *Clin Chem* 1986; 32:518-21.
11. Meites S. Reproducibly simulating hemolysis for evaluating its interference with chemical methods. *Clin Chem* 1973; 19:1319-21.
12. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. *Clin Chem* 1986; 32:470-5.
13. Ricos C, Álvarez V, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Jiménez CV, et al. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59:491-500.
14. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Brocco G, Guidi GC. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44:311-6.
15. Castaño JL, Araquistain JL. Interferencias causadas por la bilirrubina, hemoglobina y hemólisis en la determinación de 15 constituyentes séricos. *Quim Clin* 1989; 8:47-55.
16. Yücel D, Dalva K. Effect of in vitro hemolysis on 25 common biochemical tests. *Clin Chem* 1992; 38:575-7.
17. Caraway WT. Chemical and diagnostic specificity of laboratory tests. *Am J Clin Pathol* 1961; 37:445-464.
18. Elin RJ, Hosseini JM. Magnesium content of mononuclear blood cells. *Clin Chem* 1985; 31:377-380.
19. Jay D, Provasek D. Characterization and mathematical correction of haemolysis interference in selected Hitachi 717 assays. *Clin Chem* 1993; 39:1804-10.
20. Witte DL, Brown LF, Feld RD. Effects of bilirubin on detection of hydrogen peroxide by use of peroxidase. *Clin Chem* 1978; 24:1778-82.
21. Castaño JL, Areses J, Vidal E. Interferencia de la bilirrubina en la determinación de la glucosa sérica. *Laboratorio* 1986; 82:153-9.

Correspondencia

José Ángel Aguilar Doreste
Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín
Servicio de Análisis Clínicos
C/ Barranco de la Ballena s/n
35020-Las Palmas de Gran Canaria
jagudor@gobiernodecanarias.org