

Interferencias causadas por la turbidez (lipemia) en la determinación de 14 constituyentes séricos

J.L. Castaño Vidriales, C. Amores Antequera

Resumen

Se estudia el efecto causado por la turbidez debida a la lipemia en la determinación, mediante análisis bicromáticos, de los siguientes constituyentes séricos: glucosa, urea, colesterol, urato, aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa, fosfatasa alcalina, γ -glutamyltransferasa, bilirrubina, creatinina, proteína, fosfato (no esterificado) calcio(II) y hierro(II+III).

El estudio se ha efectuado añadiendo cantidades crecientes de una solución con una elevada concentración de triglicérido (Intralipid®), hasta una concentración máxima de 20,91 mmol/L, a alícuotas de distintos sueros de pacientes.

La evaluación de las interferencias se realiza a través de la subestimación o sobreestimación (pendiente de la recta de regresión) de la concentración del constituyente en estudio por cada mmol/L de aumento en la concentración de triglicérido.

Introducción

La administración de medicamentos, el estado fisiológico y los efectos biológicos pueden modificar, aumentando o disminuyendo, la concentración de los constituyentes séricos⁽¹⁻⁶⁾.

Los efectos causados por los medicamentos administrados pueden clasificarse en dos categorías^(3,7,8): 1) Analíticos (*in vitro*), en los que el medicamento o sus meta-

Summary

The effect of lipemia (turbidity) on the measurement by bicromatic assay of serum glucose, urea, cholesterol, urate, triglyceride, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, γ -glutamyltransferase, bilirubin, creatininium, protein, phosphate (non esterified), calcium(II) and iron(II+III) has been studied.

This has been done by adding increasing amounts of triglyceride (Intralipid®), up to 20,91 mmol/L, to aliquots of pooled serum samples. The interference are evaluated by the underevaluation or superevaluation (slope of linear regression) of the constituent concentration by each mmol/L of triglyceride concentration increased.

bolitos pueden alterar, en una etapa cualquiera, la valoración de un constituyente. 2) Biológicos (*in vivo*), en los que el medicamento provoca la modificación de un constituyente por medio de un mecanismo fisiológico, farmacológico o toxicológico.

La mayoría de las interferencias analíticas que se producen *in vitro*, lo hacen por dos mecanismos básicos: interferencia espectral o interferencia por reacciones químicas competitivas⁽⁹⁾. Un tipo común de interferencia espectral es producido por la turbidez de la muestra; esta turbidez es causada, en su mayor parte por los quilomicrones suspendidos en el suero^(8,9).

Continuando con los estudios de interferencias realizados por los autores^(10,11,12), se ha efectuado un estudio de las interferencias causadas por la turbidez, en la determinación de distintos constituyentes bioquímicos, mediante análisis bicromáticos realizados en el analizador ERIS-6170.

Ambulatorio «Virgen Peregrina». Pontevedra.

Recibido 24/11/88

Aceptado 11/4/89

Material y métodos

Instrumentación

Analizador ERIS-6170 (Merck-Olympus-Eppendorf), equipado con procesador de datos y de una impresora rápida, Epson EX-800.

Reactivos

Se han utilizado los reactivos y equipos de reactivos para la determinación en el analizador ERIS (tabla I), para la calibración se ha usado el calibrador ERIS (Merck, art. 19720, lote 644233), y una suspensión de elevada concentración en lípidos, Intralipid® (YBYS).

Procedimiento

El analizador se ha calibrado diariamente, al comienzo de cada jornada de trabajo, de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

Se utilizan varios sueros de pacientes con distintas concentraciones séricas de los constituyentes estudiados, tanto fisiológicos como patológicos, a los cuales se les somete al siguiente proceso:

Adición de lípidos

A una muestra de suero de un paciente se le añadió una solución de elevada concentración de triglicérido (Intralipid®), en cantidad suficiente para formar una solución madre con concentración final de triglicérido de 20,91 mmol/L, y con el fin de compensar la dilución de la muestra, se prepara una solución de referencia, añadiendo al suero del paciente agua destilada en la misma cantidad. Mediante la mezcla de distintas proporciones de la solución madre y de la de referencia se obtienen soluciones, o muestras, con concentraciones crecientes de triglicérido y, por consiguiente, turbidez creciente^(7,10,12,13,14,15,16).

Cada serie de soluciones se analiza por duplicado determinando la concentración del interferente (triglicérido) y del constituyente en estudio. Este proceso se realiza con sueros de pacientes normales (que no estaban tomando ninguna medicación) y con sueros de control normales y patológicos hasta un mínimo de cinco valores de concentración distintos del constituyente en estudio.

Interpretación y tratamiento gráfico

La evaluación de las interferencias se realizó a través de la subestimación o sobreestimación (pendiente de la recta de regresión), de la concentración del constituyente en estudio por cada mmol/L de aumento en la concentración de triglicérido^(10,12,17,18).

Para el estudio de las interferencias que dependen no sólo de la concentración del interferente sino también de la concentración real del constituyente en estudio, se utilizó el modelo de Kroll^(9,12), que hace uso de una regresión múltiple con tres variables independientes: concentración del constituyente en estudio (C_0), concentración del interferente (I , triglicérido) y el producto de los dos o término de interacción constituyente-interferente (C_0I).

Resultados

Los resultados obtenidos se han resumido en la tabla II, en la cual se refleja el tipo de interferencia (positiva, negativa o nula) y la pendiente media, subestimación o sobreestimación en la concentración de la sustancia en estudio por cada mmol/L de aumento en la concentración del interferente triglicérido. También se indican el intervalo de concentraciones de los diversos componentes séricos con los que se ha realizado el estudio.

Discusión

Las interferencias espectrales se producen cuando el espectro de absorción del interferente y del cromóforo pro-

Tabla I
Reactivos y equipos utilizados en el analizador ERIS-6170

Constituyente analizado	Nombre del equipo de reactivos	Fabricante	Nº Artículo	Método
Glucosa	Glucose (UV-test, Gluc-DH)	Merck	19700	Glucosa-deshidrogenasa
Urea	Harnstoff (UV-test, GLDH-methode)	Merck	19702	Ureasa/GLDH
Colesterol	Cholesterin (CHOD-PAP-Methode)	Merck	19705	CHOD/PAD
Urato	Harnsaure (enzumatischer-Farbstest)	Merck	19704	Uricasa/POD
Triglicérido	Tryglyceride (GPO-PAP-Methode)	Merck	19706	GPO/POD
Aspartato aminotransferasa	GOT (ASAT) (UV-test)	Merck	19708	IFCC
Alanina aminotransferasa	GPT (ALAT) (UV-test)	Merck	19709	IFCC
Fosfatasa alcalina	Alkalische Phosphatase (kinetischer)	Merck	19711	DGKC
γ -Glutamyltransferasa	γ -GT (Kinetischer Farbstest)	Merck	19710	Szasz
Bilirubina	Bilirubin (DPD Methode)	Merck	19717	DPD
Creatininio	Creatinin (Jaffe ohne Enteiweißung)	Merck	19726	Jaffe sin desproteinizar
Proteína	Gesamteiweiß (Farbstest, Biuret-methode)	Merck	19703	Biuret
Fosfato (no esterificado)	Phosphat (Phosphomolibdatmethode)	Merck	19721	Fosfomolibdato directo
Calcio(II)	Calcium(O-CPC Methode)	Merck	19724	<i>o</i> -Cresoltaleína
Hierro(II + III)	Eisen (Ferrozin-Methode)	Merck	19725	Ferrocina

Tabla II
Interferencia causada por triglicérido (mmol/L) («lipemia») en la determinación bicromática de constituyentes séricos

Constituyentes	Interferencia	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>R</i>
Glucosa (mmol/L)	positiva	0,127	0,937	1,0—18,9
Urea (mmol/L)	nula	—	—	1,4—24,6
Colesterol (mmol/L)	nula	—	—	1,58—6,46
Urato (μmol/L)	positiva	19,6	0,997	110—660
Aspartato aminotransferasa (μkat/L)	nula	—	—	0,35—3,92
Alanina aminotransferasa (μkat/L)	nula	—	—	0,32—3,35
Fosfatasa alcalina (μkat/L)	nula	—	—	3,03—11,82
γ-Glutamiltransferasa (μkat/L)	nula	—	—	0,20—2,45
Bilirrubina (μmol/L)	nula	—	—	7—89
Creatininio (μmol/L)	nula	—	—	50—630
Proteína (g/L)	positiva	2,03	0,991	24—68
Fosfato (no esterificado) (mmol/L)	positiva	variable	—	0,61—2,74
Calcio(II) (mmol/L)	nula	—	—	0,84—4,02
Hierro(II+III) (μmol/L)	nula	—	—	10—64

p = pendiente media

r = coeficiente de correlación medio

Ecuación $C = C_0 + pI$

C = concentración media (experimental) del constituyente en estudio

*C*₀ = concentración teórica o inicial

I = concentración del interferente

R = intervalo de las concentraciones de los sueros con los que se ha efectuado el estudio

ducido en la reacción se solapan; o bien, cuando un compuesto provoca una respuesta en el espectrómetro similar a la de la variable analítica de interés⁽⁹⁾. Este tipo de interferencia puede ser corregido mediante el uso de un blanco de muestra, mediante análisis bicromáticos o mediante la corrección de Allen⁽²⁰⁾.

Un tipo de interferencia espectral es la producida por la turbidez de la muestra, y puesto que el análisis espectrométrico mide la radiación transmitida a lo largo del sistema a 180 grados respecto de la radiación incidente, toda dispersión de la radiación tiende a disminuir la radiación transmitida, aumentando por ende la absorbancia aparente de la muestra.

En el presente trabajo se efectuó un estudio de la lipemia en el analizador ERIS-6170 y de modo que los resultados obtenidos demuestran que la interferencia espectral producida por la turbidez de la muestra varía según el constituyente estudiado, destacando el nulo efecto que causa en la determinación de la concentración de: urea, colesterol, aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa, fosfatasa alcalina, γ-glutamilttransferasa, bilirrubina, creatininio, calcio(II) y hierro(II+III).

Se ha encontrado interferencia positiva en la determinación de la concentración de los constituyentes: glucosa, urato, proteína y fosfato (no esterificado).

Evaluando la interferencia a través de la regresión lineal, entre los resultados obtenidos en el experimento de adición de lípidos y la concentración creciente de interferente se calcula la pendiente de la recta de regresión (*p*)^(10,12,17,18), de la ecuación:

$$C = C_0 + pI$$

donde: *C* = concentración media (experimental) del componente en estudio, *C*₀ = concentración teórica o inicial, *I* = concentración del interferente.

Se observa una interferencia constante e independiente de la concentración del componente en estudio para: glucosa, urato y proteína. Sin embargo, esta interferencia depende ligeramente de la concentración de fosfato para la determinación de fosfato (no esterificado).

Utilizando el modelo de Kroll^(9,12) en la determinación de fosfato (no esterificado), que se basa en la siguiente regresión múltiple:

$$C = a + bC_0 + cI + dIC_0$$

siendo: *C*₀ = concentración teórica del constituyente en estudio (fosfato [no esterificado] en mmol/L), *I* = concentración del interferente (triglicérido en mmol/L), *C* = concentración experimental o medida de fosfato. El coeficiente *a* es la intersección de la regresión múltiple y ha de ser próximo a cero, el coeficiente *b* representa la recuperación del constituyente en estudio y ha de ser próximo a la unidad, *c* es el término dependiente del interferente y *d* el término dependiente de la interacción constituyente-interferente⁽¹⁹⁾.

Se obtiene la siguiente ecuación:

$$C = 0,003 + 0,95 C_0 + 0,07 I + 0,006 IC_0$$

En conclusión, la realización de estudios de interferencias permite la detección de los resultados analíticos que están alterados significativamente por la sustancia interferente y además, si la concentración del interferente es conocida, se puede calcular aproximadamente el valor real del constituyente en estudio. Por ejemplo, si se obtiene en un suero turbio (lipémico) que tiene una concentración de triglicérido de 22,60 mmol/L (*I*), una concentración experimental de glucosa de 7,9 mmol/L (*C*); se puede estimar la concentración real de glucosa:

$$C = C_0 + (\text{pendiente} \cdot I),$$

sustituyendo los valores obtenidos experimentalmente:

$$7,9 = C_0 + (0,127 \times 22,60)$$

$C_0 = 5,0$ mmol/L, obteniéndose un valor francamente distinto puesto que se pasa desde un valor experimental elevado (7,9 mmol/L) a uno normal (5,0 mmol/L).

Hay que hacer notar que la interferencia causada en otras circunstancias o con otros analizadores pueden ser distintos de los obtenidos en el presente trabajo, y por ello, se recomienda que ante la adquisición de un nuevo analizador se realicen estudios de interferencias.

Bibliografía

1. Young DS, Pestaner LC, Gibberman V. Effects of drugs on clinical laboratory test. *Clin Chem* 1985; 21: 1D-432 D.
2. Yosselson-Superstine S. Drug interference with clinical test performed by a 20-channel computerized autoanalyzer. *Am J Hosp Pharm* 1982; 39: 848-9.
3. Siest G, Galteau M M, Schiele F, Henry J. Análisis clínicos y medicamentos. Interferencias analíticas y variación farmacológica. 1ª ed. Barcelona: Doyma, 1987.
4. Stephen KG, Khayan-Bashi H. Characterization of creatine error in ketotic patients. *Am J Clin Pathol* 1985; 84: 659-64.
5. Spain MA, Wu AHB. Bilirubin interference with determination of uric acid, cholesterol and triglycerides in commercial peroxidase-coupled assays, and the effect of ferrocyanide. *Clin Chem* 1986; 32: 518-21.
6. Blanck DW, Kroll MH, Ruddel ME and Elin RJ. Hemoglobin interference from in vivo hemolysis. *Clin Chem* 1985; 31: 1566-9.
7. International Federation of Clinical Chemistry. Drug effects in clinical chemistry. Part 1. The basic concepts. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984; 22:271-4.
8. Statland BE, Winkel P. Orígenes preinstrumentales de las variaciones. En: Henry BJ, dir. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. Barcelona: Salvat 1988: 77-91.
9. Kaplan LA, Pesce JA. Interferencias en el análisis espectral. En: Kaplan LA, Pesce JA, dirs. Química Clínica, teoría, análisis y correlación. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1986: 1163-76.
10. Castaño JL, Amores C. Comparación gráfica de la interferencia de la bilirrubina en la determinación de colesterol con distintos reactivos comerciales. *Rev Diag Biol* 1987; 36: 29-31.
11. Castaño JL, Areses J. Bilirrubin interference with determination of uric acid cholesterol, triglycerides and glucose in the ERIS-analyzers. (Resumen). *Quím Clin* 1986; 5: 191.
12. Castaño Vidriales JL, Araquistain Alcaín JL. Estudio de las interferencias causadas por la bilirrubina, hemólisis y hemoglobina en la determinación de 15 constituyentes séricos. *Quím Clin* 1989; 8: 47-55.
13. Galteau MM, Siest G. IFCC Expert panel on drug effects in clinical chemistry; Drug effects in clinical chemistry. Part 2: guidelines for evaluation of analytical interference. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984; 22: 275-9.
14. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. *Clin Chem* 1986; 32: 470-5.
15. White GH, Fraser CG. The evaluation kit for clinical chemistry. *J Autom Chem* 1984; 6: 122-141.
16. Neil CR, Garber CC. Evaluación de métodos. En: Kaplan AL, Pesce JA, dirs. Química Clínica, teoría análisis y correlación. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1986: 392-417.
17. Barnett RN. Estadística en el laboratorio clínico. Barcelona: Reverté, 1983: 150-164.
18. Castaño VJL, Vidal GE, Areses TJ. Interferencia de la bilirrubina en la determinación de la glucosa sérica. *Laboratorio* 1986; 82: 153-159.
19. Kroll MH, Ruddel M, Blanc DW, Elin RJ. A model for assessing interference. *Clin Chem* 1987; 33: 1121-3.
20. Allen E, Riema W. Determining only one compound in a mixture, short spectrophotometric method. *Anal Chem* 1953; 25: 1325-31.