

ARTICULOS CIENTIFICOS INVITADOS

LAS INTERFERENCIAS ANALITICAS EN LAS PRUEBAS BIOQUIMICA EN EL LABORATORIO CLINICO

Alba Marina Valdés de García¹

La Interferencia analítica es definida como el efecto que tienen los medicamentos, y/o sus metabolitos, compuestos químicos o factores físicos sobre alguna de las etapas de la determinación analítica de cualquier componente de interés clínico, produciendo cambios medibles del componente analizado durante el ensayo (2).

Uno de los problemas más importantes y que se presenta en el laboratorio clínico, son los resultados «anormales» que se obtienen en las muestras de algunos pacientes y que no pueden ser correlacionados con los criterios médicos.

Indudablemente esto causa desconcierto y falta de confiabilidad en el médico tratante hacia el laboratorio, esto con lleva al retraso en un diagnóstico adecuado y que prolonga el tratamiento y el control terapéutico del paciente. Cuando estos pacientes son remitidos a otro u otros laboratorios, es probable que los resultados sean incongruentes con el primero y que tampoco coincidan con la clínica.

Por lo tanto, la desconfianza del médico hacia ambos laboratorios se consolida, haciendo pensar que los resultados anormales son debido a errores causados por falta de control de calidad. La situación aquí planteada hace que revista de importancia la implementación de programas de garantía de calidad en los laboratorios, para que se logre detectar rápidamente, los resultados no esperados y que son producidos por interferentes.

Es importante que el personal del laboratorio y el médico tratante conozcan la acción causada por los diversos interferentes, para evitar errores graves en el manejo del paciente, el deterioro de los tratamientos y por ende la elevación de los costos de salud.

La existencia de interferencias, tanto *in vivo* como *in vitro*, que alteran los resultados de las pruebas de laboratorio y las constantes biológicas de los individuos, es ampliamente

conocida y aceptada (1). Los mecanismos posibles de las interferencias han sido estudiados con profundidad por diferentes autores, los resultados de estos estudios indican los efectos de muchos medicamentos, sustancias químicas, condiciones de obtención y manejo de la muestra, así como otros factores que influyen sobre la mayoría de las determinaciones analíticas (2 - 6).

Los resultados de las pruebas pueden verse alteradas por dos causas principalmente; la primera porque el interferente tiene acción directa sobre el método analítico utilizado, y la segunda debido a que ejerce acción fisiológica farmacológica sobre la respuesta biológica del paciente en estudio.

En algunos casos el agente interferente, o algunos de sus metabolitos, pueden reaccionar de manera similar al analito en estudio, durante la reacción química realizada, o bien los principios activos o los excipientes de los medicamentos o de los alimentos (naturales o elaborados artificiales) dan un color a la muestra analizada, y éste es un interferente para la metodología utilizada, el problema radica en que no es siempre posible eliminarla, a pesar de utilizar un blanco de suero.

De este último tipo son las coloraciones dadas por la hemoglobina (hemólisis), vitaminas (riboflavina), los nitrofuranos, la bilirrubina, (ictericia), los pigmentos naturales como la remolacha, zanahoria, los carotenos, y los colorantes y aditivos industriales.

El segundo tipo de interferencia, denominado interferencia biológica puede deberse a varios tipos de mecanismos metabólicos realizados en diferentes tejidos u órganos, a diferente nivel celular que alteran su respuesta fisiológica o inmunológica. Entre los interferentes clasificados en éste tipo están los medicamentos, drogas de abuso, los anticonceptivos, anticonvulsivos, sustancias tóxicas y venenos.

¹Departamento de Bioquímica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

CLASIFICACION DE LOS INTERFERENTES

La clasificación se realiza en dos grandes grupos: Grupo I que incluye a los interferentes endógenos, exógenos, los exógenos inherentes a la muestra, compuestos incorporados a la muestra en el momento de la recolección del espécimen, y el grupo II que incluye los interferentes analíticos y biológicos.

Grupo I: Interferentes Endógenos y Exógenos

Los grupos principales interferentes endógenos en las muestras de los pacientes son hemólisis, bilirrubinemias, paraproteinemia y lipemia.

Los interferentes exógenos pueden producir tendencias positivas o negativas en los resultados. Una interferencia negativa disminuye el valor del resultado, mostrando concentraciones del analito inferiores a las reales. Una interferencia positiva tiene los efectos exactamente contrarios.

Se han agrupado los interferentes exógenos en cinco categorías: Medicamentos, Aditivos, Material de prueba, Efectos de matriz y Anticoagulantes.

1. Medicamentos

Cualquier medicamento administrado (por vía intramuscular, intravenosa, oral, subcutánea) a un paciente, puede interferir en la determinación de algunos analitos, especialmente por el tipo de métodos analíticos utilizados (1,2).

La mayoría de los medicamentos son compuestos orgánicos de masa molecular baja (< 1kDa) con grupos funcionales (no polares o iónicos). Los medicamentos destinados a ser biológicamente activos y suministrados en dosis farmacológicas elevadas, presentan grandes probabilidades de reaccionar con analitos o reactivos. Los medicamentos o drogas sufren transformaciones metabólicas, que se realizan en los microsomas hepáticos, en los sistemas P450 y B5 Reductasa, en los cuales se realizan reacciones de oxidación, reducción, acetilación, hidrólisis en amidas y ésteres, y conjugación con glucurónidos, glicinas y sulfatos. Los metabolitos producidos por las reacciones de óxido-reducción y conjugación producen compuestos muy reactivos, que presentan grupos acetyl, alcohol y aldehído que fácilmente se combinan con otros compuestos (2).

Se ha observado que los metabolitos producidos a partir de un medicamento madre son más difíciles de detectar que el medicamento sin metabolizar, debido a que las concentraciones plasmáticas son impredecibles y la mayoría de las veces desconocidos. También los

aditivos utilizados en la formulación de los medicamentos pueden ser una fuente de interferencia.

La interferencia biológica producida por algunos interferentes se debe al efecto tóxico sobre un órgano en particular (hígado, riñón, tiroides). Este efecto se debe a que inducen o inhiben los sistemas enzimáticos de estos órganos. Dentro de este grupo se incluye a la difenilhidantoína, alcohol, niquefamida, el meprobanato, el diacepóxido, la tolbutamida, el ácido nicotínico, la testosterona, cortisona, prednisolona, la difenhidramina y algunos insecticidas (16). (Cuadro 1).

2. Aditivos

Existen distintos materiales incorporados a los tubos de recolección de sangre, utilizados como anticoagulantes, inhibidores de glucólisis y como selladores del tapón (siliconas). Todos los aditivos típicos usados como anticoagulantes (heparina, EDTA, citrato y oxalato) han demostrado interferencias con la metodología de varios análisis (17). Las siliconas interfieren en la determinación de magnesio ionizado con un electrodo ión selectivo (18).

3. Materiales de Prueba

Los materiales de control de calidad y de ensayo, están fabricados con una base de plasma defibrinado. Estos materiales pueden contener concentraciones elevadas de analitos como la bilirrubina, glucosa y algunas drogas. Estos componentes exógenos pueden pasar inadvertidos porque se encuentran en concentraciones constantes en todo el lote.

4. Anticoagulantes

Los anticoagulantes usados en la preparación de la muestra pueden afectar marcadamente los resultados de los análisis de aminoácidos al utilizar cromatografía de intercambio iónico, por lo que es aconsejable estandarizar la preparación de la muestra. El fluoruro interfiere en algunas metodologías, inhibiendo los sistemas enzimáticos involucrados en la glucólisis y el iodoacetato inhibe la actividad de la CK. Se recomienda el uso de heparina o EDTA exclusivamente (18).

5. Efectos de Matriz

Cuando se procesa una muestra, se pueden introducir cambios en los resultados que no pueden atribuirse a ninguna de las causas mencionadas anteriormente, entonces se dice que se encuentra ante

un efecto de matriz. En la preparación del material se introducen cambios en la solución que alteran los valores obtenidos con el ensayo. Este problema se presenta cuando el material ha sido sometido a un proceso especial (liofilización, congelación-descongelación) o algunos factores desconocidos o poco característicos en la muestra (18-23). Entre los factores que producen cambios podemos mencionar preservantes utilizados en la solución, estabilizadores, factores atribuidos al origen de la solución (humano, equipo, bovino) y cambios físicos.

Los preservantes más comúnmente usados son la azida de sodio, timerosal, borato, fluoruro, antibióticos, etilenglicol, los cuales pueden causar interferencia. Los estabilizadores más utilizados son ditriitol y acetil cisteína.

Grupo II: Interferencias analíticas y biológicas

Interferencias Analíticas

Las interferencias se agrupan en dos:

1. Físicas: Causadas por las propiedades físicas del agente interferente: color, fluorescencia propiedades espectrales, que pueden ser similares o adicionarse a las del analito que se determina.
2. Químicas: Cuando el interferente reacciona, directa o indirectamente con el analito que se determina, o cualquiera de los reactivos que participan en la reacción desarrollada. (Cuadro 2).

Interferencias Biológicas

La interferencia biológica es todo efecto causado sobre el individuo, originando algún cambio, (negativo o positivo), sobre las constantes biológicas evaluadas en el laboratorio. Según los criterios de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC), indican que los medicamentos pueden tener efectos biológicos sobre las pruebas de laboratorio *In vivo* (21).

Mecanismo de los Interferentes del Grupo II

Los tipos de mecanismos de los interferentes del grupo II pueden ser globales o genéricos, específicos, analíticos o químicos.

El mecanismo global describe los caminos compartidos por muchos interferentes, el específico describe el camino para una sustancia individual o clase de sustancia con un tipo específico de reactivo. Los mecanismos analíticos describen la manera en que un interferente muestra su actividad, el mecanismo químico

describe en detalle las reacciones químicas, siendo su conocimiento muy útil para desarrollar una relación estructura-función (3).

Los antibióticos del grupo de las cefalosporinas (cefotaxima, cefalotina) causan interferencia en la determinación de creatinina por el método de Jaffé. Estos antibióticos forman un complejo coloreado con el picrato que absorbe a la misma longitud de onda, absorben luz con una banda de absorbancia similar que el complejo creatinina-picrato. (24).

Estudios más completos realizados con un grupo mayor de antibióticos del tipo de las cefalosporinas, han demostrado que éstos y los grupos cetónicos reaccionan con el picrato. Esta reacción se acentúa cuando el grupo cetónico es adyacente a un nitrógeno. La cefotaxima ha mostrado este tipo de reacción, debido a los grupos cetónicos de cadena directa y a su anillo lactámico. (7-9).

En los inmuno ensayos la forma más común de interferencia es la reactividad cruzada entre el analito y otros elementos de la muestra. Las interacciones anticuerpo-antígeno dependen de la estructura del antígeno más que de la reactividad química. El número de formas asumidas por las regiones variables del anticuerpo origina la gran cantidad de anticuerpos capaces de enlazarse con distintos constituyentes biológicos y aún seguir manteniendo la especificidad. Como el enlace no es covalente, el ligando, en la mayoría de los casos, no cambia. (14-16).

Evaluación de interferentes

Procedimientos para detectar y cuantificar una interferencia en un método o análisis específico

Lo primero que se debe hacer para detectar la interferencia presente en la muestra es establecer un sistema o procedimiento estándar. Entre los que se encuentran los siguientes:

Comparación del resultado actual con los resultados anteriores del mismo paciente y la detección de blancos anormales o con índices de reacción poco comunes.

El estudio de interferencia mide el error constante causado por la presencia de una sustancia que se supone interfiere con el método utilizado.

1. Determinar el analito mediante otro método o análisis que no demuestre interferencia, por ejemplo el Método de Referencia para este análisis, utilización de otro equipo de análisis.
2. Análisis de la misma muestra con un método diferente.

3. Incorporar aumentando en forma seriada, concentraciones del supuesto elemento interferente alícuotas del mismo material.

Si se considera que una sustancia es interferente *in vivo* o *in vitro* se debe proceder de la siguiente manera:

A una muestra se le añade la sustancia presuntamente interferente. El volumen de esta adición debe ser pequeño, menor del 10% del volumen de la muestra, de modo que la disgregación de la matriz sea mínima. Para compensar la dilución de la muestra, se debe preparar una muestra de línea base, añadiendo a otra alícuota de la muestra el solvente empleado para el interferente. Las dos muestras deben ser medidas, por lo menos por duplicado. La diferencia entre los resultados de ambas muestras es atribuible a una interferencia producida por la sustancia añadida.

Análisis de los resultados

Se analizan los datos por medio del análisis de regresión. Si la pendiente difiere sustancialmente del cero determinado mediante la prueba de Student, hay interferencia. Una forma sencilla de determinar el valor t , es dividir la pendiente por el error estándar de la pendiente. $P > 0,05$ indica que existe interferencia, y la magnitud de la interferencia está dada por la pendiente. Este método se utiliza para comparar grupos comunes de analitos o métodos. En diversos estudios realizados sobre los efectos de las interferencias endógenas se muestra que las interferencias relativas como el porcentaje del resultado final con elemento interferente incorporado dividido por el resultado original (antes de la incorporación). Para un método dado, la interferencia para cada analito, se muestra como una función del elemento interferente. La escala tiene un rango de 0% al 200%. La interferencia se confirma cuando una zona de $\pm 10\%$ alrededor de la línea del 100% indica no interferencia. Los análisis cuyos resultados finales no se desvían más allá del 3% del resultado original, se consideran libres de interferencias.

Otro método para el estudio de interferentes es calcular el error constante (CE) el cual se realiza determinando la concentración del analito en la muestra sin interferente (línea base) y la concentración en la muestra con interferente (muestra en estudio).

Si la interferencia promedio o CE es menor que el Error permisible -Ea- que es la concentración esperada del analito, se dice que el rendimiento del método es aceptable.

Interpretación de los resultados

1. Si los resultados para ambos métodos son diferentes, estamos ante una interferencia.
2. Si los resultados para ambos métodos son similares, puede ser que no halla interferencia o que el elemento interferente sea el mismo para ambos métodos.
3. Debe procurarse utilizar dos métodos cuyos principios químicos sean lo suficientemente diferentes para lograr detectar la interferencia.
4. Por medio de la incorporación del supuesto interferente se determina la presencia y el grado de interferencia con el método utilizado. Se calcula el Error constante o CE.

Resolviendo de una manera práctica el problema de la interferencia.

Pasos a seguir para la detección de interferentes en las muestras séricas.

1. La más importante estrategia es la comunicación rutinaria entre el profesional de laboratorio y el clínico. La discrepancia entre los hallazgos clínicos y los hallazgos del laboratorio pueden permitir evaluar la interferencia (presencia de artefactos endógenos) como posible causa de los valores encontrados. Por lo tanto ambos profesionales deben estar atentos a la posibilidad de interferencia, y proceder a la apropiada investigación *in vitro*.
2. El laboratorio puede repetir la prueba sospechosa para confirmar los hallazgos.
3. Documentar los hallazgos clínicos (Estado de la enfermedad y tratamiento) y la información del espécimen (muestra, condiciones de almacenamiento, resultados de otros ensayos).
4. Reevaluar usando otro método comparable. En adición se puede realizar una dilución del suero si la respuesta no es lineal, esto sugiere interferentes.

Recomendaciones al personal del laboratorio

Como se mencionó anteriormente, la identificación y resolución de una interferencia en los resultados de las pruebas de laboratorio, están a cargo de los profesionales del laboratorio. El proceso se inicia cuando los sistemas de control de calidad interno del laboratorio detectan un problema o bien es el médico tratante el que llama o consulta a los profesionales del laboratorio por un resultado "anormal" o no esperado. Las interferencias endógenas son generalmente detectadas por el profesional del laboratorio y se indicarán en el informe.

Cuadro 1
FARMACOS INTERFERENTES
Fármacos que pueden afectar las determinaciones bioquímicas

Acetofenatidina	Haloperidol	Oxifenbutazona	Acetohexamida	Halotano	Oleandomicina
Ac.Aminosalicílico	Hidracina	Oxacepan	Ac. Nicotínico	Isoniacina	Propitiouracilo
Agentes anabólicos	Imipramina	Paraldehido	Alopurinol	Indometacina	Parametadona
Almodiaquina	Inhibidores MAO	Progestinas	Andrógenos	Lincomicina	Progestinas-Estrógeno
Anfotericina B	Mercaptopurina	Quinacrina	Ciclofosfamida	Metoxifluorano	Sulfamidas
Clorpropamida	Metaxalona	Tiotixeno	Desipramida	Metildopa	Tetraciclinas
Eritromicina	Metiluracilo	Tiosemicarbazida	Fenacemida	Metoxalén	Tolazamida
Fenilbutazona	Novobiocina	Tolbutamida	Fenotiacinas	Nitrofurantoína	Trimetadona
Glucopirrolato	Uracilo, mostaza				

Cuadro 1
LISTA DE FARMACOS CON EFECTO FISIOLÓGICO E INTERFERENCIA QUÍMICA

Componente sérico	Fármaco con efecto fisiológico	Efecto	Fármaco con Interferencia Química	Efecto
Amilasa	Colinérgicos	A	Citrato	D
	Etanol	A	Oxalato	D
Bilirubina		A	Novobiocina	A
	Clordiacepóxido	A	Ac.Acórbico	D
	Contrastes biliares	A	Cafeína	D
	Fenobarbital	D	Teofilina	D
Calcio	Andrógenos	A	Sales de Citrato	D
	Dihidrotaquisterol	A		
	Diuréticos tiacídicos	A		
	Progestágenos-Estrógenos	A		
	Sales de calcio activadas		EDTA	D
	Por calciferol	A		
	Acetazolamida	D		
	Coricosteroides	D		
Mitramicina	D			
Colesterol	ACTH	A	Bromuro	A
	Clorpromacina	A		
	Sales Biliares	A		
	Heparina	D		
	Tiroxina	D		
Creatinina Kinasa		A		
	Halotano	A		
	Carbenexolona	A		
	carbono de Litio	A		
	Clofibrato	A		
	Clorhidrato de meperidina	A		
	Codeína	A		
	Dexametasona	A		
	Digoxina	A		
	Etanol	A		
Fenobarbital	A			

Furosemida	A			
	Glutetimida	A		
	Heroína	A		
	Imipramina	A		
	Sulfato de morfina	A		
	Suxametonio			
Creatinina	Anfotericina B	A	Acido ascórbico	A
	Kanamicina	A	Barbitúricos	A
			Cefalosporinas	A
			Glucosa	A
			Levodopa	A
			Metildopa	A
Fosfatasa Alcalina	Ver cuadro 6-4			
	Fenitoína	A	Fluoruros	D
			Oxalatos	D
			Teofilina	D
Fósforo	Meticilina	A		
	Tetraciclinas	A		
	Insulina	A		
	Mitramicina	A		
Glucosa	ACTH corticosteroides	A	Acetaminofen	A
	Ac.Etacrínico	A	Acido acórbico	A
	Adrenalina	A	Ac.Aminosalicílico	A
	Fenitoína	A	Isoproterenol	A
	Furosemida	A	Dextrano	A
	Tiacidas	A	Hidralacina	A
	Propanolol	D	Ac.Nalidíxico	A
			Levodona	A ó D
			Mercaptopurina	A
			Metimazol	A
			Metildopa	A
			Oxacepán	A
			Propiltiouracilo	A
LDH	Clofibrato	D	Oxalato	D
			Teofilina	D
Proteínas Totales	ACTH, corticosteroides	A	Dextrano	
	Esteroides anabólicos	A	Fenazopiridina	A
			Ac. Acetilsalicílico	D
ALT y AST		A	Eritromicina	A
	Ampicilina	A	Isoniacida	A
	Cefalotina	A	Ac. Ascórbico	A
	Clofibrato	A	Levodopa	A
	Colchicina	A	Ac.paraminosalicílico	A
	Gentamicina	A		

	Metiltestosterona	A		
	Nafcilina			
	Opiáceos			
	Oxacilina	A		
Acido úrico	Ac.Etacrínico	A	Metildopa	A
	Análogos de la purina	A	Glucos	A
Busulfán	A		Ac.Ascórbico	A
	Esteroides suprarrenales	A	Teofilina	A
	Mostazas nitrogenadas	A		
	Piracinamida	A		
	Quinetazona	A		
	Sulfato de vincristina	A		
	Tiacidas	A		
	Ac. Acetilsalicílico	D		
	Alopurinol	A		
	Clorpromacina	D		
	Clorprotixeno	D		
	Fenibutazona	D		
	Oxifenbutazona	D		
	Probencid	D		
Urea	Arsenicales	A	Dihidrato de cloral	A
	Cefaloridina	A	Guanetidina	A
	Furosemida	A	Clorobutano	A
	Gentamicina	A		
	Kanamicina	A		
	Metildopa	A		
	Neomicina	A		
	Sales de antimonio	A		

Se ha observado que frecuentemente un medicamento que está tomando el paciente es el responsable de la interferencia exógena. Es pues, indispensable discutir con el médico a cerca del medicamento ingerido por el paciente y consultar las tablas de los medicamentos que interfieren con los análisis de laboratorio.

Para resolver esta situación en el laboratorio existen tres opciones. La primera posibilidad es suspender la medicación y la segunda opción es que se detecte el analito por otra metodología, siempre que sea posible. Si existe diferencia entre las dos determinaciones realizadas con diferente metodología, es muy probable que exista interferencia causado por el medicamento.

La tercera posibilidad es agregar una pequeña cantidad de dicho medicamento a un suero libre de otros interferentes y realizar la medición del analito, en el suero libre de interferencias y en el suero al que se añadió una cantidad determinada de medicamento, de esta manera se procede a analizar si ambos resultados son iguales o no: si el resultado del suero al que se le añadió el medicamento es diferente al suero blanco, (resultado positivo), esto nos indica claramente que el medicamento es el responsable de la interferencia, y que es la causa de los resultados atípicos. Pero si los resultados son similares o iguales (negativos), se interpreta que posiblemente los metabolitos del medicamento son la causa de la interferencia. Ello indica que la detección de la no interferencia mediante este procedimiento, no es concluyente para descartar

al medicamento como el causante de la interferencia.

Como norma general el personal del laboratorio en el momento de la toma de muestra debe preguntarle al paciente si está tomando medicamentos, si es así solicitarle los nombres y anotarlos en la papeleta de ingreso de datos.

REFERENCIAS

1. D.S., Young Effects of Drugs on Clinical Laboratory tests. Am Ass Clin Chem. Washington, D.C., U.S.A., 1990.
2. Galteau MM, Siest G. Drug Effects in clinical chemistry. Part I. Guidelines for Evaluation of Analytic Interference. Clin Chem 1984; (Acta 139):223 F.
3. Martin H, Kroll M, Rudel DW, Clank Rj, Elin A. Model for assesment of interference. Clin chem 1987;33:1121.
4. Kroll Mh., Roach Na., Brent P, Elin RJ. Mechanism of Interference with the Jaffé reaction for Creatinine. Clin chem 1987;33:1129.
5. Bruce CS, Lees H, Li PK Mechanism of Interference by hemoglobin in the determination of total bilirubin. I Method of Malloy Evelyn. Clin Chem 1980;26:22.
6. Bruce CS, Lees H, Li PK Mechanism of Interference by hemoglobin in the determination of total bilirubin. I Method of Jendrassik Grof. clin Chem 1980; 26:26.
7. Caraway WT. Chemical and Diagnostic Specificity of Laboratory test. Effects of hemolysis, lipemia, anticoagulants medications, contaminants and other variables. Amer J of Clin Pathol. 1962;37:45.
8. Després N Grant am. Antibody interference in tyroid assays. A potential for clinical mis information. Clin Chem 1998; 44:3: 440-454
9. Kohse KP, Wieser H. Antibodies as a source of analytical errors. J Clin Chem Clin Biochem 1990;28:881-92.
10. Sakata S et al. Autoantibodies against thyroid hormones or iodothyronina (Review). Ann Intern Med 1985;103:579-89.