UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR

INTERFERENCIAS ANALITICAS EN BIOQUIMICA CLINICA

TESIS DOCTORAL

JOSE LUIS CASTAÑO VIDRIALES

Granada, Septiembre 1998

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR

TITULO:

INTERFERENCIAS ANALITICAS EN BIOQUIMICA CLINICA

Memoria que presenta para optar al Título de Doctor en Ciencias Químicas

JOSE LUIS CASTAÑO VIDRIALES

Granada, Septiembre 1998

A las mujeres que ocupan mi vida: Carmen, Celia y Mª Victoria.

CERTIFICACIONES

D. **José Antonio Gómez Capilla,** Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular

CERTIFICA: que la Tesis Doctoral que presenta, al superior juicio del tribunal que designe la Universidad de Granada, Don **Jose Luis Castaño Vidriales** licenciado en Ciencias Químicas por la Universidad de Salamanca, y que ha realizado el Programa de Doctorado denominado "AVANCES EN MEDICINA Y CIRUGIA", correspondiente a los estudios universitarios de tercer ciclo, y el proyecto de investigación prospectiva para la confección de su Memoria de TESIS DOCTORAL titulada **"INTERFERENCIAS ANALITICAS EN BIOQUIMICA CLINICA"**, ha sido realizada bajo mi tutela y dirección, para optar al grado de DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS por esta Universidad.

Completado el Programa de Doctorado y finalizado el proyecto de Investigación, estoy conforme en que se lleve a cabo la presentación lectura y defensa de este trabajo de investigación.

Y para que conste y en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firmo el presente certificado en Granada a 15 de Junio de 1.998.

Firmado:
D. Jose A. Gómez Capilla

Agradecimientos:

Mi agradecimiento a:

- José Antonio Gómez Capilla, Catedrático Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina, de la Universidad de Granada.
- Antonio Campos Muñoz, Decano de la Facultad de Medicina de Granada.
- Luis Rucabado Aguilar, Jefe Servicio de Medicina Intensiva del Hospital Ciudad de Jaén y Director del programa de doctorado, "Avances en Medicina y Cirugía
- Miembros comisión de interferencias y efectos de los medicamentos en bioquímica clínica de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular.
- Compañeros de los distintos Hospitales donde se ha realizado esta tesis.

El presente trabajo ha sido realizado en los siguientes centros:

- Ambulatorio "Virgen Peregrina". Pontevedra.
- Hospital "Meixoeiro". Vigo.
- Hospital "Da Costa". Burela (Lugo).
- Hospital "San Agustín". Linares.
- Facultad de Medicina. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Granada, bajo la dirección del Dr. José Antonio Gómez Capilla.

INDICE GENERAL

1

Consideraciones Generales

Introducción

La creciente complejidad de los laboratorios clínicos, hace que entre la solicitud por parte del clínico de una prueba, y la emisión de su resultado por el laboratorio, intervengan un gran número de personas y procesos, y que en cada uno de ellos se puedan producir errores que pueden invalidar los resultados (1,2)

El objetivo del laboratorio clínico es producir resultados precisos y exactos. Pero, los fluidos corporales, que constituyen el material para análisis, presentan una matriz compleja e indefinida. Y así las sustancias endógenas y exógenas presentes en los líquidos corporales pueden interferir con la determinación exacta del analito.

La existencia de interferencias por sustancias endógenas o exógenas en los ensayos y las determinaciones es un problema común en el laboratorio clínico, el cual es detectado a veces, por el personal del mismo y es apreciada en menor extensión por los clínicos (3).

Todos los días entre los sueros que se procesan en los laboratorios clínicos hay algunas muestras con una intensa turbidez (quilomicrones), otros con bilirrubina e incluso con sangre hemolizada y muchas veces no se puede disponer de otra muestra para su análisis (4), e incluso las muestras proceden de pacientes que están sometidos a medicación en el momento del análisis.

La importancia de las interferencias en las determinaciones de los laboratorios clínicos puede ser estimada por la frecuencia de muestras analizadas con interferente. La frecuencia de interferencias con las pruebas del laboratorio es difícil de estimar. En un estudio realizado en 1971, en 100 pacientes ambulatorios (5), se estimaba que el

porcentaje de pruebas afectadas por interferencias era del 16.7 % cuando el paciente tomaba una droga; del 75 % cuando tomaba dos; y del 100 % cuando tomaba cinco drogas. La media de las drogas administradas al paciente era de 1,76.

Ha habido un gran aumento del número de fármacos disponibles para el tratamiento de los pacientes, y por consiguiente de la información disponible acerca del efecto de estos fármacos en las pruebas del laboratorio (6).

Es difícil demostrar la inespecificidad de un procedimiento analítico o las interferencias a las cuales está sujeto. Debido a la complejidad de las matrices de las muestras analizadas, existe una gran cantidad de compuestos que pueden alterar o interferir en un procedimiento analítico (7) como son los medicamentos (6) o los constituyentes séricos como: bilirrubina (8), turbidez (9), hemólisis (10,11) , acetoacetato (12,13), proteínas (14), etc.

Por tanto es importante para el laboratorio clínico, estar sensibilizado hacia el fenómeno de las interferencias y conocer tanto como identificar y resolver el problema de las interferencias, como conocer la cuantía de las mismas en los procedimientos analíticos empleados.

1.1.1.- **Definición de sustancia interferente**

Aunque no hay una definición universalmente aceptada para el término interferencia, se puede considerar que se produce *una "cuando se produce una desviación del resultado esperado, debido a la presencia de otra especie química en la muestra*" (15,16). Esta definición incluye a todos los posibles interferentes químicos como: fármacos, metabolitos, contaminantes, constituyentes intracelulares, solución matriz, etc. (16).

Una definición de *interferencia analítica* es, por tanto: *"el efecto de un constituyente (interferente), que por sí no produce lectura, en la exactitud de la medida de otro constituyente (17) o el efecto que produce en cualquier etapa de su determinación".*

Un término relacionado y más genérico es la *inespecificidad* de un método analítico. Se dice que un método presenta una pérdida de especificidad cuando se producen resultados inexactos debido a la presencia de constituyentes en el espécimen, que contribuyen a la lectura final (4). Por tanto, *"la especificidad es la capacidad de un método analítico para determinar únicamente el componente que se pretende medir".*

La *interferencia analítica* sería, por tanto, *"el error sistemático de la medida causado por un componente de la muestra que por sí no produce señal en el sistema de medida"* (17,18).

Otra definición, "*es el efecto de una sustancia en cualquier paso en la determinación de la concentración o actividad del analito"* (19).

Kroll define la interferencia analítica como "*el efecto de una sustancia presente en la muestra que altera el correcto valor del resultado, usualmente expresado como concentración o actividad del analito*". (16).

La comisión de efectos de los medicamentos (IFCC), se refiere a las interferencias analíticas como a un término utilizado para describir el *"efecto analítico producido in vitro por un fármaco o sus metabolitos, los cuales pueden interferir, bien debido a sus propiedades físicas (color o fluorescencia) o químicas (propiedades reductoras, formadoras de complejos, precipitantes)*" (20)

En 1983, G den Boef y A. Hulanicki definieron a *"un interferente para un procedimiento analítico determinado, como aquel que produce un error sistemático determinado en el resultado analítico"* (21). Para un método cuantitativo de análisis la magnitud del error sistemático permisible, debe ser fijada previamente en términos de desviación standard de una determinación individual del analito. Por tanto, en general la interferencia depende de la cantidad de analito y de la cantidad de interferente en la muestra.

De todo esto se deduce, que la cantidad de interferencia no es necesariamente proporcional a la concentración o a la cantidad de interferente de una muestra, Y también, que el efecto o la presencia de varios interferentes no es siempre aditivo, y que por tanto, se pueden producir efectos de sinergismo o de compensación de efectos.

Por último en el año 1989, La IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada), publicó un documento titulado "*Definición y clasificación de interferencias en un procedimiento analítico*" (22), en el

que indican que el problema está en fase de discusión, que no había una definición universamente aceptada y que en cualquier caso, el término interferencia debe de incluir una indicación del tipo y magnitud del error producido.

En general se suele restringir el término interferencia a los errores sistemáticos, aunque hay autores que sugieren que se deben incluir los errores aleatorios (23).

En cualquier caso, para un determinado método analítico hay que decidir cual es el límite que se ha de sobrepasar para considerar a una interferencia como tal. Y en este sentido se han indicado tres opciones:

a) Que el efecto sea mayor que un porcentaje arbitrario escogido de la concentración determinada.
b) Que el efecto sea mayor que el de la desviación estándard multiplicado por un factor numérico que depende del intervalo de confianza deseado.
c) Que el efecto sea mayor que cualquier magnitud.

En general las dos primeras opciones son un poco ambiguas, sobre todo si la precisión de los resultados obtenidos y por tanto, la magnitud del error sistemático depende de la concentración del analito estudiado. La tercera, presenta la desventaja de que todos los compuestos que acompañan al analito estudiado pueden ser considerados como interferentes. Por tanto, se ha tomado como criterio las dos primeras, puesto que la ambigüedad puede ser eliminada si se

define previamente el rango de aplicación y se especifica la desviación estándard que se va a considerar significativa.

La elección de uno u otro criterio, bien el porcentaje arbitrario, o bien un múltiplo de la desviación estándard, es una decisión personal. La primera opción presenta ventajas cuando se va a efectuar la elección del procedimiento analítico más adecuado para un determinado problema analítico, ya que relaciona directamente la interferencia a la muestra y además el resultado es relativo o porcentual. Pero si por el contrario, si lo que se va ha realizar es la caracterización del procedimiento analítico ya conocido, es preferible la definición que se basa en la desviación estándar obtenida y calculada con el mismo método, analizador y día del utilizado para el estudio de las interferencias.

Apoyándose en estas premisas, la IUPAC (24), definió *la sustancia interferente en un método analítico, como aquella que produce un error sistemático mayor que el valor obtenido por la desviación estándar de una serie inequívocamente definida de resultados obtenidos con el procedimiento analítico, multiplicado por un valor numérico que depende del nivel de confianza deseado. Para un nivel de confianza del 99,86%, es de tres desviaciones estándar.*

Sin embargo hay condiciones, en las que los interferentes pueden producir un aumento en el error aleatorio, sin afectar la exactitud, por ejemplo, a través de la producción de ruido de fondo. De modo que el cambio, que se produce en la desviación estándard tiene implicaciones acerca del nivel al cual un efecto interferente puede ser observado y considerado como tal con un cierto grado de confianza.

Krouwer (23) ha definido recientemente *el término interferencia aleatoria, el cual se expresa como una desviación estándard como la cantidad de error que se produce por diversas combinaciones de interferentes en cada muestra".*

1.1.2.- **Clasificación de las interferencias**

Dependiendo de sí se produce un aumento o una disminución aparente del constituyente medido, la interferencia se considera positiva o negativa. En general la magnitud del efecto depende de la concentración o cantidad de interferente, pero no necesariamente de una manera directamente proporcional (4). La clasificación de las interferencias se puede hacer de acuerdo a varios principios:

I) Según los efectos: Específicas y no especificas
II) Según las propiedades: Físicas o químicas
III) Según la relación con analito: Independiente o proporcional
IV) Según el mecanismo: Similar o diferente
V) Según la procedencia: Exógena o endógena.

Estos aspectos no son excluyentes entre sí, de modo que cada interferente puede ser incluido en varias de las clasificaciones anteriores. Las clasificaciones se efectúan de acuerdo a aquellos aspectos que ofrecen más información acerca de las medidas que han de tomarse para evitar o al menos reducir dichos errores.

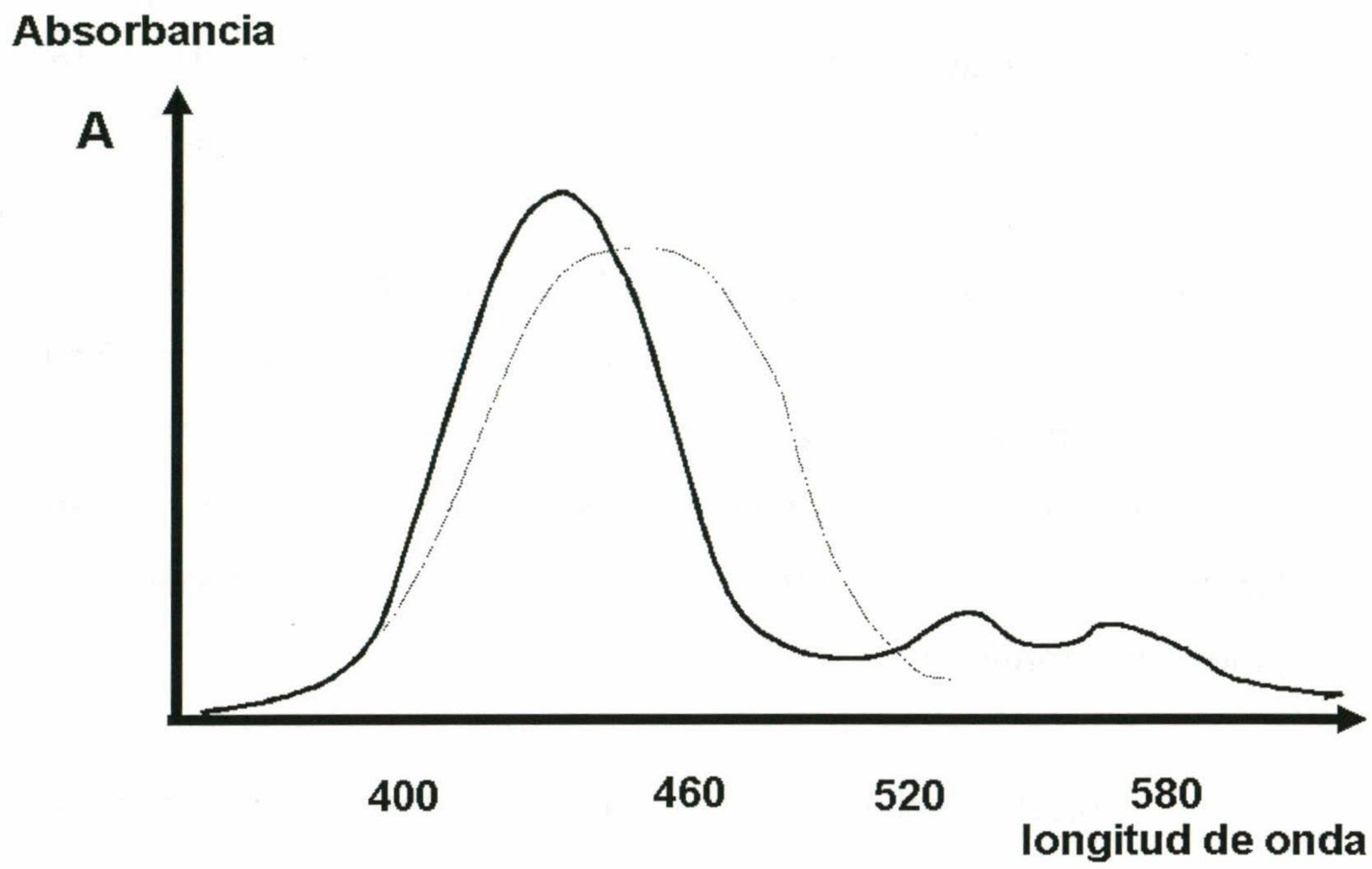
I) Según los efectos: Específicas, no específicas:

Las interferencias específicas o inherentes al procedimiento analítico son aquellas que para su corrección necesitan que el propio procedimiento analítico sea modificado. Un ejemplo sucede en la determinación espectrofotométrica de la concentración de cloruro, basada en el desplazamiento producido por el cloruro del tiocianato de sus complejos con el mercurio (II), en presencia de iones hierro(III). El resto de los haluros, capaces de producir un desplazamiento del tiocianato similar al producido por el cloruro interferirán en la reacción, interferencia que únicamente puede ser corregida modificando el procedimiento analítico.

Interferencias no específicas son las debidas a la limitada resolución del instrumento empleado, y para cuya corrección deberá realizarse una mejora instrumental. Un ejemplo de este tipo sucede en las determinaciones espectrométricas cuando el interferente y el cromóforo dan lugar a una superposición de sus espectros de absorción.

II) Según las propiedades físico químicas.-

Interferencia física. "En este caso el interferente, posee propiedades físicas que son detectadas como constituyente (analito)". Un ejemplo, son las debidas a la limitada resolución espectral de la señal del interferente y del analito. Es decir cuando el espectro de absorción del interferente y del cromóforo producido en la reacción se solapan. Un ejemplo, es el de la figura 1, en el cual se expresan los espectros de absorción solapados de la bilirrubina (línea de puntos) y hemoglobina (línea continua) (25).



Otra interferencia física se produce cuando el interferente altera las características físicas de la muestra como son cambios en la fuerza iónica, viscosidad, turbidez, tensión superficial, etc.

"*La interferencia química se produce cuando el interferente reacciona de forma inespecífica con el constituyente analizado o destruye algún producto intermedio de la reacción*" (7,20,26). Son ejemplos la modificación de la actividad enzimática mediante la supresión de activadores o la destrucción o formación de productos intermedios o incluso la formación de complejos o precipitación del constituyente analizado.

Otros ejemplos de interferencias químicas ampliamente descritos son las interferencias que producen los cuerpos cetónicos, en la determinación de creatinina por el método de Jaffé (12,13, 27) o de la bilirrubina en sistemas con peroxidasa acopladas. (28), las producidas por la hemoglobina (29), o las producidas en inmunoensayos (30).

III) **Según la relación con el analito: independiente o proporcional**

La interferencia puede ser *"independiente o proporcional a la concentración del analito según la relación entre el efecto producido por el interferente y la concentración del analito*". Por ejemplo, un interferente o el producto de la reacción entre el interferente y el reactante puede absorber luz a la longitud de onda de la reacción, y en este caso la interferencia es independiente de la concentración del analito.

Por otra parte, el interferente puede reaccionar directamente con el analito o puede interferir en la reacción química y esta interferencia es analito dependiente de modo que el grado de interferencia cambia cuando la concentración del interferente es alterada. Un ejemplo de interferencia proporcional es la producida por la hemoglobina en la determinación de bilirrubina (26), en la cual la hemoglobina produce una interferencia positiva en la determinación de la bilirrubina, pero que disminuye en valor al aumentar la concentración de bilirrubina en la muestra. (Figura II).

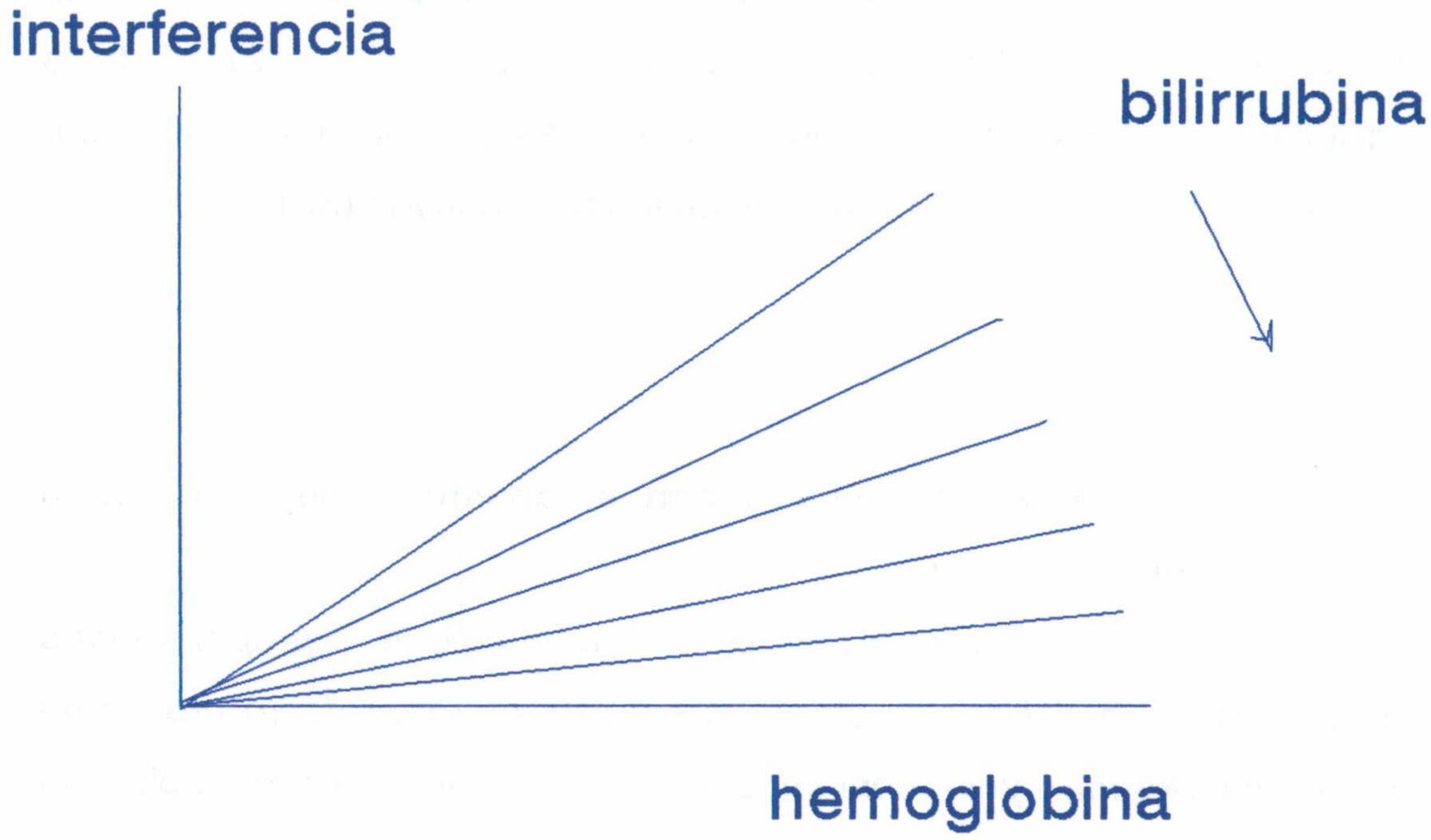


Figura II.- Interferencia analito dependiente, producida por la hemoglobina en la determinación de bilirrubina.

IV) Según el mecanismo: Similar o diferente.-

Según el mecanismo de acción de la interferencia puede ser similar o diferente al analito. " *Una interferencia similar, es aquella que se produce por una sustancia que contribuye al resultado o señal por un mecanismo similar al del analito, y que en ese procedimiento no puede ser distinguido de la señal dada por el analito".* Este tipo de interferencia produce un error sistemático que en general no depende de la concentración del analito, pero sí de la concentración del interferente. Por ejemplo, la reacción entre el acetato y el picrato alcalino en la determinación de creatinina, es una interferencia inherente al procedimiento analítico (12,13), y otro ejemplo serían las debidas a la limitada resolución de los instrumentos.

"En las interferencias diferentes, el interferente altera la señal analítica por un mecanismo diferente al del analito". Este tipo de interferencia depende generalmente de la concentración del constituyente y afecta a la sensibilidad y a la linealidad del procedimiento analítico y a veces depende de la concentración del interferente. Un ejemplo es el que se produce en la espectrometría de absorción atómica en el cual los componentes que acompañan al analito pueden producir la conversión de este a especies no disociables.

Otro ejemplo lo constituye el método de determinación de calcio, que ha sido considerado de referencia, la espectroscopía de absorción atómica. El calcio en suero está presente en complejos proteicos o inorgánicos y es detectable por absorción atómica con llama sólo cuando se ha disociado de estos complejos. Se utiliza un medio ácido para disociar el calcio fijado a las proteínas y se agregan iones

lantano (La+++) o estroncio (Sr+++) para desplazar el Ca (II) de los fosfatos, oxalatos, citratos y otros complejos. En absorción atómica se reduce la interferencia debida al magnesio mediante espectrómetros con redes de difracción y ancho de banda estrecho, específicos de la línea de absorción del calcio (31).

V) **Según la procedencia: Exógenas o endógenas.**

La interferencia presente en un espécimen, puede proceder de un origen exógeno o de origen endógeno. Se dice que *"un interferente es endógeno, cuando está presente en el espécimen, bien en condiciones fisiológicas o patológicas"*, y *"al efecto producido se le denomina interferencia endógena*", es decir la sustancia interferente es un constituyente "natural" del individuo en estudio, como ejemplo la bilirrubina.

"*Una interferencia exógena es la producida por factores externos bien in vivo o bien in vitro",* estos factores se denominan interferentes exógenos".

Las interferencias *"in vitro"* exógenas proceden de un aporte externo y son las producidas por medicamentos o las debidas a contaminación (anticoagulantes, conservantes, etc.) (32,33,34).

La mayoría de las interferencias endógenas producidas *"in vitro"*, lo hacen por dos mecanismos básicos: a) "interferencias físicas y/o espectrales" y b) "interferencias químicas", por reacciones químicas competitivas. En la interferencia física el interferente posee propiedades físicas que son detectadas como constituyente.

1.1.3. - **Evaluación de las interferencias**.-

La mejor manera de establecer y cuantificar una interferencia con un método analítico dado es determinar el analito por otro método que no demuestre esa interferencia. Un método de referencia es adecuado para este análisis, asumiendo que la interferencia no tiene efecto en el método de referencia. Es evidente que en general en la mayoría de los laboratorios no se dispone de estos métodos de referencia.

Una segunda aproximación es analizar la muestra con un método diferente. Si los resultados para estos dos métodos son diferentes, esto sugiere que existe un interferente en la muestra. Si el resultado es similar en ambos métodos, pueden ser dos cosas, bien que no hay interferencias o bien que la interferencia es esencialmente similar para los dos métodos.

Una tercera aproximación es añadir cantidades seriadas de elevada concentración del posible interferente a alícuotas de una misma muestra. Esta aproximación determina la presencia y el grado de la interferencia con un método dado.

Se pueden analizar los resultados mediante regresión lineal. Si la pendiente difiere significantemente de cero cuando se determina con la prueba t de Students, la interferencia esta presente. Un método simple de determinar el valor de t es dividir la pendiente por el error standard de la pendiente. $P < 0.05$ indica la existencia de interferencia, y la magnitud de la interferencia viene dada por la pendiente (3).

1.1.4. - **Criterios de interpretación de las interferencias**

Uno de los objetivos, en el estudio de un método de determinación, es la determinación del error total, que es la suma de los errores aleatorios y sistemáticos (35,36). Las interferencias (junto con la imprecisión y las inexactitudes sistemáticas) son uno de los mayores contribuyentes al error total de un procedimiento analítico.

Las interferencias *"in vitro"* se producen debido a que las determinaciones se realizan en las complejas matrices que constituyen los líquidos biológicos (suero, plasma, orina, líquido cefalorraquídeo, etc.). Dichos líquidos contienen cientos de compuestos que pueden reaccionar con los reactivos utilizados o emular las propiedades físicas, cromatográficas o espectrales del constituyente estudiado. La situación se complica aún más, debido a que la composición química de estos líquidos puede variar según la naturaleza y grado de los procesos patológicos.

Pocos métodos analíticos están libres de interferencias y todos están potencialmente sujetos a la existencia de las mismas. Así, el grado de interferencia que se puede aceptar en un método se debe basar tanto en **criterios estadísticos, como químico - analíticos, como en criterios clínicos.**

Los diseños experimentales para el estudio de interferencias endógenas varían ampliamente, pero en cuanto a los resultados obtenidos hay que establecer la distinción entre las **interferencias estadísticamente significativas y analíticamente significativas**, que son siempre importantes, sobre todo desde el punto de vista químico -

analítico y que deben ser siempre evaluadas y cuantificadas con objeto de mejorar la especificidad de los métodos analíticos; de aquellas **interferencias clínicamente significativas**, que son las que conducen a errores serios en la interpretación de los resultados del laboratorio.

Una participación decidida del laboratorio es importante para solucionar cualquiera de los dos casos:

a) utilizando métodos cuyas interferencias estén perfectamente documentadas,
b) Obteniendo información no sólo del tipo, sino también de la cantidad de interferencia,
c) Eliminando estas interferencias o bien
d) Avisando a los clínicos de la presencia de las mismas.

Cuando se han calculado las interferencias o efectos estadísticamente significativas, es importante decidir y establecer que magnitud es **analíticamente significativa** y cual es **clínicamente significativa.**

En un método analítico, la IUPAC considera a una sustancia como interferente, con un nivel de confianza del 99,86%, si causa un error sistemático mayor de tres veces de la desviación estándar encontrada en una serie, inequívocamente definida, de resultados obtenidos con el método analítico (22).

Por tanto, la **interferencia analíticamente significativa**, ha de ser mayor de tres veces la desviación estándar encontrada en un estudio de precisión para la concentración del constituyente en estudio; y

como, en general, la imprecisión de los métodos analíticos varía con la concentración del constituyente, tambien variará la cantidad que se considera como límite para establecer una interferencia analítica.

Hasta que se establezcan otros criterios, y de acuerdo con la IUPAC (22) se considerarán los límites para decidir acerca de la existencia o no de interferencias en términos de imprecisión, estableciéndose que si el efecto relativo debido a una interferencia estadísticamente significativa, está fuera de los límites de la imprecisión del método se considere como una **interferencia analíticamente significativa** y que si la desviación del valor verdadero debido a esta interferencia no afecta los criterios de decisión clínicos, no se considere a la interferencia como una interferencia clínicamente significativa.

1.1.5. - **Objetivos analíticos para interferencias**

Como se ha comentado previamente, los especímenes utilizados habitualmente en el laboratorio clínico, son disoluciones complejas y variables, que contienen un gran número de componentes, por lo que la ocurrencia de una interferencia es un hecho frecuente que potencialmente afecta a todos los procedimientos analíticos. No obstante, la cuantía del error producido por la interferencia no siempre tiene repercusiones prácticas en la interpretación de los resultados. Por ello debe considerarse como clínicamente significativas solamente las interferencias que influyan en la interpretación de los resultados.

Como norma general, no se deben considerar como potencialmente interferentes a aquellos compuestos de los que atendiendo a sus propiedades físicas y químicas, no se sospeche que pueda interferir en un determinado procedimiento analítico. Tiene particular interés el estudio de las interferencias que pueden causar los constituyentes endógenos cuya concentración aumenta en una enfermedad determinada, o los fármacos que usualmente se administran para esa enfermedad.

Los criterios, en cuanto a los requerimientos clínicos, usados actualmente para aceptar o rechazar un método analítico indican que el coeficiente de variación analítico debe ser menor que la mitad del coeficiente de variación intraindividual (35,36). Por tanto a una interferencia analíticamente significativa se la considerará **interferencia clínicamente significativa**, cuando en términos relativos, el valor de la interferencia estadística sea mayor de la mitad del coeficiente de variación biológico individual (15,37,38).

Las *"interferencias clínicamente significativas son aquellas interferencias analíticas que de forma general conducen a errores importantes en la interpretación de los resultados del laboratorio".* Se considerarán como tales cuando en términos relativos el valor de la interferencia sea mayor de la mitad del coeficiente de variación biológico intraindividual (15,37).

Los objetivos analíticos pueden ser considerados como los requisitos deseables para las características de aceptabilidad y de operación de los procedimientos analíticos que permitan un adecuado cuidado de los pacientes (39).

La mayor probabilidad de diagnóstico equivocado, por error analítico, del resultado de una prueba se produce a una concentración en la cual se lleva a cabo el diagnóstico y se denomina "concentración de decisión médica" o concentración crítica (Xc) (40). Para cada concentración crítica, se puede formular un estándar de rendimiento, que consiste en la concentración de decisión clínica, Xc y en el "error permisible o error máximo tolerable" (EP).

Hay tres tipos de errores que pueden afectar a los resultados de un paciente determinado: 1) errores aleatorios (imprecisión o no-reproducibilidad), 2) errores sistemáticos (inexactitudes) y 3) inespecificidades (interferencias) (41).

Es importante establecer objetivos analíticos para el error permisible total de un procedimiento analítico, delimitando las causas del mismo. Se debe tener siempre en cuenta que el error analítico total es la suma de los distintos tipos de errores. La suma debe ser menor que el límite establecido para el error analítico total. En otras palabras, la suma de los

distintos errores o el error total, siempre ha de ser menor que el error máximo tolerable o permisible para ese procedimiento analítico.

Y así, se han planteado objetivos globales para inespecificidades o interferencias (37): "el objetivo analítico para un procedimiento de determinación es que no tenga interferencias" (4).

Una vez establecido un objetivo global e hipotético, se deben fijar criterios para decidir la existencia de interferencias.

Los límites para decidir acerca de la existencia de interferencias clínicamente significativas (LICS), son los valores a partir de los cuales a una interferencia se le considera como clínicamente significativa, y se calculan a través de la siguiente fórmula:

$$LICS = (CVI/2)(Xc/100)$$

Donde CVI es el coeficiente de variación biológica intraindividual y Xc es la concentración crítica o de decisión clínica del constituyente utilizado en el estudio de interferencias (15, 38).

IMPORTANCIA CLINICA DE LAS INTERFERENCIAS

INTERFERENCIAS ENDOGENAS

1.2.1. - IMPORTANCIA CLINICA DE LAS INTERFERENCIAS. INTERFERENCIA ENDOGENAS

1.2.1.1. - Interferencias por bilirrubina.-

Para ver como afecta la bilirrubina sobre la determinación de algunos constituyentes, lo estudiaremos en un ejemplo real de nuestro laboratorio (42).

Caso Clínico nº 1. -

> Se trata de un paciente varón de 27 años de edad, que ingresa para un estudio de convulsiones generalizadas tónico - clónicas, y que presenta como antecedentes el ser bebedor habitual desde los 12 años de edad, con crisis convulsivas ya a los 12 años, y que en su ingreso se objetivó descompensación hidrópica, hipertensión portal, anemia macrocítica e ictericia severa persistente (colestasis intrahepática), y en su analítica de ingreso entre otros refleja una bilirrubina de 38 mg/dl, glucosa de 68 mg/dl, colesterol de 81 mg/dl y triglicéridos de 168 mg/dl, y que mediante tratamiento habitual se corrigió la hiponatremia y la encefalopatía hepática. Durante los días que permaneció ingresado desarrolló una sépsis por estafilococos, la cuál fue tratada satisfactoriamente.
>
> Se efectuaron distintas analíticas durante los días de estancia hospitalaria, y se observa que el paciente presentaba una elevada concentración de bilirrubina y que disminuía con el transcurso del tiempo y del tratamiento, pero también que la glucosa, partiendo de un valor bajo, con el transcurso del tiempo aumentaba, así como también lo hacía el colesterol, por el contrario los triglicéridos disminuyen su concentración al pasar el tiempo y disminuir la bilirrubina

Estos resultados y esta dependencia o relación con la concentración de bilirrubina se confirmó cuando al cabo de dos meses el paciente vuelve a presentar concentraciones altas de bilirrubina y una glucosa y colesterol bajos. Al aumentar la concentración de bilirrubina, disminuye la concentración de glucosa o lo que es lo mismo existe una interferencia negativa fuerte debida a la bilirrubina en la determinación de glucosa. Lo

mismo se puede comentar para la determinación del colesterol que presenta también interferencia, pero para la determinación de triglicéridos existe una interferencia positiva, de modo que cuando en un suero existe una elevada concentración de bilirrubina, se produce una sobre estimación en la concentración de triglicéridos.

Hay que hacer notar que estos hechos no son debidos al azar, ni situaciones desconocidas para el bioquímico clínico, sino que por el contrario su origen es conocido en unos casos y sospechado o intuido en otros.

La interferencia producida por la bilirrubina en métodos enzimáticos que hacen uso del sistema indicador propuesto por trinder (28,43,44), con peroxidasa acoplada ha sido ampliamente estudiada, siendo en general este tipo de interferencia debido a que la bilirrubina es oxidada por el sistema peróxido de hidrógeno peroxidasa, lo cual conduce a una disminución de la concentración del cromógeno y en consecuencia una disminución de la concentración de glucosa o colesterol (45-48).

1.2.1.2. - **Interferencias por turbidez.-**

Otro tipo de interferencia analítica endógena bastante común es la debida a la turbidez de la muestra. La lipemia que ocurre después de una comida puede tener importancia en los resultados de las determinaciones de las magnitudes bioquímicas, y como en el caso de la bilirrubina, también depende en gran parte de la metodología empleada por el laboratorio, desde donde debería informarse al clínico de la validez de los datos obtenidos en especímenes lipémicos.

Caso Clínico nº 2. -

> Se trata de un paciente varón de 67 años, que en el control preanéstésico se encontraron los siguientes valores analíticos: Ion sodio 120 mmol/l, potasio 3,8 mmol/l, urea 35 mg/dl, glucosa 110 mg/dl, colesterol 650 mg/dl y triglicéridos 1400 mg/dl y como característica física el suero era lipémico, y el paciente no presentaba ninguna otra alteración clínica aparente.

La concentración de sodio plasmático se expresa siempre en términos de volumen plasmático, aunque el ion sodio se distribuye únicamente en el agua plasmática. El plasma contiene alrededor del 93% del agua. El contenido de agua plasmática puede estar marcadamente reducida si están presentes grandes cantidades de lípidos o proteínas. Esto conduce a estimaciones artificialmente disminuidas de solutos como el sodio, ya que el ion medido se relaciona al volumen de plasma tomado para el análisis (49).

El método de fotometría de llama mide los iones en el volumen total de la muestra. En el caso de suero o de plasma el volumen de muestra está

compuesto por un 93,5% de agua, 5,4% de proteínas 0,6% de lípidos y 0,9% de otras moléculas. El efecto fisiológico de los iones es una función de su actividad en el volumen en el cual están disueltas. En las enfermedades que alteran la fracción de volumen de agua en suero, los mecanismos de control fisiológico tienden a mantener la actividad iónica. Pero si se reduce la fracción de volumen de agua, como en el caso de hiperlipidemia o hiperproteinemia, se reducirá la concentración real de iones en el volumen total de la muestra, aunque la actividad efectiva de los iones en el volumen de agua sea normal.

Otro tipo de interferencia producida por la presencia de triglicéridos es debido a la turbidez de la muestra, que puede provocar dispersión de la luz y por tanto un aumento de la absorbancia del blanco reduciendo por tanto la escala de operatividad para métodos colorimétricos (9,50).

1.2.1.3. - **Interferencia por hemoglobina.-**

La presencia de hemoglobina en los sueros es casi siempre debida a una mala manipulación de las muestras, y como tal no es una interferencia analítica endógena, pero debido a la presencia de un gran número de muestras en el laboratorio, y aunque el mejor método para eliminar este problema es efectuar una nueva extracción sanguínea, muchas veces, bien por que dicha extracción es difícil por ser el paciente un niño, o bien es difícil repetir la extracción, o bien se trata de un paciente ambulatorio y no está localizable, nos vemos obligados a analizar este tipo de muestras, y en ese caso nos preguntamos acerca de la validez de nuestros resultados.

La hemólisis de las muestras de sangre se puede producir por distintas razones tales como: efectuar la extracción incorrectamente (punción venosa traumática), uso de recipientes húmedos o sucios, forzar el paso de sangre dentro del tubo o durante el proceso de separación del suero, etc. Pero cualquiera que sea la causa de la hemólisis el efecto es una elevación artificial de la concentración de los valores de los distintos constituyentes del suero, que están también en alta concentración en las células de la sangre.

Caso Clínico nº 3. -

Se trata de una paciente mujer de 58 años con un diagnóstico inicial de hemoglobinuria paroxistica nocturna. Que ingresó en el hospital después de un episodio de hemoglobinuria, y con los siguientes resultados del laboratorio, hemoglobina en sangre 7 g/dl, test de Ham (incubación de eritrocitos en medio ácido positivo), electroforesis de hemoglobina normal, test de Coombs directo negativo, y con una concentración de ión potasio de 5,7 mmol/l, lactato dehidrogenasa de 3000 UI/L (Rfª 133-248) y haptoglobina > 150 mg/L (Rfª 410-2100), y hemoglobina plasmática de 162 mg/L (Rfª 0-50). La medicación en el momento del ingreso hospitalario era de 50 mg de prednisona, 1 mg de folato y 300 mg de ranitidina.

La concentración de lactato dehidrogenasa indica que se trata de una hemólisis y la baja concentración de haptoglobina, así como el ión potasio normal indica que se trata de una hemólisis intravascular in vivo, lo cual se confirma por una hemoglobina plasmática elevada (51).

La interferencia causada por la hemólisis ha sido relativamente poco estudiada y esta interferencia puede deberse en algunos constituyentes a que en el interior del eritrocito existen concentraciones superiores a las existentes en el plasma, por ejemplo, la concentración de lactato dehidrogenasa es de 160 veces mayor, la de ión potasio 22 veces y la de magnesio de 3 veces mayor que la plasmática (52,53).

Pero no sólo existen interferencias debido a una mayor concentración del contenido en el interior de los eritrocitos, sino que también se producen interferencias espectrales por la hemoglobina.

En resumen, la hemólisis in vivo o in vitro produce un incremento en la concentración de hemoglobina del suero o del plasma. La causa mayor de la hemólisis se produce in vitro en el momento de la obtención de la muestra o de su transporte. Los sueros no se observan hemolizados hasta que la concentración de la hemoglobina alcanza 0,2 g/l (54). La hemólisis in vivo sucede por destrucción mecánica, congelamiento, shock hiperosmótico, deplección de glucosa en la muestra o por fragilidad aumentada debido a enfermedad hereditaria (55).

1.2.1.4. - **Otras interferencias.-**

El efecto de las interferencias endógenas no sólo se reduce a las más conocidas como las citadas previamente, sino que debido a la gran cantidad de compuestos que existen o pueden existir en el plasma sanguíneo existe gran cantidad de potenciales interferentes como: el acetoacetato en la determinación de creatinina (56), la presencia de gran cantidad de proteínas en la determinación de iones en suero o en la determinación de urea (57) o en la determinación de fosfato (58), o la interferencia debida al cobre en la determinación del hierro (59-61)

Acetoacetato.- En la determinación de creatinina, el piruvato, la acetona, el ácido acetoacético, los aminoácidos, las proteínas y cualquier compuesto con un grupo metilo o metileno activo inducen errores en virtud de su acoplamiento con el picrato alcalino por un mecanismo análogo al de la reacción de la creatinina. Todos estos compuestos pueden producir sustancias coloreadas, que aumentan entonces la absorbancia en la región del complejo creatinina - picrato. Y por tanto, en pacientes diabéticos en estado cetósis, se producen elevadas concentraciones en sangre de ácido acetoacético, se producen elevadas concentraciones de creatinina pero que son debidos a la reacción con el ácido pícrico (12, 13, 56).

Cobre.- La interferencia producida por el cobre (II) en la determinación del hierro (II+III) por espectrofotometría directa, ha sido estudiada también por nuestro grupo de trabajo (62). Los métodos de medida actuales para la determinación de hierro (II+III), se basan en la

Debido a la similitud del Cobre (II) con el hierro (II), el primero es capaz de formar también compuestos de coordinación con el grupo ferroína (= N - C - C - N =), pero estos complejos presentan un coeficiente de extinción molar mucho menor que el formado por el hierro (II).

Por tanto se produce una ligera interferencia positiva cuando se determina el hierro y esta es debida a la presencia de cobre (II), y en los pacientes y sueros normales se estima que es del orden del 2%, que en condiciones normales carece de interés desde el punto de vista clínico, pero que puede ser muy importante en aquellas ocasiones, como son las que cursan con concentraciones séricas de cobre elevadas y concentraciones bajas de hierro, como pueden ser los embarazos o los linfomas.

Esta interferencia se puede minimizar utilizando compuestos como el ácido tioglicólico, neocuproína o tiourea, capaces de complejar y precipitar el cobre, impidiendo que reaccione con el reactivo cromógeno para la determinación de hierro (62,64).

Metalbúmina.-

En la hemólisis extravascular o en la digestión de sangre extravasada, el heme procedente de la hemoglobina es oxidado a hematina, la cual se combina con las proteínas plasmáticas para formar Metalbúmina. La metalbuminemia se puede observar en casos de válvulas intracardiácas y el plasma de estos pacientes es tan marrón que pueden producirse interferencias espectrales en la determinación de algunos compuestos y así se encuentran ligeras interferencias en la determinación de alanina aminotransferasa, lactato dehidrogenasa, bilirrubina, e interferencia positiva

se encuentran ligeras interferencias en la determinación de alanina aminotransferasa, lactato dehidrogenasa, bilirrubina, e interferencia positiva en la de terminación de: bilirrubina, gammaglutamiltransferasa, amilasa, colesterol, triglicéridos, urato, glucosa (65).

Fosfatasas alcalinas.-

Las fosfatasas alcalinas reaccionan con el glicerofosfato, dihidroxiacetona fosfato, fosfoenolpiruvato y ATP a pH neutro o alcalino, de modo que las muestras con elevada cantidad de fosfatasas alcalinas como las muestras pediátricas requieren una especial atención, ya que los triglicéridos pueden resultar aparentemente aumentados (interferencia positiva) debido a la hidrólisis de los fosfatos que son intermedios en las reacciones de determinación de triglicéridos (66).

Xantina.-

La presencia de xantina disminuye falsamente los valores obtenidos para urato por el método de la uricasa, ya que actúa como un inhibidor competitivo de la uricasa. Cuando hay xantina el urato medido por uricasa disminuye en un 9,1%. En la terapia con alolpurinol se demostró que la presencia de xantina en concentraciones superiores a 50 mg/L, produce valores bajos de urato cuando este se mide con métodos que utilizan uricasa, pero no cuando se mide con procedimientos que utilizan fosfotungstato (67).

IMPORTANCIA CLINICA DE LAS INTERFERENCIAS.

INTERFERENCIAS EXOGENAS

1.2.2. - IMPORTANCIA CLINICA DE LAS INTERFERECIAS. INTERFERENCIAS EXOGENAS

1.2.2.1. - Fármacos

Se han descrito muchas interferencias por fármacos y estas pueden ser positivas o negativas, aunque el signo de las mismas a veces no es obvio a partir del conocimiento de la naturaleza de los compuestos. Para el conocimiento de las interferencias es necesario conocer las características químicas del interferente, así como las características de las reacciones químicas.

Muchos fármacos interfieren con la determinación de analitos. Cualquier medicación administrada al paciente por cualquier vía (intravenosa, oral, subcutánea) puede interferir con el procedimiento analítico, ya que los fármacos presentan una elevada probabilidad de reaccionar con los analitos o reactivos. También los metabolitos de las drogas pueden causar interferencias tan importantes como la droga original. Muchos fármacos son convertidos químicamente a formas más polares, especialmente aquellos que son solubles en lípidos.

Haluros.-

Todos los métodos de determinación de cloruro presentan interferencias positivas debidas a otros haluros. El único haluro que constituye una interferencia clínicamente importante es el bromuro que se administra en algunas preparaciones terapéuticas. El bromuro y el cloruro no reaccionan de forma equivalente en todos los sistemas analíticos. El bromuro presenta una reactividad equivalente a 2,3 iones cloruros cuando

se determinan con instrumentos con electrodos selectivos para iones, una equivalencia de 1,6 iones cloruro con el método de tiocianato de mercurio con flujo continuo, y una equivalencia igual a un ion cloruro en el método de titulación por coulometría (68).

Dipirona.-

La dipirona es un analgésico, antipirético y antiinflamatorio, de amplio uso hospitalario. Este fármaco provoca una interferencia en la determinación de creatinina, por un método enzimático de modo que se producen valores indetectables de creatinina (69,70). Esta interferencia se produce también en la determinación de creatina quinasa, creatinina, triglicéridos, ácido úrico y colesterol y lactato dehidrogenasa al menos 180 minutos después de la administración de la dipirona, recomendándose por tanto su determinación, al menos transcurridos 360 minutos después de la inyección intravenosa del fármaco.

Acido ascórbico.-

Las interferencias también pueden ser debidas a las propiedades químicas de los medicamentos presentes en la muestra, un ejemplo es el poder reductor de muchos medicamentos (71). Así, el ácido ascórbico interfiere en numerosas determinaciones debido a sus propiedades reductoras, entre ellas en todas las determinaciones que se valoran en una reacción final, por la peroxidasa, denominada Trinder (72). Un ejemplo es la interferencia negativa producida por el ácido ascórbico en la determinación de Glucosa con el método de la glucosa oxidasa (73).

1.2.2.2. - **Aditivos.-** (74)

Se refiere a aquellos materiales añadidos a la muestra bien para inhibir la coagulación (anticoagulantes), inhibición de la glucólisis o bien separadores de suero. Han sido documentadas interferencias con distintas metodologías y causadas por anticoagulantes (heparina, EDTA, citrato y oxalato), así como también el fluoruro o el iodoacetato que se usan frecuentemente como anticoagulantes y que se ha descrito que interfieren con una variedad de procedimientos analíticos. El fluoruro inhibe los enzimas implicados en la glucólisis y el iodoacetato inhibe la actividad de la creatina quinasa (CK). Por último, los tapones de algunos tubos de extracción están sellados con silicona, la cual se ha descrito que interfiere en la determinación de magnesio con un electrodo ion selectivo.

1.2.2.3. - **Efecto matriz.-** (75,76)

La matriz de un espécimen es el conjunto de todos sus componentes excepto el componente en estudio. En algunos procedimientos analíticos, se puede producir una interferencia analítica de naturaleza compleja denominado efecto matriz. Este se produce cuando en la preparación del material se producen cambios en la solución que alteran los valores obtenidos con el ensayo. Este efecto se produce generalmente en las muestras de materiales de referencia, control o calibración y puede ser debidas a las sustancias (conservantes), añadidos o bien a la modificación de las características fisicoquímicas que se producen durante la preparación de las mismas (liofilización o congelación).

La modificación de las características fisicoquímicas de la matriz pueden influir en la reactividad, como puede ser la dilución; o por ejemplo, en el caso de proteínas, se pueden alterar o producir alteraciones

conformacionales que pueden alterar la accesibilidad a los epítopes o a los centros enzimáticos activos. De modo general el efecto matriz no afecta a las muestras séricas recientes pero sí a las muestras de control, calibración o de evaluación de la calidad.

El resultado es que las muestras de control y de los pacientes presentan diferencias en la reactividad y se identifican generalmente en la comparación de métodos donde se observa un comportamiento distinto entre las muestras de pacientes y las de control. Este efecto matriz se atribuye generalmente a las alteraciones durante el procesamiento al material añadido o eliminado durante la preparación de los materiales de control. Hay que tener en cuenta que tanto las hormonas como las muestras de fármacos son simples moléculas de modo que los metabolitos de los mismos no suelen estar presentes en el material de control. Y así la enorme complejidad analítica de metabolitos estructuralmente similares al analito no está presente en las muestras de control, lo cual puede alterar los resultados obtenidos en algunos procedimientos analíticos.

2

Resumen y Planteamiento

2.1. - **Antecedentes.-**

La IUPAC (24), definió *la sustancia interferente en un método analítico, como aquella que produce un error sistemático mayor que el valor obtenido por la desviación estándar de una serie inequívocamente definida de resultados obtenidos con el procedimiento analítico, multiplicado por un valor numérico que depende del nivel de confianza deseado. Para un nivel de confianza del 99,86%, es de tres desviaciones estándar.*

Las muestras que se procesan todos los días en los laboratorios clínicos, proceden de pacientes alguno de los cuales están sometidos a medicación en el momento del análisis y además entre los sueros que se procesan hay algunos con una intensa turbidez, otros con bilirrubina y algunos con sangre hemolizada.

Partiendo de estas premisas, nuestro grupo de investigación ha venido trabajando sobre el efecto de distintos interferentes (hemoglobina, bilirrubina, turbidez, fármacos) en varios constituyentes bioquímicos cuando se determinan o analizan por distintos analizadores.

También, en los últimos años, ha aumentado el número de fármacos disponibles para el tratamiento de los pacientes y aunque hay publicaciones de los efectos de algunos fármacos en las pruebas del laboratorio (6), es siempre importante estudiar el efecto de las interferencias y sobre todo cuando se introducen nuevos analizadores en el laboratorio. Así como, también es importante comprobar las interferencias producidas por dichos interferentes en distintos analizadores.

2.2. - **Hipótesis de trabajo.-**

Los interferentes más comunes como bilirrubina, hemoglobina, lipemia puede afectar o interferir en la determinación de distintos constituyentes bioquímicos. Los fármacos tienen distintos efectos "in vitro" en la determinación de los constituyentes bioquímicos.

2.3. - **Propósito del trabajo.-**

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, nos proponemos estudiar el efecto que tendría sobre las determinaciones de distintos constituyentes bioquímicos, "in vitro", tanto los interferentes endógenos (bilirrubina, hemoglobina, o lipemia) como algunos interferentes exógenos (algunos fármacos de uso frecuente en clínica).

2.4. - **Plan de trabajo**

Los objetos principales del presente trabajo se pueden concretar en las siguientes acciones:

1º. - Establecer y protocolizar un método para el estudio de las interferencias: Tanto para su detección como para su cuantificación.

2º. - Establecer los criterios para la interpretación de las interferencias.

3º. - Definir los objetivos analíticos para las interferencias.

4º. - Aplicar los protocolos para el estudio de las interferencias endógenas más comunes (bilirrubina, hemoglobina, turbidez) en un analizador de bioquímica.

5º. - Comparar las interferencias en varios analizadores.

6º. - Estudiar las interferencias por algunos fármacos en un analizador de bioquímica.

3

Método para detectar una interferencia

Material y Métodos

3.1. -METODO PARA LA DETECCION DE INTERFERENCIAS

3.1.1. - **Diseño experimental.** (37)

Se han utilizado sueros procedentes de personas sanas que no estaban tomando ninguna medicación. Es importante que la distorsión de las propiedades físicas y químicas de las muestras sea mínima, para que su comportamiento sea similar al de las muestras de los pacientes, y así, se admite una distorsión máxima de la matriz de un 5%. Se han procurado evitar las alteraciones de pH y cuando se ha efectuado se han neutralizado; y así como evitar el uso de solventes orgánicos en la medida de lo posible debido a su inmiscibilidad acuosa.

"Mezclas base de especímenes". - Sueros líquidos humanos de varios individuos sanos mezclados y con concentraciones del constituyente ajustada a la concentración de decisión clínica.

"Solución primaria del interferente". - Se utiliza el compuesto puro, en la misma composición que la existente en las muestras biológicas. Se disuelve a una concentración 20 veces mayor que la que va a ser estudiada, en el disolvente adecuado (Agua u otros solventes miscibles).

"Mezcla problema". - Utilizando técnicas volumétricas se diluye la "solución primaria del interferente" al 1/20 con la "mezcla base de especímenes", tomando precauciones especiales en cuanto al manejo de las muestras, evitando evaporaciones, exposición a la luz,... etc.,

"Mezcla control o de referencia". - Con objeto de poder comparar los resultados, se prepara una "Mezcla control" (muestra base de referencia), diluyendo el disolvente al 1/20 con la "mezcla base de especímenes".

3.1.2. - **Valoración de las muestras e interpretación de resultados.-**

Es importante la valoración repetida de las muestras, para evitar conclusiones erróneas. El número de repeticiones es función tanto de la precisión del método estudiado, como de la diferencia que se va a considerar significativa, como del grado de confianza requerido.

Se procesaron quince alícuotas de "mezcla problema con interferente" y quince de "mezcla de control", dentro de una misma serie analítica y con secuencia aleatoria (evitando las posibles contaminaciones del instrumento), se analizan los constituyentes en estudio. Para cada grupo de muestras, después de eliminar datos aberrantes (test de Dixon), se calculó la media y desviación estándar comprobando la gaussianidad (test de Normalidad de D´Agostino) y homogeneidad de varianzas (F de Snedecor), y se calculó la Interferencia (d) como:

$$\textbf{Interferencia (d)} = \mathbf{x}_{\textbf{interferente}} - \mathbf{x}_{\textbf{referencia}}$$

$$\text{Intervalo de confianza, 95\%} = d \pm 1.96 \quad (2 * s^2 / 15)^{1/2}$$

donde s= desviación estándar intraserial del procedimiento

Se evalúan los resultados, considerando que existe *interferencia estadísticamente significativa* de valor d, si el intervalo de confianza no incluye al cero; y en este caso se prosigue con el estudio de cuantificación. Si el intervalo de confianza incluye al cero, no se puede considerar que **d,** sea distinto de cero y por tanto, que exista interferencia estadísticamente significativa.

METODO PARA LA CUANTIFICACION DE INTERFERENCIAS.

METODO PARA LA CUANTIFICACION DE INTERFERENCIAS

3.2.1. - **Diseño experimental.** (37)

Después de determinar la existencia de una interferencia estadísticamente significativa, es necesario establecer la relación que puede existir entre la magnitud de la interferencia y la concentración del interferente. Esta relación nos va a permitir determinar la interferencia a cualquier concentración del interferente. Para ello, se preparan una serie de soluciones en las que existe la misma concentración del constituyente estudiado, pero concentraciones distintas del interferente.

Este proceso se realizó para cada interferente solamente para aquellas magnitudes que presentaban la existencia de interferencias.

Preparación de los especímenes.

Se utilizan las soluciones preparadas en la fase anterior, una con elevada concentración del interferente *"mezcla problema"* y otra sin él o con baja concentración, *"mezcla control"*, que mediante técnicas volumétricas se mezclarán en distintas proporciones para obtener soluciones (como mínimo cinco), en las que teóricamente existía la misma concentración del constituyente analizado y concentraciones crecientes del interferente.

Valoración de los especímenes y cálculo de la interferencia, recta de regresión.

Es importante la valoración repetida de las muestras para evitar conclusiones erróneas, y el número de repeticiones, es función de la precisión del método estudiado, de la diferencia que se considera significativa, y del grado de confianza.

Cada solución se valoró por quintuplicado (32), [evitando las posibles contaminaciones del instrumento], analizando el constituyente en estudio y calculando la media para cada solución, C_i. A continuación se efectuó una representación gráfica, en la que se reflejaba en el eje de las abscisas (y) todos los datos obtenidos experimentalmente en las distintas soluciones y la media para cada concentración, y en el eje de ordenadas (x) la concentración del interferente (Figura 3).

Si visualmente se observaba una relación lineal, entonces se aplicó un análisis de regresión (Passing-Bablock), para calcular la pendiente (**m**), la intersección (**n**) y la desviación estándar ligada ($S_{y.x}$), y el coeficiente de correlación (r) de la ecuación:

$$\mathbf{C_i = m\ I + n}$$

donde $\mathbf{C_i}$ = concentración del constituyente estudiado e **I** = concentración del interferente.

Se efectuó una representación de la recta obtenida y se comprobó que la respuesta fuese lineal y que se ajustase a los datos experimentales. También se calculó el intervalo del 95 % de confianza de la recta de regresión obtenida, para comprobar la bondad del ajuste.

La interferencia analítica se describe mediante la pendiente (**m**) de la recta de regresión, siendo el signo de la misma positivo para una interferencia positiva y negativo en caso contrario. La pendiente representa la sobreestimación o subestimación en la concentración del constituyente en estudio por cada unidad de aumento de la concentración del interferente (26).

Dependiendo de la distribución y de las imprecisiones de los resultados de la serie de la x y de la y; se usaó en lugar de la regresión de Passing y Bablok, la más adecuada en cada caso, como son: Deming, Theil, Maeckel, Feldman, Linet, etc.

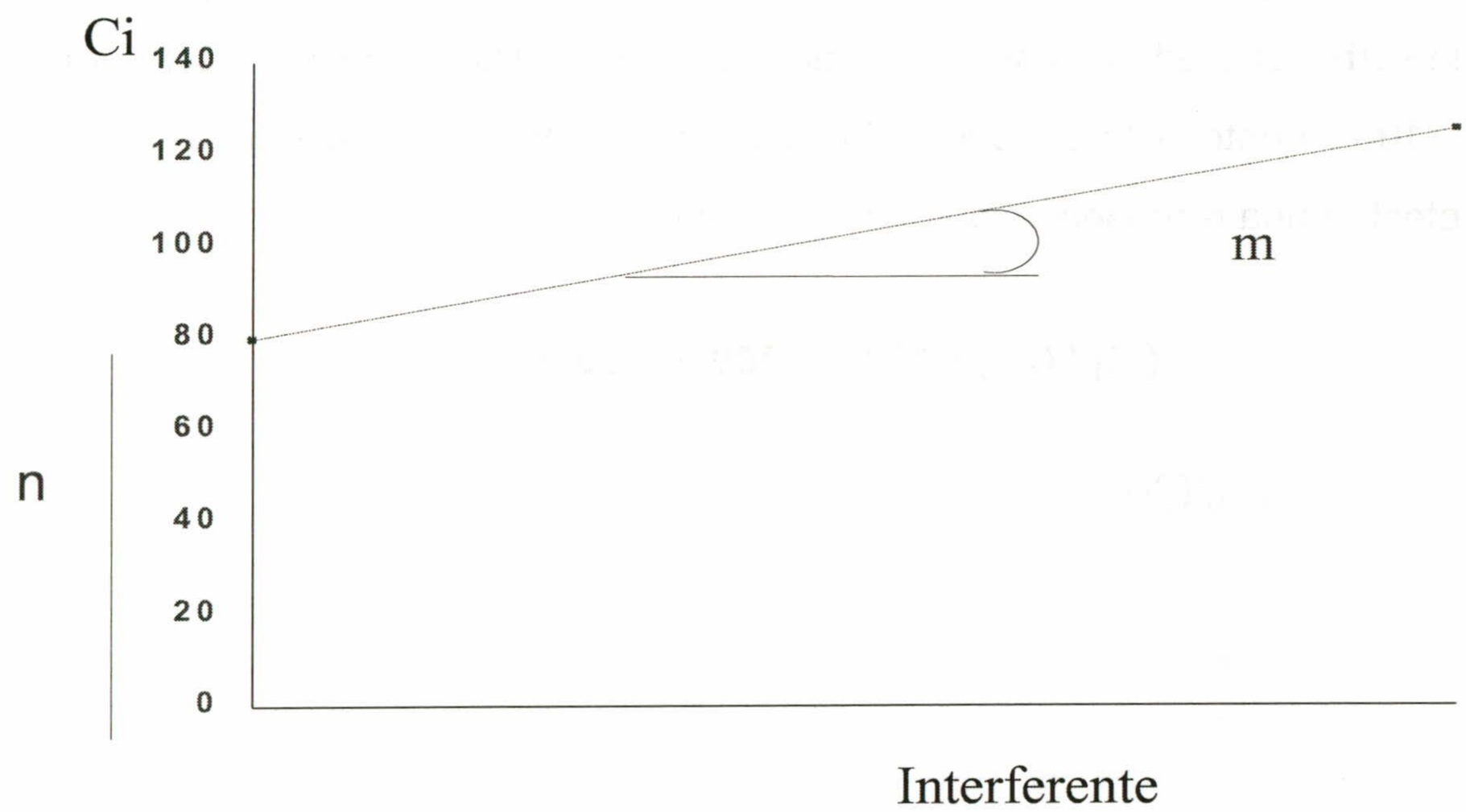


Figura 3. - Representación gráfica de la cuantificación de interferencias. Ecuación: $C_i = m\ I + n$, Donde I = concentración de interferente.

3.2.2. - **Interpretación gráfica.**

Además de la indicada antes, se pueden utilizar otros tratamientos gráficos. Uno de los más comúnmente utilizado para representar la cantidad de interferencia en función de la concentración del interferente es el denominado **interferograma** (77,78), en el cual para comparar los resultados de las series de soluciones sin que estén afectados por el valor absoluto del constituyente en estudio, se efectúa una representación del valor obtenido para cada una de las muestras de la serie calculadas como porcentaje de la concentración inicial [(C_i / C_o) * 100], frente a la concentración del interferente, I. En la Figura 4, se efectúa una representación de la ecuación:

$$(C_i / C_o) * 100 = 100 + po * I$$

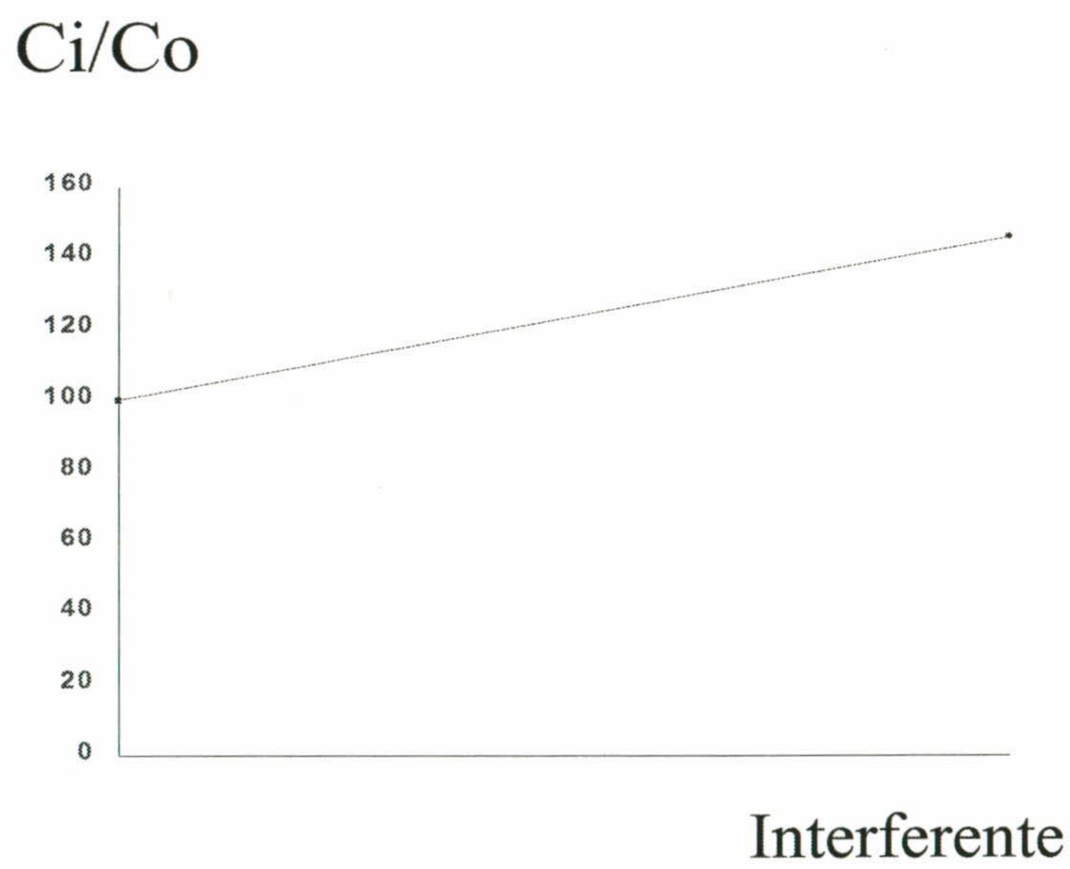


Figura 4. - Representación gráfica de la cuantificación de interferencias. Ecuación (Ci/Co) * 100 = 100 + po I, Donde I = concentración de interferente.

PREPARACION DE "MEZCLAS BASE DE ESPECIMENES" CON INTERFERENTES

3.3. -PREPARACION DE "MEZCLAS BASE DE ESPECIMENES" CON INTERFERENTES.

3.3.1. - **Bilirrubina no conjugada.** (37)

La preparación de soluciones de bilirrubina se ha realizado en la oscuridad debido al deterioro que se produce en la bilirrubina con la luz. (En lugar de hidróxido sódico se puede utilizar de dimetilsulfóxido y carbonato sódico 0.1 M para disolver la bilirrubina).

"Disolución primaria de interferente". Se disuelve 24 mg de bilirrubina no conjugada (pesada en la oscuridad y protegida de la luz) (Merck, art. 24520, lote 2515702) en 3 ml de una solución de hidróxido sódico, Na (OH), 0.1 M.

"Mezcla problema". Se añadió 0.1 ml de la "solución primaria de interferente" a 1.8 ml de la "mezcla base de especímenes", añadir a continuación 0.1 ml de una solución de ácido clorhídrico, Cl H, 0.1 M (Merck, art. 317, lote 9616755).

"Mezcla de referencia". Se añadió 0.1 ml de solución de hidróxido sódico 0.1 M a 1.8 ml de la "mezcla base de especímenes" y a continuación 0.1 ml de ClH, 0.1 M (Merck, art. 317, lote 9616755) (79).

3.3.2. - **Hemoglobina.**

La hemoglobina ha sido una de los interferentes clásicamente estudiados (10) y para su estudio existen varias maneras de realizarlo(26,78), en el presente trabajo se ha realizado del siguiente modo:

Preparación del hemolizado. Una muestra de sangre heparinizada de un donante sano, se centrifuga y se elimina el plasma. Los eritrocitos se lavan con solución salina, al menos tres veces, y después de cada centrifugación se retira el sobrenadante. Después de retirar el último sobrenadante, se añade a los eritrocitos agua destilada, para provocar su lisis (se congela y descongela repetidamente, la mezcla, para facilitar la ruptura de los eritrocitos). Se centrifugó, para eliminar los estromas y restos celulares, y se guardó el sobrenadante (hemolizado) (80). Determinar la concentración de hemoglobina en el hemolizado, para preparar la "solución interferente" ajustando su concentración hasta 100 g/L.

"Mezcla problema", se añadió 0.1 ml del hemolizado (disolución interferente) a 1.9 ml de suero del mismo donante del que se ha efectuado el hemolizado.

"*Mezcla de referencia*", se añadió 0.1 ml de agua a 1.9 ml de suero del mismo donante del que se ha efectuado el hemolizado.

3.3.3. - **Turbidez.**

Para el estudio de la turbidez se han utilizado clásicamente las emulsiones grasas utilizadas en nutrición (intralipid, Lipovenos,...).

"*Mezcla problema*", añadir 0.1 ml de la emulsión grasa al 20% (Lipovenos 20%, Fresenius, art. 696765, lote K 009 G5), a 1.9 ml de mezcla base de especímenes.

"*Mezcla de referencia*", añadir 0.1 ml de agua a 1.9 ml de mezcla base de especímenes.

3.3.4. - **Fármacos.-**

Se han preparado por pesada a partir del medicamento puro y disolución en solución acuosa. Y a partir de estas se prepararon las "mezclas problemas" diluyendo al 1/20 las soluciones anteriores con una "mezcla base de especímenes"; y las "mezclas de referencia"; diluyendo el disolvente al 1/20 con la "mezcla de especímenes", de modo que las concentraciones alcanzadas en las mezclas problema son las indicadas en la siguiente tabla:

Fármacos	**Concentración máxima en el estudio (mg/L)**	**Concentración en el ámbito terapéutico**
Acetilsalicílico	800	250
Acido ascórbico	300	30
Dobexilato cálcico	200	20
Cefoxitina	600	250
Levodopamina	20	4
Metildopamina	200	2
Metronidazol	100	10
Fenilbutazona	300	100
Doxicilina	30	3
Rifampicina	80	20
Ampicilina	400	200
Ciclosporina	10	1
Acetilcisteína	150	30

Las concentraciones utilizadas han sido las recomendadas por el grupo europeo de expertos en las interferencias por fármacos (81).

MATERIAL DE LABORATORIO

3.6. - MATERIAL DE LABORATORIO

Los analizadores utilizados han sido:

Analizador	Firma Comercial
Hitachi-717	Boehringer Mannheim
Hitachi-911	Boehringer Mannheim
Hitachi-917	Boehringer Mannheim
Eris-6170	Merck-Olympus-Eppendorf
AU-510	Merck-Olympus-Eppendorf
Dax-72	Technicon
CX-7	Beckman

En los cuales se han utilizado los reactivos y equipos de reactivos suministrados por la casa fabricante de los equipos

3.6.1. - Productos químicos utilizados:

- Bilirrubina. Merck
- Dimetilsulfóxido, Sigma
- Na OH, Merck
- ClH, Merck
- Lipovenos 20%, Fresenius
- Intralipid (Kabi Pharmacia Inc)
- Carbonato sódico, Merck
- Agua bidestilada
- Acido acetílsalícilico
- Acido ascórbico
- Dobexilato cálcico
- Cefoxitina

- Levodopamina
- Metildopamina
- Metronidazol
- Fenilbutazona
- Doxicilina
- Rifampicina
- Ampicilina
- Ciclosporina
- Acetílcisteína

3.6.2. - Material de laboratorio

- Centrífuga
- Micropipetas automáticas de 10 a 1000 microlitros
- Tubos de ensayo de centrífuga
- Tubos Eppendorf
- Pipetas Pasteur
- Matracez Erlenmeyer
- Tubos de polipropileno pequeños
- Balanza de precisión
- Analizador AU-510 (Olimpus-Merck)
- Analizador Dax-72 (Technicon)
- Analizador CX-7 (Beckman)
- Analizador Hitachi 717 (Boehringer Mannheim)
- Analizador Hitachi 911 (Boehringer Mannheim)
- Analizador Hitachi 917 (Boehringer Mannheim

METODOS ANALITICOS

3.7. - METODOS ANALITICOS

Los métodos analíticos utilizados en los analizadores Hitachi 917, 717 y 911, han sido los siguientes:

Constituyente	**Método analítico**	Referencia
Glucosa	Glucosa oxidasa	82
Urea	Ureasa / Glutamato dehidrogenasa	83
Creatinina	Jaffé (Blanco cinético)	84
Acido úrico	Uricasa peroxidasa	85
Aspartato aminotransferasa	IFCC con fosfato de piridoxal	86
Alanina aminotransferasa	IFCC con fosfato de piridoxal	87
Gamma glutamiltransferasa	Szasz	88
Bilirrubina Total	DPD	89
Bilirrubina Directa	Sulfanílico diazotado	90
Triglicéridos	GPD / peroxidasa	91
Colesterol	Colesterol oxidasa / peroxidasa	92
Fosfatasas alcalinas	Rosalki	93
Creatina quinasa	DGKC	94
Lactato dehidrogenasa	DGKC	95
Ion calcio (II)	O-cresolftaleína	96
Fosfato no esterificado	Fosfomolibdato	97
Proteínas totales	Biuret	98
Albúmina	Verde de Bromocresol	99
Hierro (II+III)	Ferrozine sin desproteinización	100
Amilasa	Maltoheptaóxido	101

3.7.1. - Fundamentos de los métodos analíticos utilizados en los analizadores Hitachi (Boehringer Mannheim). -

GLUCOSA.- (Glucosa oxidasa/peroxidasa) (82)

$$\text{Glucosa} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Glucosa oxidasa}} \text{Gluconato} + H_2O_2$$

$$2\ H_2O_2 + \text{4-aminofenazona} + \text{fenol} \xrightarrow{\text{Peroxidasa}} \text{4- (p-benzoquinnona-monoimino) - fenazona} + 4\ H_2O$$

UREA.- (Ureasa/glutamato dehidrogenasa) (83)

$$\text{Urea} + H_2O \xrightarrow{\text{Ureasa}} 2\ NH_4^+ + CO_2$$

$$2\ \alpha\text{-cetoglutarato} + 2\ NH_4^+ + 2\ NADH \xrightarrow{\text{Glutamatodehidrogenasa}} \text{2-L-glutamato} + 2\ NAD^+ + 2\ H_2O$$

CREATININA.- (Picrato alcalino)(84). -

$$\text{Creatinina} + OH^- + \text{ácido pícrico} \longrightarrow \text{picrato alcalino}$$

(Complejo de Janovski, rojo)

URATO.- (Uricasa/peroxidasa)(85)

$$\text{ácido úrico} + 2\ H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{Uricasa}} \text{alantoína} + CO_2 + H_2O_2$$

$$2\ H_2O_2 + H^+ + \text{N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-m-toluidina} \xrightarrow{\text{Peroxidasa}} \text{colorante de quinondiimina} + 4\ H_2O$$

ASPARTATO AMINOTRANSFERASA.- (IFCC)(86)

aspartato aminotransferasa

α-cetoglutarato + L-aspartato ←-----→ L-glutamato + oxaloacetato

malatodehidrogenasa

oxaloacetato + NADH + H^+ ←-----→ L-malato + NAD^+

ALANINA AMINOTRANSFERASA.- (IFCC)(87)

alanina aminotransferasa

α-cetoglutarato + L-alanina ←-----→ L-glutamato + piruvato

lactatodehidrogenasa

piruvato + NADH + H^+ ←----------→ L-lactato + NAD^+

GAMMAGLUTAMIL TRANSFERASA.- (Szazs)(88)

γ- Glutamiltransferasa

L-γ-Glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida + glicilglicina ----------→

L-γ_glutamilglicilglicina + 5-amino-2-nitrobenzoato

BILIRRUBINA TOTAL.- (DPD)(89,90)

Bilirrubina + sal diazonio ----------→ azo-bilirrubina

TRIGLICERIDOS.- (Gliceroquinasa/ 6 glicerol-fosfato quinasa)(91)

$$\text{Triglicéridos} + 3\ H_2O \xrightarrow{\text{Lipoprotein - lipasa}} \text{glicerol} + 3\ \text{RCOOH}$$

$$\text{Glicerol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{gliceroquinasa}} \text{glicerol-3-fosfato} + \text{ADP}$$

$$\text{glicerol-3-fosfato} + O_2 \xrightarrow{\text{Glicerol-fosfato-oxidasa}} \text{dihidroxiacetona fosfato} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{amino-4-fenazona} + \text{4-cloro-fenol} \xrightarrow{\text{peroxidasa}} 2\ H_2O + \text{CLH} + \text{4-(p-benzoquinona-monoimino)-fenazona}$$

COLESTEROL.- (Colesterol oxidasa/peroxidasa)(92)

$$\text{Esteres de colesterol} + H_2O \xrightarrow{\text{Colesterol-esterasa}} \text{colesterol} + 3\ \text{RCOOH}$$

$$\text{Colesterol} + O_2 \xrightarrow{\text{Colesterol-oxidasa}} \Delta^4\text{-colestenona} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4-aminofenazona} + \text{fenol} \xrightarrow{\text{Peroxidasa}} 4\ H_2O + \text{4-(p-benzoquinona-monoimino)-fenazona}$$

FOSFATASAS ALCALINAS.- (DGKC)(95)

$$\text{p-nitrofenilfosfato} + H_2O \xrightarrow{\text{Fosfatasas alcalinas}} \text{fosfato} + \text{p-nitrofenol}$$

CREATINA QUINASA.- (DGKC)(94)

$$\text{Creatinfosfato} + \text{ADP} \xleftrightarrow{\text{Creatina quinasa}} \text{creatina} + \text{ATP}$$

$$\text{Glucosa} + \text{ATP} \xleftrightarrow{\text{Hexoquinasa}} \text{glucosa-6-fosfato} + \text{ADP}$$

$$\text{Glucosa-6-fosfato} + \text{NADP}^+ \xleftrightarrow{\text{Glucosa-6-fosfato dehidrogenasa}} \text{gluconato-6-fosfato} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$

LACTATO DEHIDROGENASA.- (95)

$$\text{piruvato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xleftrightarrow{\text{lactatodehidrogenasa}} \text{L-lactato} + \text{NAD}^+$$

ION CALCIO (II).- (O-cresolftaleína)(96)

$$\text{Ca}^{2+} + \text{o-cresolftaleína} \longrightarrow \text{complejo Ca-cresolftaleína}$$

FOSFATO NO ESTERIFICADO.- (Fosfomolibdato directo)(97)

$$\text{Fosfato} + \text{H}^+ + \text{fosfomolibdato} \longrightarrow \text{fosfomolibdato de amonio}$$

PROTEINAS TOTALES.- (Biuret)(98)

$$\text{Proteínas} + \text{OH}^- + \text{Cu}^{2+} \longrightarrow \text{complejo coloreado}$$

ALBUMINA.- (Verde de bromocresol)(99)

Albúmina + verde bromocresol ⟶ complejo coloreado

HIERRO (II+III). - (Ferrozina)(100)

Fe(III)-transferrina + Cloruro guanidina ⟶ Fe(III) + transferrina

Fe(III) + ácido ascorbico ⟶ Fe (II)

Fe (II) + ferrozine ⟶ complejo coloreado

AMILASA.- (101)

5-etilideno- $(Glucosa)_7$ p-nitrofenol + 5 H_2O $\xrightarrow{\alpha\text{-amilasa}}$ 2 etildieno-$(Glucosa)_5$ + 2 $(Glucosa)_2$ p-nitrofenol + 2 etildieno-$(Glucosa)_4$ + 2 $(Glucosa)_3$ p-nitrofenol + (Glucosa)4 p- nitrofenol

2 $(Glucosa)_2$ p-nitrofenol + 2 $(Glucosa)_3$ p-nitrofenol +

(Glucosa)4 p- nitrofenol + 14 H_2O $\xrightarrow{\alpha\text{-glucosidasa}}$ 5 p-nitrofenol + 14 Glucosa

3.7.2. - **Fundamentos de los métodos analíticos utilizados en los analizadores Eris-6170 y AU-510 (Merck-Olympus). -**

GLUCOSA.- (Hexoquinasa/Glucosa-6-fosfatodehidrogenasa) (102)

$$\text{Glucosa} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\textbf{Hexoquinasa}} \text{Glucosa-6-fosfato} + \text{ADP}$$

$$\text{Glucosa-6-fosfato} + NAD^+ \xrightarrow{\textbf{Glucosa-6-fosfato dehidrogenasa}} \text{6-fosfogluconato} + NADH^+ + H^+$$

UREA.- (Ureasa/glutamato dehidrogenasa) (83)

COLESTEROL.- (Colesterol oxidasa/peroxidasa)(92, 103)

URATO.- (Uricasa/peroxidasa)(85)

TRIGLICERIDOS.- (Gliceroquinasa/ peroxidasa)(104-105)

$$\text{Triglicéridos} + 3\ H_2O \xrightarrow{\textbf{Lipoprotein - lipasa}} \text{glicerol} + 3\ \text{RCOOH}$$

$$\text{Glicerol} + \text{ATP} \xrightarrow{\textbf{gliceroquinasa}} \text{glicerol-3-fosfato} + \text{ADP}$$

$$\text{glicerol-3-fosfato} + O_2 \xrightarrow{\textbf{Glicerol-fosfato-oxidasa}} \text{dihidroxiacetona fosfato} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{3,5 dicloror-2-hidroxibenceno sulfonato} + \text{4 aminoantipirina} \xrightarrow{\textbf{peroxidasa}} \text{cromóforo}$$

ASPARTATO AMINOTRANSFERASA.- (IFCC)(86)

ALANINA AMINOTRANSFERASA.- (IFCC)(87)

FOSFATASAS ALCALINAS.- (DGKC)(95,106)

GAMMAGLUTAMIL TRANSFERASA.- (Szazs)(88,107)

BILIRRUBINA TOTAL.- (DPD)(89)

CREATININA.- (Jaffé sin desproteinizar) (84, 108)

PROTEINAS TOTALES.- (Biuret)(109,110)

FOSFATO NO ESTERIFICADO.- (Fosfomolibdato directo)(97, 111,112)

ION CALCIO (II). - (O-cresolftaleína)(96)

HIERRO (II+III). - (Ferrozina)(113)

3.7.3. - **Fundamentos de los métodos analíticos utilizados en los analizador Dax-72 (Technicon). -**

GLUCOSA.- (Glucosa dehidrogenasa) (114,115)

$$\text{Glucosa} + NAD^+ \xrightarrow{\text{Glucosa dehidrogenasa}} \text{D-glucono-}\delta\text{-lactona} + NADH^+ + H^+$$

UREA.- (Ureasa/glutamato dehidrogenasa) (83)

COLESTEROL.- (Colesterol oxidasa/peroxidasa)(92, 103)

ION CALCIO (II). - (O-cresolftaleína)(116)

PROTEINAS TOTALES.- (Biuret)(109,110)

ALBUMINA.- (Verde de Bromocresol) (99)

ASPARTATO AMINOTRANSFERASA.- (IFCC)(86)

ALANINA AMINOTRANSFERASA.- (IFCC)(87)

TRIGLICERIDOS.- (Gliceroquinasa/ peroxidasa)(104-105)

FOSFATO NO ESTERIFICADO.- (Fosfomolibdato directo)(117)

3.7.4. - Fundamentos de los métodos analíticos utilizados en los analizador Cx-7 (Beckman). -

GLUCOSA.- (Glucosa oxidasa) (118)

$$\beta\text{-D-Glucosa} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Glucosa oxidasa}} \text{Acido gluconico} + H_2O_2$$

Medida del consumo de Oxígeno mediante un electrodo de oxígeno.

UREA.- (Ureasa) (119)

$$\text{Urea} + 3\ H_2O \xrightarrow{\text{Ureasa}} 2\ NH_4^+ + CO3H- + OH-$$

medida de la conductividad mediante electrodo

ASPARTATO AMINOTRANSFERASA.- (IFCC)(86)

ALANINA AMINOTRANSFERASA.- (IFCC)(87)

BILIRRUBINA TOTAL.- (120)

$$\text{Bilirrubina} + \text{Diazo} + H^+ \xrightarrow{\text{Benzoato de cafeína/acetato}} \text{Azobilirrubina}$$

ION CALCIO (II).- (O-cresolftaleína)(116)

CREATINA QUINASA.- (94)

LACTATO DEHIDROGENASA.- (93)

AMILASA.- (121)

$$\text{Maltotetraosa} + H_2O \xrightarrow{\alpha\text{-amilasa}} 2\ \text{Maltosa}$$

$$2\ \text{Maltosa} + \text{fosfato} \xrightarrow{\text{Maltosa fosforilasa}} \text{Glucosa} + \text{Glucosa-1-fosfato}$$

$$\text{Glucosa-1-fosfato} \xrightarrow{\beta\text{- fosfoglucomutasa}} \text{Glucosa-6-fosfato}$$

$$\text{Glucosa-6-fosfato} + NAD^+ \xrightarrow{\text{Glucosa-6-fosfato dehidrogenasa}} \text{6-fosfogluconato} + NADH + H^+$$

4

Resultados

El objetivo final de las evaluaciones y estudios de interferencias, están encaminados, por una parte a identificar las posibles interferencias que pueden existir en los métodos de determinación y a la cuantificación de las mismas y, por otra, a eliminar dichas interferencias y/o permitir a los usuarios seleccionar los métodos que no las presenten.

Hay que tener en cuenta que el hallazgo de interferencias varía dependiendo del constituyente estudiado, de los interferentes y del método estudiado e incluso dependen del analizador o del fabricante de los reactivos, y para poder interpretar y verificar los resultados es importante expresarlos lo más detalladamente posible.

Informe de los resultados.

Cualquier informe que se efectúe acerca de las interferencias, debe permitir tanto interpretar los resultados como reproducirlos, y así se deben incluir los siguientes aspectos:

1) Descripción del método analítico.

2) Descripción del interferente (origen, pureza, forma)

3) Indicación del número de replicaciones

. 4) Indicación de la concentración del constituyente, del interferente, así como de los disolventes utilizados.

5) Indicación del método de estudio.

6) Expresión de resultados en forma de error absoluto indicando el intervalo de confianza.

7) Indicación de los criterios utilizados para interpretar la existencia o no de interferencia.

8) Conclusión o investigación del origen de la interferencia, indicando si es posible eliminarla, y si no es posible, indicar en que condiciones afecta a las muestras de los pacientes.

9) Expresión de sí los resultados obtenidos son similares o no a los obtenidos por otros autores.

También es importante la notificación de las interferencias al clínico que va a interpretar los resultados, indicando, si se conoce, bien el mecanismo de dicha interferencia, o bien el modo de suprimirla, o la cantidad de interferencia, o el resultado suponiendo que el interferente no estuviese presente

RESULTADOS

DETECCION DE INTERFERENCIAS EN ANALIZADOR DE BIOQUIMICA

4.1. - DETECCION DE INTERFERENCIAS ENDOGENAS EN EL ANALIZADOR HITACHI-717

Dado que uno de los objetos de este trabajo es el establecer y el protocolizar en método para el estudio de las interferencias, se van a presentar los resultados en virtud de esta circunstancia, y así en las tablas I, II, y III, se indican los resultados obtenidos en la detección de interferencias en la determinación de glucosa por el método de la glucosa oxidasa, respectivamente para los interferentes bilirrubina, Hemólisis y turbidez, y en el analizador Hitachi 717 (Boehringer Mannheim). Y en las tablas siguientes IV, V y VI, los resultados obtenidos en la detección de interferencias en la determinación de urea (Ureasa / Glutamato dehidrogenasa) en el mismo analizador Hitachi-717. Estos resultados se resumen en las Tablas VII, VIII y IX.

Y puesto que el número de constituyentes estudiado es elevado y este estudio se ha realizado en varios analizadores, en las tablas siguientes (X.XI y XII) se indican los resultados de la cuantificación de las interferencias producidas respectivamente por bilirrubina, hemoglobina y turbidez en la determinación de aquellos constituyentes donde se había detectado la presencia de interferencia significativa con el analizador Hitachi-717.

Tabla I.- Detección de interferencias producidas por la **BILIRRUBINA** en la determinación de **Glucosa** (Glucosa oxidasa/peroxidasa) en el analizador Hitachi-717 (Boehringer Mannheim).

Mezcla de referencia (mg/dl)	**Mezcla problema** (mg/dl)
123	102
122	102
124	103
123	99
121	101
123	100
124	102
122	102
123	99
123	100
124	102
121	99
124	103
123	102
122	102
Media (x) mg/dl	122.8	101.2
Desviación standard s	1.014	1.424
Diferencia (d) mg/dl		- 21.6
d estadísticamente		significativa
interferencia IUPAC	negativa	**significativa**

Tabla II.- Detección de interferencias producidas por la **HEMOGLOBINA** en la determinación de **Glucosa** (Glucosa oxidasa/peroxidasa) en el analizador Hitachi-717 (Boehringer Mannheim).

Mezcla de referencia (mg/dl)	**Mezcla problema** (mg/dl)
123	127
122	125
124	127
123	127
121	124
123	128
124	126
122	125
123	127
123	128
124	125
121	127
124	127
123	125
122	127
Media (x) mg/dl	122.8	126.3
Desviación standard s	1.014	1.234
Diferencia (d) mg/dl		+ 3.53
d estadísticamente		significativa
interferencia IUPAC	**positiva**	**significativa**

Tabla III.- Detección de interferencias producidas por la **TURBIDEZ** en la determinación de **Glucosa** (Glucosa oxidasa/peroxidasa) en el analizador Hitachi-717 (Boehringer Mannheim).

	Mezcla de referencia (mg/dl)	**Mezcla problema** (mg/dl)
	123	128
	122	129
	124	125
	123	127
	121	128
	123	130
	124	129
	122	129
	123	127
	123	130
	124	129
	121	127
	124	125
	123	129
	122	128
Media (x) mg/dl	122.8	128
Desviación standard s	1.014	1.56
Diferencia (d) mg/dl		+ 5.2
d estadísticamente		significativa
interferencia IUPAC	positiva	significativa

Tabla IV.- Detección de interferencias producidas por la **BILIRRUBINA** en la determinación de **Urea** (Ureasa / Glutamato dehidrogenasa) en el analizador Hitachi-717 (Boehringer Mannheim).

Mezcla de referencia (mg/dl)	**Mezcla problema** (mg/dl)
49	49
50	50
50	49
50	49
51	48
52	47
52	49
50	50
50	49
52	48
52	47
50	49
49	50
51	49
50	50
Media (x) mg/dl	50.53	48.9
Desviación standard s	1.06	0.99
Diferencia (d) mg/dl		- 1.67
d estadísticamente		significativa
interferencia IUPAC	nula	no significativa

Tabla V.- Detección de interferencias producidas por la **HEMOGLOBINA** en la determinación de **Urea** (Ureasa / Glutamato dehidrogenasa) en el analizador Hitachi-717 (Boehringer Mannheim).

Mezcla de referencia (mg/dl)	**Mezcla problema** (mg/dl)
49	48
50	48
50	48
50	50
51	48
52	49
52	49
50	50
50	48
52	48
52	50
50	48
49	49
51	50
50	48
Media (x) mg/dl	50.53	48.73
Desviación standard s	1.06	0.88
Diferencia (d) mg/dl		- 1.8
d estadísticamente		significativa
interferencia IUPAC	nula	no significativa

Tabla VI.- Detección de interferencias producidas por la **TURBIDEZ** en la determinación de **Urea** (Ureasa / Glutamato dehidrogenasa)en el analizador Hitachi-717 (Boehringer Mannheim).

	Mezcla de referencia (mg/dl)	**Mezcla problema** (mg/dl)
	49	51
	50	50
	50	50
	50	52
	51	51
	52	50
	52	50
	50	50
	50	51
	52	50
	52	52
	50	51
	49	50
	51	51
	50	52
Media (x) mg/dl	50.53	50.73
Desviación standard s		0.80
Diferencia (d) mg/dl		0.2
d estadísticamente		no significativa
Interferencia IUPAC	nula	no significativa

Tabla VII.- Interferencias producidas por la **BILIRRUBINA** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 717 (Boehringer Mannheim)(IUPAC). Concentración máxima de Bilirrubina 26.69 mg/dl. (s= desviación estándar)

Constituyente	**Diferencia (s)**	**p**	**t**	**IUPAC**
Glucosa (mg/dl)	- 21.6 (0.92)	< 0.001	-47.85	negativa fuerte
Urea (mg/dl)	- 1.67 (0.77)	< 0.001	-4.45	no significativa
Creatinina (mg/dl)	- 0.59 (0.03)	< 0.001	-47.1	negativa fuerte
Urato (mg/dl)	- 0.39 (0.04)	< 0.001	-19.16	negativa fuerte
Aspartato aminotransferasa (UI/l)	- 2.93 (0.84)	< 0.001	-7.15	Negativa
Alanina aminotransferasa (UI/l)	- 2.67 (0.64)	< 0.001	-8.76	Negativa
Gammaglutamiltransferasa (UI/l)	- 5.6 (0.78)	< 0.001	-14.75	Negativa
Triglicéridos (mg/dl)	26.5 (1.44)	< 0.001	37.66	positiva fuerte
Colesterol (mg/dl)	- 28 (1.11)	< 0.001	-51.53	negativa fuerte
Fosfatasas alcalinas	- 11.1 (5.21)	< 0.001	-4.38	negativa fuerte
Creatina-cinasa (UI/l)	- 7.6 (2.93)	< 0.001	-8.06	no significativa
Lactato dehidrogenasa (UI/l)	- 14.4 (3.23)	< 0.001	-9.13	Negativa fuerte
Calcio (II) (mg/dl)	- 0.32 (0.07)	< 0.001	-9.8	negativa fuerte
Fosfato no esterificado (mg/dl)	- 0.22 (0.05)	< 0.001	-9.21	negativa
Proteínas totales (g/dl)	- 0.74 (0.12)	< 0.001	-12.16	negativa
Albúmina (g/dl)	- 0.14 (0.032)	< 0.001	-8.73	negativa
Hierro (II+III) (g/dl)	0.93 (2.42)	0.44	0.79	No significativa
Amilasa (UI/l)	- 14.8 (3.24)	< 0.001	-9.36	negativa fuerte

NOTA.- Se analizaron 15 muestras sin interferente (referencia) y 15 con interferente a la concentración máxima indicada. Se calculó la diferencia entre ambas series (x interferente - x referencia), se evalúa si es significativa matemáticamente, y en el caso positivo se evaluó la significación según IUPAC (>3 desviaciones estándar).

Tabla VIII.- Interferencias producidas por la **HEMOGLOBINA** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 717 (IUPAC). Concentración máxima de interferente, Hemoglobina 1.32 g/dl.

Constituyente	**Diferencia (s)**	**p**	**t**	**IUPAC**
Glucosa (mg/dl)	3.53 (0.84)	< 0.001	8.57	positiva
Urea (mg/dl)	- 1.80 (0.71)	< 0.001	-5.05	no significativa
Creatinina (mg/dl)	- 0.04 (0.03)	0.05	-2.21	no significativa
Urato (mg/dl9	- 0.08 (0.04)	< 0.001	-4.15	no significativa
Aspartato aminotransferasa (UI/l)	9.73 (0.65)	< 0.001	30.5	positiva
Alanina aminotransferasa (UI/l)	2.13 (0.76)	< 0.001	5.7	no significativa
Gamma glutamiltransferasa (UI/l)	1.73 (0.78)	< 0.001	4.57	no significativa
Triglicéridos (mg/dl)	8.93 (0.87)	< 0.001	20.9	positiva
Colesterol (mg/dl)	5.53 (1.13)	< 0.001	10.04	positiva
Bilirrubina (mg/dl)	- 0.16 (0.4)	< 0.001	-8.39	negativa
Bilirrubina directa (mg/dl)	- 1.21 (0.02)	< 0.001	-120.4	negativa
Fosfatasas alcalinas (UI/l)	- 33.8 (6.38)	< 0.001	-10.9	negativa
Creatina-cinasa (UI/l)	31.5 (2.07)	< 0.001	31.07	positiva
Lactato dehidrogenasa (UI/l)	735 (4.14)	< 0.001	363.5	positiva fuerte
Calcio (II) (mg/dl)	- 0.08 (0.06)	< 0.001	-2.7	no significativa
Fosfato no esterificado (UI/l)	0.35 (0.04)	< 0.001	16.2	positiva fuerte
Proteínas totales (g/dl)	0.32 (0.13)	< 0.001	5.21	positiva
Albúmina (g/dl)	0.13 (0.03)	< 0.001	10.01	positiva
Hierro (II+III) (ug/dl)	12.13 (2.49)	< 0.001	9.99	positiva
Amilasa (UI/l)	- 4.4 (1.7)	0.0012	12.5	no significativa

NOTA.- Se analizaron 15 muestras sin interferente (referencia) y 15 con interferente a la concentración máxima indicada. Se calculó la diferencia entre ambas series (x interferente - x referencia), se evalúa si es significativa matemáticamente, y en el caso positivo se evaluó la significación según IUPAC (>3 desviaciones estándar).

Tabla IX.- Interferencias producidas por la **TURBIDEZ** en varios constituyentes analizados en el Hitachi 717 . Concentración máxima de interferente, Triglicéridos 800 mg/dl

Constituyente	**Diferencia (s)**	**p**	**t**	**IUPAC**
Glucosa (mg/dl)	5.2 (0.98)	< 0.001	10.83	positiva
Urea (mg/dl)	0.2 (0.7)	0.56	0.58	no significativa
Creatinina (mg/dl)	- 0.02 (0.03)	0.10	-1.76	no significativa
Urato (mg/dl9	- 0.006(0.04)	0.74	0.35	no significativa
Aspartato aminotransferasa (UI/l)	0.33 (0.54)	0.21	1.28	No significativa
Alanina aminotransferasa (UI/l)	0.47 (0.66)	0.16	1.45	no significativa
Gamma glutamiltransferasa (UI/l)	1.8 (0.75)	1	0.0	no significativa
Colesterol (mg/dl)	1.73 (1.21)	< 0.001	2.94	no significativa
Bilirrubina (mg/dl)	- 0.04 (0.04)	0.04	-1.8	no significativa
Bilirrubina directa (mg/dl)	0.156 (0.009)	< 0.001	36.9	positiva
Fosfatasas alcalinas (UI/l)	2.93 (4.96)	0.24	1.21	no significativa
Creatina-cinasa (UI/l)	- 2.47 (2.1)	0.02	-2.4	no significativa
Lactato dehidrogenasa (UI/l)	1.6 (3.25)	0.32	1.01	no significativa
Calcio (II) (mg/dl)	0.07 (0.06)	0.01	2.75	no significativa
Fosfato no esterificado (UI/l)	- 0.03 (0.03)	0.07	-1.9	no significativa
Proteínas totales (g/dl)	0.03 (0.13)	0.62	0.5	no significativa
Albúmina (g/dl)	0.017 (0.034)	0.31	1.03	no significativa
Hierro (II+III) (ug/dl)	1.5 (3.18)	0.35	0.94	no significativa
Amilasa (UI/l)	0.10 (0.09)	0.32	0.87	no significativa

NOTA.- Se analizaron 15 muestras sin interferente (referencia) y 15 con interferente a la concentración máxima indicada. Se calculó la diferencia entre ambas series (x interferente - x referencia), se evalúa si es significativa matemáticamente, y en el caso positivo se evaluó la significación según IUPAC (>3 desviaciones estándar).

RESULTADOS

CUANTIFICACION DE INTERFERENCIAS

Tabla X.- Cuantificación de las interferencias producidas por la **BILIRRUBINA** en la determinación de varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 717 (Boehringer Mannheim).

Ecuación Ci = m I + n, donde I = Concentración interferente (mg/dl)

Constituyente	**n**	**m**	**Sxy**	**r**	**bo**
Glucosa	112.9	-0.5956	2.306	0.9324	-0.5275
Creatinina	2.04	-0.0183	0.0161	0.9961	-0.8951
Urato	4.28	-0.0117	0.022	0.9824	-0.2726
Aspartato aminotransferasa	61.2	-0.1484	1.23	0.7695	-0.2473
Alanina aminotransferasa	46.9	-0.0774	0.3319	0.9190	-0.1651
Gamma glutamiltransferasa	61.5	-0.2458	0.4268	0.9852	-0.397
Triglicéridos	114	0.8012	3.8953	0.8991	0.7028
Colesterol	103	-0.8458	2.553	0.9572	0.8211
Lactato dehidrogenasa	285.8	-0.7344	1.5534	0.9783	-0.2569
Calcio (II)	9.08	-0.0097	0.0479	0.8861	-0.1065
Fosfato no esterificado	5.68	-0.0075	0.0319	0.9366	-0.1315
Proteínas totales	4.92	-0.0236	0.046	0.9815	-0.4846
Albúmina	3.41	-0.0011	11.62	0.9889	-0.2410
Amilasa	417	-1.2050	2.60	0.9738	-0.2905

NOTA.- Se preparan para cada constituyente series de seis soluciones con concentración creciente del interferente (respectivamente 0; 5.34; 10.68; 16.02; 21.36 y 26.69 mg/dl de bilirrubina) las cuales se analizan cinco veces cada una y con la media se calcula la recta de regresión Ci = m I + n.

Y donde bo es la pendiente de la ecuación: $(C_i / C_o) * 100 = 100 + bo * I$

Estimando la interferencia en valores relativos (ver página 56)

Tabla XI.- Cuantificación de las interferencias producidas por la **HEMOGLOBINA** en la determinación de varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 717 (Boehringer Mannheim).

Ecuación Ci = m I + n, donde I Concentración interferente (g/dl)

Constituyente	**n**	**m**	**Sxy**	**r**	**bo**
Glucosa	119	7.97	1.5	0.930	6.698
Aspartato aminotransferasa	57.3	29.04	2.04	0.992	50.7
Triglicéridos	113.2	6.82	2.01	0.854	6.02
Colesterol	99.8	4.67	0.33	0.992	4.68
Bilirrubina	1.42	- 0.18	0.04	-0.92	- 12.5
Bilirrubina directa	0.58	- 1.21	0.14	0.978	- 172.5
Creatina quinasa	219	3.07	2.57	0.989	1.4
Lactato dehidrogenasa	268	573.6	8.75	0.9996	214
Fosfato no esterificado	5.5	0.21	0.07	0.868	3.82
Proteínas totales	4.8	0.26	0.028	0.981	5.42
Albúmina	3.35	0.08	0.017	0.929	2.39
Hierro (II+III)	90.3	13.65	2.85	0.935	15.1

NOTA.- Se prepara para cada constituyente series de seis soluciones con concentración creciente del interferente (respectivamente 0; 0.264; 0.43; 0.69; 0.95 y 1.32 g/dl de hemoglobina) las cuales se analizan cinco veces cada uno y con la media se calcula la recta de regresión Ci = m I + n.

Y donde bo es la pendiente de la ecuación: $(C_i / C_o) * 100 = 100 + bo * I$

Estimando la interferencia en valores relativos (ver página 56)

Tabla XII.- Cuantificación de las interferencias producidas por la **TURBIDEZ** en la determinación de varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 717 (Boehringer Mannheim).

Ecuación Ci = n + m I, donde I Concentración interferente (mg/dl)

Constituyente	**n**	**m**	**Sxy**	**r**	**bo**
Glucosa	103.2	0.024	3.71	0.9643	0.017
Bilirrubina directa	1.7	-0.0003	0.0337	-0.977	-0.009

NOTA.- Se prepara para cada constituyente series de seis soluciones con concentración creciente del interferente (respectivamente 0; 160; 320; 480; 640 y 800 mg/dl de triglicéridos) las cuales se analizan cinco veces cada uno y con la media se calcula la recta de regresión Ci = m I + n.

Y donde bo es la pendiente de la ecuación: $(C_i / C_o) * 100 = 100 + bo * I$

Estimando la interferencia en valores relativos (ver página 56)

RESULTADOS

INTERPRETACION GRAFICA DE LAS INTERFERENCIAS

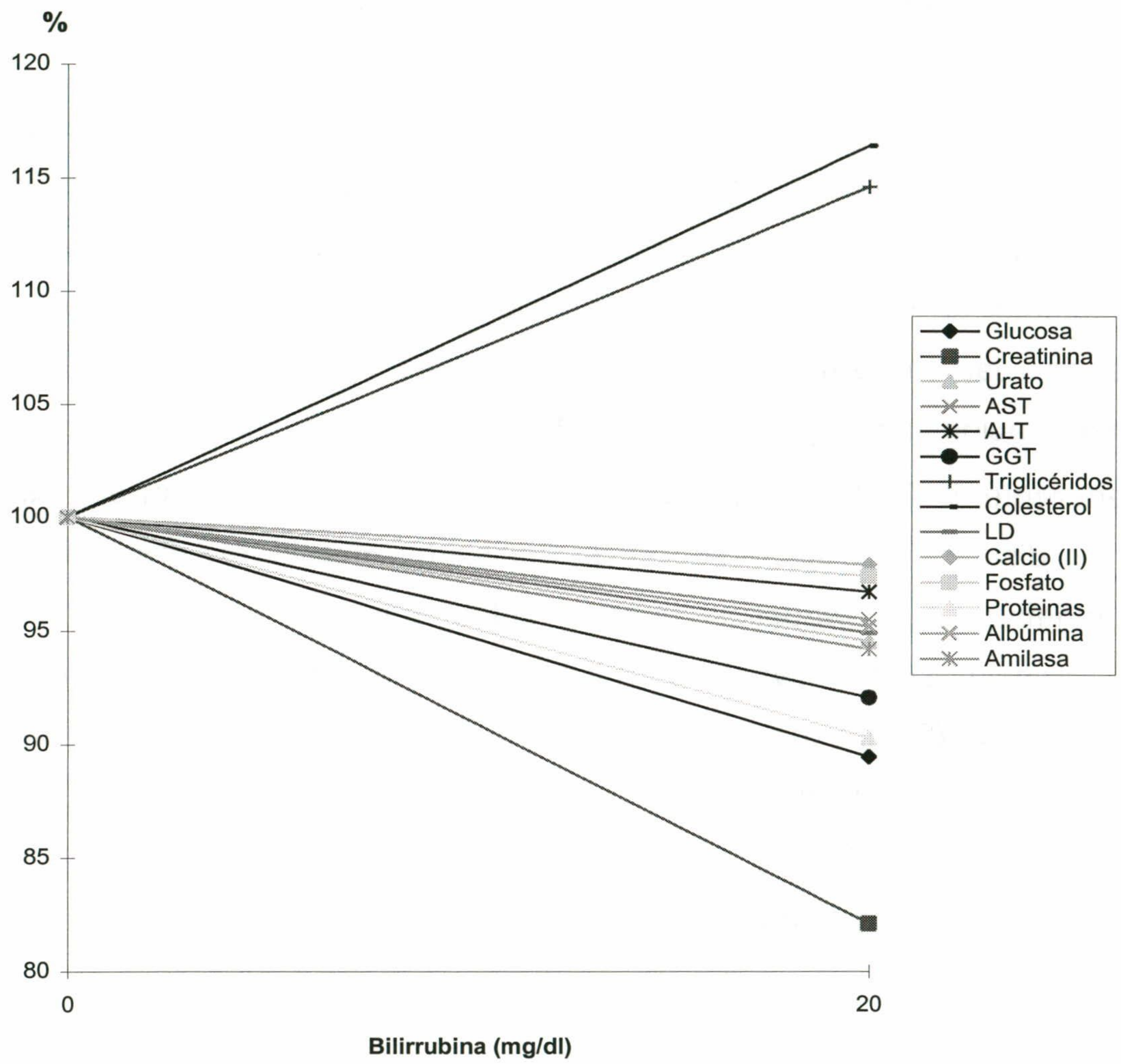
INTERPRETACION GRAFICA DE INTERFERENCIAS

Una forma más intuitiva de representar las interferencias es a través de las representaciones gráficas. Uno de los gráficos más comúnmente utilizado es representar la cantidad de interferencia en función de la concentración del interferente (interferograma).

Para evitar la dependencia de la concentración del constituyente y para poder comparar los resultados de las series de soluciones sin que estén afectados por el valor absoluto del constituyente en estudio, se efectúa una representación del valor obtenido para cada una de las muestras de la serie calculadas como porcentaje de la concentración inicial [(C_i / C_o) * 100], frente a la concentración del interferente, I. En las siguientes figuras se representan las interferencias de los distintos constituyentes en el analizador Hitachi 717 (Boehringer Mannheim); para aquellos constituyentes que se han encontrado interferencias significativas y para los interferentes bilirrubina (Figura 5), hemoglobina (Figura 6) y turbidez (Figura 7). Se efectúa, en definitiva, la representación siguiente:

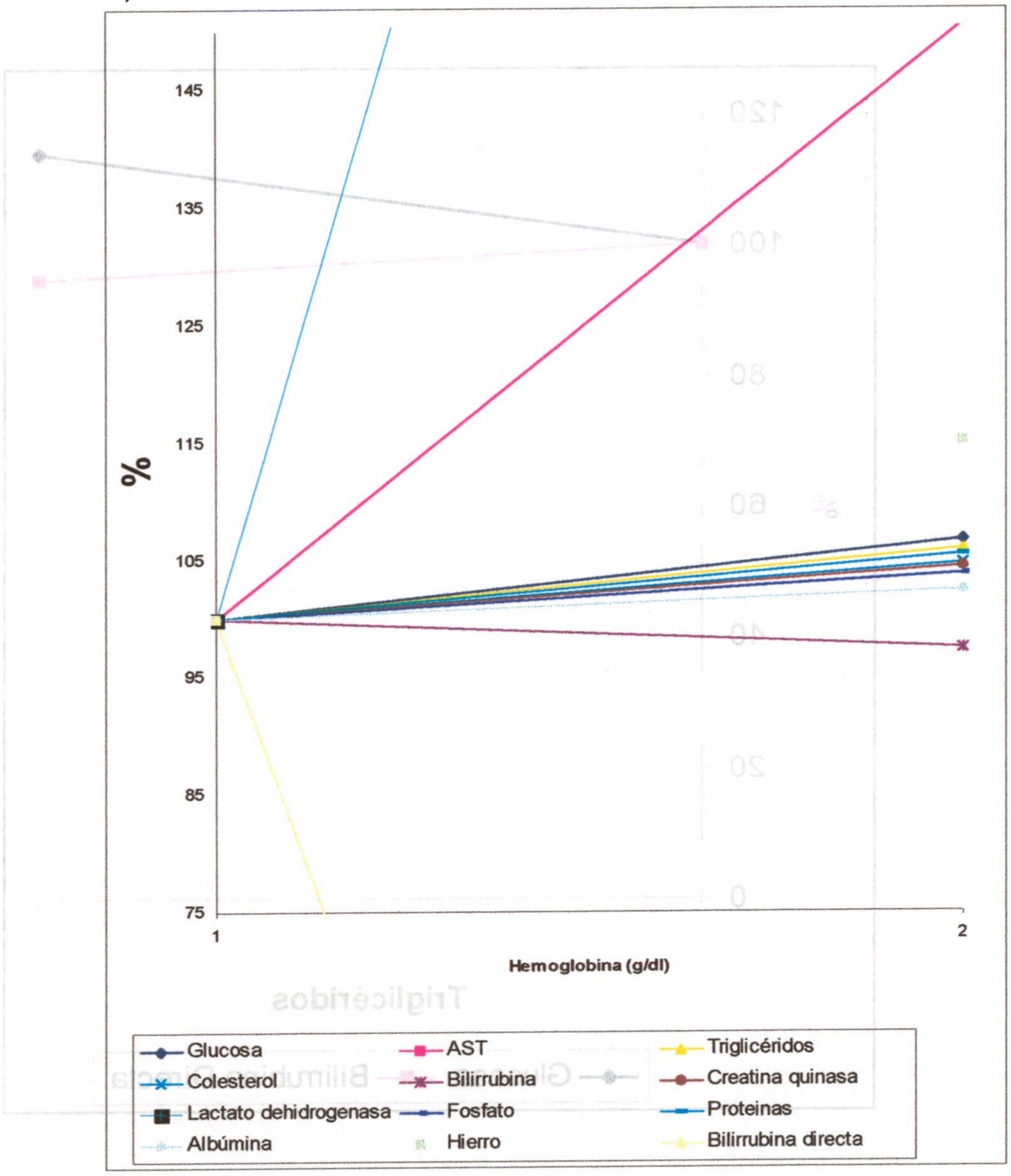
$$(C_i / C_o) * 100 = 100 + po * I$$

Figura 5. - Comparación gráfica de las interferencias producidas por la **BILIRRUBINA** en la determinación de varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 717 (Boehringer Mannheim).



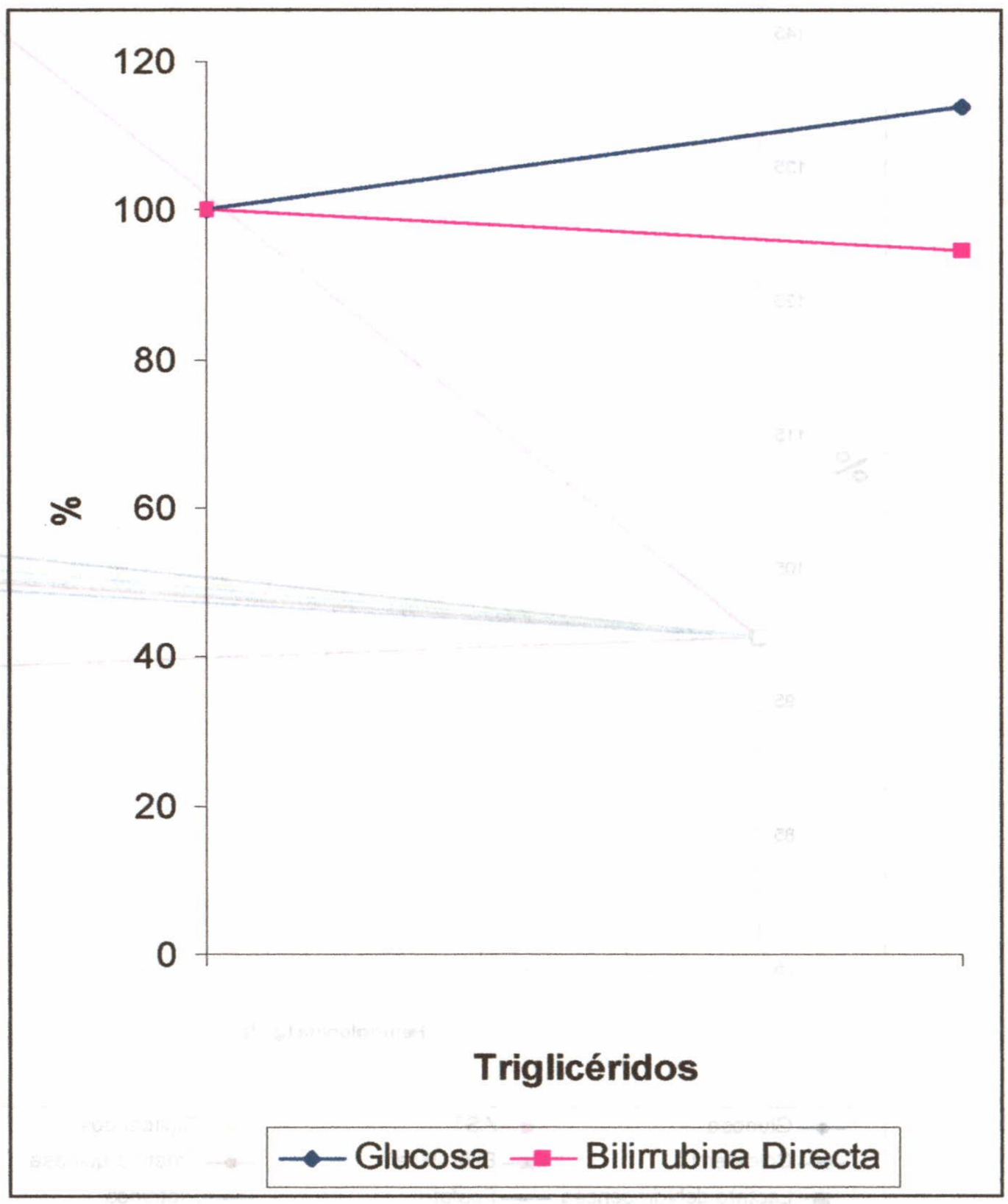
Entre paréntesis valor de la interferencia en % para una concentración de Bilirrubina de 20 mg/dl. Glucosa (89.45%), Creatinina (82,1%), Urato (94.55%), Aspartato aminotransferasa (95.5%), Alanina aminotransferasa (96.7%), Gammaglutamiltransferasa (92.06%), Triglicéridos (114.6%), Colesterol (116.4%), Lactato dehidrogenasa (94.9%), Calcio (II) (97.9%), Fosfato no esterificado (97.4%), Proteínas totales (90.3%), Albúmina (95.2%), Amilasa (94.2%). El resto de los constituyentes estudiados no presenta interferencias

Figura 6. - Comparación gráfica de las interferencias producidas por la **HEMOGLOBINA** en la determinación de varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 717 (Boehringer Mannheim).



Entre paréntesis valor de la interferencia en % para una concentración de Hemoglobina de 1 g/dl. Glucosa (106.7%), Aspartato aminotransferasa (150.7%), Triglicéridos (106.0 %), Colesterol (104.7 %), Bilirrubina (97.5 %), Bilirrubina Directa (-72.5 %), Creatina quinasa (101.4 %), Lactato dehidrogenasa (314 %), Fosfato no esterificado (103.8 %), Proteínas totales (105.4 %), Albúmina (102.4 %), Hierro (II+III) (115.1 %). El resto de los constituyentes estudiados no presenta interferencias

Figura 7. - Comparación gráfica de las interferencias producidas por la **TURBIDEZ** en la determinación de varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 717 (Boehringer Mannheim).



Entre paréntesis valor de la interferencia en % para una concentración de Triglicéridos de 1000 mg/dl. Glucosa (114%), Bilirrubina Directa (94.6 %). El resto de los constituyentes estudiados no presenta interferencias

RESULTADOS

INTERFERENCIAS EN VARIOS ANALIZADORES

4.2.1. - Cuantificación de interferencias en varios analizadores.

Del mismo modo a como se ha realizado en el apartado 4.1 para el Hitachi-717; se han estudiado también las interferencias por hemoglobina, bilirrubina y turbidez, en distintos analizadores: Eris-6170, AU-510 (Merk-Olympus-Eppendorf), Dax-72 (Technicon-Bayer), CX-7 (Beckman) e Hitachi 717, Hitachi 911 e Hitachi 717 (Boehringer Mannheim).

A continuación se indican las interferencias (Tablas de la XIII a la XXXI) donde se reflejan las pendientes con su signo (positivo o negativo) de dichas interferencias, y en su caso se indican si no existe interferencia como significativa como "no significativa". Las tablas se indican por constituyente y se indican las interferencias a través de la pendiente, p, de la ecuación:

$$(C_i / C_o) * 100 = 100 + po * I$$

para cada interferente: Bilirrubina, Hemoglobina y turbidez.

Con objeto de comparar visualmente, a continuación de cada una de las series de las tablas se efectúa una representación gráfica (Figuras desde la número 8 hasta la número 40), de dichas ecuaciones e interferencias. Para cada constituyente (analito), se efectúa una representación de las rectas respectivas, indicando si el analizador presenta interferencia.

Los gráficos se representan hasta una concentración máxima respectivamente de 20 mg/dl para la bilirrubina, de 1000 mg/dl para los triglicéridos y de 1 mg/dl para la hemoglobina.

TABLA XIII.- Interferencias en la determinación de **GLUCOSA** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª método
ERIS-6170	- 0.308	No significativa	0.026	102
AU-510	- 0.404	No significativa	0.020	102
DAX-72	- 0.350	No significativa	0.017	114,115
CX-7	- 0.237	No significativa	no significativa	118
HITACHI-717	- 0.528	no significativa	0.017	82
HITACHI-911	- 0.407	no significativa	0.014	82
HITACHI-917	no significativa	no significativa	0.024	82

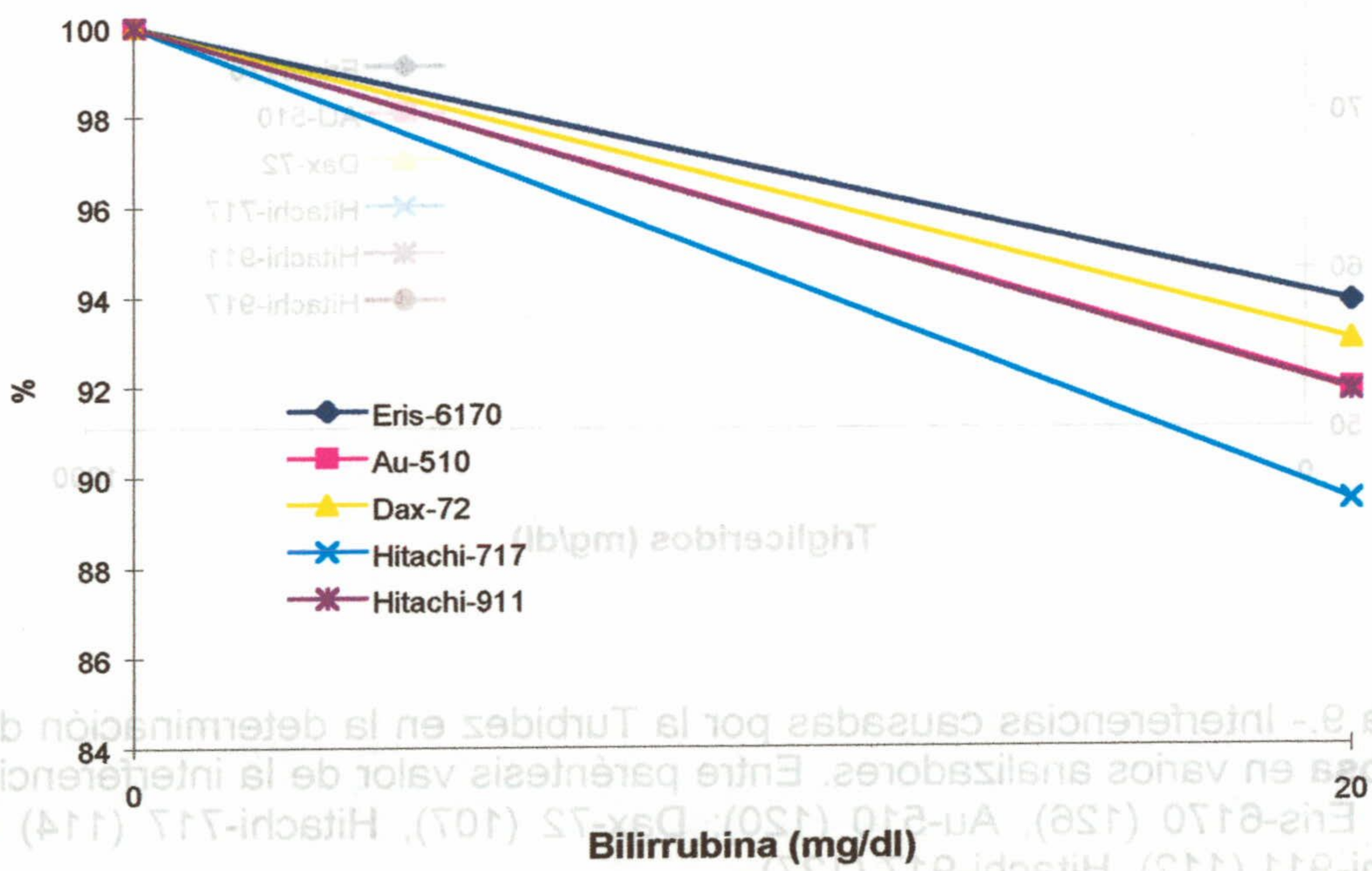


Figura 8.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Glucosa** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en % Eris-6170 (93.8), Au-510 (91.9); Dax-72 (93), Hitachi-717 (89.4) e Hitachi-911 (91.9).

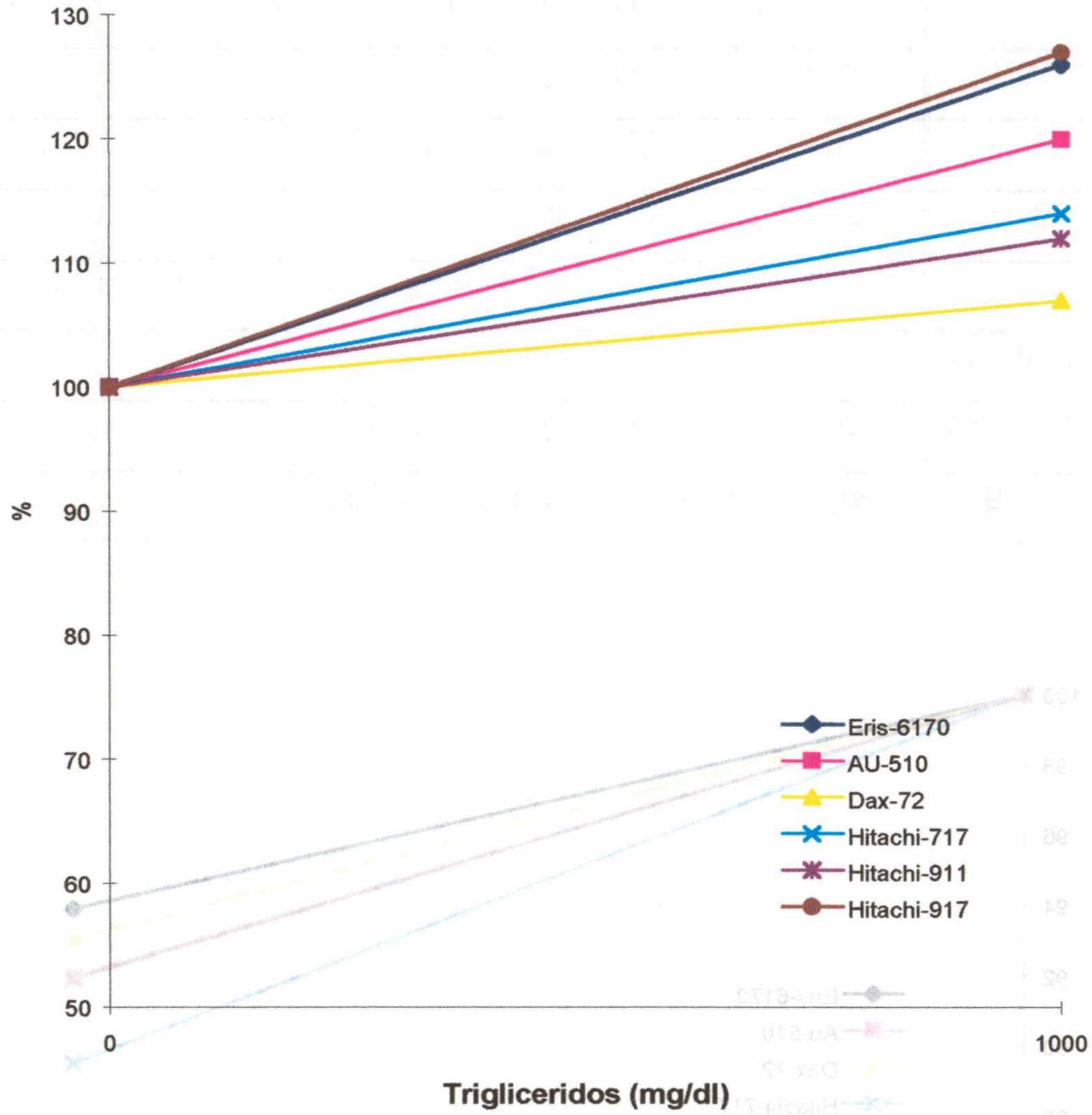


Figura 9.- Interferencias causadas por la Turbidez en la determinación de **Glucosa** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en % Eris-6170 (126), Au-510 (120); Dax-72 (107), Hitachi-717 (114) e Hitachi-911 (112), Hitachi-917 (127).

TABLA XIV.- Interferencias en la determinación de **UREA** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª
ERIS-6170	no significativa	no significativa	no significativa	83
AU-510	no significativa	no significativa	no significativa	83
DAX-72	no significativa	no significativa	no significativa	83
CX-7	no significativa	no significativa	no significativa	119
HITACHI-717	no significativa	no significativa	no significativa	83
HITACHI-911	no significativa	no significativa	no significativa	83
HITACHI-917	no significativa	no significativa	no significativa	83

TABLA XV.- Interferencias en la determinación de **CREATININA** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª
ERIS-6170	no significativa	no significativa	no significativa	84
AU-510	no significativa	no significativa	no significativa	84
HITACHI-717	- 0.87	no significativa	no significativa	84
HITACHI-911	- 0.95	no significativa	no significativa	84
HITACHI-917	- 0.59	no significativa	no significativa	84

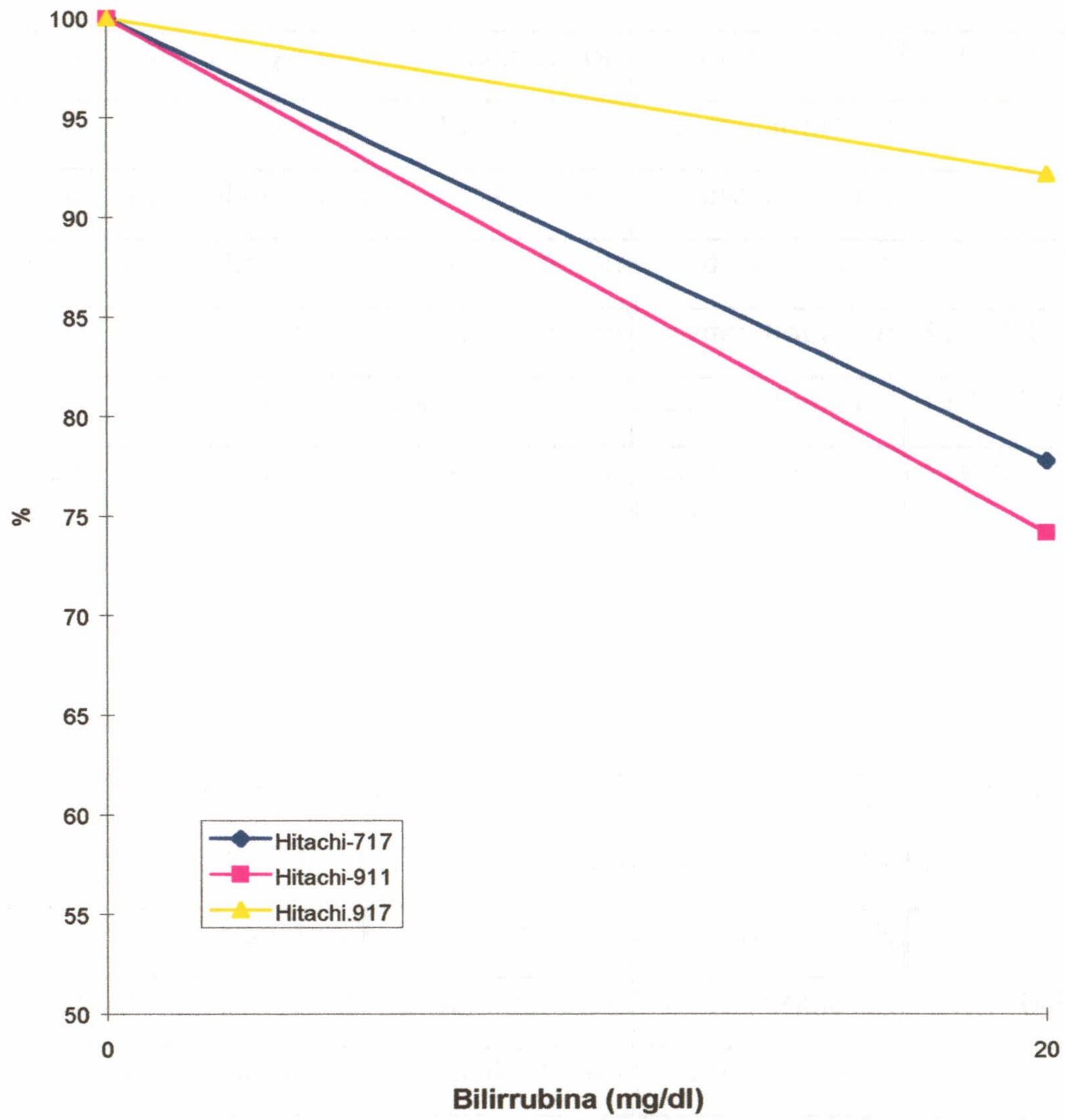


Figura 10.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Creatinina** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en % Hitachi-717 (77.8),Hitachi-911 (74.2) e Hitachi-917 (92.2).

TABLA XVI.- Interferencias en la determinación de **URATO** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª método
ERIS-6170	- 0.31	- 0.40	0.0636	85
AU-510	- 0.50	0.40	0.030	85
DAX-72	no significativa	- 0.30	0.025	85
HITACHI-717	no significativa	- 0.28	no significativa	85
HITACHI-911	no significativa	- 0.25	no significativa	85
HITACHI-917	no significativa	- 0.27	no significativa	

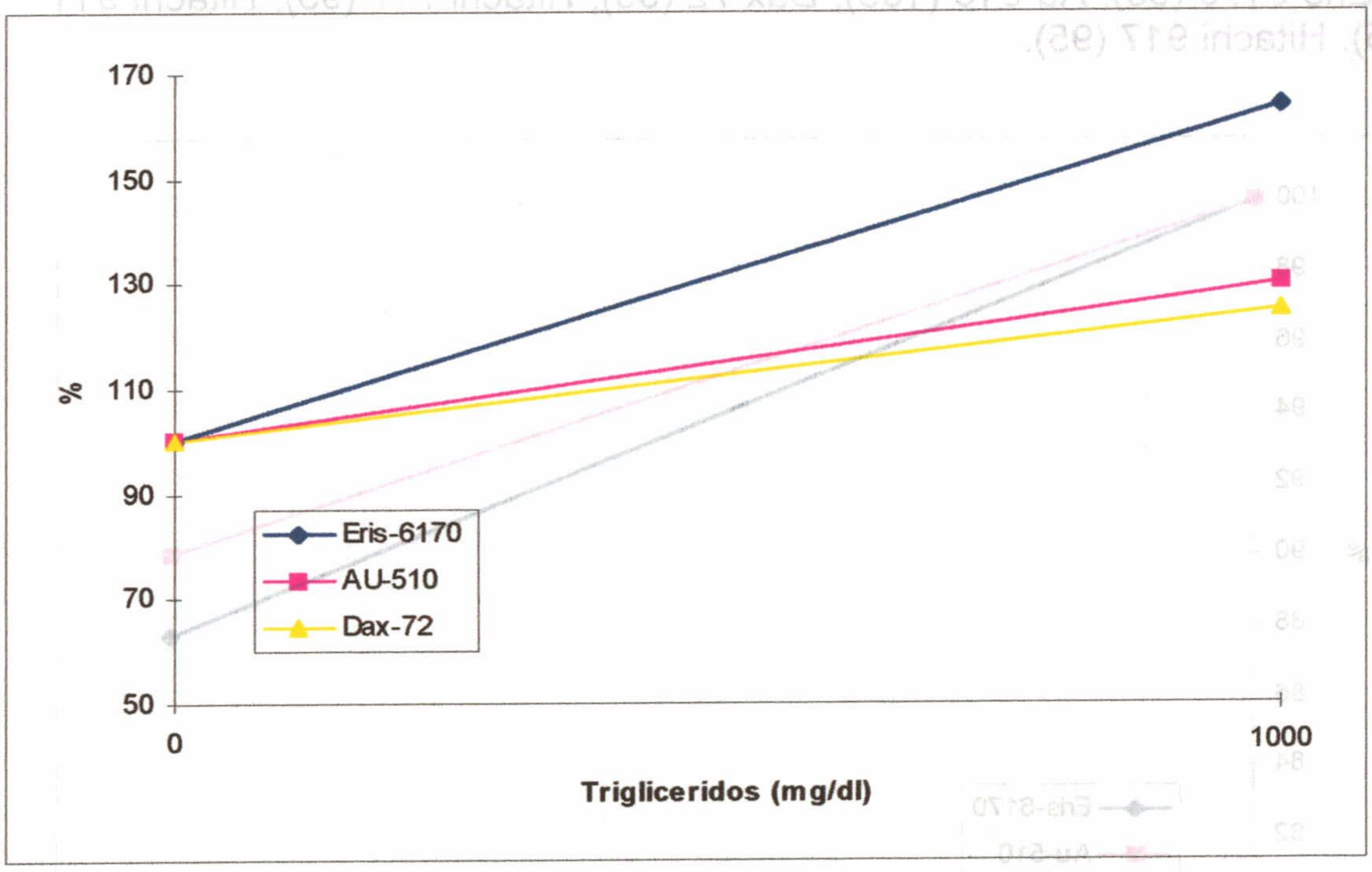


Figura 11- Interferencias causadas por la turbidez en la determinación de **Urato** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en % Eris-6170 (115), Au-510 (120), Dax-72 (115).

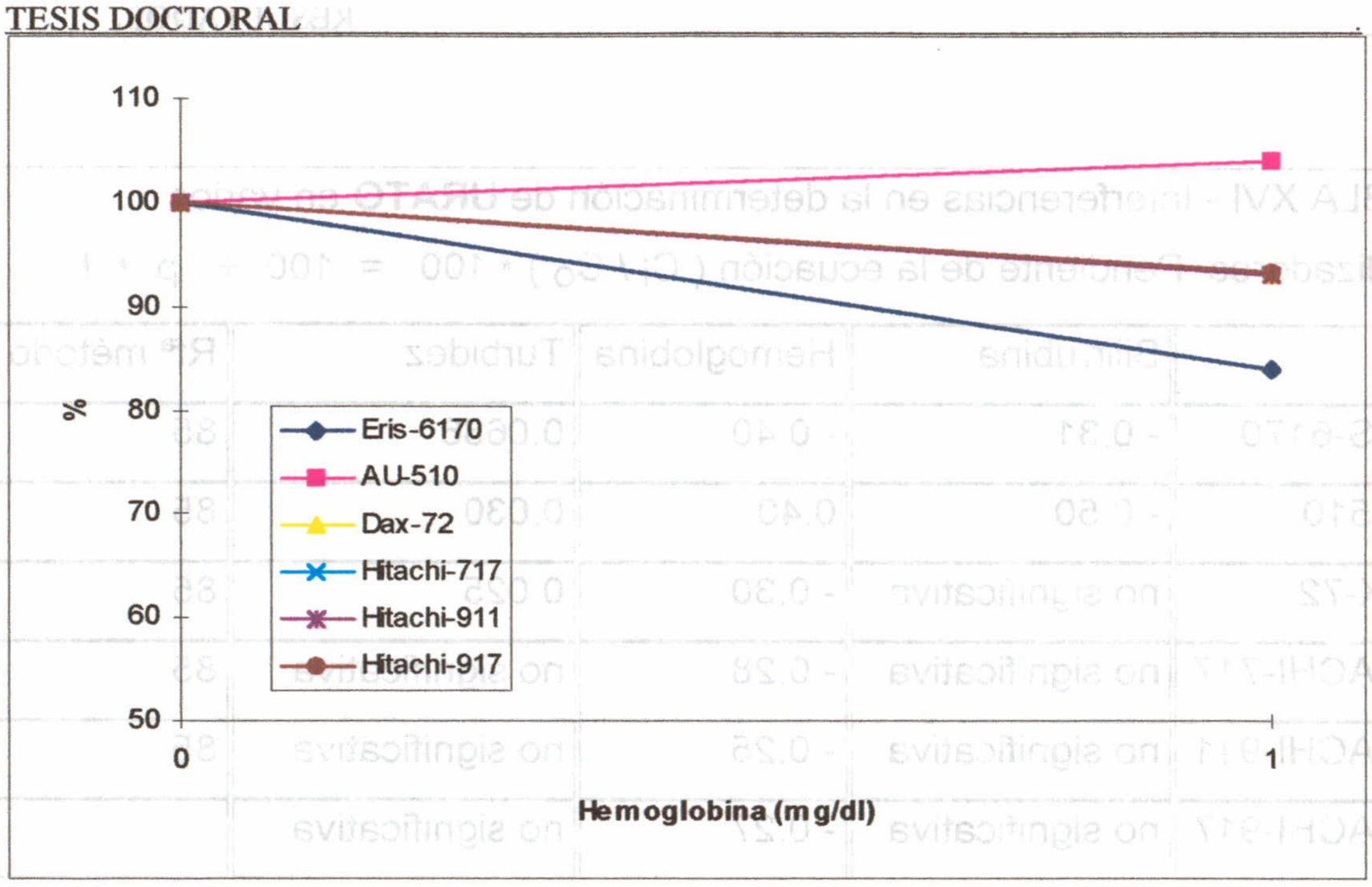


Figura 12- Interferencias causadas por la hemolisis en la determinación de **Urato** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en % Eris-6170 (85), Au-510 (105), Dax 72 (95), Hitachi 717 (95), Hitachi 911 (95), Hitachi 917 (95).

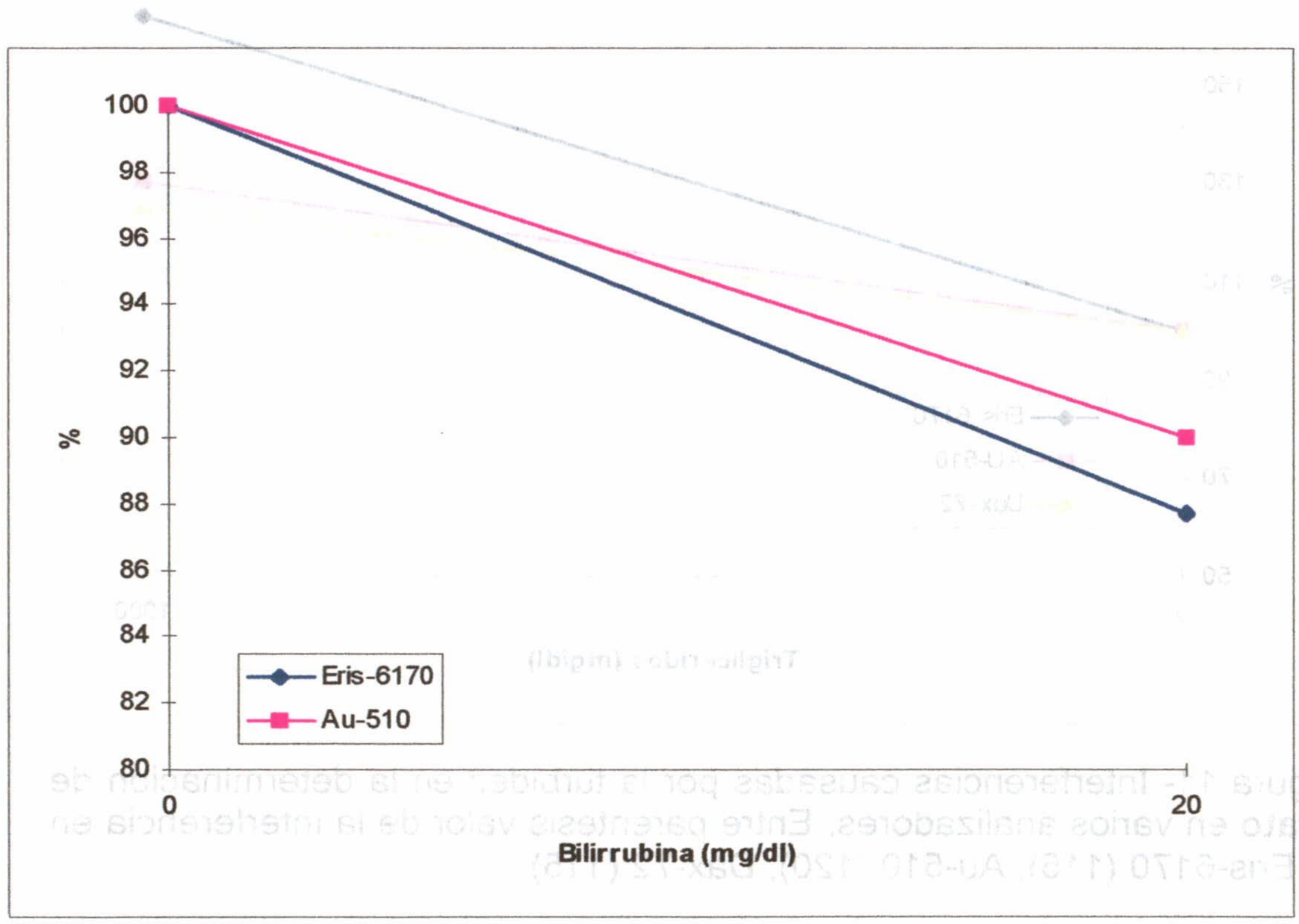


Figura 13- Interferencias causadas por la bilirrubina en la determinación de **Urato** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en % Eris-6170 (87.7), Au-510 (90).

TABLA XVII.- Interferencias en la determinación de **ASPARTATO AMINOTRANSFERASA** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª
ERIS-6170	no significativa	15	no significativa	86
AU-510	no significativa	25	no significativa	86
DAX-72	no significativa	35	no significativa	86
CX-7	no significativa	7	no significativa	86
HITACHI-717	no significativa	69	no significativa	86
HITACHI-911	no significativa	28.5	no significativa	86
HITACHI-917	no significativa	30.8	no significativa	86

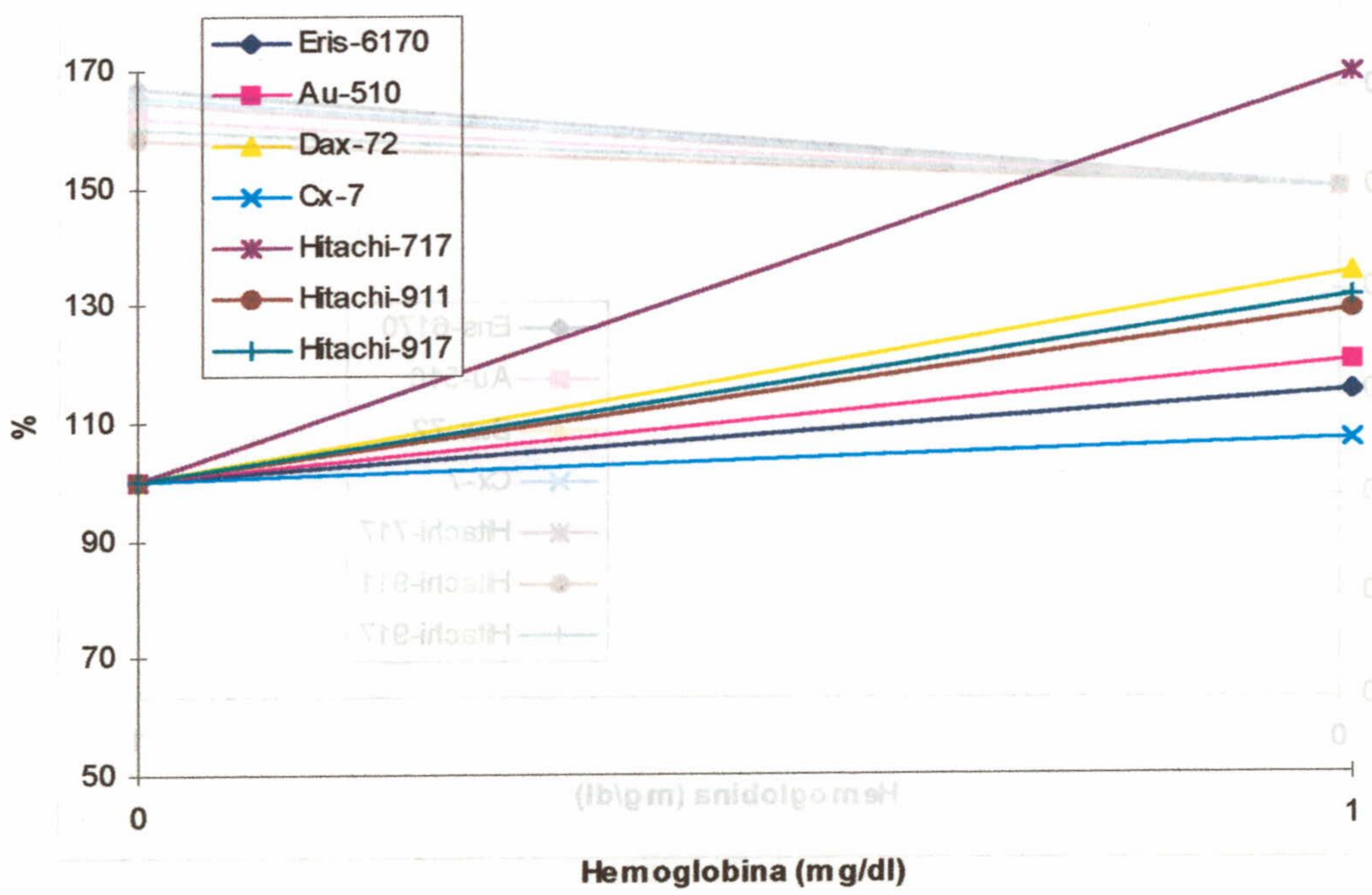


Figura 14- Interferencias causadas por la bilirrubina en la determinación de **Aspartato aminotransferasa** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en % Eris-6170 (115), Au-510 (120), Dax-72 (135), Cx-7 (107), Hitachi-717 (169), Hitachi-911 (129), Hitachi-917 (131)..

TABLA XVIII.- Interferencias en la determinación de **ALANINA AMINOTRANSFERASA** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rf[a]
ERIS-6170	no significativa	9.8	no significativa	87
AU-510	no significativa	7	no significativa	87
DAX-72	no significativa	6	no significativa	87
CX-7	- 0.94	9	no significativa	87
HITACHI-717	no significativa	8.7	no significativa	87
HITACHI-911	no significativa	4.8	no significativa	87
HITACHI-917	no significativa	6.2	no significativa	87

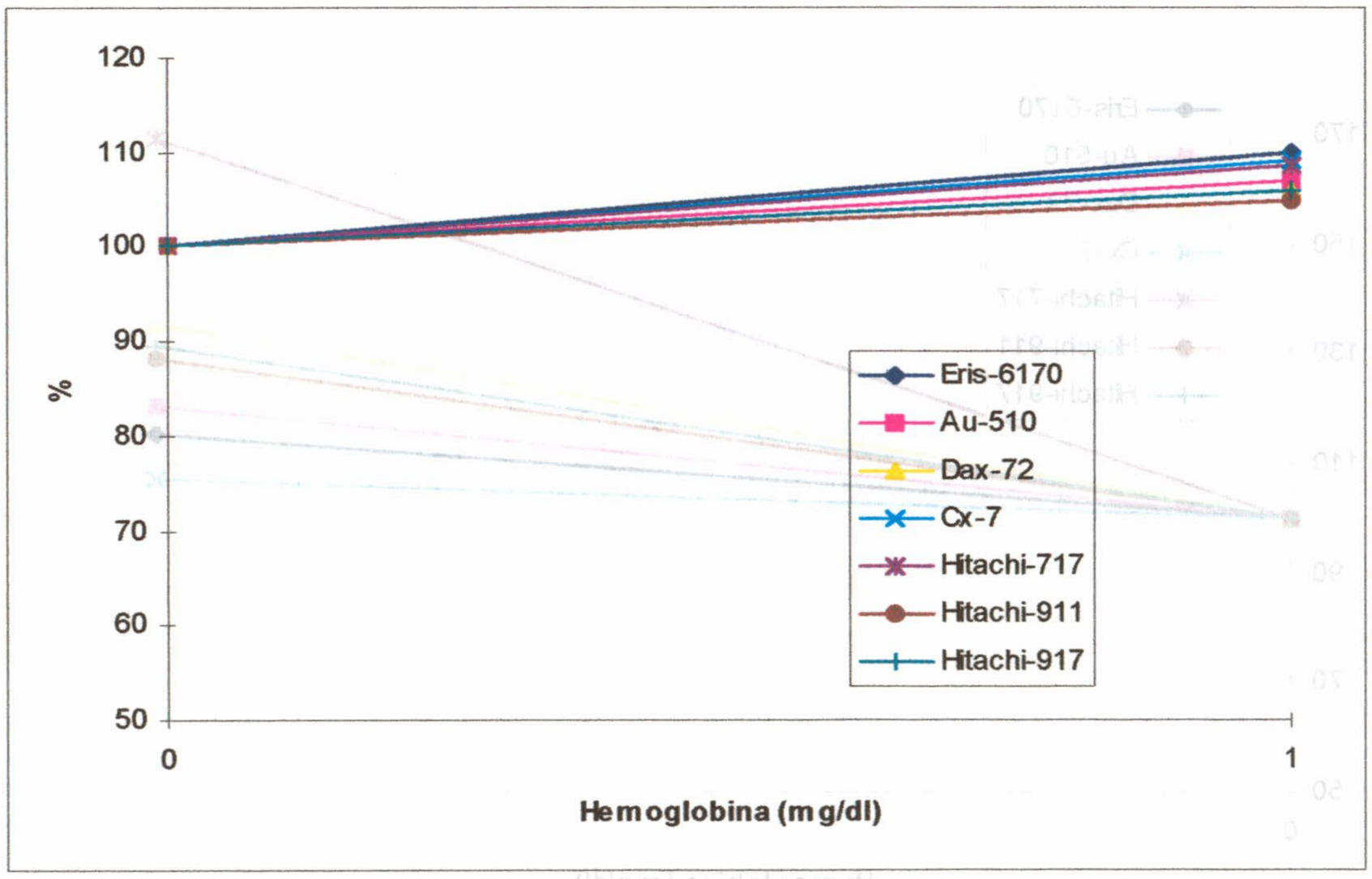


Figura 15.- Interferencias causadas por la hemoglobina en la determinación **de Alanina Aminotransferasa** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en % Eris-6170 (109.8), Au-510 (107), Dax-72 (109), Cx-7 (109), Hitachi-717 (108.7), Hitachi-911 (104.8), Hitachi-917 (106)

TABLA XIX.- Interferencias en la determinación de **GAMMA GLUTAMILTRANSFERASA** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rf[a]
ERIS-6170	no significativa	- 2.76	no significativa	88,107
AU-510	- 0.303	no significativa	no significativa	88,107
HITACHI-717	- 0.341	- 5.7	no significativa	88
HITACHI-917	- 0.448	- 6	no significativa	88

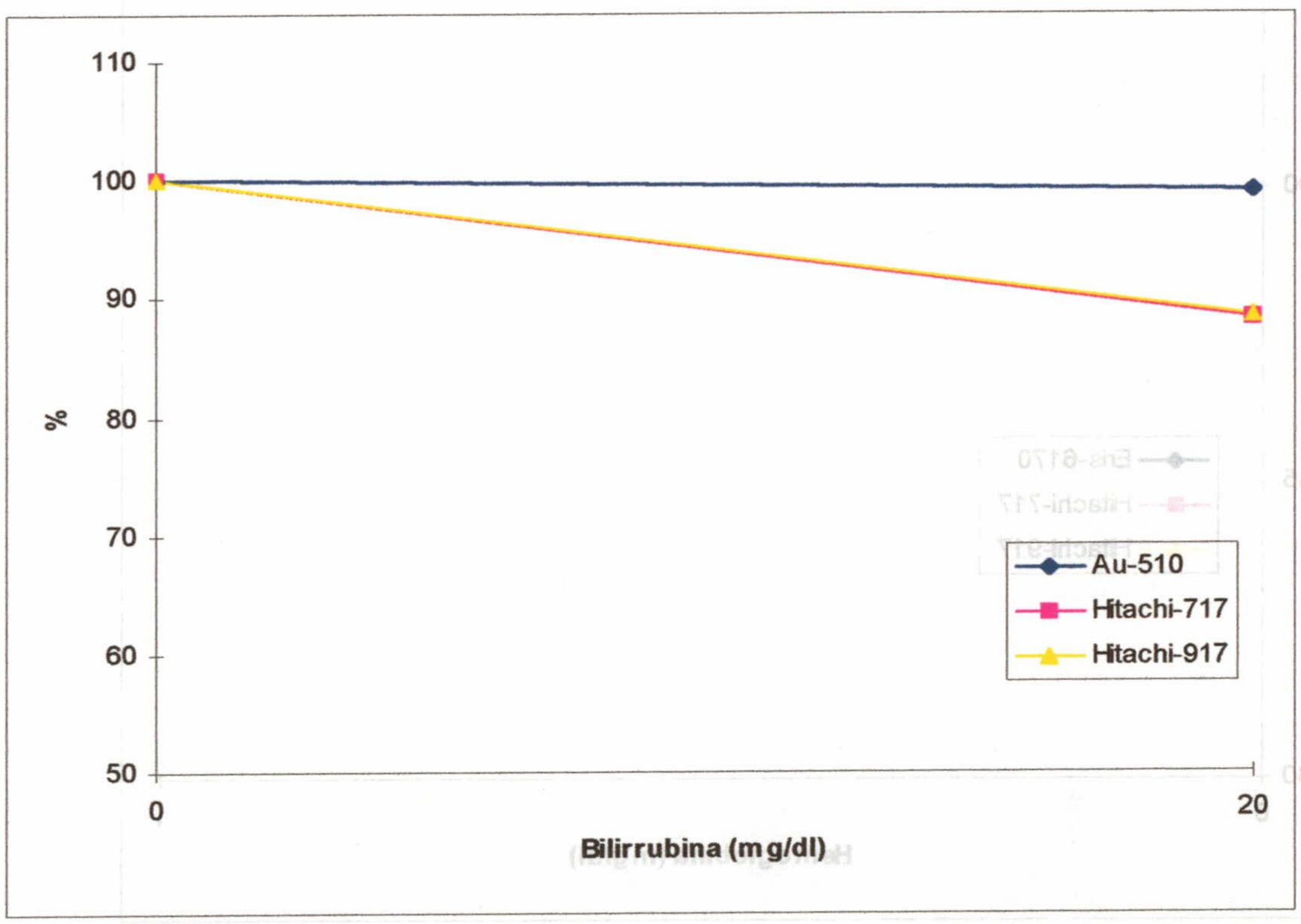


Figura 16.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Gamma glutamiltransferasa** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en % Au-510 (99), Hitachi-717 (88.2), Hitachi-917 (88.5)

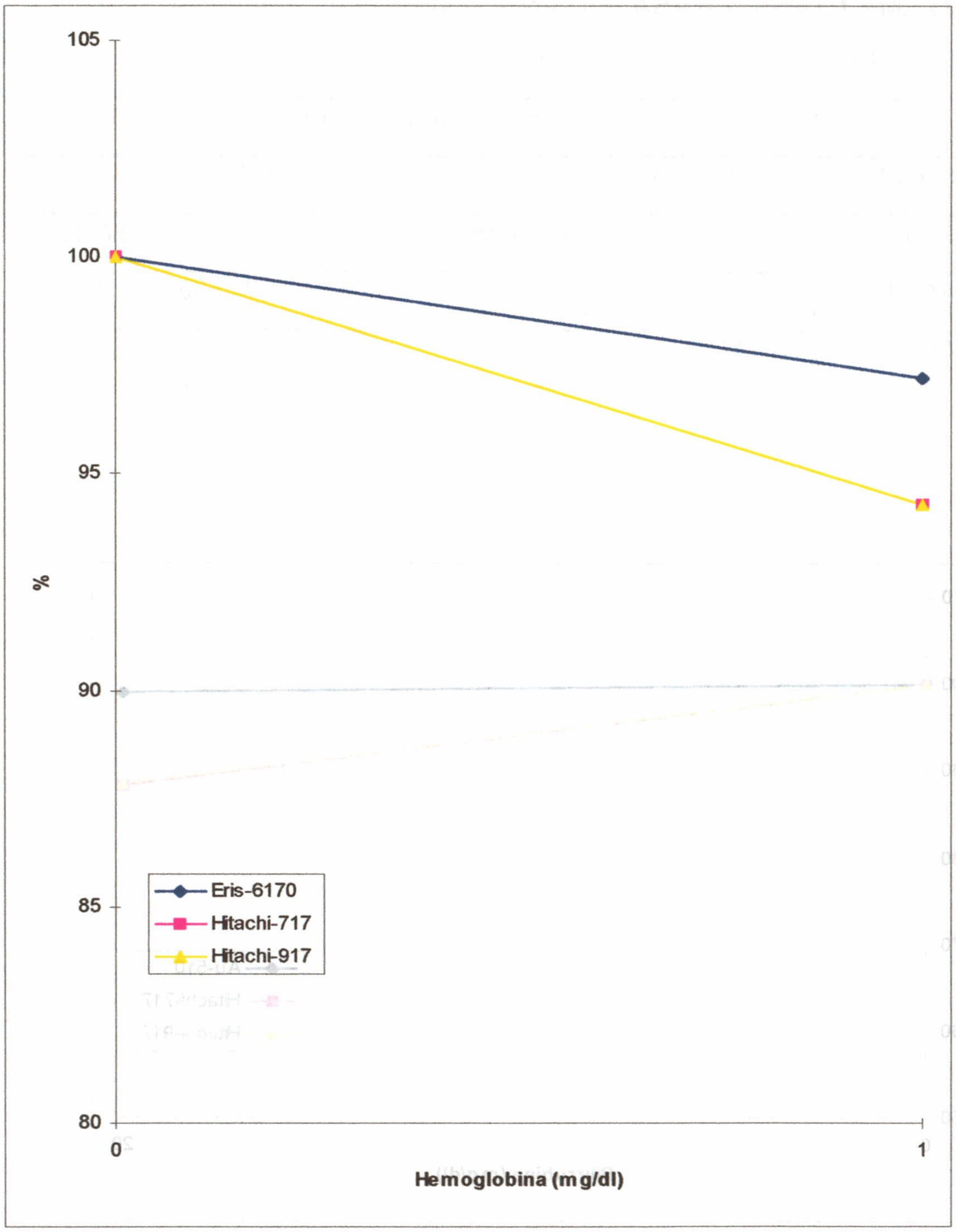


Figura 17.- Interferencias causadas por la Hemoglobina en la determinación de **Gamma glutamiltransferasa** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en % Eris-6179 (97.2), Hitachi-717 (94.3), Hitachi-917 (94.3)

TABLA XX.- Interferencias en la determinación de **BILIRRUBINA** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Hemoglobina	Turbidez	Rfª método
ERIS-6170	30	no significativa	89
AU-510	26	no significativa	89
CX-7	56.3	no significativa	120
HITACHI-717	11.5	- 0.009	89
HITACHI-911	- 9.1	- 0.007	89
HITACHI-917	- 5.4	- 0.015	89

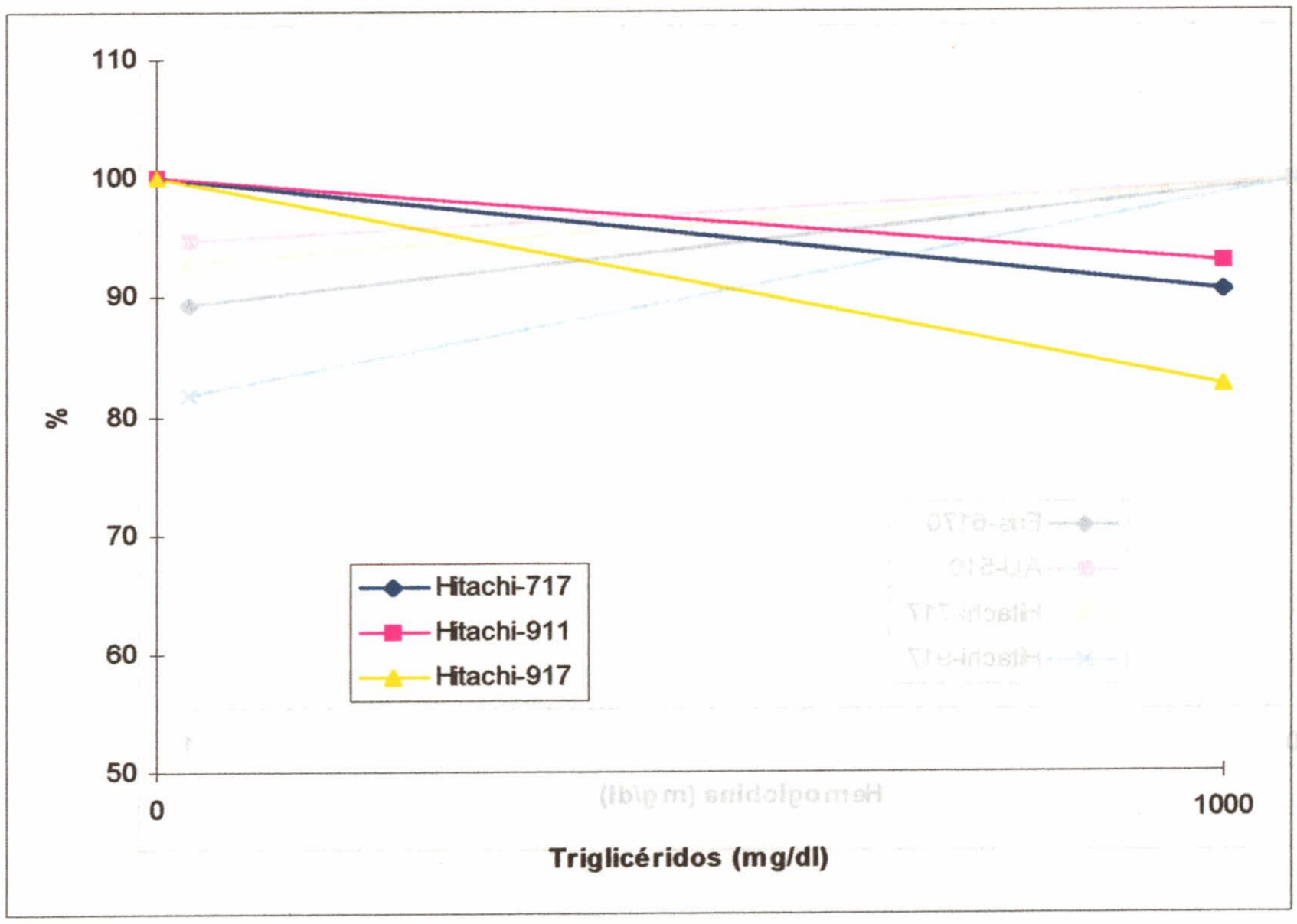


Figura 18.- Interferencias causada por la Turbidez en la determinación de **Bilirrubina** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia Hitachi-717 (94), Hitachi-911 (97), e Hitachi-917 (85)

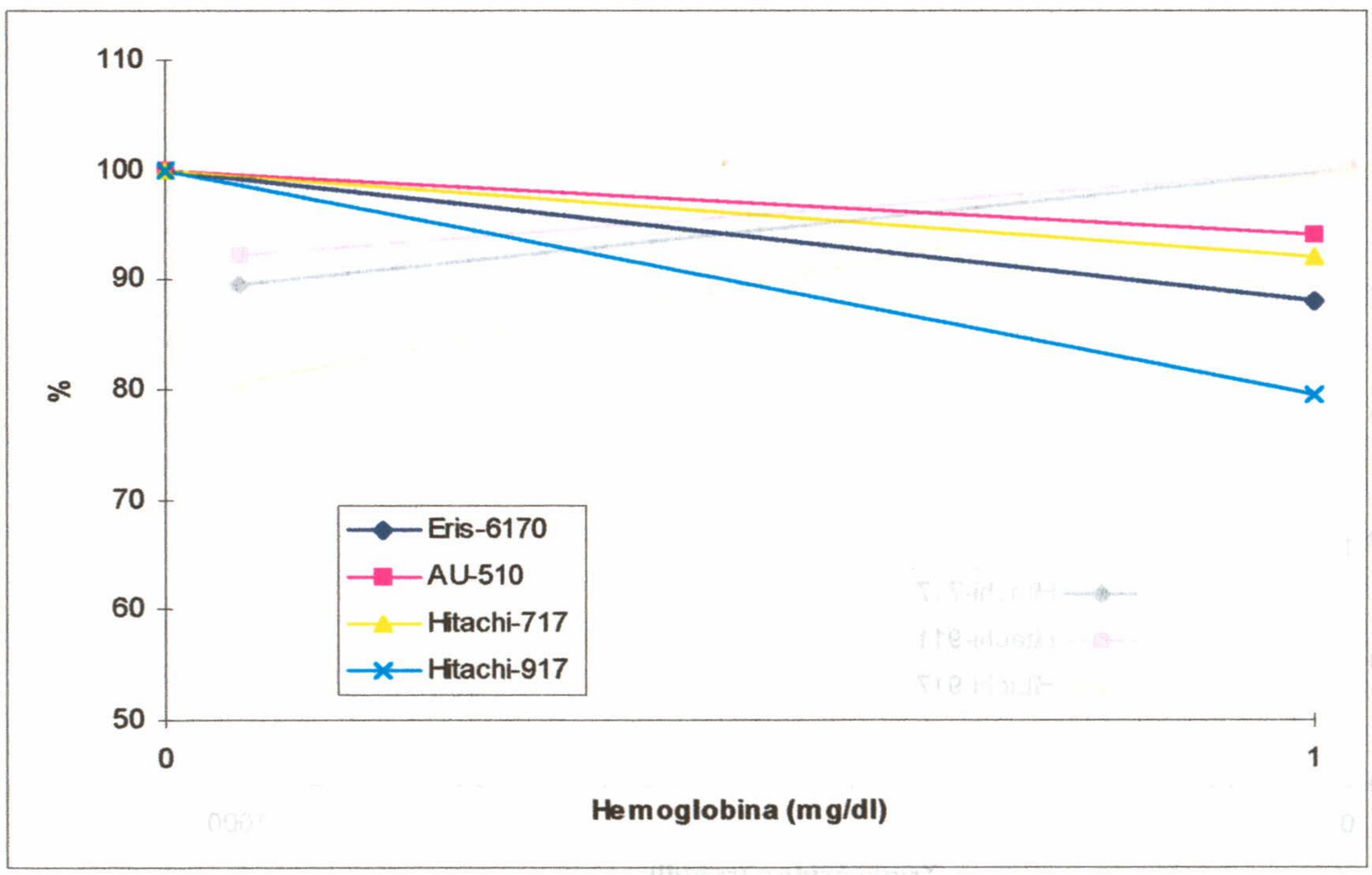


Figura 19.- Interferencias causada por la Hemoglobina en la determinación de **Fosfatasa Alcalina** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia. Eris-6170 (88), AU-510 (94), Hitachi-717 (92), Hitachi-917 (79.5)

TABLA XXI.- Interferencias en la determinación de **FOSFATASAS ALCALINAS** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rf[a]
ERIS-6170	no significativa	- 12	no significativa	95,106
AU-510	no significativa	- 6	no significativa	95,106
HITACHI-717	no significativa	- 8	no significativa	90
HITACHI-917	no significativa	- 20.5	no significativa	90

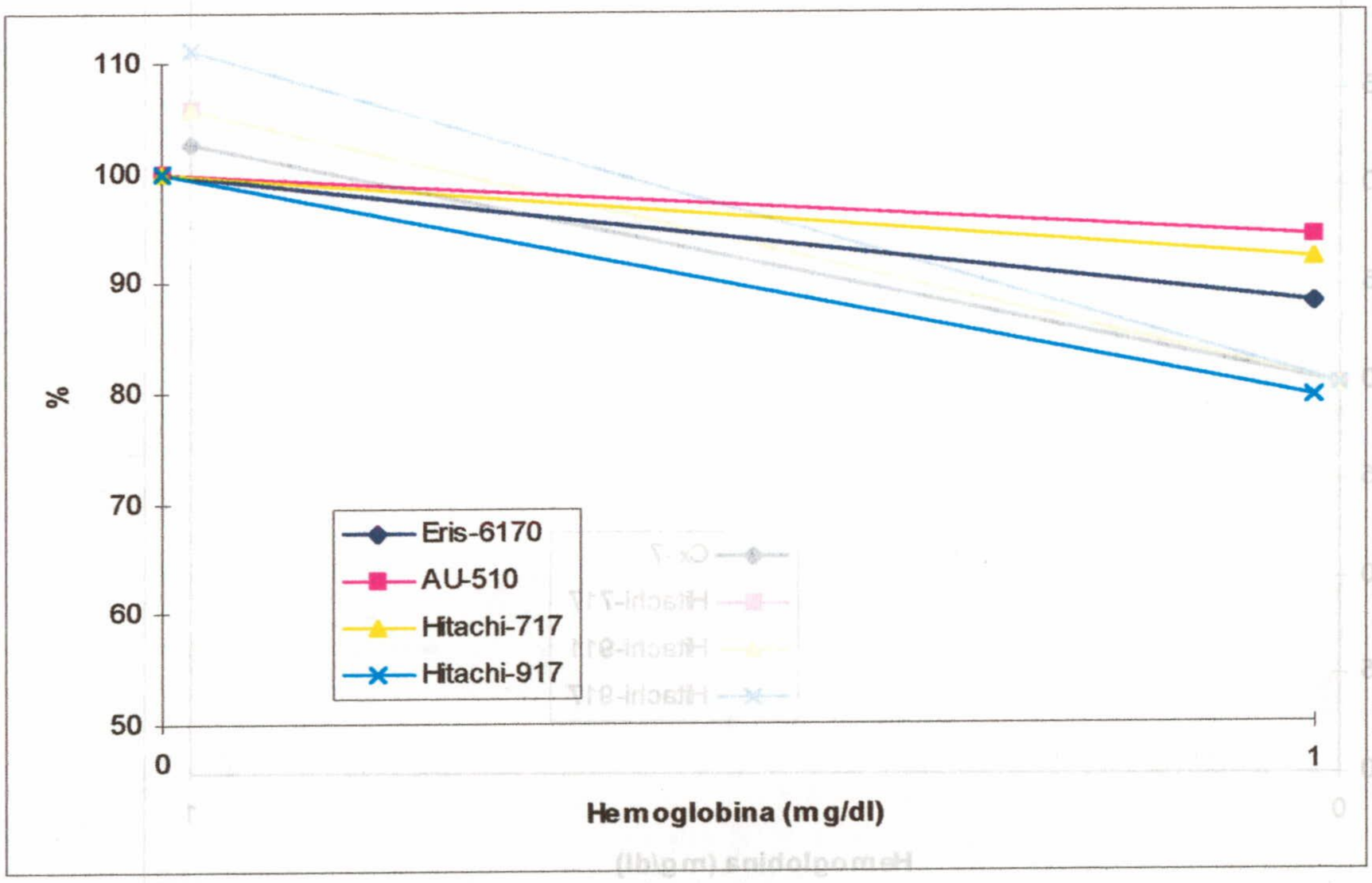


Figura 19.- Interferencias causada por la Hemoglobina en la determinación de **Fosfatasa Alcalina** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia. Eris-6170 (88), AU-510 (94), Hitachi-717 (92), Hitachi-917 (79.5)

TABLA XXII.- Interferencias en la determinación de **CREATINA QUINASA** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª método
CX-7	no significativa	12.2	no significativa	94
HITACHI-717	no significativa	13.6	no significativa	94
HITACHI-911	no significativa	13.6	no significativa	94
HITACHI-917	no significativa	17.1	no significativa	94

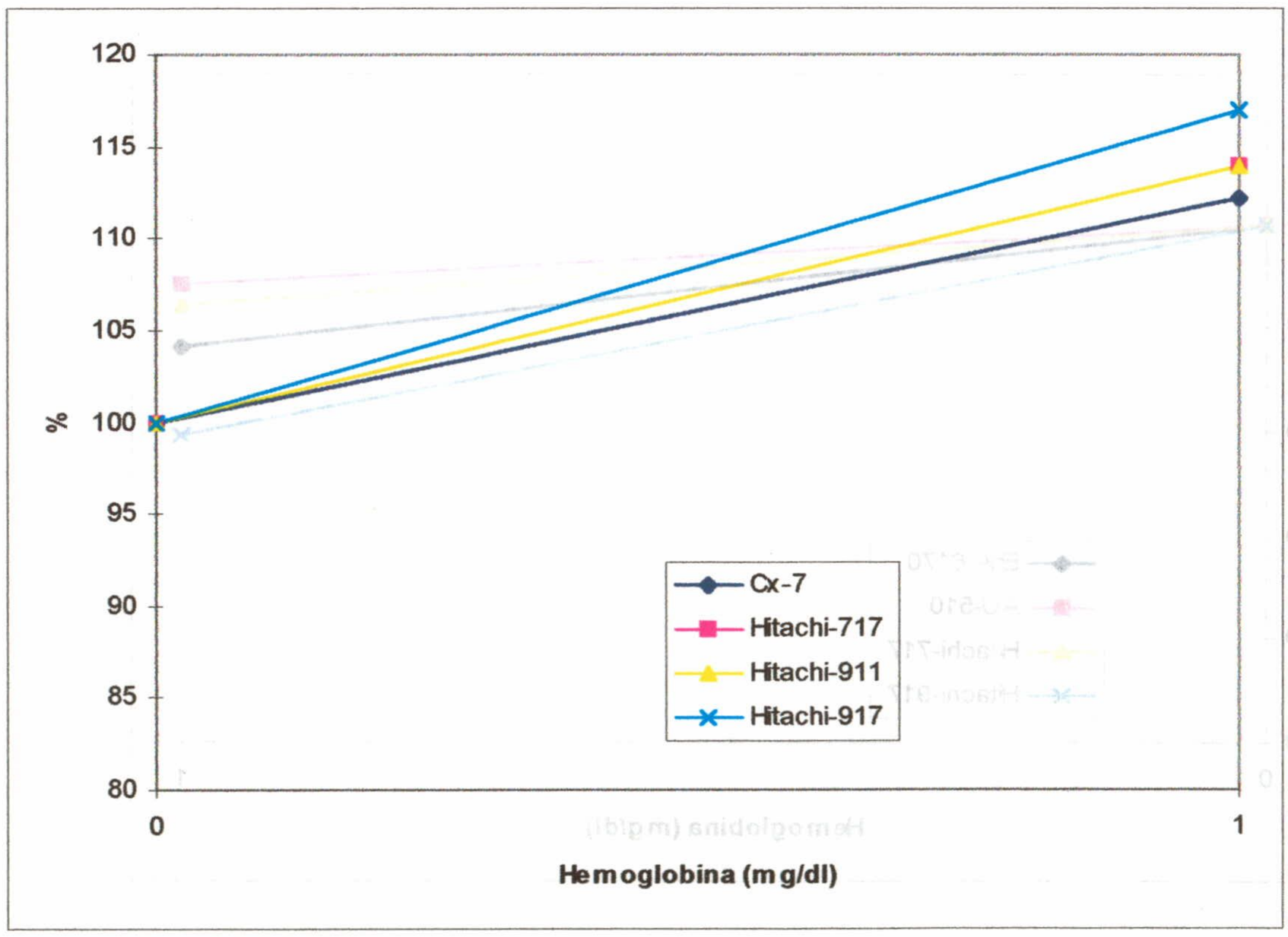


Figura 20.- Interferencias causadas por la Hemoglobina en la determinación de **Creatina quinasa** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en % Cx-7 (112.2), Hitachi-717 (114), Hitachi-911 (114), Hitachi-917 (117).

TABLA XXIII.- Interferencias en la determinación de **TRIGLICERIDOS** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Rfª método
ERIS-6170	- 0.35	18	104,105
AU-510	- 0.25	7.9	104,105
DAX-72	0.75	13	104,105
HITACHI-717	0.696	7.74	91
HITACHI-917	0.749	4.4	91

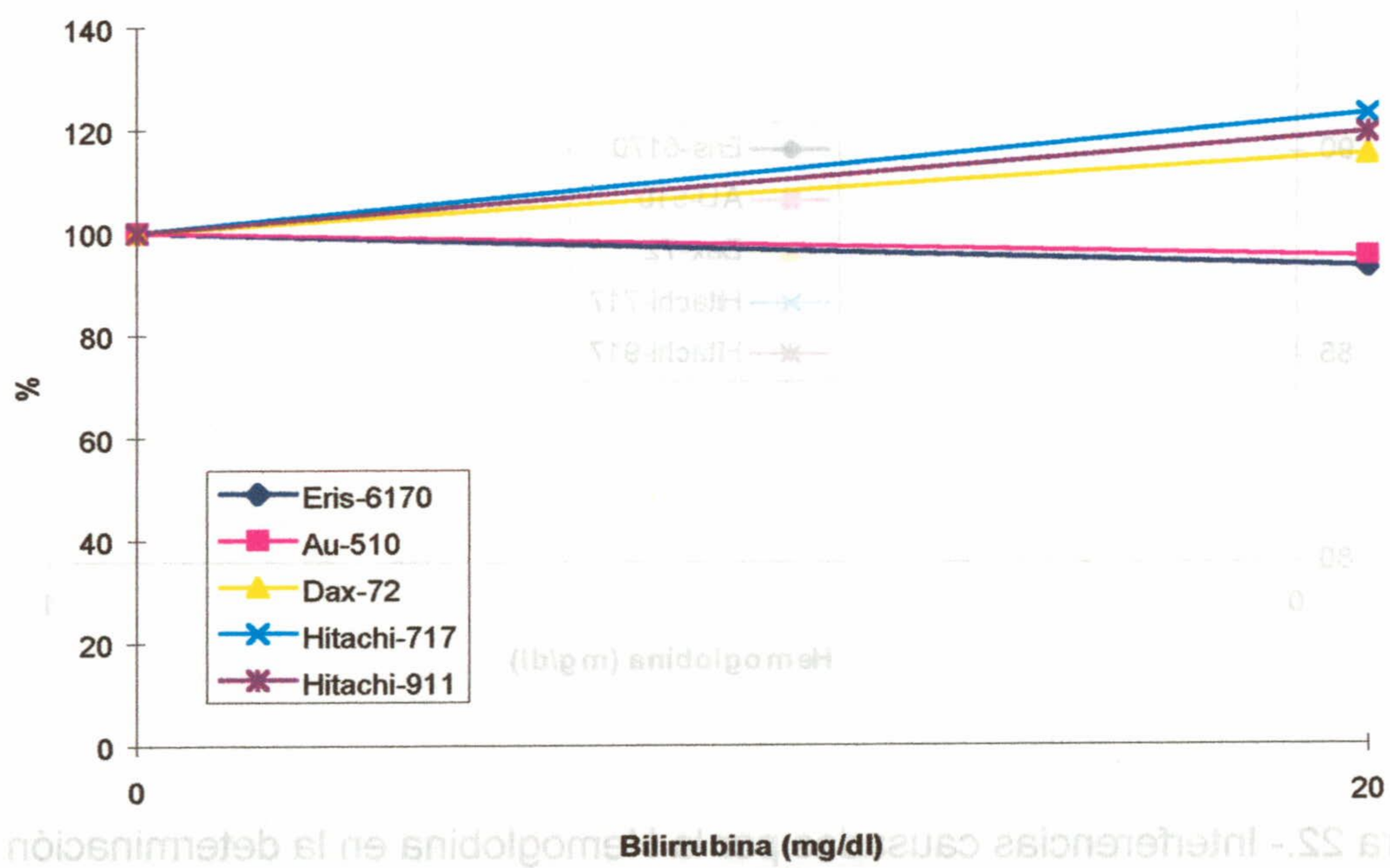


Figura 21.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Triglicéridos** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Eris-6170 (93), Au-510 (95), Dax-72 (115), Hitachi-717 (122.8), Hitachi-911 (119.2).

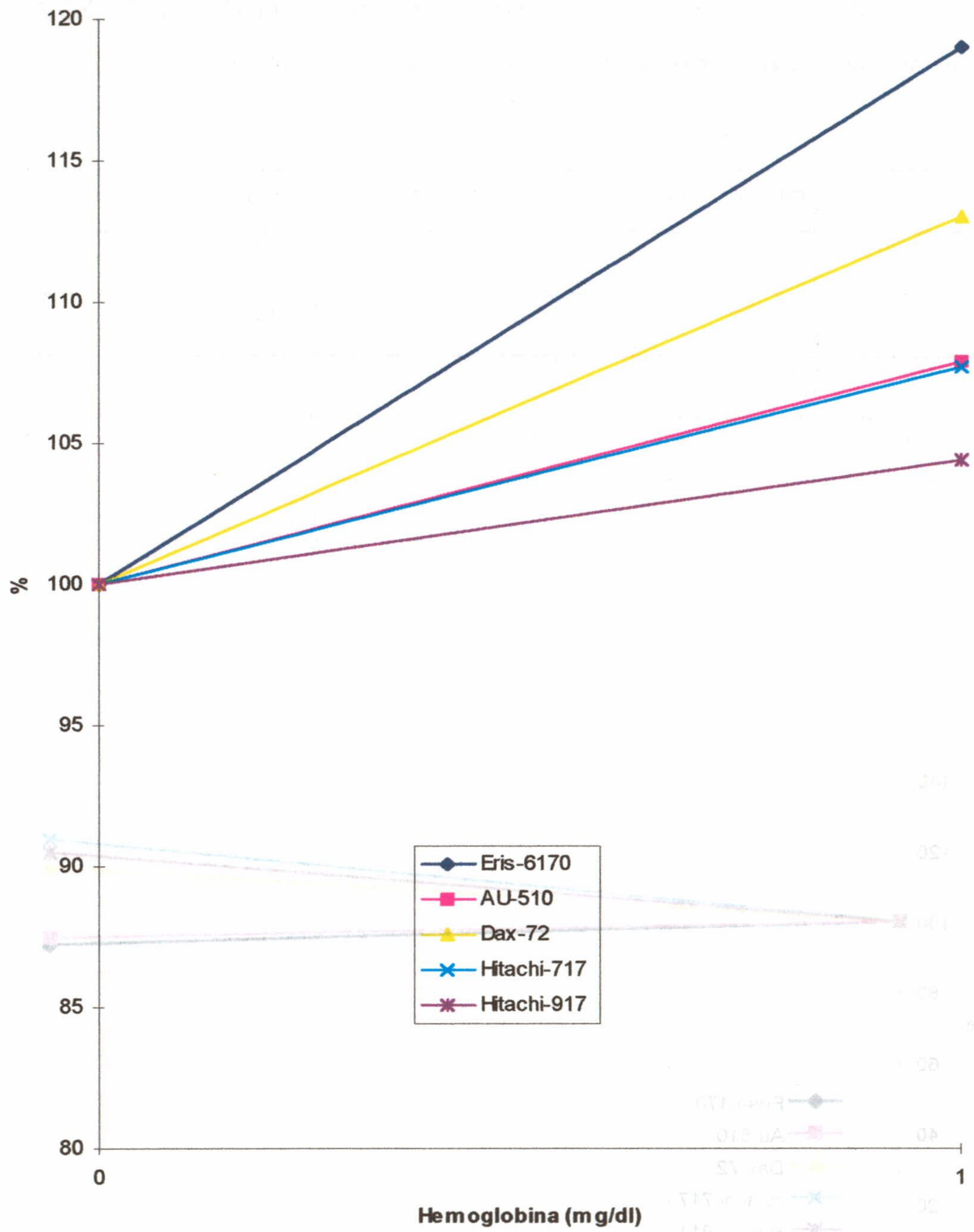


Figura 22.- Interferencias causadas por la Hemoglobina en la determinación de **Triglicéridos** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Eris-6170 (119), Au-510 (107.9), Dax-72 (113), Hitachi-717 (107.7), Hitachi-917 (104.4).

TABLA XXIV.- Interferencias en la determinación de **COLESTEROL** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª método
ERIS-6170	- 2.29	4.58	no significativa	92,103
AU-510	- 0.40	2.8	no significativa	92,103
DAX-72	- 0.19	- 3.88	no significativa	92,103
HITACHI-717	- 1.01	5.4	no significativa	91
HITACHI-917	- 0.63	5.5	no significativa	91

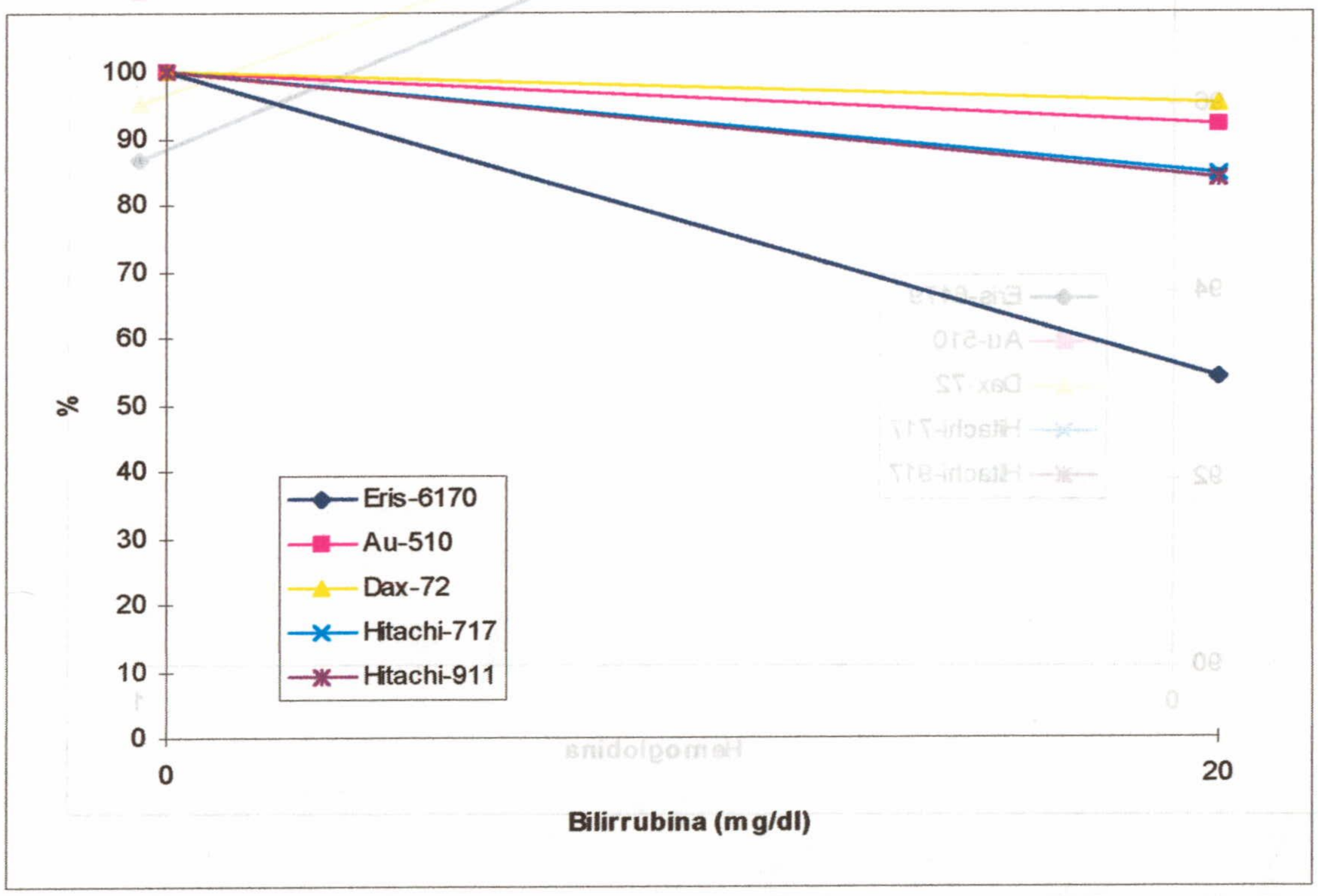


Figura 23.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Colesterol** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Eris-6170 (54.2), Au-510 (92), Dax-72 (95), Hitachi-717 (84.4), Hitachi-911 (84).

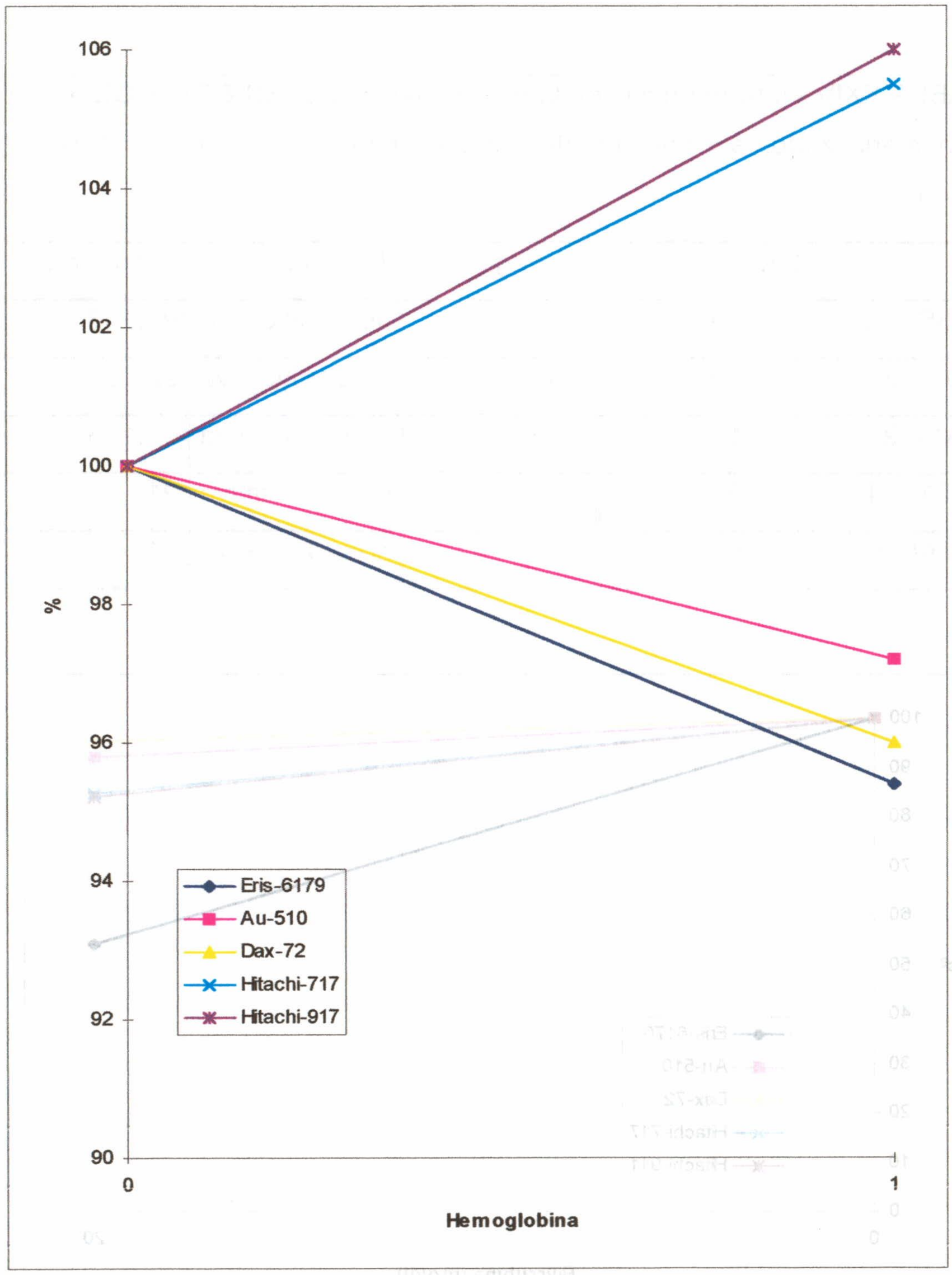


Figura 24.- Interferencias causadas por la Hemoglobina en la determinación de **Colesterol** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Eris-6170 (95.4), Au-510 (97.2), Dax-72 (96), Hitachi-717 (105.5), Hitachi-917 (106).

TABLA XXV.- Interferencias en la determinación de **LACTATO DEHIDROGENASA** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª método
CX-7	no significativa	231	no significativa	95
HITACHI-717	- 0.180	247	no significativa	95
HITACHI-911	- 0.1805	333	no significativa	95
HITACHI-917	- 0.181	153	no significativa	95

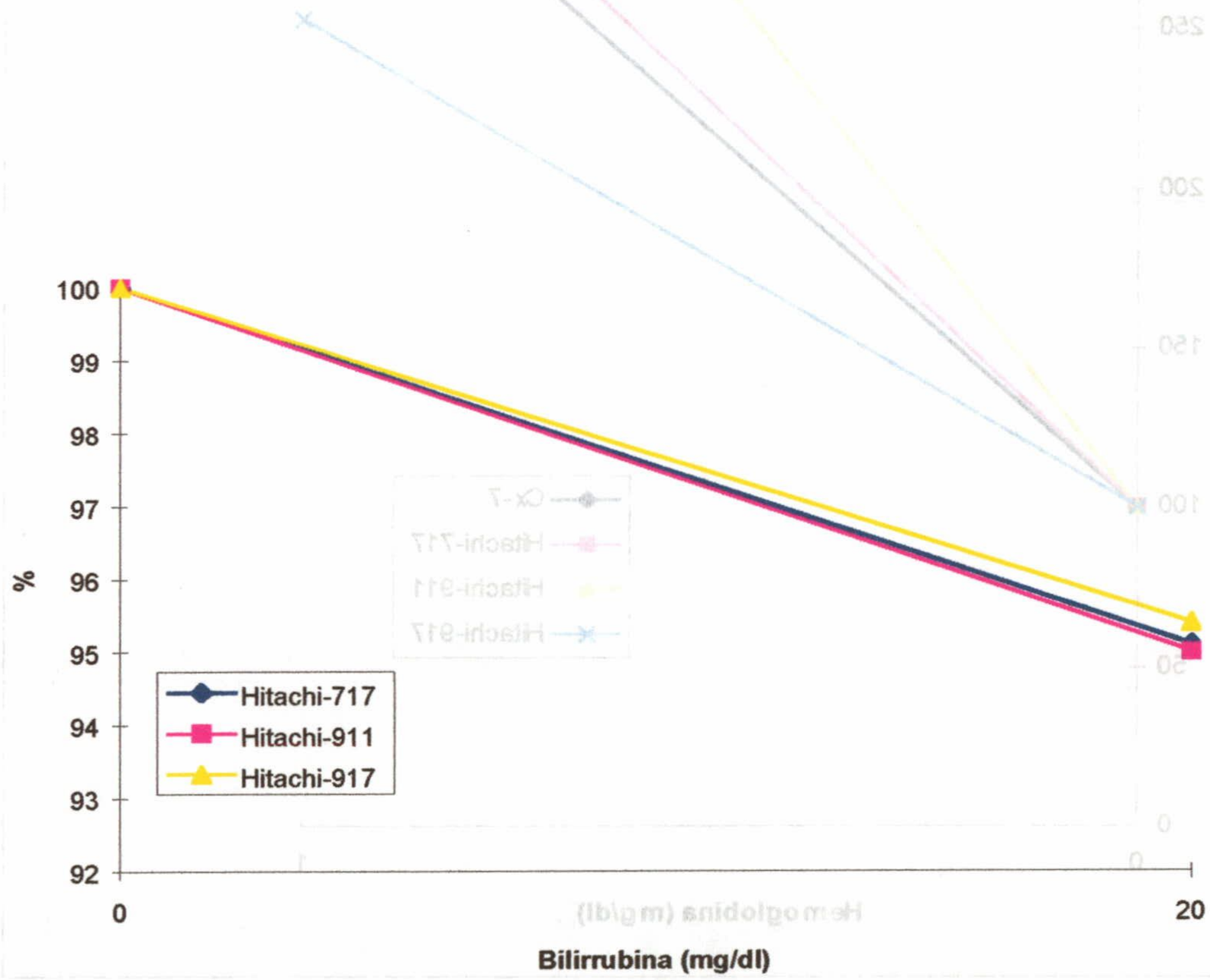


Figura 25.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Lactato dehidrogenasa** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Hitachi-717 (95.1), Hitachi-911 (95), Hitachi-917 (95.4).

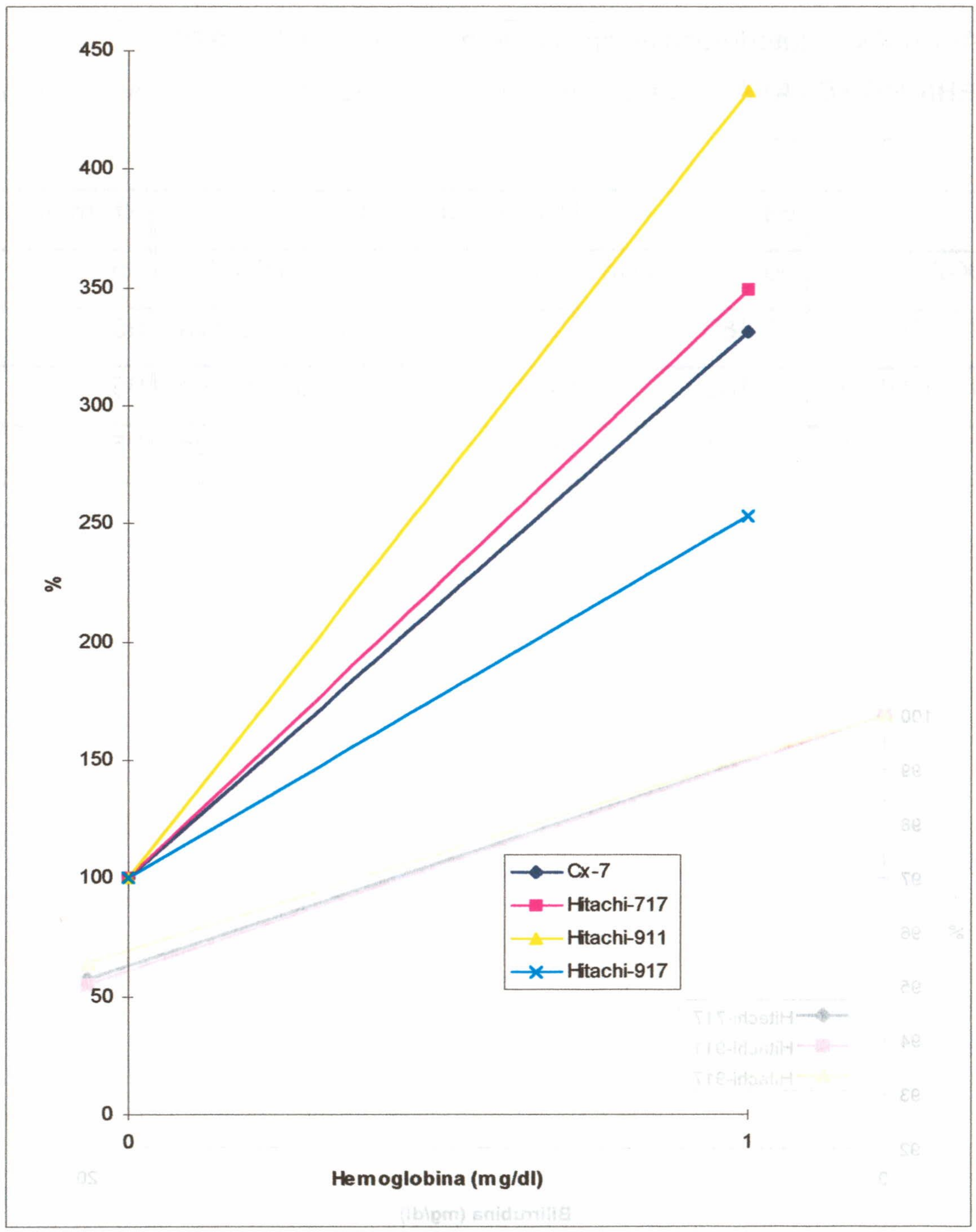


Figura 26.- Interferencias causadas por la Hemoglobina en la determinación de **Lactato dehidrogenasa** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Hitachi-717 (349), Hitachi-911 (433), Hitachi-917 (253).

TABLA XXVI.- Interferencias en la determinación de **CALCIO** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rf[a]
ERIS-6170	no significativa	5	no significativa	96
AU-510	no significativa	4	no significativa	96
DAX-72	no significativa	no significativa	no significativa	116
HITACHI-717	- 0.135	no significativa	no significativa	96
HITACHI-911	- 0.193	no significativa	no significativa	96
HITACHI-917	- 0.212	- 8.55	0.0024	96

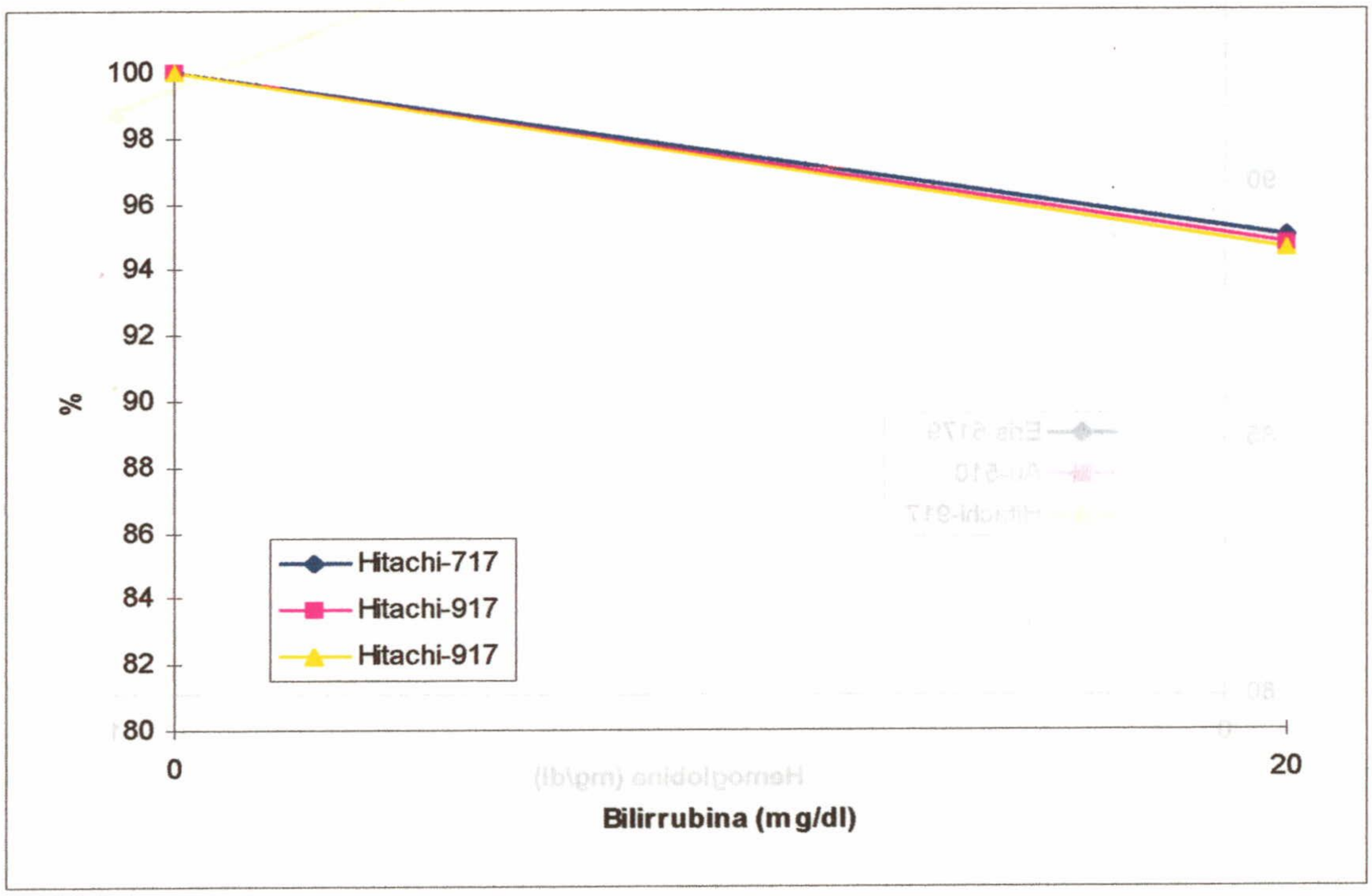


Figura 27.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Calcio** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Hitachi-717 (95), Hitachi-911 (94.8), Hitachi-917 (94.6).

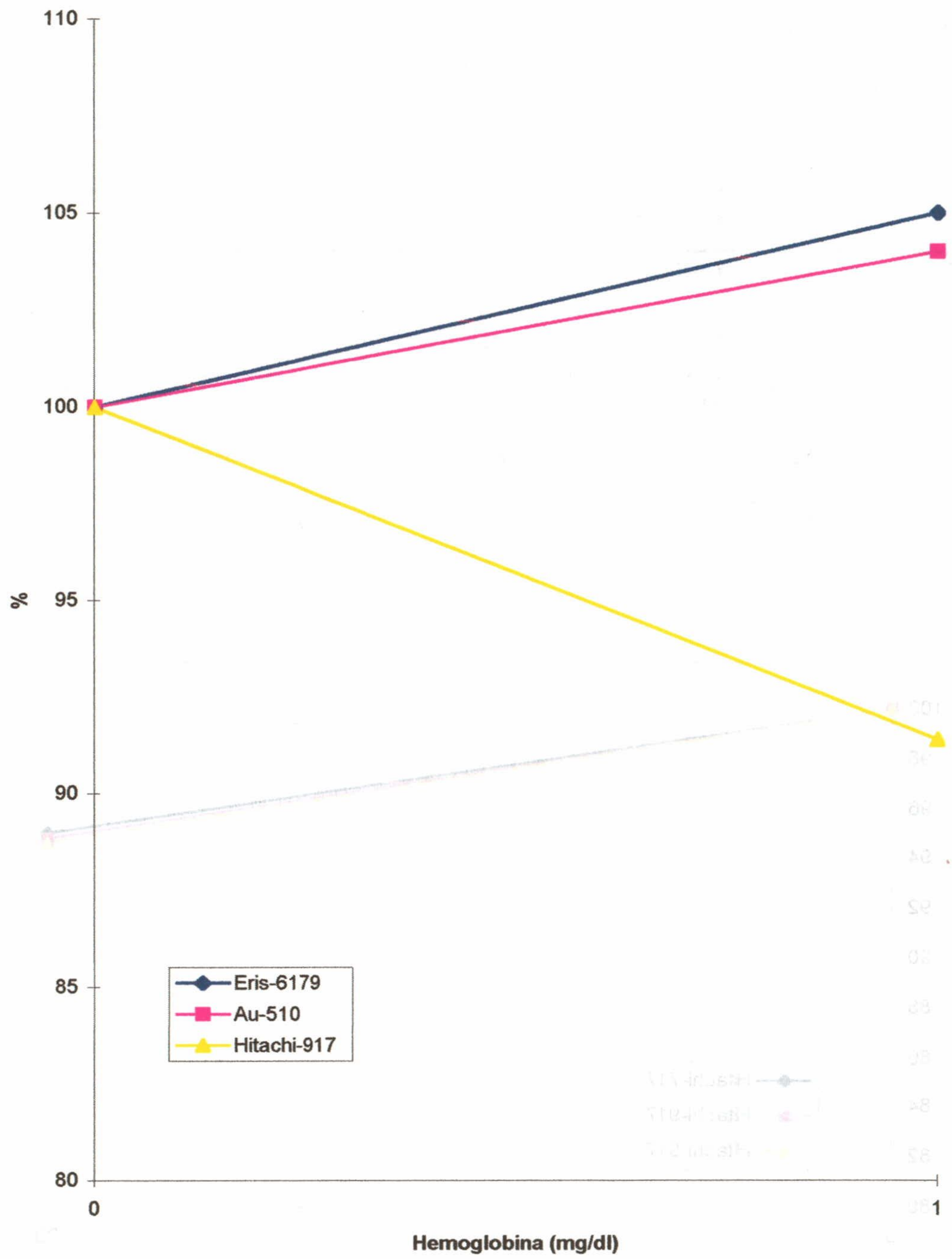


Figura 28.- Interferencias causadas por la Hemoglobina en la determinación de **Calcio** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Eris-6170 (105), Au-510 (104), Hitachi-917 (91.4).

TABLA XXVII.- Interferencias en la determinación de **FOSFATO NO ESTERIFICADO** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª método
ERIS-6170	- 0.80	- 15.9	0.0255	97,111,112
AU-510	- 0.60	- 13	0.021	97,111,112
HITACHI-717	- 0.14	6.03	no significativa	97
HITACHI-917	no significativa	8.7	0.015	97

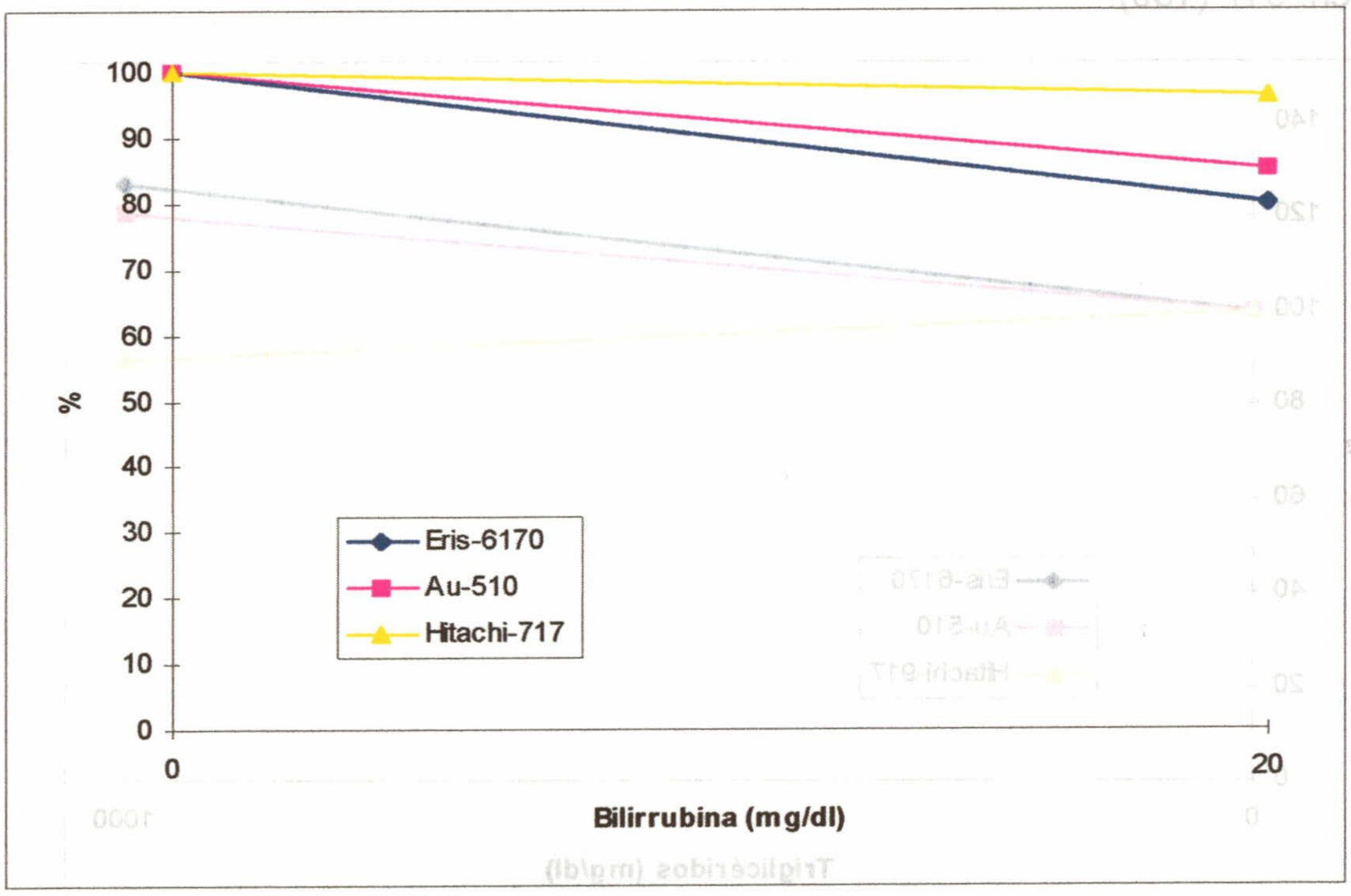


Figura 29.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Fosfato no esterificado** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Eris-6170 (80), Au-510 (85), Hitachi-717 (96.3).

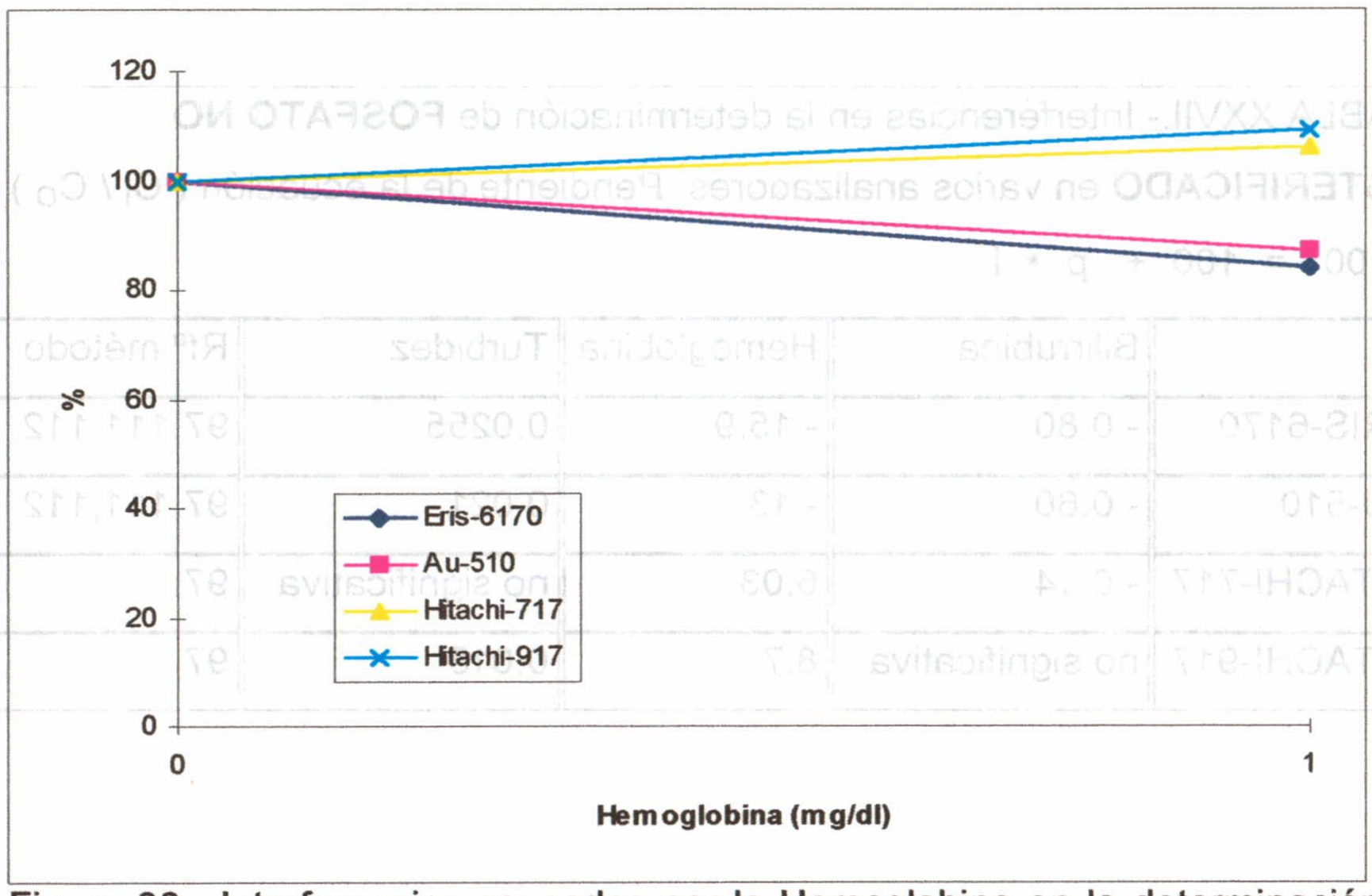


Figura 30.- Interferencias causadas por la Hemoglobina en la determinación de **Fosfato no esterificado** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Eris-6170 (84.1), Au-510 (87), Hitachi-717 (106) Hitachi-917 (109).

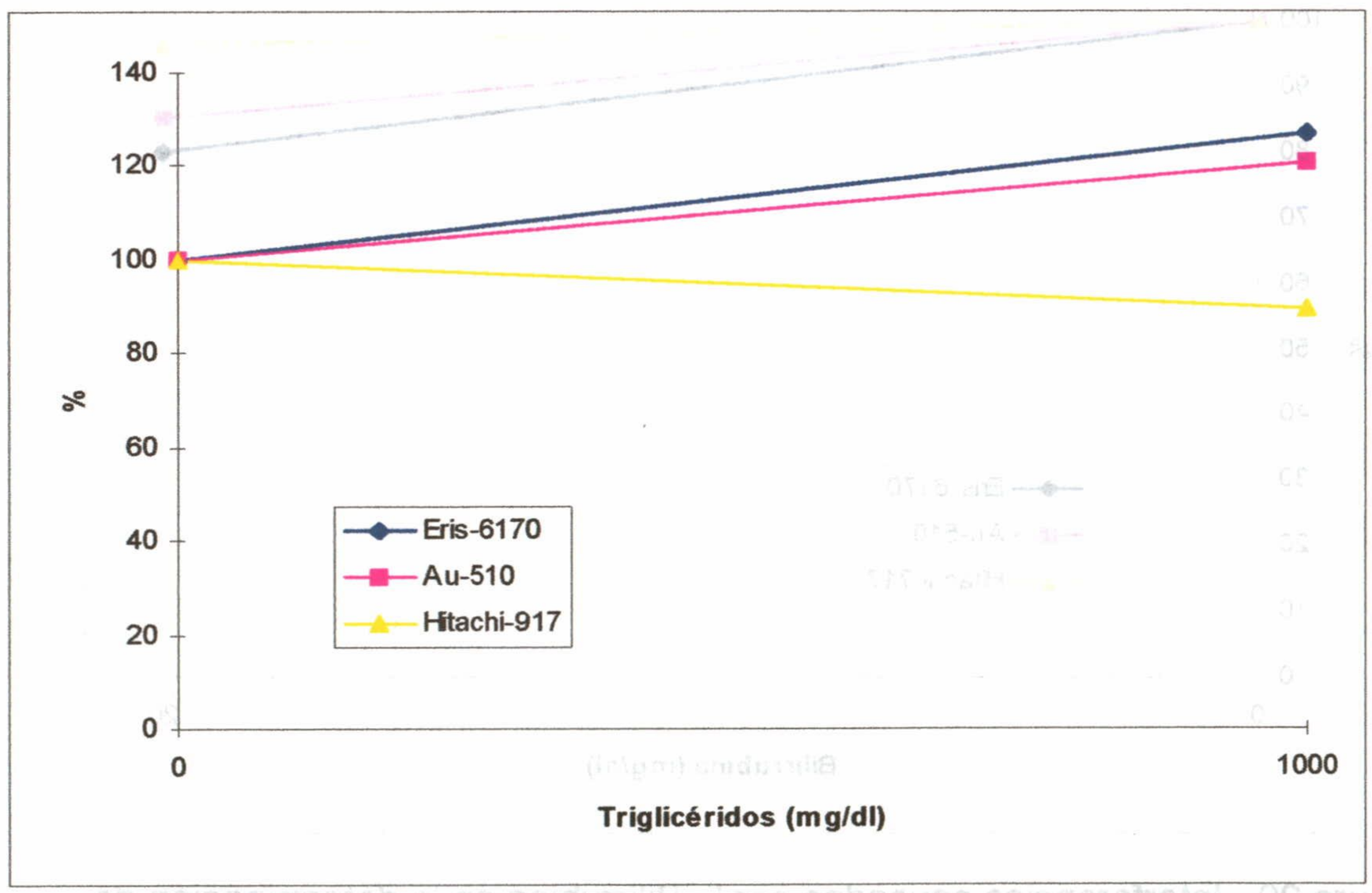


Figura 31.- Interferencias causadas por la Turbidez en la determinación de **Fosfato no esterificado** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Eris-6170 (127), Au-510 (121), Hitachi-917 (89.7).

TABLA XXVIII.- Interferencias en la determinación de **PROTEINAS TOTALES** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª método
ERIS-6170	- 0.456	7.4	00044	109,110
AU-510	no significativa	3.8	no significativa	109,110
DAX-72	no significativa	7	no significativa	109,110
CX-7	- 0.41	3.5	no significativa	98
HITACHI-717	- 0.55	6.44	no significativa	98
HITACHI-911	- 0.63	4.81	no significativa	98
HITACHI-917	- 0.64	4.9	no significativa	98

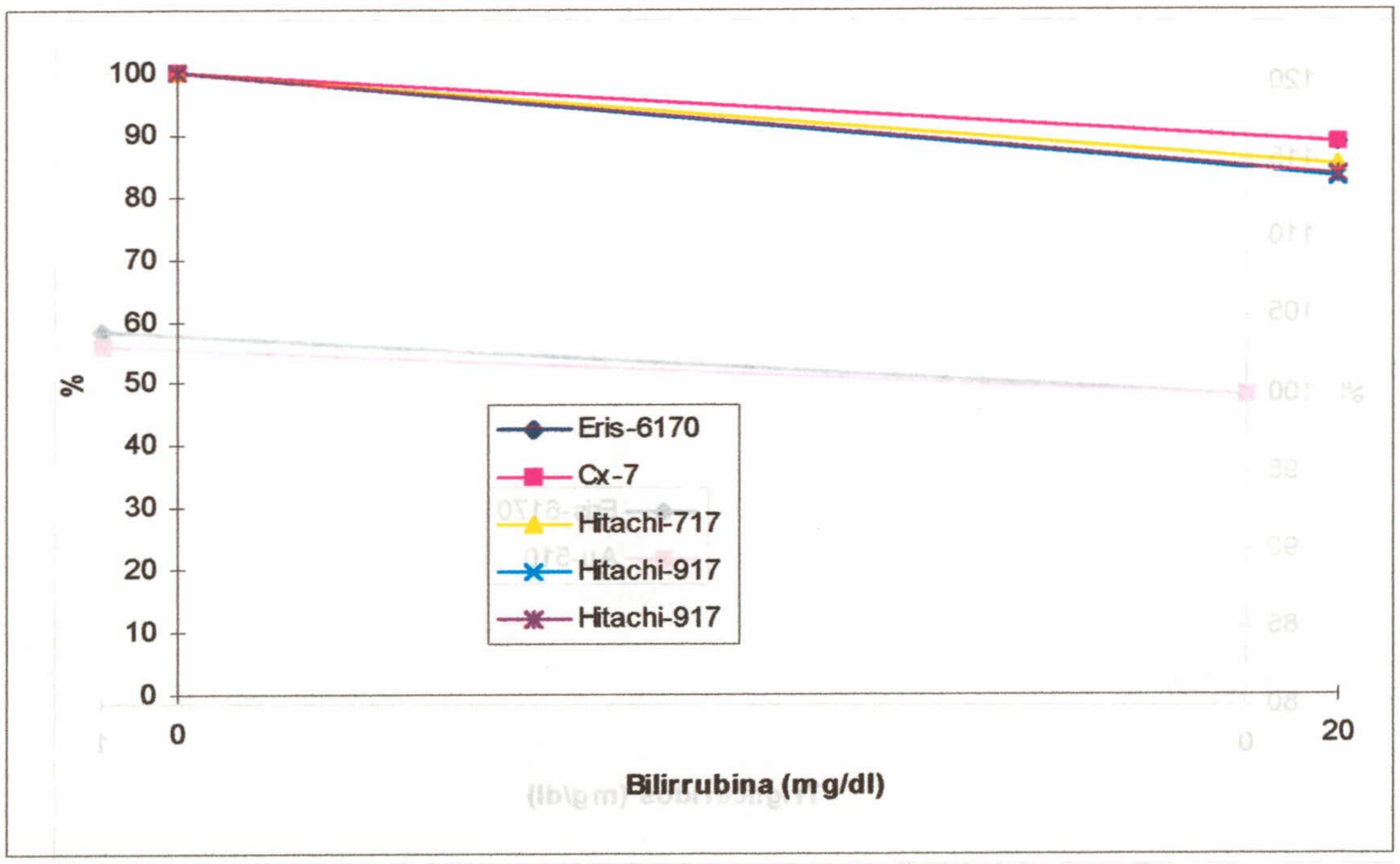


Figura 32.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Proteínas totales** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Eris-6170 (88.6), Cx-7 (88.9), Hitachi-717 (85), Hitachi-911 (83), Hitachi-917 (83.7).

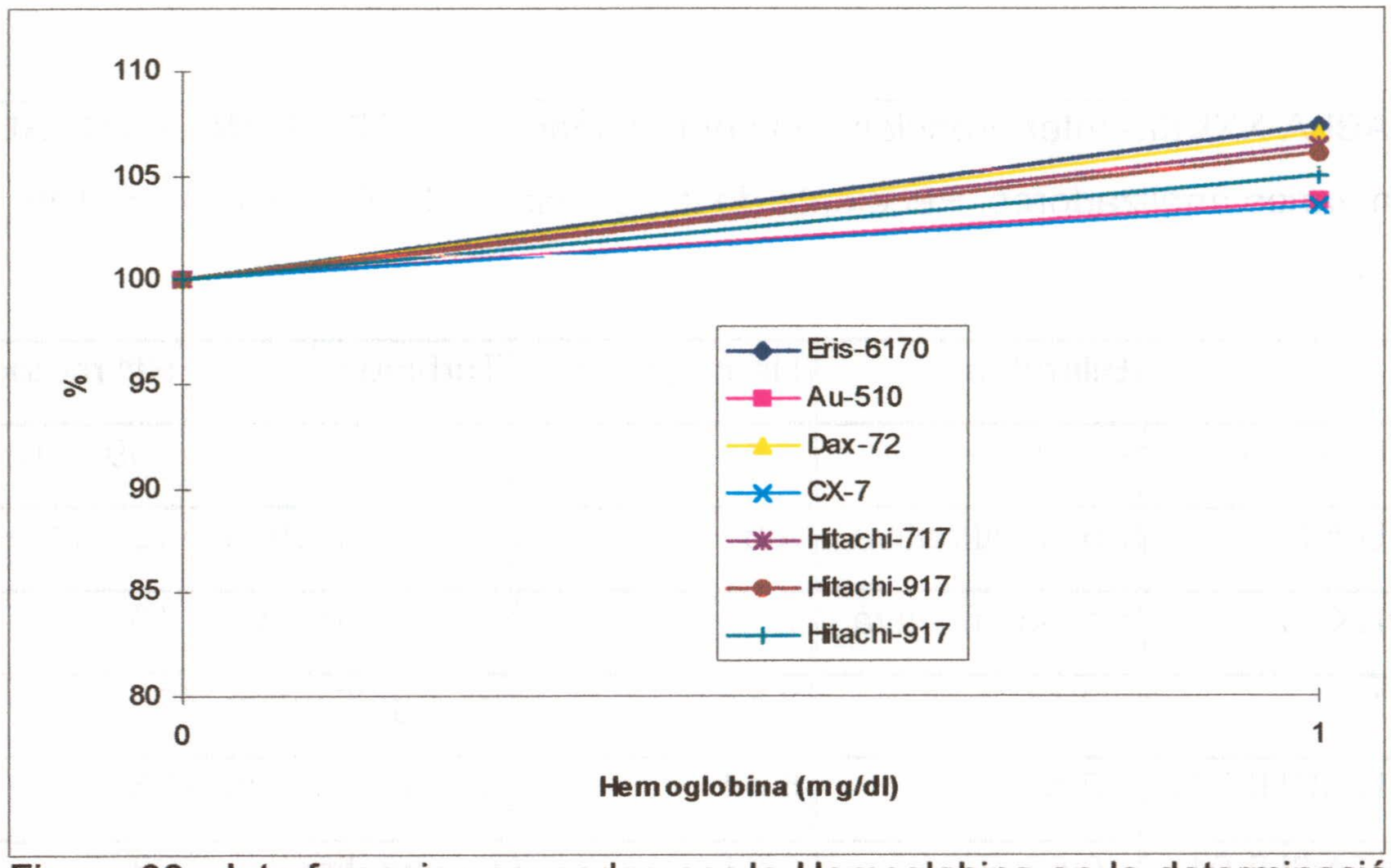


Figura 33.- Interferencias causadas por la Hemoglobina en la determinación de **Proteínas totales** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Eris-6170 (107.4), Au-510 (103.8), Dax-72 (107), Cx-7 (103.5), Hitachi-717 (106.4), Hitachi-911 (106), Hitachi-917 (105).

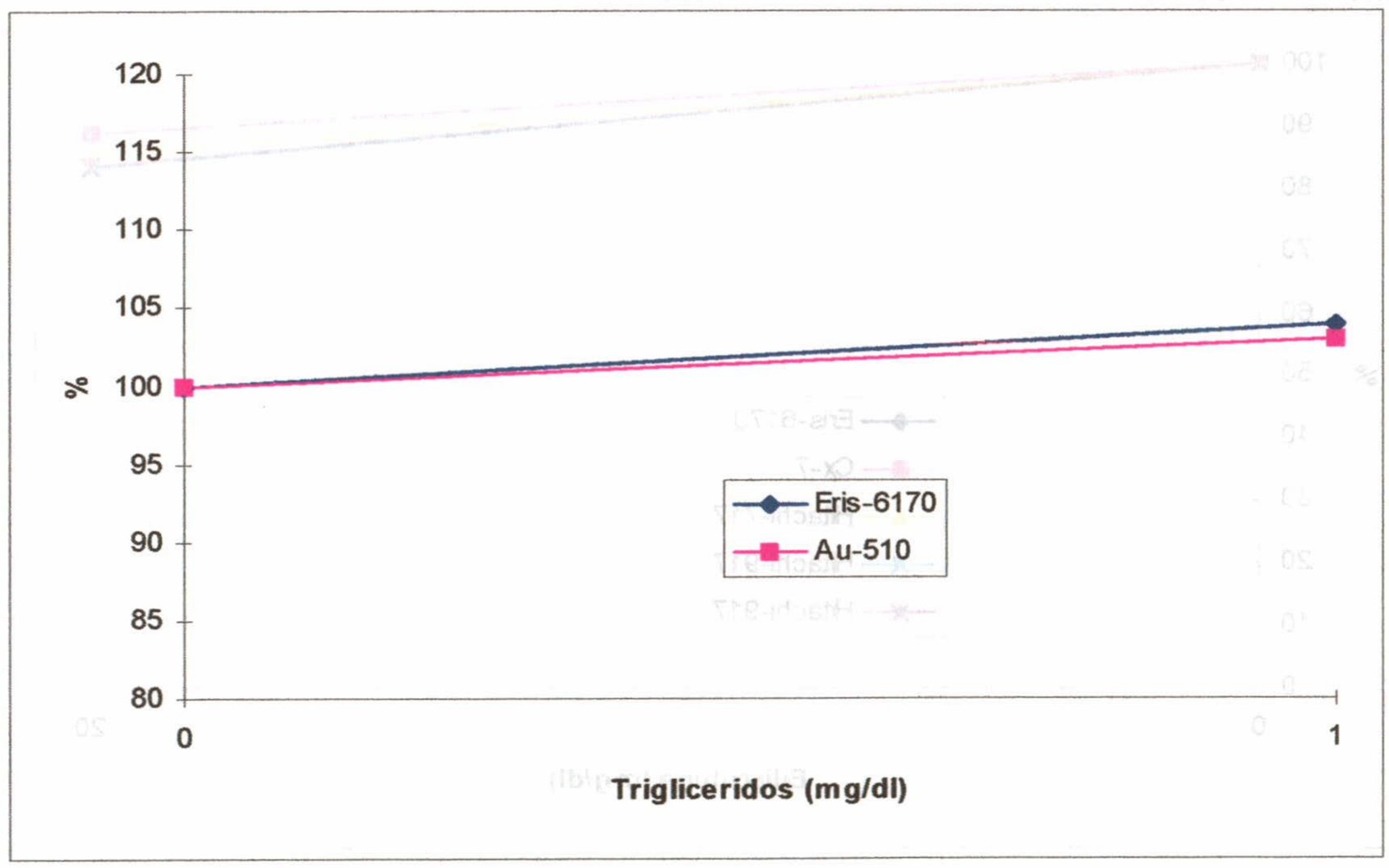


Figura 34.- Interferencias causadas por la Turbidez en la determinación de **Proteínas totales** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Eris-6170 (104), Au-510 (103).

TABLA XXIX.- Interferencias en la determinación de **ALBUMINA** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rf[a]
DAX-72	no significativa	5.6	no significativa	99
HITACHI-717	no significativa	4.1	no significativa	99
HITACHI-917	no significativa	3.23	0.006	99

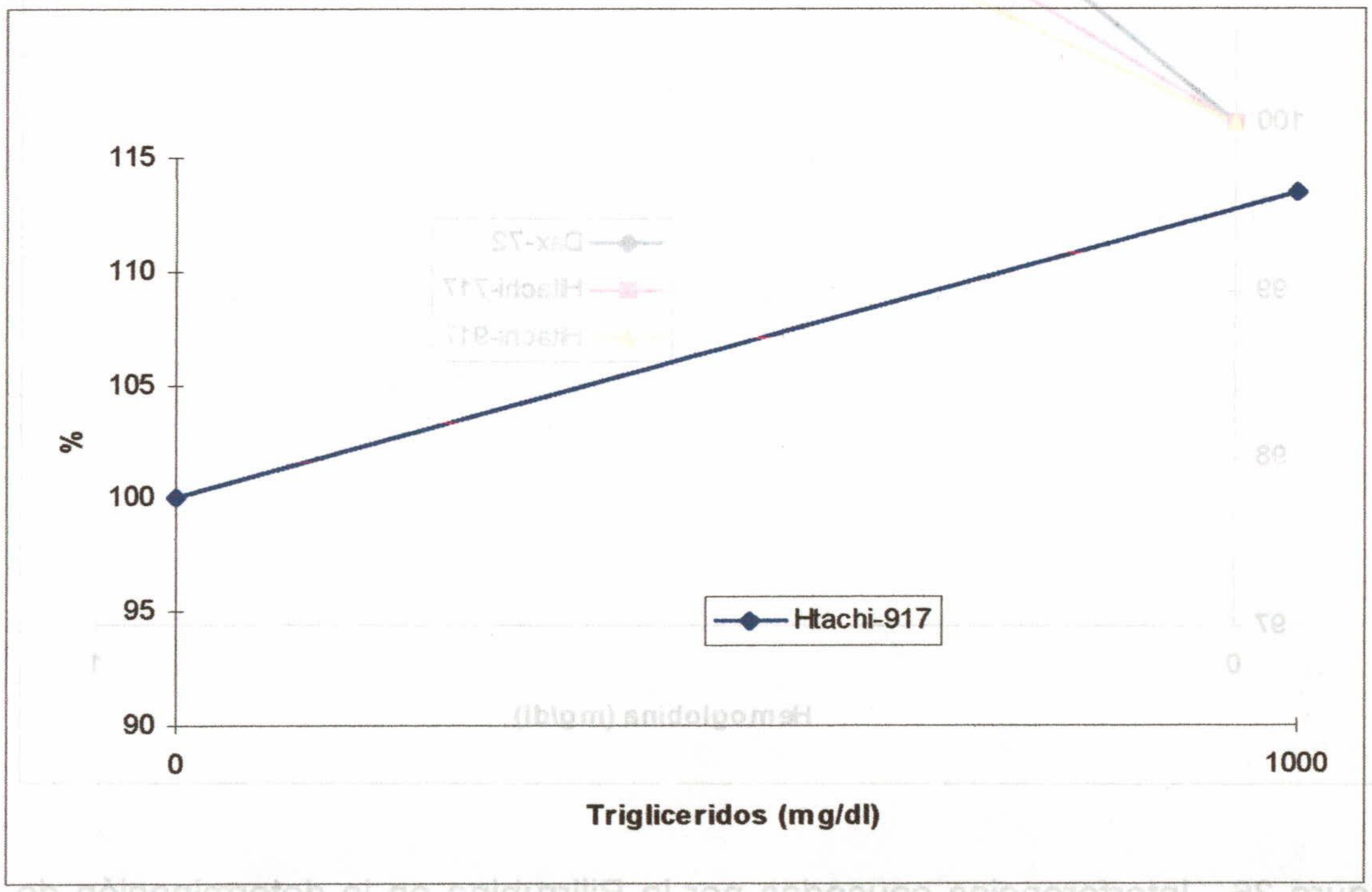


Figura 35.- Interferencias causadas por la Turbidez en la determinación de **Albúmina** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Hitachi-917 (113.5).

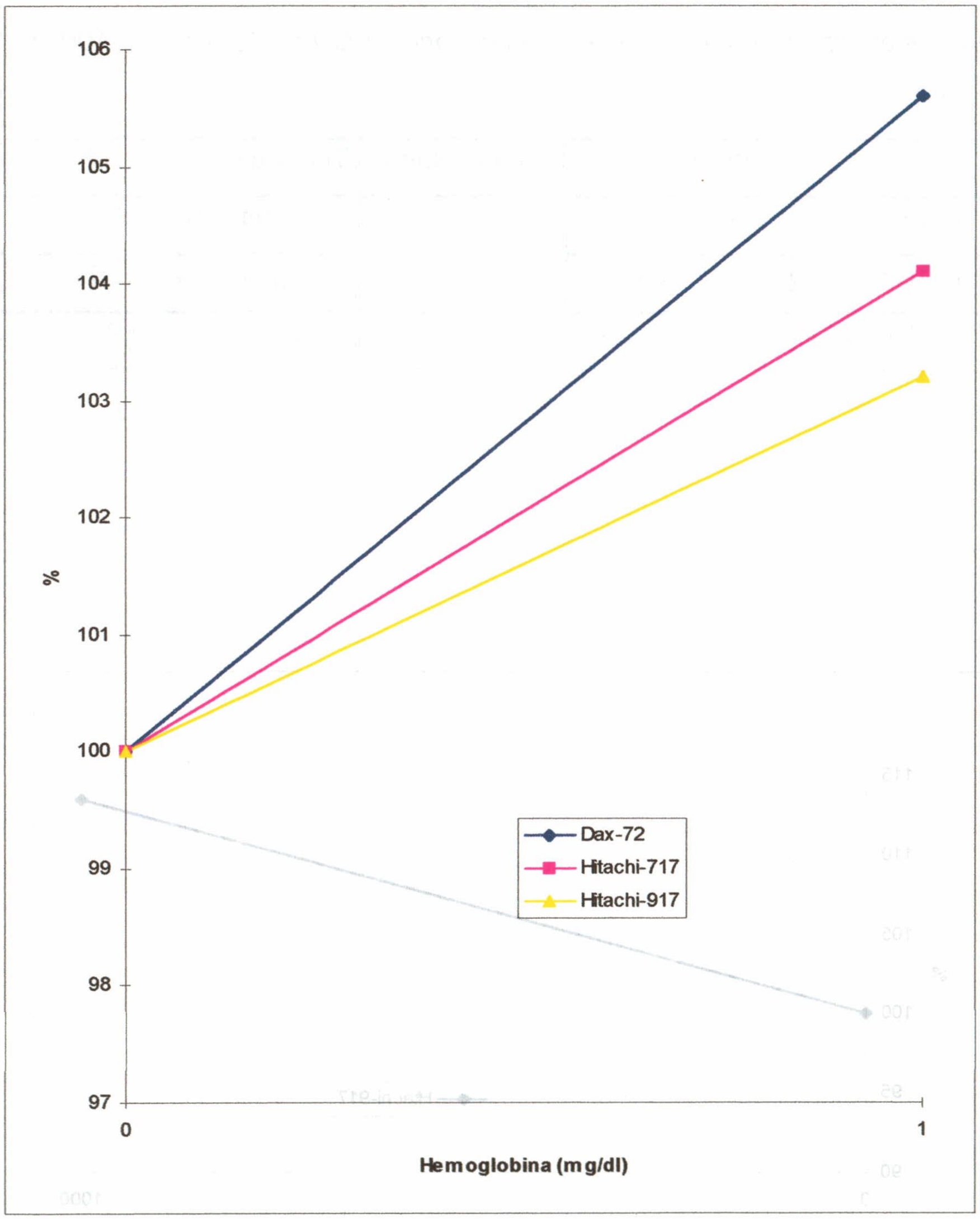


Figura 36.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Albúmina** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Hitachi-917 (113.5).

TABLA XXX.- Interferencias en la determinación de **HIERRO (III+II)** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª
ERIS-6170	no significativa	no significativa	no significativa	113
AU-510	no significativa	no significativa	no significativa	113
HITACHI-717	no significativa	12.4	no significativa	100
HITACHI-917	0.351	3.98	no significativa	100

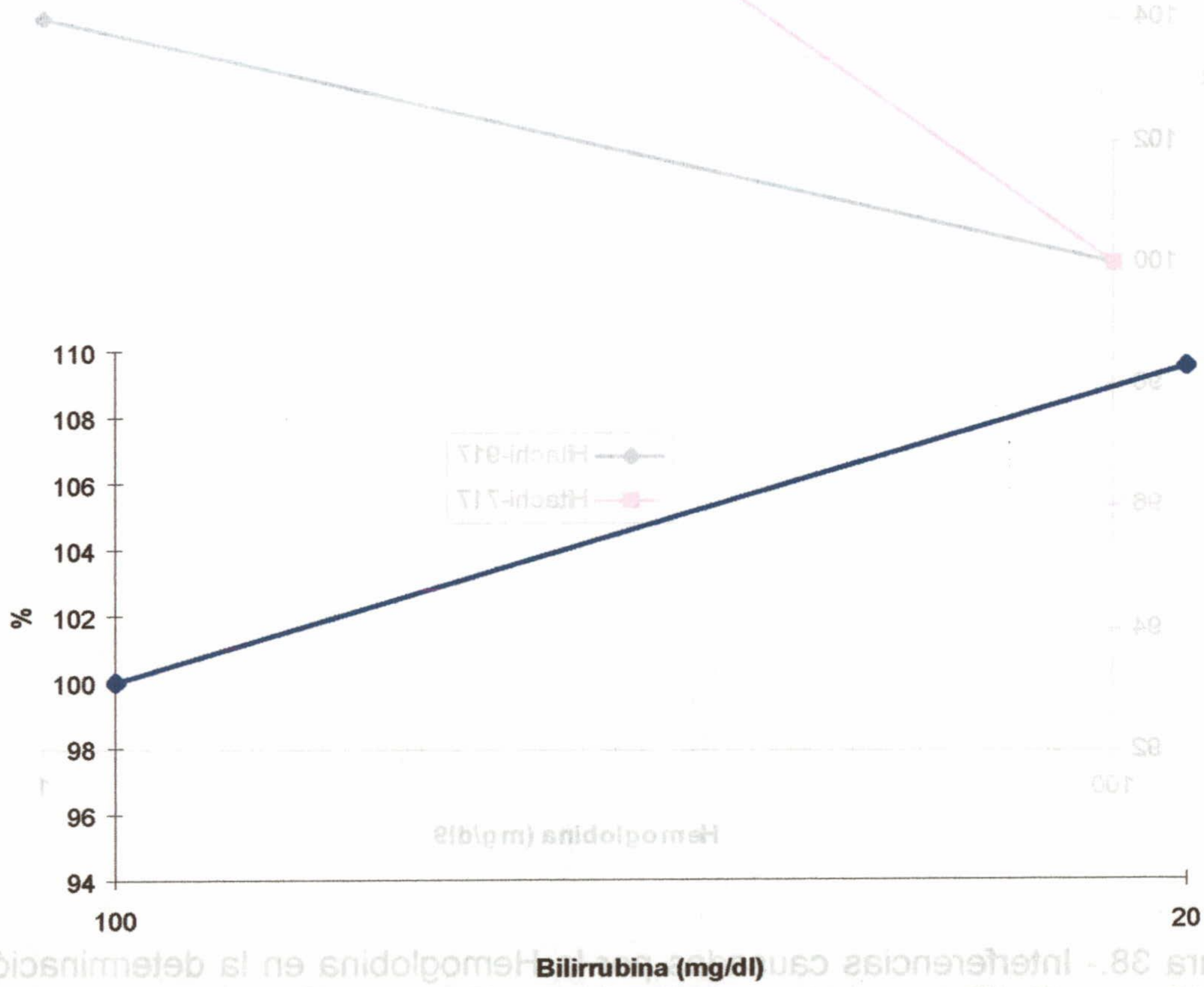


Figura 37.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Hierro (II+III)** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Hitachi-917 (109.5).

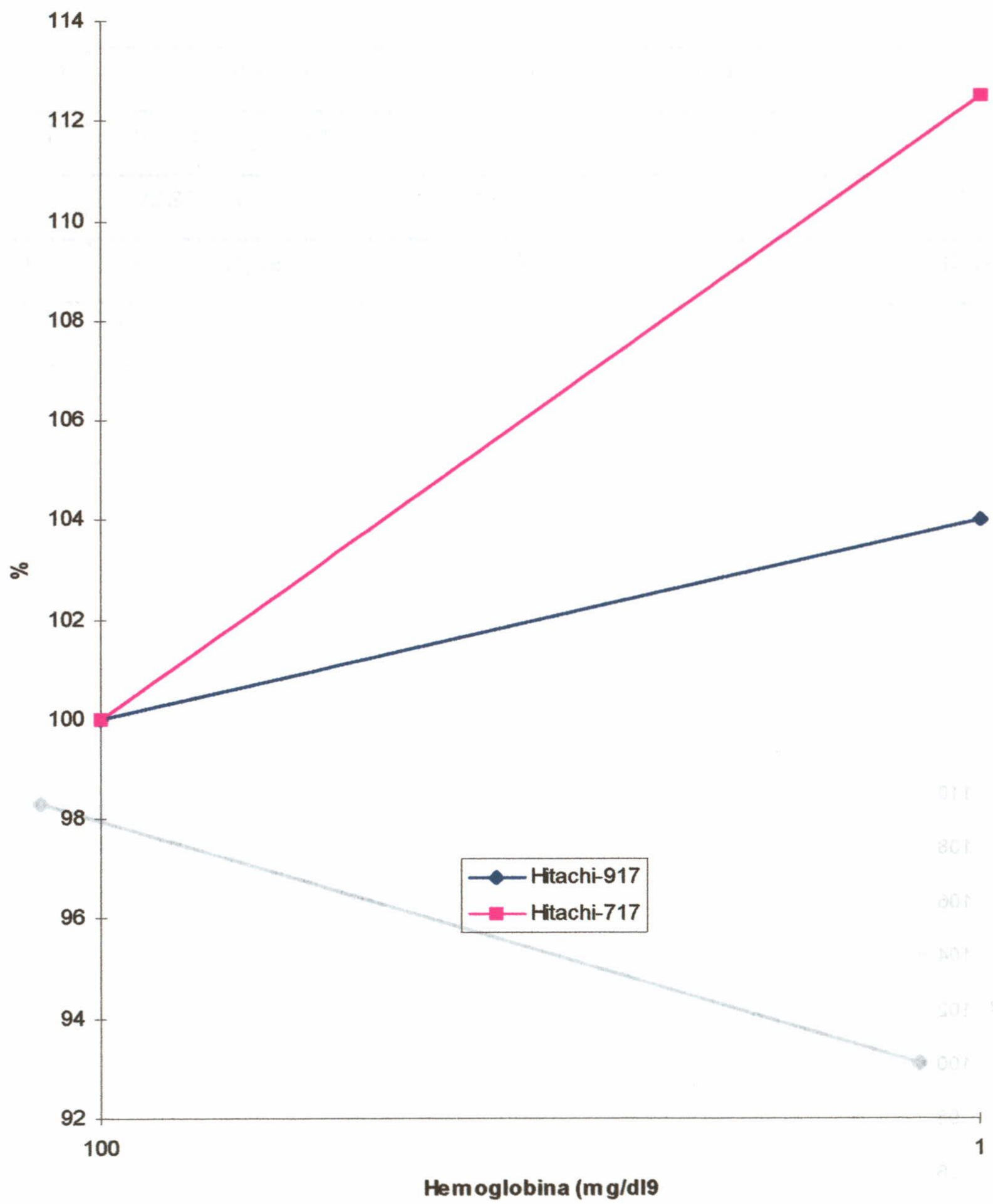


Figura 38.- Interferencias causadas por la Hemoglobina en la determinación de **Hierro (II+III)** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Hitachi-917 (103.5), Hitachi-717 (112.5)

TABLA XXXI.- Interferencias en la determinación de **AMILASA** en varios analizadores. Pendiente de la ecuación (C_i / C_o) * 100 = 100 + p * I.

	Bilirrubina	Hemoglobina	Turbidez	Rfª método
CX-7	no significativa	52.5	no significativa	121
HITACHI-717	- 0.119	no significativa	no significativa	101
HITACHI-911	- 0.177	- 6.4	no significativa	101
HITACHI-917	- 0.119	- 4.68	no significativa	101

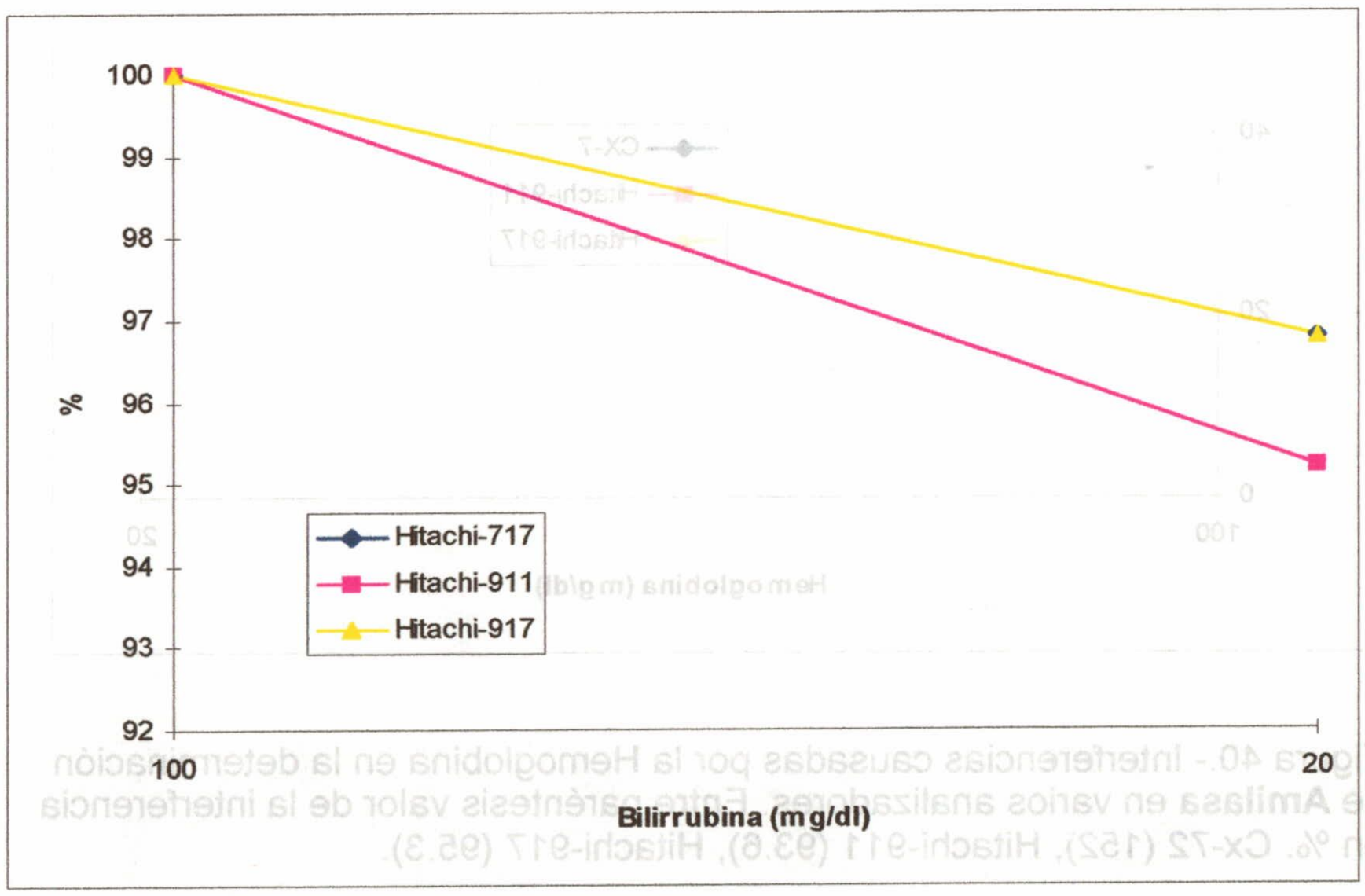


Figura 39.- Interferencias causadas por la Bilirrubina en la determinación de **Amilasa** en varios analizadores.

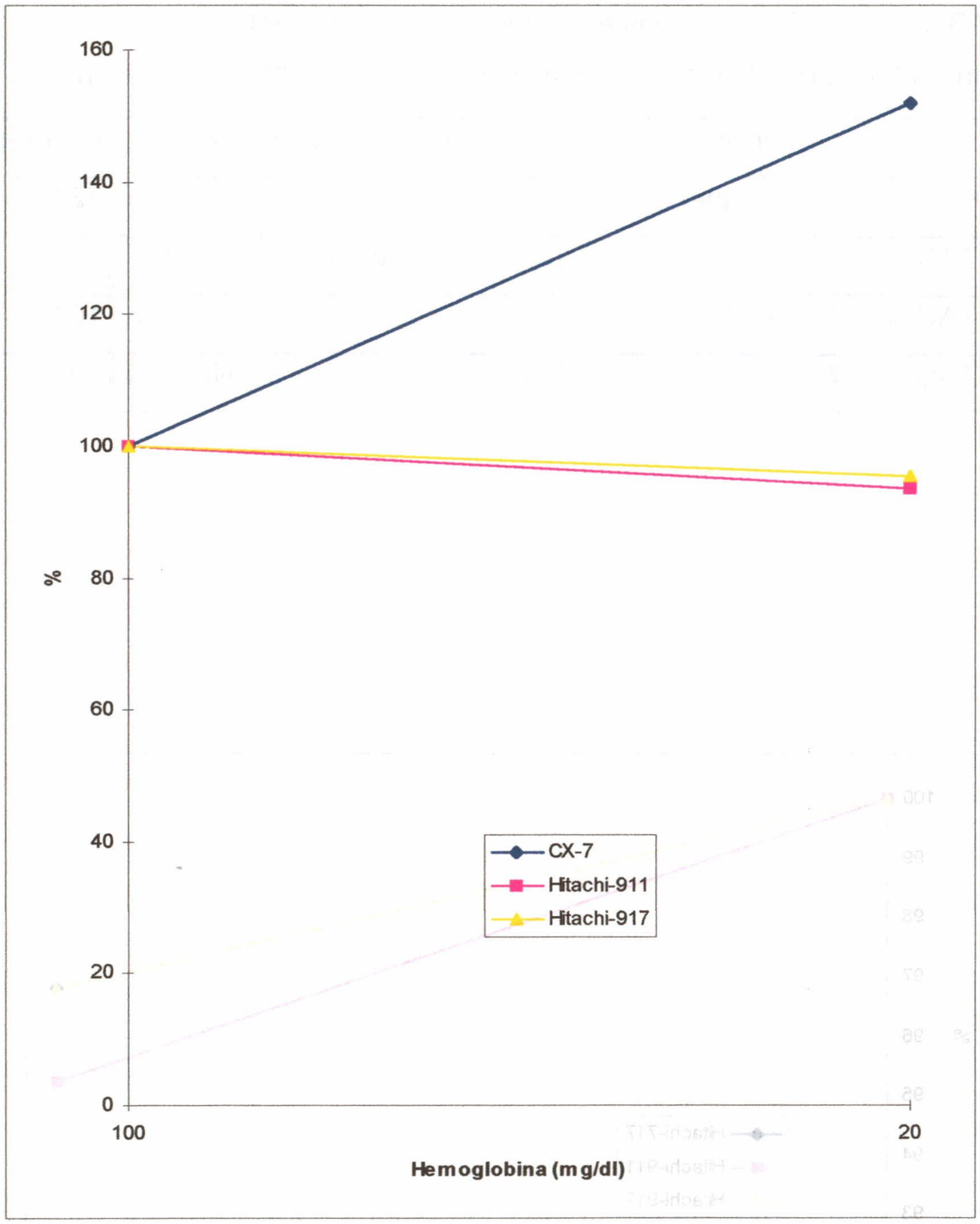


Figura 40.- Interferencias causadas por la Hemoglobina en la determinación de **Amilasa** en varios analizadores. Entre paréntesis valor de la interferencia en %. Cx-72 (152), Hitachi-911 (93.6), Hitachi-917 (95.3).

RESULTADOS

CUANTIFICACION DE INTERFERENCIAS POR FARMACOS

4.3.1.- **Detección y cuantificación de interferencias por fármacos**

Utilizando el protocolo establecido en el apartado 3 (3.1.1; 3.1.2) (Materiales y Métodos, página 49), se ha procedido a la detección de la existencia de interferencias por los fármacos evaluados en este estudio para el analizador Hitachi. Estos resultados se indican en la Tabla XXXII, la cual es una tabla de doble entrada en la que, para cada constituyente y para cada fármaco se indica, si es que existe, el signo de la interferencia, bien positiva o negativa.

Utilizando los protocolos 3.2 (página 53), se ha cuantificado la interferencia producida por todos y cada uno de los fármacos en estudio para cada constituyente. Las concentraciones estudiadas se reflejan en el apartado 3.3.4 (página 64).

Los resultados obtenidos se expresan en tablas desde el número XXXIII hasta el número XLIV. En cada una de ellas se indican los siguientes datos: Diferencia, d (para interpretación ver apartado 3.1.2, página 52), el tipo de interferencia (positiva, negativa o no significativa), n y m respectivamente ordenada en el origen y pendiente de la ecuación: Cl= m * I + n (para interpretación ver apartado 3.2.1, página 56). C on el objeto de poder efectuar la representación gráfica en términos relativos, se representa la pendiente por la ecuación:

(Ci/Co) * 100 = 100 + po * I

(Para interpretación ver apartado 3.2.2, página 58).

A continuación de cada tabla se efectúa una representación gráfica (para cada uno de los fármacos estudiados) de la interferencia producida en la determinación de cada constituyente (analito) en % (Figuras desde la nº 41, hasta la número 53). En el pie de cada tabla se indica entre paréntesis el valor de la interferencia en % para la concentración máxima de interferente (fármaco).

En la tabla XLV se muestran las imprecisiones intraseriales, expresadas como desviaciones estándar de los constituyentes bioquímicos analizados en el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim) y que han servido de referencia para calcular la existencia de interferencias analíticamente significativas (ver apartado 3.2; página 52).

TABLA XXXII.-

	Glucosa	Urea	Creatinina	Urato	AST	ALT	GGT	ALP	Triglicéridos
Acetilsalicílico	positiva	____	_____	_____	_____	___	____	_____	_____
Ascorbico	_____	____	_____	negativa	negativa	___	____	_____	negativa
Ciclosporina	positiva	negativa	_____	_____	negativa	negativa	negativa	_____	_____
Acetilcisteína	_____	_____	_____	_____	negativa	negativa	_____	_____	_____
Metildopamina	negativa	_____	_____	negativa	positiva	positiva	_____	_____	negativa
Levodopamina	negativa	_____	_____	negativa	negativa	positiva	_____	_____	negativa
Fenilbutazona	_____	_____	_____	negativa	_____	negativa	_____	_____	negativa
Doxicilina	_____	_____	_____	_____	negativa	_____	_____	_____	_____
Dobexilato cálcico	positiva	_____	_____	negativa	negativa	negativa	_____	_____	negativa
Rifampicina	_____	_____	_____	negativa	negativa	_____	_____	_____	negativa
Ampicilina	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Cefoxitina	negativa	_____	negativa	_____	_____	positiva	_____	_____	_____
Metronidazol	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____

	Colesterol	CK	LD	Calcio	Hierro	Amilasa	Fosfato	Proteínas	Albúmina
Acetilsalicílico	_____	negativa	_____	_____	_____	negativa	negativa	_____	_____
Ascorbico	_____	negativa	negativa	_____	_____	_____	_____	_____	negativa
Ciclosporina	_____	positiva	negativa	_____	positiva	negativa	_____	negativa	_____
Acetilcisteína	_____	negativa	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Metildopamina	negativa	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Levodopamina	negativa	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Fenilbutazona	negativa	negativa	_____	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Doxicilina	_____	negativa	negativa	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Dobexilato cálcico	negativa	negativa	negativa	_____	_____	negativa	_____	negativa	_____
Rifampicina	_____	negativa	_____	_____	positiva	_____	negativa	_____	_____
Ampicilina	_____	_____	positiva	_____	_____	_____	_____	_____	_____
Cefoxitina	_____	positiva	positiva	_____	negativa	_____	_____	_____	positiva
Metronidazol	_____	_____	positiva	_____	_____	_____	positiva	_____	_____

Tabla XXXIII.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **ACETILSALICILICO** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 300 mg/l.

Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	n	m	bo
Glucosa	5.36	positiva	62.3	0.104	0.23
Urea	0	no significativa			
Creatinina	- 0.01	no significativa			
AST	- 1.82	no significativa			
ALT	0.5	no significativa			
Triglicéridos	- 2.14	no significativa			
Colesterol	0.70	no significativa			
CK	- 41.7	negativa	114.3	- 0.023	- 0.021
LD	- 4	no significativa			
Calcio (II)	0.16	no significativa			
Hierro (II+III)	0.42	no significativa			
Amilasa	- 28.9	negativa	189.5	- 0.018	- 0.007
Fosfato	0.4	positiva	5.14	- 0.004	- 0.082
Proteínas	- 0.09	no significativa			
Albúmina	- 28.9	no significativa			
ALP	7.5	no significativa			
Urato	- 0.03	no significativa			
GGT	0	no significativa			
Bilirrubina	- .002	no significativa			

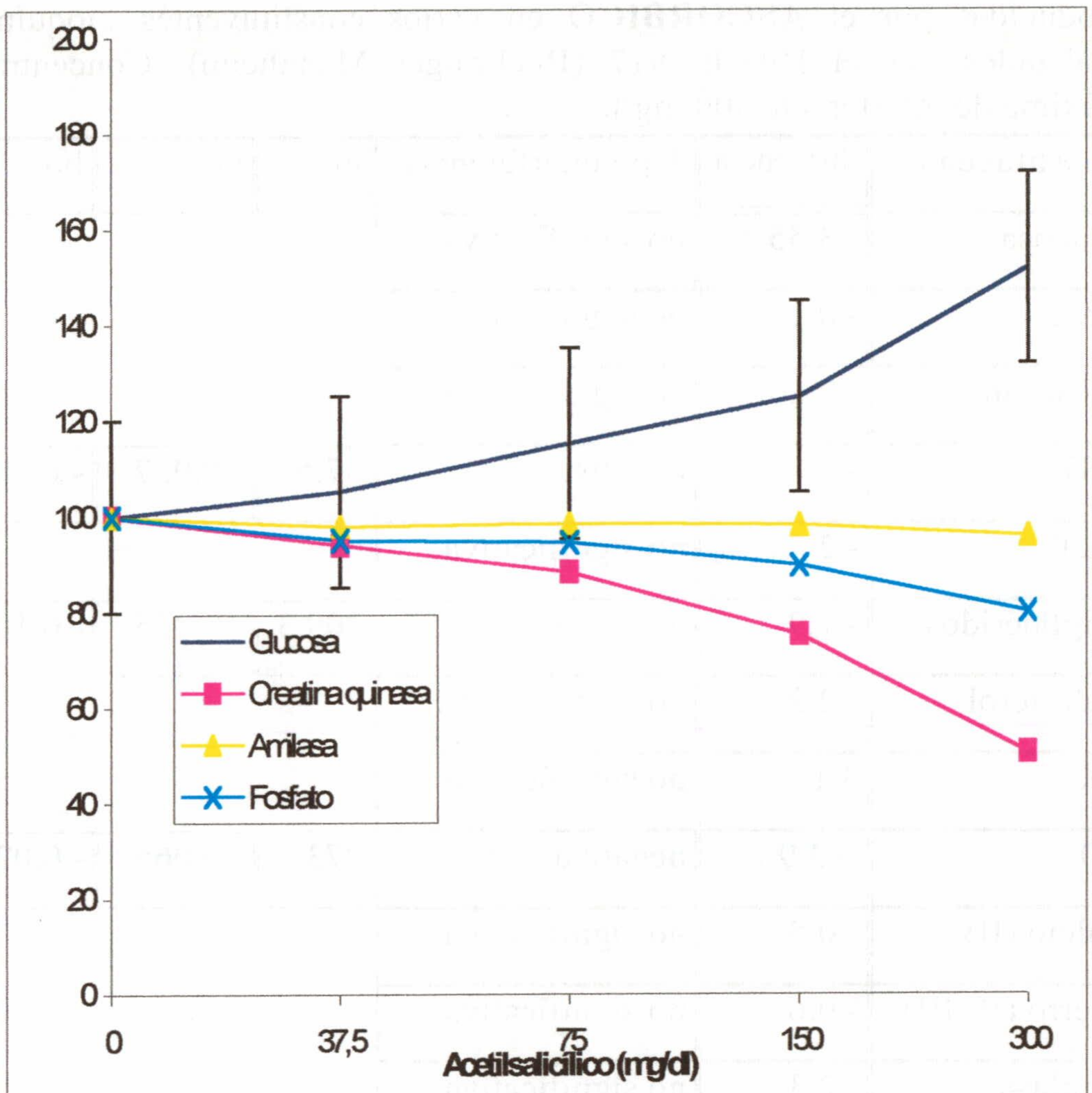


Figura 40.- Interferencias significativas producidas por el Acetílsalicílico en el Analizador Hitachi-917

Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Glucosa (152); Creatina quinasa (50.6), Amilasa (96), Fosfato (80.1).

Tabla XXXIV.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **ASCORBICO** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 300 mg/l.

Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	m	m	bo
Glucosa	- 3.55	no significativa			
Urea	- 0.1	no significativa			
Creatinina	- 0.20	no significativa			
AST	- 3	negativa	37.5	- 0.027	- 0.073
ALT	- 2	no significativa			
Triglicéridos	- 1.9	negativa	209.3	- 0.225	- 0.108
Colesterol	- 2.2	no significativa			
CK	3.1	no significativa			
LD	- 3.9	negativa	273	- 0.065	- 0.024
Calcio (II)	- 0.5	no significativa			
Hierro (II+III)	- 0.6	no significativa			
Amilasa	- 2.34	no significativa			
Fosfato	- 0.03	no significativa			
Proteínas	- 0.10	no significativa			
Albúmina	- 0.16	negativa	4.97	- 0.0004	- 0.009
ALP	-2	no significativa			
Urato	- 0.18	negativa	5.47	-2 E-5	0.0004
GGT	- 1.3	no significativa			
Bilirrubina	0	no significativa			

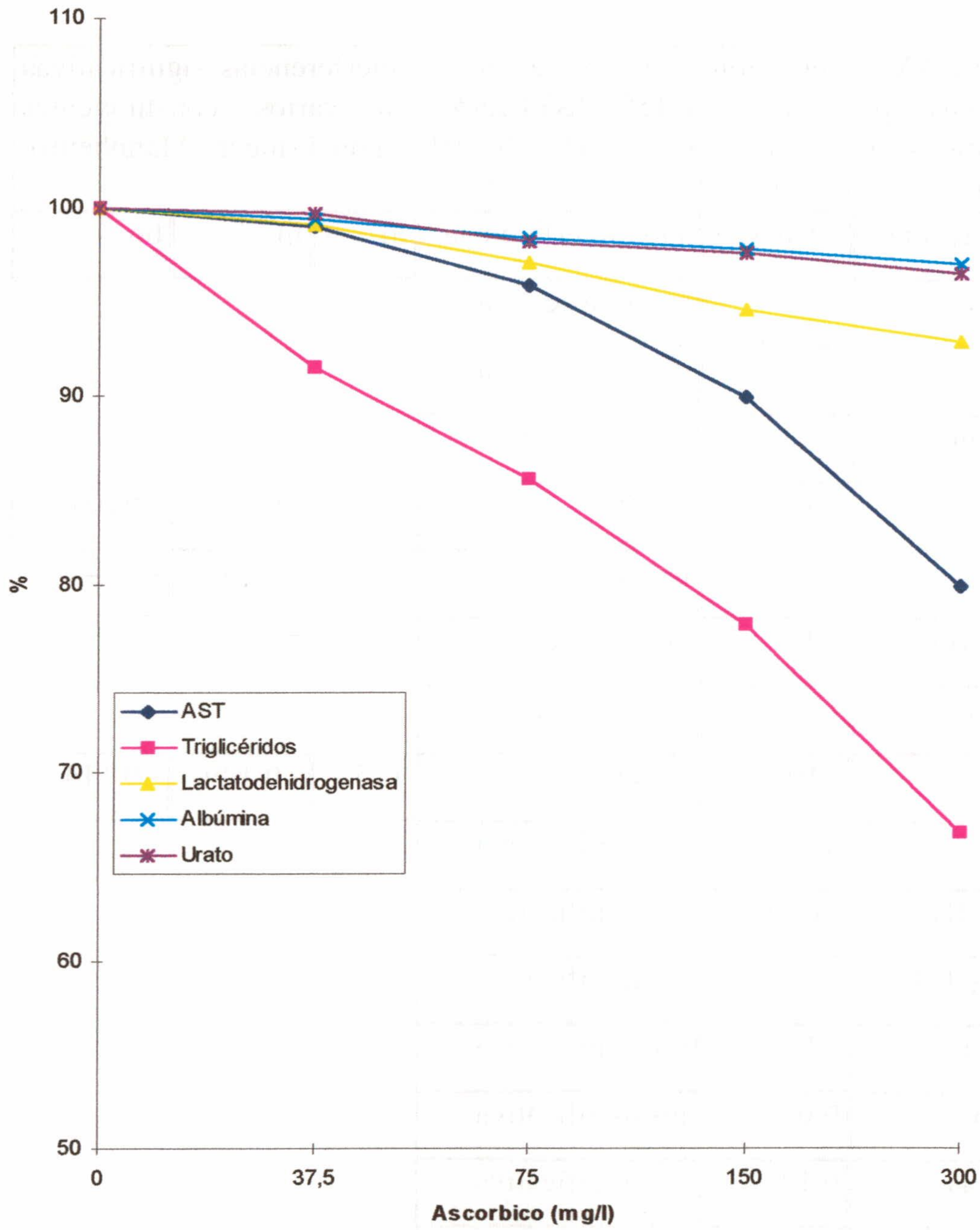
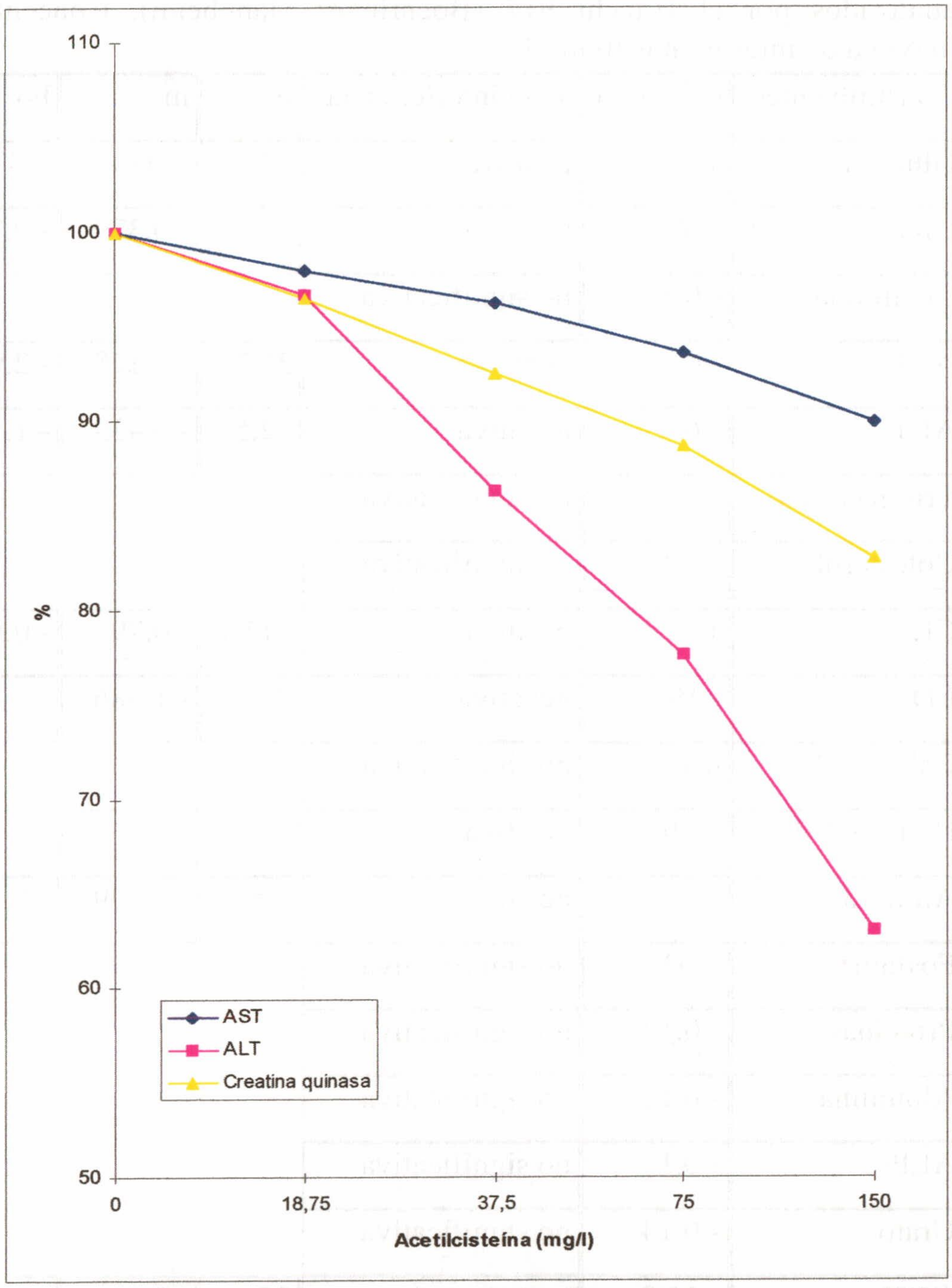


Figura 41.- Interferencias significativas producidas por Ascórbico en el analizador Hitachi-917.

Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Aspartato aminotransferasa (79.8), Triglicéridos (66.8), Lactato dehidrogenasa (92.8), Albúmina (96,9), Urato (96.4).

Tabla XXXV.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **ACETILCISTEINA** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 150 mg/l.

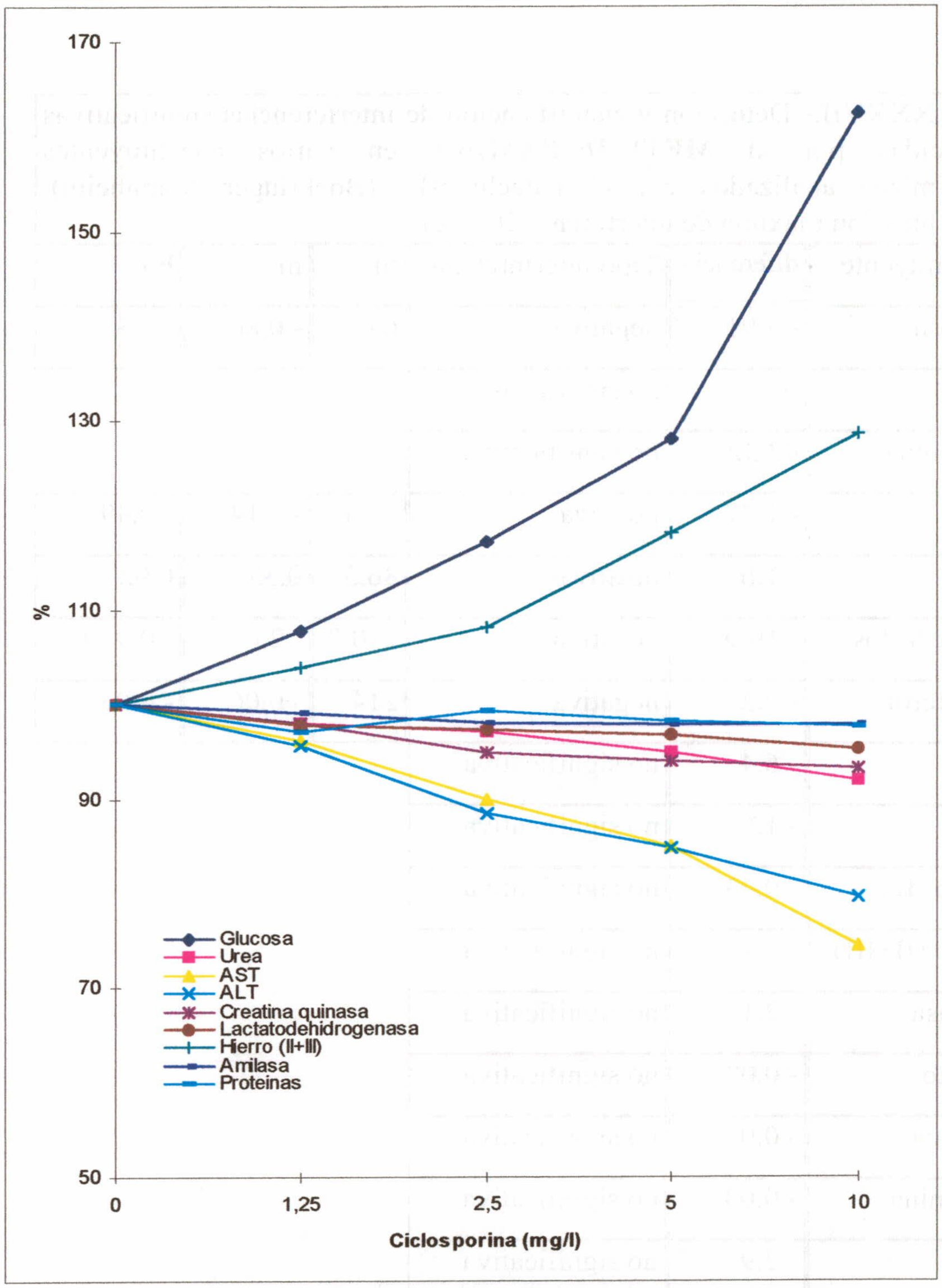
Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	m	m	bo
Glucosa	-1	no significativa			
Urea	-0.2	no significativa			
Creatinina	0.23	no significativa			
AST	- 3.7	negativa	37.7	- 0.032	- 0.084
ALT	- 8.6	negativa	23.14	- 0.055	- 0.24
Triglicéridos	- 2	no significativa			
Colesterol	- 2.4	no significativa			
CK	- 19.7	negativa	113.4	- 0.129	- 0.114
LD	4	no significativa			
Calcio (II)	- 0.08	no significativa			
Hierro (II+III)	- 0.7	no significativa			
Amilasa	- 1.8	no significativa			
Fosfato	0.05	no significativa			
Proteínas	0.12	no significativa			
Albúmina	0.03	no significativa			
ALP	3.5	no significativa			
Urato	- 0.05	no significativa			
GGT	3.19	no significativa			
Bilirrubina	0	no significativa			



Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente.; Aspartato aminotransferasa (89.9), Alanina aminotransferasa (82.7), Creatina quinasa (50.6).

Tabla XXXVI.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **CICLOSPORINA** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 10 mg/l.

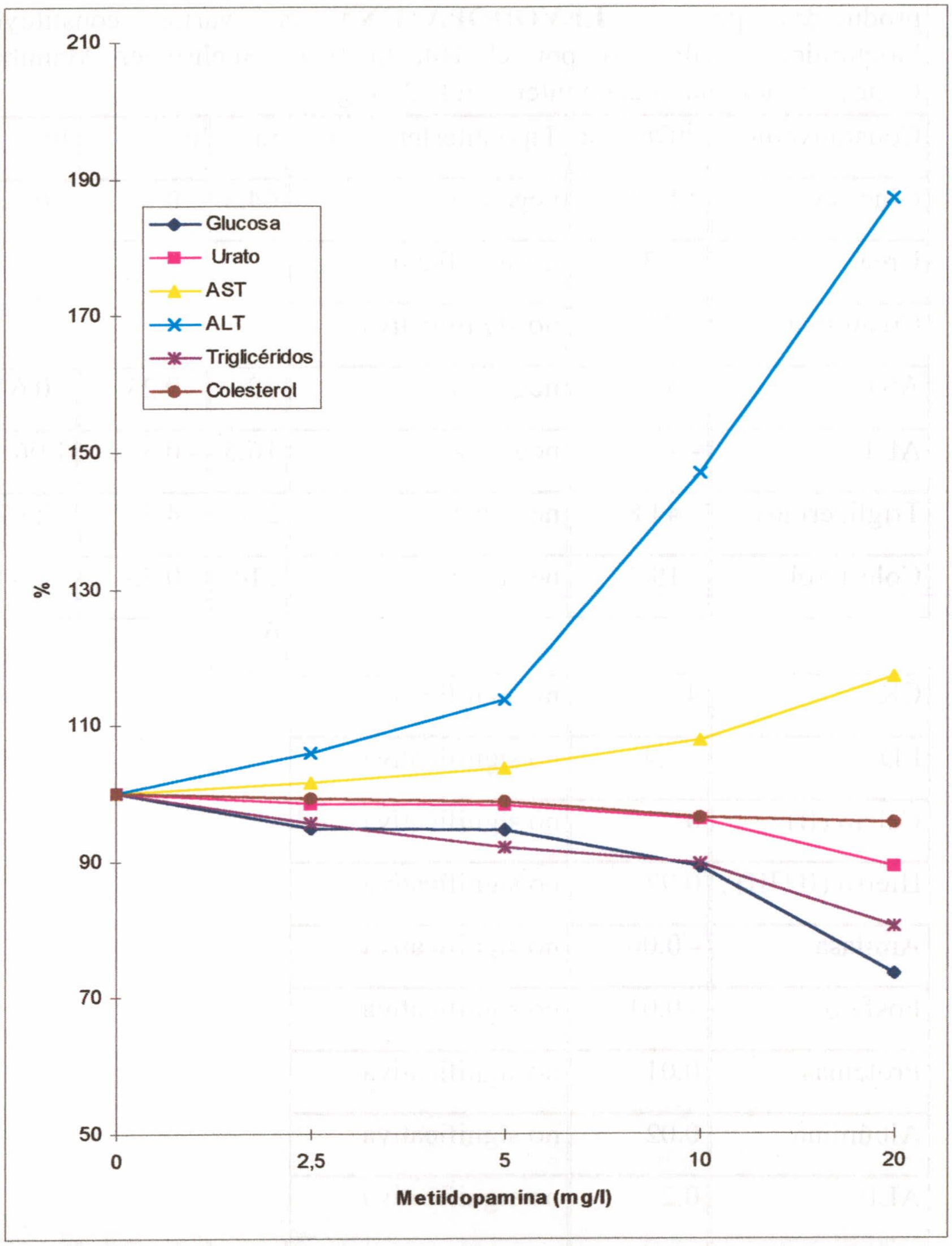
Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	m	m	bo
Glucosa	18	positiva	63	4.078	6.47
Urea	7.7	positiva	49.9	- 0.379	- 0.759
Creatinina	- 0.15	no significativa			
AST	- 0.27	negativa	38.3	- 1.128	- 2.94
ALT	- 6	negativa	22.5	- 0.439	- 1.95
Triglicéridos	- 0.51	no significativa			
Colesterol	- 7.1	no significativa			
CK	17.5	positiva	115.1	- 0.79	- 0.683
LD	- 19.8	negativa	270.2	- 1.086	- 0.40
Calcio (II)	0.1	no significativa			
Hierro (II+III)	16.9	positiva			
Amilasa	- 3	negativa	7.53	- 0.009	- 0.12
Fosfato	0.02	no significativa			
Proteínas	- 0.12	no significativa			
Albúmina	- 0.12	no significativa			
ALP	- 0.1	no significativa			
Urato	- 0.14	no significativa			
GGT	- 15.8	negativa	25	- 0.60	- 2.4
Bilirrubina	0.1	no significativa			



Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Glucosa (162), Urea (92), Aspartato aminotransferasa (74.4), Alanina aminotransferasa (79.7), Creatina quinasa (121), Lactato dehidrogenasa (95.2), Hierro (128.5), Amilasa (97.8), Proteínas (97.7).

Tabla XXXVII.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **METILDOPAMINA** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 20 mg/l.

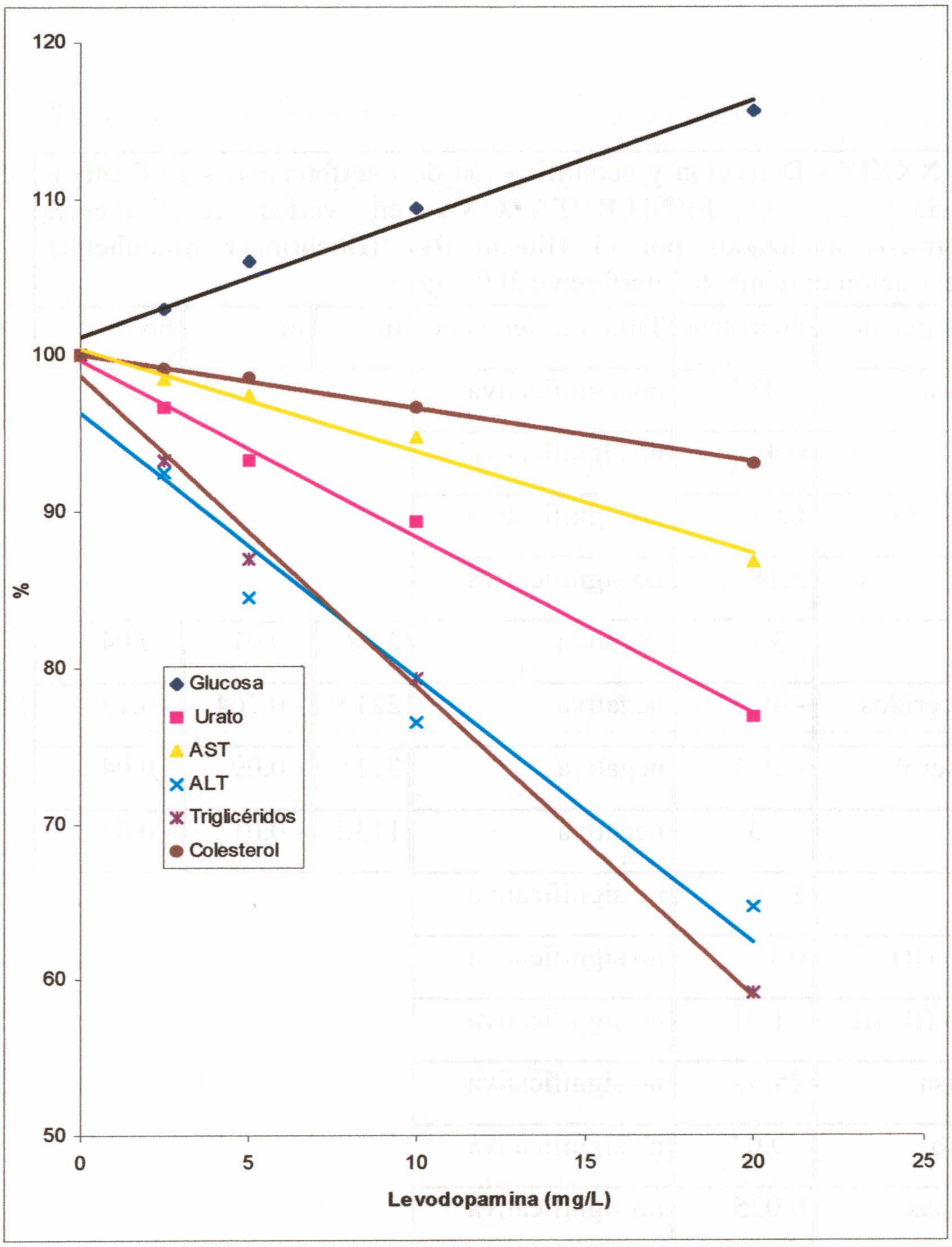
Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	m	m	bo
Glucosa	- 7.91	negativa	64.6	- 0.86	- 1.33
Urea	0	no significativa			
Creatinina	0.032	no significativa			
AST	- 1.27	positiva	27.4	- 0.14	- 0.49
ALT	- 1.6	positiva	36.3	0.33	0.92
Triglicéridos	- 19.9	negativa	210.7	- 2.02	- 0.959
Colesterol	- 9.2	negativa	214	- 0.06	- 0.027
CK	- 6.4	no significativa			
LD	- 12	no significativa			
Calcio (II)	- 0.03	no significativa			
Hierro (II+III)	- 1.76	no significativa			
Amilasa	- 2.1	no significativa			
Fosfato	- 0.02	no significativa			
Proteínas	- 0.05	no significativa			
Albúmina	- 0.04	no significativa			
ALP	- 2.9	no significativa			
Urato	- 1.04	negativa	553.1	- 3.06	- 0.553
GGT	0.3	no significativa			
Bilirrubina	0	no significativa			



Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Glucosa (73.4), Urato (89.2), Aspartato aminotransferasa (117), Alanina aminotransferasa (187), Triglicérido (80.3), Colesterol (95.6).

Tabla XXXVIII.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **LEVODOPAMINA** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 20 mg/l.

Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	m	m	bo
Glucosa	- 14.2	negativa	64.5	- 0.5	- 0.77
Urea	- 0.3	no significativa			
Creatinina	0.21	no significativa			
AST	- 5	negativa	38	- 0.23	- 0.62
ALT	- 7	negativa	16.5	- 0.32	1.96
Triglicéridos	- 44.8	negativa	208	- 4.3	- 2.07
Colesterol	- 19.3	negativa	214.6	- 0.73	- 0.34
CK	4	no significativa			
LD	- 4.4	no significativa			
Calcio (II)	0	no significativa			
Hierro (II+III)	0.97	no significativa			
Amilasa	- 0.06	no significativa			
Fosfato	- 0.01	no significativa			
Proteínas	0.01	no significativa			
Albúmina	0.02	no significativa			
ALP	0.2	no significativa			
Urato	- 1.83	negativa	543	- 6.39	- 1.18
GGT	- 0.48	no significativa			
Bilirrubina	0.02	no significativa			



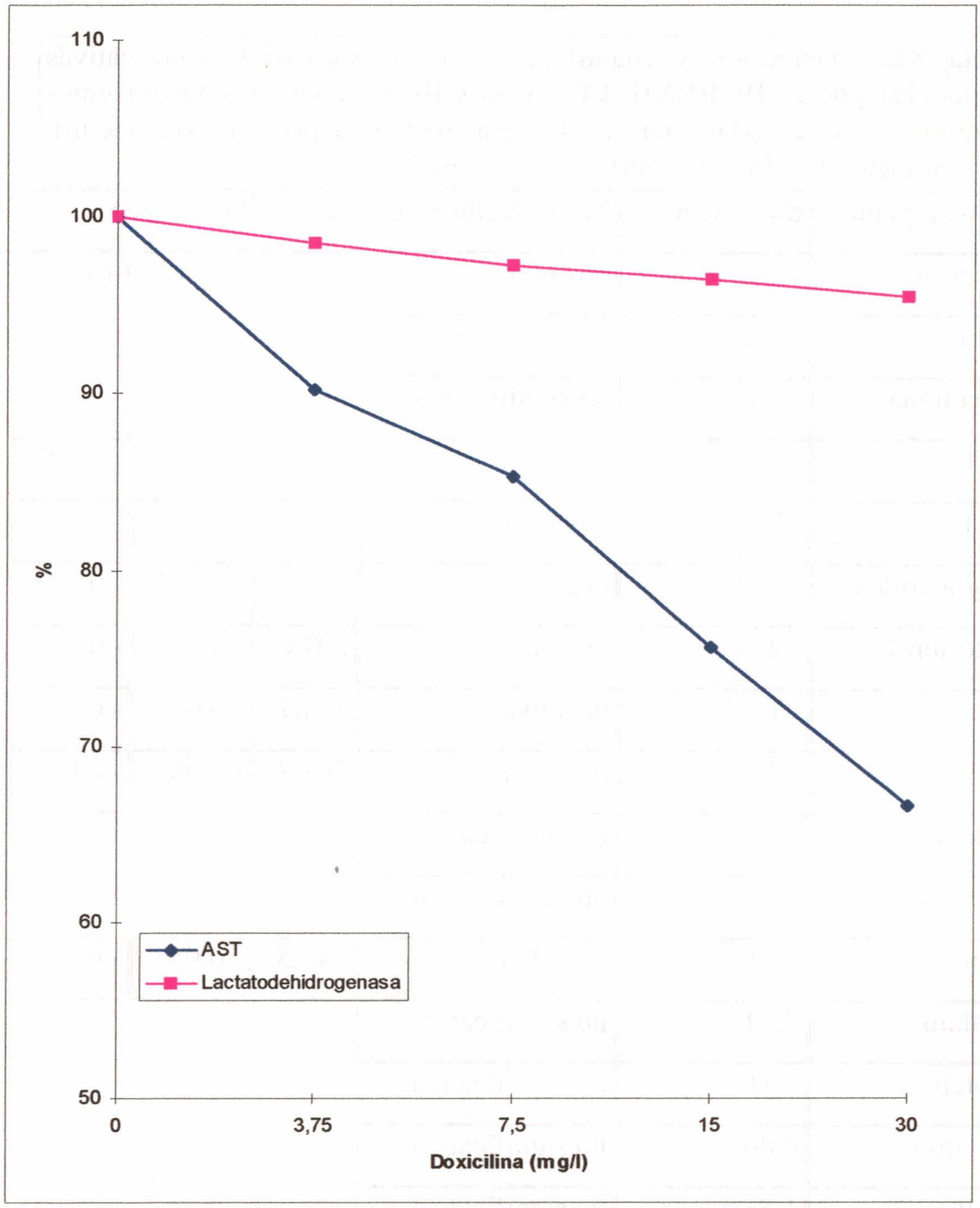
Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Glucosa (86.5), Urato (77), Aspartato aminotransferasa (87), Alanina aminotransferasa (64.7), Triglicérido (59.1), Colesterol (93.5).

Tabla XXXIX.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **FENILBUTAZONA** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 300 mg/l.

Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	m	m	bo
Glucosa	1.02	no significativa			
Urea	0.4	no significativa			
Creatinina	0.01	no significativa			
AST	2.18	no significativa			
ALT	- 3.1	negativa	22.7	- 0.01	- 0.04
Triglicéridos	- 49.7	negativa	221.9	- 0.264	- 0.12
Colesterol	- 20.1	negativa	211	- 0.09	- 0.04
CK	- 7.3	negativa	113.5	- 0.01	- 0.01
LD	8	no significativa			
Calcio (II)	0.1	no significativa			
Hierro (II+III)	- 1.01	no significativa			
Amilasa	25.6	no significativa			
Fosfato	- 0.04	no significativa			
Proteínas	0.025	no significativa			
Albúmina	0.03	no significativa			
ALP	- 1.5	no significativa			
Urato	- 0.20	negativa	534	- 0.05	- 0.01
GGT	0.1	no significativa			
Bilirrubina	0	no significativa			

Tabla XL.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **DOXICILINA** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 30 mg/l.

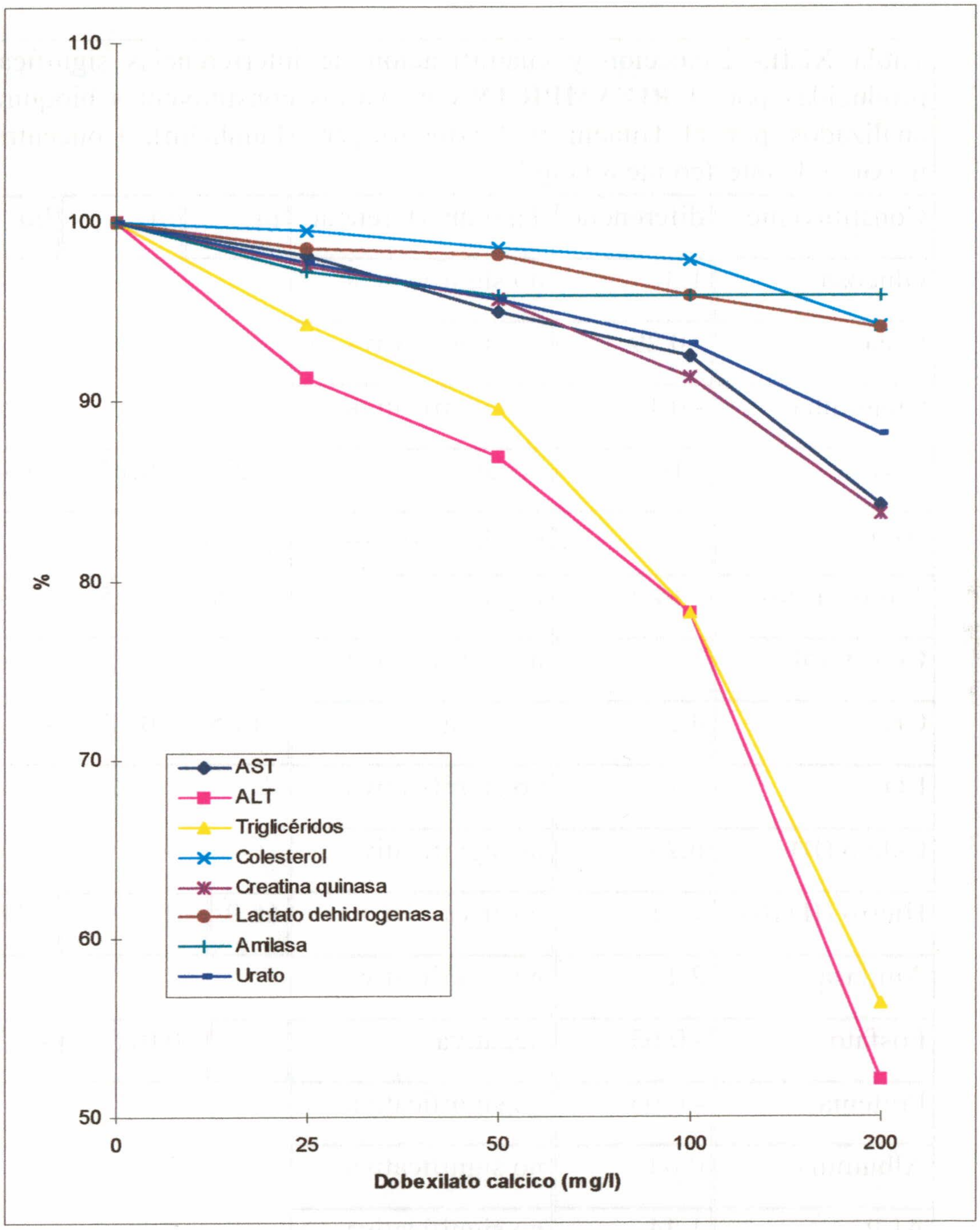
Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	m	m	bo
Glucosa	1.27	no significativa			
Urea	- 0.2	no significativa			
Creatinina	0.04	no significativa			
AST	- 0.03	no significativa			
ALT	- 0.45	no significativa			
Triglicéridos	- 0.64	no significativa			
Colesterol	- 0.70	no significativa			
CK	- 8	negativa	112	- 0.31	- 0.28
LD	- 12	negativa	264	- 0.37	- 0.14
Calcio (II)	0.11	no significativa			
Hierro (II+III)	0.21	no significativa			
Amilasa	1.5	no significativa			
Fosfato	0.06	no significativa			
Proteínas	0.02	no significativa			
Albúmina	- 0.53	no significativa			
ALP	- 0.1	no significativa			
Urato	- 0.1	no significativa			
GGT	0.59	no significativa			
Bilirrubina	0.1	no significativa			



Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Aspartato aminotransferasa (91.3), Lactato dehidrogenasa (95.5).

Tabla XLI.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **DOBEXILATO CALCICO** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 200 mg/l.

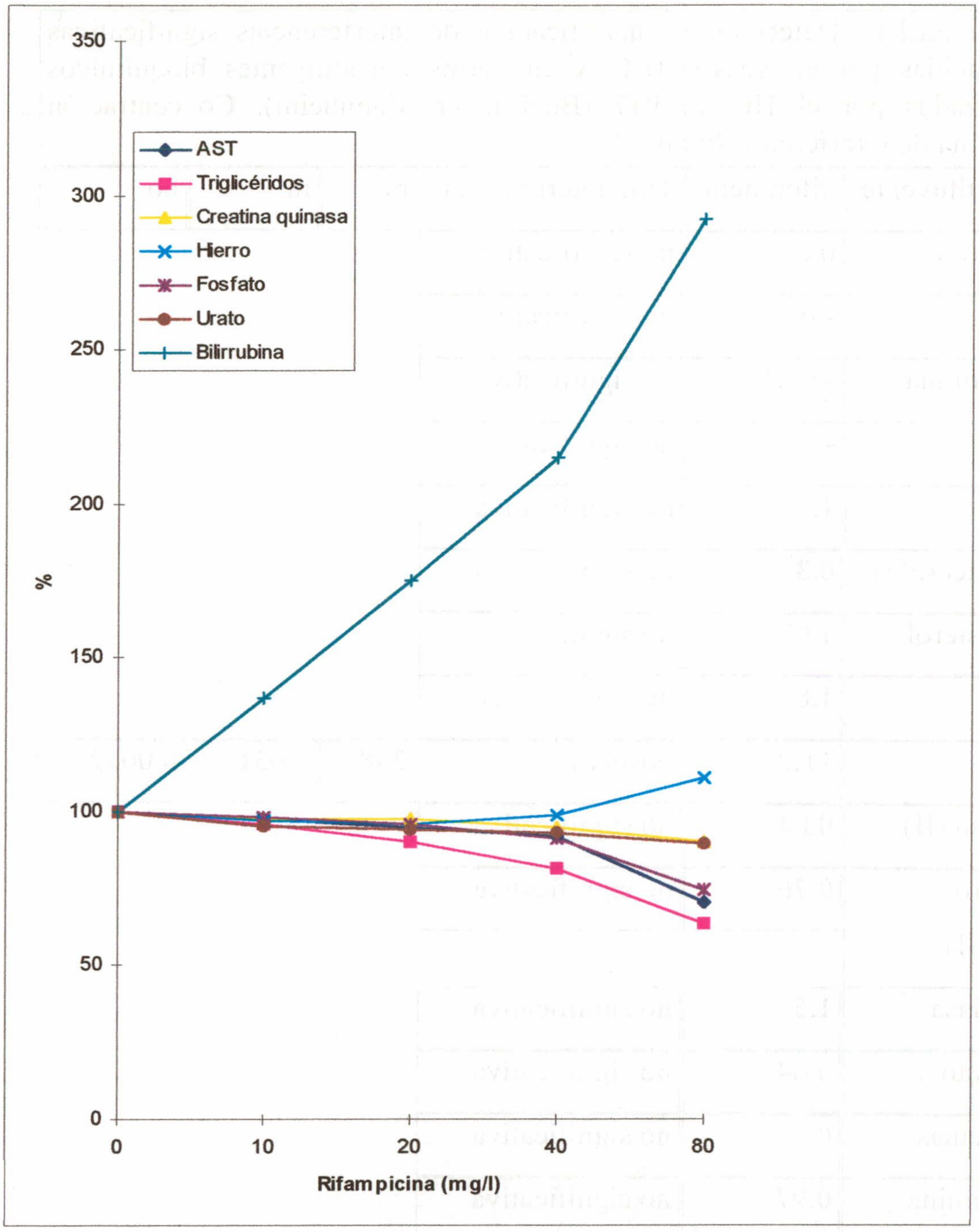
Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	ao	bo	po
Glucosa	17	positiva	61.75	0.091	0.147
Urea	- 0.65	no significativa			
Creatinina	- 0.1	no significativa			
AST	- 6	negativa	42.1	- 0.041	- 0.097
ALT	- 7.8	negativa	23.8	- 0.057	- 0.24
Triglicéridos	- 100	negativa	231	- 0.511	- 0.222
Colesterol	- 22.8	negativa	207.6	- 0.06	- 0.031
CK	- 12.7	negativa	114.7	- 0.09	- 0.08
LD	- 20.8	negativa	267.8	- 0.08	- 0.031
Calcio (II)	1.59	no significativa			
Hierro (II+III)	- 0.25	no significativa			
Amilasa	- 10	negativa	144.5	- 0.053	- 0.037
Fosfato	0.04	no significativa			
Proteínas	- 0.07	no significativa			
Albúmina	0.06	no significativa			
ALP	1.81	no significativa			
Urato	- 0.63	negativa	5.3	- 0.004	- 0.071
GGT	1.13	no significativa			
Bilirrubina	0.09	no significativa			



Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Aspartato aminotransferasa (84.2), Alanina aminotransferasa (52.1), Triglicérido (56.3), Colesterol (94.2), Creatinina quinasa (83.7), Lactato dehidrogenasa (94.1), Amilasa (95.9), Urato (88.2).

Tabla XLII.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **RIFAMPICINA** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 80 mg/l.

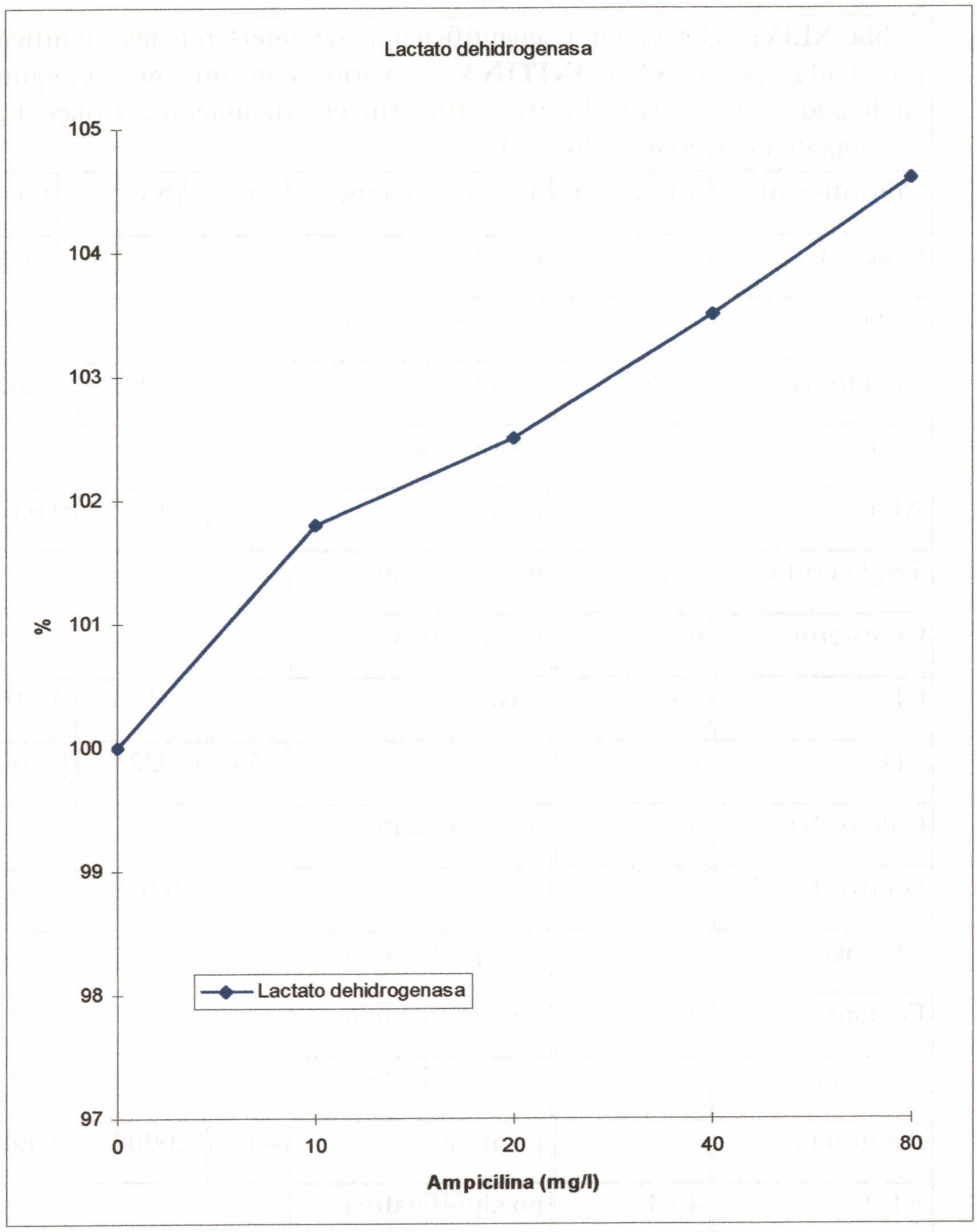
Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	m	m	bo
Glucosa	1.3	no significativa			
Urea	- 0.29	no significativa			
Creatinina	- 0.15	no significativa			
AST	- 10	negativa	40.9	- 0.175	- 0.43
ALT	0.80	no significativa			
Triglicéridos	- 14.7	negativa	228.9	- 1.05	- 0.46
Colesterol	3	no significativa			
CK	4.2	positiva	114.5	- 0.122	- 0.107
LD	- 0.2	no significativa			
Calcio (II)	0.23	no significativa			
Hierro (II+III)	18.1	positiva	68.9	0.125	0.181
Amilasa	2.1	no significativa			
Fosfato	- 0.63	negativa	4.8	- 0.016	- 0.339
Proteínas	- 0.05	no significativa			
Albúmina	0.04	no significativa			
ALP	1.34	no significativa			
Urato	- 2.02	negativa	5.36	- 0.0062	- 0.115
GGT	1.73	no significativa			
Bilirrubina	0.77	positiva	0.77	0.049	1.29



Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Aspartato aminotransferasa (70-3), Triglicéridos (63.6), Creatina quinasa (91.3), Hierro (111), Fosfato (74.5), Urato (88.2), Bilirrubina (292).

Tabla XLIII.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **AMPICILINA** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 400 mg/l.

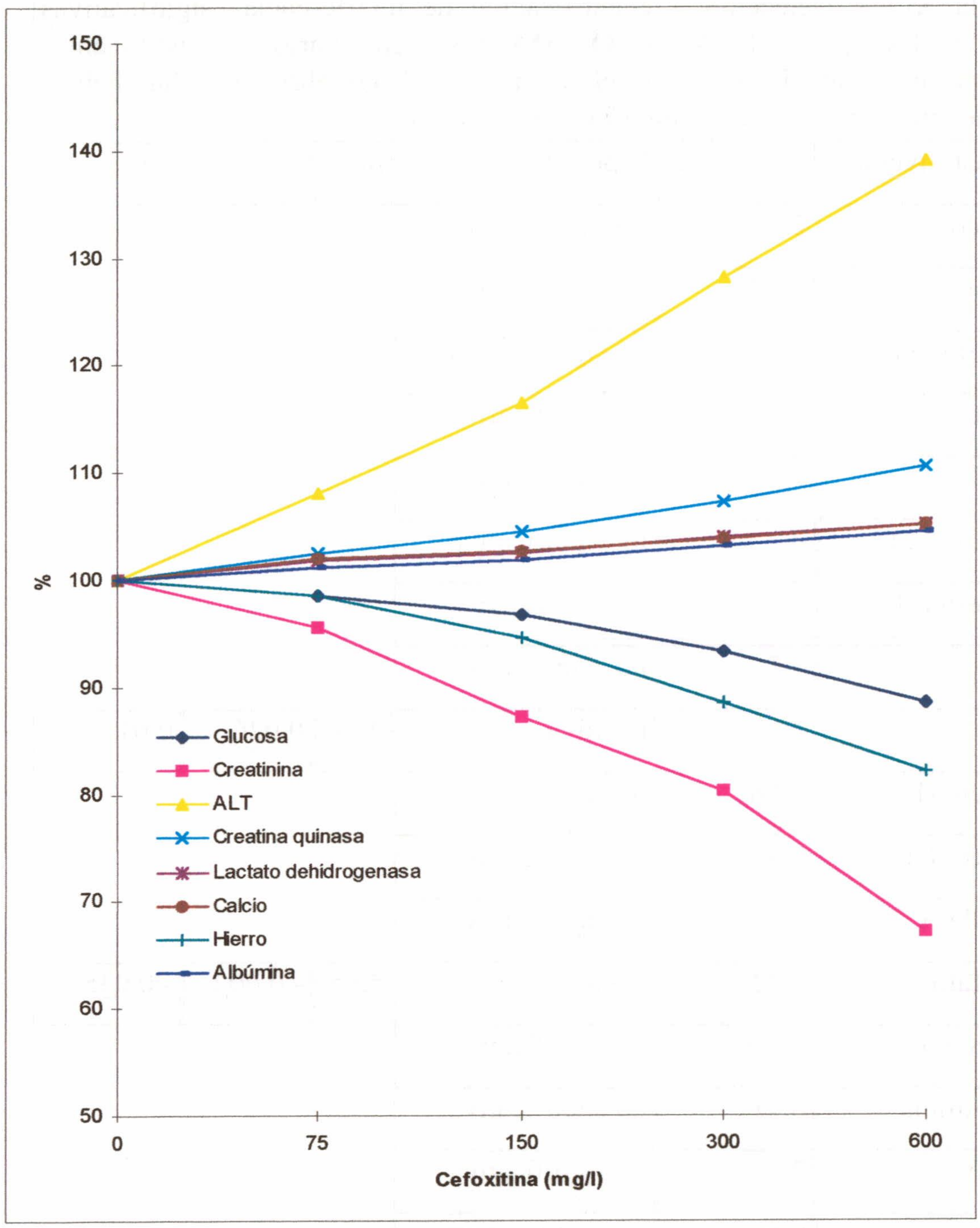
Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	m	m	bo
Glucosa	0.8	no significativa			
Urea	- 0.2	no significativa			
Creatinina	- 0.01	no significativa			
AST	- 0.18	no significativa			
ALT	1.9	no significativa			
Triglicéridos	0.3	no significativa			
Colesterol	1.07	no significativa			
CK	1.8	no significativa			
LD	11.8	positiva	248	0.031	0.0012
Calcio (II)	0.04	no significativa			
Hierro (II+III)	0.76	no significativa			
Amilasa	1.5	no significativa			
Fosfato	0.04	no significativa			
Proteínas	0	no significativa			
Albúmina	0.07	no significativa			
ALP	5.34	no significativa			
Urato	- 0.06	no significativa			
GGT	1.3	no significativa			
Bilirrubina	0.02	no significativa			



Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Lactato dehidrogenasa (104.6).

Tabla XLIV.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **CEFOXITINA** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 600 mg/l.

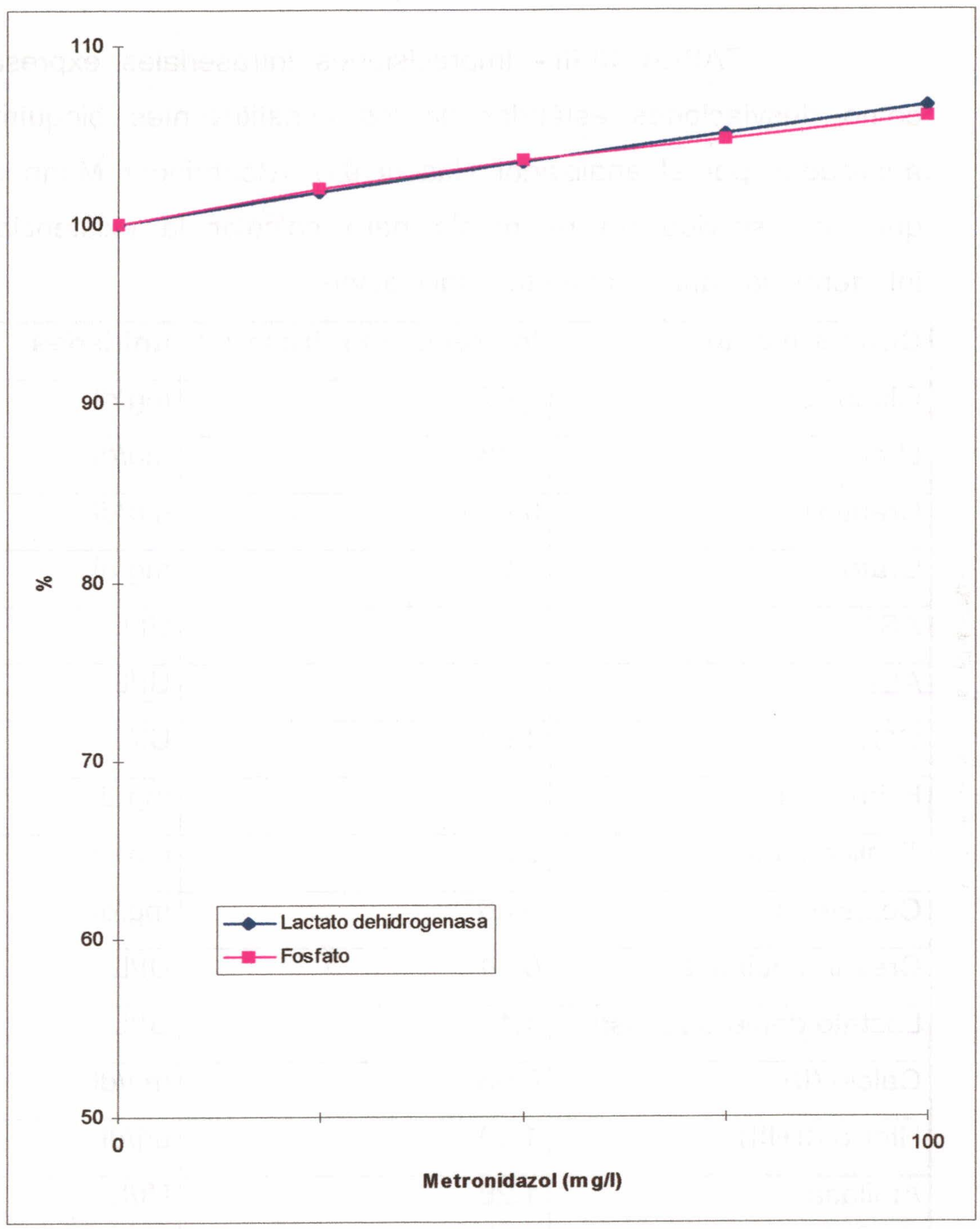
Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	ao	bo	po
Glucosa	- 11	negativa	96.1	- 0.018	- 0.019
Urea	0.1	no significativa			
Creatinina	- 0.55	negativa	1.69	- 0.001	- 0.055
AST	1.27	no significativa			
ALT	11	positiva	13	0.006	0.049
Triglicéridos	- 1.52	no significativa			
Colesterol	0.64	no significativa			
CK	10	positiva	95	0.0153	0.016
LD	13	positiva	254	0.022	0.009
Calcio (II)	0.07	no significativa			
Hierro (II+III)	- 16	negativa	90.3	- 0.029	- 0.032
Amilasa	1.83	no significativa			
Fosfato	0.01	no significativa			
Proteínas	- 0.16	no significativa			
Albúmina	0.21	positiva	4.66	0.0004	0.008
ALP	4.94	no significativa			
Urato	- 0.22	no significativa			
GGT	0.79	no significativa			
Bilirrubina	0.1	no significativa			



Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Glucosa (88.5), Creatinina (67.1), Alanina aminotransferasa (139), Creatinina quinasa (110.6), Lactato dehidrogenasa (105.1), Hierro (82), Albúmina (104.5).

Tabla XLII.- Detección y cuantificación de interferencias significativas producidas por el **METRONIDAZOL** en varios constituyentes bioquímicos analizados por el Hitachi 917 (Boehringer Mannheim). Concentración máxima de interferente 100 mg/l.

Constituyente	diferencia	Tipo interferencia	m	m	bo
Glucosa	2.5	no significativa			
Urea	- 0.28	no significativa			
Creatinina	0.05	no significativa			
AST	- 0.64	no significativa			
ALT	- 0.12	no significativa			
Triglicéridos	0.2	no significativa			
Colesterol	0.7	no significativa			
CK	1.2	no significativa			
LD	16.8	positiva	256	0.026	0.01
Calcio (II)	- 0.41	no significativa			
Hierro (II+III)	0.8	no significativa			
Amilasa	6.05	no significativa			
Fosfato	0.33	positiva	5.65	- 0.002	- 0.035
Proteínas	- 0.02	no significativa			
Albúmina	0.01	no significativa			
ALP	2.92	no significativa			
Urato	0.06	no significativa			
GGT	0.49	no significativa			
Bilirrubina	0.05	no significativa			



Entre paréntesis el valor de la interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Lactato dehidrogenasa (106.6), Fosfato (106).

TABLA XLIII.- Imprecisiones intraseriales expresadas como desviaciones estándar de los constituyentes bioquímicos analizados por el analizador Hitachi 917 (Boehringer Mannheim), que han servido de referencia para calcular la existencia de interferencias analíticamente significativas.

Constituyente	**Imprecisión intraserial**	**unidades**
Glucosa	1.45	mg/dl
Urea	0.48	mg/dl
Creatinina	0.013	mg/dl
Urato	0.04	mg/dl
AST	1.51	UI/L
ALT	1.1	UI/L
GGT	1.03	UI/L
Bilirrubina	0.12	mg/dl
Triglicéridos	0.52	mg/dl
Colesterol	3.06	mg/dl
Creatina quinasa	0.84	UI/L
Lactato dehidrogenasa	4.16	UI/L
Calcio (II)	0.08	mg/dl
Hierro (II+III)	1.99	ug/dl
Amilasa	1.26	UI/L
Fosfato no esterificado	0.082	mg/dl
Proteínas	0.046	g/dl
Albúmina	0.02	g/dl
Fosfatasas alcalinas	1.3	UI/L

TABLA XXXIII.- Imprecisiones intraseriales expresadas como desviaciones estándar de los constituyentes bioquímicos analizados por el analizador Hitachi 717 (Boehringer Mannheim), que han servido de referencia para calcular la existencia de interferencias analíticamente significativas.

Constituyente	**Imprecisión intraserial**	**unidades**
Glucosa	1.01	mg/dl
Urea	1.06	mg/dl
Creatinina	0.23	mg/dl
Urato	0.07	mg/dl
AST	0.86	UI/L
ALT	0.99	UI/L
GGT	0.88	UI/L
Bilirrubina	0.07	mg/dl
Triglicéridos	0.90	mg/dl
Colesterol	1.56	mg/dl
Creatina quinasa	3.47	UI/L
Lactato dehidrogenasa	4.76	UI/L
Calcio (II)	0.07	mg/dl
Hierro (II+III)	3.32	ug/dl
Amilasa	4.37	UI/L
Fosfato no esterificado	0.04	mg/dl
Proteínas	0.22	g/dl
Albúmina	0.05	g/dl
Fosfatasas alcalinas	3.3	UI/L

RESULTADOS .
INTERFERENCIAS PRODUCIDAS POR FARMACOS
COMPARACION GRAFICA

4.3.2.- **Interpretación gráfica de las interferencias por fármacos**.-

Con objeto de efectuar una comparación gráfica, en las figuras que van desde la 54 hasta la 70, se efectúa para cada uno de los constituyentes bioquímicos estudiados una representación gráfica de las interferencias producidas por los fármacos estudiados.

Se representa la pendiente de la ecuación:

(Ci/Co) * 100 = 100 + po * I

(Para interpretación apartado 3.2.2, página 58). En cada tabla,entre paréntesis, se indica el valor de la interferencia en % para la concentración máxima del interferente o fármaco.

Figura 53.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Glucosa** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Acetilsalicílico (152), Ciclosporina (162), Metildopamina (73.4), Levodopamina (116), Dobexilato cálcico (125), Cefoxitina (88.5).

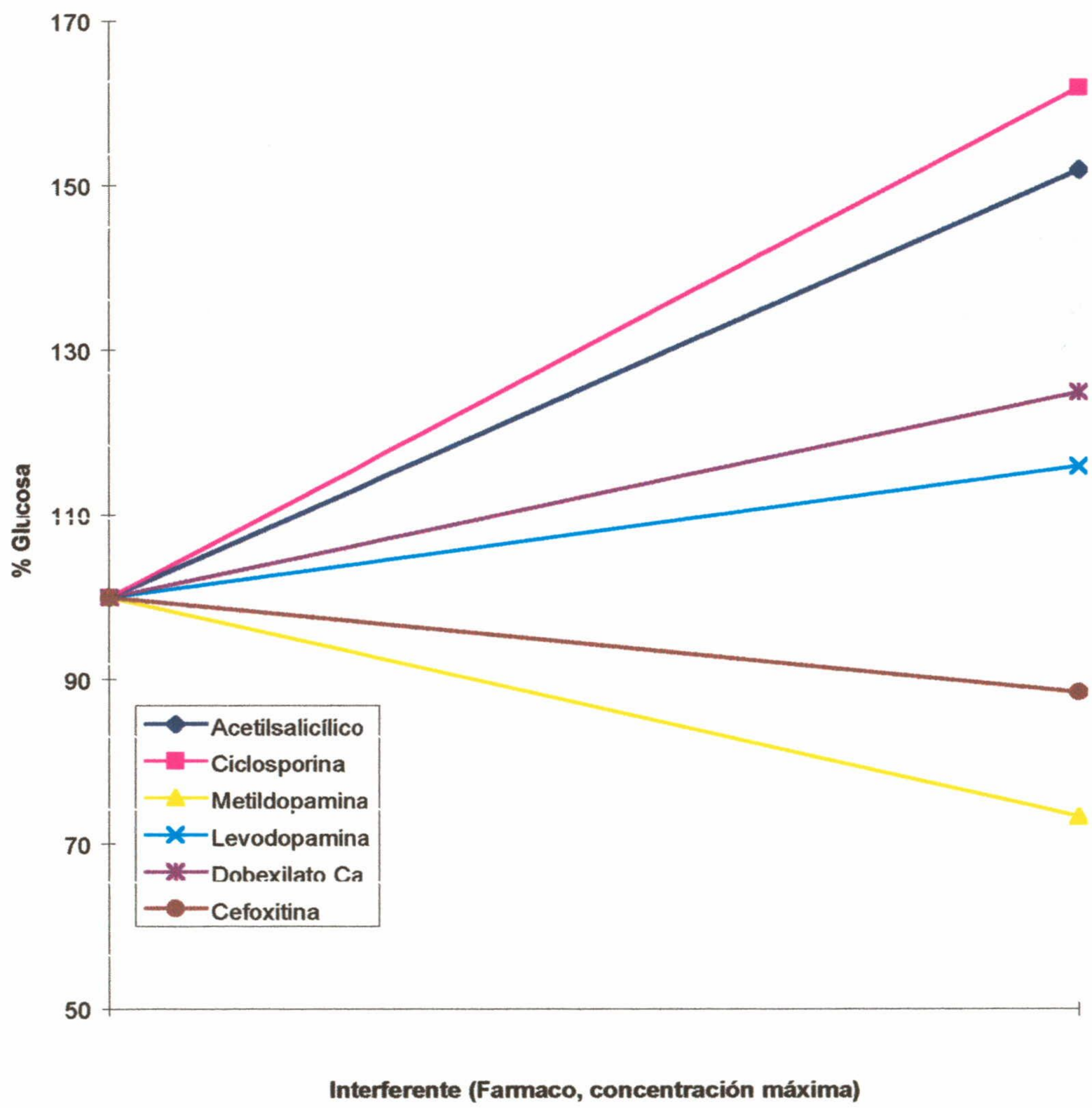


Figura 54.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Urea** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Ciclosporina (92).

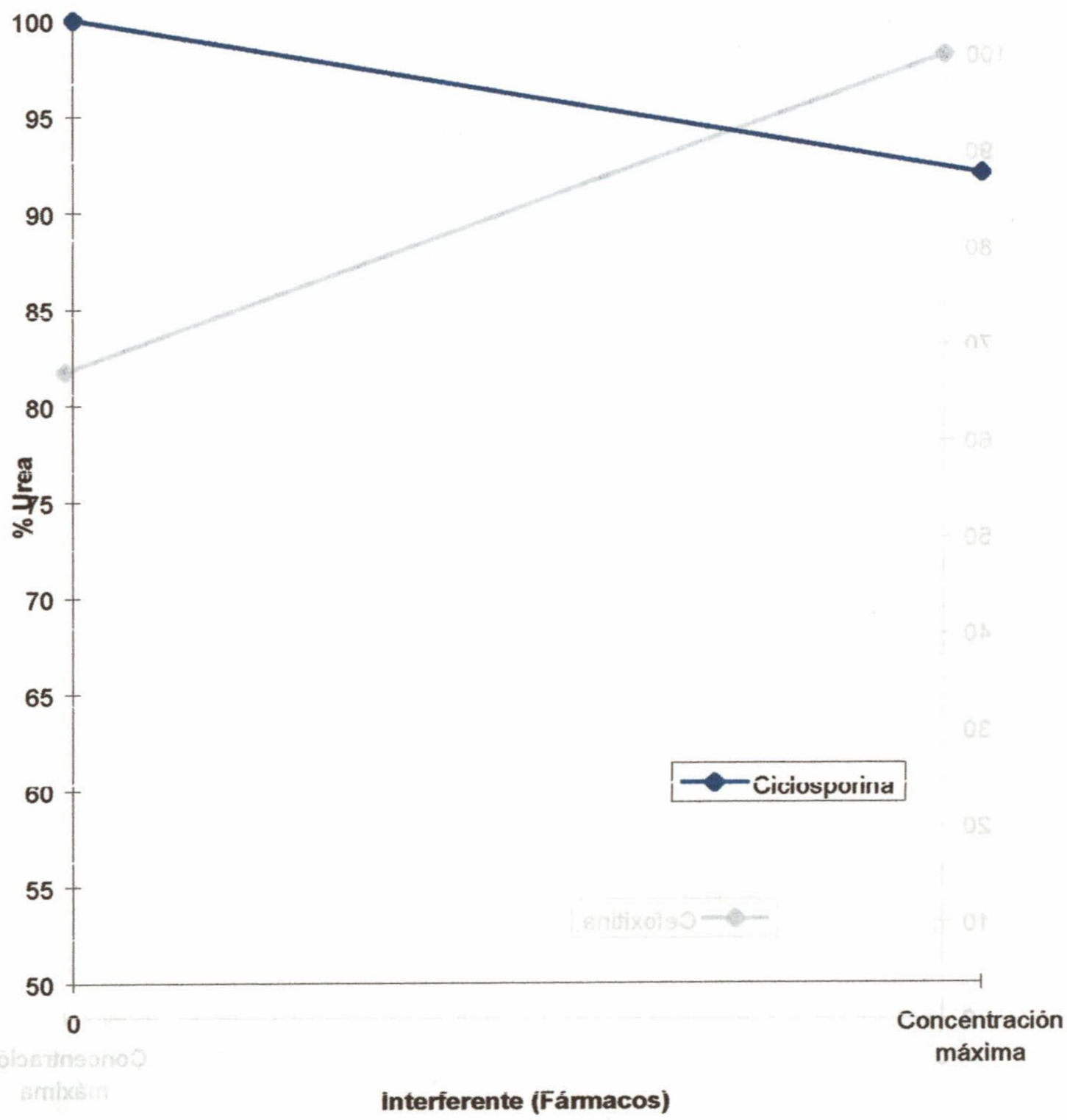


Figura 55.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Creatinina** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Cefoxitina (67.1).

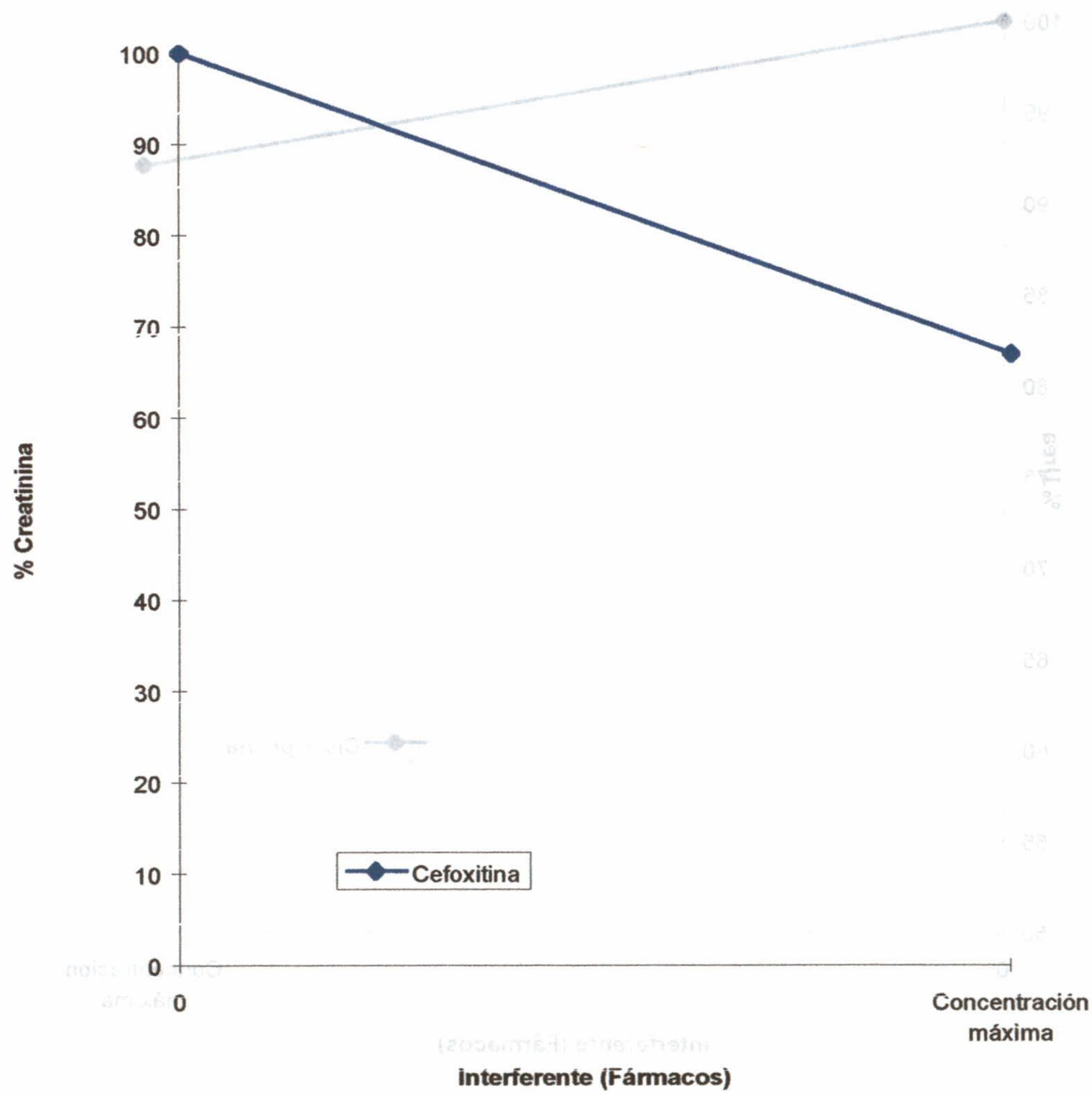


Figura 56.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Urato** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Ascórbico (96.4), Metildopamina (89.2), Levodopamina (77), Fenilbutazona (95.4), Dobexilato cálcico (88.2), Rifampicina (88.2)

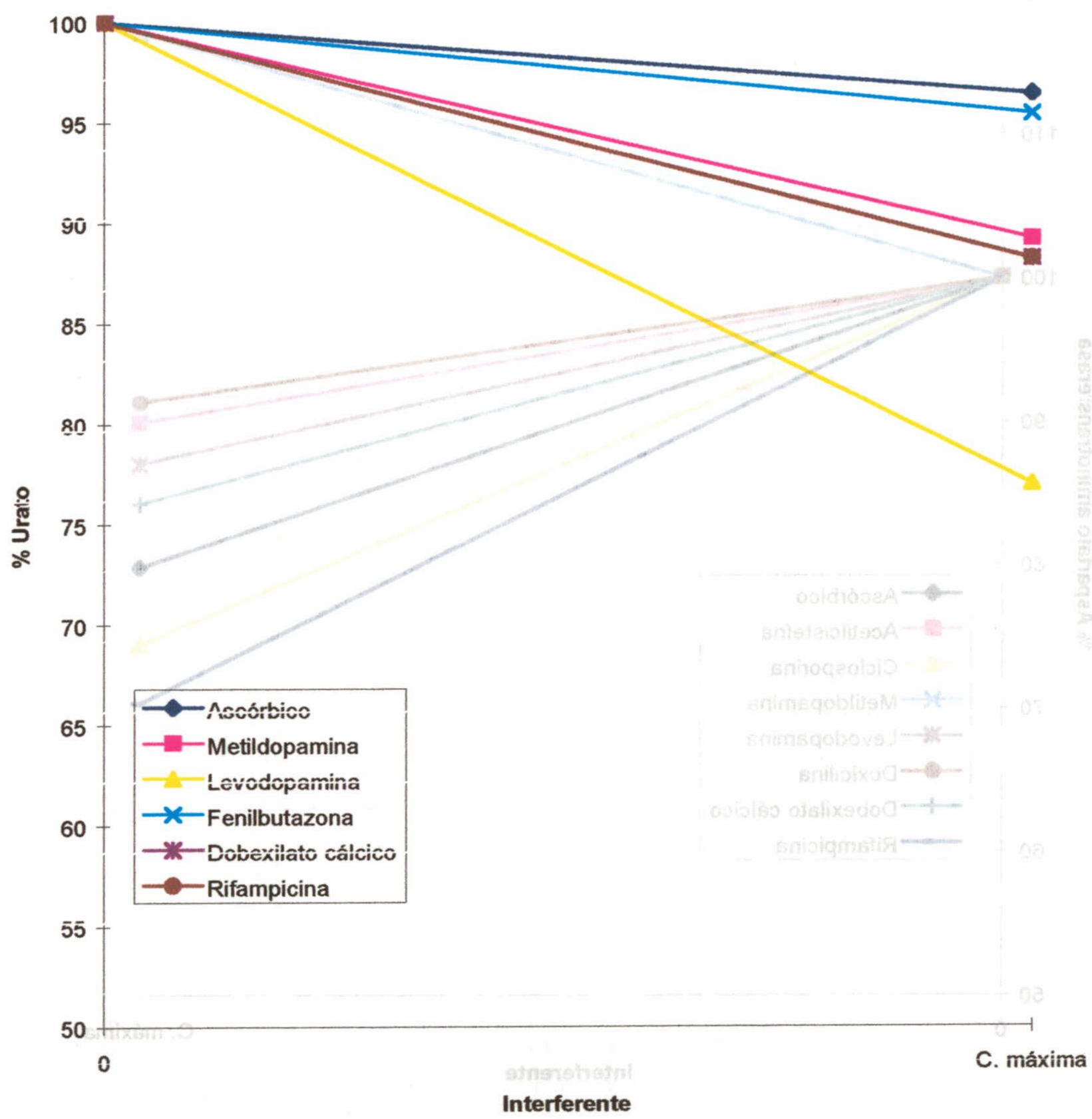


Figura 57.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Aspartato aminotransferasa** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Ascorbico (79.8), Acetilsalicílico (89.9), Ciclosporina (74.4), Metildopamina (117), Levodopamina (87), Doxicilina (91.3), Dobexilato cálcico (84.2), Rifampicina (70.3)

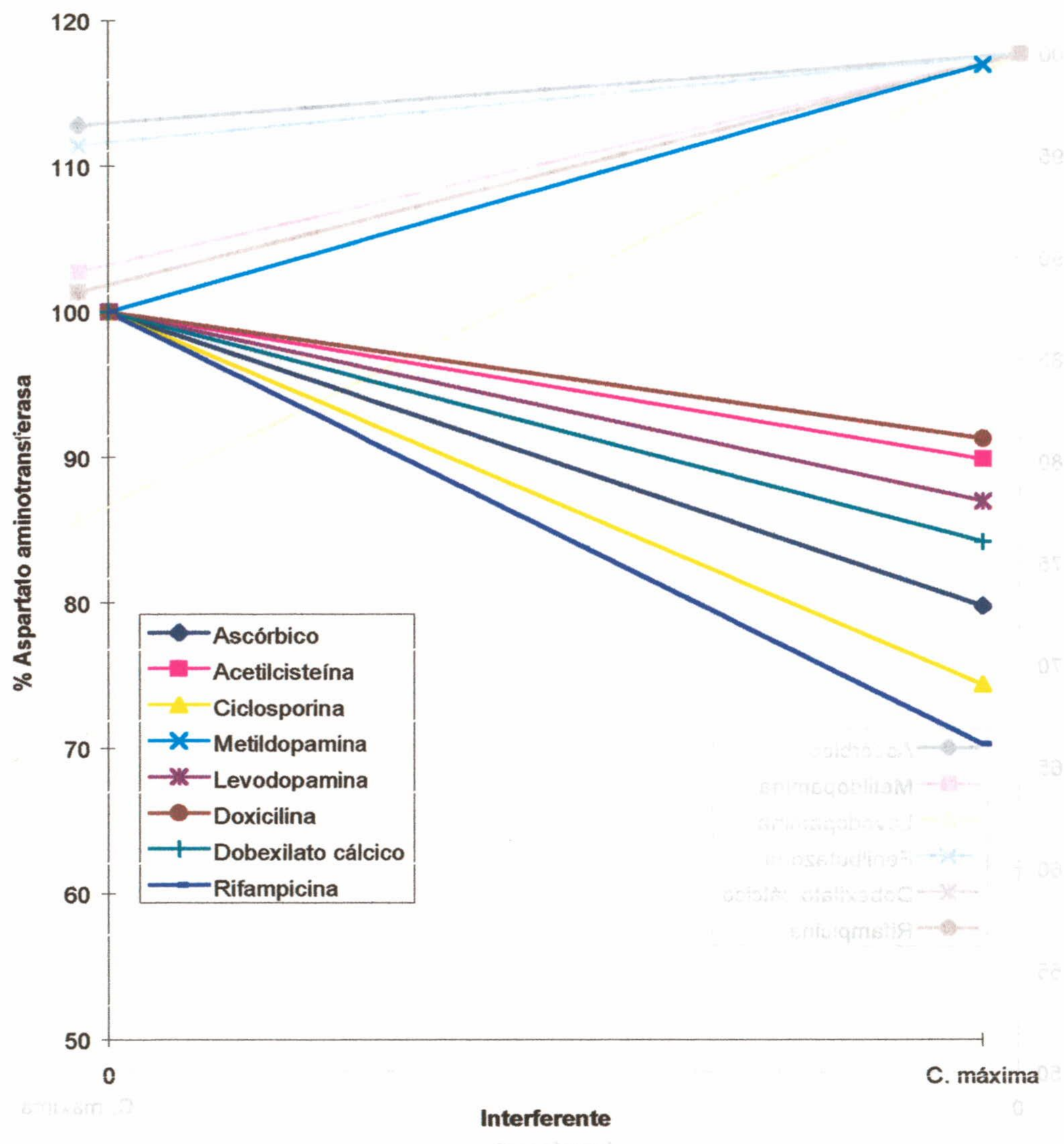


Figura 58.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Alanina aminotransferasa** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Ciclosporina (79.7), Acetilcisteína (82.7), Metildopamina (187), Levodopamina (64.7), Fenilbutazona (91.3), Dobexilato cálcico (52.1), Cefoxitina (139).

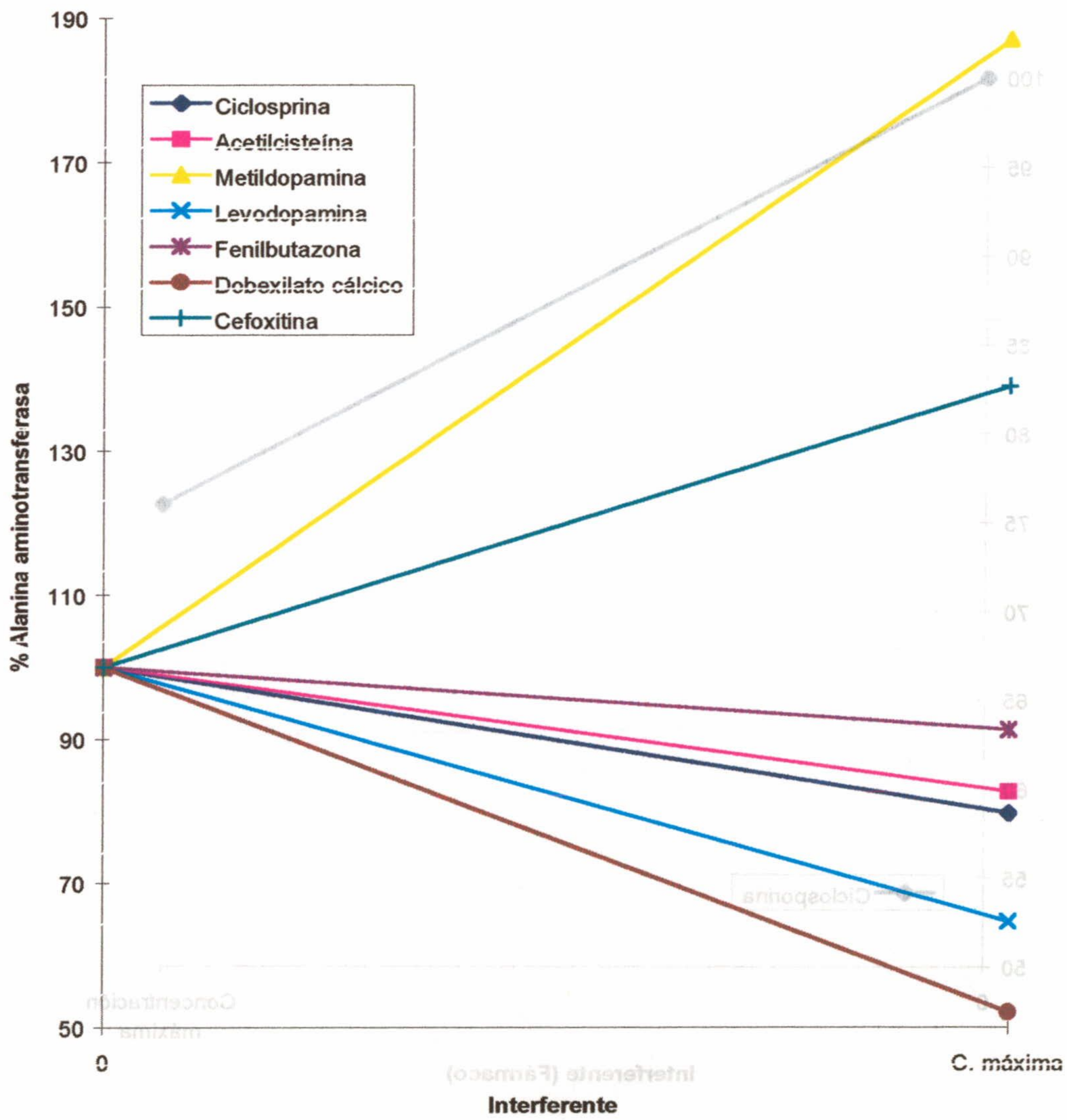


Figura 59.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Gammaglutamiltransferasa** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Ciclosporina ( ).

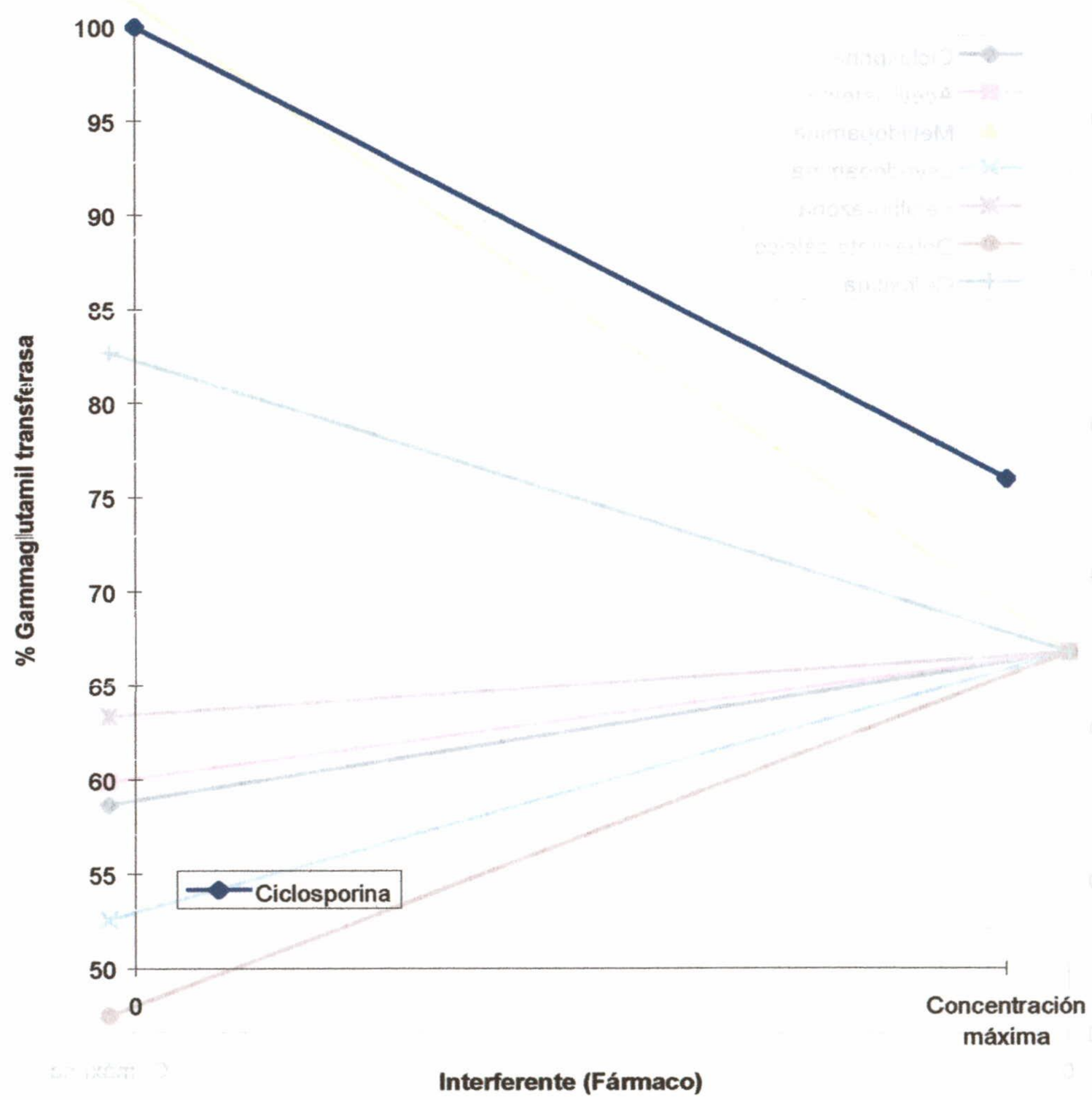


Figura 60.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Triglicéridos** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Ascorbico (66.8), Metildopamina (80.3), Levodopamina (59.1), Fenilbutazona (65), Dobexilato cálcico (56.3), Rifampicina (63.6).

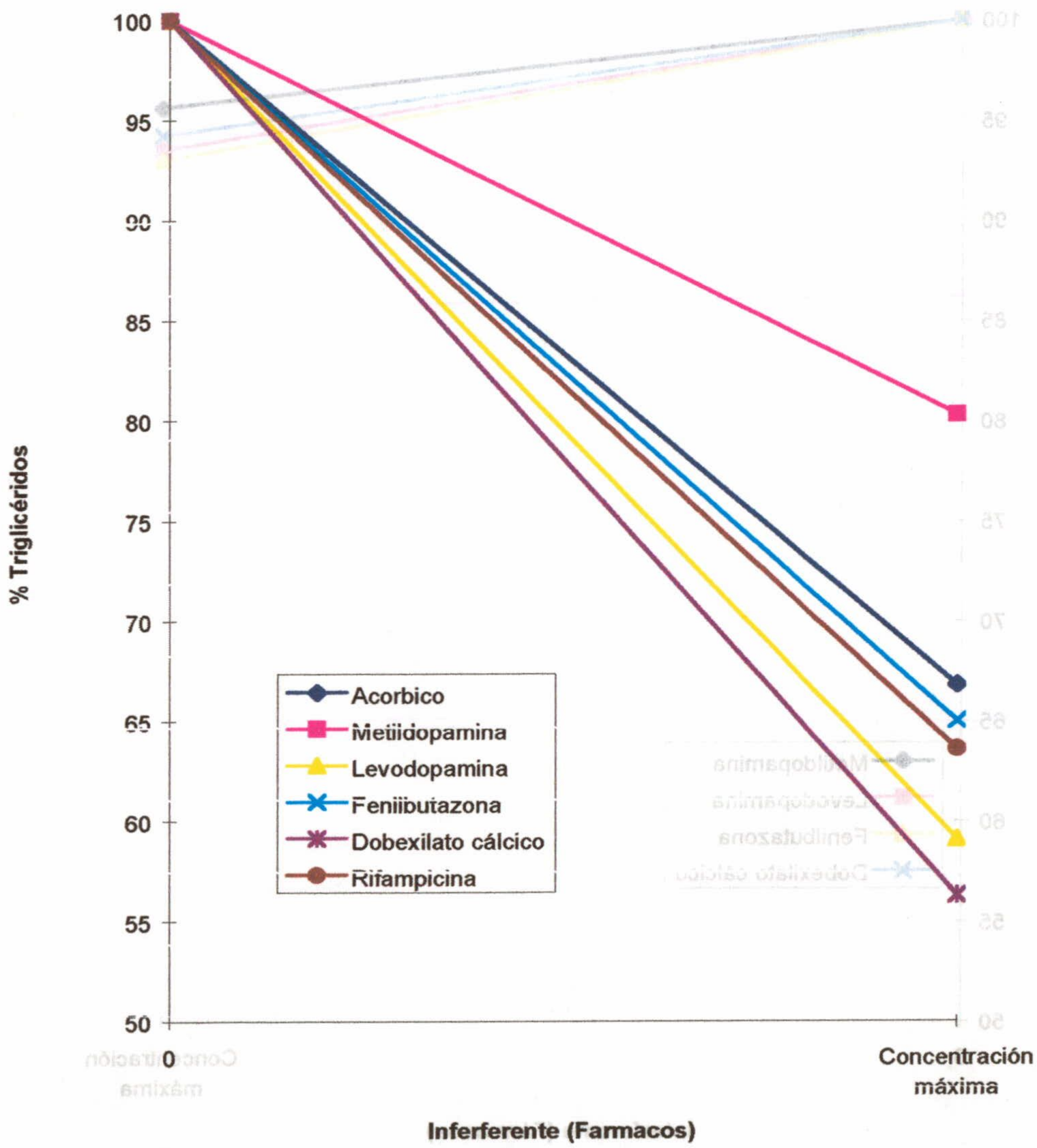


Figura 61.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Colesterol** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Metildopamina (95.6), Levodopamina (93.5), Fenilbutazona (93), Dobexilato cálcico (94.2).

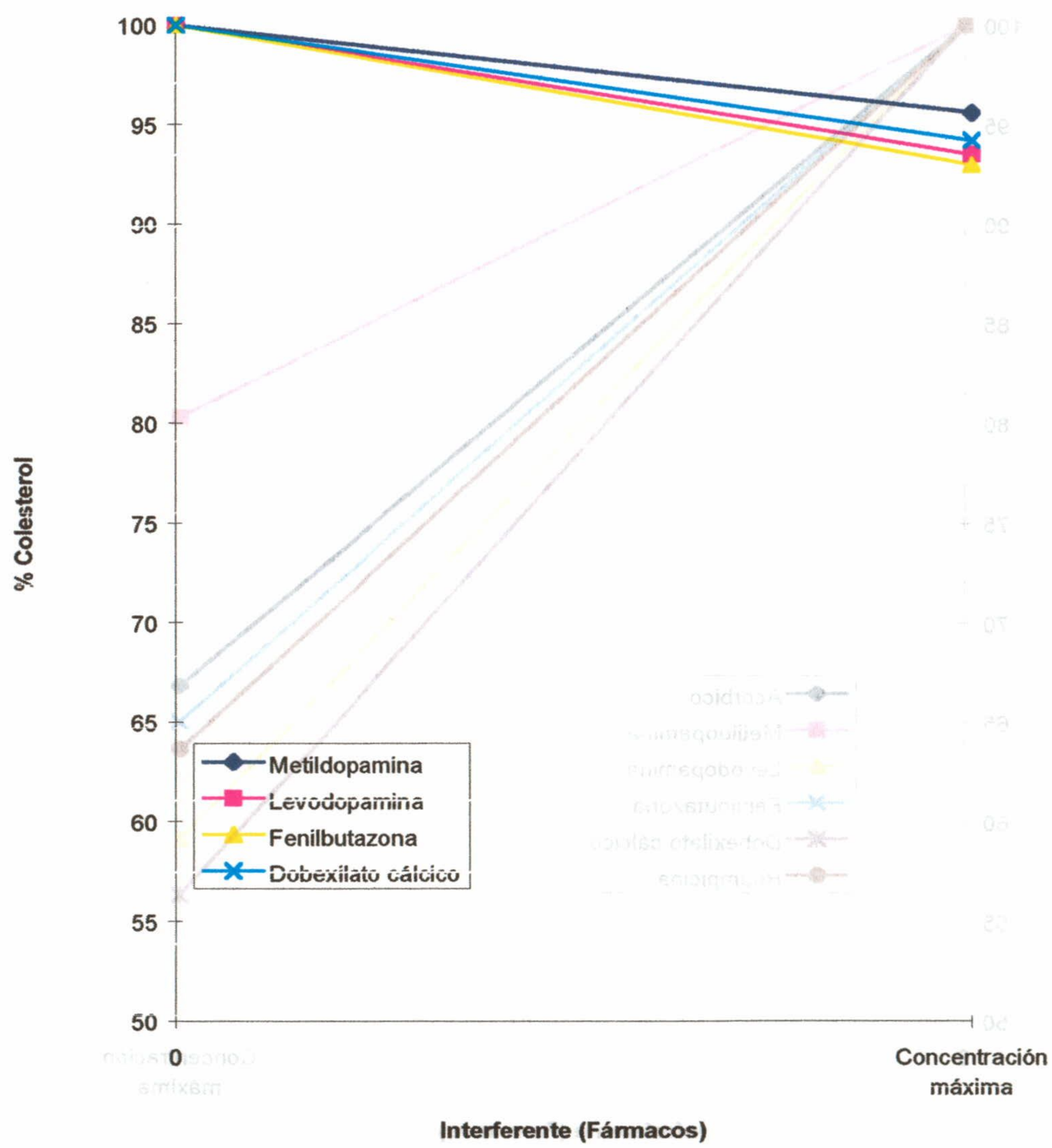


Figura 62.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Creatina quinasa** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Acetilsalicílico (50.6), Ascorbico (93.6), Ciclosporina (121), Acetilcisteína (50.6), Fenilbutazona (93.9), Doxicilina (87.7), Dobexilato cálcico (83.7), Rifampicina (91.3), Cefoxitina (110.6).

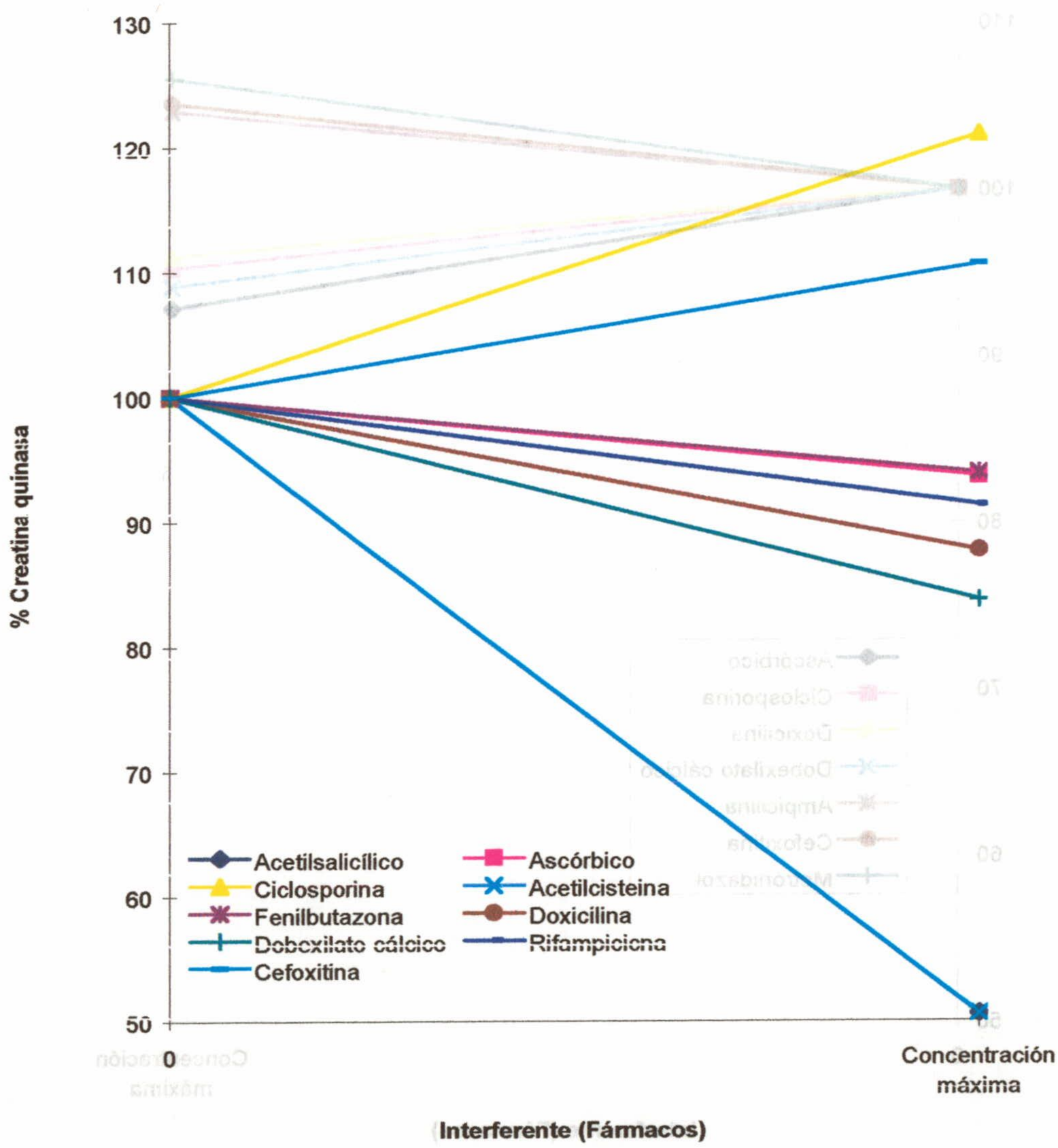


Figura 63.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Lactato dehidrogenasa** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Ascorbico (92.8), Ciclosporina (95.2), Doxicilina (95.9), Dobexilato cálcico (94.1), Ampicilina (104.6), Cefoxitina (105.1, Metronidazol (106.6).

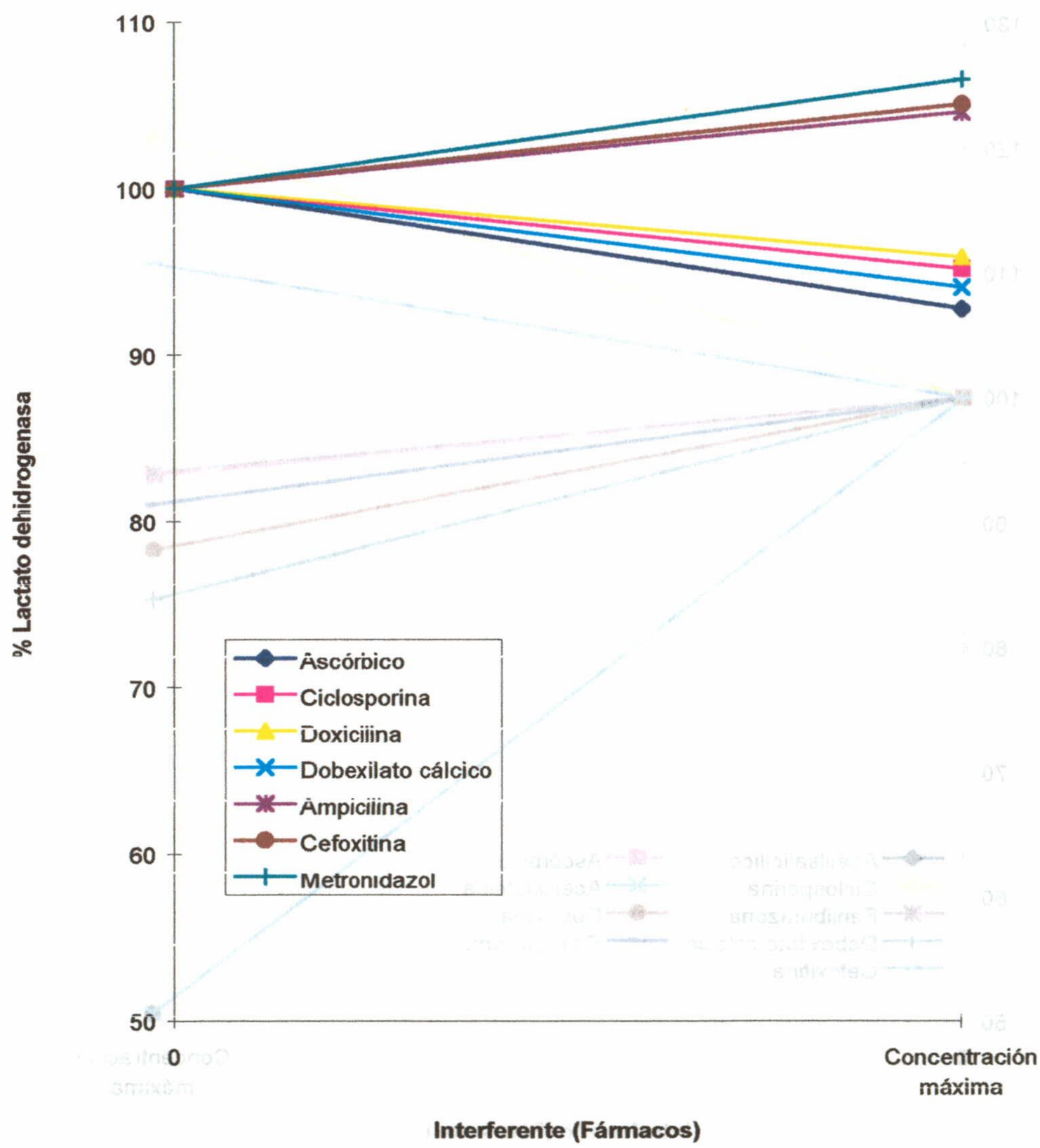


Figura 64.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Hierro (II+III)** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Ciclosporina (128.5), Rifampicina (111), Cefoxitina (82).

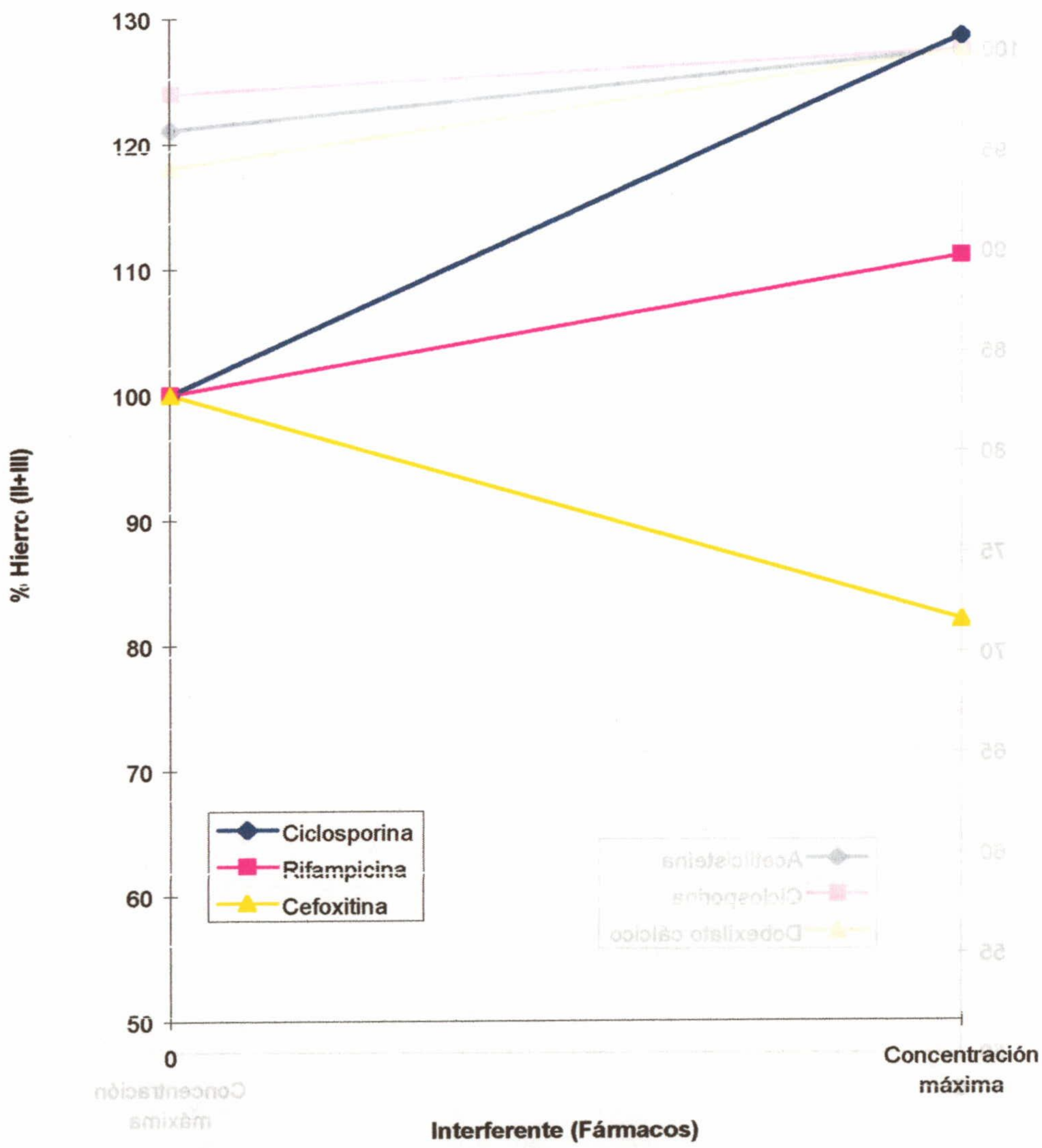


Figura 65.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Amilasa** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Acetilcisteína (96), Ciclosporina (97.8), Dobexilato cálcico (94.1).

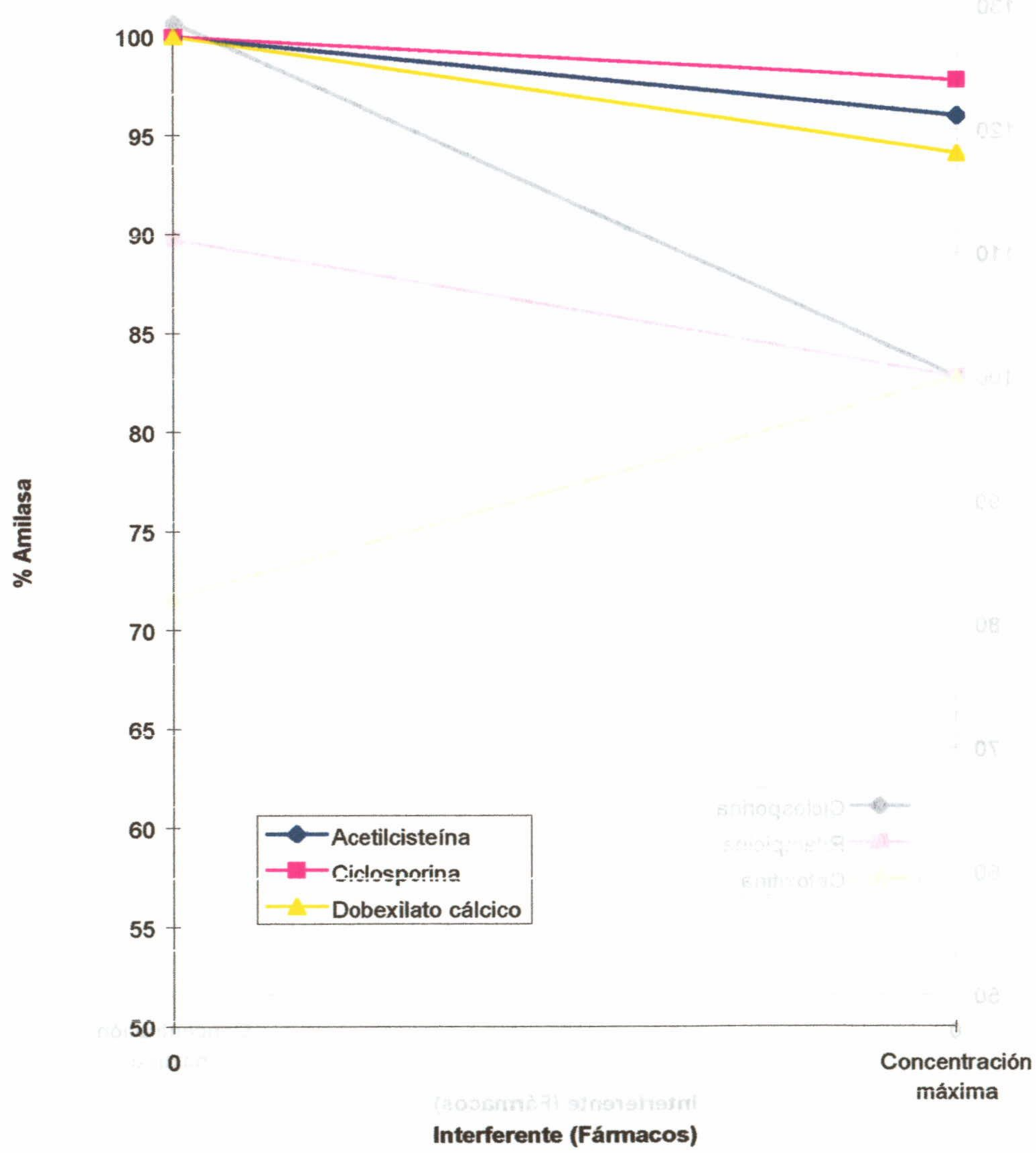


Figura 66.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Fosfato no esterificado** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Acetilcisteína (80.1), Rifampicina (74.5), Metronidazol (106.6).

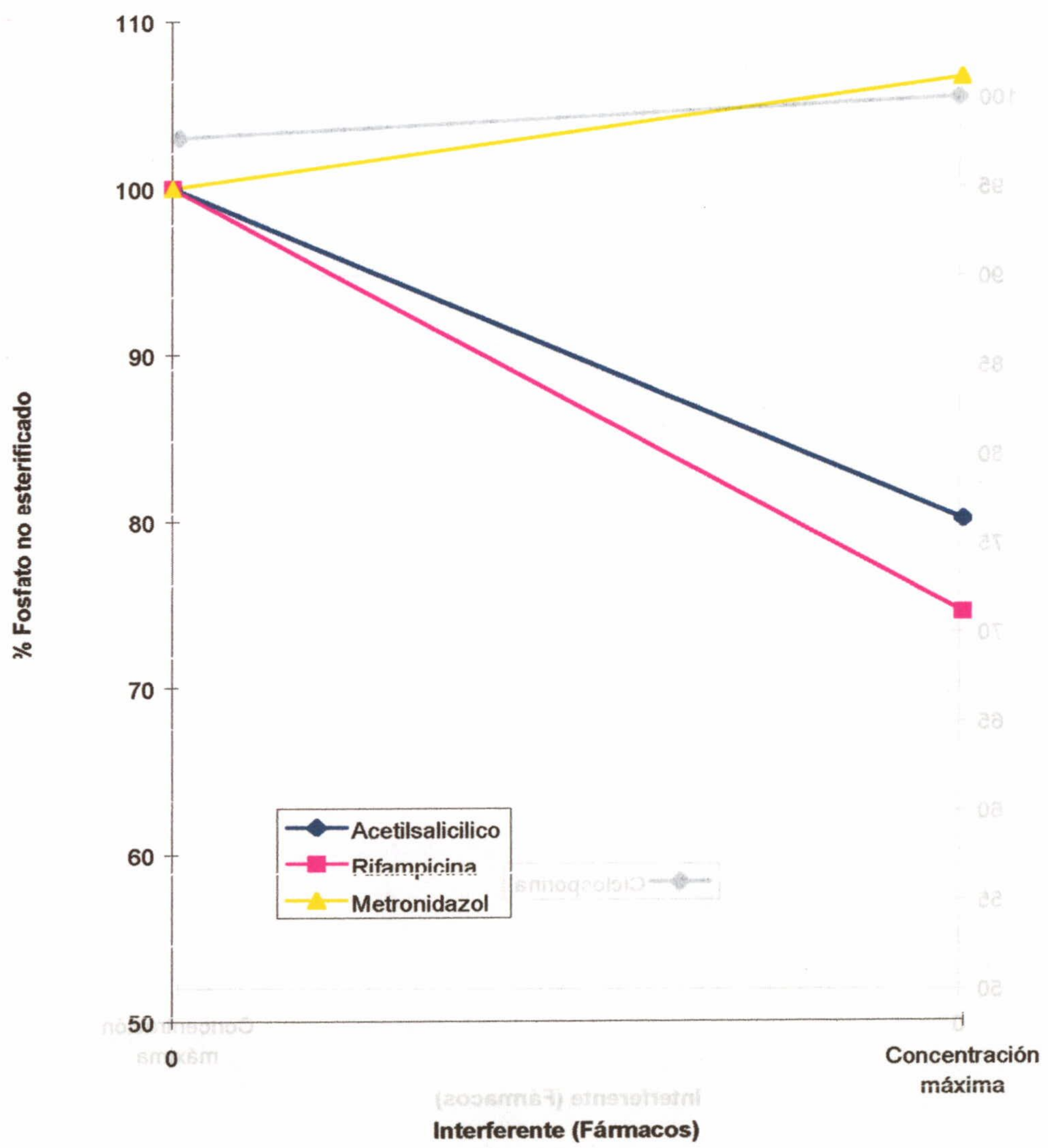


Figura 67.- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Proteínas** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Ciclosporina (97.7), Dobexilato cálcico ( ), Rifampicina ( ).

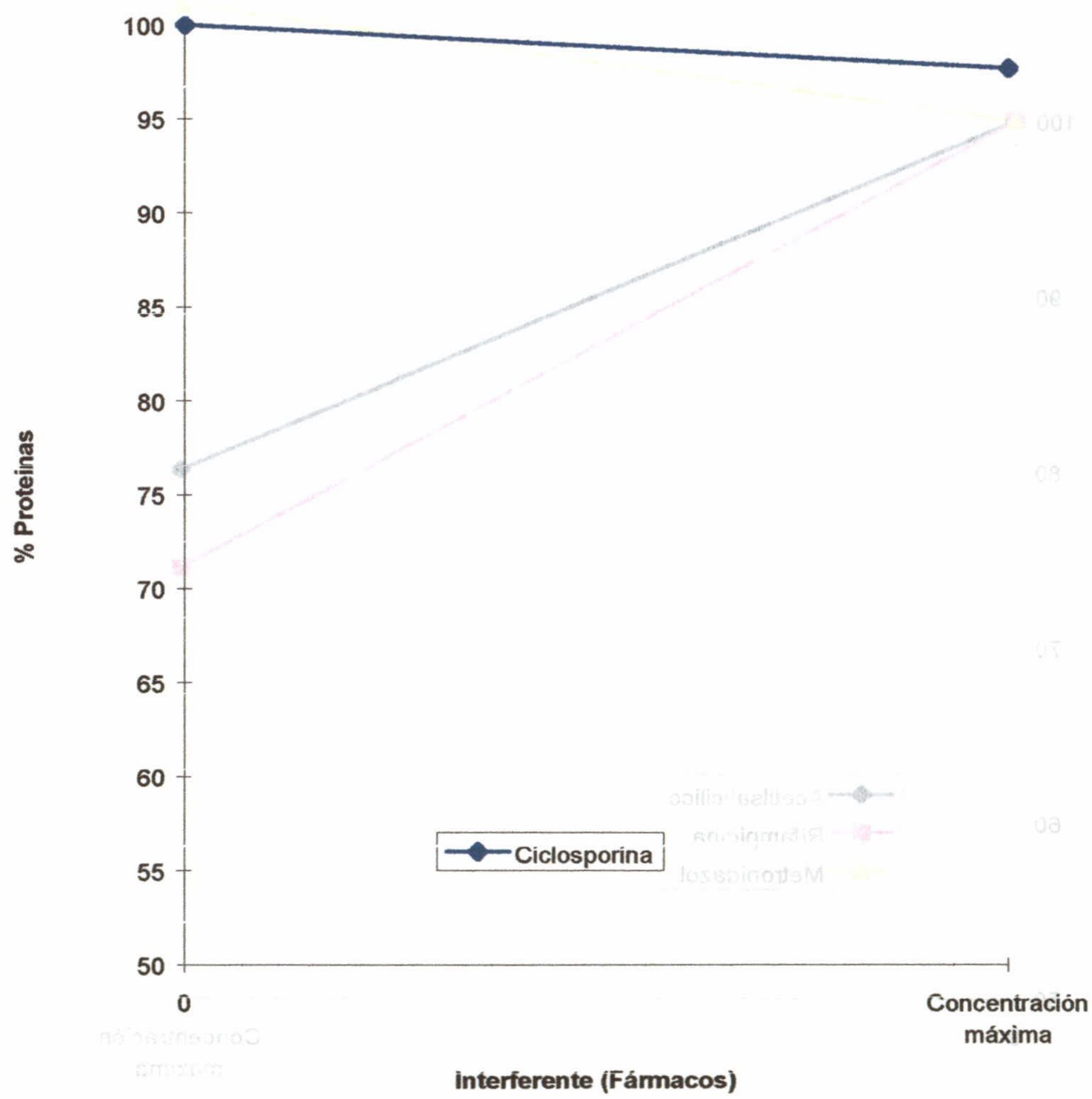


Figura 68 .- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Albúmina** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Ascorbico (96.9), Cefoxitina (104.5).

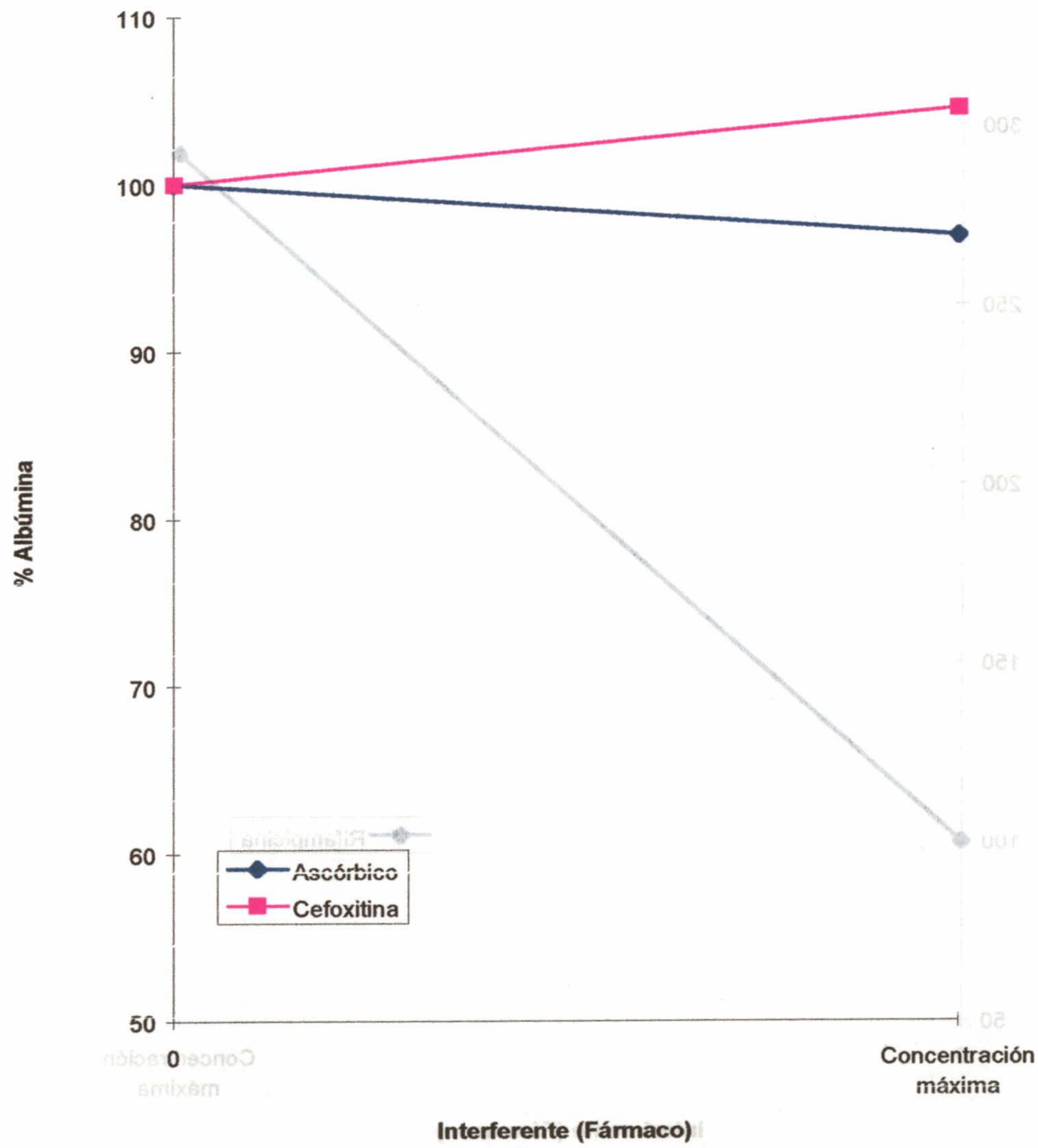
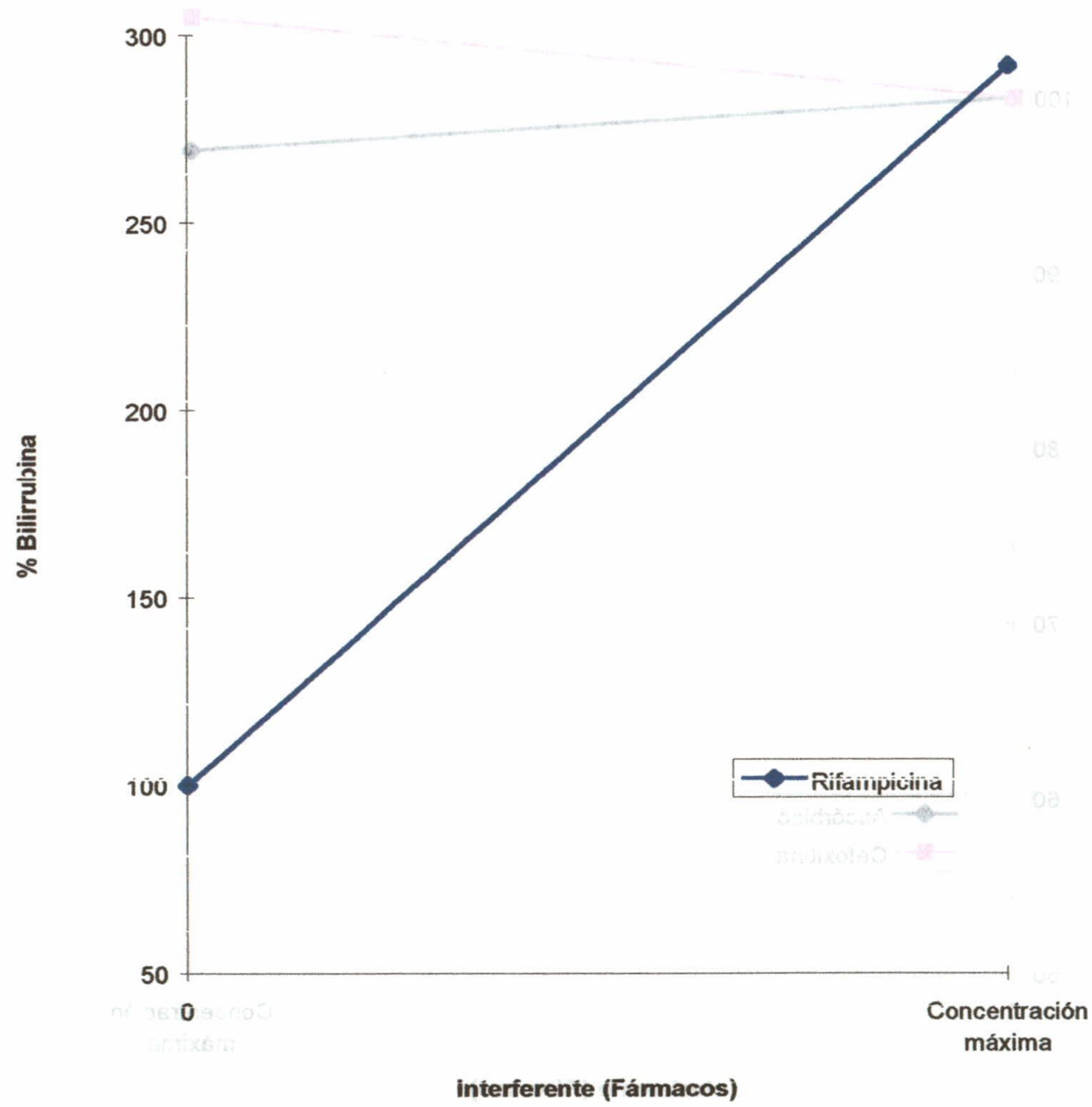


Figura 69 .- Interferencia producida por fármacos en la determinación de **Bilirrubina** en el analizador 917 (Boehringer Mannheim).

Entre paréntesis el valor de la Interferencia (%) para la concentración máxima de interferente. Rifampicina (292).



5

Discusión

La existencia de interferencias es un problema que afecta a todos los laboratorios; diariamente en todos los laboratorios de bioquímica clínica aparecen sueros con una intensa turbidez debida a quilomicrones o con gran cantidad de bilirrubina o incluso con sangre hemolizada, y a veces, no podemos disponer de otro espécimen para analizar cuestionandonos la bondad (exactitud) de los resultados, cuando analizamos estos especímenes. Es entonces cuando añadimos a nuestros resultados un comentario como: "suero turbio", "suero ictérico", "suero con sangre hemolizada", pero con estos comentarios no hemos solucionado el problema, es necesario y muy importante conocer la magnitud y el signo de estas posibles interferencias.

Puesto que las interferencias pueden ser una de las contribuciones más importantes al error analítico total de un método de determinación, su valoración ha de efectuarse basándose tanto en requerimientos médicos, como en requerimientos analíticos.

Actualmente, una de las mayores preocupaciones en Bioquímica Clínica es establecer los objetivos analíticos para un método analítico. Así, para la "imprecisión, el objetivo analítico es que sea menor a la mitad del coeficiente de variación biológica intraindividual " (122,123,124); para la inexactitud, "el objetivo es que los métodos no posean inexactitud" (35,123), y como una consecuencia lógica se plantea que "El objetivo analítico para un método de determinación es que no tenga interferencias" (15,37,38).

Pero una vez definido el objetivo analítico, hay que remarcar y hacer una distinción entre aquellas "interferencias estadísticamente

significativas", de las "interferencias analíticamente significativas" y de las "interferencias que pueden presentar significación clínica".

Hay que tener en cuenta que con un número suficiente de replicaciones, se pueden encontrar resultados estadísticamente significativos, pero de valor muy pequeño, que para propósitos prácticos no se van a distinguir de la imprecisión del método, y que obviamente no van a tener una significación analítica importante (ni tampoco significación clínica), así como que con un número insuficiente de replicaciones o un mal planteamiento experimental, pasaran inadvertidos efectos que son importantes.

A continuación se procederá a la discusión de las interferencias producidas en la determinación de cada uno de los constituyentes estudiados:

Glucosa.-

El método más comúnmente utilizado y estudiado es el de la glucosa oxidasa / peroxidasa (82). Se trata de una reacción redox, en la que es previsible que interfieran todos aquellos reductores con un poder de reducción mayor que el del sustrato 4-aminofenazona que actuarán por un mecanismo competitivo frente a la peroxidasa produciendo interferencias de tipo negativo, como la producida por la bilirrubina (89.45%). La cual es un reductor ya descrito en otros trabajos (8,125). Interferencia de la que descrito métodos incluso para minimizarla como es utilizando ferrocianuro (126), e incluso se han descrito métodos para eliminarla con Bilirrubina oxidasa (127).

La hemólisis produce una interferencia ligeramente positiva, en este caso es de origen probablemente espectrométrica, debido a la gran cantidad de color de la hemoglobina.

La mayoría de los medicamentos estudiados no producen ninguna interferencia analítica en la determinación de glucosa, aunque en trabajos previos ha sido descrita la presencia de alguna interferencia (71). En nuestro estudio hemos encontrado interferencia positiva en la determinación de glucosa producida por el acetílsalicílico, la ciclosporina, y dobexilato cálcico, interferencias que no habían sido descritas previamente. Así mismo hemos encontrado interferencias negativas producidas por metildopamina y levodopamina. Estos resultados coinciden al menos en el tipo de interferencia con los trabajos publicados previamente (127, 128).

También hay que destacar las interferencias negativas producidas por la cefoxitina y l acetilsalicílico, el cual, interfiere negativamente en la determinación de glucosa, como se ha descrito previamente (129). También cabe reseñar que no se ha encontrado interferencia significativa producidas por el ácido ascórbico, interferente ampliamente descrito en los sistemas de reacción con Trinder acoplado (130).

Urea.-

No se han encontrado interferencias significativas debidas a la bilirrubina, ni a la hemólisis y ni a la turbidez.

Con relación a los fármacos se ha encontrado únicamente interferencia significativamente negativa debida a la ciclosporina y aún en este caso la interferencia encontrada ha sido ligeramente negativa.

No hemos encontrado interferencia con el ácido ascórbico, acetilsalicílico, L-dopamina y ampicilina, lo cual confirma los hallazgos encontrados por otros autores (131,132,133).

Con este estudio se demuestra que el efecto de la alfametildopamina no es una interferencia in vitro, sino que en realidad se produce un efecto farmacológico de disminución significativa de la urea plasmática (134), ya que no hemos encontrado interferencia in vitro a pesar de estar demostrada su acción "in vivo".

Creatinina.-

El método de determinación de creatinina evaluado es el de la reacción de Jaffé con medida cinética de la velocidad de formación del complejo creatinina picrato, velocidad que es directamente proporcional a la concentración de creatinina (84).

Es bien conocido que la determinación de creatinina mediante la formación del complejo rojo de Janovski es muy inespecífica y que en ella interfieren muchas sustancias. El mecanismo descrito para estas interferencias es la reacción entre el grupo metilo o metileno activo y el picrato alcalino y formación de un complejo similar al formado con la creatinina (12,13,56). Sustancias con un grupo activo son las cetonas, acetoacético, pirúvico, aminohipurato, proteínas y antibióticos como las cefalosporinas (135).

En nuestro trabajo únicamente hemos encontrado que se produce una interferencia negativa fuerte con la cefoxitina. Es bien conocido que en la interferencia de las cefalosporinas con la reacción de Jaffé (136), la cual reacciona con el picrato alcalino (137), para dar una reacción similar a la de la creatinina con el ácido pícrico. Se ha descrito que la proporción de pícrico, suero y de NaOH, tiene únicamente un efecto ligero en la magnitud de la interferencia y que en el método cinético, la elección del tiempo al cual se efectúan las lecturas influye en la magnitud de la interferencia (136), y que además la preincubación con NaOH disminuye la interferencia debida a la cefoxitina.

En nuestro estudio también confirmamos la existencia de una interferencia fuertemente negativa (82,1%) producida por la bilirrubina a una concentración de 20 mg/dl. Estos resultados confirman trabajos previamente publicados por la Comisión de instrumentación de la Sociedad Francesa de Bioquímica Clínica (SFBC)(137).

Para la justificación de este tipo de interferencias se ha propuesto que se produce una oxidación de la bilirrubina en medio básico fuerte a compuestos incoloros, de modo que la disminución resultante del fondo hace que disminuya la absorbancia, dando lugar a una disminución aparente de la concentración de creatinina (138).

Nuestros resultados indican además que la interferencia de la bilirrubina en la determinación de creatinina es dependiente linealmente con la concentración de bilirrubina en el analizador Hitachi-717, resultado similar al encontrado por Guy y cols. en el Hitachi 737 (139).

En un trabajo relativamente reciente de Kroll y cols, se estudia la cinética de la reacción a través de la formación de complejos

con el picrato por medio de un grupo metileno activo adyacente a un grupo carbonilo. Incluso se han propuesto métodos para eliminar la interferencia de la bilirrubina por medio de su oxidación a biliverdina con la adicción al medio de la reacción de ferrocianuro potásico, antes de la adicción del reactivo alcalino (141).

La interferencia por compuestos que tiene grupos carbonilo en la determinación de creatinina a través del método del ácido pícrico ha sido ampliamente descrita (142-145). Incluso en el método cinético modificado que ha sido utilizado en esta tesis, se ha encontrado también interferencia. El método cinético se utiliza para eliminar de algún modo los interferentes inespecíficos de la reacción, pero que como queda demostrado en este trabajo no se logra totalmente la supresión de la interferencia. Se ha postulado que esta interferencia se produce únicamente en los métodos en los que no existe tiempo de demora entre la adicción del reactivo final y el comienzo de la medida de la absorbancia (143).

Urato.-

El método más comúnmente utilizado en los laboratorios para aumentar la especificidad de la determinación del urato plasmático se basa en la reacción de la uricasa/peroxidasa (85), que ha sido el procedimiento evaluado en esta tesis. Nosotros hemos encontrado una ligera interferencia de la bilirrubina en la determinación del urato que es del orden del 94.55% a una concentración de bilirrubina de 20 mg/dl. Esta interferencia hallada es ligera aún a pesar de que en la formulación del reactivo se incluye ferrocianuro potásico 0.30 mol/l, para disminuir dicha interferencia. Ya que como se ha escrito, la bilirrubina es un reductor y

para evitar su acción sobre la reacción de Trinder se oxida previamente a través de la adicción del ferrocianuro (146).

En los sistemas indicadores de Trinder (82), se produce peróxido de hidrógeno, que es un oxidaste y que por reaccionar con un sustrato incoloro produce una imina coloreada (rosa), de modo que la presencia de reductores como el ácido ascorbico producirán interferencias negativas (147-148), que en este caso es del 96.4% a una concentración de bilirrubina de 20 mg/dl. Esta interferencia es ligeramente negativa, debido a que el reactivo utilizado ya incluye en su formulación la enzima ascorbato oxidasa >5 U/ml para eliminarla o mejor para disminuir la interferencia por ácido ascorbico.

También producen interferencia negativa los siguientes fármacos: Metildopamina, Levodopamina, Doxicilina, Dobexilato cálcico, Rifampicina. De los cuales únicamente se ha encontrado en la bibliografía consultada la interferencia por metildopamina (149).

Por el contrario a lo que se ha publicado (150), nosotros hemos encontrado una interferencia negativa debida a la L-dopamina, esta discrepancia aparente se puede justificar debido a que nosotros efectuamos el estudio in vitro donde se produce un efecto o interferencia negativa y en el trabajo citado argumentan que el efecto positivo de la L-dopamina en el úrico, es un efecto farmacológico in vivo (150).

Aspartato aminotransferasa.-

Para la determinación de Aspartato aminotransferasa se ha encontrado una interferencia ligeramente negativa debida a la bilirrubina.

Pero sin embargo, para la hemólisis se encuentra una interferencia fuertemente positiva (150.7%), este resultado es totalmente lógico y justificable ya que como es bien sabido (151), la aspartato aminotransferasa se encuentra dentro de la sangre normal fundamentalmente en el interior de los eritrocitos, ya que se halla distribuida en un 2% en el suero, 80% en los glóbulos rojos, y 13% en las plaquetas y 5% en los leucocitos. Esto conduce a que una ligera hemólisis provoca la liberación de esta enzima desde el interior de los eritrocitos hacia el plasma (suero), de modo que en el suero habrá un gran aumento de la concentración plasmática. Produciendose valores falsamente elevados de Aspartato aminotransferasa (152).

Los resultados encontrados en nuestro estudio nos indican la existencia de interferencia negativas producidos por el Ácido Ascórbico, la Ciclosporina, la Acetilcisteína, Levodopamina, Doxicilina, Dobexilato y Rifampicina; y positiva producida por la metildopamina.

La interferencia negativa producida por ácido ascórbico es una interferencia negativa fuerte (78.8%) resultado que coincide con el obtenido por Elliot (153), pero que discrepa de los obtenidos por Caraway y Kammeyer (154), que encontraban una interferencia positiva.

Para la Levodopamina el resultado también, discrepa de lo publicado en este último trabajo (154) y sin embargo en este trabajo se indican resultaedos que coinciden con los obtenidos en la interferencia para la Metildopamina.

Nosotros no hemos encontrado interferencias significativas producidas por el Metronidazol, a diferencia de lo publicado por Tighe y Jones (155) o por Karsen y cols (156).

Pero hay que tener en cuenta que estas discrepancias se justifican por que en estos últimos trabajos se utilizan analizadores ya antiguos de espectrofometría de flujo contínuo, en los que se ha descrito que el metronidazol entra en el colorímetro a través de la membrana dializadora y además que este fármaco absorbe luz en el rango de los 340 nm; que es la longitud de onda a la cual se efectúa la reacción.

No obstante en el analizador estudiado Hitachi 917, las reacciones se hacen con lectura bicromática a dos longitudes de onda, lo cual elimina las posibles interferencias y absorbancias de fondo, y de aquí la discrepancia de resultados obtenidos y evaluados.

Alanina aminotransferasa

En la Alanina aminotransferasa, al contrario de lo que ocurre con la aspartato aminotransferasa no se encuentra interferencia producida por la hemólisis en su determinación. Pero la bilirrubina produce interferencia ligeramente negativa (95.5%).

Nosotros contrariamente a lo publicado por otros autores (71), hemos encontrado que algunos fármacos producen interferencia positiva, son: la metildopamina (187%), levodopamina y cefoxitina (139%).

Asimismo, hemos encontrado interferencias negativas producidas por la ciclosporina (79.7%), la acetilcisteína (82.72%), la fenilbutazona (91.3%) y el Dobexilato cálcico (52.1%).

También del mismo modo a lo descrito para la Aspartato aminotransferasa tampoco hemos encontrado interferencias significativas producidas por el metronidazol, a diferencia de lo publicado por otros autores (155), que utilizan también un analizador espectrométrico de flujo contínuo.

Gamma glutamiltransferasa.-

Con relación a la gamma glutamiltransferasa, se han encontrado interferencias negativas del 92.06%, producidas por la bilirrubina, valor y tipo de interferencias que es similares a la encontrada por otros autores (157).

Con relación a la hemólisis en la literatura consultada existen discrepancias acerca del tipo de interferencia, algunos autores encuentran una interferencia ligeramente negativa (152,158), y otros no encuentran interferencias a concentraciones bajas de gamma glutamiltransferasa pero a concentraciones más elevadas encuentran una interferencia negativa (160).

Nosotros con nuestro método analítico no hemos encontrado la existencia de interferencias ni para la hemólisis, ni para la turbidez.

Con relación a los fármacos estudiados únicamente hemos encontrado interferencias analíticamente significativas con la ciclosporina, que produce una interferencia negativa fuerte (76.9%). Y para el resto de los fármacos, no se producen ninguna interferencia analítica (161).

Fosfatasas alcalinas-

Para la fosfatasa alcalina, se ha encontrado una interferencia negativa fuerte similar a la descrita por otros autores (162). Concluyéndose que la hemólisis reduce la actividad de la fosfatasa alcalina, cuando se analiza por métodos cinéticos empleando tampón dietilamina y 4-nitrofenol fosfato como sustrato.

Es posible corregir la interferencia debida a la hemólisis, por medio de la medida de muestras de blanco a la misma longitud de onda del test. En nuestro estudio se concluye que la corrección de blanco bicromática, en el Hitachi 917, no compensa la hemoglobina, de modo que hay autores que recomiendan que los resultados no sean informados en muestras hemolizadas, si se emplean condiciones similares a las utilizadas en este estudio (162).

A diferencia de lo hallado por Wiltlow y cols (161), que han descrito que los sueros hiperbilirrubinémicos valorados en un analizador de flujo continuo, tenían una actividad fosfatasica falsamente elevada, debido a la interferencia de la bilirrubina, en nuestro trabajo no hemos encontrado interferencia debida a la bilirrubina.

Tampoco se han encontrado interferencias debidas a los fármacos, aunque se ha descrito una interferencia positiva debida a la alfametildopamina (162), y también se ha descrito una inactivación de la Fosfatasas alcalina debida al ácido ascorbico (163,164) a través de un mecanismo competitivo (164).

Triglicéridos.-

Con relación a la interferencia producida por la bilirrubina encontramos que se produce una interferencia fuertemente positiva (107.7%), al contrario de lo que ocurre con las otras determinaciones que hacen uso del indicador de Trinder, como pueden ser el colesterol, o la glucosa. La interferencia por la bilirrubina en la determinación de los triglicéridos ha sido ampliamente documentada (105), aunque generalmente la interferencia es de signo negativo.

Se ha detectado que la hemólisis afecta ligeramente a la determinación de triglicéridos, similar a lo descrito por otros autores (137), y distinto a lo publicado por Sonntang (152), que no encontraba interferencia por la hemólisis.

Todas las interferencias encontradas y debidas a la presencia de fármacos son negativas; entre ellas, la debida al reductor ácido ascorbico (66.8%), resultado que es similar a lo publicado por otros autores (71). Interferencias negativas que se producen en el método de Trinder mediante la reducción del peróxido de hidrógeno producido en la reacción catalizada por la glicerol-fosfato-oxidasa.

Dentro de las interferencias negativas, deben ser reseñadas las producidas por los siguientes fármacos: Acido Ascorbico (66.8%), Metildopamina (80.3%), Levodopamina (59.1%), Fenilbutazona (65%), Dobexilato Calcio (56.3%) y Rifampicina (63.6%).

Colesterol.-

La bilirrubina, como era de prever y debido al hecho de ser un reductor produce una interferencia en este caso negativa fuerte en la determinación del colesterol por el método de Trinder. En este método se produce peróxido de hidrógeno a través de la reacción catalizada por la colesterol-oxidasa. Resultado que coincide con lo obtenido por otros autores, como Pesce y cols (165), en cuanto al tipo de interferencia.

También la hemoglobina produce una interferencia positiva (105.5%), aunque esta interferencia no haya sido descrita por otros autores (10, 158, 165).

La interferencia por Acido ascorbico, aunque ampliamente descrita (147,165,166), no la hemos encontrado en este caso en el analizador en estudio.

Una característica común a las otras determinaciones que hacen uso del indicador de Trinder, es la presencia de interferencias negativas producidas por los siguientes fármacos: Metildopamina (95.6%), Levodopamiana (93.5%), Fenilbutazona (93%), y Dobexilato cálcico (94.2%). Interferencias negativas que son similares para las determinaciones tanto de ácido úrico, como de triglicéridos o como del colesterol, pudiendose de este hecho deducir un origen común y similar, para este tipo de reacción e interferencia.

Creatina quinasa.-

La hemoglobina produce una interferencia previsible y previamente descrita por otros autores como Landeson (151) o Sonntag (158). La bilirrubina y la turbidez por el contrario no producen interferencias significativas.

Son de destacar las interferencias casi generalizadas y que son producidas por los distintos fármacos: Acetilsalicílico (50.6%), Acido ascorbico (93.6%), Ciclosporina (121%), Acetilcisteína (50.6%), Fenilbutazona (93.8%), Dobexilato cálcico (83.7%), Rifampicina (91.3%) o Cefoxitina (110.9%).

Lactato dehidrogenasa.-

La hemólisis aumenta los valores de la Lactato dehidrogenasa (10,151,158); ya que como es sabido las células sanguíneas contienen de 150 a 300 veces más Lactato dehidrogenasa que el plasma (10, 167-169), y debido a esta elevada proporción la hemólisis según se ha descrito afecta los valores de Lactato dehidrogenasa con aumentos estimados del 6% al 11% por cada aumento de hemoglobina de 10 mg/dl producida por la hemólisis.

En nuestro estudio hemos encontrado resultados similares a los publicados, con una interferencia positiva fuerte debida a la hemólisis (253%). De este modo se justifica el que el aumento de Lactato dehidrogenasa en muestras con eritrocitos hemolizados sea considerado más que como una interferencia, como un verdadero incremento.

Por el contrario a lo que sucede con la hemólisis, la bilirrubina produce una interferencia negativa fuerte (95%), y puesto que la lectura de la reacción se hace a 340 nm en el UV, a través de la disminución de la concentración de NADH, se puede atribuir a esta interferencia un origen espectrofotométrico.

Con relación a la interferencia por fármacos la mayoría de los autores han estudiado la reacción en el sentido lactato a piruvato (170, 131, 132, 171), y se han encontrado varios tipos de interferencias. Sin embargo en el sentido piruvato a lactato se han realizado menos trabajos sistemáticos.

Nosotros hemos encontrado una interferencia negativa producida por el ácido ascorbico (92.8%), resultando que corrobora los trabajos de Van Steirteghen y cols (172), que encuentran una disminución de la Lactato dehidrogenasa del orden del 3 al 25%, tras la administración de ácido ascorbico, a varios individuos sanos, efecto que encontraba únicamente cuando se valoraba la Lactato dehidrogenasa en el sentido piruvato a lactato, (el mismo que se utiliza en nuestro trabajo), pero no se observaba ninguna interferencia en el sentido lactato piruvato.

Además de la anterior nosotros hemos encontrado interferencias positivas producidas por la Ampicilina (104.6%), Cefoxitina (105.1%), y Metronidazol (106.6%), y negativa debida a la Ciclosporina (95.2 %), Doxicilina (95.42%) y Dobexilato cálcico (94.1%).

Calcio.-

En la determinación del calcio por el método de la ortocresolftaleína (96), únicamente hemos encontrado interferencias producidas por la bilirrubina (95%) y no hemos encontrado interferencias por la hemoglobina, por la turbidez, ni por los fármacos estudiados.

Hierro.-

En general se ha descrito por Ladenson (151), que la hemólisis puede influir en los resultados para la determinación del hierro sérico, pero la magnitud citada de la interferencia ha sido variable, dependiendo del método analítico utilizado (151, 137).

En nuestro método, ferrozina (100), encontramos una interferencia positiva debida a la hemólisis, en la determinación del hierro (109.5%). La bilirrubina produce una interferencia positiva fuerte (109.5%), que puede ser atribuida fundamentalmente a la gran cantidad de color que la bilirrubina imprime a las muestras que la contienen. Con relación a la turbidez, a diferencia de otros autores (137), nosotros no hemos encontrado interferencias significativas.

Las interferencias por fármacos que hemos encontrado son debidas a la Ciclosporina (128.5%), a la Rifampicina (111) y a la Cefoxitina (82%). Es de destacar que en un trabajo realizado por San José y cols (173), encuentran que se produce una interferencia negativa por tuberculostáticos en la determinación del hierro, en concreto por la Rifampicina, pero esta discrepancia es perfectamente justificable debido a la diferencia en cuanto al procedimiento analítico utilizado.

Amilasa.-

Nuestros resultados indican, que no se produce interferencia por la hemoglobina, resultados distintos de los encontrados por Gosling y cols (174), que en dos métodos similares al utilizado por nosotros, y utilizado derivados del p-nitrofenolmaltoheptaóxido bloqueado, han encontrado la existencia de una interferencia negativa. La cual se postula que es debida a una disminución transitoria en la absorción alrededor de los 405 nm, y debido al propio espectro de absorción de la hemoglobina. Recomendándose que los procedimientos que se basan en este mismo procedimiento, y sobre todo para aquellos que se utilicen en los laboratorios de urgencias, que en muestras hemolizadas no sea determinada la amilasa. Recomendándose la comprobación de los resultados en una nueva muestra.

La bilirrubina por el contrario, produce una interferencia negativa fuerte en la determinación de amilasa (96.8%).

En este caso tampoco hemos encontrado interferencia significativa debida a la turbidez.

Los fármacos que afectan o interfieren en la determinación de amilasa son: el Acetilsalicílico (92%), la Ciclosporina (97.8%) y el Dobexilato Cálcico (94.1%).

Fosfato no esterificado.-

Según se ha publicado por Landeson (151), el glóbulo rojo parece contener poco fósforo inorgánico; sin embargo, después de hemólisis algunos de los ésteres de fosfato liberados del glóbulo rojo se

hidrolizan a fósforo inorgánico. Por tanto el aumento del fósforo inorgánico que sigue a la hemólisis depende del tiempo, de modo que suelen aumentar a razón de 4-5 mg/dl por día. Por eso, y en principio, es difícil cuantificar la influencia de la hemólisis en los valores del fósforo inorgánico, ya que ella depende del tiempo transcurrido hasta el análisis de la muestra después de haberse producido la hemólisis.

En nuestro estudio hemos encontrado una interferencia fuertemente positiva debida a la hemólisis (89.7%), lo cual confirma lo expuesto en el párrafo anterior desde el punto de vista teórico; pero que es distinto de lo informado por otros autores como Sonntang (152), que no detecta interferenciasen su analizador. Pero otros autores como Grafmeyer, si la constatan (137), e incluso otros autores como Glick y cols (6), que aunque la describen, informan que existen diferentes tipos de interferencias en diferentes analizadores y así para el ACA de Dupont, esta interferencia es negativa, pero para el Ektachem 700 de Kodac, esta interferencia es positiva.

Con relación a la bilirrubina hemos encontrado una interferencia negativa (96.3%), la cual puede deberse a las propiedades espectrales de la misma, esta interferencia también ha sido descrita por otros autores (137).

Con respecto a los fármacos, hemos encontrado que se produce una interferencia negativa con el Acetilcisteína (80.1%), la Rifampicina (74.5%) y el Metronidazol (106.1%). En la bibliografía consultada se describe una interferencia debida al ácido ascorbico (175), la cual no ha podido ser constatada en este trabajo.

Proteínas.-

En general, y desde el punto de vista teórico (151), la liberación de hemoglobina debida a la hemólisis aumenta los valores proteicos (176). En nuestro trabajo, se ha encontrado que se confirman los resultados anteriores, encontradose interferencias positivas debido a la hemólisis en la determinación de proteína (106.4%), lo cual confirma el trabajo de Glick y cols. (6), que describe también una interferencia positiva, en los analizadores Ektachem 700 e Hitachi-705, pero negativa en el ACA.

Para la bilirrubina, se produce una interferencia negativa en la determinación de las proteínas. Unicamente hemos encontrado que se produce una interferencia negativa debida a los fármacos Ciclosporina (97.7%)y Dobexilato cálcico la cual no ha sido descrita en la Bibliografía consultada (71).

Albúmina.-

Hemos encontrado que tanto la bilirrubina como la hemoglobina producen interferencias en la determinación de la albúmina por el método del verde de Bromocresol (99), respectivamente de signo negativo y positivo.

Se había descrito previamente (151), que la hemólisis aumenta los valores de albúmina medidos por este procedimiento (176), lo cual corrobora a su vez los resultados de Blank y cols (10).

Unicamente hemos encontrado en este trabajo interferencia debida al ácido ascorbico (96.9%) y a la Cefoxitina (104.5%).

Desde el punto de vista de los interferentes.-

La interpretación de los resultados del laboratorio depende de varios aspectos, dependen de factores fisiológicos, ambientales y farmacológicos.

Actualmente es difícil de determinar cual de los grupos de fármacos administrados puede actuar como interferente en un laboratorio clínico, de modo que un conocimiento de los fármacos que esta tomando un paciente es crítico a la hora de resolver y conocer las posibles interferencias. Hay que tener en cuenta que los fármacos pueden afectar a los resultados del laboratorio por medio de dos mecanismos básicos como son: por una parte un aspecto fisiológico o farmacológicos y b) por otra parte por una verdadera interferencia química.

6

Conclusiones

1.- La **Bilirrubina** produce interferencia negativa analíticamente significativa en la determinación de: glucosa (en todos los analizadores), creatinina (Hitachi), urato (todos), Aspartato aminotransferasa (Hitachi), Alanina aminotransferasa (Cx-7, Hitachi)), Gamma glutamiltransferasa (AU, Hitachi), ALP (Hitachi), Colesterol (todos los analizadores), Lactato dehidrogenasa (Hitachi), Calcio II (Hitachi), fosfato no esterificado (todos salvo 917), Proteínas totales (Hitachi, Cx-7), albúmina y amilasa (Hitachi), e interferencia positiva en la determinación de: triglicéridos (todos los analizadores) y de hierro (II+III) (Hitachi).

2ª.- La **Hemoglobina** produce interferencia negativa en la determinación de: urato, Gamma glutamiltransferasa (todos salvo AU), , Fosfatasas alcalinas, Hierro II+III (Hitachi), Amilasa (todos los anlizadores). Y también interferencia positiva en la determinación de: Aspartato aminotransferasa, Alanina aminotransferasa, Bilirrubina, creatina-cinasa, Triglicéridos, Colesterol, Lactato dehidrogenasa, Calcio (Eris. AU, y Hitachi 917), Fosfato no esterificado, Proteínas totales, Albúmina, Hierro (II+III),

3ª.- La **turbidez** interfiere en la determinación de glucosa (todos, salvo Cx-7), Urato (Eris, AU, Cx-7), Bilirrubina directa (Hitachi 717)..

4ª.- Respecto a las interferencias producidas por fármacos, únicamente la determinación de fosfatasas alcalinas y de calcio no presenta interferencias. La determinación de urea y de Gamma glutamiltransferasa está interferida por un solo fármaco de los estudiados, la ciclosporina, y la determinación de creatinina por cefoxitina. Y la determinación de proteínas y de albúmina está interferida por dos

fármacos de los estudiados, y el resto de los parámetros bioquímicos estudiados esta interferido por más de dos fármacos, destacando la determinación de creatinina quinasa que está interferida por nueve de los trece fármacos estudiados.

5ª .- Desde el punto de vista de los interferentes, la ciclosporina y el dobesilato cálcico son los fármacos que produce más interferencias (10 de 18 constituyentes estudiados), y la ampicilina y el metronidazol, son los que presentan menos interferencias, 1 y 2 de 18, respectivamente

1.- La **Bilirrubina** produce interferencia negativa analíticamente significativa en la determinación de: glucosa (en todos los analizadores), creatinina (Hitachi), urato (Eris-Au), Alanina aminotransferasa (Cx-7), Gamma glutamiltransferasa (AU, Hitachi), Colesterol (todos los analizadores), Lactato dehidrogenasa (Hitachi), Calcio II (Hitachi), fosfato no esterificado (todos salvo 917), Proteínas totales (Hitachi, Cx-7), y amilasa (Hitachi), e interferencia positiva en la determinación de: triglicéridos (todos los analizadores) y de hierro (II+III) (Hitachi).

2ª.- La **Hemoglobina** produce interferencia negativa en la determinación de: urato, Gamma glutamiltransferasa (todos salvo AU), , Fosfatasas alcalinas, Hierro II+III (Hitachi), Amilasa (todos los anlizadores). Y también interferencia positiva en la determinación de: Aspartato aminotransferasa, Alanina aminotransferasa, Bilirrubina, creatina-cinasa, Triglicéridos, Colesterol, Lactato dehidrogenasa, Calcio (Eris. AU, y Hitachi 917), Fosfato no esterificado (Hitachi), Proteínas totales, Albúmina, Hierro (II+III),

3ª.- La **turbidez** interfiere en la determinación de glucosa (todos, salvo Cx-7), Urato (Eris, AU, Cx-7), Bilirrubina directa (Hitachi 717)..

4ª.- Respecto a las interferencias producidas por fármacos, únicamente la determinación de fosfatasas alcalinas y de calcio no presenta interferencias. La determinación de urea y de Gamma glutamiltransferasa está interferida por un solo fármaco de los estudiados, la ciclosporina, y la determinación de creatinina por cefoxitina. Y la determinación de proteínas y de albúmina está interferida por dos fármacos de los estudiados, y el resto de los parámetros bioquímicos estudiados esta interferido por más de dos fármacos, destacando la

determinación de creatinina quinasa que está interferida por nueve de los trece fármacos estudiados.

5ª.- Desde el punto de vista de los interferentes, la ciclosporina y el dobesilato cálcico son los fármacos que produce más interferencias (10 de 18 constituyentes estudiados), y la ampicilina y el metronidazol, son los que presentan menos interferencias, 1 y 2 de 18, respectivamente

7

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA.-

1. - Fraser CG. Interpretación de datos bioquímico clínicos. 1ª ed. Barcelona Mayo, SA, 1986.

2. - Landeson JH. Nonanalytical sources of variation in clinical chemistry results. En: Sonnenwirt AC, Jarret L, dirs. Gradwohls clinical laboratory mehods and diagnosis. St Louis: Mosby, 1980: 135-74.

3. - Kroll MH, Ellin RJ. Interference with Clinical Laboratory Analyses. Clin Chem 1994; 40: 1996-2005.

4. - Castaño J L. Criterios para la interpretación de las interferencias en química clínica. En: monografía Interferencia analíticas en química clínica SEQC. Conferencias II Jornadas internacionales sobre interferencias analíticas. Sitges; 1993:25-37

5. - Munzenberger P, Emmanuel S. The incidence of drug-diagnostic test interferences in outpatients. Am J Hosp Pharm 1971; 28: 786-91

6. - Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 3rd de. , 1991 Supplement. Washington, DC: ACCC press, 1991: 360p.

7. - Kaplan LA; Pesce JA. Interferencias en el análisis espectral. En: Kaplan LA, Pesce JA, dirs. Química Clínica, teoría, análisis y

correlación. Buenos Aires. De. Médica Panamericana, 1986: 1163-76.

8. -Witte DL, Brown LF, Feld RD. Effects of bilirrubin on detection of hydrogen peroxide by use of peroxidase. Clin Chem 1978; 24: 1778-82.

9. - Castaño J L V, Amores A C. Interferencias causadas por la turbidez (lipemia) en la determinación de 14 constituyentes séricos. Química Clínica 1989; 8: 319-22.

10. - Blanck DW, Kroll MH, Ruddel ME, Ellin RJ. Hemoglobin interference from in vivo hemolysis. Clin Chem 1985; 31: 1566-9.

11. - Brydon W G, Roberts LB. The effect of hemolisis in determination of plasma constituents. Clin Chim Acta 1972; 41: 431-438.

12. - Watkins PJ. The effects of ketone bodies on the determination of creatinine. Clin Chim Acta 1967; 18: 191-6.

13. - Stephen K G, Khayan- Bashi H. Characterization of creatinine error in ketotic patient. Am J Clin Pathol 1985; 84: 659-64

14. - Sonnenblick M, Eylath U, Brisk R, Eldad C, Hershko C. Paraprotein interference with colorimetry of phosphate in serum of some patients with multiple myeloma. Clin Chem 1978; 24: 1778-82.

15. - Castaño Vidriales JL. Interferences in clinical Chemistry. Journal of IFCC, 1994; 6: 10-14.

16. - Kroll MH, Ruddel M, Blanck DW, Ellin RJ. A model for assesing interference. Clin Chem 1987; 33: 1121-23.

17. - Büttner J, Borth R, Boutwell LH , Broughton PMG, Bowyer RC. IFCC approved recommendation (1978) on quality control in clinical chemistry, Part I General principles and terminology. J Clin Chem Clin Chem 1979; 18: 69-77

18.- IFCC provisional recommendation on quality control in clinical chemistry. J Clin Chem Clin Biochem 1976; 14:270.

19.- Powers DM, Boyd JC, Glick MR, Kotschi ML, Letellier G. Miller WG. Interference testing in clinical chemistry: propossed guidelines. NCCLS Document EP7-P. Villanova PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.

20.- Siest G, Drawking JSJ. IFCC Expert Panel on Drug Effects in Clinical Chemistry. Part I. The basic concepts. J Clin Chem Clin biochem 1984; 92: 271-274.

21.- den Boef G, Hulanicki A. Recommendations for the usage of selective and related terms in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS publication EP-7-P. Villanova. Pa: NCCLS; 1986.

22.- International Union of Pure and Applied Chemistry. Definition and classification of interferences in anlytical procedures. Pure Appl Chem 1989; 61: 91-95.

23.- Kouwer JS. Estimating total analytical error and its sources. Technique to improve method evaluation. Arch Pathol Lab Med 1992; 116: 726-31.

24 .- International Union of Pure and Applied Chemistry. Definition and clasification of interferences in analytical procedures. Pure Appl Chem 1989; 61: 91-95

25.- Evenson M A. Phoyometry. In: Burtis CA, Ashwood ER dirs. Tietz de. Textbook of clinical chemistry. Philadelphia: Saunders, 1986; 104-131.

26.- Castaño Vidriales JL, Araquistain JLA. Interferencias causadas por la bilirrubina, hemoglobina y hemólisis en la determinación de 15 constituyentes séricos. Química Clínica 1989; 8: 47-55.

27.- Kroll MH, Roach N A, Poe B, Elin R J. Mechanism of Interference with the Jaffé Reaction for creatinine. Clin Chem 1987; 33: 1129-32

28.- Fossati P, Precipe L. La reatione di Emmerson-Trinder, studio dei vari cromogeni e analisi delle principalli interference. Quad Scalvo Diagn 1978; 14: 164-77.

29.- Blank D W, Kroll M H, Ruddel M E and Ellin R J. Hemoglobin interference from in vivo hemolysis. Clin Chem 1985; 31: 1566-9.

30.- Weber T H, Käpyaho K I, Teanner P. Endogenous interference in immunoassays in clinical chemistry. A rewiev. Scand J Clin Lab Invest 1990; 50 (Suppl 201): 77-82

31.- Farrell EC. Calcio. En: Kaplan LA, Pesce JA, dirs. Química Clínica, teoría, análisis y correlación. Buenos Aires. De. Médica Panamericana, 1986: 1239-45.

32.- Comisión efectos de los medicamentos SEQC. Documento B." Protocolo para la valoración in vitro de las interferencias por medicamentos". Boletín informativo SEQC 1989; 52: 9-16.

33.- Comisión efectos de los medicamentos SEQC. Documento C. "Protocolo para el estudio de interferencias analíticas por sistemas binarios de medicamentos". Boletín informativo Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular 1993; 76: 25-26.

34.- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; Proposed Guideline. NCCLS publication EP-7-P. Villanova, Pa: NCCLS; 1986.

35.- Peters T, Westgard JO. Evaluation of methods. In: Tietz de. Textbook of clinical chemistry. Philadelphia: Saunders, 1986; 410-423.

36.- Fraser C G. Calidad analítica deseable. Química Clínica 1989; 8: 73-75.

37.- Castaño V J L. Comisión efectos de los medicamentos SEQC. Documento D. "Estudio de las interferencias endógenas en química clínica". Quim Clin 1994; 13: 84-92.

38.- Castaño V J L. Comisión efectos de los medicamentos SEQC. Documento E. "Criterios para la valoración de la significación Clínica de la interferencias". Quim Clin 1995; 14: 107-109.

39.- Fraser C G, Hyltoft P, Lytken L M. Setting analytical goals for random analytical error in specific clinical monitoring situations. Clin Chem 1990; 36: 1625-1628.

40.- Fraser C G. The application of theoretical goals in proficiency testing. Arch Pathol Lab Med 1988; 11I: 404-415.

41.- Powers D M. Establishing and maintaining performance claims. A manufacturer´s viewpoint. Arch Pathol Lab Med 1992; 116: 718-725.

42.- Castaño V J L, San miguel H A. Algunos conceptos sobre interferencias analíticas endógenas. Rev Diagn Biol 1993; 42: 24-28.

43.- Gochman V, Schimitz JM. Application of a new peroxide indicator reaction to the specific automated determination of glucose with glucose oxidase. Clin Chem 1972; 18: 943-950.

44.- Gochman N, Schimitz JL. Automated determination of uric acid with use of a glucose-peroxidase system. Clin Chem 1971; 17: 1154-1159.

45.- Perstein MT; Thibert R J; Watkins R, Zak B. Spectrometric study of bilirrubin and hemoglobin interations in several hidrogen peroxide generating procedures [abstract] . Clin Chem 1977; 23: 113.

46.- Spain MA, Wu AHB. Bilirrubin 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.

47.- Castaño J L, Amores J. Comparación gráfica de la interferencia de la bilirrubina en determinación del colesterol con distintos reactivos comerciales. Rev Diag Biol 1987; 36: 29-31.

48.- Castaño J L, Areses J. Bilirrubin interference with determinationn of uric acid, cholesterol, tryglicerides and glucose in the Eris-analyzers. (Resumen). Quim Clin 1986; 5: 91.

49.- Walmsley R N, White G H. A guide to diagnostic clinical chemistry, 2nd ed. Melbourne: Blackwell Scientific publications, 1983.

50.- Creer MH, Ladenson J. Analytical error due to lipemia. Lab Med 1983; 14: 351-5.

51.- Blanck DW, Kroll MH, Ruddel ME, Elin RJ. Hemoglobin interference from in vivo hemolisis. Clin Chem 1985; 31: 1566-69.

52.- Meites S, Hogg CK: Direct spectrometry of total serum bilirrubin in the newborn. Clin Chem 1957; 3: 77-89.

53.- Elin RJ, Hosseini JM. Magnesium content of mononuclear blood cells. Clin Chem 1985; 6: 421-8.

54.- Behrendt H. Chemistry of erythrocytes. Springfield, IL: Charles C Thomas, 1957.

55.- Guder WG. Haemolysis as an influence and interference factor in clinical chemistry [Editorial]. J Clin Chem Clin Biochem 1986; 24: 124-6.

56.- Watkins PJ. The effect of ketone bodies on the determination of creatinine. Clin Chim Acta 1967; 18: 191-6

57.- Pierce GF, Garret NC, Koening J, Lichti DA, Chan K M. Interfernce by monoclonal proteins ins the o-phthaladehyde method for blood urea nitrogen. Clin Chem Acta 1986; 154: 233-6.

58.- Sonnenblick M, Eylatn U, Brisk R, Eldad C, Hershko C. Paraprotein interference with colorimetry of phosphate in serum of some patients with multiple myeloma. Clin Chem 1986; 32: 1537-9.

59.- Artiss JD, Winogradow S, Zak B. Spectrometric study of several sensitive agent for srum iron. Clin Biochem 1981; 14: 311-315.

60.- Dermn DP, Green A, Bothewell TH, Graham B, McNamara L, MacPhail P, Baynes RD. A systematic evaluation of

bathophenanthroline ferene in an ICSH-based method for measurement of serum iron. Ann Clin Biochem 1989; 26: 144-7.

61.- Duffy JR, Gaudin J. Copper interference in the determination of iron in serum using ferrozine. Clin Biochem 1977; 10: 122-3.

62.- Castaño VJL, Araquístain A JL, Amores AC. Evaluación de un método directo para la determinación de hierro (II+III) con ferrozina modificado con tiourea. Quim Clin 1990; 4: 72-101.

63.- Stookey LL. A new spectrometric agent for iron. Anal Chem 1976; 48: 1216-20.

64.- Ratajczack HM, Pajdowski L. The system copper (II)- thiourea in =.1 N Nitric acid. J Inorg Nucl Chem 1974; 36: 459-61.

65.- Myara I, Myara A, Drupt F, Moatt N, Trivin F. Methemalbumin interference in various biochemical assays of plasma. Clin Chem 1988; 34: 1919-20..

66.- Klotzsch SG, McNamara JR. Triglyceride measurements; a review of methods and Interfernces. Clin Chem 1990; 36: 1605-13.

67.- Kelley W N. Effects of drugs on uric acid in man. Ann Rev Pharmacol 1975; 15: 327-330.

68.- Elin ES. Bromide interferes with determination of cloride by each of four methods. Clin Chem 1981; 27: 778-779.

69.- Gascon N, Otal C, Martinez- Bru C, Mercé J, Cortes N, Arcelus R, Queraltó JM, Sanchez JM, Gonzalez-Sastre F. Dipyrone Interference on several common Biochemical test. Clin chem 1993; 39: 1033-6.

70.- Gascon N, Martinez BRU C, Márquez M, Mercé J, Cortés M. Interference du dipyrone dans la determination enzymatique de la creatinine avec un Kodac Ektachem 700. Ann Biol Clin 1992; 50: 355-6.

71.- Siest G, Galteau MM, Schiele F, Henry J. Análisis clínicos y medicamentos. Interferencias analíticas y variación farmacológica, 1ª ed. Barcelona: Ediciones Doyma, 1987.

72.- White-Stevvens R, Stover RC. Interference by Ascorbic acid in test Systems involving peroxidase II. Redox coupled indicator systems. Clin Chem 1982; 28: 589-95.

73.- Siest G, Dawkins SJ, Galteau MM. Drug effects on laboratory test. J Pharm Biomed Anal 1983; 1: 247-57.

74.- Witte DL, Matrix effects in therapeutic drug monitoring surgerys. Arch Pathol Lab Med 1993; 117: 373-80

75.- Kroll MH, Chesler R, Elin RV. Effect of lyophilization on results of five enzymatic methods for cholesterol. Clin Chem 1989; 35: 1523-6.

76.- Ross JW, Myers GK, Gilmore BF, Cooper GR, Naito HR, Eckfeltdt J. Matrix effects and accuracy of cholesterol analysis. Arch Pathol Lab Med 1993; 117: 393-400.

77.- Glick M R, Ryder K W, Jackson S A. Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. Clin Chem 1986; 32: 470-475.

78.- Glick M R, Ryder K W, Jackson S A. "Interferograms" designed to depict the influence of interfering substances on many clinical chemistry instruments (Abstract). Clin Chem 1983; 29: 1028.

79.- Franzini C, Morelli AM, Gattozzo G. Use of a Synthetic soluble bilirrubin derivative to asses Interference in creatinine measurements. Clin Chem 1991; 37: 236-238.

80.- Meites S. Reproducibly simulating hemolysis for evaluating its interference with chemical methods. Clin Chem 1973; 19: 1319-21.

81.- Breuer J. Report on the Symposium "Drug Effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 385-386.

82.- Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose-oxidase with an alternative oxygen aceptor. Ann clin Biochem 1969; 24: 6-7.

83.- Talke H, Schubert GE. Enzymatische Herstoffbestimmung in Biut und serum mi optischem test nach warburg. Klin Wochenschr 1965; 43: 174-5.

84.- Bartels H, Bohmer M, Heierli C. Serum creatinina determination without protein precipitation. Clin Chim Acta 1972; 37: 193-197.

85.- Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 2,5-diclo-2-hydroxybencenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. Clin Chem 1980; 26: 227-231.

86.- Bergmeyer HU, Horder M IFCC Scientific Committee, Analytical Section: approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase (L-aspartate: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.1). Clin Chem 1986; 24: 497-510.

87.- Bergmeyer HU, Horder M IFCC Scientific Committee, Analytical Section: approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase (L-alanine: 2-oxoglutarate aminotransferase, EC 2.6.1.2). J Clin Chem Biochem 1986; 24: 481-495.

88.- Persijn JP, van del Slik W. A new method for the determination of gamma-glutamyltransferase in serum. J Clin Chem Clin Biochem 1976; 14: 421-427.

89.- Jendrassik L, Grof P. Verisfache photometrische methodem zur bestimung des blutbilirubins. Bioch Ztochr 1938; 81: 297-300.

90.- Jendrassik L, Grof P. Verisfache photometrische methodem zur bestimung des blutbilirubins. Bioch Ztochr 1938; 81: 297-300.

91.- Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. Clin Chem 1982; 28: 2077-80.

92.- Siedel J, Hagele EO, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. Clin Chem 1983; 29: 1075-1080.

93.- Expert Panel on Enzymes, IFCC: IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. V: IFCC method for alkaline phosphatase. J Clin Chem Clin Biochem 1983; 21: 731-748.

94.- Szasz G, Gruber W, Bernt E. Creatine kinase in serum: 1. Determination of optimum reaction conditions. Clin Chem 1976; 22: 650-656.

95.- Lorentz K, Klauke R, Schmidt E. Recommendation for the determnation of the catalytic concentration of lactate dehydrogenase at 37 degrees C. Standardization Committee of the German Society for Clinical Chemistry, Enzyme Workinf Group of the German Society for Clinical Chemistry. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1993; 31: 897-899.

96.- Gindler EM, King JD. Rapid colorimetric determination of calcium in biologic fluids with methylthymol blue. Am J Clin Pathol 1972; 58: 376-382.

97.- Henry RJ. Clinical Chemistry: principles and technics, ed 2, New York 1974, Harper & Row, Publishers, Inc, p 726.

98.- Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. Am J Clin Pathol 1946; 16: 40-49.

99.- Doumas BT, Biggs HG. Determination of albumin in human serum. Stand Methods Clin Chem 1972; 7: 175-188.

100.- Carter P. Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). Anal Biochem; 1971: 40: 450-458.

101.- Kruse-Jarres JD, Kaiser C, Hafkenscheid JC, Hohenwallner W, Stein W, Bohner J, Klein G, Poppe W, Rauscher E. Evaluation of a new alpha-amylase assay using 4,6-ethylidene-(G7)-1-4-nitrophenyl-(G1)-alpha-D-malthose as substrate. J Clin Chem Clin Biochem 1989; 27: 103-113.

102.- Neese JN. Glucose, direct hexoquinase method: Selected methods. Clin Chem 1982; 9: 241-248.

103.- Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin Chem 1974; 20: 470-475.

104.- Bucolo G, David H. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. Clin Chem 1973; 19 : 476-480.

105.- Klotzsch SG, McNamara JR. Triglyceride measurements: a review of methods and interferences. Clin Chem 1990; 36: 1605-13.

106.- Keiding R, Horder M, Gerhardt W. (Committee on Enzyme, Scand Soc for Clin Chem and Clin Physiol). Recommended methods for the determination of four enzymes in blood. Scand J Clin Lab Invest 1974; 33: 291-306.

107.- Szasz G. A kinetic photometric method for srum gamma-glutamiltranspeptidase. Clin Chem 1969; 15: 124-136.

108.- Jaffé MZ. Ueder den Niederschlag, welcher pikrinsäure in normalen har erzeugt and uebr eine neue reaction des kretinine. Z Physiol Chem 1986; 10: 391-400.

109.- Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reagent. J Biol Chem 1949; 177: 751-766.

110.- Weichselbaum TE. Accurate and rapid method for determination of proteins in small amount of blood serum and plasma. Am J Clin Pathol 1946; 10: 40-45.

111.- Daly JA. Ertindshausen G. Direct Methods for determining inorganic phosphorus in serum with the "centrifichem". Clin Chem 1972; 18: 263-265.

112.- Simonsen DG, Wietman M, Westover LM, Mehl JW. The determination of serum phosphate by the molybdivanadate method . J Biol Chem 1946; 166: 747-750.

113.- Goodwin JF, Murphy B, Guillmette M. Direct measurement of serum iron and binding capacity. Clin Chem 1966; 12: 47-57.

114.- Banauch D, Brümer W, Ebeling W: Eine Glucose-Dehydrigenase für die Glucose-Bestimmung in Köperflüssigkeiten. Z Klin Chem Biochem 1975; 13: 101-107.

115.- Bush JL, Campbell J, Sanderson JA. Performance of a glucose procedure based on the glucose dehidrogenase reaction on Technicon continuous flow equipment. Clin chem 1981; 27: 1050-3.

116.- Gitelman HL. An improved automated procedure for the determination of calcium in biochemical specimens. Anal Biochem 1967; 18: 521-531.

117.- Daly JA and Ertingshausen G. Direct method for determining inorganic phosphate in serum with the centrifichem. Clin Chem 1972; 18: 263-265.

118.- Kadish AH, Hall DA. " A new method for the continuous monitoring of blood glucose by measurement of dissolved oxygen". Clin Chem 1965; 11: 869-72.

119.- Horak E, Sunderman W. Measurement of serum urea nitrogen ion conductivitimetric urease assay. Annals of Clin lab Science 1972; 2: 6-9.

120.- Malloy HT, Evelyn KA. The detemination of bilirrubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 119: 481-490.

121.- Pierre KJ, Tung KK, Nadj H. A new enzymatic kinetic method for determination of α-amylase Clin chem 1976; 22: 219-22.

122.- Fraser CG. Hayltoft PP, Lytken LM. Setting analytical goals for random analytical error in specific clinical monitoring situations. Clin Chem 1990; 36: 1625-8.

123.- Fraser CG. Desirable performance standars for clinical chemistry test. Adv Clin Chem 1983; 23: 299-139.

124.- Harris EK. Statistical principles underlying analytical goals-setting in clinical chemistry. Am J Clin Pathol 1979;72: 373-82.

125.- Spain M A, Wu A H B. 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.

126.- Fossati P, Principe L, Berti G. Enzymic creatinine Assay: A new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. Clin Chem 1983; 29: 1494-1496.

127.- Lott JA, Turner K. Evaluation of Trinder´s glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. Clin Chem 1975; 21: 1.754-7.

128.- Zoppi F, Fenili D. Drug interferences in reactions for detecting hydrogen peroxide by means of peroxidase. Clin Chem 1980; 26: 1299-1305.

129.- Jelic-Ivanovic Z, Majkic-Singh N, Spasic S, Todoovic P, Zinanov-Stakic D. Interference by analgesic and antirheumatic drugs in 25 common laboratory assays. J Clin Chem Clin Biochem 1985; 23: 287-292.

130.- Sharp P. Interference in glucose oxidase-peroxidase blood glucose methods. Clin chim Acta 1972; 40: 115-119.

131.- Vinet B, Letellier G. The in vitro effects of drugs on bichemical parameters determined by a SMAC system. Clin Biochem 1977; 10:47-50.

132.- Panek E, Young DS, Bente J. Analytical interferences of drugs in clinical chemistry. Am J Med Technol 1978; 44:217.

133.- Singh HP, Hebert MA, Gault MH. Effect of some drugs on clinical laboratory values as determined by technicon SMA 12/60. Clin Chem 1972; 18: 137.

134.- Moore B, Paterson MEL, Sturdee DW, Whiteheah TP. The effect of menopausal status and sequential mestranol and noerthisterone on serum biochemical profiles. Br J Obstrect Gynaecol 1981; 88: 853-6.

135.- Kaplan A L, Pesce J A: Química Clínica. Teoría, análisis y correlación. 1ª Ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1986.

136.- Letellier G, Desjarlais F. Analytical interference of drugs in clinical chemistry: II- The interference of three cephalosporins with the determination of serum creatinine concentration by the Jaffe reaction. Clin Biochem 1985; 18: 352-256.

137.- Grafmeyer D, Bondon M, Manchon M, Levillain P. The influence of bilirubin and turbidity on 20 analytical test performed on automatic analysers. Results of an interlaboratory study. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995; 33: 31-52.

138.- Soldin S J, Henderson L. Hill J G: The effect of bilirrubin and ketones on reaction rate methods for the measurement of creatinina. Clin Biochem 1978; 11: 82-86.

139.- Guy JM, Legg EF. Bilirrubin Interference in Determinations of Creatinine with the Hitachi 737 Analyzer. Clin Chem 1990; 36: 1851-1852.

140.- Kroll MH, Roach NA, Poe B, Elin R. Mechanism of interference with the Jaffé reaction for Creatinine. Clin chem 1987; 33: 1129-1132.

141.- O´Leary N, A. Pembroke, Duggan PF. A Simplified Procedure for Eliminating the Negative interference of bilirrubin in the Jaffé reaction for Creatinine. Clin Chem 1992; 39: 1749-1751.

142.- Weber JA, van Zanten AP. Interferences in current methods for measurements of creatinine. Clin Chem 1991; 37: 695-700.

143.- Kenny D. A study of interfernces in routine methods for creatinine measurement. Scand J Clin Lab Invest Suppl 1993; 212: 43-47.

144.- Guay DR, Meatheral RC, Macaulay PA. Interference of selected second and thrid generation cephalosporins with creatinine determination. Am J Hosp Pharm 1983; 40: 435-438.

145.- Sherman RA, Eisinger RP, Weinstein MP, Samel J. Cefoxitin induced pseudo acute renal failure. Clin ther 1981; 4: 114-117.

146.- Kroll MH, Elin RJ. Mechanism of cefoxitin and cephalothin interference with the Jaffe method for creatinine. Clin Chem 1983; 29: 2044-2048.

147.- Siest G, Appal W, Blijenberg GB, Capolaghi B, Galteau MM, Heusghem C, Hjelm M, Lauer KL, Le Perron B, Lapponet V, Love C, Royer RJ. Tognoni C, Wilding P. Drug interference in clinical chemistry: Studies on ascorbic acid.

148.- Kamoun P, Fargis F, Hebert C. Lafourcade G. ultramicromethode automatisée de dosage de l´acide urique plasmatique. Ann Biol Clin 1976; 34: 387-91.

149.- Fossati P, Prencipe L, Berti G. Use of 3,5-dicloro-2-hydroxybenzene sulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymatic assay of uric acid in serum and urine. Clin Chem 1980; 26: 227-230.

150.- Bierer DW, Quebbemann AJ. Interference of levodopa and its metabolites with colorimetry of uric acid. Clin Chem 1981; 27: 756-758.

151.- Landeson J H. Nonanalytical sources of variation in clinical chemistry results. En: Sonnenwirth AC, Jarret L, dirs, Gradwohls Clinical laboratory methods and diagnosis. St Louis: Mosby, 1980: 135-174.

152.- Sonntag O. Haemoysis as an interference factor in clinical Chemistry. J Clin Chem clin Biochem 1986; 24: 127-139.

153.- Elliot HC. Effects of vitamin C loading on serum constituents in man. Proc Soc Exp Biol Med 1982; 169: 363.

154.- Caraway WT, Kammeyer CW. Chemical interference by drugs and other substances with clinical laboratory test procedures. Clin Chim Acta 1972; 41: 395-400.

155.- Tighe D, Jones B. Metronidazole interference with continuous-flow spectrophotometry of aspartate aminotransferase. Clin Chem 1979; 25: 2057-8.

156- Karlsen RL, Kristiensen G, Solberg JF. Effects of metronidazole (Flagyl) on the determination of serum ASAT on the SMA 12/60 Auto Analyser. Scand J Clin Lab Invest 1983; 43: 175-177.

157.- Szasz G. Reaction rate method for gamma-glutamyltransferase activity in serum. Clin chem 1976; 22: 2051-5055.

158.- Jay DW, Provasek D. Characterizadtion and mathematical correction of hemolysis interference in selected Hitachi 717 assays. Clin Chem 1993; 39: 1804-1810.

159.- Hitz J, Henny J, Steinmetz J, Siest G. Effects de 4 spécialités antihypertensives (Aldomet, Envacar, Tenormine, Tensionrme) sur les examens de laboratoire dans une ppopulation ambulatoire. J Suivi Ther 1983; 1: 9-11.

160.- Ballantyne FC, Borland W, Birrell RC, Davidson H. Haemolysis and plasma alkaline phosphatase activity. Ann Clin Biochem 1988; 25: 192-193.

161.- Whitlow KJ; Gochman N, Zettner A. Potential bilirrubin interference with the Technicon SMAC alkaline phosphatase activity measurement. Clin Chem 1980; 26: 359-362.

162.- Böhme HR, Lasek R, Ludening R. Experiemntal investigation on the influence of drugs on the results of laboratory methods. ZBL Pharm 1981; 120: 582-584.

163.- Miggiano GA, Mordente A, Martorana GE, Meucci E, Castelli A. Characterization of alkaline phosphatase inactivation by ascorbic acid. Biochim Biophys Acta 1984; 789: 343-346.

164.- Miggiano GA, Mordente A, Martorana GE, Meucci E, Castelli A. Ascorbic acid and alkaline phosphatase activity. Enzymen 1983; 30: 145-148.

165.- Pesce MA; Bodourian SH. Interference with the enzymic measurement of cholesterol in serum by use of five reagent kits.

166.- White-Stevenz RH. Interference by ascorbic acid in test systems involving peroxidase.I. Reversible indicators and the effects of copper, iron, and mercury. Clin Chem 1982; 28: 578-588.

167.- Bais R, Prior M P, Edwards A G. Plasma lactate dehydrogenase activity will be increased if detergent and platelets are present *Clin Chem* 1977 ;23:1056-1058

168.- Rothwell DJ, Jendrzejczak B, Becker M, Doumas BT Lactate dehydrogenase activities in serum and plasma. *Clin Chem* 1976; 22:1024-1026.

169.- Cohen L, Larson L Activation of serum lactic dehydrogenase. *N Engl J Med* 1966; 9:465-470.

170.- Koch P, Sidloi M, Tonks DB. Estimation of serum ascorbic acid in patients and the effects of ascorbic acid and its oxidation products on SMA 12&60 parameters. Clin Biochem 1980; 13: 73-75.

171.- Jelic Z, Majkic-Singh N, Spasic S, Todorovic P, Zivanov-Stakic D. Effects of analgesic and antirheumatic drugs on the assay of serum anzymes. J Clin Chem Clin Biochem 1984; 22: 559.

172.- Van Steirteghem AC, Robertson EA. Young DS. Influence of large doses of ascorbic acid an laboratory test results. Clin Chem 1878; 24: 54-57.

173.- San Jose ME, Sarandeses S, Alvarez D, Valdes L, Chomon B, Del Rio MJ. Determination of iron by the Ferrochem II: interference by tuberculostatics. Scand J Clin Lab Invest 1993; 53: 653-658.

174.- Gosling P, Zareian M. Fresh haemolysis interferes with blocked p-nitrophenylmaltoheptaoside amylase methods. Ann Clin Biochem 1994; 31: 371-373.

175.- Siest G, Appel W, Blijenberg GB, Capolaghi B, Galteau MM, Heusghem C, Hjelm M, Lauer KL, Le Perron B, Loppinet V, Love C, Royer RJ, Tognoni C, Wilding P. Drug interference in clinical chemistry: Studies on ascorbic acid. J Clin Chem Clin Biochem 1978; 16: 103-106.

176.- Brydon WG, Roberts L B. The effect of haemolysis on the determination of plasma constituents *Clin Chim Acta* 1972 ; 41:435-438

8

Abreviaturas

ABREVIATURAS.-

IFCC.-	International Federation of Clinical Chemistry.
IUPAC.-	International Union of Pure and applied Chemistry.
S.E.Q.C..-	Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular.
Xc.-	Concentración de decisión crítica.
EP.-	Error permisible o error máximo tolerable.
LICS.-	Límite de interferencia clínicamente significativa.
ATP.-	Adenosina trifosfato.
CK.-	Creatina-cinasa.
d.-	interferencia
s.-	Desviación estándar
m.-	Pendiente.
n.-	Ordenada en el origen.
Sy.x.-	Desviación estándar ligada.
r.-	Coeficiente de correlación.