

CASO CLÍNICO

Se recibe una llamada en el laboratorio acerca de un resultado de amonio indetectable ($<10 \mu\text{mol/L}$), que no concuerda con la situación clínica del paciente.

El paciente es un niño de 3 años, ingresado en la unidad de cuidados intensivos con un cuadro de fallo hepático agudo y síntomas neurológicos de encefalopatía hepática. La determinación se ha realizado en un Dimensión Vista 1500 (Siemens Healthineers), utilizando el método enzimático comercial más habitual (glutamato deshidrogenasa, lectura a doble longitud de onda (340/700) sin corrección de blanco). Los controles de calidad correspondientes a la serie analítica se encontraban dentro de las especificaciones de calidad del laboratorio. Se revisa la muestra enviada al laboratorio (tubo de plasma heparina de litio con gel separador) y no se observa alteración visual. Se confirman los índices séricos realizados simultáneamente a la determinación de amonio observando un índice hemolítico = 1 (equivalente a $<10 \text{ mg/dL}$ de hemoglobina), por debajo del límite de rechazo establecido en el laboratorio para la interferencia por hemólisis en el amonio (índice hemolítico 4, equivalente a 200 mg/dL de hemoglobina). La muestra es ligeramente ictérica (índice ictérico = 2, equivalente a 2 mg/dL de bilirrubina) y no se observa turbidez (índice lipémico = 1).

Se confirma el correcto cumplimiento de los requerimientos preanalíticos para la determinación de amonio. La muestra se recibió en mano por parte del personal de la UCI, transportada inmediatamente tras la extracción y mantenida en hielo hasta su llegada al laboratorio. La extracción se realizó sin compresión (vía central) y no se destaponó hasta su procesamiento, que se realizó 30 minutos tras la recepción. La muestra se centrifugó en frío (10 minutos 2.800 g) y se procesó abierta en el cargador de urgencias del equipo.

Se informa a la UCI y se solicita una nueva muestra del paciente para confirmación. Se verifica de nuevo que el procedimiento preanalítico y analítico es correcto en la nueva muestra, que de nuevo obtiene un resultado $<10 \mu\text{mol/L}$. Cuando se comunica el resultado al pediatra este nos insiste en que la situación clínica del paciente le hace sospechar hiperamonemia y comenta que en otras ocasiones similares ha tenido resultados anormalmente bajos.

Se efectúa un estudio de dilución seriada con suero salino en la muestra obteniendo los siguientes resultados (Tabla 1):

Dilución	Resultado amonio (corregido por factor de dilución)
Puro	<10 µmol/L
Dilución 1/2	38 µmol/L
Dilución 1/4	63 µmol/L
Dilución 1/6	68 µmol/L
Dilución 1/8	<80 µmol/L

Tabla 1. Resultados obtenidos en la muestra problema aplicando diluciones seriadas.

Se observa que los resultados en las muestras diluida 1/4-1/6 son compatibles con la eliminación de un posible interferente. En la muestra diluida 1/8 probablemente la concentración de amonio en la muestra diluida se encuentra por debajo del límite de detección del procedimiento (10 µmol/L). Al haberse indicado en el instrumento la dilución manual el equipo multiplica el límite de detección por el factor de dilución ($<10 \mu\text{mol/L} \times 8 = <80 \mu\text{mol/L}$). Este hecho apoya una concentración real de amonio en el paciente alrededor de 68 µmol/L, que corresponde a una encefalopatía hepática de grado II.

Se solicita información sobre la medicación actual del paciente, destacando la infusión intravenosa hace 2 horas de un bolo de vitamina K (10 mg) como prevención de trastornos hemorrágicos en el paciente.

Se revisa la información para los usuarios suministrada por el fabricante sobre posibles interferencias y no figura en la lista de fármacos evaluados como posibles interferentes, por lo que se decide efectuar un estudio dosis-respuesta para el que se utilizan 3 muestras con distintas concentraciones de amonio (dos muestras de pacientes y una muestra mezclada con calibrador de amonio). Se preparan siete alícuotas de cada muestra a las que se les añaden concentraciones crecientes de vitamina K (Konakion®) hasta conseguir concentraciones teóricas de 0,07, 0,29, 0,56, 1,11, 1,67 y 2,22 nM/L. Se determina el amonio por triplicado en todas las alícuotas y se obtienen los siguientes resultados (Tabla 2, Figura 1).

Vitamin K ₁ (nM/L)	Ammonia (µM/L); mean (SD from replicates)		
	A (16 µM/L)	B (102 µM/L)	C (301 µM/L)
0	16.6 (1.5)	101.6 (1.7)	300.9 (2.1)
0.07	19.8 (0.6)	100.3 (0.6)	290.5 (6.1)
0.29	14.9 (7.1)	112.0 (0.6)	303.1 (5.6)
0.56	11.7 (3.1)	111.0 (1.0)	252.4 (6.4)
1.11	20.0 (2.6)	92.0 (1.5)	231.0 (5.1)
1.67	10.2 (0.6)	77 (1.5)	205.6 (20.0)
2.22	Non-detected (<10)	70.6 (6.4)	129.2 (2.6)

Triplicate measurements were performed. Results are shown as mean and SD.

Tabla 2. Interferograma realizado con 3 muestras de concentraciones iniciales de 16, 102 y 301 µM/L de amonio. Adición de Vitamina K desde 0 hasta 2,22 nM/L

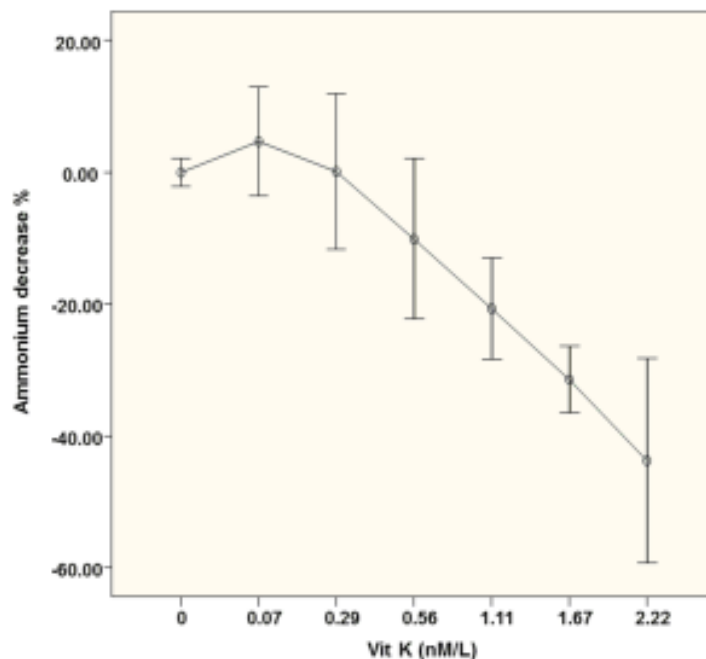


Figura 1. Representación gráfica del interferograma presentado en la tabla 2. Media e intervalo de confianza al 95 % de la diferencia porcentual respecto a la muestra basal (% Interferencia) de las 3 muestras utilizadas respecto a la concentración añadida de Vitamina K (nM/L).

Se demuestra una interferencia negativa de la vitamina K en la determinación de amonio. Utilizando una especificación de error máximo permisible del 12 % (especificación basada en el estado del arte, al no disponer en ese momento de información sobre variabilidad biológica), una concentración plasmática de 0,83 nM/L de vitamina K (entre 0,33 y 0,96 nM/L considerando intervalo de confianza), supone una interferencia clínicamente significativa.

Esta concentración plasmática de vitamina K es difícil de alcanzar con dosis normales de vitamina K, pero podría ser posible alcanzarse en caso de dosis muy elevadas, utilizadas en estos pacientes, en los que de forma adicional la situación de fallo hepático contribuye a alargar su vida media. En una de las muestras con interferencia, obtenida al poco tiempo de la inyección profiláctica de vitamina K se determina vitamina K en plasma mediante HPLC, obteniendo un resultado de 1,24 nM/L.

La posible causa del efecto interferente de la vitamina K en la determinación de amonio es la absorción del núcleo 2 metil-1,4 naftoquinona a una longitud de onda cercana al NADPH, cuya formación acoplada se utiliza para la determinación.

BIBLIOGRAFÍA

Alcaide MJ, Gomez-Rioja R, Louzao P, y cols. Vitamin K interference in the measurement of plasma ammonia. *J Clin Pathol* 2016;69(5):458-9.