



Fundación JL Castaño  
**SEQC**

**SEQC**<sup>ML</sup>

Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

2020-2021

## CURSO DE EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO

Ed. Cont. Lab. Clin 50: 38 - 58

---

### **INTERFERENCIAS ANALÍTICAS EN EL LABORATORIO**

**Rubén Gómez Rioja**

*Hospital Universitario La Paz, Madrid, España*

**Aleix Borja Fabregat Bolufer**

*Hospital Clínic, Barcelona, España*

#### **1.- INTRODUCCIÓN**

El error analítico debe entenderse de una forma amplia, atendiendo a su repercusión en el paciente, como cualquier diferencia entre el resultado de una prueba y la situación real en el paciente. Una parte de este error se debe al procedimiento de medida y se controla habitualmente mediante programas de control de calidad, pero una parte importante de los errores afectan a muestras individuales y escapan de los mecanismos de control de calidad. Recientemente se ha sugerido el término de errores irregulares o individuales para estos casos (Voseguer 2017), que pueden aparecer en cualquiera de las fases del proceso analítico.

La definición del error analítico total propuesta por Krouver en el documento CLSI EP21 en 2003 incluye 3 tipos de error; los errores dependientes del método, divididos en sistemáticos o aleatorios y los errores dependientes de la muestra. La validación de las pruebas diagnósticas debe incluir la evaluación de todos ellos.

El error asociado a la muestra incluye múltiples formas de error, desde errores pre-analíticos como el deterioro de la muestra hasta errores post-analíticos como fallos en la transcripción o interpretación del resultado. En este tema nos centraremos en las interferencias analíticas, definidas como la inexactitud debida al método analítico, clínicamente significativa, producida por la presencia en la muestra de una sustancia o una propiedad que denominaremos interferente. La principal diferencia respecto a los errores pre-analíticos es que no afectan a la concentración real del mensurando, sino al método de medición.

---

Por lo tanto, existe la posibilidad de utilizar un método alternativo que no se afecte por la interferencia o utilizar algún procedimiento para eliminar el interferente.

En un paciente concreto se provoca un error sistemático, relacionado con la cantidad del interferente presente, que puede ser erróneamente asignado a un cambio del estado de salud del paciente. El efecto global de la susceptibilidad a los interferentes de los distintos procedimientos de medida es la aparición de sesgos entre procedimientos que se reflejan en variaciones en la práctica clínica entre distintos entornos sanitarios, dependiendo del procedimiento de medida utilizado.

Dentro de la validación de un procedimiento de medida, un aspecto fundamental es la evaluación de su "especificidad analítica", que es una forma de explorar las posibles interferencias. En la información que debe suministrarse al usuario debe incluirse una investigación de al menos las causas más frecuentes o previsibles. Esta investigación debe hacerse según protocolos establecidos, de los cuales el más difundido es la guía EP7 del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Tanto la FDA en Estados Unidos, como la Directiva Europea 98/79/CE incluyen esta obligación para los fabricantes. A nivel del usuario, la norma ISO 15189 especifica que el laboratorio debe documentar, cuando proceda, las interferencias analíticas conocidas de un procedimiento de medida. Los laboratorios clínicos pueden utilizar estos mismos protocolos para verificar o validar los procedimientos de medida o pueden utilizar aproximaciones de estos protocolos para la evaluación de una muestra concreta sospechosa.

Los interferentes pueden ser endógenos o exógenos. Incluyen metabolitos producidos en condiciones patológicas (ictericia, hiperlipemia, paraproteínas, hiperglucemia,...), sustancias utilizadas como tratamiento (medicaciones, nutrición parenteral, sueroterapia, anticoagulantes...), sustancias ingeridas por el paciente (alcohol, suplementos nutricionales, colorantes...) o sustancias introducidas en la muestra durante su procesamiento (anticoagulantes, conservantes, componentes del contenedor...).

Los mecanismos de interferencia más frecuentes en relación a los procedimientos de medida más extendidos en los laboratorios son:

- Efecto químico: El interferente afecta a alguna de las reacciones de medida por similitud con alguno de los sustratos o enzimas utilizadas.
- Artefacto en la detección: el interferente tiene propiedades (color, fluorescencia, retención...) similares al mensurando.
- Efecto físico: provoca cambios en la viscosidad, fuerza iónica u otras propiedades que modifican la matriz o alteran la proporción de solvente, como ocurre en el caso de presencia de una cantidad anormalmente grande de lipoproteínas que disminuyen la cantidad de agua en la muestra.

- **Inespecificidad:** El interferente se asemeja al mensurado y es detectado como tal erróneamente. En el caso de reacciones antígeno-anticuerpo se trataría de una reacción cruzada con alguno de los componentes.

Aunque se incluyen habitualmente en el estudio de las interferencias, no siempre son interferentes las sustancias que aparecen en la muestra como resultado del paso de contenido intracelular durante el procesamiento de la muestra. La aparición de componentes intraeritrocitarios como el potasio o la LDH asociados a la hemólisis *in vitro* no provoca un error analítico en estos casos, aunque el resultado obtenido sea obviamente erróneo.

De las interferencias se puede hacer una clasificación pragmática (Zanninotto 2019) dependiendo de su detectabilidad. Así se define el tipo I o detectables por el aspecto de la muestra (hemolizada, ictericia o lipémica) frente al tipo II, en las que el aspecto de la muestra no se afecta. La extensión del uso de los índices séricos en las plataformas analíticas habituales permite detectar de forma sistemática las muestras "sospechosas" de interferencia de tipo I.

Hemólisis, ictericia y lipemia se consideraban clásicamente las "interferencias endógenas". Sin embargo, debemos considerar aspectos diferenciales. La hemólisis en los últimos años se ha reconocido como la principal causa de errores preanalíticos atribuibles al manejo de la muestra y por lo tanto evitables mejorando los procesos preanalíticos. Como hemos comentado, la mayoría de los errores debidos a la hemólisis no son realmente interferencias analíticas, sino la variación real de la magnitud en la muestra y por lo tanto no son susceptibles de eliminar mediante tratamiento de la muestra o cambio de procedimiento de medida. En el caso de lipemia e ictericia se trata más frecuentemente de condicionantes propios del paciente, no evitables, pero con la ventaja frente a la hemólisis *in vitro* de poder resolverlas mediante procedimientos de medida no interferidos o tratamiento de la muestra.

Respecto a la susceptibilidad del procedimiento de medida a las interferencias, es importante tener en cuenta que los procedimientos analíticos se han seleccionado a lo largo de los últimos años por su practicabilidad más que por su carácter definitivo. La espectrometría, el electrodo de ion selectivo y el inmunoanálisis son preferidos frente a procedimientos definitivos como la cromatografía, espectrometría de masas o absorción atómica. En el desarrollo tecnológico ha primado la capacidad de automatización y el precio frente a la especificidad del procedimiento de medida. Incluso en situaciones donde es posible elegir procedimientos de medida menos interferidos, como es el caso de la creatinina enzimática frente a la reacción de Jaffe. Todo esto a pesar de que en los procedimientos de medida convencionales se han introducido acciones para evitar las interferencias más habituales, como es el pretratamiento, blanco de reactivo o calibrador con matriz sérica.

Las interferencias de tipo II tienen una prevalencia poco estudiada, menor que las de tipo I, pero importante y además van a ser más frecuentes en el ámbito hospitalario donde la repercusión del error puede ser mayor por la toma de decisiones con más riesgo para el

paciente. Al no ser físicamente evidentes en la muestra, el laboratorio debe desarrollar estrategias para su detección mediante comparación con resultados previos del paciente e incorporación de la información sobre tratamientos o ingesta de posibles interferentes al proceso de verificación de resultados.

En el presente tema se repasarán los protocolos de estudio de las interferencias y predicción de su efecto, los principales tipos de interferencias analíticas en Química Clínica y los procedimientos para intentar eliminar las interferencias.

## 2.- PROTOCOLOS DE ESTUDIO DE INTERFERENCIAS.

Se revisarán especialmente el protocolo CLSI EP7 v3, "*Interference testing in clinical chemistry*" y la recomendación de la Comisión de Metrología de la SEQC<sup>ML</sup>. Ambos están orientados primariamente al uso por parte de los fabricantes para la validación de los procedimientos de medida mediante experimentos de adición del interferente a muestras conocidas. Los laboratorios clínicos pueden utilizar estos procedimientos para verificar la información del proveedor o para investigar muestras de pacientes con sospecha de interferencia. En el caso de las interferencias por hemólisis, ictericia o lipemia existe una guía específica del CLSI (C56-A), con un procedimiento de estudio igual a la guía EP7, pero incidiendo en la utilización de los índices séricos para su manejo.

Deben definirse una serie de cuestiones previas antes de entrar en el procedimiento concreto:

- Definición del criterio de aceptación (error máximo permisible (EMP)). Siempre debería estar definido a priori, antes de conocer los resultados de la evaluación, y estar basado en el uso clínico. Existe un amplio consenso sobre la estrategia para definir especificaciones en error total "analítico" (Consenso de Milán). Los resultados clínicos, la variabilidad biológica o el estado del arte, deben guiar de forma escalonada la selección de una especificación. Especificaciones genéricas, como el 10 %, deberían evitarse.
- Concentración de la magnitud interferida. El efecto interferente puede ser distinto dependiendo de la concentración del mensurando. Al menos deberían estudiarse de forma separada dos concentraciones clínicamente importantes. El CLSI suministra tablas con las concentraciones recomendadas para estudiar (puntos de decisión médica, nivel de toxicidad o cercanos a los límites de detección).
- Que interferentes comprobar y a que concentración. El CLSI propone una lista exhaustiva, que debe valorarse respecto a legislación y al uso previsto. La lista incluye el deterioro visible (hemólisis, ictericia y lipemia), medicaciones de uso habitual y sus metabolitos, metabolitos en concentraciones anormales en la población a estudiar, en relación a las patologías más prevalentes, así como las medicaciones específicas en estos casos. También deben incluirse sustancias que por su similitud puedan ser

causa de inespecificidad. Según el caso deben incluirse estudios con conservantes o anticoagulantes utilizados en muestras de uso alternativo, así como componentes del contenedor de la muestra o del dispositivo de extracción. También pueden incluirse sustancias de la dieta (cafeína, carotenos,...).

Respecto a la concentración del interferente a evaluar, en el caso de medicaciones debe ensayarse al menos 3 veces la concentración máxima esperada tras una dosis habitual. El CLSI mantiene tablas actualizadas en el documento anexo EP37, incluyendo sustancias exógenas y endógenas.

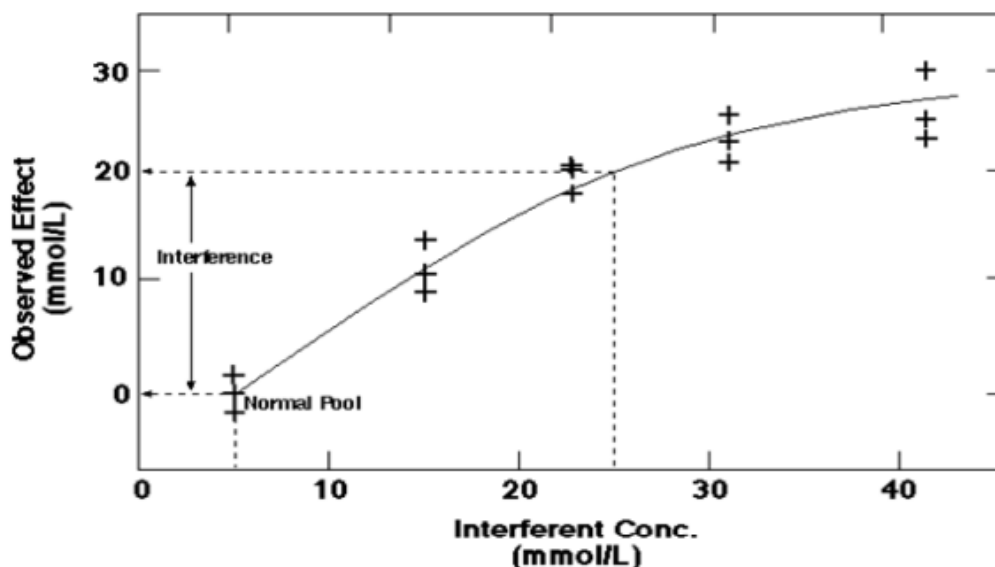
Una vez definidos estos aspectos, el CLSI propone un protocolo preliminar (*screening test*), utilizando una sola concentración añadida del interferente y si el resultado es sospechoso efectuar un estudio dosis-respuesta añadiendo concentraciones crecientes del interferente. Este segundo procedimiento es el recomendado inicialmente por la Comisión de Metrología de la SEQC<sup>ML</sup>. En caso de disponer de un procedimiento de medición alternativo no interferido se puede utilizar un protocolo de investigación utilizando muestras reales de pacientes.

### Protocolos de adición de interferente

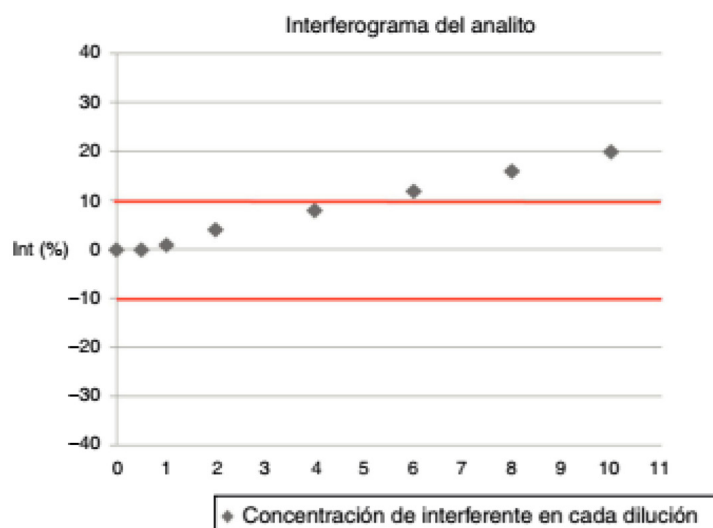
Protocolo preliminar: a partir de una mezcla de varias muestras se separan dos alícuotas. A una de ellas se le añade el interferente (muestra test) y se comparan los resultados obtenidos entre la muestra "basal" y "test". Se deben efectuar todas las determinaciones en una sola serie analítica para reducir el posible error sistemático entre series debido a modificaciones del sistema o re-calibración. Para evitar el error aleatorio deben efectuarse un número suficiente de replicados para disminuir la incertidumbre del estimador. El número de replicados depende de la relación entre el EMP y la imprecisión habitual. Como mínimo debe efectuarse por quintuplicado. La sustancia interferente se debe añadir en un volumen máximo del 5 %, para lo que es necesario partir de una solución de interferente altamente concentrada (20x la concentración a investigar). Con la media de los replicados se calcula el porcentaje de interferencia ( $\text{Int \%} = 100 \times (C_{\text{interferida}} - C_{\text{basal}}) / C_{\text{basal}}$ ) y se compara con la especificación de EMP. Aunque no es imprescindible, se puede calcular el intervalo de confianza a efecto de demostrar con una seguridad estadística la diferencia.

Si el protocolo preliminar demuestra interferencia se recomienda hacer un experimento dosis/respuesta. Para este experimento es necesario preparar varias alícuotas de una mezcla de muestras con concentraciones crecientes del interferente. El CLSI recomienda preparar las muestras mediante la combinación a partes iguales de la mezcla basal (sin adición de interferente, 0 %) y la mezcla a la que se añade la máxima concentración del interferente (concentración esperada del interferente 100 %) obteniendo una concentración esperada de interferente del 50 %, que se puede mezclar a su vez con la mezcla basal o interferida para obtener 25 % y 75 %. La SEQC<sup>ML</sup> recomienda la preparación de soluciones interferentes con distinta concentración, añadiendo un 5 % de estas soluciones a cada alícuota de la

mezcla de especímenes biológicos. Es recomendable efectuar duplicados en la medición, usando la media para calcular el porcentaje de interferencia de cada punto. Al menos dos concentraciones del mensurando en la solución base deberían ser investigadas.



**Figura 1a.** Experimento dosis-respuesta. Representación gráfica de la diferencia entre la muestra basal y las muestras con cantidades crecientes de interferente añadido (efecto observado) frente a la concentración de interferente añadido. La línea relaciona el criterio de error máximo permisible fijado por el laboratorio y su correspondencia en concentración del interferente. Ejemplo tomado de guía CLSI.



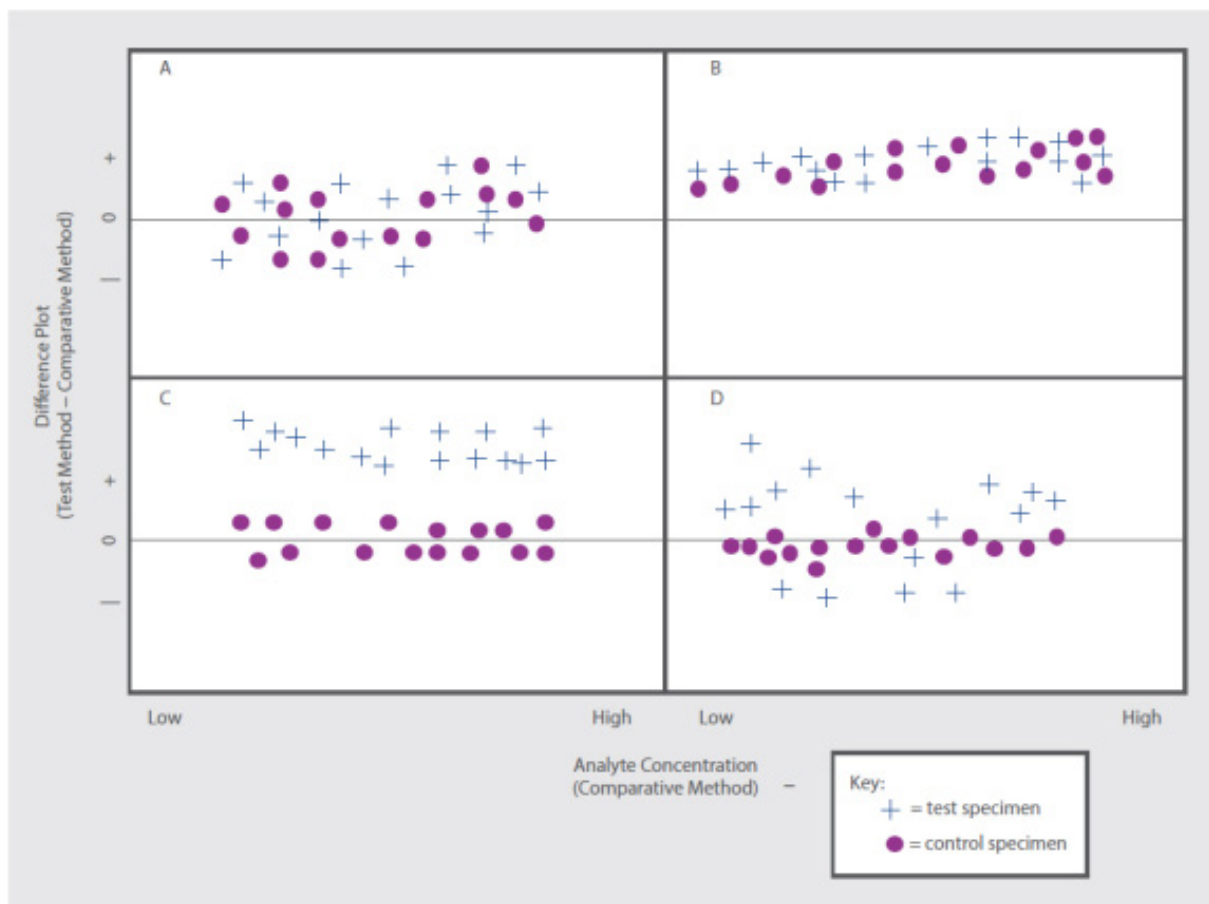
**Figura 1b.** Experimento dosis-respuesta. Representación gráfica de la diferencia porcentual entre la muestra basal y las muestras con cantidades crecientes de interferente añadido (% interferencia) frente a la concentración de interferente añadido. Las líneas rojas indican el criterio de error máximo permisible fijado por el laboratorio. Ejemplo tomado de recomendación de la Comisión de Metrología de la SEQC<sup>ML</sup>.

En la evaluación de los resultados se recurre a la representación gráfica o al ajuste de una ecuación que defina la interferencia (interferograma). Debe efectuarse una evaluación ini-

cial de los datos para valorar posibles valores aberrantes. Una vez descartados, se presenta el % de interferencia en el eje de ordenadas frente a la concentración del interferente en abscisas. Se marca la línea del máximo error admisible y se extrapola el punto de concentración a partir del cual la interferencia es superior a lo admisible (Figura 1a y 1b).

### Comparación entre procedimientos de medida con muestras de pacientes

Para efectuar este estudio es necesario disponer de un procedimiento de medida alternativo no interferido. Se seleccionan 40 muestras de pacientes con la condición interferente (uso de medicación o condición patológica; hiperglucemia o presencia de paraproteína por ejemplo) y 40 muestras "control" sin el interferente. Se analizan las muestras por ambos procedimientos de medida y se presentan las diferencias entre métodos frente a la concentración del mensurando (Figura 2).



**Figura 2.** Comparación de muestras con y sin interferente con dos procedimientos de medida distintos (tomado de guía CLSI EP7). A- no se observa interferencia, B- diferencia entre métodos no debida al interferente, C- Se detecta interferencia en uno de los métodos. El segundo método no se ve afectado, D- La alta variabilidad en el grupo test sugiere algún tipo de interferencia en el método en investigación, pero no se puede descartar efecto en el método de comparación.

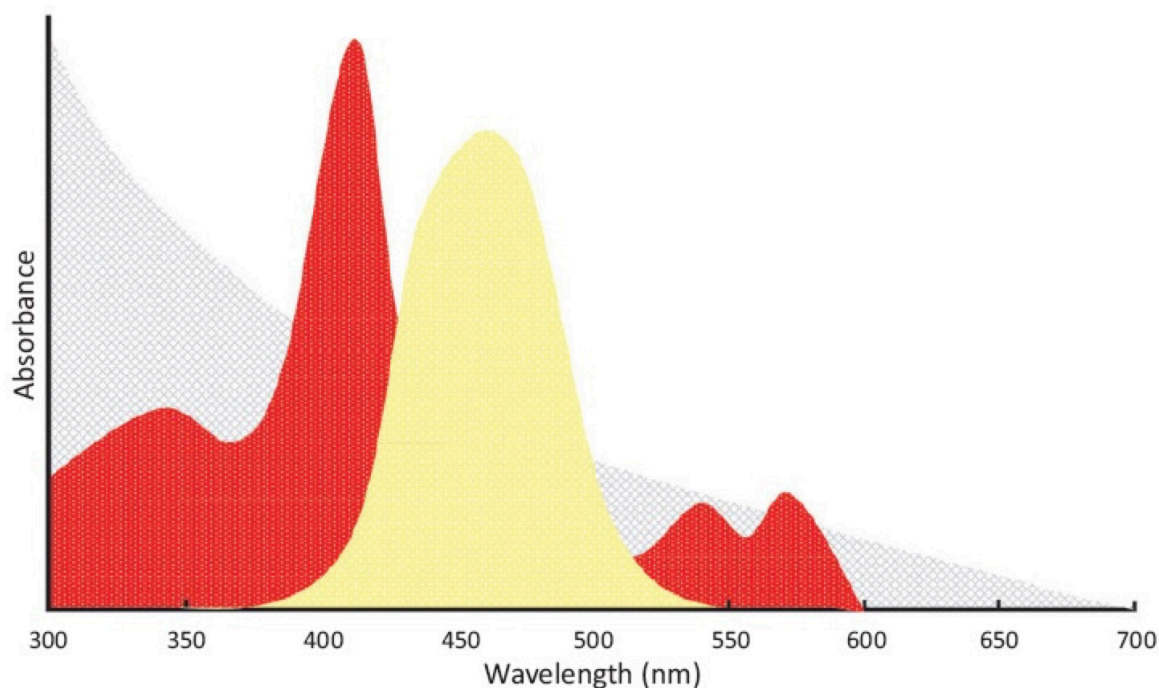
## Interferencia dependiente de la concentración del mensurando

Si los estudios con dos concentraciones diferentes del mensurando lo sugieren es posible efectuar un estudio para valorar el efecto conjunto del interferente y del mensurando. Deberá tenerse en cuenta este posible efecto a la hora de valorar el impacto clínico de la interferencia. Por ejemplo, la interferencia por glucosa en el método de Jaffe para creatinina es mayor en las muestras con concentraciones más bajas de creatinina, por lo que niños o pacientes con poca masa muscular se verán más afectados.

## 3.- INTERFERENCIAS EN ESPECTROMETRÍA / ELECTRODO DE ION SELECTIVO

### Interferencias de tipo I

Se engloban aquellos interferentes que son detectables en la muestra previamente a su análisis. Así pues, la presencia de hemoglobina, bilirrubina o lípidos, sustancias que absorben a diferentes longitudes de onda, producen cambios espectrofotométricos que pueden acarrear errores analíticos en la medición de magnitudes bioquímicas (Figura 3). Además, estos compuestos pueden producir interferencia química o afectar a los procedimientos de inmunoanálisis.



**Figura 3.** Espectro de absorción de la hemoglobina (rojo), bilirrubina (amarillo) y lípidos (gris). Extraído de *Serum indices: managing assay interference* Christopher-John L Farrell and Andrew C Carter.



## Hemólisis

Tradicionalmente ha sido considerado el error preanalítico más común que afecta a las determinaciones bioquímicas, suponiendo más del 60 % del total de muestras rechazadas en el laboratorio. Su causa puede ser endógena o exógena, siendo esta última la más habitual y apareciendo como consecuencia de una mala manipulación de la muestra.

Dicha hemólisis interfiere en las determinaciones a través de varios mecanismos, bien modificando la concentración del analito o interfiriendo en su medición. Así pues, la liberación del contenido intracelular de los eritrocitos aumentará las concentraciones de las sustancias presentes en el interior del eritrocito, como es el caso del potasio, folato, aspartato aminotransferasa (AST) y lactato deshidrogenasa (LDH) entre otros. Por el contrario, disminuirá la concentración de aquellas sustancias presentes en poca cantidad en su interior, como es el caso del sodio o del cloro. Esto se debe al efecto de dilución que se produce en dichas magnitudes. Como se ha comentado, la liberación de hemoglobina u otros componentes intracelulares también puede causar degradación del analito a determinar. Un ejemplo de ello, son las proteasas liberadas en la lisis de los eritrocitos, las cuales actúan degradando la insulina y el péptido C.

## Lipemia

La lipemia hace referencia a la turbidez de la muestra, causada por una elevada concentración de partículas lipoproteicas que producen un efecto de dispersión de la luz. El diámetro de estas lipoproteínas condiciona este fenómeno de dispersión. La frecuencia de dichas muestras oscila entre el 0,5 % y el 2,5 %, siendo su causa más habitual el inadecuado tiempo de espera entre la ingesta y la toma de la muestra.

Este exceso de lipoproteínas interfiere en resultados bioquímicos a través de una gran variedad de mecanismos. No obstante, principalmente este exceso de lípidos ocasiona una profunda dispersión de la luz en todo el espectro del visible (300 a 700 nm). Un ejemplo bien conocido es la sobreestimación de creatinina sérica mediante el método colorimétrico de Jaffe. El exceso de lípidos también induce errores al impedir la correcta homogeneidad de la muestra y desplazar el volumen acuoso normal de la misma.

## Paraproteínas

La presencia de proteínas monoclonales en la muestra también puede ser causa de interferencia en técnicas espectrométricas. Así pues, se han descrito resultados falsamente elevados en la determinación de bilirrubina o fosfato y falsamente disminuidos en resultados de colesterol HDL en muestras de pacientes con una elevada concentración de paraproteínas. Algunos analizadores son capaces de detectar la hiperproteinemia asociada a la presencia de paraproteína mediante el índice lipémico.

## Ictericia

La ictericia supone un aumento del color amarillo de la muestra, resultante del aumento de la concentración de bilirrubina. Dicha ictericia, ejerce efectos en las magnitudes bioquímicas principalmente a través de interferencias espectrofotométricas y químicas. La bilirrubina absorbe la luz entre 400 y 540 nm, con un pico de alrededor de 460 nm.

## Interferencias de tipo II

En este caso, los interferentes no son detectables de forma directa en la muestra.

## Fármacos y metabolitos

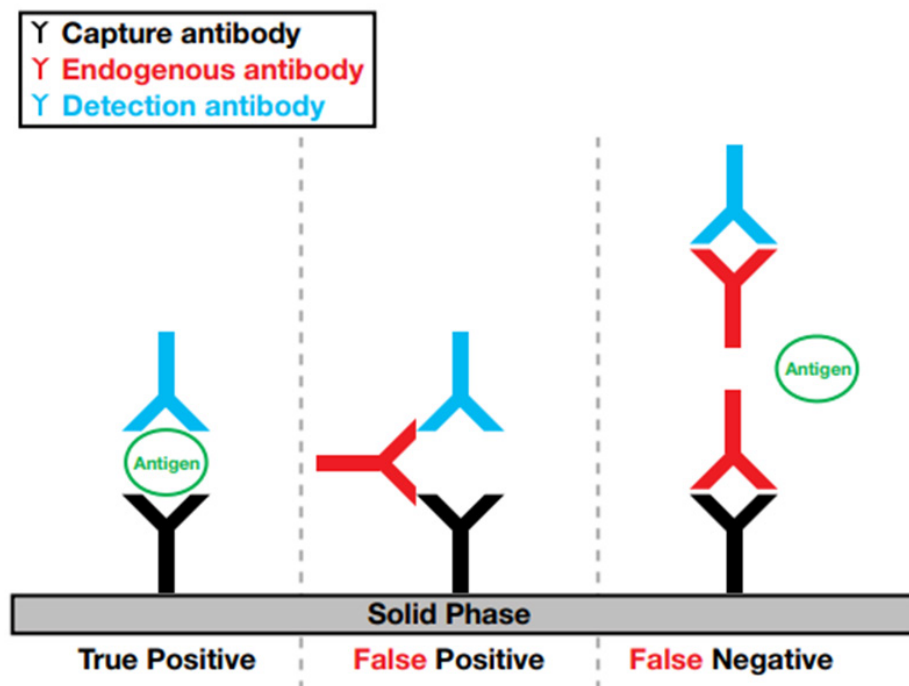
Ejemplo de ello son las interferencias producidas en la determinación de creatinina en muestras de pacientes tratados con Ranitidina, Trimetoprim, Salicilatos o Calcitriol entre otros. De la misma manera, dispositivos *Point of Care* (POCT) como es el caso de los glucómetros digitales, se ven afectados por diversas sustancias (ácido ascórbico, paracetamol, dopamina, salicilatos, anticoagulantes) o condiciones del paciente (hematocrito, presión parcial de oxígeno). En la determinación de iones por electrodo ion selectivo (ISE), algunos antibióticos como la vancomicina, pueden producir interferencias analíticas.

## Macroenzimas

Las macroenzimas son complejos formados por la unión de enzimas con proteínas plasmáticas. Así pues, amilasa, creatina-cinasa, fosfatasa alcalina, AST o LDH entre otras, pueden ligarse a inmunoglobulinas IgG, IgA o a beta-lipoproteínas, y formar complejos macromoleculares solubles. La formación de estos complejos inmunoglobulina-enzima no está asociado a ninguna enfermedad específica, sin embargo su presencia puede condicionar un aumento de las concentraciones séricas de la enzima, acarreando diagnósticos y tratamientos erróneos.

## 4.- INTERFERENCIAS EN INMUNOANÁLISIS

Los inmunoanálisis, procedimientos de medida basados en interacciones antígeno-anticuerpo, presentan una alta sensibilidad y especificidad, constituyendo en la actualidad una importante herramienta diagnóstica que permite la medición de una amplia variedad de sustancias. Sin embargo, y a pesar de ser procedimientos robustos, están sujetos a una serie de interferencias difícilmente detectables, entre las que destacan aquellas causadas por anticuerpos endógenos circulantes. Dichas interferencias afectan de distinta manera en función del tipo de inmunoanálisis empleado y, a menudo, pasan desapercibidas conllevando la generación de resultados erróneos. Tal y como se muestra en la Figura 4, los compuestos o condiciones que alteran estas interacciones interfieren en la medición, generando resultados falsamente elevados o, en algunas situaciones, disminuidos.



**Figura 4.** Esquema del mecanismo de interferencia por anticuerpos endógenos en inmunoanálisis. Extraído de; J.F. Emerson, K.K.Y. Lai, *Endogenous antibody interferences in immunoassays, Lab. Med.* 44 (2013) 69–73.

La prevalencia poblacional de dichos anticuerpos interferentes descrita en la bibliografía varía ampliamente, fluctuando entre el 1 % y el 40 %. No obstante, y debido a la optimización de los reactivos empleados en la actualidad, la frecuencia real de interferencia se estima cercana al 2 %. A pesar de que en el diseño y desarrollo de nuevos inmunoanálisis se ha abordado este problema, no ha sido posible la eliminación completa de dichas interferencias, por lo que los profesionales del laboratorio así como los clínicos deben ser conscientes de estas limitaciones.

Existen 3 tipos de anticuerpos endógenos, extensamente estudiados, especialmente relevantes en estos procedimientos de medida. Estos son los anticuerpos heterófilos, los anticuerpos antianimales humanos (HAAA) y los autoanticuerpos.

### Anticuerpos heterófilos

Los anticuerpos heterófilos se producen sin una exposición previa a antígenos específicos, por lo que se consideran de origen natural. Además, poseen la característica de ser capaces de reaccionar con múltiples antígenos, es decir, son poliespecíficos. Generalmente presentan baja avidéz, aunque tras su unión, estas inmunoglobulinas son reemplazadas por anticuerpos de alta afinidad.

A pesar de que los anticuerpos heterófilos pueden estar presentes en un alto número de pacientes, su potencial de interferencia en el inmunoanálisis es menor que en el caso de los HAAA o los autoanticuerpos, debido principalmente, a su relativa baja afinidad.

## **Anticuerpos antianimales humanos (HAAA)**

A diferencia de los anticuerpos heterófilos, los HAAA se producen tras la exposición, aguda o crónica, a antígenos específicos presentes en animales, exhibiendo en sus uniones una mayor afinidad que la mostrada por anticuerpos heterófilos. Del conjunto de HAAA, los anticuerpos antimurino humanos (HAMA) son los más prevalentes. Sin embargo, HAAA de diferentes especies animales han sido encontrados en el ser humano.

Así pues, los HAAA se pueden originar en respuesta a agentes terapéuticos que contienen anticuerpos monoclonales derivados de animales, como son los fármacos biológicos, por contacto con animales o mascotas, en pacientes politransfundidos o mediante transferencia materno-fetal. Especial importancia reviste el caso de los HAMA, debido a su extenso uso en los inmunoanálisis comercializados.

## **Autoanticuerpos**

Los autoanticuerpos son anticuerpos endógenos dirigidos contra estructuras del propio organismo. Debido a ello, la interferencia se produce por presencia de anticuerpos frente al analito que se determina.

Ejemplos de ello son los anticuerpos antitiroglobulina (Ac anti-Tg) que afectan los inmunoanálisis que determinan tiroglobulina, o los anticuerpos antiinsulina (IAA) que interfieren en inmunoanálisis que detectan insulina o péptido C. De la misma manera, se han descrito interferencias por autoanticuerpos para otras hormonas como es el caso de las hormonas tiroideas (anti T3, anti T4 y macro-TSH) o testosterona.

Especialmente relevante es el caso de la prolactina (PRL). Dicha hormona existe predominantemente como un monómero de 23 kD, aunque puede presentarse en forma dimérica unida a inmunoglobulinas, generalmente de naturaleza IgG. Este complejo se conoce como macroprolactina (macro-PRL) y su gran tamaño molecular impide que atraviese las paredes de los capilares. No obstante, dicho complejo puede elevar falsamente los resultados de prolactina, confundiendo la macroprolactinemia con hiperprolactinemia verdadera, causa de infertilidad en ambos sexos, y conduciendo por tanto a un diagnóstico y tratamiento indebido. Se ha estipulado que la macro-PRL puede estar detrás del 25 % de los resultados elevados de prolactina.

Cabe destacar también las interferencias relacionadas con el factor reumatoide (FR), el cual es un autoanticuerpo dirigido contra la fracción constante (Fc) de las inmunoglobulinas, presente hasta en el 25 % de los adultos sanos mayores de 60 años. Dicho FR, ha sido identificado como interferente en varios procedimientos, incluyendo aquellos que determinan troponinas cardíacas (Tn) y hormonas tiroideas. Los autoanticuerpos de naturaleza IgG contra las Tn se conocen desde hace años, provocando, en algunos casos, interferencias negativas. Estos autoanticuerpos están dirigidos contra cTnI tan solo cuando se forma el inmunocomplejo circulante cTnI-cTn-cTnT. Este inmunocomplejo, está presente entre el 5 % y el

12,5 % de los pacientes. Este porcentaje es mucho mayor que el observado en la práctica diaria y, supone por tanto, una infraestimación del número de casos en los que se produce esta interferencia analítica.

### **Reacciones cruzadas**

Otro problema que pueden presentar los inmunoanálisis es que, si las diferencias estructurales entre dos moléculas son muy pequeñas, como sucede por ejemplo en el caso del cortisol y la prednisolona, puede producirse reactividad cruzada importante.

Ward y cols. realizaron en el año 2017, un estudio comparativo de las reacciones cruzadas producidas en la determinación del cortisol. Dicho análisis demostró que en función de la casa comercial empleada, la reactividad cruzada entre el cortisol y la prednisona o el 5 $\alpha$ -tetrahydrocortisol (metabolito urinario del cortisol elevado en pacientes con insuficiencia renal) estaba presente en porcentajes muy variables, suponiendo en algunos casos valores del 100 %.

## **5.- DETECCIÓN Y MANEJO EN EL LABORATORIO**

En el caso de muestras visiblemente deterioradas, el uso de índices séricos en los autoanalizadores de bioquímica permite la detección sistemática de muestras hemolizadas, ictéricas o lipémicas y la cuantificación del interferente. Una revisión visual de la muestra debería efectuarse al menos si no están disponibles estos procedimientos.

Especialmente las muestras hemolizadas son muy frecuentes en el laboratorio y, como hemos comentado, la gran mayoría se deben a deterioro irreversible, por lo que será necesaria una nueva muestra para comprobación. La Guía CLSI C56-A ofrece recomendaciones sobre la utilización de los índices séricos y el manejo de estas muestras. El grupo *Working Group: Preanalytical Phase* de la EFLM ha publicado recientemente un artículo de opinión, incluyendo la utilización de distintos valores discriminantes para la interferencia respecto a la decisión de informar o no el resultado, considerando la significación analítica o clínica del efecto. En el caso de la hemólisis, es muy importante distinguir la hemólisis "in vitro" de la "in vivo", en la que los resultados obtenidos, aunque anormales, son reflejo de la patología. Especialmente en entornos hospitalarios debe sospecharse presencia de hemoglobina libre en el paciente cuando todos los tubos de la misma extracción estén afectados, la haptoglobina esté descendida u observemos discrepancia entre K y AST/LDH.

En el caso de la ictericia existe la posibilidad de diluir la muestra o utilizar agentes químicos que eliminan la bilirrubina. En el caso de la lipemia existe la posibilidad de diluir o de eliminar las lipoproteínas de baja densidad por centrifugación (10.000 rpm al menos para eliminar quilomicrones y VLDL). Recordar que este procedimiento no es válido para determinar magnitudes lipofílicas (lípidos, hormonas, fármacos...).

Respecto a las Interferencias de tipo II. Habitualmente se sospechan por la aparición de un resultado anómalo. Los sistemas de autoverificación basados exclusivamente en valores patológicos más o menos cercanos a los intervalos de referencia biológicos pueden detectar interferencias de gran magnitud. Los sistemas que incorporan verificación frente a resultados previos del paciente son especialmente sensibles en magnitudes con alta individualidad (baja variabilidad intraindividual), especialmente cuando se aplican criterios de valor de referencia del cambio.

Se puede seguir una estrategia para investigar la presencia de posibles interferentes. Si la interferencia se confirma y se puede identificar la sustancia interferente, el laboratorio debe informar sus hallazgos al fabricante con el objeto de incluir dicha información en las especificaciones del procedimiento.

Los pasos a seguir son:

1) Verificar el rendimiento del sistema

Antes de comenzar a investigar, es necesario verificar el correcto funcionamiento del instrumento, lo cual comprende, verificar los controles de calidad, preparar nuevos controles de calidad y analizarlos, comprobar calibraciones y mantenimientos.

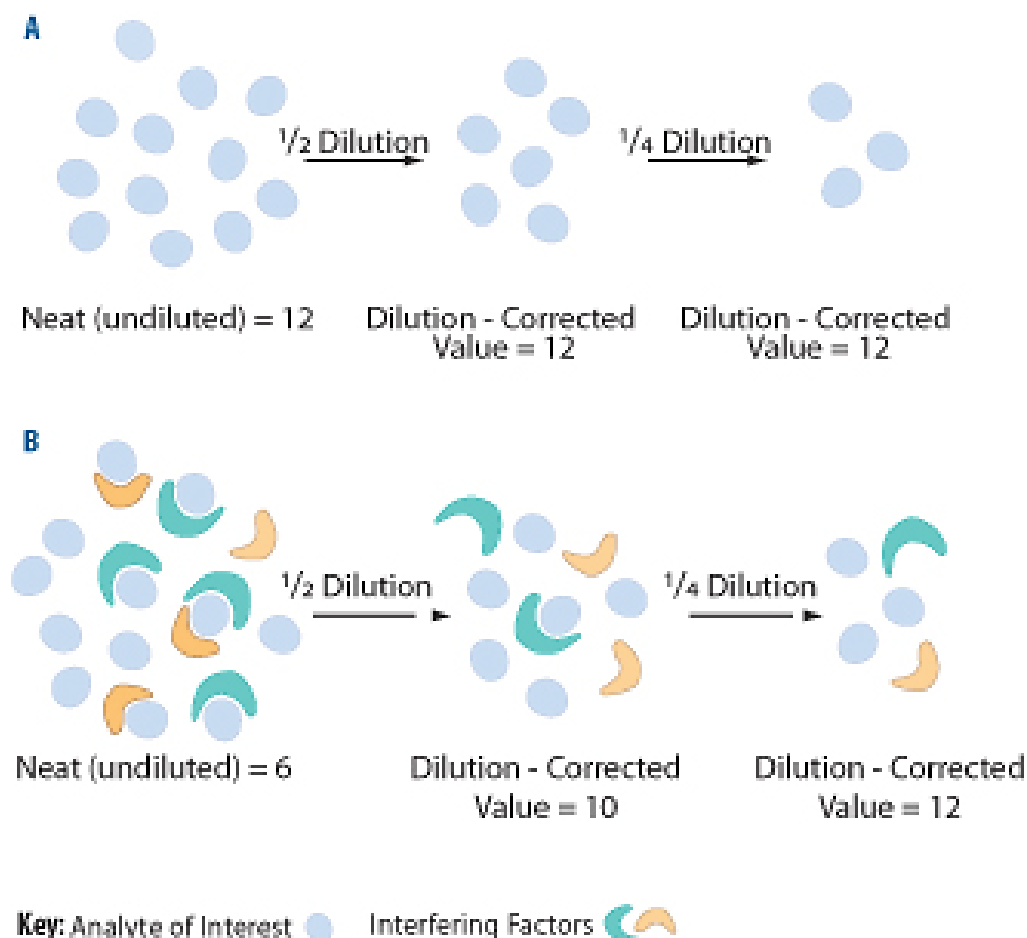
2) Evaluar la calidad de la muestra.

Verificar que la muestra se encuentra en perfectas condiciones y que no presenta características anómalas. Esto conlleva la examinación visual de la muestra en busca de fibrina, hemólisis, ictericia, lipemia o turbidez, verificar que el proceso de toma, transporte y almacenamiento así como el contenedor utilizado ha sido el correcto.

3) Confirmar el resultado.

Es necesario repetir el análisis en la misma muestra para descartar un error analítico aleatorio o sistemático. Si el resultado no se modifica, deberemos de realizar las siguientes acciones:

- Revisar resultados anteriores del mismo paciente.
- Diluir y volver a analizar la muestra. La dilución disminuye la concentración del interferente, con lo que disminuye el grado de interferencia sobre el resultado. Al multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución se observará diferencia respecto al valor obtenido en la muestra sin diluir. Utilizando diluciones seriadas se puede observar que el resultado de la magnitud se modifica (aumenta o disminuye, dependiendo del sentido de la interferencia) hasta un momento en que las diluciones no modifican el resultado. Llegado a este punto de meseta podemos considerar que el efecto del interferente ha desaparecido (Figura 5).



**Figura 5.** Eliminación de interferente mediante dilución (tomado de <https://www.rndsystems.com/products/elisas-quality-manufacturing-and-evaluation-performance>).

En este procedimiento hay que considerar que al diluir el mensurando estamos acercando su concentración real en la muestra al límite de detección del procedimiento. Por ejemplo si utilizamos un procedimiento cuyo límite de detección es 1 mg/dL, una muestra con una concentración de 8 mg/dL diluida al 1/10 tendrá una concentración inferior al límite de detección. El equipo responderá habitualmente indicando resultado <1 mg/dL o <10 mg/dL si aplica el factor de dilución introducido manualmente.

- Analizar la muestra mediante un principio diferente de medición.
- Recolectar y analizar otra muestra del mismo paciente. Obtener muestras de otros pacientes con igual diagnóstico o con determinado tratamiento farmacológico para comparar.
- En algunos casos es posible utilizar mecanismos físicos (ultra centrifugación en el caso de la lipemia) o químicos para eliminar la interferencia. En caso de sospecha de interferencia en inmunoanálisis por anticuerpos heterófilos es posible bloquearlos mediante métodos comerciales. Se trata de agentes que bloquean activa y específicamente los anticuerpos heterófilos presentes en la muestra, con el objeto de evitar la interferencia que los mismos producen en inmunoanálisis (Scantibodies).

#### 4) Identificar sustancias potencialmente interferentes.

Si se confirma el resultado discrepante y el sistema funciona correctamente, podemos identificar el interferente, siguiendo los siguientes pasos.

- Revisar la información del procedimiento de medida en busca de sustancias interferentes conocidas.
- Estudiar el diagnóstico y la condición médica del paciente, verificando los procedimientos de diagnóstico recientes y tratamientos, como cirugía, anestesia, transfusiones, procedimientos radiológicos y físicos, cambio en la dieta o toma de vitaminas de venta libre.
- Contactar con el fabricante y preguntar por posibles informes similares así como soluciones.

#### 5) Determinar la probable interferencia.

Una vez que se hayan identificado las sustancias potencialmente interferentes, se puede proceder a estudiar los posibles interferentes. Existe un método rápido en el que se analizan dos muestras del mismo paciente por duplicado, una de ellas con presencia del interferente a estudio, tal y como se detalla en el capítulo 10 del CLSI EP07.



## BIBLIOGRAFÍA

**CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry.** 3rd ed. CLSI guideline EP07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.

**CLSI. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry.** 1st ed. CLSI supplement EP37. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.

**CLSI. Immunoassay Interference by Endogenous Antibodies; Proposed Guideline.** CLSI document I/LA30-P [ISBN 1-56238-633-6]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2007).

**Farrell CJL, Carter AC.** Serum indices: managing assay interference. *Annals of Clinical Biochemistry.* 2016.

**López RM, Rigo R, Andrés MJ, Canalias F, Cano R, Esteve S y cols.,** Procedimiento para el estudio de interferencias exógenas en la medición de magnitudes biológicas. Documento técnico (2017) *Rev Lab Clin.* 2018;11(3):147-152.

**Nikolac N.** Lipemia: Causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochemia Medica.* 2014.

**Simundic AM, Baird G, Cadamuro J, Costelloe SJ & Lippi G.** (2020). Managing hemolyzed samples in clinical laboratories. In *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences.* <https://doi.org/10.1080/10408363.2019.1664391>.

**Söderberg J, Jonsson PA, Wallin O, Grankvist K, Hultdin J.** Haemolysis index - An estimate of preanalytical quality in primary health care. *Clin Chem Lab Med.* 2009.

**Ward G, Simpson A, Boscato L, Hickman PE.** The investigation of interferences in immunoassay. *Clinical Biochemistry.* 2017.

**Zaninotto M, Plebani M.** Understanding and managing interferences in clinical laboratory assays: The role of laboratory professionals. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2019.

---

## EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells Rosselló, F. Calvo Boyero, A. Dayaldasani Khialani, A. Fabregat Bolufer, N. Giménez Gómez, A. Merino González, N. Rico Santana (*Presidenta*), M. Rodríguez Espinosa, T. Rodríguez Nieto, P. Rodríguez Vázquez, M. Serrando Querol, M.C. Villà Blasco, J. Alexander Wong Arteta.

ISBN 978-84-09-21185-2 Diciembre 2020 (Recibido para publicación Junio 2020)