

Modelo simple para determinar la máxima concentración no interferente de bilirrubina en la medida cinética de creatinina en suero

Nejman, Norma C.; Húmpola, Pablo D.

Hospital "J.B. Iturraspe". Boulevard Pellegrini 3551 (3000). Santa Fe (Argentina)
Práctica Profesional, Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas, UNL. Hospital "Dr. J.M. Cullen".
Avenida Freyre 2150 (3000). Santa Fe (Argentina). e-mail: phumpola@fbc.unl.edu.ar

RESUMEN: En la rutina diaria del laboratorio de química clínica, hemos observado que la cuantificación de creatinina en suero arroja valores falsamente disminuidos, cuando se utiliza el método cinético de Jaffé automatizado, en presencia de concentraciones de bilirrubina elevadas.

Como objetivo de este trabajo, se propone un modelo analítico simple, independientemente del sistema de automatización y tipos de reactivos comerciales empleados, que consiste en realizar diluciones de un pool de sueros ictericos, con un pool de sueros normales y determinar la concentración de creatinina para las distintas diluciones. La máxima concentración de bilirrubina de no interferencia se localiza en el punto donde la respuesta deja de ser lineal y la concentración de creatinina prácticamente no experimenta cambios.

De esta manera, en base al valor máximo de bilirrubina, el método cinético debería ser aceptado o descartado, como metodología analítica para ser empleada con fines diagnósticos.

PALABRAS CLAVES: Bilirrubina- Interferencia- Creatinina

SUMMARY: A simple model for assessing maximum, non-interferent bilirubin concentration (185). Nejman, Norma Cristina; Húmpola, Pablo Danilo. In the daily routine of the clinical chemistry laboratory, we have observed that high bilirubin concentrations render falsely decreased serum creatinine values when Jaffe's kinetic automatized method is used.

The aim of this work was to obtain a simple analytical model through which dilutions of icteric serum could be carried out using a normal serum pool, and creatinine concentrations could be assessed, independently from the automation system and commercial reagents used. Maximum non-interferent bilirubin concentrations reaches the point where the response is no longer linear and creatinine concentrations undergoes no further changes.

The Kinetic method should, then, be accepted or rejected as the analytical methodology to be used as diagnostic tool according to the maximum bilirubin value.

KEY WORDS: Bilirubin- Interference - Creatinine.

Introducción

La medida de creatinina sérica constituye una de las principales determinaciones solicitadas en los servicios de bioquímica clínica, para la evaluación del funcionalismo del riñón. Niveles elevados son índice de insuficiencia renal y suelen correlacionarse en forma proporcional con uremias altas, aún cuando en general son más tardías las primeras. Tiene particular interés diagnóstico y pronóstico en los casos de nefropatías crónicas o agudas (síndrome urémico, nefritis aguda y nefrosis provocada

por tóxicos), en la insuficiencia circulatoria con déficit prerrenal de sangre al riñón (insuficiencia cardíaca avanzada, hipovolemia por deshidratación y depleción salina), en las obstrucciones urinarias por litiasis y en la anuria refleja (1).

Comúnmente, los métodos empleados para el dosaje de creatinina, se basan en convertir la misma en un cromógeno color rojo (complejo de Janovsky) generado por reacción con una solución de picrato de sodio (2,3).

De las diversas variantes metodológicas que existen para la reacción de Jaffé, hemos observado

que cuando se utiliza la modalidad cinética automatizada, particularmente el autoanalizador TARGA BT 3000, la cuantificación de este metabolito arroja valores falsamente disminuidos si la muestra contiene una elevada concentración de bilirrubina, en contraposición con lo sugerido por la mayoría de los fabricantes de reactivos comerciales y en coincidencia con otras pocas publicaciones (4). La naturaleza de este fenómeno se debe a una posible interferencia espectral por parte de la bilirrubina, en la zona de máxima absorbancia del picrato de creatinina (2,4,5). Esto resulta muy importante, debido a que es muy común la asociación de cuadros clínicos combinados de falla renal y hepática, como así también la presencia de muestras ictericas de cualquier origen.

Basándonos en esto, nuestro objetivo está enmarcado en proponer un modelo simple adaptado (6), para ser aplicado ante una situación de este tipo, que nos permita obtener la máxima concentración de bilirrubina que interfiere en la medida de creatinina sérica cuando se utiliza la variante cinética automatizada de la reacción de Jaffé, independientemente del sistema de automatización y tipos de reactivos comerciales empleados; de tal manera que fácilmente se pueda estimar dicha concentración en el laboratorio para no realizar el dosaje en muestras con concentraciones de bilirrubina superiores al hallado, evitando así que se comentan errores por defecto en la cuantificación de la creatinina sérica.

Finalmente, mostraremos que el valor de creatinina en una muestra icterica dosada con el método cinético automatizado está falsamente disminuido, comprobándolo mediante el dosaje de la misma muestra con el método de Owen (7), el cual elimina completamente la presencia de bilirrubina del medio, obteniéndose de esa manera el valor de creatinina libre de esta interferencia.

Materiales y métodos

Para el desarrollo de nuestro trabajo se utilizaron muestras de pacientes que presentaban clínicamente enfermedad renal, valores patológicos de uremia (superior a 1,00 g/L) y que además contenían una elevada concentración de bilirrubina en suero. A partir de ellas (n= 15), se elaboró una única mues-

tra para ser estudiada, a la que denominamos "pool icterico".

En paralelo se procedió a realizar a partir de muestras provenientes de individuos normales, clínicamente sanos, sin antecedentes previos ni actuales de enfermedad renal, un pool normal, cuyo nivel de bilirrubina prácticamente no fue detectable con los métodos utilizados tradicionalmente para su cuantificación (Jendrassik modificado).

Las condiciones instrumentales y el control de calidad empleado durante el desarrollo de este trabajo fueron:

1- Parámetros del autoanalizador TARGA BT 3000

Longitud de onda primaria: 510 nm.

Longitud de onda secundaria: 600-650 nm.

Tipo de reacción: cinética de primer orden

Dirección de la reacción: positiva

Temperatura de reacción: 37 °C

Relación muestra/reactivo: 1:10

Tiempo de equilibrio: 3 segundos

Tiempo de retardo: 30 segundos

Tiempo de lectura: 30 segundos

Absorbancia del blanco: < 0,500 DO

Límite de absorbancia: 2,000 DO

Valor normal inferior: 7,0 mg/L

Valor normal superior: 12,0 mg/L

Linealidad: 200 mg/L

Concentración del calibrador: 16 mg/L

2- Método: cinético sin desproteinización (reacción de Jaffé)

3- Reactivos: línea comercial AA de Laboratorios Wiener (Ácido pícrico 41,4 mM y carbonato de sodio / hidróxido de sodio pH 12,7)

4- Calibración: multicalibrador A plus de Laboratorios Wiener.

5- Control de Calidad: sueros comerciales (Standartrol nivel 1 y 2) de Laboratorios Wiener.

El modelo aplicado consistió en realizar diluciones del pool de sueros ictericos, con el pool de sueros normales y graficar las concentraciones de creatinina obtenidas (procesadas por duplicado) en función de las diluciones efectuadas.

El método empleado en la determinación del valor de creatinina libre de interferente (real de la creatinina) en el pool icterico fue el método de Owen,

en el cual se realiza un pretratamiento en presencia de tierras de Fueller. Las mismas tienen como fun-

ción adsorber sobre su superficie las moléculas de bilirrubina presentes en la muestra, eliminándolas para luego realizar la reacción de Jaffé.

Tabla 1: Parámetros iniciales a la aplicación del modelo propuesto

Analito	Método	Valores obtenidos en el Pool icterico	Valores obtenidos en el Pool normal
Creatinina	Cinético de Jaffé Automatizado	8,31 mg/L	10,3 mg/L
Bilirrubina	Jendrassik modificado	144 mg/L	Anictérico
Urea	Ureasa.Reacción de Berthelot	1,20 g/L	0,40 g/L
Creatinina	Owen	17,6 mg/L	10,6 mg/L

El instrumental utilizado para la lectura de esta reacción fue un espectrofotómetro Biosystem BTS 320, calibrado con multicalibrador A plus de Laboratorios Wiener.

Resultados

Datos de calibración y control de calidad para el ensayo automatizado

Calibración

Tipo de proceso: con factor (por duplicado)

Factor: 238

Concentración del calibrador: 16 mg/L

Absorbancia del reactivo: 0,126

Control de calidad

Se procesaron 2 niveles de control, los resultados obtenidos son:

Nivel 1: 16,4 mg/L

Nivel 2: 70,7 mg/L

Los valores dados por el fabricante son:

Nivel 1: $\bar{X} = 16$ mg/L

Rango de aceptación: 11,0-21,0 mg/L

Nivel 2: $\bar{X} = 71$ mg/L

Rango de aceptación: 57,0-85,0 mg/L

y los valores establecidos en el laboratorio:

Nivel 1: $\bar{X} = 16$ mg/L

Rango de aceptación: 15,1-16,9 mg/L ($\bar{X} \pm 2 S$)

Nivel 2: $\bar{X} = 71$ mg/L

Rango de aceptación: 69,64-71,76 mg/L ($\bar{X} \pm 2 S$), utilizando las multirreglas de Wetsgard $1_{2s}/1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}$, en la aceptación de la corrida analítica.

Con el propósito de evaluar la performance intracorrida de los métodos utilizados para el dosaje de creatinina sérica, se procesaron veinte repeticiones de una misma muestra tomadas al azar y los resultados obtenidos son:

Para el método cinético automatizado de Jaffé sin desproteización

(\bar{X}) = 10,56 mg/L desvío estándar $S_x \pm 0,43$ y un coeficiente de variabilidad = 4,07 %

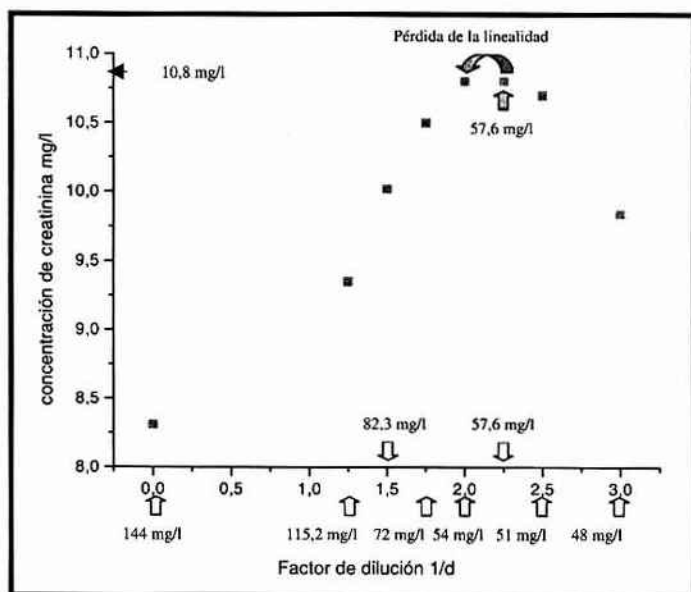
Para el método de Owen

(\bar{X}) = 12,20 mg/L, desvío estándar $S_x \pm 0,53$ y un coeficiente de variabilidad = 4,34 %.

Discusión

Como se observa, el aumento en la concentración de creatinina del pool icterico, debido a la disminución de la bilirrubina por el efecto de dilución,

Figura 1: Modelo lineal propuesto para evaluar la interferencia por la bilirrubina (sobre cada punto de la abscisa, se indica la concentración equivalente de bilirrubina para cada dilución del pool icterico).



se traduce en una respuesta lineal. A una determinada dilución, existe un punto donde la respuesta deja de ser lineal y la concentración de creatinina prácticamente no experimenta cambios. En este punto podemos decir que la interferencia provocada por la bilirrubina fue eliminada. Además, esta zona puntual de la curva nos estaría indicando la concentración máxima de bilirrubina que interfiere en la determinación de creatinina para nuestras características particulares de trabajo.

Conclusiones

De nuestra experiencia, se concluye que:

- Los sueros que presentan valores de bilirrubina totales mayores a 57,6 mg/L, no se debe dosar creatinina con el método cinético de Jaffé por dar valores falsamente disminuidos.

- El valor de urea del pool de sueros ictericos (1,20 g/L) coincide de manera adecuada con el valor de creatinina de 17,6 mg/L.

Consideramos que el método propuesto resulta sencillo y de fácil aplicación práctica en el laboratorio de rutina, siendo de gran utilidad que cada laboratorio pueda establecer sus propios valores de máxima concentración de interferente para la reacción a utilizar, lo que no siempre es fácil de realizar por carecer del interferente puro y terminamos aceptando lo establecido por los fabricantes de reactivos.

Bibliografía

1. Balcells Gorina, Alfonso; Soriano Jiménez, M., 1995. "La Clínica y el Laboratorio". Ed. Masson S.A. (Mexico), 67-68.
2. Pesce, Amadeo J.; Kaplan, Lawrence A, 1990. "Química Clínica-Métodos", Ed. Panamericana, (Buenos Aires), 29-36, 114-1123.

3. Anderson Shauna C; Cockayne Susan, 1993. "Química Clínica", Ed. Interamericana – Mc Graw Hill (Mexico),373-375.
4. Burtis, Carla.Tietz; Ahwood, Edward R., 1999." Tietz textbook of Clinical Chemistry" Ed.W.B.Saunders Company, United (States of America), 1241-1245,1133-1137.
5. Henry, J.B., 1994. "Diagnóstico y tratamientos Clínicos por el Laboratorio", Ed. Masson. Salvat, (Barcelona), 504.
6. Nader Rifai, G.Russell Warnick, Marek H.Dominiczak, 1997. "Handbook of Lipoprotein Testing". AACCC Press. (Washington), 107.
7. Richard, J.Henry, Donald C. Cannon, James W. Winkelman, Armando Zubizarreta Chimeno, 1980. "Química Clínica". Principios y Técnicas Ed. Jims. (Barcelona), I:544-555.