



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"
HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ GARZA**

**INTERFERENCIAS DEL METAMIZOL
EN ANALITOS DE QUÍMICA CLÍNICA**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**ESPECIALISTA EN MEDICINA
(PATOLOGÍA CLÍNICA)**

PRESENTA:

DR. ALEJANDRO LULE FLORES

ASESOR:

DRA. LAURA LÓPEZ PELCASTRE



MÉXICO, CD MX, AGOSTO DE 2017.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación en Salud **3501** con número de registro **17 CI 09 002 047** ante COFEPRIS y número de registro ante CONBIOÉTICA CONBIOÉTICA 09 CEI 033 2017121.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA

FECHA **Lunes, 07 de mayo de 2018.**

**DR. LOPEZ PELCASTRE LAURA
PRESENTE**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

INTERFERENCIAS DEL METAMIZOL EN ANALITOS DE QUÍMICA CLÍNICA

que sometió a consideración para evaluación de este Comité Local de Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:



No. de Registro
R-2018-3501-055

ATENTAMENTE

DR. ERNESTO ALONSO AYALA LÓPEZ
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3501



IMSS
SEGURIDAD SOCIAL MÉDICO SOCIAL

INTERFERENCIAS DEL METAMIZOL EN ANALITOS DE QUÍMICA CLÍNICA

Dra. María Teresa Ramos Cervantes
Directora de Educación e Investigación en Salud
U. M. A. E. Hospital General "Dr. Gaudencio González Garza" C. M. N. "La Raza"

Dr. Antonio Quintero Bazaldúa
Profesor Titular de la Especialidad en Patología Clínica
Jefe de Departamento Clínico. Laboratorio Clínico
U. M. A. E. Hospital General "Dr. Gaudencio González Garza" C. M. N. "La Raza"

Dra. Laura López Pelcastre
Asesor
Jefe de Departamento Clínico. Laboratorio Clínico
U. M. A. E. Hospital de Especialidades "Dr. Antonio Fraga Mouret" C. M. N. "La Raza"

Dr. Alejandro Lule Flores
Médico Residente de tercer año de la Especialidad de Patología Clínica
U. M. A. E. Hospital General "Dr. Gaudencio González Garza" C. M. N. "La Raza"

El presente trabajo fue realizado gracias a la plena confianza y apoyo incondicional de la Dra. Laura López Pelcastre. Gracias, sin usted no hubiese sido posible.

Agradecimiento a la Dra. Carla Ileana Arroyo Anduiza por abrir las puertas al conocimiento en el Banco de Sangre más grande de Latinoamérica. CMN La Raza.

Agradecimiento al Dr. Antonio Quintero Bazaldúa por su invaluable compromiso como Profesor Titular de la Especialidad de Patología Clínica.

INDICE

CONTENIDO	PÁGINA
RESÚMEN	1
ANTECEDENTES CIENTÍFICOS	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
JUSTIFICACIÓN	13
OBJETIVOS	15
HIPÓTESIS	16
MATERIAL Y MÉTODOS	17
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN	26
CONCLUSIONES	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS	34

RESÚMEN

INTERFERENCIAS DEL METAMIZOL EN ANALITOS DE QUÍMICA CLÍNICA

ANTECEDENTES

El metamizol es un compuesto hidrofílico que en solución sufre hidrólisis a 4-aminoantipirina y otros metabolitos similares. La concentración plasmática máxima se produce una hora después de su administración. En el Laboratorio Clínico, la interferencia analítica es la desviación del valor verdadero del analito causado por la presencia de alguna sustancia endógena o exógena. Las interferencias por fármacos, incluyendo metamizol, generalmente son desconocidas en el laboratorio porque no se conocen los tratamientos de los pacientes y porque aún es escasa la información sobre la especificidad del efecto de algunos fármacos en las diferentes determinaciones analíticas.

OBJETIVOS

Determinar las interferencias analíticas causadas por el metamizol en los analitos de Química Clínica de medición directa del Laboratorio Clínico de una Unidad Médica de Alta Especialidad.

MATERIAL Y METODO

Estudio prospectivo, experimental, comparativo. Se observaron los efectos del metamizol a diferentes concentraciones en mediciones por espectrofotometría de 21 analitos séricos de química clínica.

RESULTADOS

El metamizol ocasionó falso decremento de la concentración de ácido úrico, colesterol, triglicéridos, bilirrubina total, aspartato amino transferasa y albúmina a concentración real y falso incremento de la concentración de glucosa y proteínas totales a concentración baja.

CONCLUSIONES

El metamizol interfiere analíticamente en mediciones que emplean sistemas enzimáticos para medición de sustratos.

ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

Antecedentes históricos del Metamizol y su uso en la práctica clínica

En 1884, Ludwing Knorr descubrió las pirazolonas. A principios del siglo XX se descubrió su uso médico y en 1922 en Alemania fueron procesadas industrialmente para su comercialización. [1] [2] En la década de los años sesenta inició una serie de reportes sobre reacciones ocasionadas por la *Dipirona*. [3] El trabajo titulado *International Aplasic Anemia and Agranulocytosis Study*, reportó incidencia de 1,2 casos de agranulocitosis por millón de individuos que fueron expuestos al metamizol en el lapso de una semana. [4] En 1977, la Food and Drug Administration (FDA), prohibió su uso. [1] [5] Recientemente, se ha encontrado que no existen diferencias entre los efectos adversos reportados entre el metamizol y otros anti inflamatorios no esteroídeos. [6]

BASES TEORICAS

Características farmacológicas del Metamizol

El metamizol es un compuesto metazulfonado que pertenece a la familia de las Pirazolonas. Químicamente, el compuesto es Sodio N-(2,3-dimetil-5-oxo-1-fenil-3-pirasolin-4-yl)-N-metil-aminometanesulfonato (Rogosch et al. 2012). [7] Es un compuesto hidrofílico de bajo peso molecular (351,3 Daltons) [1] que en solución es rápidamente hidrolizado a 4-metil-aminoantipirina (MAA) que entonces es seguidamente metabolizada a 4-aminoantipirina o 4-acetil-aminoantipirina (AAA). De esos tres metabolitos mayores, se ha demostrado que la MAA es el compuesto farmacológicamente activo, donde la AAA y la 4-aminoantipirina carecen de actividad farmacológica. [8]

La concentración plasmática máxima, se produce tan pronto como una hora después de la administración oral, intravenosa e intramuscular. Sin embargo, después de la administración intramuscular, la concentración máxima es

significativamente mayor; no hay otras diferencias en las propiedades cinéticas. La biodisponibilidad es del 84% tras la administración de 1 gr de metamizol vía oral. Cuando se administran 480 mg por vía oral se obtiene una concentración de $13,4 \pm 0,8$ mcg/ml a las 1-1,5 horas (dosis $5,8 \pm 0,7$ mg/kg). La semivida biológica de la 4-aminoantipirina es 2,4 horas y alcanza una concentración máxima cuatro horas después de la administración; [2][9] tras la administración de 1000 mg por vía oral se alcanza una concentración de 1,9 mcg/ml a los 60 minutos; cuando se administran 1000 mg por vía intramuscular se alcanza una concentración de 0,5 mcg/ml a las ocho horas.[10] La semivida para la eliminación en el plasma es de 3,8 horas después de la administración oral. Después de la inyección intramuscular, la vida media es de sólo 2,1 horas. Mientras que la MAA y la 4-aminoantipirina son difícilmente detectables en el plasma 24 horas después de la administración, la concentración de AAA después de la administración oral es todavía aproximadamente la mitad de la concentración máxima en este momento. [2][9]

Indicaciones

Está indicado para el dolor severo de origen postraumático y quirúrgico, cefalea, dolor asociado a neoplasias, dolor espasmódico de la esfera gastrointestinal como cólico biliar y asociado a irritación colónica; tracto urinario superior y tracto urinario inferior. Muestra eficacia en la reducción de la fiebre refractaria a otras medidas terapéuticas.

Reacciones secundarias y adversas

Los principales efectos adversos del metamizol se deben a reacciones de hipersensibilidad: las más importantes son las discrasias sanguíneas y choque. Se propone que la leucopenia, neutropenia y agranulocitosis no se deben efecto tóxico directo del fármaco sobre la diferenciación celular del linaje mielóide, sino que obedecen a una reacción de tipo inmunoalérgico. [11] En un muy pocas

ocasiones se puede observar síndrome de *Lyell* y *Stevens-Johnson*. En pacientes con historia de enfermedad renal preexistente se han presentado trastornos renales temporales. En pacientes con hiperpirexia o después de la aplicación demasiado rápida, se puede presentar caída rápida de la tensión arterial. En el sitio de la aplicación intravenosa se pueden presentar dolor o reacciones locales y flebitis. [12]

Uso actual del metamizol

A pesar de la prohibición del uso de este fármaco en Estados Unidos de Norteamérica y muchos Países de Europa, en el resto de las naciones no ocurrió la misma restricción. Con base en que se conocen los efectos adversos mas graves pero con la poca evidencia demostrada y el bajo costo del medicamento, aun sigue siendo frecuente su uso y en grandes cantidades en países donde no ha representado un problema sanitario. A nivel Internacional existen diferentes publicaciones que evalúan el uso actual de esta droga. Algunos cuestionan la postura tomada por la FDA y los consejos sanitarios en algunos países, señalando la baja incidencia de efectos potencialmente dañinos en naciones europeas. [13] Por otro lado, hay estudios que evalúan de forma crítica su perfil de seguridad en diferentes escenarios clínicos. En México, no está prohibida su comercialización y uso con fines terapéuticos por parte de la Comisión Nacional para la Protección contra Riesgos Sanitarios COFEPRIS. La COFEPRIS, en un Comunicado a los Profesionales de la Salud, señala que si bien, esta droga fue retirada de Estados Unidos y algunos países de Europa, existen estudios donde se ha encontrado que la incidencia de agranulocitosis es baja en comparación con otros analgésicos existentes en el mercado. Las recomendaciones que emite son en referencia a la hipotensión arterial y sugiere que en el empleo del medicamento debe valorarse el riesgo beneficio de la utilización en este contexto. En distintas formas farmacéuticas, forma parte del cuadro básico de medicamentos de Instituciones de Salud. [14]

Analitos medidos en el laboratorio de Química Clínica

En el laboratorio de química clínica, la sección donde se lleva a cabo la determinación de la concentración de las principales sustancias metabólicas de interés médico, la *química sanguínea*, se pueden categorizar a los analitos en dos tipos de acuerdo a su naturaleza bioquímica: sustratos y enzimas. Cada uno de estos requiere de una metodología distinta para su determinación y concentración.

Técnicas para la cuantificación de analitos en el laboratorio de Química Clínica

Existen diferentes tecnologías disponibles en esta sección de laboratorio que representan la fase final de la mayoría de las determinaciones en química clínica, usadas en instrumentos diseñados para este propósito. Las técnicas comúnmente utilizadas en laboratorios clínicos intrahospitalarios son la espectrofotometría y la potenciometría selectiva de iones, que han demostrado tener adecuada especificidad y sensibilidad analítica así como una ejecución fácil y sencilla.

La espectrofotometría estudia generalmente una disolución problema por medio de la radiación electromagnética con la que interacciona, o la radiación que es producida por esta disolución. La espectrometría es la medida de ésta radiación como medio para asignar un valor a la concentración de solutos o soluto presente en la disolución. La radiación incidente puede ser transmitida a lo largo del sistema sometido a estudio o puede interaccionar con éste. Si éste interacciona, se puede observar absorción, reflexión, refracción, polarización, dispersión o luminiscencia. [15] En términos prácticos, este fenómeno se explica por la Ley de *Lambert – Beer*, que establece que para disoluciones diluidas la cantidad de luz absorbida es directamente proporcional a la concentración de la sustancia. [16] En química clínica el material a probar es generalmente una solución y las medidas se hacen ordinariamente dentro del espectro comprendido entre 220 y 800 nm del espectro de luz. [15]

La medición del potencial entre electrodos en una solución, forma la base para medir la concentración de algunos analitos. Los potenciales eléctricos, se producen en la interface entre un metal e iones de ese metal en una solución. Tales potenciales también existen cuando una membrana semipermeable a ese ión, separa diferentes concentraciones de algún electrolito. La concentración de iones en una solución se puede calcular a partir del potencial medido entre los dos electrodos. Un electrodo selectivo de iones es un transductor electroquímico capaz de responder a un ión específico. Un electrodo ion selectivo es muy sensible y específico para el ión que mide. Existen muchos tipos de estos electrodos, incluyendo electrodos de vidrio, de membrana líquida, de membrana impregnados de precipitado, de estado sólido, de gas y electrodos de enzima. [17]

La principal técnica espectroscópica que se utiliza en los laboratorios clínicos, es la espectroscopia de absorción molecular para la determinación de sustratos y enzimas. La medida de la concentración de sustratos en disolución por técnicas espectroscópicas de absorción molecular se realiza con dos tipos fundamentales de métodos: los de punto final y los de medida de la velocidad de reacción. En los métodos de punto final, se incuba la disolución de reactivo con el espécimen, junto con el patrón de concentración conocida el tiempo necesario para que se complete la reacción o alcance el equilibrio, momento en el cual se realiza la medición; en los métodos cinéticos o de medida de la velocidad de reacción, se determina la variación de la absorbancia con el tiempo, que se relaciona con la concentración, y se realizan diferentes mediciones a lo largo de la reacción. Las enzimas pueden determinarse en los medios biológicos mediante métodos espectroscópicos de absorción molecular de tiempo fijo y métodos de seguimiento continuo. La cantidad de una enzima en un medio biológico puede determinarse en términos de masa o en términos de actividad. En los métodos de tiempo fijo, la muestra que contiene la enzima de interés con el sustrato durante un tiempo determinado, se mide la variación de la absorbancia, donde la cantidad de sustrato desaparecido o de producto formado es proporcional a la actividad enzimática. En los métodos de seguimiento continuo se mide la variación de la

absorbancia continuamente y se seleccionan algunas para calcular un valor de concentración. [16]

Métodos para la determinación de analitos en el laboratorio de química clínica

Los métodos de laboratorio de química clínica tienen como objetivo la modificación de la sustancia de interés o marcaje de esta para facilitar su medición a través de las diferentes técnicas de cuantificación. Existe una variada cantidad de métodos disponibles para su uso en laboratorios clínicos de rutina, algunos referenciados a organismos internacionales de estandarización y otros mas, alternativos. Los métodos de mayor uso son: glucosa hexoquinasa para la determinación de glucosa, ureasa para urea, picrato alcalino para creatinina, uricasa para ácido úrico, colesterol esterasa para colesterol, glicerol fosfato oxidasa para triglicéridos, diazotación para bilirrubinas, Piruvato Lactato (NADH) para Aspartato Amino Transferasa (AST) y Lactato Deshidrogenasa (LDH), método estandarizado por la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC) para Alanino Amino Transferasa (ALT), nitrofenilfosfato para fosfatasa alcalina, 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltotriosido (CNPG3) para amilasa, quinona para lipasa, L-Gamma-glutamil-3-carboxil-4-nitroanilido (GGCN) para Gamma Glutamil Transferasa (GGT), *Biuret* para proteínas totales, verde de bromocresol para albumina, ion selectivo a dilución simple para sodio, potasio y cloro; arsenaso III para calcio. La descripción de la reacción química de los métodos se encuentra en la Tabla 1, ver el anexo A.

Resultados de laboratorio y valores de referencia

Tras el ensayo de una reacción de un método a través de una técnica de laboratorio, se debe asignar un valor a la señal emitida como producto de de la ejecución de la técnica. Dicha señal puede ser interpretada por diferentes instrumentos de medición y mediante el uso de un software, reportarlo en

unidades de medición que correspondan a la naturaleza del producto obtenido. Se generan por tanto valores que pueden ser cualitativos, pero generalmente son cuantitativos. Formalmente el laboratorio emite sus resultados a manera de reporte, indicando los valores obtenidos tras la solicitud de la prueba y los valores de referencia para dicha prueba. Los valores de referencia es un término que se emplea para indicar los valores que se obtienen en las poblaciones que se seleccionaron para un estudio en particular. Aun más, los valores se distribuyen en un intervalo de referencia, que se obtiene a partir de la distribución de la población para su utilización con fines descriptivos. [16] [38]

Los valores que se ofrecen como resultado de una determinación por el laboratorio pueden adquirir diferentes magnitudes susceptibles a interpretarse de diferente manera de acuerdo a un contexto clínico. Así, lo que se considera como sano por encontrarse dentro del intervalo de referencia, puede ser ahora señal de enfermedad si sale de estos límites y relacionar la gravedad de una condición patológica directamente proporcional a la magnitud de la cifra reportada. De esta manera, los valores pueden ser llamados ahora valores de decisión y valores críticos. Los valores de decisión son aquellos que tras su reporte sugieren que se deben tomar medidas correctivas para mejorar la condición clínica del individuo ya que indican un proceso mórbido pero que no pone en riesgo su vida. Los valores críticos se encuentran relacionados con condiciones mórbidas que ponen en riesgo la vida un individuo y sugieren que se deben emplear medidas inmediatas. [39] [40] Las modificaciones en a los valores de referencia están en relación con las características biológicas propias del individuo en estado sano o por enfermedad. [41] Pueden ser consecuencia de errores a lo largo de las fases analíticas. [42] Entre estas dos vertientes, se encuentran como detonantes de valores fuera de los límites de referencia, los efectos analíticos.

Interferencias en las pruebas de laboratorio

En el Laboratorio Clínico, las Interferencias pueden ser una fuente significativa de errores de laboratorio con potencial de causar daño serio para el paciente sea por realizar un diagnóstico incorrecto o la implementación de alguna medida terapéutica inmediata dependiente del resultado obtenido. La interferencia analítica es una desviación del valor verdadero del analito causado por la presencia de alguna sustancia endógena o exógena. [43]

Clasificación general de las interferencias

Las interferencias endógenas tienen su origen a partir de sustancias que se sintetizan de forma fisiológica o como respuesta a daño en el propio organismo. Pueden ser sustancias generadas como productos del propio metabolismo o consecuencia de procesos tisulares mórbidos. Así, la hemoglobina, las bilirrubinas, los quilomicrones y lipoproteínas representan el grupo de sustancias interferentes más comunes que son parte normal de los procesos antes mencionados. Por otra parte, sustancias que tienen incrementos como respuesta compensatoria para mantenimiento de la homeostasis como el bicarbonato pueden representar igualmente un efecto preanalítico.

Las interferencias exógenas están representadas por sustancias que no se encuentran de forma fisiológica en el organismo y que generalmente son incorporados a este. A saber, son metales pesados, venenos, productos herbales, soluciones intravenosas y el grupo más importante lo representan los fármacos, pudiendo señalarse de estos el principio activo, sus metabolitos y los aditivos que se presentan en la forma farmacéutica. [44]

Las sustancias potencialmente interferentes pueden originarse desde las siguientes fuentes exógenas: 1. Metabolitos producidos en condiciones patológicas, como en la Diabetes mellitus, Mieloma múltiple, Hepatitis, entre otras. 2. Compuestos introducidos durante el tratamiento del paciente, tales como

drogas, nutrición parenteral, expansores de plasma y anticoagulantes. 3. Sustancias ingeridas por el paciente como alcohol, drogas de abuso, suplementos nutricionales, algunos alimentos y bebidas. 4. Contaminantes inadvertidamente introducidos en los especímenes tras su manipulación como crema de manos, talco de guantes, separadores de suero, dispositivos de colección de sangre entre otros. 5. La matriz de la muestra por sí misma, por propiedades físicas y químicas que difieren de la muestra ideal de reciente obtención. [45]

Interferencias en las medidas espectroscópicas y potenciométricas.

Las Interferencias estáticas las producen aquellas sustancias que al estar presentes en el espécimen no experimentan variación a lo largo de la reacción analítica. Los ejemplos más típicos son las sustancias endógenas ya mencionadas. Las Interferencias cinéticas se deben a sustancias presentes en el espécimen que reaccionan con algún componente de la mezcla de reacción. La importancia relativa de la contribución de esas sustancias depende del tiempo de reacción y de la concentración de las mismas.

Interferencias por fármacos

Las interferencias por fármacos en las mediciones de los diferentes analitos a menudo son desconocidas en el laboratorio, debido a que, por una parte no se conoce información relevante sobre la medicación del paciente y por otra, a que aun es escasa la información que se tiene sobre la especificidades del efecto de cada fármaco en las diferentes determinaciones de laboratorio. [44] Este tipo de interferencias son generalmente específicas de ciertas metodologías y pueden evitarse cambiando de procedimiento analítico, por lo que el método utilizado para realizar la medición debe ser especificado siempre que sea posible. [45] Los fármacos pueden provocar reacción de interferencia en los análisis fotométricos y fluorométricos por la modificación directa de del color en el espécimen problema. Generalmente, este tipo de interferencia puede ser detectado de forma visual por

el personal operativo de laboratorio. Algunos fármacos o excipientes actúan como un indicador directamente en la reacción del ensayo modificando el pH, que conlleva a una decoloración de la sustancia. Otros más pueden tener una conducta química oxidante o reductora. El resultado final es una errónea subestimación o sobreestimación. Los fármacos pueden ser medidos como analitos por el instrumento debido a su similitud en la estructura química o porque pueden contener un componente que es un analito per se. Algunas interferencias pueden resultar cuando el analito que se desea medir reacciona in vivo con la droga que se administra previamente a la colección de la muestra de sangre para el análisis. [46]

Kaufmann-Raab demostró que el acetaminofen, p-aminofenol y la oxifenilbutazona interferían con el método de glucosa oxidasa para determinar la cuantificación de glucosa en suero, describiendo una relación lineal entre las concentraciones de las drogas interferentes y el decremento de la concentración de glucosa; no obstante, a pesar de encontrar un efecto en este método, el método de glucosa hexoquinasa no mostro interferencias. [47] En el caso de los métodos para determinación de creatinina, en un estudio para valorar la modificación de resultados por sustancias endógenas y fármacos se observó la susceptibilidad de estos. La dopamina y el ácido ascórbico causaron falsa disminución de la concentración en métodos enzimáticos. La dopamina únicamente ocasionó un incremento falso en el método que emplea la reacción de *Jaffé* (picrato alcalino). [48] Incluso cuando diferentes analizadores utilizan el mismo método de reacción, como el de *JendrassikGrof* para la determinación de bilirrubina, pueden mostrar o no interferencia con un mismo metabolito de un fármaco; tal es el caso del naproxeno, mostrando un falso incremento de la concentración del analito en la mayoría, pero no en todos, los instrumentos de medición. [49]

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La población usuaria de los servicios de los laboratorios clínicos generalmente se encuentra bajo diferentes pautas de tratamiento médico, principalmente farmacológico. El metamizol es una droga analgésica y antipirética de uso frecuente, principalmente en sujetos hospitalizados. El uso de fármacos, frecuentemente no es advertido por el médico que indica exámenes de laboratorio ni por el paciente. Los exámenes de rutina solicitados incluyen parámetros de química clínica. Se ha demostrado que el acetaminofén, naproxeno, ácido gentísico, ácido ascórbico, dopamina, cefalosporinas, entre otros, causan reacción en métodos de reacción, principalmente colorimétricos, lo incrementa falsamente las concentraciones de algunos analitos. Dado a que no hay reportes suficientes sobre las interferencias que puede ocasionar el metamizol en los diferentes métodos para las pruebas de química clínica, nos lleva a la siguiente pregunta:

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Interfiere el metamizol en los analitos de química clínica?

JUSTIFICACIÓN

La identificación de la influencia de medicamentos en el comportamiento de la reacción química de los diferentes métodos empleados para demostrar la presencia y concentración de diferentes substratos, enzimas y productos metabólicos, se sugiere como una importante herramienta que se debe conocer en apoyo al ejercicio del diagnóstico médico, principalmente en áreas que demandan la toma de decisión oportuna que impactará en la contención de la enfermedad, evolución y pronóstico.

Las interferencias por sustancias exógenas representan un efecto preanalítico en el ciclo del laboratorio clínico, es por esto que se ha reconocido su importancia en la modificación de resultados emitidos al usuario (médico tratante y paciente).

Al considerar que un medicamento puede contribuir a la variabilidad de los resultados de pruebas de laboratorio más utilizadas, ocasionando su errónea interpretación ya sea de decisión a crítico o viceversa en escenarios como el diagnóstico de hiperglicemia o hipoglucemia, falla renal, hipercalcemia, desequilibrio hidroelectrolítico, ictericia y colestasis entre otros, la descripción de la farmacocinética del metamizol sugiere que sus metabolitos se pueden encontrar en un lapso de horas en circulación. Desconocemos su comportamiento en las reacciones de los métodos usados en éste y comúnmente en otros laboratorios, es por ese motivo que buscamos identificarla. Los resultados de este estudio podrían orientar a su identificación por el operativo del laboratorio clínico cuando utiliza espectrofotometría automatizada y contribuir a su consideración por el médico solicitante en el análisis de un resultado cuando un paciente experimente este régimen terapéutico.

El metamizol se prescribe diariamente y a dosis moderadas en nuestro medio. De acuerdo una publicación nacional, en donde por consenso de Médicos

de diferentes especialidades, a través de la evaluación sistemática de las evidencias internacionales disponibles y su propia experiencia institucional, se concluye que el uso del metamizol en nuestro medio es seguro. Reconocen que el metamizol es un medicamento eficaz para el tratamiento sintomático del dolor y la fiebre con un perfil costo/beneficio y riesgo/ beneficio muy favorable. La eficacia y seguridad se apoya desde el punto de vista de la Medicina Basada en Evidencia. [4]

La mayoría de los estudios de interferencias farmacológicas a nivel internacional son llevados a cabo por Estados Unidos de Norteamérica. Se debe tomar en cuenta que estas investigaciones pueden estar sujetas a intereses económicos de los fabricantes de reactivos e instrumentos. Por otra parte se realizaron conforme fueron desarrollándose los diferentes métodos, principalmente en las décadas de los años setentas y ochentas, por esta situación, en la mayoría de los estudios no se incluyó al metamizol para su análisis. Por tanto, la información que se tiene al respecto sobre el metamizol como interferente en el laboratorio es escasa.

La evidencia de la interferencia del metamizol así como otros medicamentos y la modificación de los resultados, es valorada adecuadamente usando muestras de individuos sanos, que no estén expuestos a otros fármacos en el momento del estudio con el fin de evitar una evaluación errónea.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar las interferencias analíticas causadas por el metamizol en los analitos de Química Clínica de medición directa del Laboratorio Clínico de una Unidad Médica de Alta Especialidad.

Objetivos particulares

Describir que mediciones de analitos de química clínica se ven afectadas por la presencia de un efecto preanalítico.

Describir incrementos y descensos de las concentraciones de elementos bioquímicos en suero por presencia de metamizol en muestras sanguíneas.

Describir la relación entre la concentración de metamizol en la muestra y la concentración afectada de los elementos bioquímicos de muestras sanguíneas.

Identificar si el uso de metamizol en sujetos que se someten a estudio de bioquímica sanguínea afecta los valores emitidos por el laboratorio.

HIPÓTESIS

HIPOTESIS NULA: El metamizol no interfiere en los analitos de química clínica.

HIPOTESIS ALTERNATIVA: El metamizol interfiere en los analitos de química clínica.

MATERIAL Y MÉTODOS

TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO

Por seleccionar las concentraciones de las sustancias interferentes: experimental.

Por el inicio del estudio en relación cronológica con los hechos: prospectivo.

Por el número de mediciones: transversal.

Por incluir dos grupos de sueros sanguíneos: comparativo analítico.

Tipo de muestreo: muestro no probabilístico intencional.

GRUPO Y SITIO DE ESTUDIO

Sueros de donadores de sangre del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional la Raza. Se entiende por tanto que son mujeres y hombres comprendidos entre 18 y 65 años de edad, considerados como sanos tras realizar la valoración médica y ser aprobados como aptos para la donación, de acuerdo a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

En el periodo comprendido de enero a diciembre de 2017 en el laboratorio de química clínica se realizaron 148,821 determinaciones de creatinina, la prueba más realizada. Tomando en cuenta esa cifra se realizó el cálculo de la muestra ocupando la ecuación para el cálculo de muestra con poblaciones conocidas

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Donde:

N = total de población, $Z_{\alpha} = 1.645$ al cuadrado (cuando la seguridad es del 90%),
p = proporción esperada (10% = 0.1), q = 1 – p, d = precisión. Con un margen de error de 10% y nivel de confianza de 90%, obteniendo una muestra de 97; se decide usar una muestra de 100.

ANALITOS DE MEDICIÓN DIRECTA

Ver tabla 2 en anexo B.

REACTIVOS

Se empleó metamizol sódico a concentración de 1 gr/ 2mL y solución de 4-aminoantipirina a concentración de 100 mcg/mL.

Se utilizaron kits de reactivos que usan métodos de reacción específicos que el fabricante del instrumento de medición recomienda (ver Tabla 2 en anexo B).

INSTRUMENTO ANALÍTICO

Las determinaciones analíticas se realizaron en el instrumento de espectrofotometría automatizada y electrodos ion selectivo a dilución simple Architecth 8000 de la compañía Abbott Diagnostics.

PROCEDIMIENTOS

Se recolectaron 100 muestras de 1,5 mL de sangre total a partir del reservorio del sistema de bolsas de recolección de sangre. Las muestras se centrifugaron a 3,500 revoluciones por minuto en un lapso de cinco minutos.

Con la totalidad de los sueros obtenidos se preparó una mezcla de muestras. Se siguieron las recomendaciones del documento C37-A del Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico (CLSI) Estados Unidos de Norteamérica "Guía para preparación de mezcla conmutable de sueros humanos..."[50] La mezcla se dividió en dos para formar dos grupos distintos. El primer grupo fue considerado como la muestra basal a concentración real. El segundo grupo se sometió a dilución 1:1 con agua desionizada para representar la muestra basal a

concentración baja. A ambas muestras se les realizó la determinación de los 21 analitos usando el instrumento de medición mencionado. Las dos diluciones, a concentración real y concentración baja se fraccionarán en dos grupos para la valoración de la interferencia con metamizol sódico y 4-aminoantipirina.

Para valorar la interferencia del metamizol sódico, se realizó a dos niveles de concentración: a 28 mcg de metamizol / mL de suero y 14 mcg de metamizol / mL de suero. Para la valoración de la interferencia por 4-aminoantipirina se realizaron dos niveles de concentración del fármaco: a 2 mcg de fármaco / ml de suero y a 0.5 mcg de fármaco / ml de suero.

Se siguieron los pasos indicados por el documento EP7-A2 del Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico (CLSI) Estados Unidos de Norteamérica “Guía para el Estudio de Interferencias en Pruebas de Química Clínica.” [51] En cada grupo, con la sustancia interferente incorporada, se ejecutó determinación por triplicado de los 21 analitos en estudio y calculó la media para obtener un único valor.

Ver flujograma en anexo C.

Se calcularon medidas de tendencia central y dispersión de la concentración de cada uno de los analitos en presencia del interferente y sin el mencionado. Se determinaron coeficientes de correlación lineal para comparar las concentraciones iniciales y en presencia del interferente. Se tomó como estadísticamente significativas solo aquellas que tuvieron un coeficiente de correlación mayor a 0.8 de acuerdo al criterio de Saunders. [52]

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó análisis de datos mediante la evaluación y distribución de variables cuantitativas, utilizándose medidas de tendencia central y dispersión según el grupo de datos obtenido. Se evaluó la distribución de las variables

mediante la prueba de normalidad de Kolmogorov – Smirnov. Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 18.0.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este es un estudio comparativo en el cual se apreció el efecto de un fármaco adicionado al suero de donadores; esta acción es independiente al proceso de donación de sangre y no afectó dicho proceso ni los resultados de las pruebas realizadas para la liberación de hemocomponentes para su uso alogénico o disposición final.

El Banco de Sangre conserva inicialmente la sangre en un sistema de bolsas de recolección, conocido como unidad , este sistema tiene un reservorio destinado a la toma de muestras que evita realizar punción venosa para obtenerlas cuando estas sean requeridas. Éste reservorio y la sangre residual que contiene, son desechados. Se tomaron las muestras a partir de este sitio. Esto indica que, no se puncionó ni se afectó la integridad del donador. No se tomaron en cuenta para la identificación de las muestras los nombres u otros datos personales de los donadores, solamente la edad y sexo que se tomaron a partir de la etiqueta de la unidad. El estudio no representó riesgo.

El presente estudio no viola ningún principio básico para la investigación en seres humanos, establecidos por la Declaración de la Asamblea Mundial del Tratado de Helsinki, Nuremberg y Finlandia. La propuesta y el plan de ejecución se apegan a la ley General de Salud de los Estados Unidos Mexicanos en materia de investigación para la salud.

RESULTADOS

Se obtuvieron 100 muestras a partir de la bolsa accesoria para toma de muestra de las unidades sanguíneas. Se aceptaron la totalidad de las muestras por no presentar efectos visibles de hemolisis, lipemia o ictericia.

La mezcla se preparó de muestras provenientes de unidades de 30 mujeres (30%) con un promedio de edad de 35,3 años y 70 hombres (70%) con un promedio de edad de 39,1 años. En conjunto, el promedio de edad fue de 37,1 años con un rango de edad de 19 a 59 años.

En la tabla 3 se muestran los coeficientes de correlación de los analitos a partir de los resultados obtenidos de su ensayo a dos concentraciones. El 50% no cumple con el criterio de aceptabilidad para su análisis (coeficiente de correlación mayor a 0,8), siendo nitrógeno ureico sanguíneo, ALT, fosfatasa alcalina, amilasa, lipasa, GGT, potasio y calcio. No se incluye al analito sodio debido a que, el límite de detección, de acuerdo al fabricante del reactivo, se encuentra por arriba del valor obtenido a través de la dilución 1:1, por lo que no es posible determinar el coeficiente de correlación.

Tabla 3. Coeficientes de correlación entre las medias de cada determinación en dos niveles de concentración.

ANALITO	Coeficiente de correlación
GLUCOSA	0,86
NITRÓGENO UREICO	0,56
CREATININA	0,98
ÁCIDO URICO	0,99
COLESTEROL	0,99
TRIGLICERIDOS	0,99
BIL TOTAL	0,99
BIL DIR	0,91
AST	0,89
ALT	-0,33
LDH	-0,59
F ALCALINA	-0,04
AMILASA	0,13
LIPASA	0,69
GGT	0,02
PROTEINAS	0,91
ALBUMINA	0,99
POTASIO	0,39
COLORO	-0,97
CALCIO	0,38

Para efecto de descripción en las siguientes tablas, las cifras que se mencionarán, cumplen con el criterio basado en la variabilidad analítica del documento EP7-A2 del CLSI, para definir como interferencia, a los valores que sean mayores de una desviación estándar del valor obtenido de la muestra sin la sustancia propuesta como interferente.

Los resultados de las pruebas en la mezcla inicial se muestran en la tabla 4. Se observó fenómeno de interferencia en ácido úrico, colesterol, triglicéridos y bilirrubina total cuando en la muestra se encontraba metamizol. AST y albumina presentaron el fenómeno con ambas sustancias de estudio; en todos los casos el efecto de interferencia fue negativo. La concentración de ácido úrico de la muestra inicial fue de 6.21 mg/dL y disminuyó a 3,72 mg/dL (40,09%) cuando se encontraban 28 mcg de metamizol /mL de suero y a 5,24 mg/dL (15,61%) cuando

se encontraban 14 mcg de metamizol /mL de suero en la muestra. La concentración de la mezcla inicial de colesterol fue de 196,09 mg/ dL, cuando se encontraban 28 mcg de metamizol / mL, el instrumento asignó un valor que disminuyó a 122,06 mg/dL (37,65%) y a 170,09 mg/dL (13,25%) cuando se encontraban 14 mcg de metamizol / mL. Cuando se determinó la concentración de triglicéridos con las concentraciones anteriormente señaladas del fármaco, se obtuvieron 58,71 mg/dL y 107,05 mg/dL, (disminuyendo 59,87% y 33,02% respectivamente) partiendo del valor de 14,31 mg/dL con ausencia del fármaco en la muestra.

Tabla 4. Valores obtenidos del promedio de tres mediciones de analitos, (sin interferentes y con las diferentes concentraciones de los interferentes) en la mezcla inicial.

MEZCLA CONCENTRACION REAL					
	Muestra sin interferente	28 mcg metamizol / mL suero	14 mcg metamizol / mL suero	2 mcg 4-amino antipirina / mL suero	0,5 mcg 4-amino antipirina / mL suero
ANALITOS	M mg/dL	M mg/dL	M mg/dL	M mg/dL	M mg/dL
GLUCOSA	104,08 (0,34)	104,70 (0,33)	104,39 (0,22)	104,54(0,16)	104,68(0,33)
CREATININA	0,84 (0,02)	0,89 (0,01)	0,86(0,02)	0,84(0,01)	0,85(0,01)
ÁCIDO ÚRICO	6,21 (0,03)	3,72 (0,14)	5,24(0,08)	6,22(0,01)	6,23(0,03)
COLESTEROL	196,09 (0,85)	122,06 (9,73)	170,09(4,28)	196,18(0,20)	196,35(0,50)
TRIGLICERIDOS	146,31 (1,19)	58,71 (7,59)	107,06(6,43)	146,60(1,01)	147,36(0,56)
B TOTAL	0,79 (0,01)	0,42 (0,02)	0,58(0,05)	0,80(0,01)	0,80(0,01)
B DIRECTA	0,28 (0,00)	0,29 (0,00)	0,29(0,00)	0,28(0,00)	0,28(0,00)
AST	27,75 (0,30)	26,35 (1,03)	27,24(0,41)	27,76(0,47)	27,56(0,17)
PROTEINAS	7,95 (0,07)	8,04 (0,03)	8,01(0,03)	8,02(0,04)	8,00(0,04)
ALBUMINA	4,81 (0,02)	4,53 (0,04)	4,72(0,02)	4,82(0,01)	4,82(0,05)
SODIO	145,50 (2,80)	152,21 (0,87)	147,76(0,35)	147,13(0,51)	146,71(0,32)

M: media. (): Desviación estándar. B TOTAL: Bilirrubina total. B DIRECTA: Bilirrubina directa.

En AST y albumina se presentaron efectos contrarios con una y otra sustancia: disminución aparente con metamizol e incremento con su metabolito. A pesar de haber observado ese comportamiento, las modificaciones no sobrepasaron más de dos miligramos por decilitro en la enzima y no más de uno en la proteína.

A concentraciones bajas de los analitos, de acuerdo a los datos de la tabla 5, la glucosa presentó interferencia con el fármaco y su metabolito. El metamizol produjo interferencia negativa en ácido úrico y triglicéridos así como en colesterol y AST, que igualmente experimentaron interferencia negativa con 4-aminoantipirina. El analito de proteínas totales observó un efecto bimodal, inicialmente interferencia positiva con ambas concentraciones del fármaco y posteriormente interferencia negativa con la concentración baja del metabolito. El efecto de interferencia negativo general en esta concentración del suero, fue mayor cuando se usó la concentración de metamizol a 28 mcg/mL de suero, observando disminución del valor de 73,07 mg/dL a 23,90 mg/dL (67,29%) en triglicéridos, de 97,28 mg/dL a 53,71 mg/dL (44,78%) en colesterol y de 3,06 mg/dL a 1,13 mg/dL (43,13%) en ácido úrico respecto a la cifra obtenida cuando se determinó la concentración sin el interferente.

Tabla 5. Valores obtenidos del promedio de tres mediciones de analitos, (sin interferentes y con las diferentes concentraciones de los interferentes) en la mezcla diluida al 50%.

MEZCLA CONCENTRACIÓN BAJA					
	Muestra sin interferente	28 mcg metamizol / mL suero	14 mcg metamizol / mL suero	2 mcg 4-amino antipirina / mL suero	0,5 mcg 4-amino antipirina / mL suero
ANALITOS	M mg/dL	M mg/dL	M mg/dL	M mg/dL	M mg/dL
GLUCOSA	51,10(0,12)	51,47(0,34)	51,17(0,26)	51,53(0,09)	51,73(0,23)
CREATININA	0,42(0,01)	0,47(0,01)	0,43(0,01)	0,42(0,01)	0,42(0,01)
ÁCIDO ÚRICO	3,06(0,03)	1,74(0,06)	2,52(0,04)	3,08(0,01)	3,05(0,01)
COLESTEROL	97,28(0,67)	53,71(2,42)	79,11(2,43)	97,62(0,62)	96,25(0,98)
TRIGLICERIDOS	73,07(0,71)	23,90(1,15)	47,63(2,92)	73,10(0,44)	71,98(0,53)
B TOTAL	0,37(0,01)	0,20(0,00)	0,29(0,01)	0,37(0,01)	0,37(0,01)
B DIRECTA	0,18(0,00)	0,19(0,00)	0,18(0,01)	0,18(0,00)	0,18(0,00)
AST	13,66(0,11)	13,08(0,38)	13,38(0,48)	13,80(0,30)	13,94(0,47)
PROTEINAS	3,83(0,02)	3,90(0,02)	3,84(0,04)	3,82(0,02)	3,80(0,06)
ALBUMINA	2,38(0,02)	2,16(0,02)	2,28(0,01)	2,39(0,00)	2,38(0,02)

M: media. (): Desviación estándar. B TOTAL: Bilirrubina total. B DIRECTA: Bilirrubina directa.

La variación fue recíproca con la concentración menor del medicamento. Se encontró disminución de 13,53% en colesterol, 17,64 % en ácido úrico y en triglicéridos 34.81%, siendo la prueba con mayor decremento.

Comparando los dos grupos de muestras, el de concentración al 50% fue más sensible a la presencia de la menor cantidad de 4-aminoantipirina. El grupo con las concentraciones esperadas para sujetos sanos experimentó modificaciones con grandes cantidades del fármaco.

DISCUSIÓN

Se puede considerar que los valores asignados a cada analito de química clínica a partir de la mezcla de sueros en este experimento, presentaron sesgo mínimo al incluir cien muestras, según las recomendaciones del documento C37-A del CLSI.[50] Los valores son los esperados para sujetos sanos a excepción de glucosa, pero puede explicarse por la tolerancia a los donadores de sangre de consumir bebidas previas a la flebotomía, sin embargo, el valor de la cifra solo sirve para valorar y describir su variación.

El 50% de los analitos determinados en las muestras que contenían la sustancia interferente, no mostraron comportamiento lineal al analizar las series correspondientes a las dos concentraciones de mezcla, tomando en cuenta que se realizó la medición por triplicado. Este fenómeno puede ser esperado si se toma en cuenta las recomendaciones de la guía EP7-A2 [51] que recomienda un mínimo de tres repeticiones para la obtención de la media que representará al valor modificado por el interferente a fin de disminuir en lo posible el sesgo y por otra parte puede deberse a la naturaleza química de la sustancia en estudio, ya que la mayoría de los analitos que no tuvieron un desempeño estadísticamente significativo fueron enzimas y que la medición de éstas se realizan a través de sistemas de seguimiento cronológico que adquieren información en determinados puntos de la reacción del ensayo. [16]

Los efectos de la sustancia exógena y su metabolito que se proponen pueden desviar el valor verdadero de los mesurandos de química clínica, fueron más acentuados con el fármaco original en la mayor concentración que en la menor, y se observó poca modificación cuando la muestra contenía el metabolito. A pesar de que no existen estudios descriptivos enfocados a ésta particularidad, que relacionen directamente al metamizol como un agente interferente en la reacción de los diferentes métodos, se puede atribuir que el efecto es ocasionado

por algún metabolito inicial, ya que en solución, el fármaco sufre rápidamente hidrólisis. [8]

Se podría esperar que el principal analito afectado, ya que su método de reacción es susceptible a diferentes condiciones físicas y químicas, sea la creatinina [21], así como lo han demostrado otros autores en estudios que incluyen otros fármacos antiinflamatorios no esteroideos [46] [48], no obstante, en este experimento no se observó modificación del valor verdadero en los dos principales grupos de mezclas.

Los métodos que experimentaron fenómeno de interferencia, con diferencias mayores del 13.25% en sus resultados basales fueron principalmente uricasa, colesterol esterasa y glicerol fosfato oxidasa. Si bien, las sustancias determinadas son sustratos y no enzimas, emplean sistemas que miden la velocidad de la reacción del método [16] y requieren de enzimas para poder efectuar dicha reacción. Los kits de esos reactivos tienen como cofactor a la 4-aminoantipirina que actúa en presencia de la enzima peroxidasa [23-25]. Si se toma en cuenta que, la forma farmacéutica puede ser considerada como la causante directa de la modificación de los valores, debería pensarse que el efecto se debe más bien a la 4-aminoantipirina o a otro metabolito químicamente similar, ya que en las reacciones anteriormente mencionadas, juega un papel importante su presencia y el efecto de disminución aparente de la concentración de los lípidos y el ácido úrico, puede deberse a un efecto de competitividad [46] del metabolito por la enzima peroxidasa, lo cual decrementaría la producción de las sustancias que representarán la concentración de los agentes bioquímicos en la solución de muestra.

El método Diazo, que emplea la reacción de *Jendrassik Grof* para la cuantificación de Bilirrubina Total, experimentó falso incremento de la concentración, tal y como describe *Dasgupta* con el naproxeno en un estudio realizado in vivo [49], no obstante, este experimento se realizó in vitro y con

sueros de sujetos sanos que teóricamente no consumieron medicamentos siete días previos a la extracción de sangre.

Aunque estadísticamente se presentó una variación en el valor de AST, el cambio fue una mínima disminución, situación que generalmente es opuesta de acuerdo con la IFCC u otros autores, quienes describen el rol de la hemolisis como un factor que incrementa falsamente de forma considerable su valor. [44]
[53]

La variación de los valores no uniforme vista en glucosa, o el de proteínas totales, donde con un interferente se observó incremento y con otro decremento, es similar al observado en otros experimentos para glucosa que comparan diferentes métodos de reacción para la determinación de un analito en presencia de diferentes xenobióticos. [54]

CONCLUSIONES

Este protocolo de investigación, dirigido a buscar el efecto en el desempeño analítico de los métodos utilizados en un laboratorio central para determinar analitos de química clínica, se demostró principalmente la susceptibilidad de los sistemas uricasa, colesterol esterasa y glicerolfosfato oxidasa, a la presencia de cantidades importantes de metamizol y su metabolito, ocasionando una subestimación de los valores de ácido úrico, colesterol y triglicéridos, tomando en cuenta la concentración de los analitos cuando los fármacos estaban ausentes en la muestra. Dicho efecto es resultado de una mayor disponibilidad del interferente en las reacciones bioquímicas usadas para emitir las señales de medición (los reactivos incluyen en su composición distintas cantidades de 4- aminoantipirina). Esta conclusión, es resultado de un tratamiento estadístico recomendado por un órgano de estándares de laboratorio clínico, lo que permite calificarlo como interferencia cinética analítica.

Los valores de la bilirrubina total por el método diazo y los de AST por el método NADH, sufrieron interferencia negativa con el metamizol; en contraparte, el método de glucosa hexoquinasa para glucosa, mostró interferencia positiva. No obstante, desde el punto de vista práctico, estas variaciones no se consideran importantes ya que las modificaciones recaen apenas en el orden de fracciones de los numeradores.

De acuerdo con los analitos afectados y con el tipo de modificación en sus concentraciones (disminución en la mayoría) las cifras obtenidas pueden ser clasificadas como valores de decisión.

Los resultados aquí presentes provienen de la ejecución de un mínimo de repeticiones recomendadas, en reactivos de un fabricante en particular, por lo que se abre la posibilidad de conducir nuevos experimentos con un número mayor de

repeticiones a fin de disminuir sesgos y con reactivos que se usen en diferentes centros de trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Buitrago González, Calderón Ospina. Dipirona: ¿beneficios subestimados o riesgos sobredimensionados? Revisión de la literatura. *Rev Colomb Cien Quím Farm.* 2014; 43 (1): 173-195.
2. Volz M, Kellner. Kinetics and Metabolism of pyrazolones (propyphenazone, aminopyrine and dipyron). *Br J Clinical Pharmacol.* 1980; 10: 299-308.
3. Pascoe M. Aminopyrine, Dipyron and Agranulocytosis. *Can Med Assoc J.* 1965; 92(4): 192.
4. Arcilla Herrera. Consenso de un grupo de expertos mexicanos. Eficacia y seguridad del metamizol (Dipirona). *Gac Méd Méx.* 2004; 1:99-101.
5. S. Sadusk. The relationship of the Food and Drug Administration to the Practice of Medicine and the Aminopyrine-Dipyron problem. *J Am Osteopath.* 1965; 5 (1):57-62.
6. Jasiecha, Jaroszewski. Pharmacological characteristics of metamizole. *Pol J Vet Sci.* 2004; 17 (1): 207-214.
7. Andrade S., Bartels D. Safety of metamizole: a systematic review of the literature. *J Clin Pharm Ther.* 2016; 41 (5): 459-477.
8. Pierre S., Schmidt R. Inhibition of Cyclooxygenases by Dipyron. *Br J Pharmacol.* 2007; 151 (4): 494-503.
9. Levy M, Zylber-Katz E, Rosenkranz B. Clinical pharmacokinetics of dipyron and its metabolites. *Clin Pharmacokinet.* 1995; 28 (3): 216-234.
10. G. Asmardi, F. Jamali. Pharmacokinetics of dipyron in man; role of the administration route. *Eur J Drug Metab.* 1985; 10 (2): 121-125.
11. Garcia Martinez. Effect of metamizol on promyelocytic and terminally differentiated granulocytic cells. Comparative analysis with acetyl salicylic acid and diclofenac. *Biochem Pharmacol.* 2003; 65: 209-217.
12. Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables para farmacias y público en general 2014. S. S. A.
13. Nikolova. Metamizole: a review profile of a well-known forgotten drug. Part II: clinical profile. *Pharm Biotech.* 2014;(2): 3605-3619.
14. Comunicado a los Profesionales de la Salud. Recomendaciones de uso del Metamizol. Comisión Nacional para la Protección contra Riesgos Sanitarios. 2010.
15. Castaño Vidriales. Espectrometría derivada en química clínica. *Química Clínica.* 1991; 10 (5): 347-359.
16. González de Buitrago. Técnicas espectroscópicas, métodos de cuantificación. *Técnicas y Métodos de Laboratorio Clínico 3ª edición.* 2010: 132, 136-144.
17. McPherson, Pincus. Analysis: principles of Instrumentation. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods 22nd edition.* 2011; 49-50.
18. Passey B., Gillum R, Fuller J., et al. Evaluation and comparison of 10 glucose methods and the reference method recommended in the proposed product class standard. *Clin Chem.* 1977; 23 (1): 131-139.
19. Luzzana M. Measurement of glucose in plasma by a differential pH technique. *Clin Chem.* 1983; 29 (1): 80-85.

20. Morishita Y, Nakane K, Fukatsu T, et al. Kinetic assay of serum and urine for urea with use of urease and leucine dehydrogenase. *Clin Chem.* 1997; 43 (10): 1932-1936.
21. Croker H, Shephard M, White G. Evaluation of an enzymatic method for determining creatinine in plasma. *J Clin Pathol.* 1988; 41: 576-581.
22. Fabiny DL, Ertingshausen G. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the Centrif Chem. *Clin Chem.* 1971; 17: 696-700.
23. Kabasakalian P, Kalliney S, Wescott A. Determination of uric acid in serum, with use of uricase and tribromophenol-aminoantipyrine chromogen. *Clin Chem.* 1973; 19: 522.
24. Flegg HM. An investigation of the determination of serum cholesterol by an enzymatic method. *Ann Clin Biochem.* 1973; 10: 79-84.
25. Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem.* 1982; 28: 2077-80.
26. Winsten S, Cehelyk B. A rapid micro diazo technique for measuring total bilirubin. *Clinical Chemistry Acta.* 1969; 25 (3): 441-6.
27. Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1999:1136.
28. Amador E, Dorfman LE, Wacker WEC, et al. Serum lactic dehydrogenase activity: an analytical assessment of current assays. *Clin Chem.* 1963; 9: 391.
29. Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1986; 24 (7): 497-510.
30. Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. Approved recommendation (1985) on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 1986; 24 (7): 481-95.
31. King EJ, Armstrong AR. A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Can Med Assoc J.* 1934; 31: 376-381.
32. Krouwer JS, Castaneda-Mendez K, Dawson JM, et al. Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods; Approved Guideline (EP10-A). Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1998.
33. Theodorsen L., Stromme JH. Gamma-Glutamyl-3-carboxy- 4-nitroanilide: the substrate of choice for routine determinations of gamma-glutamyl-transferase activity in serum? *Clin Chim Acta.* 1976; 72: 205.
34. Lubran M. The measurement of total serum proteins by the Biuret method. *Ann Clin Lab Sci.* 1978; 8 (2).
35. Rodkey, F.L., Direct spectrophotometric determination of albumin in human serum. *Clin Chem.* 1965; 2: 478.
36. Dimeski G., Badrick T., John A. Ion selective electrodes and interferences a review. *Clin Chim Acta.* 2010; 411: 309-317.
37. Leary. Single stable reagent (arsenazo III) for optically robust measurement of calcium in serum and plasma. *Clin Chem.* 1992; 3 (6): 904-906.

38. Sánchez-Rodríguez. Valores de referencia o valores de corte clínico: ¿qué criterio tomar en el laboratorio clínico actual? *Bioquímica*. 2007; (32): 37-38.
39. Campuzano-Maya. Valores críticos en el laboratorio clínico: de la teoría a la práctica. *Medicina y Laboratorio*. 2001; 17 (7-8): 331-350.
40. Rocha B, Alves J, Pinto F, et al. The critical value concept in clinical laboratory. *J Bras Patol Med Lab*. 2016; 52 (1): 17-20.
41. Ricós C, Perich C, Dómenech M, et al. Variación biológica. Revisión desde una perspectiva practica. *Rev Lab Clin*. 2010; 3 (4): 192-200.
42. Anguiano-Sánchez et al. Errores en el laboratorio clínico; evaluación de tipos y frecuencias. *Medicina Universitaria*. 2011; 13 (52): 133-138.
43. Nicolak Nora. Lipemia: causes, interference mechanism, detection and management. *Biochem Med (Zagreb)*. 2014; 24 (1): 57-67.
44. Dimeski Goce. Interference Testing. *Clinical Biochemistry*. 2008; 29 (1): 43 - 48.
45. Lima M, Domínguez S. Interferencia entre medicamentos y pruebas de laboratorio en pacientes hospitalizados. *Rev Mex Patol Clín*. 2009; 56 (4): 265-270.
46. Forman, Young. Drug Interference in Laboratory Testing. *Ann Clin Lab Sci*. 1976; 6 (3): 263 - 271.
47. Kaufmann-Raab I., Jonen H., Jahnchen E., et al. Interference by acetaminophen in the glucose oxidase-peroxidase method for blood glucose determination. *Clin Chem*. 1976; 22 (10): 1729-1731.
48. Weber J., Zanten A. Interferences in current methods for measurements of creatinine. *Clin Chem*. 1991; 37 (5): 695-700.
49. Dasgupta A., Langman L., Johnson M., et al. Naproxen metabolites interfere with certain bilirubin assays: elimination of interference by using a Roche bilirubin assay on the Hitachi 917 analyzer. *Am J Clin Pathol*. 2015; 133 (6): 878-883.
50. Clinical Laboratory Standars Institute. C37-A: Preparation and validation of commutable frozen human serum pools as secondary reference materials for cholesterol measurement procedures; Approved Guideline. 1999.
51. Clinical Laboratory Standars Institute. EP7-A2: Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline. Second edition. 2005.
52. Sauders BC, Trapp RG. *Bioestadística médica*. México. El Manual Moderno. 1993; 62-64, 187-214.
53. Kirschbaumweng L. Haemolysis as interference & interference factor. *eJIFCC*. 13 (4): <http://www.ifcc.org/ejifcc/vol13no4/130401002.htm>
54. Passey R., Gillum R., Fuller J. et al. Evaluation and comparison of 10 glucose methods and the reference method recommended in the proposed product class standard. *Clin Chem*. 1977; 22 (1): 132-139.

ANEXO A

Tabla 1. Métodos y descripción de su reacción química.

	Método	Reacción química
1	Glucosa oxidasa	La glucosa es fosforilada por la hexoquinasa en presencia de adenosintrifosfato e iones de magnesio para producir glucosa-6-fosfato y difosfato de adenosina. La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa oxida específicamente Glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconato con la reducción concurrente de nicotinamida adenina dinucleótido a nicotinamida adenina dinucleótido reducido. Se produce un micromol de nicotinamida adenina dinucleótido reducido por cada micromol de glucosa consumida. El nicotinamida adenina dinucleótido reducido producido absorbe luz a 340 nm y se puede detectar espectrofotométricamente como una mayor absorbancia. [18] [19]
2	Ureasa	La urea en la muestra se hidroliza por ureasa a amoníaco y dióxido de carbono. La segunda reacción, catalizada por la glutamato deshidrogenasa, convierte el amoníaco y el α -cetoglutarato en glutamato y agua con la oxidación concurrente del dinucleótido de nicotinamida adenina reducido a nicotinamida adenina dinucleótido. Dos moles de nicotinamida adenina dinucleótido reducido se oxidan por cada mol de urea presente. La tasa inicial de disminución de la absorbancia es proporcional a la concentración de urea en la muestra. [20]
3	Picrato alcalino	A un pH alcalino, la creatinina en la muestra reacciona con el picrato para formar un complejo de creatinina-picrato. La tasa de aumento en la absorbancia a 500 nm debido a la formación de este complejo es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra. [21] [22]
4	Uricasa	El ácido úrico se oxida a alantoína por la uricasa con la producción de peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno reacciona con 4-amino-antipirina y el ácido 2,4,6-tribromo-3-hidroxibenzoico en presencia de peroxidasa para producir un colorante de quinoneimina. El cambio resultante en la absorbancia a 548 nm es proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra. [23]
5	Colesterol esterasa	Los ésteres de colesterol son hidrolizados enzimáticamente por colesterol esterasa a colesterol y ácidos grasos libres. El colesterol libre, incluido el originalmente presente, se oxida luego por la colesterol oxidasa a colest-4-eno-3-ona y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno se combina con ácido hidroxibenzoico y 4-amino-antipirina para formar un cromóforo, colorante de quinonaimina, que se cuantifica a 500 nm. [24]
		El glicerol se fosforila mediante adenosintrifosfato con glicerol quinasa para producir glicerol-3-fosfato y adenosina difosfato. El glicerol-3-fosfato se oxida a dihidroxiacetona fosfato por la

6	Glicerolfosfato oxidasa	glicerol fosfato oxidasa produciendo peróxido de hidrógeno. En una reacción de color catalizada por peroxidasa, el H ₂ O ₂ reacciona con 4-amino-antipirina y 4-clorofenol para producir un tinte de color rojo. La absorbancia de este colorante es proporcional a la concentración de triglicéridos presente en la muestra. [25]
7	Diazotación	<p>La bilirrubina total (conjugada y no conjugada) se acopla con un reactivo Diazo en presencia de un tensoactivo para formar azobilirrubina. La reacción diazo se acelera mediante la adición de agente tensoactivo como agente solubilizante. El aumento en la absorbancia a 548 nm debido a la azobilirrubina es directamente proporcional a la concentración total de bilirrubina. [26]</p> <p>La bilirrubina directa (fracciones conjugadas) se acopla con una sal de diazonio en presencia de ácido sulfámico para formar el compuesto coloreado azobilirrubina. El aumento en la absorbancia a 548 nm debido a la azobilirrubina es proporcional a la concentración de bilirrubina directa. [27]</p>
8	NADH	El lactato y nicotinamida adenina dinucleótido se convierten en piruvato y nicotinamida adenina dinucleótido reducido por acción de LDH. El nicotinamida adenina dinucleótido reducido absorbe fuertemente la luz a 340 nm, mientras que nicotinamida adenina dinucleótido no lo hace. La velocidad de aumento de la absorbancia a 340 nm es directamente proporcional a la actividad de LDH en la muestra. [28]
9	NADH para AST	La AST presente en la muestra cataliza la transferencia del grupo amino del L-aspartato al 2-oxoglutarato, en presencia de piridoxal-5'-fosfato, formando oxalacetato y L-glutamato. Oxaloacetato en presencia de nicotinamida adenina dinucleótido reducido y malato deshidrogenasa se reduce a L-malato. En esta reacción, el nicotinamida adenina dinucleótido reducido se oxida a nicotinamida adenina dinucleótido. La reacción se controla midiendo la velocidad de disminución de la absorbancia a 340 nm debido a la oxidación de nicotinamida adenina dinucleótido reducido a nicotinamida adenina dinucleótido. [29]
10	Método de IFCC para ALT	La ALT presente en la muestra cataliza la transferencia del grupo amino de L-Alanina a 2-oxoglutarato, en presencia de piridoxal-5'-fosfato, formando piruvato y L-glutamato. El piruvato en presencia de nicotinamida adenina dinucleótido reducido y lactato deshidrogenasa se reduce a L-lactato. En esta reacción, nicotinamida adenina dinucleótido reducido se oxida a nicotinamida adenina dinucleótido. La reacción se controla midiendo la velocidad de disminución de la absorbancia a 340 nm debido a la oxidación de nicotinamida adenina dinucleótido reducido a nicotinamida adenina dinucleótido. [30]
11	Nitrofenilfosfato	La fosfatasa alcalina en la muestra cataliza la hidrólisis del fosfato de p-nitrofenilo incoloro (p-NPP) para dar p-nitrofenol y fosfato inorgánico. Al pH del ensayo (alcalino), el p-nitrofenol está en forma de fenóxido amarillo. La velocidad de aumento de la absorbancia a 404 nm es directamente proporcional a la actividad

		de la fosfatasa alcalina en la muestra. Las concentraciones optimizadas de iones de zinc y magnesio están presentes para activar la fosfatasa alcalina en la muestra. [31]
12	Sustrato CNPG3	La α -amilasa hidroliza el 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltotriosido para liberar 2-cloro-4-nitrofenol y formar 2-cloro-4-nitrofenil- α -D-maltosido, maltotriosa y glucosa. La velocidad de formación del 2-cloro-4-nitrofenol puede detectarse espectrofotométricamente a 404 nm para proporcionar una medición directa de la actividad de α -amilasa en la muestra. [32]
13	Quinona	La lipasa actúa sobre un sustrato natural, el 1,2-diglicérido, para liberar el 2-monoglicérido. Esto se hidroliza por monoglicérido lipasa en glicerol y ácido graso libre. La glicerol quinasa actúa sobre el glicerol para formar glicerol-3-fosfato, que a su vez actúa sobre la glicerol-3-fosfato oxidasa para generar peróxido de hidrógeno. La peroxidasa convierte el peróxido de hidrógeno, 4-amino-antipirina y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-m-toluidina en un colorante de quinona. La velocidad de formación del colorante, medida como un aumento en la absorbancia a 548 nm, es proporcional a la concentración de lipasa en la muestra. [33]
14	GGCN	La GGT cataliza la transferencia del grupo gamma-glutamil desde el sustrato donante L-gamma-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida al aceptor de glicilglicina para producir 3-carboxi-4-nitroanilina. La velocidad de aumento de la absorbancia a 412 nm (416 nm para c 4000 y c 16000) es directamente proporcional a la GGT en la muestra. [33]
15	Biuret	En solución alcalina, el ion cúprico forma un complejo de coordinación, un producto de quelato de color violeta que se mide por espectroscopía de absorción a 540 nm. En un rango de concentración dado, la absorción medida a 540 nm es lineal con respecto a la concentración de proteína total. [34]
16	Verde de bromocresol	La unión del verde de bromocresol específicamente con la albúmina a pH 4,2 produce un complejo coloreado. La absorbancia del complejo a 628 nm es directamente proporcional a la concentración de albúmina en la muestra. [35]
17	Ion selectivo a dilución simple	Los electrodos selectivos de iones para sodio, potasio y cloruro utilizan membranas selectivas para cada uno de estos iones. Se desarrolla un potencial eléctrico a través de las membranas entre los electrodos de referencia y de medición de acuerdo con la ecuación de Nernst. El voltaje se compara con los voltajes del calibrador previamente determinados y se convierte en concentración de iones. [16] [36]
18	Arsenazo III	El colorante Arsenazo-III reacciona con el calcio en una solución ácida para formar un complejo azul-púrpura. El color desarrollado se mide a 660 nm y es proporcional a la concentración de calcio en la muestra. [37]

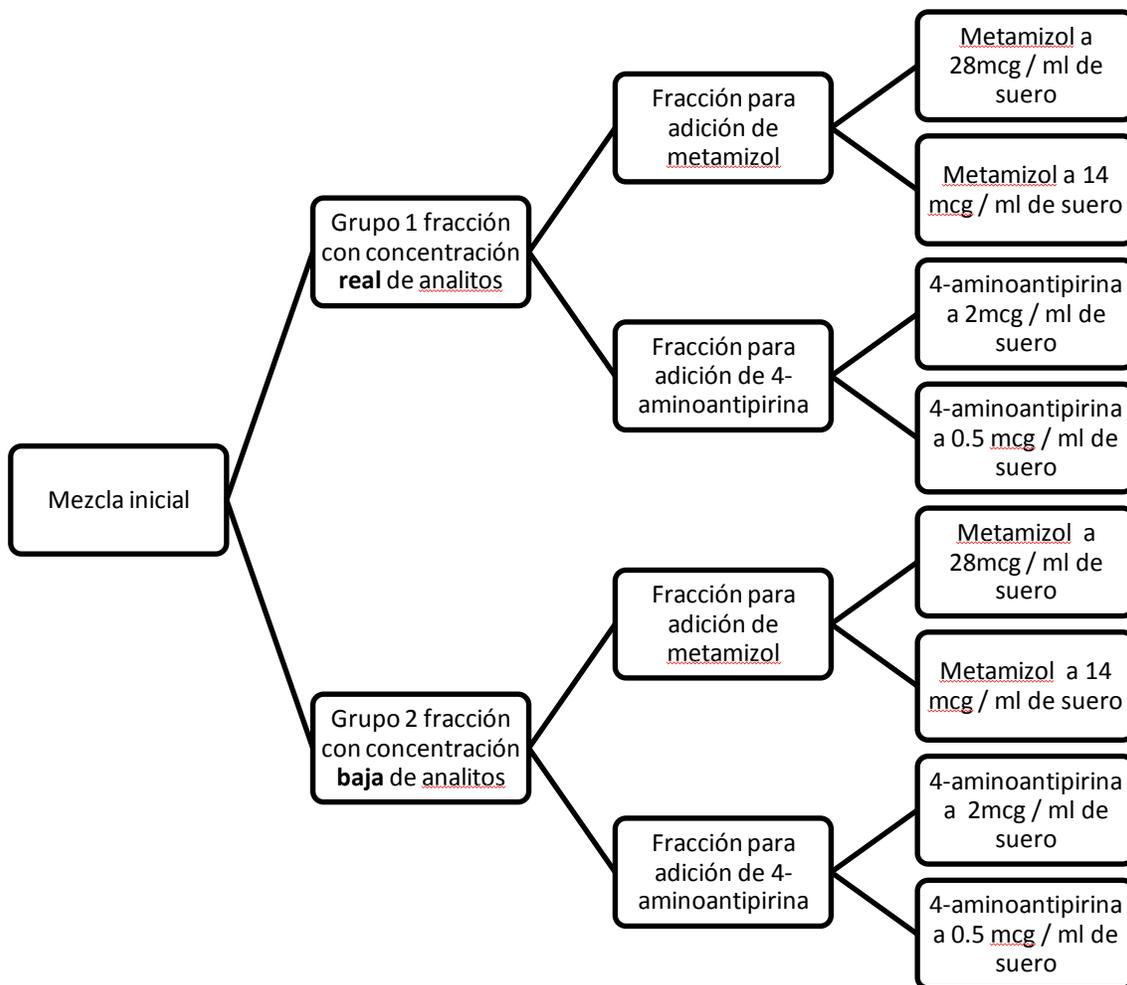
ANEXO B

Tabla 2. Reactivo y método de reacción especificado para el instrumento de medición Architect c8000.

No	Reactivo	Método de reacción
1	Glucosa	Glucosa hexoquinasa
2	Nitrógeno Ureico	Enzimático
3	Creatinina	Picrato alcalino
4	Acido úrico	Ureasa
5	Colesterol	Colesterol esterasa
6	Triglicéridos	Glicerofosfato oxidasa
7	Bilirrubina total	Diazotación
8	Bilirrubina directa	Diazotación
9	Lactato deshidrogenasa	NADH
10	Aspartato Amino Transferasa	NADH
11	AspartatoAlaninoTransferasa	IFCC
12	Fosfatasa alcalina	Nitrofenilfosfato
13	Amilasa	Substrato CNPG3
14	Lipasa	Quinona
15	Gamma GlutamilTransferasa	GGCN
16	Proteínas totales	Biuret
17	Albumina	Verde de bromocresol
18	Sodio	Ion selectivo
19	Potasio	Ion selectivo
20	Cloro	Ion selectivo
21	Calcio	Arsenazo III

ANEXO C

Flujograma de preparación de concentración de interferentes en suero sanguíneo.



ANEXO D

GLOSARIO

Absorbancia: cantidad de luz absorbida por una sustancia.

Alícuota: porción de un volumen inicial que es proporcional y representativa.

Disponente: el que se expone a la obtención de sangre o componentes.

Espectrofotometría: medición de la cantidad de energía radiante que absorbe un Sistema químico en función de la longitud de onda de la radiación, y a las mediciones a una determinada longitud de onda.

Interferencia: en química clínica, una causa de sesgo clínicamente significativo en la concentración de analito medida debido al efecto de otro componente o propiedad de la muestra.

Interferente: sustancia que causa interferencia.

Longitud de onda: distancia entre los picos de onda y se expresa en nanómetros.

Matriz: todos los componentes de un material para medición, excepto el analito.

Mezcla: La unión heterogénea o disolución compuesta por dos o más sustancias que no reaccionan entre ellas.