

## **Interferencia de la hemólisis en las determinaciones serológicas**

Actualmente se acepta que los sueros hemolizados o sueros lipémicos no son convenientes para realizar estudios serológicos. Sin embargo, existen guías de laboratorio e instrucciones de los propios fabricantes con información contradictoria sobre este tema: en una se advierte del uso de estos sueros y en otras se acepta. En este trabajo analizamos los resultados obtenidos con 156 sueros pertenecientes a reclusos del Centro Penitenciario de Granada recibidos en nuestro laboratorio para estudio serológico de hepatitis B (AgHBs, anti-HBs, anti-HBc), hepatitis C (anti-VHC) y de VIH (anti- VIH 1/2) ensayados en ausencia y presencia de hemólisis como detallamos seguidamente.

Se recogieron 5 ml de sangre en tubos con gel separador de polietileno tereftalato (Terumo, Venojet II, Terumo Europa, Leuven, Bélgica) y se centrifugaron a 1.500 g durante 15 min; 0,5 ml de estos sueros se alicuotaron en tubos de polipropileno. Los tubos de polipropileno y los tubos con gel separador (con el suero restante y el gel con la capa de células rojas) se congelaron a 20 °C. Después de 18 h en el congelador, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente y la barrera del gel separador se perforó con ayuda de una varilla de vidrio de 2 mm de diámetro para favorecer el paso de hemoglobina al suero. Agitamos vigorosamente y finalmente se volvió a centrifugar de nuevo el suero. El suero en los tubos con gel separador perforado después de este proceso mostraba un color rojo, que indicaba paso de hemoglobina. Las determinaciones AgHBs, anti-HBs, anti-HBc y anti-VIH se realizaron con los test Enzygnost Dade-Behring (Marburg, Alemania), y para el caso de anti-VHC se utilizó Elisa Test System Ortho HVC3.0 (Ortho Clinical Diagnostics Inc Raritan, Nueva Jersey).

Siguiendo las instrucciones de los fabricantes. Las muestras se dispensaron directamente utilizando un procesador de muestras Genesis Robot 150 (Tecan AG, Hombrechtikon, Suiza) y, posteriormente, la reacción inmunoenzimática y la lectura de absorbancia se realizó en un procesador de ELISA BEP III (Dade Behring).

La evaluación del efecto de la hemólisis en los test serológicos realizados se hizo comparando los resultados cuantitativos (medidos en absorbancia) obtenidos para sueros hemolizados y sus correspondientes no hemolizados. Para evitar la variabilidad interensayo cada determinación de suero hemolizado y su pareja no hemolizado se ensayaron en la misma microplaca.

Encontramos una total concordancia en los resultados cualitativos de los 156 sueros hemolizados y no hemolizados. Tampoco encontramos diferencias significativas (test T pareado) en las medidas de absorbancia de los 156 sueros hemolizados y no hemolizados (tabla 1).

TABLA 1. Comparación de valores de absorbancia entre los 156 sueros hemolizados y no hemolizados a los que se les realizó determinaciones serológicas por EIA

Test	Sueros positivos						Sueros negativos					
	n	Cut-off positivo	Rango de absorbancia		$\Delta$ Absorbancia <sup>d</sup>	p <sup>e</sup>	n	Cut-off negativo	Rango de absorbancia		$\Delta$ Absorbancia	P
			Hemolizados	No hemolizados					Hemolizados	No hemolizados		
AgHBs	8	0,080 <sup>a</sup>	0,097-3,506	0,087-3,392	0,016 ± 0,069	0,52	27	0,080 <sup>b</sup>	0,026-0,058	0,023-0,059	-0,0001 ± 0,05	0,87
Anti-HBs	10	0,133 <sup>a</sup>	0,292-4,000	0,348-3,905	-0,03 ± 0,089	0,33	19	0,133 <sup>b</sup>	0,036-0,127	0,045-0,101	0,055 ± 0,018	0,20
Anti-HBc	8	0,568 <sup>c</sup>	0,036-0,395	0,022-0,402	0,0135 ± 0,025	0,19	25	0,694 <sup>b</sup>	0,939-1,659	0,980-1,658	-0,004 ± 0,103	0,83
Anti-HCV	8	0,376 <sup>a</sup>	3,011-4,000	3,110-4,000	-0,014 ± 0,14	0,79	19	0,376 <sup>b</sup>	0,031-0,121	0,029-0,087	0,001 ± 0,008	0,75
Anti-HIV 1/2	8	0,484 <sup>a</sup>	2,514-3,729	2,812-3,677	-0,056 ± 0,17	0,36	24	0,436 <sup>b</sup>	0,043-0,135	0,042-0,091	-0,0185 ± 0,090	0,53

<sup>a</sup>Valor mínimo de absorbancia para considerar el resultado positivo.

<sup>b</sup>Valor máximo de absorbancia para considerar el resultado negativo.

<sup>c</sup>Valor máximo de absorbancia para considerar un resultado positivo.

<sup>d</sup>Media ± diferencias de absorbancia entre sueros hemolizados y no hemolizados.

<sup>e</sup>Test de probabilidad pareado.

La hemólisis es un punto de interés en la química clínica, pues su presencia puede causar resultados engañosos y la sobreestimación de algunos analitos (p. ej., hidroxibutirato deshidrogenasa, aspartato transaminasa creatina, bicarbonato, potasio) [2-4](#). La hemólisis también puede interferir en los ensayos nefelométricos de proteínas de suero [5](#) y en los inmunoensayos de fluorescencia polarizada de gentamicina y vancomicina [6,7](#).

Los posibles mecanismos de interacción de la hemólisis en los enzoinmunoanálisis (EIA) pueden darse en la reacción antígeno-anticuerpo, en la reacción de detección o en la medida del color. Sin embargo, los ensayos de EIA heterogéneos, que incluyen un paso de lavado, son probablemente menos propensos a mostrar interferencias con la hemólisis [8](#).

No hemos encontrado ningún estudio sistemático que analice la posible influencia de la hemólisis en los ensayos serológicos. Los datos de este estudio muestran que la hemólisis no interfiere significativamente en los resultados de los EIA heterogéneos utilizados en este estudio. Sin embargo, al existir en la práctica clínica una enorme variedad de inmunoensayos y de sistemas de detección de reacción antígeno-anticuerpo [9](#), no es posible generalizar estos hallazgos; así, cada técnica debería ser evaluada para comprobar que la hemólisis no interfiere en los resultados de los test empleados.

### Referencias Bibliográficas:

1. Carpenter AB. Enzyme-linked immunoassays. En: Rose NR, Conway de Macario E, Fahey JL, Folds JD, Lane HC, Nakamura RM, editors. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 5th ed. Washington: American Society for Microbiology; 1997. p. 20-9.
2. Boyanton BL Jr, Blick KE. Stability of twenty-four analytes in human plasma and serum. Clin Chem. 2002;48:2242-7. [\[Medline\]](#)
3. Devgun MS. Delay in centrifugation and measurement of serum constituents in normal subjects. Clin Physiol Biochem. 1989;7:189-97. [\[Medline\]](#)
4. O'Leary BJ. Interference due to haemolysis in routine photometric analysis - a survey. Ann Clin Biochem 1998;35:128-34.
5. Bossuyt X, Blanckaer NT. Evaluation of interferences in rate and fixed-time nephelometric assays of specific serum proteins. Clin Chem. 1999;45:62-7. [\[Medline\]](#)
6. Callas DD, Clark TL, Moreira PL, Lansden C, Gawryl MS, Kahn S, et al. In vitro effects of a novel hemoglobin-based oxygen carrier on routine chemistry, therapeutic drug, coagulation, haematology, and blood bank assays. Clin Chem. 1997;43:1744-8. [\[Medline\]](#)
7. Ma Z, Monk TG, Goodnough LT, McClellan A, Gawryl M, Clark T, et al. Effect of hemoglobin- and Perflubron-based oxygen carriers on common clinical laboratory tests. Clin Chem. 1997; 43:1732-7.

[\[Medline\]](#)

8. Baer DM. Hemolysis in serological specimens. Medical Laboratory Observer. March 2003. Disponible en: <http://www.mlo-online.com/>

9. Constantine NT, Lana DP. Immunoassays for the diagnosis of infectious diseases. En: Murray R, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Washington: American Society for Microbiology; 2003. p. 218-33.

Enferm Infecc Microbiol Clin. 2006 Oct;24(8):534-5.