

Investigação da Influência da Hemólise nos resultados da dosagem de Ckmb por Método Enzimático Colorimétrico

Giovana Sabim¹, Paulo Roberto Worfel², Mario Rene de Souza³, Camila Nunes de Moraes Ribeiro⁴

Resumo

Os exames em análises clínicas são de grande importância para os profissionais de saúde e pacientes, pois é através de seus resultados que se pode chegar a conclusões e assim tomar decisões sobre a patologia, estabelecer o tratamento adequado e ainda acompanhar a evolução do quadro. Desta forma, o laboratório deve garantir aos médicos e pacientes um laudo confiável, que só é possível se as normas de Controle de Qualidade estiverem bem consolidadas no local. Quando isto não ocorre, conseqüentemente haverá erros, principalmente na fase pré-analítica, que é mais manual e carece de maiores cuidados. Um dos erros mais frequentes nesta etapa é a geração da hemólise, que pode interferir nas dosagens e leituras na fase analítica, e assim gerar resultados errôneos, comprometendo a confiabilidade dos resultados. O presente trabalho teve como objetivo investigar a influência da hemólise em dosagem de CKMB por método enzimático colorimétrico, e para isso comparou-se resultados em duas amostras do mesmo paciente, coletadas na mesma hora, sendo uma amostra sem hemólise e outra amostra hemolisada. Além disso, foi analisado o Índice de Hemólise, para aprofundar as análises da influência da hemólise nas dosagens. Os resultados dos exames nos dois grupos foram submetidos ao Teste Estatístico *paired Student-t test*, que mostrou uma diferença significativa nos resultados. Assim, verificou-se que a hemólise altera significativamente a dosagem de CKMB, já que hemoglobina livre apresenta alta absorvidade, podendo ocasionar elevações na concentração de alguns analitos e causar erros nos resultados. Desta forma, é essencial que se consolide, se siga estritamente e haja acompanhamento constante das normas de Controle de Qualidade nos laboratórios de Análises Clínicas, para que se evite erros que possam comprometer a confiabilidade dos resultados, gerando impacto direto para o local, para os profissionais de saúde e principalmente para os pacientes.

Palavras-chave: Hemólise. Fase pré-analítica. Infarto agudo do miocárdio. Dosagem de CKMB. Controle de qualidade.

Abstract

The examinations in clinical analysis are of great importance for health professionals and patients because it is through their results one can draw conclusions and thus make decisions about the pathology, to determine the appropriate treatment and also follow the evolution of the issue. This way, the laboratory must guarantee a reliable report to physicians and patients, which is only possible if the Quality Control standards are well established. When this does not occur, therefore there will be errors, especially in the pre-analytical phase, which is more manual and requires greater care. One of the most frequent errors in this step is the generation of hemolysis, which can interfere in the measurements and readings in the analytical phase, and thus give erroneous results, compromising their reliability. This study aimed to investigate the influence of hemolysis in CKMB dosage by enzymatic colorimetric method, and for this we compared results of two samples from the same patient, collected at the same time, one sample without hemolysis and the other one was an hemolyzed sample. Also, the hemolysis index was analyzed to further analysis the influence of hemolysis in dosages. The test results in both groups

1 Acadêmica do Curso de Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, Pr).

2 Educador Físico, Professor Adjunto Doutorando do Curso de Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, Pr)

3 Biólogo, Professor Adjunto Mestre da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, Pr).

4 Biomédica, Professora Adjunta Doutora e Coordenadora do Curso de Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, Pr).

were subjected to statistical *paired Student-t test*, which showed a significant difference in the results. Thus, it was found that hemolysis significantly alter the CKMB, since free hemoglobin exhibits high absorptivity and can cause increases in concentrations of certain analytes and cause errors in the results. Consequently, it is essential to consolidate, to follow strictly and monitor the Quality Control standards in clinical analysis laboratories, in order to avoid errors that could compromise the reliability of the results, generating direct impact to the laboratory, for the professionals that work there and especially for the patients.

Keywords: Hemolysis. Pre-analytical phase. Acute myocardial infarction. CKMB dosage. Quality control.

1 Introdução

Os exames laboratoriais são de grande importância para os médicos e pacientes, pois é através de seus resultados que se podem tomar algumas decisões e se chegar a conclusões sobre a patologia, determinar diagnósticos, tratamentos adequados, acompanhamento e prognóstico. Por apresentar tamanha importância, o laboratório deve ser confiável e idôneo, garantindo segurança aos médicos e pacientes que receberão seus laudos (GUIMARÃES, *et al.*, 2011).

Muitas vezes este processo pode ser prejudicado em relação à confiabilidade, pois existem vários fatores de interferência que podem provocar resultados falso-positivos ou falso-negativos, que podem ser originados em qualquer fase do processo da análise (pré-analítica, analítica e pós-analítica), o que pode levar a resultados não confiáveis ou alterados (CHAWLA *et al.*, 2010; COSTA, MORELI, 2012).

Desta forma, os cuidados em relação à qualidade são essenciais em cada fase das análises, já que estes erros podem acontecer em todas elas, muitas vezes podendo alterar os resultados, comprometendo gravemente o diagnóstico e até o prognóstico, assim como o tratamento e possível cura (CHAWLA *et al.*, 2010).

Geralmente, o foco de estudos em controle de qualidade se baseia na fase pré-analítica, que compreende as etapas realizadas no consultório do médico até o processamento da amostra, ou seja, na etapa laboratorial que antecede o processamento dos analitos. Sabe-se que é nesta fase que ocorre o maior índice de erros em um laboratório, pois muitas vezes os profissionais não seguem estritamente as normas e recomendações para evitá-los (PICARELLI, KAISER, MUHLEN, 2004).

Neste contexto, ao se analisar a fase pré-analítica, foco deste estudo, observa-se a hemólise como uma das consequências dos erros, em que ocorre rompimento das hemácias, havendo liberação de hemoglobina, proteínas estruturais, enzimas, lipídios e carboidratos para o soro, o que causa alteração nas análises de diversos analitos (BASTOS, BERNER, RAMOS 2010).

Além disso, a hemólise pode ocorrer em graus ou níveis diferentes, e assim, o grau da hemólise pode ser detectado visualmente após a centrifugação da amostra, quando as concentrações de hemoglobina estiverem maiores que 20mg/dl no soro do paciente (LATENEK, RIBEIRO, 2015).

Em relação aos analitos que podem ter suas dosagens alteradas pela liberação de diferentes substâncias na hemólise, sabe-se que a dosagem da isoenzima CKMB é uma das prejudicadas

por este processo. A dosagem desta enzima, juntamente com outros analitos, ou marcadores (AUSIELLO, GOLDMAN, 2009) é fundamental para o diagnóstico de lesões cardíacas irreversíveis e morte celular no tecido cardíaco (LATENEK, RIBEIRO, 2015), auxiliando assim no diagnóstico do infarto agudo do miocárdio, uma vez que essa enzima é encontrada principalmente no músculo cardíaco (JARROS, JUNIOR, 2014).

Sabendo-se que as doenças cardiovasculares tem cada vez aumentado sua frequência na população, sendo decorrente de vários fatores (BARRETTO, et al., 2002) como tabagismo, hipertensão arterial, diabetes mellitus, dislipidemias, obesidade, sedentarismo e hereditariedade, ou até mesmo derivadas de doenças ou malformações genéticas (MIYAKE, FERREIRA, 2000), é extremamente importante que se consiga obter resultados da dosagem da isoenzima CKMB rápidos, precisos e de confiança, para que se agilize o diagnóstico e as condutas terapêuticas adequadas, diminuindo a morbidade e mortalidade (JARROS, JUNIOR, 2014).

Mesmo que os laboratórios tenham bem estabelecidas as normas de controle de qualidade, estas devem ser bem claras aos profissionais que atuam em todas as fases do processo, como as normas de rejeição das amostras para aquelas que não estiverem dentro do padrão de qualidade, assim evitando os erros que podem ser evitáveis e não comprometendo a fidedignidade de seus resultados (FONSECA, CEDRO, 2013). Isto porque muitas vezes existem as normas, mas nem sempre são cumpridas, comprometendo a idoneidade dos resultados, conseqüentemente causando danos aos pacientes (LATENEK, RIBEIRO, 2015).

Seguindo esta linha de raciocínio, o objetivo desta pesquisa é analisar, através de dosagens da enzima CKMB, se a hemólise atua como interferente e é causa de alterações nos resultados destas dosagens.

2 Material e método

Esta pesquisa foi executada mediante parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa, da Sociedade Evangélica Beneficente de Curitiba, sob nº CAAE 38150014.3.0000.0103, parecer 971.279, na data de 24 de fevereiro de 2015.

Este trabalho compreendeu um universo de 30 pacientes pertencentes aos sexos masculino e feminino, com idade variando de 19 a 50 anos. Foram realizadas duas coletas em cada paciente, devidamente informados pelo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, totalizando 60 amostras.

A primeira coleta de sangue (5ml) em cada paciente foi realizada respeitando-se o tempo do torniquete e não se ultrapassando um minuto, sendo retirada a agulha antes de colocar o sangue no tubo, deixando o material descer pela parede deste. A homogeneização do sangue no tubo foi realizada de 5 a 10 vezes, fazendo gentilmente a inversão completa deste e retornando a posição inicial para se evitar a hemólise.

Já a segunda foi feita nos mesmos pacientes, no mesmo momento da primeira, só que nesta ocasião foi deixado o torniquete por 3 minutos, não se retirando a agulha da seringa, perfurando

a tampa do tubo com a mesma e pressionando o êmbolo para o sangue entrar mais rápido, ocasionando hemólise. No momento de homogeneizar a amostra, o processo foi feito de forma rápida, mais violenta, chacoalhando o tubo.

Neste processo, foram obtidas 30 amostras de sangue não hemolisado (Grupo I) e 30 de hemolisado (Grupo II) dos mesmos pacientes, para serem feitas as análises e as comparações propostas neste estudo.

Com as amostras do Grupo I e II, foram feitas as dosagens de CKMB por método enzimático colorimétrico, com o equipamento ADVIA 1200 (Siemens, Japão). Para se determinar o grau de hemólise foi realizada a dosagem de hemoglobina livre no soro por aparelho espectrofotômetro da *Thermoplate* (China), utilizando comprimento de onda de 520 nanômetros.

A partir dos resultados, foi feita a análise estatística, através do *Software Graphpad Prism 6* para Windows (*GraphpadSoftware, Inc, USA*), utilizando-se *paired Student-t test*, considerando-se $p \leq 0,05$.

3 Resultados

Nas amostras resultantes da coleta dos 30 pacientes, em que não se seguiu as recomendações de Controle de Qualidade para coleta, transferência e homogeneização das amostras (Grupo II), houve produção de hemólise, ao contrário do que foi visto quando se seguiu tais recomendações (Grupo I), não havendo hemólise.

A verificação do índice de hemólise também mostrou variações de paciente a paciente, tanto nas amostras não hemolisadas, quanto nas hemolisadas.

As amostras do Grupo I, que não apresentaram hemólise, tiveram resultados variando de 0,397 até 1,186. Já as que apresentaram hemólise, no Grupo II, tiveram seus resultados variando de 1,287 até 2,467, como pode ser observados na Tabela 1.

Desta forma, na Tabela 1 são mostrados os Valores do Índice de Hemólise comparativo entre os pacientes com amostras hemolisadas e não hemolisadas.

No estudo comparativo das dosagens da enzima CKMB proveniente das amostras dos Grupos I e II dos 30 pacientes encontrou-se diferenças significativas, com grande variação em cada paciente, o que pode ser observado na Tabela 2.

Assim, nas amostras em que não se seguiram as orientações de controle de qualidade pré-analítica, produzindo-se hemólise (Grupo II), encontrou-se resultados de CKMB superiores aos das dosagens dos materiais do Grupo I, em que foram seguidas tais normas e não houve hemólise.

Na etapa das análises estatísticas relacionando os resultados das dosagens de CKMB com a hemólise, houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$), na comparação dos resultados das dosagens desta enzima, resultantes das amostras não hemolisadas (Grupo I) e hemolisadas (Grupo II), o que pode ser verificado no Gráfico 1.

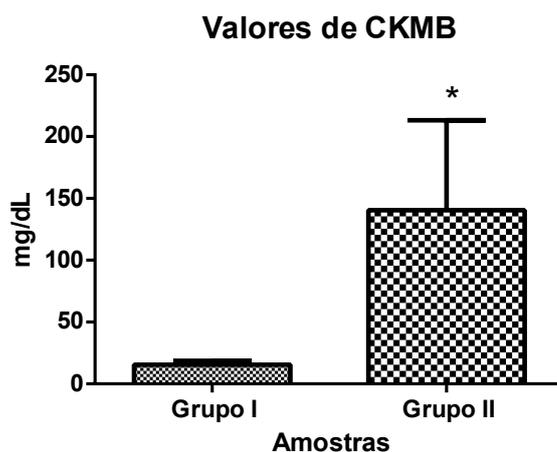
Tabela 1: Valores do Índice da Hemólise nas amostras não hemolisadas (Grupo I) e nas amostras hemolisadas (Grupo II)

PACIENTE	GRUPO I	GRUPO II
1	0,482	1,917
2	0,522	1,491
3	0,835	1,287
4	0,414	1,468
5	0,795	2,113
6	0,768	2,102
7	0,713	2,183
8	0,533	1,989
9	0,645	2,380
10	1,186	2,088
11	0,527	2,138
12	0,907	2,467
13	0,640	2,149
14	0,634	2,327
15	1,024	1,726
16	0,674	1,444
17	0,791	2,021
18	0,517	1,444
19	1,046	2,255
20	0,674	1,996
21	0,397	2,051
22	0,829	1,960
23	0,749	1,368
24	0,606	2,244
25	0,776	1,638
26	0,950	2,263
27	0,692	2,366
28	1,038	2,154
29	0,963	2,193
30	0,940	1,400

Tabela 2: Resultados da dosagem da enzima CKMB das amostras não hemolisadas (Grupo I) e hemolisadas (Grupo II)

PACIENTE	GRUPO I	GRUPO II
1	12,0	138,0
2	13,0	74,0
3	19,0	80,0
4	16,0	81,0
5	21,0	194,0
6	16,0	112,0
7	20,0	227,0
8	16,0	159,0
9	16,0	154,0
10	17,0	66,0
11	12,0	147,0
12	20,0	166,0
13	12,0	171,0
14	19,0	212,0
15	12,0	79,0
16	14,0	28,0
17	16,0	93,0
18	8,0	95,0
19	14,0	66,0
20	17,0	45,0
21	18,0	206,0
22	19,0	67,0
23	15,0	93,0
24	18,0	206,0
25	15,0	81,0
26	11,0	279,0
27	17,0	217,0
28	12,0	137,0
29	16,0	312,0
30	12,0	109,0

Gráfico 01. Comparação dos resultados das dosagens da enzima CKMB de material proveniente de amostras não hemolisadas (Grupo I) e hemolisadas (Grupo II), utilizando-se o teste estatístico *paired Student-t test*, considerando $p < 0,05$. * Valores com diferenças estatisticamente significativas em relação a hemólise.



4 Discussão

Na área médica, os laboratórios de análises clínicas têm um papel de extrema importância, pois são baseados nos resultados dos exames realizados nestes estabelecimentos, que se tomam decisões diagnósticas, alinham-se tratamentos, acompanhamento, determinam-se prognósticos em relação aos pacientes (KALRA, 2004; CARRARO, PLEBANI, 2007; SONNTAG, 2009).

Desta forma, as decisões clínicas são tomadas em virtude da associação dos achados clínicos e laboratoriais. Assim, os resultados das dosagens dos materiais em análises clínicas feitos com qualidade dependem da confiabilidade em todas as fases do processo, sendo que os fatores analíticos precisam ser controlados e otimizados para reduzir o número de possíveis falhas que possam se refletir nos resultados (BRASIL, 2005).

Somente há pouco tempo passou-se a investigar de forma científica as causas de erros operacionais e analíticos em laboratórios de Análises Clínicas (HOLLENSSEAD, LOCKWOOD, ELIN, 2004), sabendo-se que as análises passam pelas fases pré-analítica, analítica e pós analítica (MORRIS, HAREMZA, WALKER, 2011).

Na fase analítica são realizados os exames, havendo menores chances de erros, pois esta fase geralmente é mais automatizada, tendo-se o controle para cada exame e sua calibração, possuindo parâmetros como precisão, sensibilidade, especificidade e exatidão, embora tenha que se ter controle no armazenamento correto dos reagentes utilizados, de acordo com a especificação do fabricante para prolongar sua vida útil. Já a fase pós-analítica é a etapa final, que consiste na liberação dos resultados, com menores chances de erros (COSTA, MORELLI, 2012).

Sendo assim, a fase que apresenta a maior chance de erros é então a fase pré-analítica, já

que esta apresenta maior manuseio, é menos automatizada, e desta forma requer maior atenção, sendo também a fase que os laboratórios detêm menor controle (SBPC/ML, 2010). Assim, nesta fase, deve-se redobrar a atenção, para que se evite ao máximo quaisquer tipos de erros que possam refletir nos resultados, comprometendo o laudo do exame em questão (FONSECA, CEDRO, 2013; LATENEK, RIBEIRO, 2015).

Esta primeira fase é iniciada já na solicitação dos exames para o paciente, sendo importante que o profissional o instrua adequadamente sobre tudo o que é necessário que o mesmo faça para a realização dos procedimentos, como tempo de jejum, interrupção da utilização de certos tipos de medicamentos, dieta específica e possibilidade de realização de atividade física antes da coleta (XAVIER, *et al.*, 2010).

Assim, é de extrema importância a comunicação e a qualidade das explicações ao paciente, sabendo-se que este tipo de comunicação tem maior eficácia se for realizada no próprio laboratório onde serão realizados todos os procedimentos (ANDRIOLO, *et al.*, 2012).

Já na recepção deve-se anotar todas as informações do paciente como idade, sexo, uso de medicamentos, tempo de jejum, se houve atividade física antes da coleta, se o paciente é fumante ou não, se fumou antes da coleta, já que se sabe que estes fatores podem influenciar e comprometer os resultados de alguns exames laboratoriais. Na fase da coleta, o flebotomista deve estar capacitado e instruído para a realização deste procedimento, respeitando todas as normas de biossegurança, para que o procedimento seja seguro tanto para o paciente quanto para ele mesmo (GUIMARÃES, *et al.*, 2011).

Além de falhas na comunicação das informações ao paciente, ou o registro inadequado ou insuficiente das informações do mesmo, existem outros erros que podem acontecer na fase pré – analítica como a própria coleta, o armazenamento, transporte e recebimento de amostras, assim como o manuseio destas na centrifugação e em demais procedimentos anteriores às análises propriamente ditas (TOGNI, VOLKEN, SABO 2002).

Assim, é extremamente importante que se siga exatamente todos os passos, pois esta fase é a grande responsável pelos erros nos resultados de exames laboratoriais, chegando a representar mais de 70% destes (GRECU; VLAD; DUMITRASCU; 2014). Isto mostra a necessidade da implantação e exigência de normas de Controle de Qualidade para haver sua redução, e conseqüentemente aumentar a confiabilidade dos resultados das análises (OLIVEIRA, *et al.*, 2009).

Um dos erros mais comuns cometidos durante a fase pré-analítica é o desencadeamento de processos que gerem a hemólise, que pode ocasionar alterações em exames, e assim gerar resultados falso-positivos ou falso-negativos (COSTA; MORELLI, 2012). Este processo ocorre pelo rompimento da membrana das hemácias, causando a liberação de hemoglobina, proteínas estruturais, enzimas, lipídios e carboidratos, que podem interagir com os reagentes e promover a elevação da quantidade do analito dosado no soro ou no plasma (BASTOS, BERNER, RAMOS 2010).

A hemólise pode se originada devido a uma condição clínico-patológica do paciente, chamada de hemólise *in vivo*, ou ter origem em erros na fase pré-analítica, como no processamento, transporte e armazenamento da amostra; aplicação prolongada do torniquete, ordem incorreta dos tubos, coleta a vácuo ou na transferência do sangue coletado com a seringa perfurando a tampa dos tubos, conhecida como hemólise *in vitro* (COOK; BRUNS; 2012).

Sendo a hemólise um processo extremamente comum de ocorrer em consequência de erros pré-analíticos, a intenção deste estudo foi a de verificar sua relação com as dosagens de CKMB e se estas alterações foram proporcionais ao grau de hemólise. Assim, para a produção deste processo, não se respeitou as normas de controle de qualidade em vários aspectos, como em relação ao tempo de uso do torniquete, perfuração da tampa do tubo com a agulha e agitação violenta dos tubos com o sangue.

Para a produção de amostras hemolisadas na coleta, utilizou-se o tempo do torniquete de três minutos e para a geração de amostras não hemolisadas, se respeitou no máximo sua utilização em um minuto. Como visto nos resultados, quando se ultrapassou o tempo, realmente houve hemólise, e quando se respeitou o mesmo, não houve o processo. Sabe-se que o tempo de utilização do torniquete não deve ultrapassar um minuto, ideal seriam trinta segundos (XAVIER, *et al.*, 2010), quando a sua aplicação excede um minuto, pode ocorrer estase localizada, hemoconcentração e infiltração de sangue para os tecidos, gerando valores falsamente elevados para todos os analitos baseados em medidas de proteínas, alteração do volume celular e de outros elementos celulares (ANDRIOLO, *et al.*, 2012).

Além de não se respeitar o tempo do torniquete, outro processo utilizado neste trabalho para a formação de hemólise foi a transferência do sangue coletado para o tubo perfurando sua tampa e pressionando o êmbolo para o sangue fluísse mais rápido para dentro do mesmo, o oposto do orientado em boas práticas de coleta laboratorial. Já se tem muito bem descrito na literatura que o modo correto de se transferir o sangue quando a coleta é realizada com a seringa, é abrindo a tampa do tubo e deixar o sangue escorrer pelas paredes, evitando desta forma o rompimento dos eritrócitos (FEDERAL OCCUPATIONAL SAFETY & HEALTH ADMINISTRATION 2015; ANDRIOLO, *et al.*, 2010; XAVIER, *et. al*, 2010)

Um terceiro procedimento para a geração da hemólise foi, após a coleta e transferência do sangue para o tubo, a agitação violenta deste e posterior comparação com as amostras em que não houve este processo. Como já se era esperado, nas amostras em que não houve agitação violenta, não houve o processo hemolítico, já que segundo FEDELI, *et al.*, 2013, quando se realiza corretamente a homogeneização das amostras, evita-se a formação de micro coágulos e a hemólise, ou a mistura incompleta com o aditivo. Quando não se respeita estas especificações, há ruptura das hemácias e liberação de seu conteúdo, como hemoglobina e outros constituintes (UNIFESP, 2014/15).

Sabe-se que a hemólise pode interferir diretamente em dosagens de vários tipos de analitos, pois a hemoglobina livre presente no soro de amostras hemolisadas apresentam alta

absortividade, podendo ocasionar elevações na concentração de alguns analitos (CARVALHO et al., 2007), tais como nas dosagens de aspartato aminotransferase (AST), colesterol total, creatinoquinase (CK), CKMB, creatinina, lactato desidrogenase (LDH), magnésio, proteínas totais, triglicerídeos (BASTOS; BERNER; RAMOS; 2010; ALI, *et al.*, 2014; FLEMING; SWAMINATHAN; 2001).

Atualmente existem aparelhos que conseguem detectar a concentração da hemoglobina livre presente na amostra (ABUD, DORA, 2011). Desta forma, o índice de hemólise é definido como gramas de hemoglobina livre no plasma a cada 100 L de sangue bombeado, e assim corresponde à intensidade da hemólise em cada amostra (NAITO, MIZUGUCHI, NOSÉ, 2008), mas também pode ser detectado visualmente, de uma forma menos exata, após a centrifugação da amostra (XAVIER, *et al.*, 2010).

Como visto neste estudo, houve variações no Índice de hemólise das amostras, e estas ocorrem devido a intensidade da cor avermelhada do soro na amostra, sendo, obviamente quanto maior sua intensidade, maior o grau de hemólise (BASTOS, BERNER, RAMOS, 2010). No espectrofotômetro o procedimento analítico é através da determinação das concentrações de espécimes químicas mediante a absorção da luz (OLIVEIRA, 2012). Neste estudo, as dosagens de CKMB começaram a sofrer interferências sobre hemólise, quando seu índice foi igual ou maior a 1,287, mostrando, desta forma, sendo as dosagens feitas por absorbância, quanto maior o Índice de hemólise, maior a interferência sobre a análise. Sabe-se também que a hemoglobina livre pelo processo de hemólise, pode provocar uma elevação na concentração dos analitos medidos em comprimento de onda variando entre 415 e 570 nanômetros (BASTOS, BERNER, RAMOS, 2010; DIMESKI, 2008).

A faixa de normalidade para a hemoglobina livre no plasma é de 20 mg/L até 50 mg /L no soro. A hemólise é definida para a hemoglobina livre em concentrações acima de 0,3 g/L, o que confere uma tonalidade avermelhada no soro e torna-se claramente visível nas amostras contendo 0,5% de eritrócitos lisados (LIPPI, *et al.*, 2008; DAVES, *et al.*, 2012).

Além dos exames destacados acima, os marcadores de lesão cardíaca podem sofrer interferência em suas dosagens pela presença de hemólise (JARROS, JUNIOR, 2014; LATENEK; RIBEIRO, 2015; ROCHA, 2012). Neste contexto, há extrema necessidade em haver o controle nos exames e laudos de análises clínicas, ressaltando sua importância no diagnóstico de doenças cardiovasculares, responsáveis pelo maior número de hospitalizações, com altos índices de morbidade e mortalidade (BORGES, JUNIOR, LIMA, 2015; ZORNOFF, *et al.*, 2002; MELO, CARVALHO, TRAVASSOS, 2006).

Estas doenças estão inseridas no grupo de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), sendo consideradas as principais causas de morte no Brasil (PASSOS *et al.*, 2006). Em 2009, foram responsáveis por 72,4% dos óbitos, e dentro deste grupo, 80,7% destas mortes se relacionaram às doenças cardiovasculares (DCV), diabetes, neoplasias e doenças respiratórias crônicas (DUNCAN *et al.*, 2012).

A frequência destas patologias é alarmante, pois está relacionada ao sedentarismo (RIBEIRO, OLIVEIRA, 2011), além de estar relacionada ao tabagismo, consumo elevado de sódio e gordura (MONTEIRO *et al.*, 2005) hipertensão arterial, diabetes mellitus, dislipidemias, obesidade e hereditariedade (LOPES, LIMA, CARVALHO, 2015; MIYAKE, FERREIRA, 2000).

No Brasil as doenças cardiovasculares estão em primeiro lugar em causas de óbito, sendo responsáveis por alta frequência de internações, com excessivo gasto do Sistema Único de Saúde (SUS). Somente em novembro de 2009 foram realizadas 91.970 internações, gerando um custo de R\$ 165.461.644,33 aos cofres deste sistema (ÁVILA, *et al.*, 2010). Por ser tão frequente, são solicitados exames laboratoriais que contribuam com o diagnóstico, e os mesmos devem ser confiáveis e exatos.

Neste contexto, deve ser realizada a dosagem de enzimas cardíacas como CPK que aumenta suas concentrações no sangue quando ocorrem lesões cardíacas, embora não seja específica para danos cardíacos, já que também se encontra alterada quando ocorrem lesões em músculos esqueléticos e no cérebro, mostrando que sua dosagem tem baixa sensibilidade para dano ao miocárdio (ROCHA, 2012). A CK-MB é a fração mais específica da CK para o diagnóstico do infarto agudo do miocárdio, apresentando aumento em sua dosagem depois de 3 a 6 horas após a ocorrência do infarto, atingindo valor máximo entre 12 a 24 horas, e normalizando seus valores depois de 24 a 48 horas (LOZOVY, PRIESNITZ, SILVA, 2008).

Embora as dosagens de enzimas cardíacas sejam essenciais para o diagnóstico, acompanhamento e prognóstico, sua dosagem pode sofrer interferência pela hemólise (AUSIELLO, GOLDMAN, 2009). Assim, sabe-se que este processo pode alterar a dosagem de CKMB, uma vez que as substâncias liberadas pelo rompimento dos eritrócitos podem alterar seus resultados, aumentando seus valores proporcionalmente ao grau de hemólise (STEPHEN; COOK; BRUNS, 2012; FRICKMANN, JORDÃO, 2015).

Como relatado neste estudo, nas comparações dos resultados das dosagens de CKMB oriundo de amostras hemolisadas (Grupo II) e não hemolisadas (Grupo I), resultados relatados na Tabela 2 e no Gráfico 1, a hemólise alterou significativamente a dosagem de CKMB. Isto ficou bem evidenciado nos resultados do paciente 29, cujo resultado da dosagem de CKMB com a amostra não hemolisada (Grupo I) se apresentou em 16,0 (dentro da referência), e com a amostra hemolisada (Grupo II) se apresentou em 312,0 (indicativo de infarto agudo do miocárdio). Outro exemplo está relacionado ao paciente 7, com resultado na dosagem de CKMB de 20,0 resultante de análise em amostra não hemolisada (Grupo I), e em contrapartida, na amostra hemolisada (Grupo II), o resultado da dosagem subiu para 227,0. Sendo assim, as amostras hemolisadas (Grupo II) dos 30 pacientes apresentaram alterações, em graus variáveis de paciente a paciente, e em todas as amostras em que se observou índice de hemólise alterado houve correspondência no aumento da dosagem de CKMB.

Desta forma, sabe-se que a hemólise, mesmo em graus diferentes, pode causar alterações nas análises da enzima CKMB, e desta forma, se ocorrer rompimento de eritrócitos na amostra, deve

ser evitada a dosagem desta enzima a todo custo (DAVES, *et al.*, 2012). Como já discutido acima, a hemoglobina presente no soro provoca uma elevação aparente na concentração dos analitos medidos, por elevar a absorvância das amostras. As hemácias contêm várias proteínas estruturais, enzimas, lipídeos e carboidratos, e muitos destes podem interagir com os reagentes de ensaio ou elevar a quantidade do analito dosado (BASTOS, BERNER, RAMOS, 2010).

A isoenzima CKMB é afetada positivamente porque os eritrócitos liberam as enzimas e intermediários adenilato-quinase, ATP, glucose-6-fosfato, que podem afetar a fase de retardamento e as reações secundárias que ocorrem no sistema de ensaio (ÖZCAN, KARAKAS, YUCEL, 2012; BURTIS, ASHWOOD, BRUNS, 2006). Com isso o ideal é que esta análise seja feita por imunoensaio, uma vez que este teste é utilizado para detectar e dosar antígenos e anticorpos presentes no organismo (LABTESTONLINE, 2015), técnica planejada para não sofrer alterações por interferentes como a hemólise (SYNDER, 2004).

Para que os resultados de exames de análises clínicas sejam confiáveis e exatos, tendo em vista a melhor qualidade para o paciente, deve-se seguir criteriosamente os padrões de controle de qualidade (CHAVES, 2010). Assim, quando detectados erros dentro ou fora do laboratório, deve-se seguir estritamente o processo de rejeição da amostra e conseqüentemente haver a solicitação de coleta. Embora este seja o procedimento correto, sabe-se que este traz insatisfação, ansiedade, transtornos e insegurança, tanto ao médico quanto ao paciente, além de gerar dano direto ao paciente, principalmente se não for seguido e gerar erro nos resultados. Para o laboratório estes erros geram custos desnecessários, uma vez que o mesmo exame vai ser realizado duas vezes, haverá uma demora na liberação do laudo, trabalho dobrado e o mais importante, a perda da credibilidade, da confiança e da segurança (FONSECA, CEDRO, 2013).

Para uma diminuição e até extinção destes erros deve ser implantado um programa rigoroso de controle de qualidade e supervisão do laboratório, para garantir um diagnóstico correto, tratamento e até a determinação do prognóstico das doenças (CHAVES, 2010). Estes programas tem que ser abranger desde a preparação do paciente até a liberação dos resultados (BANFY, DOLCI, 2003).

Considerações finais

Nesta pesquisa foi estudada a possibilidade e em que grau a hemólise atua como interferente nos resultados da dosagem da isoenzima CKMB. Sabendo-se da importância de sua dosagem para o diagnóstico do infarto agudo do miocárdio, e das possibilidades de se obter resultados falso-positivos ou falso-negativos devido a falhas na fase pré-analítica, a proposta do estudo foi de se criar situações em que não se cumpriu algumas recomendações, favorecendo o estabelecimento de erros, como a hemólise, e depois analisando em qual grau e como este erro pode influenciar nos resultados, o que geraria impacto para os profissionais da área de saúde e para o paciente.

Como visto neste estudo, realmente o impacto deste erro foi muito importante na leitura e resultados dos exames, que poderia, numa situação real, causar problemas graves. Desta forma,

é essencial que se evite ao máximo situações como esta, com programas de conscientização dos funcionários de todos os setores dos laboratórios, e também treinamentos rigorosos, controlados e frequentes com os mesmos.

Além disso, com este trabalho chegamos à conclusão que a hemólise altera significativamente a dosagem da enzima CKMB e, ao receber estes tipos de amostras, deve-se rejeitá-las, pois já foi comprovado que os resultados serão comprometidos.

Isso deve ser estendido para todos os exames, e sugere-se que sejam feitos mais estudos para analitos diferentes, obtendo-se resultados quantitativos, que sejam usados nestes programas e treinamentos, utilizando dados efetivos, com comprovação científica.

Referências

ALI, D.; SACCHETTO, E.; DUMONTET, E.; CARRER, L.D.; ORSONNEAU, L.J.; DELAROCHE, O.; CORBEL, B.E. Hemolysis influence on twenty-two biochemical parameters measurement. *Ann. Biol. Clin.* França, v.72, n.3, p. 279-311, 2014.

ANDRIOLO, A.; BALLARATI, C.A.F.; MELO M.R.; SUMITA, N.M.; Diretriz para a Gestão e Garantia da Qualidade de testes laboratoriais remotos (TLR). Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). São Paulo, v.1, n.3, p.1-250, 2012.

ANDRIOLO, A.; MARTINS, A.R.; BALLARATI, C.A.F.; BARBOSA, I.V.; MENDES, M.E.; MELO, M.R.; SUMITA, N.M.; ROMANO, P.; TRINDADE, P.A. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA MEDICINA LABORATORIAL. Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso (SBPC/ML). São Paulo, 2ª Edição, p. 1- 21, 2010.

ÁVILA, A.; TAVARES, A.; MACHADO C.A.; CAMPANA, E.M.G.; LESSA, I.; KRIEGER J.E.; SCALA, L.C.; NEVES, M.F.; SILVA, R.C.G.; SAMPAIO, R. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. Conceituação, epidemiologia e prevenção primária. *Rev Bras Hipertens.* v.17 n.1 p.7-10, 2010.

AUSIELLO, D.; GOLDMAN, L. CECIL – *Tratado de Medicina Interna*. 23ª ed. São Paulo, Elseiver v.13, p.403-409, 2009.

BANFI, G.; DOLCI, A. Preanalytical phase of Sport biochemistry and haematology. *Editorial J Sports Med Phys Fitness*, v.23, p.223-230, 2003.

BARRETTO, A.C.P.; DRUMOND-NETO, C.; MADY, C.; ALBUQUERQUE, D.C.; BRINDEIRO-FILHO, D. F.; BRAILE, D. M.; BOCCHI, E. A.; MESQUITA, E. T.; VILAS-BOAS, F.; ALBANESI-FILHO, F. M.; FEITOSA, G. S.; DOHMANN, H. F. R.; JÚNIOR, H. V.; MARIN-NETO, J. A.; ATIÉ, J.; MATEOS, J. C. P.; BODANESE, L. C.; MONTERA, M. W.; MOREIRA, M. C. V.; BATLOUNI, M.; CLAUSELL, N. O.; BROFMAN, P. R. S.; ROCHA, R. M.; RASSI, S.; JÚNIOR, W. M. Revisão das II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o Diagnóstico e Tratamento da Insuficiência Cardíaca. *Arq. Bras. Cardiol.* V.79, n.4. p.1-33, São Paulo 2002.

BASTOS, M. S.; BERNER, A.A, RAMOS, E. R. P. Avaliação do grau de hemólise e sua interferência em análises bioquímicas de amostra obtidas por diferentes técnicas de coleta de sangue venoso, Maringá. V *Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica* 26 a 29 de outubro de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Dispõe sobre regulamentação técnica para funcionamento de laboratórios clínicos. Resolução da Diretoria Colegiada, RDC no 302, 2005.

BORGES, W. R.; JUNIOR, R.A.; LIMA, J. Aterosclerose Subclínica em Pacientes Renais Crônicos Não Dialíticos. *Arq. Bras Cardiol.* V. 104 n.3, p. 253-254, 2015.

BURTIS, C.A; ASWOOD, E.R; BRUNS, D.E. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. Elsevie, Saunders, St Louis p. 597-643, 2006.

CARRARO, P.; PLEBANI, M. Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. *Clin Chem*, v.53, n.7, p.1338-1342, 2007.

CARVALHO, E.B.; BORGES E.L.; CARLOS, L. M. B.; SILVA, M. A. A.; MAGALHÃES, S.M.M.; GOMES, F. V. B. A. F.; CARVALHO, M.J.C.; QUIXADÁ, A.T.S.; PITOMBEIRA, M.H.S. Efeito da bomba de infusão de soluções sobre o grau de hemólise em concentrados de hemácias. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* São José do Rio Preto, v.29, n.2, p.1, 2007. CHAVES, D.C. Controle de qualidade no laboratório de Análises Clínicas. *Revista J. Bras. Patol. Med. Lab.* Rio de Janeiro, v.46, n.5, p.1, 2010. CHAWLA, R.; GOSWAMI, B.; TAYAL, D.; MALLIKA, V.; Identification of the Types of Preanalytical Errors in the Clinical Chemistry Laboratory: 1- Year Study at G.B. Pant Hospital, *Laboratory Medicine*, v.41, n.2, p.89-92, 2010.

COOK, S L.; BRUNS, D. E. Hemólise Persistente num Paciente com Pancreatite: Departmente of Pathology. University of Virginia Scholl Of Medicine, Charlottesville VA. V.58, p 974- 997, 2012.

COSTA, V. G.; MORELLI L.; Principais parâmetros biológicos avaliados em erros na fase pré-analítica de laboratórios clínicos: revisão sistemática. *Editorial J. Bras Patol Med Lab*, v. 48, n.3, p. 163-168, 2012.

DAVES, M.; SALVAGNO G. L.; CEMIN, R.; GELATI, M.; CERVELLIN, G.; GUIDI, G. C.; LIPPI, G. Influence of Hemolysis on Routine Laboratory Cardiac Marker Testing. *Clin. Lab.* V. 58 p. 333-336, 2012.

DIMESKI, G. Interference Testing. *Rev Clin Biochem.* V. 29 n.1 p. 43-48, 2008.

DUNCAN, B.B.; Chor, D.; AQUINO, E.M.L.; BENSENOR, I.M.; MILL, J.G.; SCHIMIDT, M.I.; LOTUFO, P.A.; VIGO, A.; BARRETO, S.M. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: prioridade para enfrentamento e investigação. *Rev. Saúde Pública.* v.46, n.1, p. 126- 134. 2012.

FEDELI, L. G.; VIDIGAL, P. G.; LEITE, C. M.; CASTILHOS, C. D.; PIMENTEL, R. A.; MANIERO, V. C.; MILL, J. G.; LOTUFO, P. A.; PEREIRA, A. C.; BENSENOR, I. M. Logística de coleta e transporte biológico e organização do laboratório central no ELSA- Brasil. *Rev. Saúde Pública*, p.63-71, 2013.

FEDERAL OCCUPATIONAL SAFETY & HEALTH ADMINISTRATION. Disposal of contaminated needles and blood tube holders used for phlebotomy. U.S. Department of Labor, 2015. Disponível em: <https://www.osha.gov/dts/shib/shib101503.html>, acesso em: 25 de agosto de 2015.

FLEMING, J. J.; SWAMINATHAN, S. Interference in autoanalyzer analysis. *Indian J Clin Biochem.* V.16 n.1 p.22-10, 2001.

FONSECA, L. G. M.; CEDRO, L. M. Análise da fase pré-analítica do exame de urina de rotina em laboratório de Ceilândia – DF, 2013. P.1-14. Faculdades integradas promove de Brasília. Disponível em http://nippromove.hospedagemdesites.ws/anais_simposio/arquivos_up/documentos/artigos/c2bd8bff302cac46ae7459effb4cb693.pdf, Acesso em: 14 setembro de 2015

FRICKMANN, M. C.; JORDÃO, M. M. Enzimas no diagnóstico clínico. *Universidade Federal Fluminense*, 2015. Disponível em: <http://www.uff.br/gcm/GCM/atividades/lidia/enzimasediag.pdf>, Acesso em: 15 outubro, 2015.

GRECU, D. S.; VLAD, D. C., DUMITRASCU, V. Quality Indicators in the Preanalytical Phase of Testing in a Stat Laboratory. 2014. Disponível em <http://labmed.ascpjournals.org/content/45/1/74.full.pdf+html>, Acesso em: 28 de setembro de 2015.

GUIMARÃES, A. C.; WOLFART, M.; BRISOLARA, M. L. L.; DANI, C. O laboratório clínico e os erros pré-analíticos: artigo de revisão, *Rev. HCPA*, Porto Alegre, v.31, n.1, p. 66-77, 2011.

HOLLENSEAD, S.C.; LOCKWOOD, W.B.; ELIN, R.J. Errors in pathology and laboratory medicine: consequences and prevention. *J surg oncol*, v.88, n.3,p.161-181, 2004.

JARROS, I. C., JUNIOR, G. Z. Avaliação de risco cardíaco e o diagnóstico do infarto agudo do miocárdio no laboratório de análises clínicas, *Revista UNINGÁ*, v. 19, n.3, p.05-13, 2014.

KALRA J. Medical errors: an introduction to concepts. *Clin Biochem*, v.37, n. 12, p.1043-1051, 2004.

LABTEST ONLINE. Métodos laboratoriais, 2015. Disponível em: <http://www.labtestsonline.org.br/start> Acesso em: 04 Outubro, 2015.

LATENEK, S.; RIBEIRO, C.N.M. Análise da hemólise como interferente nas dosagens de marcadores cardíacos. *Revista SODEBRAS*, v.10, n.117, p. 178-182, 2015.

LIPPI, G.; BLANCKAERT, N.; BONINI, P.; GREEN, S.; KITCHEN, S.; PALICKA, V.; VASSAULT, A.J.; PLEBAN, M. Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med*.V.46 n. 6 p. 764-772, 2008.

LOPES, B. R. F.; LIMA, D. E. B.; CARVALHO, A.C.A. Presença de risco cardiovascular em indivíduos praticantes de exercício aeróbico: um estudo transversal. *Cadernos de Educação, Saúde e Fisioterapia*. v.2 n.3, 2015.

LOZOVY, M. A. B., PRIESNITZ, J. C., SILVA, S. A. Infarto agudo do miocárdio: Aspectos clínicos e laboratoriais, *Interbio* v. 2 n.1, p.4-9, 2008.

MELO, E. C. P; CARVALHO, M. S.; TRAVASSOS, C. Distribuição espacial da mortalidade por infarto agudo do miocárdio no Município do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad. Saúde Pública*. V. 22 n. 6, p. 1225-1236, 2006.

MIYAKE, E. R. N.; FERREIRA, B. A. Infarto Agudo do Miocárdio: tratamento, reabilitação e controle de fatores de risco. *Rev. Enferm UNISA* v.1 n.1 p. 24-29, 2000.

MONTEIRO, C.A.; MOURA, E. C.; JAIME, P. C.; LUCCA, A.; FLORINDO, A. A.; FIGUEIREDO, I. C. R.; BERNAL, R.; SILVA, N. N. Monitoramento de fatores de risco para doenças crônicas por entrevistas telefônicas. *Rev. Saúde Pública* V.39 n.1, p. 47-57, 2005.

MORRIS, A. J.; HAREMZA, E; WALKER, D. A. The frequency and potential clinical impact of non-analytical errors in the RCPA Microbiology QAP 1987-2008. *Pathology*, v. 43, n.4, p. 346-349, 2011.

OLIVEIRA, M. V. P. APLICAÇÕES DE ESTUDOS BIOQUÍMICOS QUANTITATIVOS EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE. V.2 n.2 p.1-28, 2012.

OLIVEIRA, G. S. L.; PICHETH, G.; SUMITA, N. M.; SCARTEZINI, M. Controle de qualidade na coleta do espécime diagnóstico sanguíneo: iluminando uma fase escura de erros pré-analíticos. *J. Bras Patol Med Lab*. Rio de Janeiro, v.45, n.6, p. 441-447, 2009.

ÖZCAN, O.; KARAKAS, A.; YUCEL, D. Effects of hemolysis on the assays of serum CK, CK-MB activities and CK-MB (mass), troponin and myoglobin Measurements. *Turkish Journal of Biochemistry-Turk J Biochem*, v.37, n.4, p.375-385, 2012.

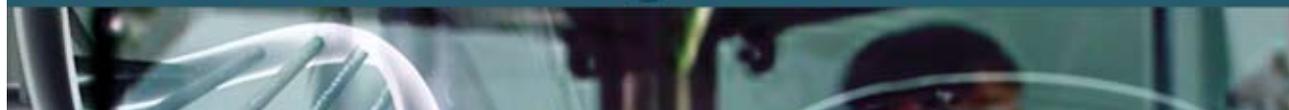
PASSOS, V.M.A.; ASSIS, T. D.; BARRETO, S. M. Hipertensão arterial no Brasil: estimativa de prevalência a partir de estudos de base populacional. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. v.15 n. 01, p.35-45,2006.

PICARELLI, M. M., KAISER, G.R.R.F.; MUHLEN, C. A. Dosagem Laboratorial de Enzimas Musculares e Diagnóstico Equivocado de Polimiosite Juvenil: Problemas na Avaliação Clínica e na Fase Pré-Analítica. *Rev. Bras. Reumatol*. São Paulo, v.44, n.3, p.224-226, 2004.

RIBEIRO, P. R. Q., OLIVEIRA D. M. Reabilitação cardiovascular, doença arterial coronariana e infarto agudo do miocárdio: Efeitos do exercício físico, 2011. EFDsportrd.com, *Revista Digital*. Buenos Aires, v.15, n. 152, Enero de 2011.

ROCHA, K. Marcadores bioquímicos de lesão no miocárdio, 2012. Disponível em: <http://www.unimep.br/phpg/mostraacademica/anais/10mostra/5/68.pdf>, Acesso em: 21 de abril de 2015.

SBPC/ML. SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. GESTÃO DA FASE PRÉ-ANALÍTICA: RECOMENDAÇÕES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL. 2010. Disponível em <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320101011105633.pdf>. Acesso em: 10 de Outubro de 2015.



SONNTAG O. Analytical interferences and analytical quality. *Clin Chim Acta*, v.404 n.1 p. 37-40, 2009.

STEPHEN L.; COOK, S.L.; BRUNS, D.E. Hemólise Persistente num Paciente com Pancreatite: Department of Pathology. University of Virginia School of Medicine, Charlottesville VA, *American Association for Clinical Chemistry, Inc.* v.58, n.6, p.974-997, 2012.

SYNDER, J.A.; ROGERS, M.W.; KING, M.S.; PHILLIPS, J.C.; CHAPMAN, J.F.; HAMMETT, S.C.A. The impact of hemolysis on Ortho-Clinical Diagnostic's ECI and Roche's elecsys immunoassay systems. *Clin. Chim. Acta.* V.348, n.2, p.181-187, 2004.

TOGNI G., VOLKEN, C., SABO, G. Préanalytique. *Forum med Suisse*, n.6. p. 113-120., 2002.

UNIFESP. Laboratório Central Hospital São Paulo. Manual de Coleta de Material Biológico. São Paulo, 2014/15, p.1-55. Disponível em: http://www.unifesp.br/dmed/patologiaclinica/laboratorio-central/manuais/manual-de-coleta-2014-2015/at_download/file, Acesso em: 4 de julho de 2015.

XAVIER, R. M.; DORA J. M; SOUZA, M. F. C.; BARROS, E. Laboratório na prática clínica- Consulta rápida. 2ª ed. Porto Alegre: *Artmed*. 2010.

ZORNOFF, Leonardo A. M., PAIVA, Sérgio A. R., ASSALIN, Vanessa M., POLA, Patrícia M. S., BECKER, Luís E., OKOSHI, Marina P., MATSUBAR, Luiz S., INOVE, Roberto M. T., SPADARO, Joel. Perfil Clínico, Preditores de Mortalidade e Tratamento de Pacientes após Infarto Agudo do Miocárdio, em Hospital Terciário Universitário. *Revista J. Bras Cardiol*, v. 78, n.4, p.396-400, 2002.