

## **INTERFERÊNCIA DE AMOSTRAS HEMOLISADAS EM ANÁLISES BIOQUÍMICAS**

### **INTERFERENCE OF HEMOLYZED SAMPLES IN BIOCHEMICAL ANALYSES**

*Jhennyffer Scheifer de Souza<sup>1</sup>, Sérgio Luiz Bach<sup>2</sup>*

#### **Resumo**

A fase pré-analítica é a grande responsável pelos erros laboratoriais que podem ocorrer em vários processos desde a coleta do material até a chegada ao laboratório, acarretando o surgimento da hemólise que tem grande relevância na interferência nas análises bioquímicas. A hemólise é a principal causa de rejeição de amostra em comparação a outras não conformidades. Analisar uma amostra hemolisada pode causar erros na avaliação dos resultados, gerando consequências prejudiciais ao paciente. A identificação do grau de hemólise em diversos laboratórios é realizada de forma visual após a centrifugação da amostra, onde essa análise não é precisa para determinar a concentração de hemoglobina presente no soro/plasma da amostra a ser analisada. Atualmente é recomendado utilizar a automação para determinar o IH sendo o mais confiável nesta avaliação, com o objetivo de padronizar a avaliação do grau de hemólise e estabelecer critérios de aceitação e rejeição de amostras hemolisadas para determinarmos como devemos interpretar os resultados analíticos afetados pelos diferentes graus hemólise. Trata-se de um levantamento científico, composta por diversas informações, nacional e internacional na área de Bioquímica Clínica, com o objetivo de reunir um conjunto de informações de como a hemólise interfere nos exames laboratoriais bioquímicos durante o processo analítico. Podendo ressaltar a importância da divulgação do tema para os profissionais da saúde, como treinamentos e capacitação técnica, melhorando as práticas laboratoriais na fase pré-analítica, para minimizar o processo de hemólise e aumentado a confiabilidade e segurança na liberação do resultado ao paciente.

*Palavras-chave:* Hemólise. Exames Bioquímicos. Interferentes. Laboratório de Análises Clínicas.

#### **Abstract**

The pre-analytical phase is largely responsible for laboratory errors that can occur in various processes, from material collection to arrival at the laboratory, leading to the occurrence of hemolysis, which greatly interferes with interference in biochemical analyses. Hemolysis is the main cause of sample rejection compared to other nonconformities. Analyzing a hemolyzed sample can cause errors in the evaluation of results, generating harmful consequences for the patient. The identification of the degree of hemolysis in several laboratories is performed visually after sample centrifugation, where this analysis is not accurate to determine the concentration of hemoglobin present in the serum/plasma of the sample to be diagnosed. It is currently recommended to use automation to determine the HI being the most reliable in this evaluation, with the aim of standardizing the assessment of the degree of hemolysis and establishing criteria for accepting and rejecting the hemolyzed sample to determine how to interpret the analytical results for different degrees of hemolysis. This is a scientific survey, consisting of various national and international information in the area of Clinical Biochemistry, with the objective of gathering a set of information on how hemolysis interferes with biochemical laboratory tests during the analytical process. It may emphasize the importance of disclosing the subject to health professionals, such as training and technical qualification, laboratory practices in the pre-analytical phase, to minimize the hemolysis process and increase the reliability and safety in releasing the result to the patient.

*Keywords:* Hemolysis. Biochemical Exams. Interfering. Clinical Analyseis Laboratory.

<sup>1</sup> Acadêmica do curso de Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR); Endereço para correspondência: [jhennyffer.scheiffer@gmail.com](mailto:jhennyffer.scheiffer@gmail.com)

<sup>2</sup> Docente do curso de Biomedicina da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR). Endereço para correspondência: [bach.sergio32@gmail.com](mailto:bach.sergio32@gmail.com)

## Introdução

A maioria dos erros laboratoriais ocorrem na fase analítica, principalmente na fase pré-analítica, por diversas atividades realizadas dentro e fora do ambiente laboratorial, devido ao procedimento inadequado durante a coleta da amostra, manuseio da amostra, transporte e armazenamento, à presença da hemólise acarreta uma solicitação de recoleta de um novo material, tendo como consequência o atraso no resultado do exame, aumento de custo, entre outros fatores (LIPPI *et al.*, 2019<sup>a</sup> ; MARQUES, 2020).

Segundo Wan Azman *et al.* (2019) as amostras hemolisadas que chegam ao laboratório podem representar até 70% de todas as amostras identificadas como inadequadas, em comparação a outras não conformidade como lipemia, icterícia, amostras descongeladas, entre outras, sendo a hemólise a principal causa de rejeição, onde podemos observar no gráfico 1. As amostras hemolisadas são um problema pré-analítico sério que exige diretrizes laboratoriais bem projetadas e rigorosamente implementadas, a interferência da hemólise em amostras de sangue é uma fonte de erro que pode gerar resultados de testes laboratoriais não confiáveis. A hemólise é causada pelo rompimento dos eritrócitos onde acontece o extravasamento de hemoglobina e diversos componentes para a corrente sanguínea, sendo assim pode estar relacionada a uma hemólise *in vivo* ou *in vitro*, que pode interferir principalmente nas concentrações de potássio dependendo do grau de hemólise, outros analíticos também podem sofrer interferência (PLEBANI *et al.*, 2015).

Este trabalho, tem como objetivo demonstrar as principais alterações em exames bioquímicos, importância do monitoramento para prevenir a hemólise e minimizar a interferência nos fatores pré-analíticos nos exames bioquímicos.

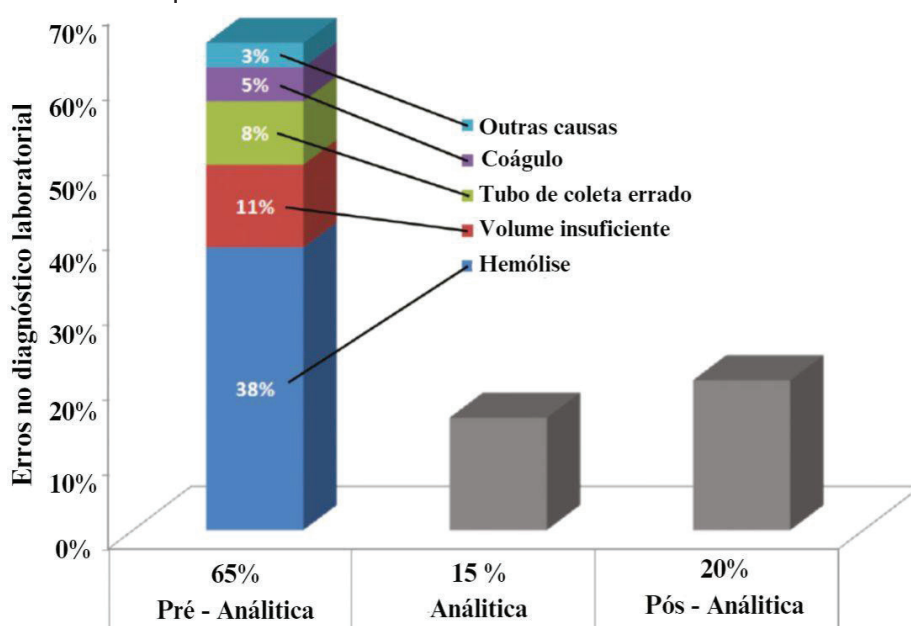


Gráfico 1: Não conformidades de um Laboratório de Análises Clínicas.  
Fonte: LIPPI *et al.*, 2019<sup>a</sup>. Modificado



## Metodologia

O trabalho originou-se de revisões de leitura científica, composta por informações de origem tanto nacional como internacional na área de Bioquímica Clínica, coletadas através de pesquisas bibliográficas e artigos científicos, dando ênfase nas publicações a partir de 2013, utilizando as bases de dados: PUBMED, SCIELO, GOOGLE ACADÊMICO e JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. As pesquisas foram realizadas no período de março a junho de 2023, utilizando as seguintes palavras-chave: hemólise, laboratório de análises químicas, exames bioquímicos, interferentes; essas palavras foram utilizadas em diferentes combinações.

## Discussão

A hemólise ocorre devido a uma lesão ou por diversas condições biológicas que levam a degradação dos eritrócitos, refletindo uma concentração de hemoglobina livre no soro. A concentração de hemoglobina livre considerada normal é compreendida entre 0,22 e 0,25 g/L no soro e no plasma de 0,10 e 0,13 g/L. O limiar para os ensaios bioquímicos é de 0,5 g/L, o aumento deste valor pode acarretar erros analíticos e comprometer o resultado do teste. As principais interferências se baseiam na liberação de componentes da hemólise liberados na amostra que podem levar a um aumento de substâncias em determinados analitos como o K (potássio), LDH (lactato desidrogenase), interferência química na liberação de compostos intracelulares em determinadas técnicas como na avaliação de CPK (creatina quinase) e interferência nos comprimentos de onda 415, 540 e 570 nm na espectrofotometria (LIPPI et al., 2019 a).

Alguns estudos puderam comprovar a interferência da hemólise em diversos analitos como na alfa-amilase, aspartato aminotransferase (AST/TGO), bilirrubina total e conjugada, creatina quinase (CPK), CK-MB,  $\gamma$ -glutamilttransferase (GGT) fosfatase alcalina (ALP), ferro, lactato desidrogenase (LDH), magnésio, potássio, proteína total, ácido úrico alanina aminotransferase (ALT/TGP) fosfato, uréia, albumina e colinesterase, em determinado grau de hemólise, mas também mostraram que não houve interferência de hemólise para cálcio, cloreto, creatinina, proteína C-reativa (PCR), glicose e sódio. É recomendado a avaliação do grau de hemólise em automação, pois permite um resultado confiável, porém cada laboratório deve estabelecer seus limites de IH, levando em consideração os dados do fabricante e seus critérios de avaliação (PEROVIĆ e DOLČIĆ, 2019; SANANDEDJI et al., 2022).

## Causas da Hemólise

As causas de hemólise acontecem principalmente na fase pré-analítica ocorrendo em diversas ocasiões, ocorre devido a um trauma mecânico durante a punção, aplicação de torniquete prolongado, durante o manuseio da amostra, centrifugação, armazenamento incorreto ou no



transporte da amostra. A hemólise resultante da coleta de sangue pode ser causada pelo tamanho incorreto da agulha, homogeneização inadequada dos tubos e coleta difícil, pode se originar desde a punção venosa até o processo de análise da amostra. Determinar o grau de hemólise e as razões nas quais surgiram, possibilita realizar tratativas corretivas nesta interferência (HEIREMAN, *et al.*, 2017; WAN AZMAN, *et al.*, 2019).

## *Hemólise In Vivo*

Se origina das condições do paciente podendo ser hereditárias, endógenas ou adquirido, a hemólise *in vivo* origina-se pela destruição prematura dos glóbulos vermelhos na circulação, sendo uma delas a anemia hemolítica hereditária ou adquirida, quando a medula óssea ativa é incapaz de compensar a quantidade de degradação de hemácias, a etiologia da morte prematura de hemácias varia e pode ser devida a reações antígeno-anticorpo, reação química, anemias hemolíticas, toxinas e substâncias tóxicas, ruptura mecânica de hemácias devido a válvulas cardíacas artificiais e intervenção médica, como hemodiálise ou uso de técnicas de perfusão. Para a interpretação da hemólise *in vivo* exige que o médico forneça o histórico clínico do paciente, ainda assim, é um assunto que está sendo discutido se deve ou não rejeitar ou liberar o resultado (MARQUES, 2020).

## *Hemólise In Vitro*

A hemólise *in vitro* é oriunda do rompimento dos eritrócitos devido a coleta inadequada da amostra, é causada pelo tempo prolongado de torniquete, calibre da agulha, homogeneização inadequada, manuseio da amostra, transporte incorreto do material, processamento e armazenamento inadequado (MARQUES *et al.*, 2022).

## **Análise de Restrição em Laboratórios**

É recomendado uma abordagem padronizada para a identificação de amostras hemolisadas para classificar o grau de hemólise por meio de IH disponível em determinados equipamentos na automação, o uso das fórmulas é descartado para os testes sensíveis à hemólise para ajustar os resultados obtidos. O uso de IH tem diversas vantagens, porém não é padronizada dentro dos laboratórios de análises clínicas, este índice se baseia na avaliação fotométrica, sendo rápida, de baixo custo e confiável, tendo como objetivo estipular por meio das equações à concentração de hemoglobina livre. Com isso podemos alcançar uma maior qualidade e segurança em todo o processo de análise (LIPPI *et al.*, 2019<sup>a</sup>).



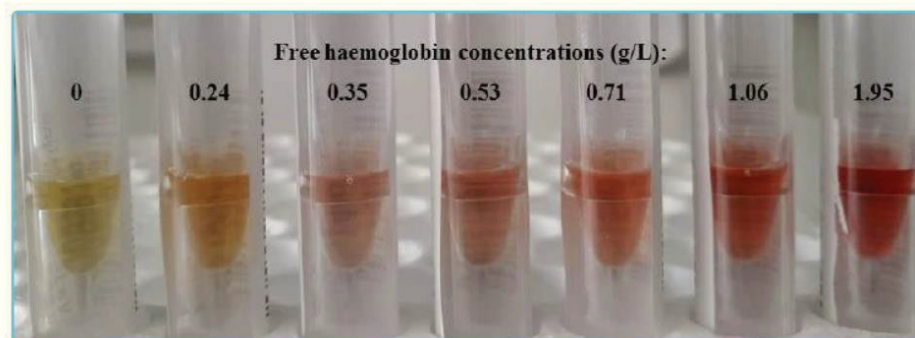


Figura 1: Detecção visual para a identificação de hemólise. Fonte: TÓTH *et al.*, 2020.

A detecção da hemólise por inspeção visual não é confiável, pois a avaliação do grau de hemólise pode variar de profissional para profissional, sendo assim, é recomendada a utilização de sistemas automatizado que são capazes de identificar a concentração de hemoglobina na amostra, de acordo com a figura 1. A rejeição de amostras suspeitas de hemólise *in vivo* é considerada negligência. Investigações adicionais em combinação com história clínica, exame físico e esfregaço de sangue periférico são essenciais para a diferenciação de hemólise *in vivo* ou *in vitro* (LIPPI *et al.*, 2019<sup>b</sup>; TÓTH *et al.*, 2020).

## Conclusão

Amostras hemolisadas são um grande desafio para os laboratórios de análises clínicas, profissionais da saúde bem capacitados, que tenham conhecimento e experiência é essencial para que a amostra tenha qualidade para produzir resultados precisos. É necessário desenvolver uma padronização nos procedimentos de identificação das amostras hemolisadas, que possam fornecer aos médicos informações confiáveis em relação ao resultado de seus pacientes. A identificação automatizada é considerada a solução mais adequada para detecção do grau de hemólise, é eficaz na hora de decidir pela rejeição do material para assim solicitar uma recoleta. O IH automatizado também pode reduzir os gastos laboratoriais com a repetições de exames desnecessários, encurtar o tempo de execução do teste e evitar resultados imprecisos que podem afetar o atendimento ao paciente. Uma visão abrangente da literatura científica nos leva a concluir que amostras hemolisadas são a causa mais frequente de não conformidade de amostras em laboratórios clínicos.

## Referências

HEIREMAN L, VAN GEEL P, MUSGER L, HEYLEN E, UYTENBROECK W, MAHIEU B. Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory. *Clin Biochem*. vol. 50, no. 18, pp. 1317-1322, 2017.



LIPPI, GIUSEPPE, VON MEYER, ALEXANDER, CADAMURO, JANNE AND SIMUNDIC, ANA-MARIA. Blood sample quality, *Diagnosis*, vol. 6, no. 1, pp. 25-31, 2019<sup>a</sup>.

LIPPI, G., BETSOU, F., CADAMURO, J., CORNES, M., FLEISCHHACKER, M., FRUEKILDE, P., NEUMAIER, M., NYBO, M., PADOAN, A., PLEBANI, M., SCIACOVELLI, L., VERMEERSCH, P., VON MEYER, A., SIMUNDIC, A. M., & WORKING GROUP FOR PREANALYTICAL PHASE (WG-PRE), EUROPEAN FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE (EFLM). Preanalytical challenges - time for solutions. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, vol. 57, no. 7, pp. 974–981, 2019<sup>b</sup>.

PLEBANI, M. SCIACOVELLI, L., AITA, A. PELLOSO, M. AND CHIOZZA, M. L. "Performance criteria and quality indicators for the pre-analytical phase" *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. vol. 53, no. 6, pp 943-948, 2015.

MARQUES, G. F. Methods for Hemolysis Interference Study in Laboratory Medicine - A Critical Review. *EJIFCC*. vol. 31, no. 1, pp 85-97, 2020.

MARQUES, G. F., JUNG, D. H., PÉREZ, S. E. Impact of Individualized Hemolysis Management Based on Biological Variation Cut-offs in a Clinical Laboratory. *Ann Lab Med*. vol. 42, no. 2, pp 169-177, 2022

PEROVIĆ, A., DOLČIĆ M. "Influence of hemolysis on clinical chemistry parameters determined with Beckman Coulter tests - detection of clinically significant interference." *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* vol. 79, no. 3, pp. 154-159, 2019.

SANANDEDJI E, ANDRÉ J, LIENARD A, HENTGEN C, BARRANS A. "Interférence de l'hémolyse sur les examens de biochimie clinique analysés sur DxC 700 AU (Beckman Coulter®) et algorithme de rendu de la kaliémie" [Hemolysis interference on clinical chemistry tests analyzed on DxC 700 AU (Beckman Coulter®) and kaliemia rendering algorithm]. *Annales de biologie clinique* vol. 80, no.3, pp. 225-232, 2022.

TÓTH, J., OLÁH, A. V., PETERCSÁK, T., KOVÁCS, T., & KAPPELMAYER, J. Detection of haemolysis, a frequent preanalytical problem in the serum of newborns and adults. *EJIFCC*, vol. 31, no.1, pp. 6–14. 2020.

WAN AZMAN WN., OMAR J., KOON TS., TUAN ISMAIL TS. Hemolyzed Specimens: Major Challenge for Identifying and Rejecting Specimens in Clinical Laboratories, *Oman Med J*, vol. 34, no. 2, pp. 94-98, 2019.