

DESAFIOS NO MANEJO LABORATORIAL DA HEMÓLISE: UMA REVISÃO DAS CAUSAS E DO IMPACTO NA LIBERAÇÃO DOS RESULTADOS

CHALLENGES IN THE LABORATORY MANAGEMENT OF HEMOLYSIS: A REVIEW OF THE CAUSES AND IMPACT ON THE RELEASE OF RESULTS

DESAFÍOS EN EL MANEJO DE LA HEMÓLISIS EN EL LABORATORIO: UNA REVISIÓN DE LAS CAUSAS Y EL IMPACTO EN LA PUBLICACIÓN DE LOS RESULTADOS

LARISSA TAVARES SOUZA¹
VICTÓRIA LIMA DA SILVA CRUZ²
PATRICK MENEZES LOURENÇO³
DIOGO FELIPE CORECHA DO NASCIMENTO⁴

Resumo: Introdução: Hemólise consiste na lise de eritrócitos e o extravasamento do conteúdo intracelular para o plasma ou soro. Pode ocorrer in vivo ou in vitro, sendo um dos principais interferentes e fatores de rejeição de amostras na rotina laboratorial. Métodos: o presente trabalho foi uma revisão de literatura, com o objetivo de analisar as pesquisas referentes à amostras hemolisadas, suas causas e o manejo laboratorial necessário, em um período de doze anos. A pesquisa teve o PubMed como banco de dados utilizado para a realização do presente trabalho. Essa revisão tem como objetivo ressaltar a importância do manejo adequado dos processamentos de amostras hemolisadas. Resultados: As pesquisas selecionadas indicaram que os métodos, apesar de algumas limitações em algumas partes, foram eficazes no que tangia o objetivo alvo, apontando novas ferramentas auxiliares para a manipulação das amostras hemolisadas. Grande parte dos estudos apresentou os erros da fase pré-analítica como a principal causa de hemólise. Conclusão: O manejo correto das amostras hemolisadas ainda é considerado um desafio para o campo laboratorial, sendo imprescindível a resolução adequada do quadro para o diagnóstico correto e tratamento eficaz do paciente. Apesar das limitações apresentadas pelos métodos estudados, os mesmos obtiveram resultados positivos na sua finalidade.

Palavras-chave: “Hemólise”, “amostras hemolisadas”, “erros pré-analíticos”, “hemólise in vivo”, “hemólise in vitro”

Abstract: Introduction: Hemolysis consists in the lysis of erythrocytes and the extravasation of intracellular content into the plasma or serum. It can occur in vivo or in vitro, being one of the main interferents and factors for sample rejection in routine laboratory practice. Methods: This study was a literature review aiming the analysis of research papers on hemolyzed samples, their causes, and the necessary laboratory management over a twelve-year period. PubMed was the database used for this study. The review aims to highlight the importance of proper management of hemolyzed sample processing. Results: The selected research indicated that the methods, despite some limitations in certain aspects, were effective in achieving the target objective, pointing

¹ Graduada em Biomedicina pela UNIGRANRIO. **E-mail:** tavares.larissa8@gmail.com

² Graduada em Biomedicina pela UNIGRANRIO. **E-mail:** vickylimacruz@outlook.com

³ Doutor em Ciências pelo Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo De Meis (IBqM/UFRJ), Mestre em Medicina Laboratorial pela UERJ, Biólogo Clínico, lotado na Unidade de Laboratório de Análises Clínicas e Anatomia Patológica do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGGUnirio/Ebserh). **E-mail:** patrickbioclinico@gmail.com

⁴ Bacharel em Ciências Biológicas (Genética), Mestre em Bioquímica Médica Leopoldo De Meis (IBqM/UFRJ), Especialista em Onco-hematologia, Biólogo do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho - UFRJ (HUCFF- UFRJ). **E-mail:** dcorecha@gmail.com

to new auxiliary tools for handling hemolyzed samples. A significant portion of the studies identified errors in the pre-analytical phase as the main cause of hemolysis. Conclusion: Proper management of hemolyzed samples is still considered a challenge in the laboratory field, with the appropriate resolution of the situation being essential for correct diagnosis and effective patient treatment. Despite the limitations of the methods studied, they yielded positive results in their purpose.

Keywords: "Hemolysis", "hemolyzed samples", "pre-analytical errors", "in vivo hemolysis", "in vitro hemolysis".

Resumen: Introducción: La hemólisis consiste en la lisis de los eritrocitos y la extravasación del contenido intracelular al plasma o al suero. Puede ocurrir in vivo o in vitro, siendo una de las principales interferencias y factores de rechazo de muestras en la rutina de laboratorio. Métodos: el presente estudio fue una revisión de la literatura, con el objetivo de analizar la investigación sobre muestras hemolizadas, sus causas y el manejo de laboratorio necesario, durante un período de doce años. La investigación se basó en PubMed como base de datos utilizada para llevar a cabo el presente estudio. Esta revisión tiene como objetivo resaltar la importancia del manejo adecuado del procesamiento de las muestras hemolizadas. Resultados: Los estudios seleccionados indicaron que los métodos, a pesar de algunas limitaciones en algunas partes, fueron efectivos en términos del objetivo objetivo, apuntando a nuevas herramientas auxiliares para la manipulación de muestras hemolizadas. La mayoría de los estudios mostraron errores en la fase preanalítica como la principal causa de hemólisis. Conclusión: El manejo correcto de las muestras hemolizadas aún se considera un desafío para el ámbito del laboratorio, y es esencial resolver la condición adecuadamente para realizar un diagnóstico correcto y tratar al paciente de forma eficaz. A pesar de las limitaciones de los métodos estudiados, se obtuvieron resultados positivos.

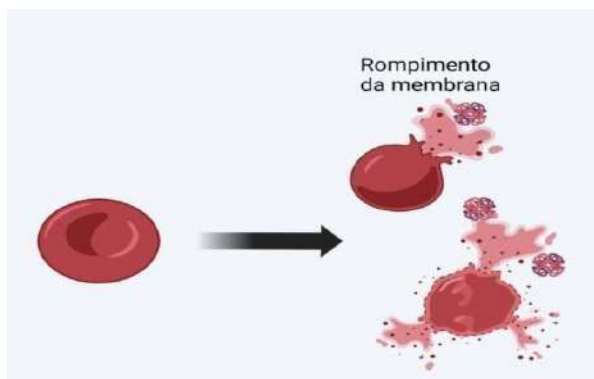
Palabras clave: "Hemólisis", "muestras hemolizadas", "errores preanalíticos", "hemólisis in vivo", "hemólisis in vitro".

INTRODUÇÃO

1.1 HEMÓLISE

Hemólise é definida na literatura como um rompimento da membrana da hemácia, causando a liberação da hemoglobina e outros componentes internos no líquido circundante (Figura 1) (Bastos, 2010). Pode ocorrer in vivo, causada por doenças sanguíneas congênitas, adquiridas ou por iatrogenia (Martins *et al.*, 2021), ou in vitro, causada pelo rompimento dos eritrócitos devido a coleta inadequada da amostra (Souza *et al.*, 2023). A relevância deste achado se dá pela hemólise contribuir substancialmente nos resultados errôneos em parâmetros hematológicos (Sigmundic *et al.*, 2009) e bioquímicos em 34,5% (Becher *et al.*, 2014), revelando o potencial desta condição em causar equívocos (Scaramiele *et al.*, 2017). A hemólise pode interferir diretamente na interpretação de outros exames hematológicos, como contagem de células vermelhas, hematócrito e índices eritrocitários (Júnior *et al.*, 2024). Erros como esse geram rejeição da amostra, além de dano direto ao paciente, trazendo insatisfação, ansiedade, transtornos e insegurança ao médico e ao paciente (Guimarães *et al.*, 2011).

Figura 1: Mecanismo da hemólise.



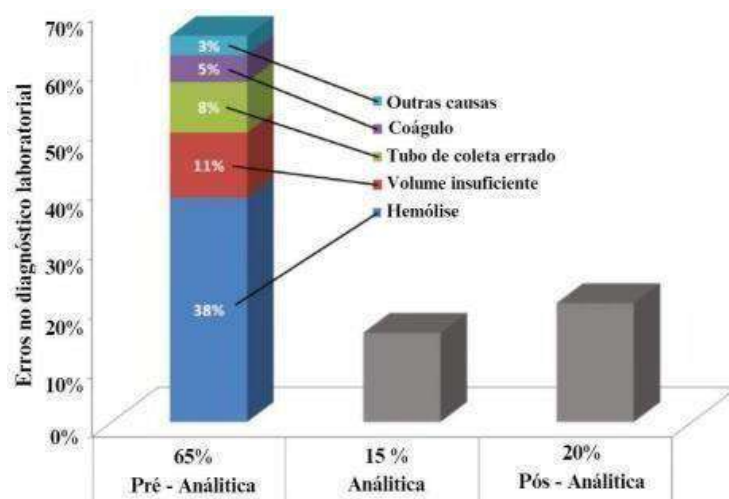
Fonte: Nascimento, 2024.

1.2 OCORRÊNCIA DE HEMÓLISE POR ERROS LABORATORIAIS

A hemólise *in vitro*, causada por motivos externos, gera mais de 95% das amostras hemolisadas no âmbito laboratorial (Robbiano *et al.*, 2021), que acaba por causar danos ao paciente. Cerca de 60% das amostras são rejeitadas por consequência de hemólise (Figura 2) (Scaramiele *et al.*, 2017) e, por isso, deve ser realizada uma nova coleta, levando insegurança ao médico solicitante (Lippi *et al.*, 2009), além dos transtornos ocasionados ao laboratório, já que haverá a necessidade de descarte de materiais, atraso nos resultados e perda de credibilidade. (Martins *et al.*, 2021). Os fatores geradores da hemólise na fase pré-analítica, responsável pela atividade da solicitação do exame até a realização propriamente dita, tem como alguns componentes a amostra contaminada (Carraro e Plebani, 2007), homogenização vigorosa da amostra de sangue, transporte pneumático das amostras feito pelo tubo ou por forçar o sangue através da agulha (Oliveira e Silva, 2022).

A importância de manejar estas amostras de forma eficiente se dá pela relevância significativa da hemólise como interferente nos testes laboratoriais (Sigmundic *et al.*, 2010), já que além de extravasar o conteúdo eritrocitário como água e compostos bioquímicos (Peixoto *et al.*, 2013), com um consequente efeito de diluição nas concentrações de analitos no sangue, também leva a interferência espectral pela Hb (Smith *et al.*, 2012), reações químicas do heme ou ferro com componentes reagentes, ligação da Hb à haptoglobina e inibição de reações químicas (Robbiano *et al.*, 2021).

Figura 2: Não conformidades de um Laboratório de Análises Clínicas.



Fonte: Adaptado de Lippi *et al.*, 2019.

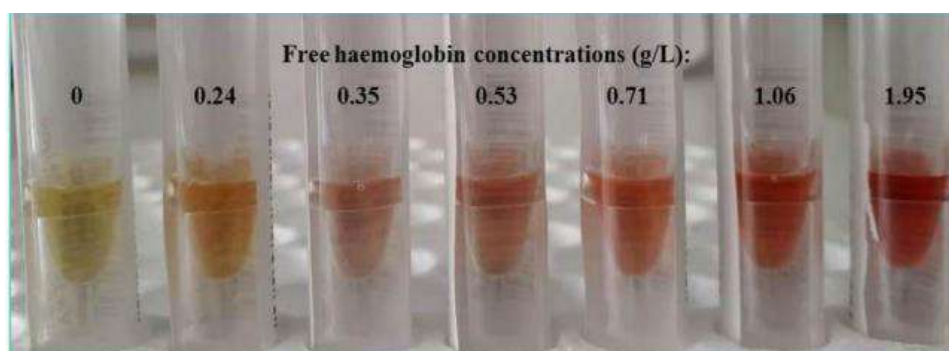
1.3 CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS DA AMOSTRA HEMOLISADA

A hemólise somente é visível após separação do plasma/ soro da parte celular (Lippi *et al.*, 2008). Após a separação do soro, a hemólise pode ser detectada visualmente, quando a concentração de hemoglobina livre é de 0,2-0,3 g/L (Figura 3) (Tóth *et al.*, 2020), ou de 0,1- 0,3 g/L (Guder, 1986). Em amostras hemolisadas pode ser observado diminuição da contagem de eritrócitos, VCM, aumento do RDW, HCM, da contagem de plaquetas e concentrações aumentadas de colesterol (Barros *et al.*, 2023). Por outro lado, observa-se valores diminuídos na dosagem de ácido úrico, fosfatase alcalina, glicose e bilirrubina (Scaramele *et al.*, 2017).

É relevante ressaltar que a interferência da hemólise afeta especialmente a lactato desidrogenase, aspartato aminotransferase, potássio e concentração de bilirrubina total, de modo primordial (Withold, 1996), enquanto outros exames não sofrem interferência em grande escala, pois é possível realizar a medição até um nível grave de hemólise (Atay *et al.*, 2014). Em contraste, a concentração de haptoglobina no plasma/soro de amostras hemolíticas permanece inalterada (Verhelst *et al.*, 1991). Um aumento ou diminuição aparente de um resultado por Hb é, portanto, dependente da concentração do método e do analito (Woodrum, 1998). A avaliação macroscópica é uma medida não confiável de hemólise da amostra (Hawkins, 2002). Em contrapartida, é recomendada a utilização de sistemas automatizados para identificar

a concentração de hemoglobina na amostra (Souza, 2023). Os analisadores químicos modernos são equipados com sistemas espectrofotométricos que medem automaticamente o nível de hemólise, expresso como o chamado índice de hemólise (Lippi *et al.*, 2018). As vantagens da espectrofotometria sobre a inspeção visual incluem maior reprodutibilidade, melhor sensibilidade e maior confiabilidade (Munich *et al.*, 2011).

Figura 3: Comparação entre detecção visual e automatizada de hemólise em amostras de soro.



Fonte: Tóth *et al.*, 2020.

1.4 MANEJO E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS HEMOLISADAS

Apesar dos contínuos estudos, há um debate constante sobre como deve ser manipulada uma amostra hemolisada. Na ausência de dados e/ou diretrizes utilizadas pelos analisadores, pode ser feita nova coleta da amostra, sendo o mais recomendado (Simundic *et al.*, 2010). Pode-se utilizar a correção matemática, entretanto, pode introduzir viés, levar a imprecisão e resultados enganosos (Lippi *et al.*, 2006).

Entretanto, a interpretação dos valores clínicos torna-se imprecisa de acordo com o grau da hemólise (Heireman *et al.*, 2017). Em especial a Hemoglobina Livre, torna-se afetada pela hemólise, quando comparados com a medida em amostras normais. Sendo assim, pontos de corte específicos são usados para evitar que a hemólise influencie a interpretação dos resultados no contexto clínico (Veermer *et al.*, 2005). Considerando-se que a maioria dos instrumentos utilizados em laboratórios hoje pode medir o percentual de hemoglobina livre em amostras, esse resultado pode ser combinado com pontos de contenção predefinidos, permitindo uma tomada de atitude da equipe vigente (Gidske *et al.*, 2019).

Enfatiza-se que, dentro do contexto analítico, utilizar apenas inspeção visual dos índices séricos é altamente questionável e, recomenda-se, uso do equipamento automatizado (Lippi *et al.*, 2019). A

automação laboratorial total (TLA) expandiu-se recentemente em muitos laboratórios e possui uma ampla vantagem em um laboratório de alta atividade (Hawker, 2017). Assim, para minimizar o risco do paciente, o gerenciamento de amostras com um certo grau de hemólise precisa ser padronizado e, preferencialmente, até automatizado, mas ao mesmo tempo baseado em evidências e, quando necessário, até mesmo individualizado (Meyer *et al.*, 2018). O manuseio de amostras hemolisadas pode gerar efeitos colaterais extremos em alguns analitos, afetando o diagnóstico médico. Além disso, o atraso no diagnóstico ocasionado por hemólise na amostra também representa dano ao paciente (Cadamuro *et al.*, 2017).

Consequentemente, os equipamentos devem obter resultados com controle de qualidade tanto interno quanto externo. Só assim, os riscos da liberação de laudos para essas amostras serão minimizados (Lippi *et al.*, 2019). Além disso, recomendações atualizadas baseadas em evidências são necessárias para reduzir erros pré-analíticos e aumentar a segurança do paciente (Nikolac *et al.*, 2017)

METODOLOGIA

O estudo realizado foi uma revisão de literatura com o objetivo de analisar pesquisas referentes à amostras hemolisadas, suas causas e o manejo laboratorial necessário, em um período de doze anos. A pesquisa teve o PubMed como banco de dados. Como critérios de inclusão, foram usados os parâmetros: a disponibilidade de artigos gratuitos; pesquisas dentro do período de doze anos e aquelas em que discorria acerca do tema proposto com base nas palavras-chave direcionadas. Os critérios de exclusão foram: pesquisas fora do período estabelecido e aqueles que apresentavam termos distintos do que fora estipulado, como outros tipos de interferentes analíticos.

Este estudo teve como objetivo fornecer uma visão atualizada e generalizada sobre as causas e os consequentes manejos laboratoriais das amostras hemolisadas, buscando os ensaios clínicos disponíveis na literatura neste período. A revisão da literatura permitiu a seleção e consequente análise dos estudos relevantes na esfera laboratorial, contribuindo, assim, para percepção dos avanços e desafios neste cenário.

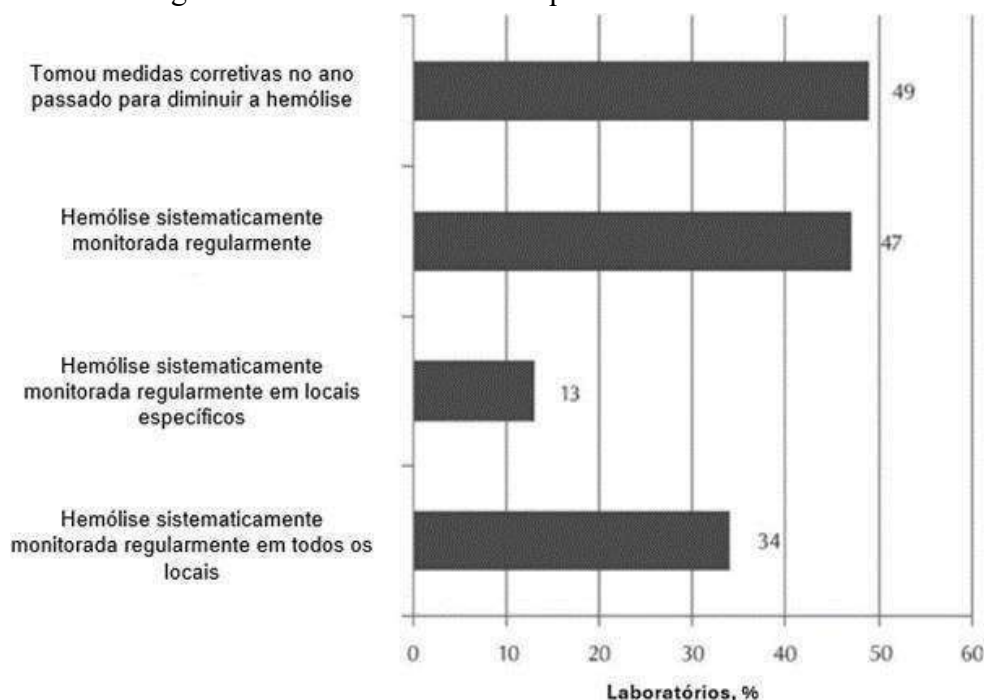
Por conseguinte, a questão a ser abordada no presente estudo volta-se ao desafio no manejo laboratorial em relação à manipulação de amostras hemolíticas. Para isto, foram selecionados métodos que visam avaliar e identificar os melhores instrumentos para auxiliar no processamento analítico com hemólise de origem *in vitro* e *in vivo*.

RESULTADOS

Howanitz *et al.*, no ano de 2015, relatou como os diferentes laboratórios processavam suas amostras e o que era um fator decisivo e qualitativo de cada material coletado. Foi aplicado um questionário para 846 clientes da CAP ChemistrySurveys, e nele havia 28 perguntas de múltipla escolha, outros 7 com “outro, liste”. O objetivo foi verificar a análise de como os participantes lidavam com amostras hemolíticas em análises bioquímicas onde possuem alterações significantes como aglicose, o potássio e o lactato desidrogenase (Howanitz *et al.*, 2015).

Em busca de resultados melhores, 692 participantes descreveram ações que tomaram para reduzir os quadros de amostras hemolisadas durante um ano. Entretanto, 71% dos relatos comprovaram ineficácia no controle da hemólise (Figura 4) (Howanitz *et al.*, 2015).

Figura 4: Porcentagem de laboratórios clínicos que tomaram medidas sobre a hemólise.



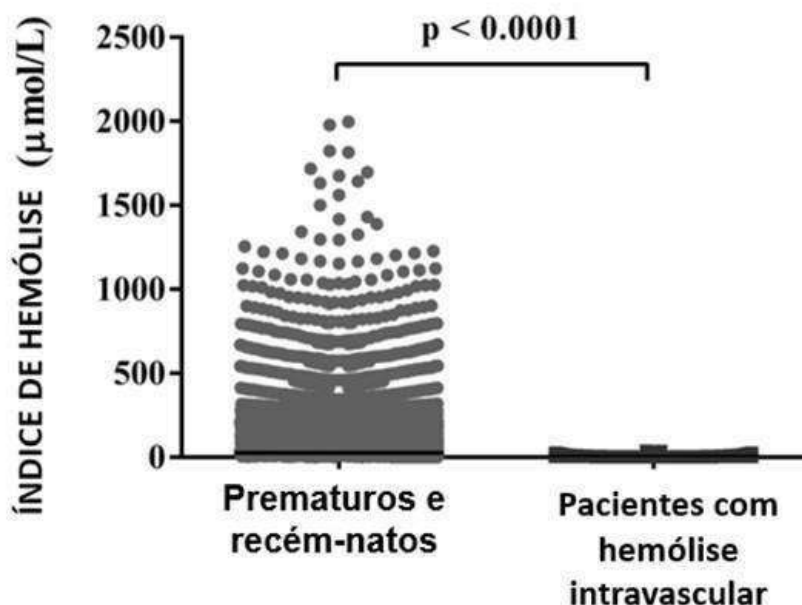
Fonte: Howanitz *et al.*, 2015.

Tóth *et al.*, no ano de 2020, realizou uma pesquisa que constitui um teste de qualidade das amostras, onde mais de 800 mil amostras testadas, possuíam 295.130 amostras hemolisadas. Logo, o erro mais

presente foi o quadro de hemólise, seguido pelo erro de identificação e uma pequena porcentagem de amostras coaguladas mesmo em solução com anticoagulantes. O presente estudo apresenta, também, um quadro maior de hemólise em amostras de recém-nascidos, obtendo maior problemática em pacientes em caso de terapias intensivas. Entretanto, apesar da presença mais comum em prematuros e recém-natos, os quadros de hemólise in vitro destes pacientes superaram os índices de paciente com hemólise intravascular grave. A hipótese levantada é que, apesar da possibilidade de hemólise in vivo, a maioria dos casos vinha de erros in vitro (Tóth *et al.*, 2020).

Estes valores foram confirmados através da comparação da haptoglobina de pacientes com suspeita de hemólise in vivo, onde o valor se encontrava inferior a 0,1g/L (Figura 5) (Tóth *et al.*, 2020).

Figura 5: Índice de hemólise de recém-nascidos e pacientes prematuros e a termo com hemólise intravascular grave documentada.

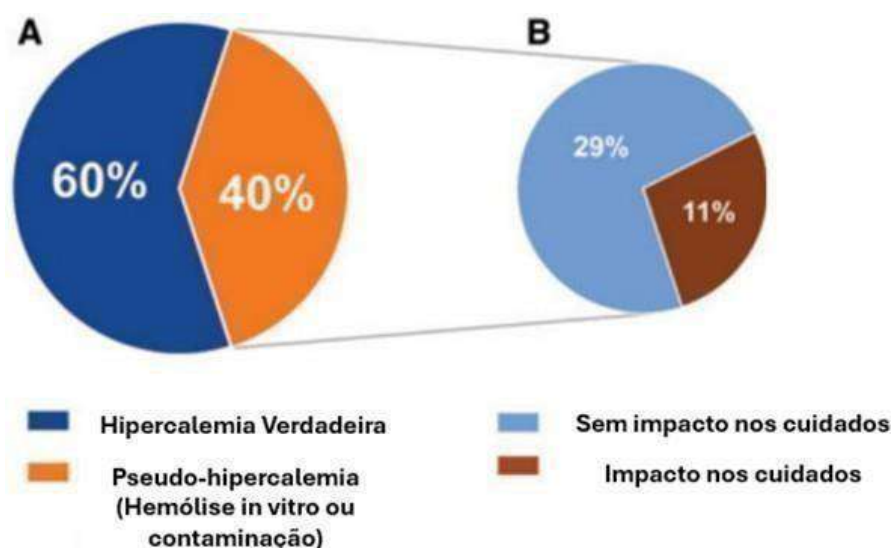


Fonte: Tóth *et al.*, 2020

No estudo de O'hara; Wheatley; Kazmierczak, 2020, um total de 100 pacientes foram admitidos em internação com suspeita de hipercalemia. Do total, 60 possuíam um quadro verdadeiro de aumento de potássio. Todavia, os 40 restantes mostraram ter pseudo-hipercalemia causada por hemólise in vitro em 39 pacientes deste grupo e 1 por contaminação com fluido intravenoso. Dos pacientes com casos de hipercalemia ocasionada por fatores externos, um grupo de 29 pessoas não sofreu impactos nos cuidados

médicos devido a este quadro, pois foi analisado com antecedência que a causa provinha da hemólise ou contaminada. Porém, 11 pacientes passaram por novas análises e passaram por processos diferentes de tratamento resultante desta coleta (Figura 6) (O'hara; Wheatley; Kazmierczak, 2020).

Figura 6: Porcentagem de amostras hemolisadas e impacto subsequente no cuidado de pacientes com potássio aumentado.



Fontes: O'hara; Wheatley; Kazmierczak, 2020.

Salvagno *et al.*, no ano de 2019, obtiveram 20 amostras de sangue coletadas em tubo com citrato de sódio. Fez-se a divisão de três pools de plasma, em que a primeira, ao ser centrifugada, exibiu concentração basal de triglicerídeos, sendo próxima ao valor limite. Para análise, utilizou-se o teste colorimétrico enzimático para avaliar níveis de triglicerídeos. Já o segundo pool plasmático teve como principal presença a bilirrubina em valores limítrofes.

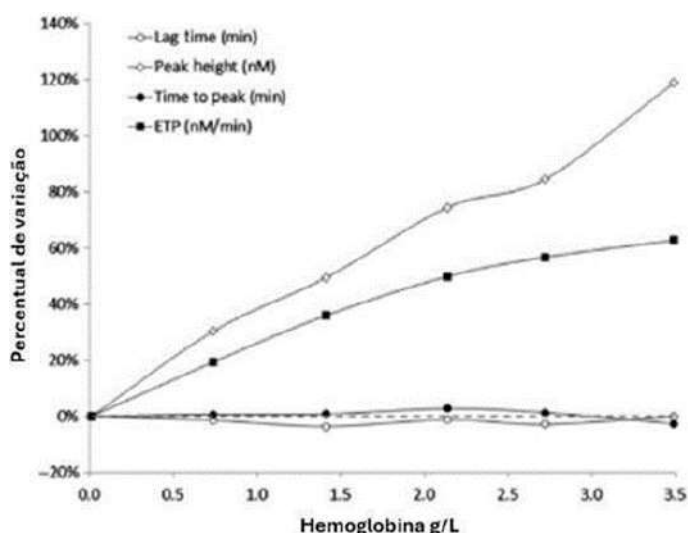
Já o segundo pool plasmático teve como principal presença a bilirrubina em valores limítrofes. A concentração total de bilirrubina foi medida utilizando o método colorimétrico diazo. O terceiro pool, feito a partir de 20 amostras, foi dividido em duas partes, de 5 mL cada. A hemólise foi gerada em algumas das amostras por lesão mecânica, justificada pelo uso de seringa de 1 mL equipada com uma agulha de pequeno calibre (calibre 30, $0,3 \times 8$ mm), e quantidades escalares deste sangue hemolisado foram então adicionadas amostras normais para obter valores gradualmente crescentes de hemoglobina livre de células no plasma, para gerar uma concentração final entre 0,02 g/L (sangue não hemolisado) e 3,5 g/L (sangue modestamente

hemolisado). O grau de hemólise foi avaliado como índice de hemólise (índice H) em um Roche Cobas 8000 (Salvagno *et al.*, 2019).

A avaliação da geração de trombina foi avaliada por meio do ST Genesia, que é um método automatizado. Baseia-se na quantificação de trombina gerada no plasma, com ou sem plaquetas, por meio de um substrato fluorogênico. A trombina formada na amostra de teste converte o substrato, que produz um sinal fluorescente. Por fim, os resultados obtidos nas diferentes alíquotas de plasma com valores crescentes de triglicerídeos, bilirrubina e hemoglobina livre de células foram relatados como variação percentual (%) da linha de base (Salvagno *et al.*, 2019).

Os níveis de hemólise das amostras dos pacientes em questão estavam vinculados ao aumento percentual do momento de Peak e do tempo Slope. Os valores aumentavam simultaneamente com a concentração da hemoglobina livre. Enquanto os valores de Tempo de Peak e Lag Phase permaneceram sem alterações dentre as amostras hemolisadas (Figura 7) (Salvagno *et al.*, 2019).

Figura 7: Alterações relativas dos parâmetros de geração de trombina em amostras de plasma hipertrigliceridêmico com evidência de hemólise.



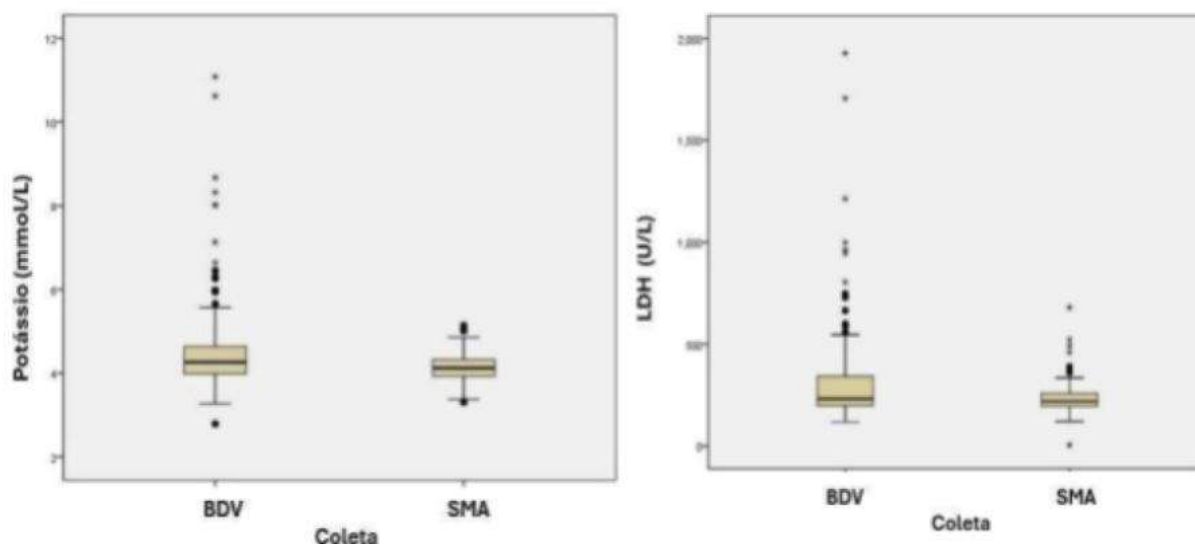
Fonte: Salvagno *et al.*, 2019.

O artigo de Omar *et al.*, no ano de 2023, consistiu em um estudo randomizado no Sengkang General Hospital em Cingapura, onde foram avaliados 192 pacientes entre 18 e 90 anos, utilizando-se de uma comparação do sistema de coleta por BD Vacutainer® (BDV) ou S- Monovette® (SMA) em modo de

aspiração. O objetivo era avaliar qual dos dois meios possuiria mais quadros de hemólise. Sendo verificados os graus de hemólise, os níveis séricos de potássio e lactato desidrogenase em ambas as amostras. Do total de pacientes, apenas 1 retirou seu consentimento. O grupo também possuía etnia distinta e variação do sexo, sendo maioria chineses e mulheres. Foi comprovada uma taxa de hemólise menor em amostras coletadas pelo SMA comparado ao convencional BDV.

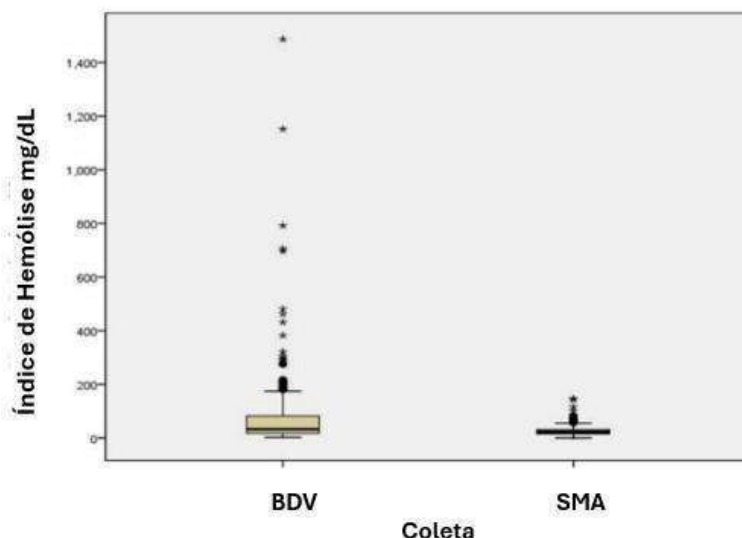
Levando em consideração o estudo “EPiQ” do inglês “Avaliação da qualidade pré-analítica”, nenhuma amostra coletada por SMA possuía valores graves de hemólise. Esse método obteve 4,3% na taxa de hemólise em comparação com os 17% do tubo de vácuo BD. O índice de hemólise médio não foi ajustado (22,2 vs 40,1 mg/dL, $p < 0,001$). Os níveis de potássio (4,12 vs 4,41 mmol/L, $p < 0,001$) e Lactato desidrogenase (226,8 vs 267,0 U/L, $p < 0,001$) foram significativamente mais baixos na SMA em comparação com o BDV. As únicas variáveis no processo da análise foram o sexo, local de punção e tamanho das cânulas. Em valores representados nos gráficos, é possível diferenciar a crescente nos valores do BDV em comparação aos de SMA (Figura 8 A e B) (Omar et al., 2023).

Figura 8.A : Boxplots de níveis séricos de potássio e níveis de lactato desidrogenase de BD Vacutainer® (BDV) ou S-Monovette® (SMA).



Fonte: Omar *et al.*, 2023.

Figura 8.B : Boxplots de índice de hemólise de BD Vacutainer® (BDV) ou S- Monovette® (SMA).



Fonte: Omar *et al.*, 2023

DISCUSSÃO

Quanto ao questionário online CAP no artigo de Howanitz *et al.*, no ano de 2015, foi observado que os participantes tiveram mais preocupações com o potássio do que a glicose ou LDH. Os parâmetros estudados foram LDH, potássio e glicose, sendo que a concentração de LDH e potássio é, respectivamente, 160 vezes maior e 23 vezes maior nas hemácias que no soro. Laessig, em seus estudos, observou que a lise em 1% de hemácias resultava em 55% de potássio e 272% de LDH a mais. Porém, a falta desta observação resulta em erro na faixa de glicose em programas de calibração e verificação, como o CAP, justificado porque quando ocorre hemólise, vê-se que a glicose diminui em 5% nos testes.

A interferência se deu, pois os participantes se preocuparam mais em relação aos níveis de potássio que os de LDH e glicose, pela maior porcentagem de testes realizados. Logo, a rejeição de amostras hemolisadas foi de 85% de potássio, para 69% de LDH e glicose com 55%. Os participantes utilizaram somente uma marca de equipamento analítico, e cerca de 70% dos participantes não se atentaram a avaliar a afirmação de hemólise pelo equipamento. Aqueles que tentaram confirmar a hemólise, utilizaram como parâmetro o potássio.

Constatou-se que cada analito tem uma relação específica com a hemólise, e por isso, houve taxas de falhas no processamento. Por isso, apenas 30% dos participantes conseguiram desenvolver os estudos

pela confirmação de hemólise validada pelos fabricantes dos equipamentos, podendo, assim, fornecer dados para o desenvolvimento da pesquisa. Percebeu-se que, ao decorrer do questionário, 50% não rejeitavam as amostras hemolisadas, mas tinham dificuldades no manejo; 10% se preocupavam, mas não sabiam como manejar; 8% continuaram a tentativa, mas não surtia efeito, e 2% dos participantes desistiram.

Logo, a ação que obteve mais eficácia em termos de correção se deu por meio da solução de problemas rotineiros e a educação dos profissionais flebotomistas sobre as técnicas adequadas de coleta ou reciclagem de profissionais com baixo desempenho (Howanitz *et al.*, 2015).

No trabalho realizado por Tóth *et al.*, no ano de 2020, foi apontado que os indicadores de qualidade pré-analíticos são fundamentais para o manejo e avaliação para a continuação do processamento laboratorial. Tem como base a identificação de fatores que possam causar erros e interferências analíticas. Para os manejos de hemólise *in vitro*, o índice de qualidade teve como principais fatores de erros pré-analíticos as amostras de soro hemolisadas com 4,34%, sendo mais predominante a *in vitro* em recém-nascidos em comparação aos de hemólise intravascular ou àqueles fora desta faixa etária, com 46% do total. Entretanto, nos estudos de Howanitz *et al.*, no ano de 2015, a taxa de hemólise utilizando os indicadores foi de 3% em 71% dos 772 laboratórios estudados, indicando, assim, uma taxa inferior de significância. Já em 15% dos laboratórios, obtiveram-se 3-6% de amostras hemolisadas, sendo os maiores casos vindos de serviços emergenciais.

Somado a este último caso, os estudos de Heireman *et al.*, no ano de 2017, também demonstraram que a maior taxa de amostras hemolisadas advinham de prontos-socorros, com 10-30% de amostras interferidas. Para o resultado do estudo de Tóth *et al.*, os recém-nascidos obtiveram uma taxa mais alta de hemólise *in vitro* devido à complicada coleta de sangue em recém-nascidos prematuros em um centro intensivo pediátrico. Logo, destaca-se que é importante o monitoramento e avaliação dos profissionais de coleta (Tóth *et al.*, 2020).

Durante os testes no local de atendimento, realizado por O'hara; Wheatley; Kazmierczak, no ano de 2020, percebeu-se que a hemólise *in vitro* é um desafio rotineiro nos prontos socorros estudados. A justificativa é que, por exemplo, somente 40% das amostras de pacientes que tiveram níveis elevados de potássio foram identificadas com hemólise. Logo, o estudo confirmou que o POC revelava uma taxa significativa de falha, ao passo que se observava a presença de hipercalemia em amostras falsamente elevadas de potássio.

Em um estudo feito por Mirzazadeh *et al.*, no ano de 2015, foi afirmado que o POC possui

confiabilidade em relação aos testes de laboratórios convencionais. Porém, o estudo excluiu as medições de potássio elevadas e as amostras hemolisadas, revelando que, ainda, a hemólise é um problema persistente neste teste. Ademais, foi visto que os testes POC (Testes no local de atendimento) em comparação aos testes de laboratório tiveram amostras com faixas de erros pré-analíticos mais altas, pela aquisição e manuseio.

Logo, o estudo se baseou em 40 pacientes, em que 11 realizaram testes adicionais ou houve mudança de manejo. Porém, 6 dos 11 tiveram uma nova amostra coletada para exames adicionais devido à hipercalemia demonstrada no POC. Por fim, os 5 últimos tiveram o atendimento atrasado devido à mudança do manejo ou coleta pelo POC alterado por hipercalemia. Estes resultados relatam um perigo potencial para os pacientes em atendimento, principalmente aqueles que estão em pronto-socorro ou necessitam de atendimento urgente. Outrossim, é importante a ressalva de que a amostra hemolisada pode mascarar uma hipocalemia pelo resultado alterado de normocalemia. Logo, nota-se que é bastante provável que os pacientes com resultados POC de potássio normal tenham, na verdade, baixos níveis de potássio devido à alta incidência de hemólise *in vitro* estudada.

Por fim, o estudo revela a importância da padronização e técnicas mais elaboradas para o manejo de amostras vindas de instituições em que se realiza o POC, e, além disso, revela que a hemólise *in vitro* é capaz de impactar não somente os testes realizados, mas também a eficiência da instituição e gestão do atendimento dos pacientes, principalmente aqueles emergenciais (O'hara; Wheatley; Kazmierczak, 2020).

Tratando-se dos testes convencionais de geração de trombina (CAT), no artigo publicado por Salvagno *et al.*, no ano de 2019, nota-se que sua aplicação na prática clínica é interferida por uma série de fatores negativos, como a fraca padronização analítica, necessidade de profissionais treinados e o baixo rendimento de análises manuais. Para isso, foi criado e utilizado o ST-Genesia que permite a avaliação de trombina a partir de um ambiente automático e padronizado. O estudo retratou que a relação de anemia hemolítica com o risco de trombose está amplamente ligada, visto que estas anemias, em sua maioria, estão associadas a estados pró- trombóticos, ocasionando uma maior probabilidade de causar complicações trombóticas.

A justificativa se dá pela exposição anormal de fosfatidilserina (fosfolípido que aumenta a formação e multiplicação de coágulos), na superfície das hemácias, além da eliminação agentes antitrombóticos, como o óxido nítrico, por grupos heme, e também, pela formação de grupos pró- trombóticos por micropartículas com fator tecidual e fosfolípidos vindos da lise de hemácias, leucócitos

ou plaquetas. Logo, os resultados do estudo apontam que o pico e quantidade total de trombina são aumentados no plasma hemolisado, levando a sugestão que os eventos gerados pela hemólise no organismo podem contribuir para a geração de coagulação massiva em pacientes com diagnóstico de anemia hemolítica (Salvagno *et al.*, 2019).

Omar *et al.*, no ano de 2023, realizou uma pesquisa que apontou que o sistema S- Monovette é claramente eficaz na redução de hemólise sanguínea se comparado ao sistema BD Vacutainer SST II, pois o SMV reduz quase que pela metade o índice de hemólise média. Um estudo realizado em um pronto-socorro na Itália apontou uma redução acentuada da hemólise nas amostras assim que substituíram o sistema de coleta pelo sistema SMV, gerando uma taxa de redução de 29% para 2% de casos. Outro caso, foi um estudo realizado por meio do sistema “EPiQ”, em um pronto socorro na Suíça, com 4.794 pacientes, resultou na redução de 17% para 4,3% após a introdução do sistema SMV em substituição ao sistema BD. Constatou-se, também, durante a pesquisa de Omar et al., uma anulação de casos de hemólise grave nas amostras com o uso do SMV em comparação ao BD (16,2%) para SMV (0%). A recomendação apresentada baseia-se no uso de aspiração controlada em vez de tubos com uso de vácuo, além disso, dita que o uso promissor do sistema S-Monovette no modo aspiração, na rotina laboratorial, tem capacidade de melhorar as práticas de coleta sanguínea e reduzir a hemólise em toda a fase analítica, principalmente a fase pré-analítica (Omar *et al.*, 2023).

CONCLUSÃO

Foram verificados nesta revisão bibliográfica instrumentos e métodos para minimizar e auxiliar no manejo laboratorial de amostras hemolisadas, o qual continua sendo um desafio para o campo laboratorial. A hemólise interfere no processamento da amostra uma vez que mascara a verificação de séries vermelhas, como a hemoglobina e contagem total de eritrócitos, além de intervir em análises bioquímicas, como a dosagem de potássio, glicose e triglicerídeos. Ademais, a hemólise de origem *in vitro* interfere na correta identificação de patologias ou anormalidades biológicas derivadas de fatores hemolíticos *in vivo*, que conferem gravidade à vida do paciente.

Com base nas informações e dados apresentados neste trabalho, conclui-se que os estudos e ensaios clínicos demonstraram resultados positivos para o processo analítico das amostras laboratoriais como método auxiliar. A justificativa se dá com base nos resultados junto a taxa de sensibilidade e eficácia

apresentados nos estudos. Notou-se, pois, que os objetivos do trabalho foram alcançados à medida que identificou-se rendimentos positivos e favoráveis para a continuação de novos experimentos em busca da correção do problema apresentado.

Apesar dos desafios, instrumentos e métodos têm sido pesquisados e apontados como favoráveis para o auxílio de novas abordagens diagnósticas quanto a diferenciação entre as hemólises e a descomplexificação do processamento analítico, auxiliando, também, no diagnóstico preciso de patologias clínicas hemolíticas. Por fim, aponta-se que a capacitação profissional para a correta identificação e manejo deve ser priorizada nos processos analíticos e pré-analíticos, a fim de minimizar as recorrências de amostras hemolisadas por falhas durante o processo de coleta, transferência, e sua respectiva análise.

REFERÊNCIAS

Atay, A. *et al.* Clinical biochemistry laboratory rejection rates due to varioustypes of preanalytical errors. **Biochemia Medica**, [S. l.], v. 24, n. 3, p. 376–382, 2014. DOI: <https://doi.org/10.11613/BM.2014.040>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4210258/>.

Bastos, M. D. S. *et al.* Avaliação do grau de hemólise e sua interferência em análises bioquímicas de amostras obtidas por diferentes técnicas de coleta de sangue venoso. [S. l.: s. n.], 2010 Disponível em: http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/mostras/quin_mostra/marina_souza_bastos.

Becher, L. A. A.; Verzeletti, F. B. Influência do tempo na determinação de glicose sanguínea. **Cadernos da Escola de Saúde**, v. 2, n. 12, 10 mar. 2017. Disponível em: <https://portaldeperiodicos.unibrasil.com.br/index.php/cadernossaude/article/view/2422>.

Barros, G. A. B. *et al.* Interferência da hemólise para a análise do hemograma. **Revista de Ciências da Saúde - REVIVA**, [s. l.], v. 2, n. 1, 2023. Disponível em: <https://revistas.uceff.edu.br/reviva/article/view/327>. Acesso em: 6 set. 2024.

Carraro, P.; Plebani, M. Errors in a Stat Laboratory: Types and Frequencies 10 Years Later. **Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 53, n. 7, p. 1338–1342, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.088344>.

"Editorial" **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, vol. 24, no. 2, 1986, pp. 125-126. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/cclm.1986.24.2.125>.

Machado, L. S. B. *et al.* Aspectos bioquímicos e hematológicos da anemia falciforme. **Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 79– 88, 2021. DOI: <https://doi.org/10.29184/1980-7813.rcfmc.499.vol.16.n2.2021>. Acesso em: 14 fev. 2022.

Freitas, V. *et al.* Interferência da hemólise nas análises bioquímicas. [s.l.: s.n.]. Disponível em: https://guri.unipampa.edu.br/uploads/evt/arq_trabalhos/18228/seer_18228.pdf.

Galdino de Sousa, R. J.; De Souza Frota, S.; Galdino de Sousa, R. O impacto da fase pré- analítica nos exames laboratoriais. [s. l.], 2021.

Gidske, G. *et al.* Handling of hemolyzed serum samples in clinical chemistry laboratories: the Nordic hemolysis project. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, [S. l.], v. 57, n. 11, p. 1699–1711, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0366>.

Hawkins, R. Variability in Potassium/Hemoglobin Ratios for Hemolysis Correction. **Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 48, n. 5, p. 796–796, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/clinchem/48.5.796>.

Heireman, L. *et al.* Causes, consequences and management of sample hemolysis in the clinical laboratory. **Clinical biochemistry**, United States. v. 50, n. 18, p. 1317–1322, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28947321>.

Howanitz, P. J. *et al.* Practices for Identifying and Rejecting Hemolyzed Specimens Are Highly Variable in Clinical Laboratories. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, [S. l.], v. 139, n. 8, p. 1014–1019, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5858/arpa.2014-0161-cp>.

Lippi, G. *et al.* Preanalytical challenges – time for solutions. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, [S. l.], v. 57, n. 7, p. 974– 981, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-1334>.

Lippi, G. *et al.* Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 46, n. 6, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/CCLM.2008.170>.

Lippi, G. *et al.* Multicenter evaluation of the hemolysis index in automated clinical chemistry systems. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 47, n. 8, 2009. Disponível em: Acesso em: 31 dez. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/CCLM.2009.218>.

Lippi, G.; Montagnana, M.; Giavarina, D. National survey on the pre-analytical variability in a

representative cohort of Italian laboratories. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, [s. l.], v. 44, n. 12, 2006. Disponível em: Acesso em: 12 ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/CCLM.2006.274>.

Lippi, G. *et al.* Blood sample quality. **Diagnosis**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 25–31, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/dx-2018-0018>.

Martins, A. C. A. *et al.* Evaluation of the Results of Samples With Different Degrees of Hemolysis in Cholesterol Assays. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 7, n. 8, p. 79734–79747, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n8-267>.

Mirzazadeh, M. *et al.* Point-of-care testing of electrolytes and calcium using blood gas analysers: it is time we trusted the results. **Emergency Medicine Journal**, [S. l.], v. 33, n. 3, p. 181–186, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1136/emmermed-2015-204669>. Disponível em: <https://emj.bmj.com/content/33/3/181>. Acesso em: 15 dez. 2019.

Munnix, I. C. A. *et al.* Factors reducing hemolysis rates in blood samples from the emergency department. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 49, n. 1, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/CCLM.2011.012>.

Nikolac, N.; Lenicek Krleza, J.; Simundic, A.-M. Preanalytical external quality assessment of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine and CROQALM: finding undetected weak spots. **Biochemia Medica**, [s. l.], p. 131–143, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.11613/BM.2017.017>. Acesso em: 6 fev. 2020.

O'hara, M.; Wheatley, E. G.; Kazmierczak, S. C. The Impact of Undetected In Vitro Hemolysis or Sample Contamination on Patient Care and Outcomes in Point-of-Care Testing: A Retrospective Study. **The journal of applied laboratory medicine**, [S. l.], v. 5, n. 2, p. 332–341, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1093/jalm/jfz020>. Acesso em: 8 jun. 2024.

Oliveira, R. G. A. M.; Silva, G. A. F. Os principais erros da fase pré-analítica de exames laboratoriais. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [S. l.], v. 54, n. 1, p. 16–25, 2022. DOI: <https://doi.org/10.21877/2448-3877.202202089>.

Omar, E. *et al.* Reducing blood sample hemolysis in the emergency department using S- Monovette® in aspiration mode. **Practical Laboratory Medicine**, [S. l.], v. 35, n. e00315, p. e00315–e00315, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plabm.2023.e00315>.

Robbiano, C. *et al.* Impact of managing affected results in haemolysed samples of an infant- maternity hospital using an unconventional approach. **Clinical Biochemistry**, [S. l.], v. 95, p. 49–53, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2021.05.013>.

Salvagno, G. L. *et al.* Influence of hypertriglyceridemia, hyperbilirubinemia and hemolysis on thrombin

generation in human plasma. **Clinical chemistry and laboratory medicine**, [S. l.], v. 57, n. 11, p. 1784–1789, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0135>.

Acesso em: 8 jun. 2024.

Scaramele, N. F.; *et al.* Alterações de perfis bioquímicos induzidos pela hemólise in vitro em humanos: Revisão de literatura. **UNIVERSITAS - Revista Científica do UniSALESIANO de Araçatuba**, v. 9, p. 32-43. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n8-267>. Acesso em: 6 set. 2024.

Simundic, A.M. *et al.* The prevalence of preanalytical errors in a Croatian ISO 15189 accredited laboratory. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 48, n. 7, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/CCLM.2010.221>.

Smith, M. B. **Hemolysis, Icterus, and Lipemia/turbidity Indices as Indicators of Inference in Clinical Laboratory Analysis**. [S. l.: s. n.] 2012. Disponível em: https://clsi.org/media/2531/c56ae_sample.pdf.

Sousa, A. C. N.; Rodrigues Junior, O. M. Principais erros na fase pré-analítica de exames laboratoriais: uma revisão bibliográfica integrativa. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 10, n. 15, p. e261101523662, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i15.23662>. Acesso em: 14 abr. 2022.

Sousa, R. L. *et al.* Erros préanalíticos em laboratórios de análises clínicas: uma revisão / Pre- analytical errors in clinical analysis laboratories: a review. **Brazilian Journal of Health Review**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 9132– 9142, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34119/bjhrv4n2-416>.

Souza, J. S; Bach, S. L. Interferência de amostras hemolisadas em análises bioquímicas. **Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde**, n. 33, maio-ago. 2022. Disponível em: https://guri.unipampa.edu.br/uploads/evt/arq_trabalhos/18228/seer_18228.pdf.

Tóth, J. *et al.* Detection of haemolysis, a frequent preanalytical problem in the serum of newborns and adults. **EJIFCC**, Italy, v. 31, n. 1, p. 6–14, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PC7109500/>.

Verhelst, J. *et al.* Calculation of half-life of carcinoembryonic antigen after lung tumour resection: a case report. **Eur Respir J**. 1991 Mar;4(3):374-6. PMID: 1650709. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1650709/>.

Vermeer, H. J. Automated Processing of Serum Indices Used for Interference Detection by the Laboratory Information System. **Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 244–247, 2004. Disponível em: <http://clinchem.aaccjnls.org/content/51/1/244>. Acesso em: 8 set. 2019.

Withold, W.; *et al.* Monitoring of Bone Metabolism after Bone Marrow Transplantation by Measuring Two Different Markers of Bone Turnover. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**,

vol. 34, no. 3, 1996, pp. 193-198. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/cclm.1996.34.3.193>.