

## Correção da interferência dos triglicerídeos na dosagem da hemoglobina e na determinação dos índices hematimétricos

### Correction of the interference of the triglycerides in the dosage of hemoglobin and hematimetric indexes

Denilson A. VIEIRA<sup>1</sup>  
Raimundo A. G. OLIVEIRA<sup>1\*</sup>  
Maria do Socorro G. OLIVEIRA<sup>1</sup>  
Orlando C. de O. BARRETTO<sup>2</sup>

RIALA6/916

Vieira, D. A. et al Correção da interferência dos triglicerídeos na dosagem da hemoglobina e na determinação dos índices hematimétricos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 61(1):39-43, 2002

**RESUMO.** A interferência dos triglicerídeos plasmáticos sobre a determinação da hemoglobina foi observada em dosagens acima de 800 mg/dl, provavelmente devido ao aumento da turbidez. Este efeito espúrio leva a falsos resultados no cálculo da HCM e da CHCM. A substituição do plasma lipêmico por solução salina corrige os resultados superestimados da hemoglobina, bem como permite obter resultados mais exatos no cálculo da HCM e da CHCM.

**PALAVRAS-CHAVE.** Hemoglobina; Triglicerídeos plasmáticos; HCM; CHCM

#### INTRODUÇÃO

A hemoglobina é a determinação por excelência do eritrograma<sup>5</sup>. É ela que define um estado anêmico.

Quando uma determinada substância pode ser transformada em outra solúvel e corável, é possível determinar sua concentração, medindo-se a quantidade de energia absorvida pela solução<sup>2</sup>. O Comitê Internacional de Padronização em Hematologia (ICSH)<sup>7</sup> recomenda como padrão de referência para dosagem de hemoglobina, o método da cianometahemoglobina<sup>6</sup>. Neste procedimento a hemoglobina é convertida a

cianometahemoglobina (hemoglobincianeto), um pigmento de cor avermelhada que pode ser determinado espectrofotometricamente.

A fotometria baseia-se na lei de Lambert-Beer, segundo a qual a absorção de luz (densidade óptica) de uma determinada solução é diretamente proporcional à concentração do soluto (substância da solução que se estuda)<sup>2</sup>. Assim, por exemplo, o efeito da turvação produzida por outras substâncias como lípidos, proteínas plasmáticas, excesso de leucócitos ou a presença de eritrócitos não lisados podem alterar a absorção de luz e falsear o resultado da dosagem espectrofotométrica de uma determinada substância no sangue<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Federal do Maranhão

<sup>2</sup> LIM 23 - Instituto de Psiquiatria, Hospital das Clínicas da FM-USP

\* Endereço para correspondência: e-mail: rago@usp.br

Erros na determinação da hemoglobina são em sua maioria, devido a turvação produzida por um elevado número de leucócitos ou por lipídeos no plasma<sup>9</sup>. A hiperlipidemia pode ser em decorrência de fatores endógenos ou devido a nutrição parenteral<sup>8</sup>.

Apesar de criados desde 1953 por Wintrobe, mesmo nos dias atuais, a exceção dos contadores automáticos H1, H2 e H3 (Technicon-Bayer)<sup>11,12</sup> e ADVIA-120 (Bayer)<sup>10</sup>, as determinações da Hemoglobina corpuscular média (HCM) e Concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) do eritrograma ainda são feitas através de cálculos matemáticos, onde  $HCM = Hb \text{ (g/dL)} \times 10 / N^{\circ} \text{ Erit. (Milhões/mL)}$  e  $CHCM = Hb \text{ (g/dL)} \times 100 / Ht \text{ (\%)}$ .

Uma vez que dependem do valor da hemoglobina (Hb), a HCM e CHCM obtidas a partir de valores inexatos de Hb, além de trazerem valores improváveis dos índices hematimétricos, que não traduzam o perfil eritrocitário do paciente, podem levar a incorreta interpretação do seu estado anêmico.

Deste modo, nosso trabalho se propôs a determinar o grau de interferência dos triglicérides na dosagem de hemoglobina, estabelecer uma metodologia prática para correção de resultados nas amostras com hipertrigliceridemia, bem como verificar a validade da utilização da CHCM direta por laser do contador hematológico ADVIA-120 (Bayer) como metodologia para obtenção indireta da hemoglobina (a partir da inversão da fórmula matemática proposta por Wintrobe:  $Hb \text{ (g/dL)} = CHCM \times Ht / 100$ ) nestes contadores automáticos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Casuística

Foram analisadas 34 amostras de sangue periférico, coletadas através de punção venosa, em tubos vacutainer contendo K<sub>3</sub>EDTA como anticoagulante, de pacientes internos do Hospital Universitário Presidente Dutra (HUPD) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

As amostras selecionadas foram separadas em 4 grupos (tabela 1), de acordo com seus níveis de triglicérides obtidos previamente pelo instrumento ALCION-300, utilizado na seção de bioquímica do laboratório do HUPD.

**Tabela 1.** Grupos de amostras

| Grupos | Taxa de triglicérides |
|--------|-----------------------|
| A      | 30 a 170 mg/dL        |
| B      | 171 a 400 mg/dL       |
| C      | 401 a 800 mg/dL       |
| D      | Acima de 801 mg/dL    |

### 2. Metodologia

Após a separação das amostras conforme a quantidade de triglicérides (tabela 1), as dosagens de hemoglobina foram analisadas pelos seguintes protocolos:

**Protocolo 1 - Determinação da hemoglobina “não corrigida” (pré-correção):** As dosagens da hemoglobina das amostras “in natura” foram realizadas no contador automático ADVIA-120 e pelo método da cianometahemoglobina<sup>6</sup> no espectrofotômetro CELM 205-D.

**Protocolo 2 - Determinação da hemoglobina sem plasma lipêmico (pós-correção):** Após a substituição do volume plasmático por quantidade exatamente igual de solução fisiológica (0,85% de NaCl), as amostras “descontaminadas” dos triglicérides tiveram suas concentrações de hemoglobina determinadas no contador ADVIA-120 e pelo método da cianometahemoglobina<sup>6</sup> no espectrofotômetro CELM 205-D.

**Protocolo 3 - Determinação indireta da hemoglobina através da CHCM emitida pelo contador ADVIA-120:** As amostras cujos resultados da dosagem de hemoglobina (pré e pós-correção) foram significativamente divergentes, também tiveram seus valores de Hb corrigido pelos resultados da CHCM do laser (obtida no ADVIA-120) através da inversão da fórmula  $CHCM = Hb \times 100 / Ht$

Todas as amostras tiveram suas determinações em triplicata para cada um dos métodos utilizados, independentemente do protocolo.

## RESULTADOS

Os resultados estão dispostos às tabelas 2 a 10. Os valores apresentados nas tabelas 2 a 9 referem-se à dosagem de hemoglobina pré-corrigida (protocolo 1) e pós-corrigida (sem plasma lipêmico – protocolo 2), determinadas no contador hematológico ADVIA-120 (tabelas 2 a 5) e no espectrofotômetro CELM 205-D (tabelas 6 a 9) após substituição do plasma lipêmico por solução fisiológica. Os valores dispostos na tabela 10 referem-se às amostras do grupo D que também tiveram seu valor de hemoglobina determinado de modo indireto pelo resultado da CHCM obtida do laser pelo contador ADVIA-120 (protocolo 3).

**Tabela 2:** Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo A no contador ADVIA-120.

| Triglicérides<br>mg/dL | Hb<br>Pré-correção | Hb<br>Pós-correção | Varição<br>g/dL | Varição<br>% |
|------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| 68                     | 12,1               | 12,1               | 0               | 0            |
| 69                     | 11,5               | 11,5               | 0               | 0            |
| 70                     | 11,7               | 11,7               | 0               | 0            |
| 71                     | 11,6               | 11,6               | 0               | 0            |
| 74                     | 12,6               | 12,6               | 0               | 0            |
| 87                     | 14,3               | 14,3               | 0               | 0            |
| 103                    | 13,0               | 13,0               | 0               | 0            |
| 116                    | 11,8               | 11,8               | 0               | 0            |
| 131                    | 11,5               | 11,5               | 0               | 0            |
| 153                    | 11,0               | 11,0               | 0               | 0            |

**Tabela 3:** Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo B no contador ADVIA-120.

| Triglicérides<br>mg/dL | Hb<br>Pré-correção | Hb<br>Pós-correção | Varição<br>g/dL | Varição<br>% |
|------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| 200                    | 12,6               | 12,5               | 0,1             | 0,8          |
| 210                    | 11,9               | 11,8               | 0,1             | 0,8          |
| 212                    | 12,2               | 12,0               | 0,2             | 1,6          |
| 250                    | 9,0                | 8,8                | 0,2             | 2,2          |
| 279                    | 12,1               | 11,9               | 0,2             | 1,6          |
| 293                    | 10,2               | 10,0               | 0,2             | 1,9          |
| 301                    | 11,3               | 11,1               | 0,2             | 1,7          |
| 319                    | 10,4               | 10,2               | 0,2             | 1,9          |
| 363                    | 10,2               | 9,9                | 0,3             | 2,9          |
| 380                    | 13,4               | 13,1               | 0,3             | 2,2          |

**Tabela 4:** Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo C no contador ADVIA-120.

| Triglicérides<br>mg/dL | Hb<br>Pré-correção | Hb<br>Pós-correção | Varição<br>g/dL | Varição<br>% |
|------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| 405                    | 12,9               | 12,5               | 0,4             | 3,1          |
| 481                    | 13,8               | 13,4               | 0,4             | 2,9          |
| 488                    | 12,7               | 12,3               | 0,4             | 3,1          |
| 496                    | 13,7               | 13,3               | 0,4             | 2,9          |
| 499                    | 12,2               | 11,8               | 0,4             | 3,2          |
| 509                    | 10,8               | 10,3               | 0,5             | 4,6          |
| 519                    | 13,8               | 13,3               | 0,5             | 3,6          |
| 526                    | 9,3                | 8,8                | 0,5             | 5,3          |
| 550                    | 12,1               | 11,5               | 0,6             | 4,9          |
| 605                    | 13,0               | 12,3               | 0,7             | 4,6          |

**Tabela 5:** Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo D no contador ADVIA-120.

| Triglicérides<br>mg/dL | Hb<br>Pré-correção | Hb<br>Pós-correção | Varição<br>g/dL | Varição<br>% |
|------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| 807                    | 9,9                | 9,1                | 0,8             | 8,0          |
| 821                    | 11,4               | 10,5               | 0,9             | 7,9          |
| 824                    | 10,3               | 9,4                | 0,9             | 8,7          |
| 832                    | 13,2               | 12,3               | 0,9             | 6,8          |

**Tabela 6:** Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo A no espectrofotômetro CELM 205-D.

| Triglicérides<br>mg/dL | Hb<br>Pré-correção | Hb<br>Pós-correção | Varição<br>g/dL | Varição<br>% |
|------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| 68                     | 12,0               | 12,0               | 0               | 0            |
| 69                     | 11,6               | 11,6               | 0               | 0            |
| 70                     | 11,7               | 11,7               | 0               | 0            |
| 71                     | 11,4               | 11,4               | 0               | 0            |
| 74                     | 12,3               | 12,3               | 0               | 0            |
| 87                     | 14,4               | 14,4               | 0               | 0            |
| 103                    | 13,0               | 13,0               | 0               | 0            |
| 116                    | 11,6               | 11,6               | 0               | 0            |
| 131                    | 11,7               | 11,7               | 0               | 0            |
| 153                    | 10,9               | 10,9               | 0               | 0            |

**Tabela 7:** Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo B no espectrofotômetro CELM 205-D.

| Triglicérides<br>mg/dL | Hb<br>Pré-correção | Hb<br>Pós-correção | Varição<br>g/dL | Varição<br>% |
|------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| 200                    | 12,4               | 12,2               | 0,2             | 1,6          |
| 210                    | 11,5               | 11,3               | 0,2             | 1,7          |
| 212                    | 12,2               | 12,0               | 0,2             | 1,6          |
| 250                    | 8,8                | 8,6                | 0,2             | 2,2          |
| 279                    | 11,8               | 11,6               | 0,2             | 1,7          |
| 293                    | 10,0               | 9,8                | 0,2             | 2,0          |
| 301                    | 11,1               | 10,9               | 0,2             | 1,8          |
| 319                    | 10,2               | 10,0               | 0,2             | 1,9          |
| 363                    | 10,0               | 9,7                | 0,3             | 3,0          |
| 380                    | 13,3               | 13,0               | 0,3             | 2,2          |

**Tabela 8:** Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo C no espectrofotômetro CELM 205-D.

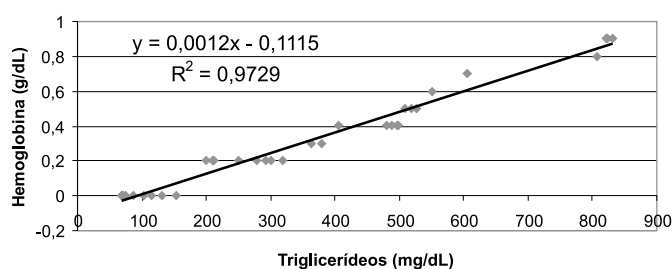
| Triglicérides<br>mg/dL | Hb<br>Pré-correção | Hb<br>Pós-correção | Varição<br>g/dL | Varição<br>% |
|------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| 405                    | 12,7               | 12,3               | 0,4             | 3,1          |
| 481                    | 13,6               | 13,2               | 0,4             | 2,9          |
| 488                    | 12,6               | 12,2               | 0,4             | 3,1          |
| 496                    | 13,5               | 13,1               | 0,4             | 2,9          |
| 499                    | 12,1               | 11,7               | 0,4             | 3,3          |
| 509                    | 10,6               | 10,1               | 0,5             | 4,7          |
| 519                    | 13,7               | 13,2               | 0,5             | 3,6          |
| 526                    | 9,6                | 9,1                | 0,5             | 5,2          |
| 550                    | 12,0               | 11,4               | 0,6             | 5,0          |
| 605                    | 13,2               | 12,5               | 0,7             | 5,3          |

**Tabela 9:** Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo D no espectrofotômetro CELM 205-D.

| Triglicérides<br>mg/dL | Hb<br>Pré-correção | Hb<br>Pós-correção | Varição<br>g/dL | Varição<br>% |
|------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| 807                    | 9,6                | 8,8                | 0,8             | 8,3          |
| 821                    | 11,5               | 10,6               | 0,9             | 7,8          |
| 824                    | 10,0               | 9,1                | 0,9             | 9,0          |
| 832                    | 13,0               | 12,1               | 0,9             | 6,9          |

**Tabela 10:** Dosagem de hemoglobina (Hb) das amostras do grupo D no ADVIA-120. Correção indireta pela CHCM do laser.

| Triglicérides<br>mg/dL | Hb<br>Pré-correção | Hb<br>Pós-correção | Varição<br>g/dL | Varição<br>% |
|------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| 807                    | 9,6                | 8,9                | 0,7             | 7,2          |
| 821                    | 11,5               | 10,8               | 0,7             | 6,0          |
| 824                    | 10,0               | 9,2                | 0,8             | 8,0          |
| 832                    | 13,0               | 12,5               | 0,5             | 5,4          |



**Figura 1.** Curva de tendência central entre o nível de triglicérides (mg/dL) e o aumento espúrio da concentração da hemoglobina (g/dL). Equação da reta (Y) e correlação ( $R^2$ ). Dados obtidos pelo contador ADVIA-120 (Bayer).

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para as amostras do grupo A (tabelas 2 e 6) demonstraram não haver qualquer interferência dos triglicérides, quando em níveis normais, na determinação da hemoglobina. No grupo B (tabelas 3 e 7), cujas amostras apresentavam valores de triglicérides na faixa de 170 a 400 mg/dL, observou-se uma variação correspondente de 0,8 a 3,0% no resultado final da dosagem de hemoglobina. Apesar de bem mais evidente, as variações da Hb pré e pós-correção para as amostras do grupo C (triglicérides entre 400 e 800 mg/dL) (tabelas 4 e 8) chegam a limites ainda toleráveis, uma vez que o erro relativo à imprecisão da técnica espectrofotométrica manual utilizada chegam a valores, em geral, de até 5% do valor total da hemoglobina dosada.

No grupo D (tabelas 5 e 9) cujos pacientes apresentavam taxas de triglicérides acima de 800 mg/dL, entretanto, constata-se uma interferência mais significativa, com variação de 6,8 a 9,0 % nas dosagens de hemoglobina pré e pós-correção, o que excede o limite erro de 5% pertinente à

própria dosagem estabelecida pelo ICSH e o que poderia comprometer o perfil eritrocítico do paciente.

Os dados referentes a utilização dos resultados da CHCM direta por laser (protocolo 3) como forma de correção das dosagens de hemoglobina nas amostras do grupo D (tabela 10), demonstraram resultados similares àqueles utilizando troca de plasma lipêmico por solução fisiológica (protocolo 2). Assim, sem prejuízos para a qualidade dos resultados do hemograma, esta alternativa também pode ser utilizada como meio rápido e seguro na determinação mais exata da dosagem de hemoglobina em pacientes com hipertrigliceridemia.

Dados da literatura indicam que amostras contendo valores de triglicérides acima de 1.000 mg/dL, mascaram significativamente a obtenção de um valor exato da concentração de hemoglobina da amostra. Nossos resultados apresentam-se compatíveis com aqueles descritos por Nosanchuk<sup>9</sup>, mostrando uma variação direta e progressiva ( $R^2 = 0,973$ , fig 1) de acordo com os valores de triglicérides da amostra, sendo digno de correção a partir de valores da ordem de 800 mg/dL.

De acordo com Nicholls<sup>8</sup>, o aumento gradativo da interferência na dosagem de hemoglobina deve levar em conta, além da quantidade, o tipo de lipídemia (tipo I, II, III, IV e V). Utilizando num mesmo estudo amostras com outras alterações, que não apenas a de triglicérides (usou pacientes com hipercolesterolemia) Nicholls<sup>8</sup> demonstrou não haver proporcionalidade entre a quantidade indistinta de lipídes e o erro na dosagem de hemoglobina.

Assim, nossa pesquisa evidencia que o excesso de triglicérides interferem na determinação da concentração de hemoglobina, caso não haja eliminação desse tipo de hiperlipídemia do plasma. Valores acima de 800 mg/dL elevam de modo significativo as dosagens de hemoglobina e podem ser corrigidos pela troca de plasma lipêmico por solução fisiológica ou através da utilização da CHCM direta por laser para laboratórios que se utilizem de aparelhos da linha Bayer.

RIALA6/916

Vieira, D. A. et al Correction of the interference of the triglycerides in the dosage of hemoglobin and hematimetric indexes. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 61(1):39-43, 2002

**ABSTRACT.** Plasma triglycerides interference on spectrophotometric hemoglobin determination was observed in blood samples with more than 800mg/dl, probably due to the turbidity increase. This spurious effect leads to false results in MCM and MCHC determination. Substituting saline solution for the lipaemic plasma corrects the overestimated hemoglobin determination as well as affording more accurate MCH and MCHC values.

**KEY WORDS.** Hemoglobin; plasma triglycerides; MCH; MCHC

### REFERÊNCIAS

1. Bain, B.J. **Células Sanguíneas: Um guia prático**. 2.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997.
2. Brow, B.A. **Técnicas de Laboratório em Hematologia**. Barcelona (Espanha): ELICEIN ISBN 0-8121-0397-1. Edición original publicada por LEA & FEBIGER (Filadélfia), 1976.
3. Failace, R. **Hemograma: manual e interpretação**. 3 ed. Porto Alegre, Artes médicas, 1995. 197p.
4. International Committee for Standardization in Haematology. **Br J Haematol**. 13 (Suppl): 68, 1967.
5. International Committee for Standardization in Haematology. Recommendations for reference method for hemoglobinometry in human blood (ICSH Standard EP 6/1: 1977) and specifications for International Haemoglobinocyanide reference preparation (ICSH Standard, EP 6/3: 1977) **J Clin Pathol**. 31: 139-43, 1978.
6. Nicholls, P.D. The erroneous haemoglobin – hyperlipidaemia relationship. **J. Clin. Pathol.**, 30: 368,-40, 1977.
7. Nosanchuk, J.S.; Roark, M.F.; Wanser, C. Anemia masked by triglyceridemia. **Am. J. Clin Pathol**. 62: 828-9, 1974.
8. Stanworth, S.J. et al. Automated counting of platelets on the Bayer ADVIA™-120 analyser. **Clin. Lab. Haematol**. 21: 113-117, 1999.
9. Technicon H1 System – Software digest. New York, 1985.
10. Technicon H1 Information Bulletin, mar., 1986. 34p.

Recebido em 11/03/2002; Aprovado em 02/09/2002