



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

ANA JÚLIA PEREIRA DE MELO

**ESTUDO RETROSPECTIVO DE HEMÓLISE E LIPEMIA NAS DOSAGENS DE
CREATININA DE CÃES QUE REALIZARAM EXAME PRÉ-CIRÚRGICO**

REALEZA

2023

ANA JÚLIA PEREIRA DE MELO

**ESTUDO RETROSPECTIVO DE HEMÓLISE E LIPEMIA NAS DOSAGENS DE
CREATININA DE CÃES QUE REALIZARAM EXAME PRÉ-CIRÚRGICO**

Trabalho de conclusão do curso de graduação
apresentado como requisito parcial para obtenção de
grau de Bacharel em Medicina Veterinária da
Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora(a): Profª Drª Luciana Pereira Machado

REALEZA

2023

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Melo, Ana Júlia Pereira de
ESTUDO RETROSPECTIVO DE HEMÓLISE E LIPEMIA NAS
DOSAGENS DE CREATININA DE CÃES QUE REALIZARAM EXAME
PRÉ-CIRÚRGICO / Ana Júlia Pereira de Melo. -- 2023.
30 f.:il.

Orientadora: Doutora Médica Veterinária Luciana
Pereira Machado

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina Veterinária, Realeza, PR, 2023.

1. Interferentes. 2. Biomarcadores. 3. Função renal.
I. Machado, Luciana Pereira, orient. II. Universidade
Federal da Fronteira Sul. III. Título.

ANA JÚLIA PEREIRA DE MELO

**ESTUDO RETROSPECTIVO DE HEMÓLISE E LIPEMIA NAS DOSAGENS DE
CREATININA DE CÃES QUE REALIZARAM EXAME PRÉ-CIRÚRGICO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito parcial para
obtenção de grau de Bacharel em Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira
Sul.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Luciana Pereira Machado

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 16/10/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Luciana Pereira Machado - UFFS

Orientadora

Farmac. Mestre Daniel Scapin – UFFS

Avaliador

Prof^ª. Dra. Denise Maria Sousa de Mello – UFFS

Avaliadora

*“Eu sou a continuação de um sonho
Da minha mãe do meu pai
De todos que vieram antes de mim
Eu sou a continuação de um sonho
Da minha vó, do meu vô
Quem sangrou pra gente poder sorrir”*

BK' e JXNV\$

RESUMO

O rim é responsável pela excreção de produtos do metabolismo, como a creatinina, que atua como indicador da função renal de cães, sendo considerado um biomarcador. Porém, fatores pré-analíticos podem levar à presença de interferentes, como hemólise e lipemia, e podem comprometer o resultado dos exames laboratoriais e prejudicar a confiabilidade desse biomarcador. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de interferentes relacionados ao aspecto do soro na dosagem de creatinina. A pesquisa foi conduzida de modo retrospectivo pela seleção dos resultados laboratoriais de creatinina sérica de cães clinicamente saudáveis, encaminhados para exames pré-cirúrgicos, de animais atendidos na Superintendência Unidade Hospitalar Veterinária Universitária (SUHVU), no período de 2020 a 2022. Para a realização das análises bioquímicas de creatinina foi utilizada metodologia cinética com o *kit* comercial e analisador bioquímico automático. Pelo aspecto do soro informado no laudo, os animais foram classificados em três grupos distintos, sendo eles: controle (GC) - amostras de aspecto normal, hemólise (GH) e lipemia (GL). Os dois últimos grupos foram subclassificados em amostra discreta, moderada e intensa. Foram analisadas amostras de 194 cães, destas 113 amostras sem alterações, 69 amostras hemolisadas (43 discretas, 15 moderadas, 13 intensas) e 12 amostras lipêmicas (6 discretas e 6 moderadas). Nenhuma amostra apresentava aspecto icterico, por esse motivo não foi avaliado esse interferente. Foi realizada a análise de variância (ANOVA) para variáveis paramétricas e *Kruskal-Wallis* para variáveis não-paramétricas, considerando significativo quando ($p < 0,05$). Os resultados da concentração de creatinina (mg/dL) em mediana e percentis (P_{25} - P_{75}) foram: GC = 1,07 (0,9 - 1,2); GH= 1,08 (1,0-1,2) e GL=1,21 (1,07-1,2). Não observou-se diferença significativa em nenhum dos grupos, no entanto, em cinco cães a creatinina estava acima dos valores de referência para a espécie. Destes, uma amostra com hemólise intensa e creatinina de 2,59 mg/dL, duas com hemólise moderada e creatinina de 1,76 mg/dL em ambas, e ainda, no grupo de controle, dois animais apresentaram creatinina de 1,69 mg/dL e 1,97 mg/dL. O estudo demonstrou que com a metodologia utilizada, os interferentes pré-analíticos de lipemia (discreta à moderada) e hemólise não interferem de modo significativo na concentração de creatinina sérica, porém esta conclusão não pode ser replicada para outros métodos de dosagem de creatinina.

Palavras Chaves: Interferentes. Biomarcadores. Função renal.

ABSTRACT

The kidney is responsible for the excretion of metabolic products, such as creatinine, which serves as an indicator of renal function in dogs and is considered a biomarker. However, pre-analytical factors can lead to the presence of interferents, such as hemolysis and lipemia, which can compromise the results of laboratory tests and affect the reliability of this biomarker. The objective of this study was to evaluate the effect of interferents related to serum appearance on creatinine measurement. The research was conducted retrospectively by selecting laboratory results of serum creatinine from clinically healthy dogs referred for pre-surgical examinations. These animals were clinically healthy and were attended at the Veterinary Hospital Superintendence Unit (SUHVU) from 2020 to 2022. Kinetic methodology with a commercial kit and automatic biochemical analyzer was used for creatinine biochemical analyses. Based on the serum appearance reported in the report, the animals were classified into three distinct groups: control (GC) - samples with normal appearance, hemolysis (GH), and lipemia (GL). The last two groups were sub-classified into mild, moderate, and intense samples. Samples from 194 dogs were analyzed, including 113 samples without alterations, 69 hemolyzed samples (43 mild, 15 moderate, 13 intense), and 12 lipemic samples (6 mild and 6 intense) No sample had a icterus appearance; therefore, this interferent was not evaluated.. Analysis of variance (ANOVA) was performed for parametric variables, and Kruskal-Wallis was used for non-parametric variables, considering significance when ($p < 0.05$). The results of creatinine concentration (mg/dL) in median and percentiles (P25 - P75) were: GC = 1.07 (0.9 - 1.2); GH= 1.08 (1.0-1.2) and GL=1.21 (1.07-1.2). Five dogs had values above the reference range; three samples presented hemolysis, one had 2.59 mg/dL with intense hemolysis, and two exhibited moderate hemolysis, both with 1.76 mg/dL. In the control group, two animals had values of 1.97 mg/dL and 1.69 mg/dL, respectively. There was no significant difference in serum creatinine results in any group. The study demonstrated that, with the methodology used, pre-analytical interferents such as lipemia and hemolysis do not significantly interfere with serum creatinine concentration. However, this conclusion cannot be generalized to other methods of creatinine measurement.

Keywords: Interferents. Biomarkers. Renal function.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Visualização macroscópica do aspecto de soro de cães com hemólise discreta (a), moderada (b) e intensa (c), respectivamente. 18

Figura 2 – Visualização macroscópica do aspecto de soro de cães sem alterações (a) e com lipemia discreta (b), moderada (c), respectivamente. 19

Figura 3 – Classificação e distribuição do aspecto das amostras enviadas para dosagem de creatinina segundo presença e o grau de hemólise e lipemia de 194 animais hígidos atendidos na Superintendência Unidade Hospitalar Veterinária Universitária durante o período de 2020 a 2022. 21

Figura 4 – *Boxplot* dos resultados da concentração creatinina sérica (mg/dL) de 194 cães. Comparação dos grupos controle, hemólise e lipemia classificada de acordo com o aspecto macroscópico durante o período de 2020 a 2022. Os valores para o primeiro quartil, a mediana, o terceiro quartil estão indicados por caixas, e a barra fora da caixa indica os valores mínimos e máximos. 23

Figura 5 – *Boxplot* dos resultados da concentração de creatinina sérica hemólise de 194 cães. Comparação de amostras de creatinina sérica que apresentaram hemólise discreta, moderada e intensa classificada de acordo com o aspecto macroscópico durante o período de 2020 a 2022. Os valores para o primeiro quartil, a mediana, o terceiro quartil estão indicados por caixas, e a barra fora da caixa indica os valores mínimos e máximos. 25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Mediana e Percentis [P25, P75], valores mínimos e máximos, dos resultados da concentração creatinina sérica (mg/dL) de 194 cães hígidos dos grupos controle, hemólise e lipemia de atendidos na Superintendência Hospitalar Veterinária/UFFS, Campus Realeza, no período de 2020 a 2022. 22

Tabela 2 – Mediana e Percentis [P25, P75], valores mínimos e máximos dos resultados da concentração creatinina sérica (mg/dL) de 194 cães hígidos do grupo hemólise do subgrupo controle, discreta, moderada e intensa atendidos na Superintendência Hospitalar Veterinária/UFFS, Campus Realeza, no período de 2020 a 2022. 24

Tabela 3 – Média \pm Desvio Padrão e valores mínimos e máximos dos resultados da concentração creatinina sérica (mg/dL) de 194 cães do grupo lipemia do subgrupo controle, discreta e moderada hígidos atendidos na Superintendência Hospitalar Veterinária/UFFS, Campus Realeza, no período de 2020 a 2022. 26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVOS.....	13
2.1. GERAL.....	13
2.2. ESPECÍFICOS.....	13
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
4 METODOLOGIA.....	17
4.1 GRUPOS.....	17
4.2 OBTENÇÃO DE AMOSTRAS.....	17
4.3 ANÁLISES LABORATORIAIS.....	19
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
7 REFERÊNCIAS.....	28

1 INTRODUÇÃO

Os rins desempenham funções essenciais para a homeostasia. A principal atividade do rim é a regulação hídrica, eletrolítica e ácido-base (KLEIN, 2014). Em cães e gatos, há uma grande prevalência de doenças renais e estas acarretam em danos multissistêmicos, dessa forma, existe a necessidade de testes que auxiliam no diagnóstico e prognóstico de doenças (KLEIN, 2014; DUSSE *et al.*, 2017).

Os rins desempenham um papel crucial no organismo pois são responsáveis por produzir e eliminar rapidamente substâncias químicas e resíduos resultantes do metabolismo. Este órgão filtra o sangue e mantém uma quantidade adequada de elementos essenciais ao realizar a sua reabsorção, produz hormônios responsáveis pelo controle da pressão arterial e pela produção de eritrócitos. Ele desintoxica o sangue ao secretar substâncias produzidas a partir do metabolismo normal, como ureia, creatinina, fenóis e indóis (KLEIN, 2014; GUYTON; HALL, 2017).

A creatinina, subproduto da degradação da creatina e da fosfocreatina, pertence ao metabolismo muscular e é eliminada do sangue para a urina de forma eficiente nos animais com a função renal preservada (DUSSE *et al.*, 2017, MEUTEN, 2015). Esta substância é pouco reabsorvida pelos túbulos devido ao seu tamanho molecular grande, tornando-se impermeável à membrana tubular e, portanto, excretada em quantidades substanciais. Devido à significativa quantidade de creatinina filtrada pelos glomérulos, sua concentração no sangue pode ser usada como indicador da filtração glomerular (FREITAS; VEADO; CARREGARO, 2014; GUYTON; HALL, 2017).

A taxa de filtração glomerular (TFG) é uma excelente medida da filtração renal, pois a creatinina se acumula em quantidade proporcional ao número de néfrons destruídos. A eliminação renal da creatinina apresenta variações de acordo com a idade, raça, gênero e estado renal, e em consequência a defeitos na eliminação, ocorre momentaneamente um acúmulo de creatinina nos líquidos corporais (KLEIN, 2014; DUSSE *et al.*, 2017).

Quando há disfunção renal, os níveis de creatinina no sangue aumentam para além dos valores de referência, que em cães é de 0,5 a 1,5 mg/dL (JAIN, 1993; KANEKO, 2004; MEYER; HARVEY, 2004). A elevação da creatinina sanguínea está vinculada à deficiência renal, podendo ser temporária ou permanente. Em vista disto, a creatinina sérica é considerada um biomarcador da função renal (DUSSE *et al.*, 2017).

Os biomarcadores representam indicadores precisos de processos fisiológicos ou patológicos. Entretanto, a creatinina apresenta algumas limitações, como a potencial reação

com outros cromógenos não creatínicos e não indicar precocemente a insuficiência renal, mas ainda assim, é um bom marcador para função renal de cães e gatos (MEUTEN, 2015; YERRAMILI *et al.*, 2016).

A creatinina é o marcador endógeno mais amplamente utilizado para estimar a função renal em cães. Embora existam novos testes relacionados à função renal, é necessário entender os aspectos que podem limitar ou aprimorar o uso clínico da creatinina sérica (HOKAMP; NABITY, 2016).

A mensuração dos biomarcadores não está livre de erros e caso hajam erros relacionados ao paciente ou à colheita da amostra estes resultados podem ser alterados. Os erros relacionados à análise podem resultar em alterações no aspecto da amostra, como a hemólise, lipemia e icterícia. Esses resultados alterados podem levar à necessidade de repetição de testes incorretos, custos desnecessários, diagnósticos equivocados e intervenções potencialmente equivocadas devido a interpretação incompleta, causando perda de tempo (LIPPI *et al.*, 2006; GONZÁLEZ; SILVA, 2008; SHOIAB *et al.*, 2020).

Essa pesquisa buscou apresentar uma visão geral sobre o efeito dos dois principais interferentes laboratoriais nas dosagens de creatinina. A precisão dos resultados é um aspecto fundamental para a avaliação da saúde do paciente e o laboratório deve alcançar resultados precisos e confiáveis na rotina clínica, a fim de garantir o correto acompanhamento do paciente (WESTGARD; DARCY, 2004; LIPPI *et al.*, 2006).

2 OBJETIVOS

2.1. GERAL

Avaliar o efeito de interferentes relacionados ao aspecto do soro na dosagem de creatinina de cães que realizaram exames pré-cirúrgicos.

2.2. ESPECÍFICOS

Avaliar a frequência da presença de interferentes e o tipo de interferência no resultado bioquímico de creatinina.

Avaliar o efeito da presença de hemólise na dosagem de creatinina.

Avaliar o efeito da presença de lipemia na dosagem de creatinina.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os biomarcadores são indicadores físicos, funcionais ou bioquímicos, que devem conter reprodutibilidade e precisão, além de exercer papel prognóstico e diagnóstico (YERRAMILLI *et al.*, 2016). A vigilância dos indicadores bioquímicos do animal desempenha um papel valioso, pois fornece informações adicionais sobre seu estado de saúde. Com base nesses resultados, o médico veterinário pode formular um prognóstico preciso e prescrever um tratamento adequado (ACÚRCIO, 2023).

As inovações tecnológicas e o aumento da automação têm crescido consideravelmente nos últimos anos, colaborando para diminuir a ocorrência de erros nas análises laboratoriais. Dessa forma, ocorre um grande aumento na confiabilidade nos resultados disponibilizados pelos laboratórios (LIPPI *et al.*, 2006). Apesar disso, a fase pré-analítica é responsável por cerca de 70% das interferências, as quais podem resultar em imprecisões no diagnóstico, comprometendo a confiabilidade dessas medições (SHOIAB *et al.*, 2020; RODRIGUES *et al.*, 2022).

Para atender aos requisitos, alguns modelos devem ser seguidos na fase pré-analítica para que assim resultados corretos sejam alcançados. Para isso, procedimentos que envolvem o preparo do paciente e realização da colheita de sangue devem ser rigorosamente seguidos (SHOIAB *et al.*, 2020).

Uma quantidade significativa dos erros está relacionada à falha na colheita, pois diversos fatores podem interferir na integridade das células sanguíneas. Isso pode ocorrer devido ao método utilizado durante o exame físico, a duração do uso do torniquete, a transferência de álcool para a amostra, a dificuldade em encontrar o acesso venoso e problemas com a agulha, como seu tamanho inadequado ou obstrução. O cuidado relacionado ao sangue também pode causar problemas, incluindo a agitação excessiva, a centrifugação prolongada em alta velocidade e a exposição ao calor e ao frio (CARRARO; SERVIDIO; PLEBANI, 2000; LIPPI *et al.*, 2011; SHOIAB *et al.*, 2020).

A lise das células vermelhas do sangue, sendo esse o rompimento da membrana celular, é denominada hemólise (LIPPI *et al.*, 2011). Como consequência, há a liberação da hemoglobina dos eritrócitos para o plasma, deixando dessa forma uma aparência visível na separação do soro ou plasma. Como característica o soro adquire uma cor rósea ou avermelhada, caso o nível de hemoglobina ultrapasse 300 mg/dL (PIYOPHIRAPONG; WONGTIRAPORN; SRIBHEN, 2010). A hemólise pode ocorrer de duas formas: *in vivo* ou *in vitro*: a primeira ocorre devido a situações clinicopatológicas, como anemia hemolítica, e a

segunda devido a problemas que envolvem o preparo do paciente e a realização da colheita (PIYOPHIRAPONG; WONGTIRAPORN; SRIBHEN, 2010; ZANETTI, WOLF, GRANDO, 2022).

Notou-se que hemólise pode causar interferências de três maneiras distintas, pois a hemoglobina livre tem uma alta absorvância em comprimentos de onda entre 415 e 570 nanômetros (BASTOS; BERNER; RAMOS, 2010; MORAIS *et al.*, 2018). A liberação do conteúdo intracelular presente nas hemácias pode elevar a concentração de outros analitos que fazem parte da célula, como o potássio, e reduzir a concentração dos analitos que estão naturalmente presentes no interior da célula. Além disso, o pigmento da hemoglobina também pode afetar o método analítico, resultando em um aumento da concentração do analito, cujo produto final é mensurado através da absorvância em um comprimento de onda mais baixo, entre 300 e 500 nanômetros. Adicionalmente, a hemoglobina pode interferir em reações químicas, como a diazotização na determinação da bilirrubina, ou alterar o pH em medições contínuas de atividade enzimática (FARREL *et al.*, 2016; MORAIS *et al.*, 2018).

A hemólise *in vivo* também pode causar icterícia. O pigmento resultante da degradação da hemoglobina é denominado bilirrubina, caracterizado por um aspecto amarelado, a cor interfere no espectro de luz entre 340 a 500 nm. O aumento da concentração de bilirrubina em doenças sanguíneas e hepáticas é comum (FEVERY, 2008; FARREL *et al.*, 2016).

Segundo Farrel *et al.* (2016), métodos colorimétricos como o ensaio de creatinina através da reação de Jaffé pode ter seu comprimento de onda (510 nm) afetado pela bilirrubina. Esta substância também possui a capacidade de reagir quimicamente com diversos reagentes, como peróxido de hidrogênio e peroxidase, afetando testes como ácido úrico, fósforo, proteínas totais e colesterol, resultando em leituras falsamente reduzidas (PIYOPHIRAPONG; WONGTIRAPORN; SRIBHEN, 2010).

De acordo com Nikolac (2014), depois da hemólise, a lipemia é a interferência mais vista na rotina clínica, porém em algumas ocasiões negligenciadas. Causada pelo acúmulo de lipoproteínas no soro, o termo lipemia é usado para descrever o soro ou plasma que apresenta aparência turva ou leitosa, também chamado de lactescente. Essa influência pré-analítica está relacionada à alimentação e ao tempo de jejum para a colheita (NIKOLAC, 2014; XENOULIS; SLINER, 2015)

A presença de lipemia causa interferências físicas e químicas, pois prejudica a homogeneidade e também afeta os resultados dos métodos espectrofotométricos devido à falta de uniformidade na amostra (PIYOPHIRAPONG; WONGTIRAPORN; SRIBHEN, 2010).

Pode ocorrer interferência por meio de vários mecanismos, como dispersão da luz, partição diferencial do analito entre as fases polares e não polares da amostra e a interação das partículas de lipoproteínas com os reagentes do ensaio (FARREL *et al.*, 2016).

Os métodos espectrofotométricos são os mais utilizados nas dosagens bioquímicas e sofrem interferência da lipemia pela capacidade que partículas lipídicas possuem de absorver a luz, relacionado principalmente ao acúmulo de quilomícrons (NIKOLAC, 2014; FARREL *et al.*, 2016). É importante destacar que os erros laboratoriais estão presentes na rotina clínica, e em um ambiente hospitalar é inevitável que não ocorra a produção de amostras lipêmicas, pois ocorrem diversas situações emergenciais nas quais jejum não é possível (NIKOLAC, 2014).

4 METODOLOGIA

4.1 GRUPOS

Neste estudo retrospectivo, foram escolhidos todos os cães que demonstravam estar clinicamente saudáveis de diferentes raças, idades e sexo, no período referente de 2020 á 2022. Salienta-se que não houveram atendimentos laboratoriais nos seis primeiros meses do ano de 2021.

Os animais foram distribuídos em três grupos distintos, considerando a presença ou ausência de interferentes relacionados ao aspecto do soro:

- Grupo controle (GC) - Amostras de soro livres de interferentes
- Grupo hemólise (GH) - Amostras de soro com hemólise
- Grupo lipemia (GL) - Amostras de soro com lipemia

Nos grupos hemólise e lipemia também foi registrada a classificação do grau de hemólise ou lipemia, que foi atribuído na avaliação macroscópica da amostra pelo laboratorista. Sendo estes classificados como discreta, moderada e intensa.

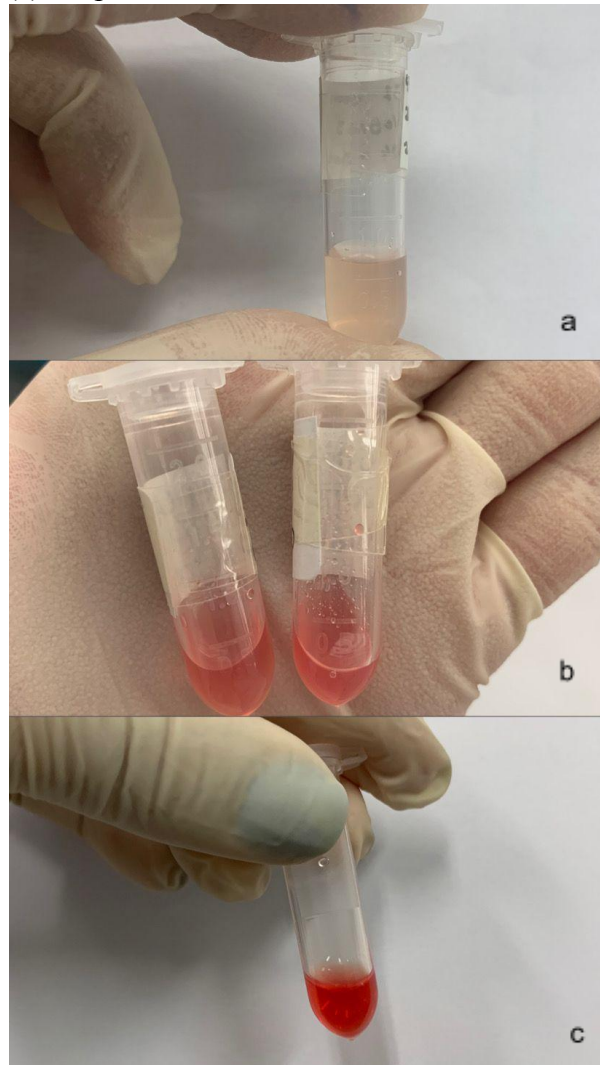
4.2 OBTENÇÃO DE AMOSTRAS

Após a colheita de sangue dos cães atendidos na Superintendência Unidade Hospitalar Veterinária Universitária (SUHVU), o sangue foi acondicionado em tubo de ensaio sem anticoagulante para a realização dos exames bioquímicos solicitados. No laboratório, o sangue foi centrifugado por 10 minutos a 5.000 rpm (Centrífuga *Sigma 3-16®*, *Sigma Laborzentrifugen GmbH*, Alemanha) para separar o soro, que foi posteriormente armazenado em tubos cônicos tipo *ependorf*.

As amostras foram mantidas sob refrigeração para análise em até 24 horas ou congeladas a -20°C até a análise.

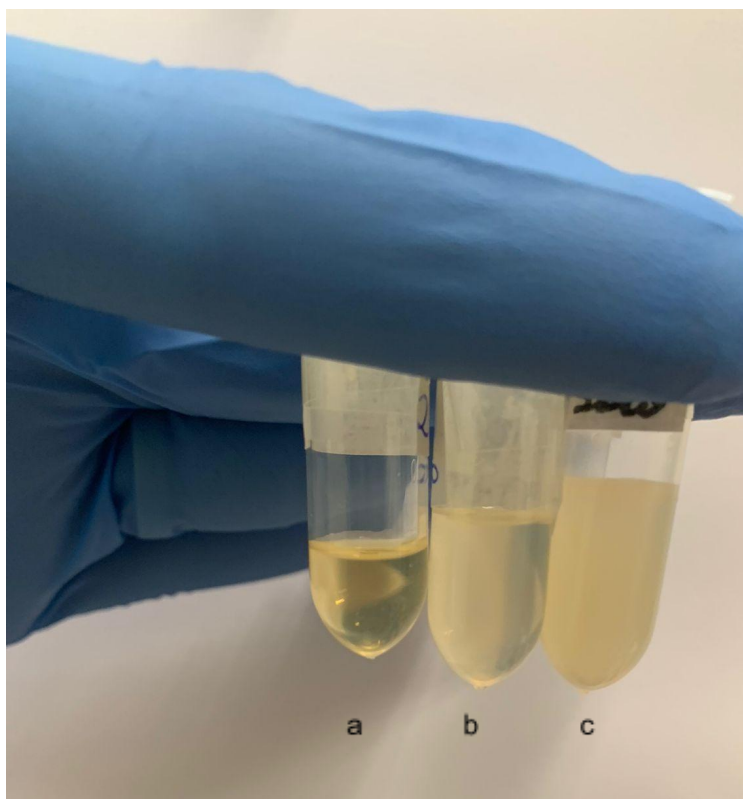
As classificações das amostras com a presença ou não de interferências foram feitas a partir da visualização macroscópica realizada pelo laboratório (Figuras 1 e 2).

Figura 1- Visualização macroscópica do aspecto de soro de cães com hemólise discreta (a), moderada (b) e intensa (c), respectivamente.



Fonte: Ana Júlia Pereira de Melo (2023)

Figura 2 –Visualização macroscópica do aspecto de soro de cães sem alterações (a) e com lipemia discreta (b), moderada (c), respectivamente.



Fonte: Ana Júlia Pereira de Melo (2023)

4.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

As dosagens de creatinina foram realizadas com metodologia cinética, pela reação de Jaffé, utilizando *kits* comerciais (Wiener lab®, Creatinina cinética AA líquida, São Paulo/SP) e analisador bioquímico automático (CM250®, Wiener lab Group® Labinbraz Comercial Ltda, São Paulo/ SP, Brasil). O *kit* é composto por laurilsulfato 8,4 mmol/L; ácido pícrico à 12,7 mmol/L; borato 53 mmol/L e hidróxido de sódio 970 mmol/L, além do padrão de creatinina que contém 20 mg/L de creatinina.

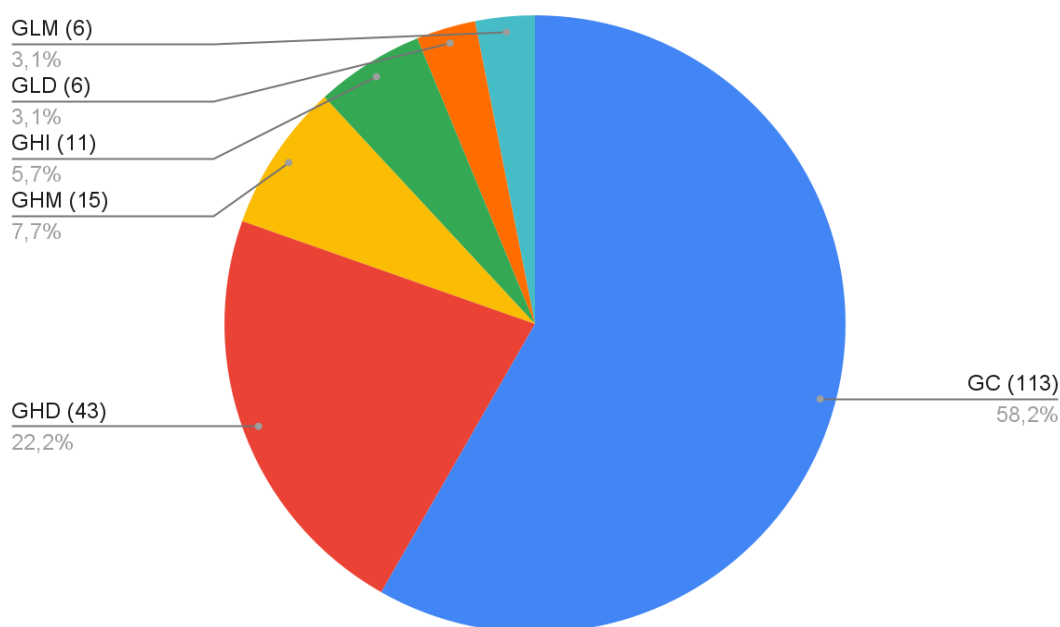
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizada uma análise descritiva do número e porcentagem de amostras alocadas em cada grupo. Os resultados de creatinina dos grupos e subgrupos foram analisados no programa computacional Sigma Stat 3.2. Para dados paramétricos foi realizada a análise de variância (ANOVA), para cada grupo e subgrupo (discreta, moderada e intensa). Para os dados não paramétricos foi utilizado o teste *Kruskal-Wallis* e, em todos os testes, foi considerado o nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram solicitadas 194 dosagens de creatinina no período estudado, dos quais os resultados da avaliação macroscópica do aspecto da amostra e os respectivos grupos e subgrupos estão representados na Figura 3. Não foram encontradas amostras ictericas para a dosagem de creatinina sérica nos animais hígidos durante o período referido, sendo assim excluídas do presente estudo.

Figura 3 – Classificação e distribuição do aspecto das amostras enviadas para dosagem de creatinina segundo presença e o grau de hemólise e lipemia de 194 animais hígidos atendidos na Superintendência Unidade Hospitalar Veterinária Universitária durante o período de 2020 a 2022.



GC: Grupo controle; GHD: Grupo hemólise discreta; GHM: Grupo hemólise moderada; GHI: Grupo hemólise intensa; GLD: Grupo lipemia discreta; GLM: Grupo lipemia moderada

Fonte: elaborada pela autor (2023)

Os resultados da creatinina foram semelhantes entre os grupos (Tabela 01, 02 e 03, figura 04 e 05), não havendo diferença significativa em nenhum dos grupos e subgrupos estudados. Por serem animais clinicamente hígidos, eram esperados que os resultados estivessem dentro dos valores de referência. Porém foram observados cinco (2,58%) cães com valores acima da referência, dos quais três apresentaram hemólise na amostra, um dos cães apresentou 2,59 mg/dL de creatinina e estava com hemólise intensa e o outros dois exibiram hemólise moderada, ambos com 1,76 mg/dL de creatinina. No grupo controle, dois animais

exibiram creatinina elevada, um com 1,97 mg/dL e outro com 1,69 mg/dL. Dessa forma, não foi possível afirmar que a hemólise tenha sido o motivo da elevação. É importante ressaltar que o intervalo de valores de referência varia consideravelmente dependendo da idade e da raça do animal (GEORGE; SNIPES; LANE, 2010), mas essa diferenciação não foi realizada no atual trabalho.

Zanetti, Wolf e Grando (2022) investigaram, através de plataformas on-line, 23 bulas de química líquida e química seca em kits de creatinina e mostraram que a hemólise pode interferir significativamente, diferente dos resultados do presente estudo, provavelmente por ser metodologias diferentes.

Tabela 1 – Mediana e Percentis [P25, P75], valores mínimos e máximos dos resultados da concentração creatinina sérica (mg/dL) de 194 cães hígidos dos grupos controle, hemólise e lipemia de atendidos na Superintendência Hospitalar Veterinária/UFFS, Campus Realeza, no período de 2020 a 2022.

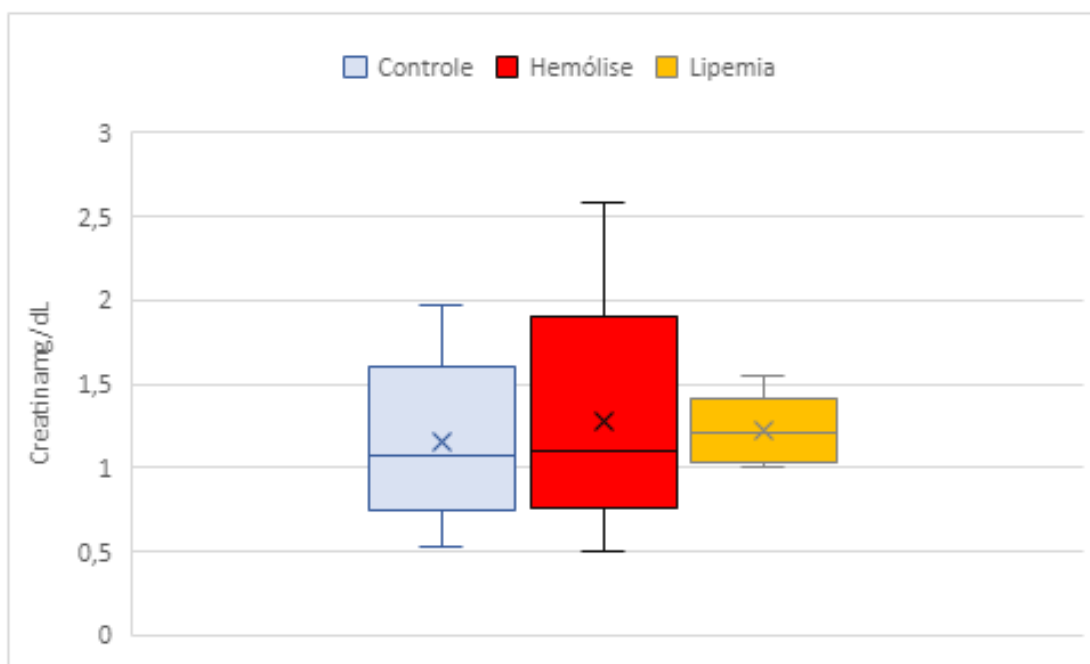
Creatinina mg/dL				
	Controle (n=113)	Hemólise (n=69)	Lipemia (n=12)	p
Mediana	1,07	1,08	1,21	0,126*
[P²⁵- P⁷⁵]	[0,9-1,2]	[1,0-1,2]	[1,07- 1,2]	
Mínimo	0,53	0,5	1	
Máximo	1,97	2,59	1,55	
>VR (n/%)	2 (1,03%)	3 (1,54%)	0	

Não houve diferença significativa através do teste de *Kruskal-wallis**

>VR (n/%) = número de animais acima do valor de referência

Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

Figura 4 – *Boxplot* dos resultados da concentração creatinina sérica (mg/dL) de 194 cães hígdidos atendidos na Superintendência Hospitalar Veterinária/UFFS, Campus Realeza, no período de 2020 a 2022. Comparação dos grupos controle, hemólise e lipemia classificada de acordo com o aspecto macroscópico durante o período de 2020 a 2022. Os valores para o primeiro quartil, a mediana, o terceiro quartil estão indicados por caixas, e a barra fora da caixa indica os valores mínimos e máximos.



Fonte: elaborada pelo autor (2023)

O presente estudo se alinha com a pesquisa de Freitas *et al.* (2018) que fez um estudo com quatro caninos e não observou-se interferência significativa nas concentrações de creatinina conforme os graus de hemólise. Porém a maior variabilidade de resultados foi observada na hemólise intensa (Figura 05), semelhante aos resultados Lippi *et al.* (2011), que indicaram que a hemólise intensa compromete os resultados bioquímicos.

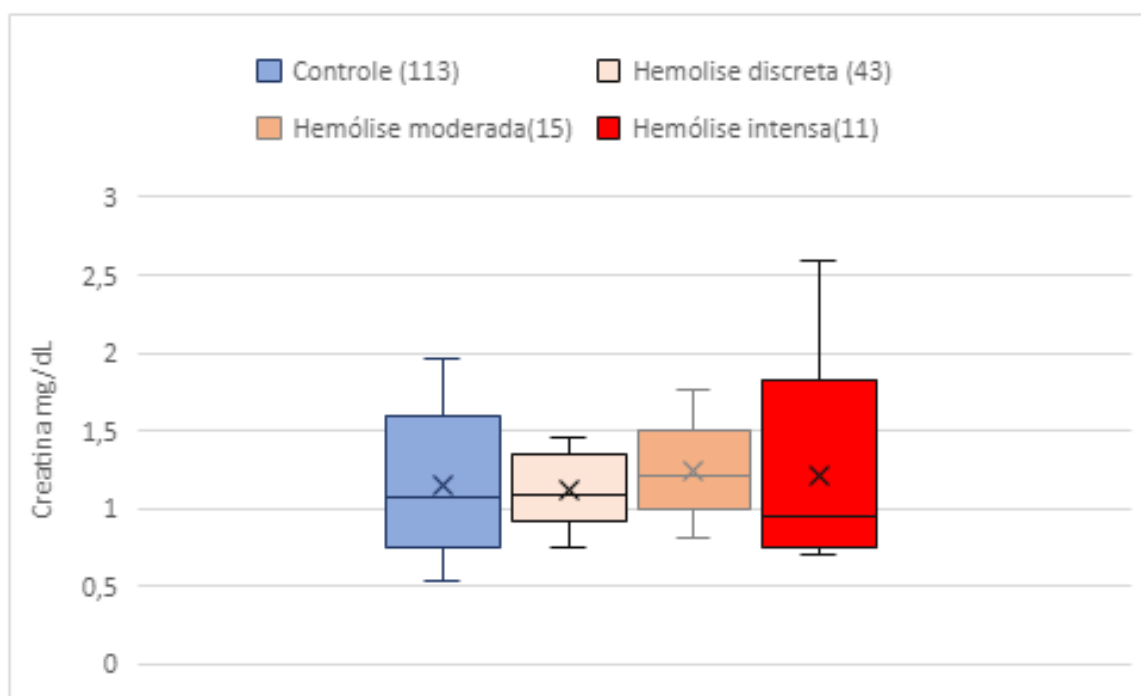
Tabela 2 – Mediana e Percentis [P₂₅, P₇₅], valores mínimos e máximos, dos resultados da] ;concentração creatinina sérica (mg/dL) de 194 cães hígdos do grupo hemólise do subgrupo controle, discreta, moderada e intensa atendidos na Superintendência Hospitalar Veterinária/UFFS, Campus Realeza, no período de 2020 a 2022.

Hemólise					
	Controle (n=113)	Discreta (n=43)	Moderada (n=15)	Intensa (n=11)	p
Mediana	1,07	1,08	1,17	0,95	0,057*
[P₂₅ - P₇₅]	[0,9-1,2]	[1,0-1,2]	[1,0-1,2]	[0,8-1,0]	
Mínimo	0,53	0,75	0,81	0,7	
Máximo	1,97	1,46	1,76	2,59	

Não houve diferença significativa através do teste de *Kruskal-Wallis**
 Fonte: elaborada pela autor (2023)

Santos *et al.* (2017) descrevem que a hemólise pode interferir na dosagem de creatinina, resultando na diminuição do resultado, já que a interferência não ocorre somente pela variação na absorbância das amostras. Lippi *et al.* (2006), em um estudo com 12 voluntários humanos, reafirmaram que a hemólise gerou uma tendência de aumento nas dosagens de creatinina e outros biomarcadores, mas que estas amostras são afetadas a depender do grau de lise das hemácias. Todavia, não existem indicações precisas de quais são as interferências específicas que ela pode causar.

Figura 5 – *Boxplot* dos resultados da concentração de creatinina sérica hemólise de 194 cães. Comparação de amostras de creatinina sérica que apresentaram hemólise discreta, moderada e intensa classificada de acordo com o aspecto macroscópico durante o período de 2020 a 2022. Os valores para o primeiro quartil, a mediana, o terceiro quartil estão indicados por caixas, e a barra fora da caixa indica os valores mínimos e máximos.



Fonte: elaborada pelo autor (2023)

Notou-se que os níveis de creatinina podem variar com base na condição da amostra. Amostras frescas e congeladas com hemólise em diferentes níveis podem conter variações não pertinentes num contexto de rotina laboratorial (SANTOS *et al.*, 2017).

Os resultados das amostras de creatinina sérica que apresentaram lipemia foram descritos na Tabela 2. O estudo realizado por Azevedo, Lidbury e Jeffery (2019), com cinco cães saudáveis e adição de emulsão intralipídica, indicaram que a lipemia interferiu significativamente nos resultados de creatinina. Um trabalho realizado por Farrel *et al.* (2016) também relataram que as amostras de paciente que apresentaram lipemia, interferiram negativamente nos resultados de creatinina, assim como na pré-albumina, ceruloplasmina e haptoglobina, pois amostras enriquecidas com lipídios possuem respostas diferentes quando comparadas a pacientes lipêmicos. Em contrapartida, o trabalho de Zanetti, Wolf e Grando (2022) afirmaram que a presença de lipemia e níveis de triglicédeos acima de 250 mg/dL,

podem levar a resultados falsamente elevados, entretanto no presente estudo não foram observadas diferenças significativas.

Tabela 3 – Média \pm Desvio Padrão e valores mínimos e máximos, dos resultados da concentração creatinina sérica (mg/dL) de 194 cães do grupo lipemia do subgrupo controle, discreta e moderada hígidos atendidos na Superintendência Hospitalar Veterinária/UFFS, Campus Realeza, no período de 2020 a 2022.

	Lipemia			p
	Controle (n=113)	Discreta (n=6)	Moderada (n=6)	
Média \pm Desvio				
Padrão	1,10 \pm 0,2	1,17 \pm 0,14	1,24 \pm 0,18	0,096*
Mínimo	0,53	1,03	1	
Máximo	1,97	1,42	1,55	

Não houve diferença significativa pela teste ANOVA*

Fonte: elaborada pelo autor (2023)

Um estudo realizado por YI *et al.* (2023) com 100 cães hígidos acerca da creatinina sérica pré e pós prandial, avaliou a creatinina e seu intervalo após a alimentação. Dois cães apresentaram creatinina acima do intervalo de referência, assim o estudo afirmou que o jejum não é necessário para realização de exames bioquímicos em cães clinicamente saudáveis. Entretanto, para outros analitos como triglicerídeos e fósforo a retenção de alimentos ainda pode ser útil.

Profissionais veterinários recorrem aos resultados dos valores de referência presentes nos exames laboratoriais para tomar decisões relacionadas a possíveis alterações patológicas em animais, e eles são importantes para observar erros analíticos também (BOURGE S-ABELLA *et al.*, 2011; MORAIS *et al.*, 2018).

Segundo Zanetti, Wolf e Grando (2022), alguns fármacos interferem de maneira química, agindo como um acelerador ou inibidor durante a análise. Além disso, há a possibilidade de interferência na reação fotométrica quando o medicamento original, seus metabólitos ou aditivos tem picos de absorção semelhantes aos do cromógeno que está sendo medido.

Outro aspecto importante é que atualmente todos os analisadores bioquímicos utilizam de princípios para medir o índice de interferentes, mas ainda podem ocorrer falsos resultados

devido aos diluentes (FARREL *et al.*, 2016), o que pode ter justificado os resultados não significativos dos interferentes nas concentrações de creatinina sérica.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Não foram observadas no presente estudo alterações significativas da interferência dos fatores pré-analíticos, sendo eles, hemólise e lipemia, nos resultados de creatinina sérica, porém esta conclusão não pode ser replicada para outros métodos de dosagem de creatinina. É importante ressaltar que a dosagem de creatinina, apesar de ser um marcador tardio de função renal, é amplamente utilizada na rotina clínica. Dessa forma, destaca-se a necessidade da obtenção de resultados confiáveis e precisos, e é função do médico veterinário garantir isso através de boas práticas laboratoriais e interpretação coerente.

7 REFERÊNCIAS

- ACÚRCIO, L. B. Principais alterações em exames bioquímicos de cães domésticos na cidade de Formiga-MG de 2017 a 2021. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 22, n. 2, p. 353–357, 2023.
- AZEVEDO, Carolina N.; LIDBURY, Jonathan A.; JEFFERY, Unity. Effects of marked hypertriglyceridemia and lipid clearance techniques on canine biochemistry testing. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 31, n. 4, p. 546-553, 2019.
- BASTOS, M. S.; BERNER, A. A.; RAMOS, E. R. P. Avaliação do grau de hemólise e sua interferência em análises bioquímicas de amostras obtidas por diferentes técnicas de coleta de sangue venoso, Maringá. In: V MOSTRA INTERNA DE TRABALHOS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, v. 5, 2010 **Anais Eletrônicos...** Maringá: Cesumar, 2010.
- BOURGÈS-ABELLA, Nathalie *et al.* Canine reference intervals for the Sysmex XT-2000iV hematology analyzer. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 40, n. 3, p. 303-315, 2011.
- CARRARO, Paolo; SERVIDIO, Giuseppe; PLEBANI, Mario. Hemolyzed specimens: a reason for rejection or a clinical challenge?. **Clinical chemistry**, v. 46, n. 2, p. 306-307, 2000.
- GONZÁLEZ, Félix; SILVA. **Patologia clínica veterinária**: texto introdutório. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.
- DUSSE, Luci Maria SantAna *et al.* Biomarcadores da função renal: do que dispomos atualmente?. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 1, p. 41-51, 2017.
- FARREL, *et al.* Serum indices: managing assay interference. **Annals of Clinical Biochemistry**, v. 53, p. 527-538, 2016.
- FEVERY, Johan. Bilirubin in clinical practice: a review. **Liver International**, v. 28, n. 5, p. 592-605, 2008.
- FREITAS, Gabrielle Coelho; VEADO, Júlio César Cambraia; CARREGARO, Adriano Bonfim. Testes de avaliação de injúria renal precoce em cães e gatos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 411-426, 2014.
- FREITAS, Vitória *et al.* Interferência da hemólise nas análises bioquímicas. **Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, v. 10, n. 2, 2018.
- GEORGE, Jeanne W.; SNIPES, Joy; LANE, V. Michael. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 39, n. 2, p. 138-148, 2010.
- GUYTON, A.C. e Hall J. E. Formação da urina pelos rins: i. filtração glomerular, fluxo sanguíneo renal e seus controles. In: GUYTON, A.C. e HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. Local: Editora Elsevier. 13^a. ed., 2017.
- HOKAMP, Jessica A.; NABITY, Mary B. Renal biomarkers in domestic species. **Veterinary**

clinical pathology, v. 45, n. 1, p. 28-56, 2016.

JAIN. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.

KANEKO, HARVEY, BRUSS, 1997. **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Academic Press, 1997.

KLEIN, Bradley G. Filtração Glomerular. In: KLEIN, Bradley G. **Cunningham Tratado de Fisiologia Veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

LIPPI, Giuseppe *et al.* Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. **Clinical Chemistry and laboratory medicine**, v. 44, n. 3, p. 311-316, 2006.

LIPPI, Giuseppe, *et al.* Preanalytical quality improvement: from dream to reality. **Clinical chemistry and laboratory medicine** v.49, n.7, p. 1113-1126, 2011.

MEUTEN, Donald. Avaliação e interpretação laboratorial do sistema urinário. In: THRALL, Mary, Anna *et al.* **Hematologia e Bioquímica Veterinária**. 2 ed. São Paulo. Editora Roca, 2015.

MEYER, Denny.J; COLES, Embert. H; RICH, Lon. J. Medicina de Laboratório Veterinária: Interpretação e Diagnóstico. 1 ed. São Paulo: Roca, p. 47-61, 1995.

MORAIS, Luciana de *et al.* Hemólise interfere na mensuração dos biomarcadores plasmáticos de estresse oxidativo em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, p. 713-721, 2018.

NIKOLAC, Nora. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. **Biochemia medica**, v. 24, n. 1, p. 57-67, 2014.

PIYOPHIRAPONG, Sudarat; WONGTIRAPORN, Wanida; SRIBHEN, Kosit. Factitious results in clinical chemistry tests caused by common endogenous interferents. **Siriraj Medical Journal**, v. 62, n. 4, p. 185-188, 2010.

RODRIGUES, Adriana Barboza *et al.* Interferências pré-analíticas em exames laboratoriais: uma revisão narrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. 9, 2022.

SANTOS, *et al.* Efeito do grau de hemólise na bioquímica sérica de cães e gatos em amostras frescas e após congelamento. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 27. 2017, Florianópolis. **Anais ...** Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, p. 1-2, 2017.

SHOIAB, *et al.* Preanalytical Errors and Rejection Criteria for Blood Samples in Hematology Laboratory. **Journal of Agriculture, Food, Environment and Animal Sciences**, v. 1, n. 1, p. 39-49, 2020

XENOULIS, P. G.; STEINER, J. M. Canine hyperlipidaemia. **Journal of Small Animal Practice**, v. 56, n. 10, p. 595-605, 2015.

WESTGARD, James O.; DARCY, Teresa. The truth about quality: medical usefulness and analytical reliability of laboratory tests. **Clinica chimica acta**, v. 346, n. 1, p. 3-11, 2004.

YERRAMILI, Murthy *et al.* Kidney disease and the nexus of chronic kidney disease and acute kidney injury: the role of novel biomarkers as early and accurate diagnostics. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 46, n. 6, p. 961-993, 2016.

YI, Katarina C. et al. Effect of withholding food versus feeding on creatinine, symmetric dimethylarginine, cholesterol, triglycerides, and other biochemical analytes in 100 healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 37, n. 2, p. 626-634, 2023.

ZANETTI D. R., Nicole Jara; WOLF, Jonas Michel; GRANDO, Allyne Cristina. Comparação dos interferentes nas metodologias de química líquida e química seca na fase pré-analítica dos exames laboratoriais. **RBAC**, v. 54, n. 2, p. 139-147, 2022.