

Persistent Hemolysis in a Patient with Pancreatitis

Stephen L. Cook* and David E. Bruns

Hemólise Persistente num Paciente com Pancreatite

Stephen L. Cook* and David E. Bruns

+ Afiliações dos Autores

Department of Pathology, University of Virginia School of Medicine, Charlottesville, VA.

* Envie correspondência para esse autor para: P.O. Box 800168, Department of Pathology, University of Virginia School of Medicine, Charlottesville, VA 22908. Fax 434-924-2107; e-mail slc3mc@virginia.edu.

CASO

Um homem de 43 anos com um histórico de pancreatite aguda e crônica se apresentou com um histórico de 1 dia de grave dor epigástrica ardente e de compressão sem náusea, vômito ou diarreia. A dor era semelhante aos episódios anteriores do paciente de pancreatite aguda, para a qual ele tinha tido múltiplas hospitalizações. Os outros diagnósticos do paciente foram hipertrigliceridemia, doença renal crônica, e diabetes. No exame físico, o paciente estava sem febril e seu abdômen estava firme, com flacidez epigástrica, proteção e reduzidos sons do intestino.

Na admissão, atividade da lipase sérica era 1506 U/L [intervalo de referência (RI), 8–78 U/L]; amilase não foi medida. Triglicerídeos séricos eram 1606 mg/dL (18.15 mmol/L) [RI, 55–320 mg/dL (0.62–3.62 mmol/L)]. O colesterol total era 205 mg/dL (5.31 mmol/L) [RI, <200 mg/dL (<5.18 mmol/L)] e HDL era 14 mg/dL (0.36 mmol/L) [RI, 30–65 mg/dL (0.78–1.68 mg/dL)]. A concentração de creatinina era 1.1 mg/dL (83 µmol/L) [RI, 0.7–1.3 mg/dL (53.4–99.1 µmol/L)] e o nitrogênio da uréia sanguínea era 14 mg/dL (5.0 mmol/L) [RI, 8.9–20.6 mg/dL (3.2–7.4 mmol/L)]. Imagem por tomografia computado-

rizada demonstrou pseudocistos intrapancreáticos e borramento da gordura peripancreática. O paciente foi tratado com repouso do intestino, agressiva ressuscitação do fluido intravenoso e tratamento da dor.

No segundo dia de hospitalização, teste laboratorial foi complicado por significativa hemólise, levantando as questões da hemólise in vivo contra a in vitro e se os resultados laboratoriais deveriam ser liberados ou não. Hemólise não tinha sido vista em sangue tirado no primeiro dia, mas começando no segundo dia cada amostra foi hemolisada em múltiplos tipos de tubos (incluindo tubos de EDTA, de heparina de lítio, e de citrato de sódio) durante todo o curso da internação hospitalar do paciente. Entre o primeiro e o segundo dia, a concentração de hemoglobina diminuiu de 14.6–13.8 g/dL (146–138 g/L) [RI, 14.0–18.0 g/dL (140–180 g/L)], potássio aumentou de 4.2–6.3 mmol/L (RI, 3.4–4.8 mmol/L), sódio diminuiu de 137–133 mmol/L (RI, 136–145 mmol/L), e cloreto não foi afetado. Concentração de haptoglobina sérica era 56 mg/dL (0.56 g/L) [RI, 30–200 mg/dL (0.3–2.0 g/L)], e a contagem de reticulócitos era 1.69% (RI, 0.7–2.5%).

QUESTÕES A SEREM CONSIDERADAS

1. Quais são as causas da hemólise in vivo e in vitro e como elas são distinguidas?
2. Como a hemólise afeta os resultados dos testes?
3. Qual é a provável causa da pancreatite nesse paciente?
4. Qual é a associação entre hemólise e pancreatite?

DISCUSSÃO

Hemólise é o dano ou rompimento das membranas celulares dos eritrócitos, que causa a liberação de componentes intracelulares no plasma. Hemólise pode ocorrer no paciente (in vivo) ou fora do paciente em algum ponto entre a retirada da amostra e sua análise (in vitro).

CAUSAS DA HEMÓLISE

As causas comuns da hemólise são apresentadas na Tabela 1. Os fenômenos que levam à hemólise in vivo podem ser categorizados como hemólise intravascular e extravascular com base no local da destruição das hemácias. Dependendo do tipo de dano à membrana das hemácias, as células podem se destruir imediatamente (intravascular) ou serem destruídas pelo sistema monócito–macrófago no baço, fígado, ou medula óssea (extravascular). Teste laboratorial

é essencial para se determinar a presença e a causa da hemólise. Elevada desidrogenase lática (LD), reduzida haptoglobina, e hemoglobina livre de urina são sinais de hemólise in vivo. Esferócitos em um esfregaço de sangue periférico e um teste positivo de antiglobulina direta são achados que indicam a ocorrência de hemólise in vivo mediada por anticorpos. Esquistócitos em um esfregaço de sangue periférico indicam hemólise microangiopática. Um elevado número de reticulócitos significa uma resposta fisiológica à anemia e indica hemólise in vivo. Persistente hemólise em múltiplas amostras em diferentes tempos de coleta e em múltiplos tipos de tubos, como visto nesse paciente, sugere hemólise in vivo. Comunicação com a equipe clínica e correlação com o histórico do paciente é crítico para determinar se há razão para se suspeitar de hemólise in vivo.

Tabela 1. Potenciais causas de hemólise in vivo e in vitro.^a

Hemólise in vivo
Hemólise extravascular
Deficiências enzimáticas (por exemplo, deficiência de glicose-6–fosfato desidrogenase)
Hemoglobinopatias (por exemplo, célula falciforme, talassemia)
Defeitos na membrana dos eritrócitos (por exemplo, esferocitose hereditária)
Infecção (por exemplo, bartonela, babesia, malária)
Anemia hemolítica autoimune
Outros (por exemplo, hiperesplenismo, doença hepática)
Hemólise intravascular
Microangiopatia (por exemplo, válvula cardíaca prostética, púrpura trombocitopênica trombótica)
Reação da transfusão
Infecção (por exemplo, sepse, grave malária)
Hemoglobinúria fria paroxística
Hemoglobinúria noturna paroxística
Hemólise in vitro
Força de aspiração excessiva (sangue tirado muito vigorosamente, especialmente através de veias pequenas ou superficiais)
Catéter parcialmente obstruído
Sangue forçado para o tubo da seringa
Espécime congelado
Dano mecânico (por exemplo, tremor, excessiva força nos tubos pneumáticos)
Demora na análise

Se distinguir hemólise in vivo da in vitro é de crítica importância para a segurança do paciente e tratamento clínico. Um achado da hemólise in vivo não apenas é clinicamente importante por ele mesmo, mas, além disso, as concentrações de plasma dos analitos no tubo da coleta de sangue são as concentrações de plasma no paciente e desse modo são importantes e devem ser relatadas. Em contraste, na hemólise in vitro, certos valores laboratoriais não devem ser relatados, porque eles não refletem as concentrações no paciente e podem ser enganadores.

Em uma análise de amostras hemolisadas em uma instituição (1), aproximadamente 3% das amostras hemolisadas refletiram hemólise in vivo. Em 95% dos casos de hemólise in vitro, um erro específico na coleta da amostra e/ou no processamento foi encontrado. Um terço dos casos de hemólise in vivo não foi clinicamente suspeito, e o laboratório desempenhou um papel crítico em trazê-lo para a atenção dos médicos. É importante que os laboratórios tenham diretrizes no local para (a) identificação sistemática e quantificação da hemólise, (b) contato clínico e aviso da possibilidade de hemólise in vivo, e (c) pedidos para uma segunda amostra.

A investigação das amostras hemolisadas é guiada por uma procura sistemática por uma etiologia, guiada pelo conhecimento de etiologias comuns (Tabela 1). Se nenhuma causa subjacente da hemólise in vivo puder ser identificada, uma procura por uma causa da hemólise in vitro deve ser feita em um esforço para reduzir a ocorrência da hemólise in vitro no sistema de saúde.

EFEITO DA HEMÓLISE NOS TESTES LABORATORIAIS

Hemólise é uma importante fonte de erro pré-analítico e tem sido relatada por influenciar muitos resultados laboratoriais, incluindo potássio, sódio, cálcio, fósforo, magnésio, bilirrubina, haptoglobina, proteína total, aldolase, amilase, LD, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, fosfatase ácida, γ -glutamyl transferase, folato, e ferro (2). Hemólise pode afetar a validade do teste químico específico sendo realizado (interferência analítica) através de interferência espectrofotométrica ou química. Alternativamente, liberação de conteúdos intracelulares afeta a concentração de plasma de certos compostos; desse modo hemólise in vivo possui um efeito fisiológico no paciente. A contribuição de cada uma dessas fontes de erro varia de analito e método (Tabela 2). Por exemplo, as concentrações de potássio, magnésio, fosfato, LD, AST, e alanina aminotransferase são muito mais altas nas hemácias do que no plasma, e desse modo a hemólise aumenta suas concentrações no plasma. Em contraste, interferência espectral da hemoglobina é a questão dominante para testes espectrofotométricos comuns para fosfatase alcalina, ferro, lipase, e γ -glutamyl transferase (3). É possível que ambos mecanismos sejam operativos, por exemplo, se AST for medida por um método colorimétrico, sobreposição espectral poderá causar um aumento artificial no resultado da AST além do verdadeiro aumento da AST no plasma devido à liberação dos conteúdos intracelulares.

Tabela 2.	
Mecanismo predominante do efeito da hemólise sobre os testes laboratoriais comuns.	
Interferência analítica	
Fosfatase alcalina	
Ferro	
Lipase	
γ-Glutamil transferase	
Sódio	
Cloreto	
Efeito fisiológico in vivo	
Potássio	
Desidrogenase do lactato	
Magnésio	
Fósforo	
Aspartato aminotransferase	
Alanina aminotransferase	

ETIOLOGIA DA PANCREATITE

As causas mais comuns da pancreatite aguda nos Estados Unidos são uso de álcool e cálculos biliares, contudo acentuada hipertrigliceridemia, como visto nesse caso, é uma causa bem reconhecida. Geralmente se pensa que apenas uma concentração de triglicédeos séricos >1000 mg/dL (11.3 mmol/L) pode causar pancreatite (4, 5). Desse modo, as concentrações de triglicédeos são acentuadamente altas nesses pacientes, e não devem ser confundidas com a leve hiperlipidemia vista em aproximadamente 50% dos pacientes com pancreatite aguda de qualquer causa (4). Hipertrigliceridemia de leve à moderada na pancreatite aguda é mais comum do que a pancreatite devido à hipertrigliceridemia. Além disso, pacientes com uma moderada hipertrigliceridemia podem agudamente ter triglicédeos acentuadamente elevados e pancreatite após ingestão de certos medicamentos ou álcool. A patofisiologia da pancreatite induzida por hipertrigliceridemia não está completamente entendida (6). Atividades da amilase e lipase podem estar dentro

dos Ris naqueles pacientes com pancreatite que têm hipertrigliceridemia (4).

HEMÓLISE E PANCREATITE AGUDA

A associação de pancreatite aguda e hemólise é menos amplamente apreciada do que a associação de pancreatite com soro lipêmico. Hemólise maciça pode desencadear pancreatite aguda e, além disso, hemólise é vista em pacientes com casos de pancreatite aguda que possuem outras etiologias.

Aproximadamente 25% dos casos de hemólise maciça são complicados por pancreatite aguda (7). Tem sido proposto que as grandes quantidades de heme na corrente sanguínea estimulam um estado pró-inflamatório (8). Liberação da citocina induzida pelo heme pode levar à pancreatite aguda através do recrutamento de células inflamatórias e geração de espécies reativas de oxigênio, assim como via um efeito na microvasculatura pancreática levando à isquemia (9). O mecanismo da hemólise que resulta da pancreatite aguda não está bem compreendido.

PONTOS A SEREM LEMBRADOS

- Hemólise pode ocorrer *in vitro* e *in vivo* e é difícil de se distinguir por análise laboratorial apenas; portanto diretrizes para identificação da hemólise e ampla comunicação entre o laboratório e os clínicos são necessárias.
- Uma investigação sistemática deve ser feita para determinar a causa da hemólise no interesse da segurança do paciente.
- Hemólise pode afetar os valores laboratoriais de uma maneira específica do método e do analito, e se a hemólise *in vivo* for suspeitada esses valores são clinicamente importantes e devem ser relatados se interferência analítica da hemólise puder ser excluída.
- Hemólise *in vivo* pode tanto causar quanto ser causada por pancreatite aguda.

RESOLUÇÃO DO CASO

No quarto dia após admissão, o paciente tinha retornado ao seu estado normal de saúde; sua concentração de triglicerídeos séricos tinha diminuído para 698 mg/dL (7.89 mmol/L), e sua concentração de lipase sérica tinha caído para 122 U/L. Devido ao colesterol total apenas levemente elevado, esse paciente se enquadra na hiperlipidemia do tipo I ou do tipo V, que requer medição do VLDL para diferenciar (10). Ele recebeu alta com um diagnóstico de pancreatite aguda secundária à hipertrigliceridemia. A hemólise foi concluída ser *in vivo* por causa de sua persistência, as concentrações de haptoglobina na região inferior do RI, e a redução na

hemoglobina. Como anteriormente discutido, hipertrigliceridemia e hemólise podem ser causadas da pancreatite aguda. Nesse paciente, a principal causa foi concluída ser hipertrigliceridemia, por causa do histórico do paciente de episódios recorrentes de pancreatite aguda se correlacionando com episódios de mau controle dos triglicerídeos. Prescrições foram fornecidas para gemfibrozil e óleo de peixe para tratamento de sua hipertrigliceridemia. Na época de suas visitas de acompanhamento no consultório 1 semana e 3 meses mais tarde ele precisou de medicação para dor para pancreatite crônica e sua concentração do plasma de triglicerídeos permanecia elevada.

Notas de Rodapé

Contribuições dos Autores: Todos os autores confirmaram que eles contribuíram para o conteúdo intelectual desse paper e satisfizeram os 3 seguintes requisitos: (a) contribuições significantes para a concepção e design, aquisição de dados, ou análise e interpretação dos dados; (b) rascunhando ou revisando o artigo para conteúdo intelectual; e (c) aprovação final do artigo publicado.

Revelações dos Autores de Potenciais Conflitos de Interesse: Na submissão do manuscrito, todos os autores completaram o formulário de revelações dos autores. Revelações e/ou potenciais conflitos de interesse:

Emprego ou Liderança: D.E. Bruns, AACC.

Consultor ou Papel Consultivo: D.E. Bruns, Roche.

Posse dos Valores: Nada a declarar.

Honorários: Nada a declarar.

Fundo de Pesquisas: Nada a declarar.

Testemunho Hábil: Nada a declarar.

Recebido para publicação em 21 de Abril de 2011.

Aceito para publicação em 13 de Junho de 2011.

© 2012 The American Association for Clinical Chemistry

Referências

1. Carraro P. Hemolyzed specimens: a reason for rejection or a clinical challenge? *Clin Chem* 2000;46:306–7.
2. Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, Green S, Kitchen S, Palicka V, et al. Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:764–72.
3. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Brocco G, Guidi GC. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:311–6.
4. Yadav D, Pitchumoni CS. Issues in hyperlipidemic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2003;36:54–62.
5. Ewald N, Hardt PD, Kloer HU. Severe hypertriglyceridemia and pancreatitis: presentation and management. *Curr Opin Lipidol* 2009;20:497–504.
6. Yang F, Wang Y, Sternfeld L, Rodriguez JA, Ross C, Hayden MR, et al. The role of free fatty acids, pancreatic lipase and Ca²⁺ signaling in injury of isolated acinar cells and pancreatitis model in lipoprotein lipase deficient mice. *Acta Physiol* 2009;195:13–28.
7. Druml W, Laggner AN, Lenz K, Grimm G, Schneeweiss B. Pancreatitis in acute hemolysis. *Ann Hematol* 1991;63:39–41.
8. Saruc M, Yuceyar H, Turkel N, Ozutemiz O, Tuzcuoglu I, Ayhan S, et al. The role of heme in hemolysis-induced acute pancreatitis. *Med Sci Monit* 2007;13:67–72.
9. Araujo FB, Barbosa DS, Hsin CY, Maranhao RC, Abdalla DSP. Evaluation of oxidative stress in patients with hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 1995;117:61–71.
10. Frederickson DS. An international classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinemias. *Ann Intern Med* 1971;75:471–2.
11. Schrier SL. Approach to the diagnosis of hemolytic anemia in the adult. [UpToDate]. <http://www.uptodate.com/contents/approach-to-the-diagnosis-of-hemolytic-anemia-in-the-adult#subscribeMessage> (Accessed April 2012).

Comentário

Geraldine P. Schechter^{1,2,*}

+ Afiliações dos Autores

¹Hematology Section, Medical Service, Washington Veterans Affairs Medical Center, and

²Department of Medicine, George Washington University, Washington, DC.

* Envie correspondência para o autor para: Veterans Affairs Medical Center, 50 Irving St. NW, Washington, DC 20422. Fax 202-518-4300; e-mail g.p.schechter@med.va.gov.

Menos de 2% das amostras de sangue hemolisadas são devido à hemólise in vivo (1). Nesse paciente com um episódio relativamente leve de pancreatite, múltiplos espécimes hemolisados levantaram interesses sobre a hemólise in vivo por causa dos achados coincidentes de uma concentração de haptoglobina de 56 mg/dL, na região inferior do intervalo de referência, e uma diminuição na hemoglobina de 14.6 para 13.8 g/dL. Da perspectiva do clínico, o pequeno declínio na hemoglobina foi mais provavelmente explicado pela administração de hidratação intravenosa em vez da hemólise. Anemia hemolítica aguda na pancreatite é geralmente secundária à coagulação intravascular disseminada como resultado de graves complicações não evidentes nesse paciente.

Se provar a hemólise in vivo nessa situação é difícil. Elevadas atividades da desidrogenase láctica podem resultar da hemólise in vitro. A contagem de reticulócitos está frequentemente dentro dos intervalos de referência na hemólise aguda devido à um atraso na resposta da medula. A presença de esquistócitos ou reticulócitos “de mudança” em um esfregaço de sangue peri-

férico poderia ter apontado para hemólise in vivo. Haptoglobina sérica, a despeito de ser um reagente da fase aguda, permanece o melhor teste da hemólise in vivo. Hemolisar os pacientes que possuem inflamação indicada por elevadas concentrações de proteínas C reativas geralmente terão baixas concentrações de haptoglobina de <30 mg/dL (2) porque o complexo haptoglobina/hemoglobina é limpo da circulação com uma meia-vida de 10 a 30 min. Ter repetido a análise da haptoglobina 24 h mais tarde teria sido útil para avaliar se os espécimes hemolisados eram devido à continuação da hemólise intravascular, porque a haptoglobina requer 5 dias para se regenerar. Pode-se especular que a circulação das enzimas pancreáticas pode ter resultado em anormalidades subclínicas das membranas, tornando as hemácias mais suscetíveis às causas pré-analíticas comuns da hemólise de espécime (1). Uma causa menos provável era a liberação local de hemoglobina na circulação pelo efeito prejudicial das enzimas liberadas nos hematomas in situ, portanto imitando a hemólise intravascular.

Notas de Rodapé

Contribuições dos Autores: Todos os autores confirmaram que eles contribuíram para o conteúdo intelectual desse paper e satisfizeram os 3 seguintes requisitos: (a) contribuições significantes para a concepção e design, aquisição de dados, ou análise e interpretação dos dados; (b) rascunhando ou revisando o artigo para conteúdo intelectual; e (c) aprovação final do artigo publicado.

Revelações dos Autores de Potenciais Conflitos de Interesse: Nenhum autor declarou qualquer potencial conflito de interesse.

Recebido para publicação em 18 de Março de 2011.

Aceito para publicação em 26 de Março de 2012.

© 2012 The American Association for Clinical Chemistry

Referências

1. Carraro P, Servidio G, Plebani M. Hemolyzed specimens: a reason for rejection or a clinical challenge. *Clin Chem* 2000;42:306–7.
2. Kormoczi GF, Saemann C, Buchta M. Influence of clinical factors on the haemolysis marker haptoglobin. *Eur J Clin Invest* 2006;36:202–9.

Comentário

Neil S. Harris*, Lindsay A.L. Bazydlo and William E. Winter

+ Afiliações dos Autores

Department of Pathology, Immunology and Laboratory Medicine, University of Florida College of Medicine, Gainesville FL.

* Envie correspondência para esse autor para: Department of Pathology, Immunology and Laboratory Medicine, University of Florida College of Medicine, P.O. Box 100275, Gainesville, FL, 32610-0275. Fax 352-265-0437; e-mail harris@pathology.ufl.edu.

Normalmente, hemólise intravascular é responsável por aproximadamente 10% da destruição total das hemácias. Ao passo que hemólise in vitro produz resultados laboratoriais incorretos, a liberação in vivo da hemoglobina livre das hemácias desencadeia uma sequência de efeitos fisiológicos prejudiciais. Primeiro, a hemoglobina livre une o óxido nítrico e limpa esse importante vasodilatador. Segundo, a hemoglobina livre passará por oxidação, que resulta na formação da metahemoglobina, heme globina-ferril de radicais livres, e íons superóxidos. O último pode passar por dismutação para formar peróxido de hidrogênio. Interação adicional do peróxido de hidrogênio ou com a desoxi-

com a oxihemoglobina pode resultar na formação da hemoglobina ferril e até mesmo de mais superóxido.

Um dos principais mecanismos de proteção no plasma é a haptoglobina protéica. Dímeros da hemoglobina livre se ligam à haptoglobina com afinidade muito alta, e esses complexos são rapidamente removidos por um receptor macrófago CD163. Quando a haptoglobina está saturada, a hemoglobina em excesso (geralmente agora na forma de metahemoglobina oxidada) liberará ferriheme livre, que primeiro se une à albumina, formando a metahemalbumina, seguido de uma transferência para outra proteína protetora do plasma, a hemopexina.

Heme livre lipofílico catalisa a formação de radicais ativos e se intercala nas membranas do plasma. A união entre o heme e a hemopexina permite que o heme permaneça solúvel em um ambiente aquoso, e a heme-hemopexina é removida por interação com o amplamente expresso receptor CD91/proteína relacionada ao receptor LDL (1, 2).

Tanto a haptoglobina quanto a hemopexina por fim entregam heme às células do sistema reti-

culoendotelial, ativando outro processo protetor. Heme oxigenase degrada o heme para liberar ferro, monóxido de carbono, e biliverdina, e a última é reduzida para bilirrubina. Dessa maneira, a hemoglobina liberada é impedida de exercer efeitos prejudiciais. Na química clínica, a marca desses sistemas protetores é a não conjugada hiperbilirrubinemia associada com hemólise e até mesmo um leve/moderado aumento da carboxihemoglobina.

Notas de Rodapé

Contribuições dos Autores: Todos os autores confirmaram que eles contribuíram para o conteúdo intelectual desse paper e satisfizeram os 3 seguintes requisitos: (a) contribuições significantes para a concepção e design, aquisição de dados, ou análise e interpretação dos dados; (b) rascunhando ou revisando o artigo para conteúdo intelectual; e (c) aprovação final do artigo publicado.

Revelações dos Autores de Potenciais Conflitos de Interesse: Nenhum autor declarou qualquer potencial conflito de interesse.

recebido para publicação em 29 de Março de 2012.

Aceito para publicação em 2 de Abril de 2012.

© 2012 The American Association for Clinical Chemistry

Referências

1. Nielsen MJ, Møller HJ, Moestrup SK. Hemoglobin and heme scavenger receptors. *Antioxid Redox Signal* 2010;12:261–73.
2. Delanghe JR, Langlois MR. Hemopexin: a review of biological aspects and the role in laboratory medicine *Clin Chim Acta* 2001;312:13–23.

“This article has been translated with the permission of AACC. AACC is not responsible for the accuracy of the translation. The views presented are those of the authors and not necessarily those of the AACC or the Journal. Reprinted from *Clin Chem*, 2012; 58:6 974-977, by permission of AACC. Original copyright © 2011 American Association for Clinical Chemistry, Inc. When citing this article, please refer to the original English publication source in the journal, *Clinical Chemistry*.”

“Este artigo foi traduzido com a permissão da AACC. AACC não é responsável pela acurácia da tradução. Os pontos de vista apresentados são aqueles dos autores e não necessariamente os da AACC ou do *Journal*. Reimpresso da *ClinChem*, 2012; 58:6 974-977, por permissão da AACC. Cópia original © 2011 American Association for Clinical Chemistry, Inc. Quando citar este artigo, por favor refira-se à fonte de publicação original em inglês na revista, *Clinical Chemistry*.”