

Nozioni di base sul prelievo di sangue venoso



La guida “Principi di base del prelievo di sangue venoso” è destinato a medici, medici di laboratorio, infermieri, flebotomisti, personale di laboratorio e assistenti medici di cliniche e studi medici.

Il motivo di questa guida è che “secondo dati affidabili, gli errori preanalitici sono ancora oggi quasi il 60%–70% di tutti i problemi nella diagnostica di laboratorio e la maggior parte di loro è dovuta a errori nel prelievo, nella manipolazione, nella preparazione o nella conservazione dei campioni. Sebbene per la maggior parte vengano "riconosciuti" prima che si verifichino risposte inappropriate, questi errori possono portare a indagini non adeguate e ad aumenti ingiustificati dei costi in quasi un quinto dei casi, causando anche decisioni cliniche inappropriate e alcune reazioni avverse.”*

L'obiettivo è aumentare la consapevolezza dei numerosi fattori che influenzano la preanalisi e concentrarsi sui punti di contatto con il prelievo di sangue venoso.

Viene illustrato il prelievo di sangue venoso con il sistema SARSTEDT S-Monovette®, allo scopo principale di facilitare, soprattutto ai nuovi utenti dopo adeguate istruzioni, il corretto prelievo di sangue venoso, in particolare con la tecnica dell'aspirazione.

Dal punto di vista della medicina di laboratorio, l'importanza della preanalitica è essenziale per l'intero processo di campionamento, dalla richiesta di laboratorio e dal prelievo del campione fino all'interpretazione dei risultati di laboratorio, in quanto contribuisce a determinare in modo decisivo il mantenimento dell'integrità del campione.

* Lippi et al. Preanalytical quality improvement: from dream to reality CCLM 2011 49(7):1113-26. DOI: 10.1515/CCLM.2011.600

1	Che cosa significa preanalitica?	Pag. 6–9
1.1	Principi della preanalitica	7
1.2	Conseguenze frequenti di errori preanalitici	8
1.3	La comunicazione come fattore di successo	9
2	Fattori di influenza e fattori interferenti	10–19
2.1	Fattori di influenza	11
2.1.1	Fattori di influenza non controllabili	12–14
2.1.2	Fattori di influenza controllabili	14–17
2.2	Fattori interferenti	18–19
3	Il prelievo venoso	20–27
3.1	Preparazione del paziente	21
3.2	Quali sono le responsabilità del soggetto che esegue il prelievo ematico?	21
3.3	Identificazione	22–23
3.4	Ambiti d'applicazione	25
3.5	Sequenza del prelievo	26
3.6	Come evitare il riempimento insufficiente	27
4	Esecuzione del prelievo venoso	28–43
4.1	Condizioni standard del prelievo ematico	29
4.2	Raccolta del materiale d'analisi: 12 passaggi	29
4.3	Stasi venosa e sedi di prelievo	30–31
4.4	Problemi prima / durante il prelievo ematico	32
4.5	Tecnica di prelievo in aspirazione e sottovuoto	33
4.5.1	Tecnica di prelievo in aspirazione con la S-Monovette®	33–35
4.5.2	Tecnica di prelievo sottovuoto con la S-Monovette®	36–37
4.6	Prelievo ematico da catetere	38–39
4.7	Prelievo ematico per diagnostica tramite emocoltura	40
4.7.1	Requisiti igienici	41
4.7.2	Istruzioni per il prelievo ematico	42
4.7.3	Volume dei campioni e numero dei flaconi	43
5	Il prelievo ematico in pediatria	44–55
5.1	Anamnesi	45
5.2	Requisiti per il prelievo ematico	46
5.3	Prelievo ematico in pediatria	46
5.3.1	Il prelievo venoso	47–48
5.4	Differenza tra sangue capillare e sangue venoso	49
5.5	Intervalli normali	49–51
5.6	L'emostasi in pediatria	52–53

6	La sicurezza nel prelievo ematico	54–59
6.1	Ago Safety	56
6.2	Ago Safety-Multifly®	57
6.2.1	Istruzioni per il prelievo ematico	57
6.2.2	Applicazione di infusione a breve termine	57
6.3	Contenitori per smaltimento Multi-Safe	58–59
7	Centrifugazione	60–65
7.1	Manipolazione corretta durante la centrifugazione	61
7.2	Differenza tra rotore ad angolo fisso e rotore oscillante	62
7.3	Prelievo di siero	63
7.4	S-Monovette® – Condizioni di centrifugazione	64
7.5	Risalita del gel durante la centrifugazione	65
8	Emolisi: di cosa si tratta?	66–71
8.1	Emolisi <i>in vivo</i>	68
8.2	Emolisi <i>in vitro</i>	69
8.3	Conseguenze di un'emolisi	70
8.4	Rilevanza clinica	71
9	Conservazione e trasporto	72–79
9.1	Trasporto dei campioni	73–74
9.2	Effetti di temperatura, tempo e metabolismo cellulare	75–79
10	Riferimenti bibliografici	80–81
11	Note legali	82

1 Che cosa significa fase pre-analitica?

“La fase preanalitica comprende tutti i processi eseguiti sul campione prima dell’analisi in laboratorio.”



1.1 Principi della preanalitica

La fase preanalitica rappresenta in media circa il 57 %¹ dell'intera procedura compresa tra il paziente e il risultato analitico. Questa fase include tra l'altro l'indicazione, l'informazione e l'identificazione del paziente, il prelievo del campione con successivo trasporto e la sua conservazione fino alla centrifugazione e all'inoltro al laboratorio.

In breve, comprende svariate fasi operative e numerosi ambiti.

¹ Guder et al.; Proben zwischen Patient und Labor; 2009

Numerose sono le possibilità di influenzare e alterare i risultati dell'analisi durante ogni fase di questo processo.

Nota: Circa il 25% degli errori commessi nella fase preanalitica hanno conseguenze per i pazienti!

È quindi ancora più importante che tutti coloro che sono coinvolti in questo processo siano informati dei possibili fattori di influenza e fonti di errore affinché, a fronte di tale consapevolezza, siano in grado di agire correttamente per evitare risultati errati. La correttezza del risultato dipende infatti direttamente dalla qualità del campione prelevato.

1.2 Conseguenze frequenti di errori preanalitici

Il prelievo ematico può modificare i valori?

Errori frequenti

Emolisi



44 %²

Riempimento insufficiente



17 %²

Coagulo di sangue nel campione



8 %²

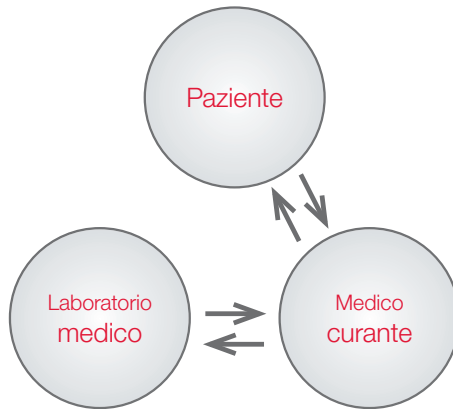
² Bonini et al.; Errors in Laboratory Medicine; Clin Chem 2002; 48(5): 691-98

Nota: *Il 70–85 % delle decisioni cliniche si basano su risultati di analisi di laboratorio!*³

³ Foubister, Vida. Cap Today Bench press: The Technologist/technician shortfall is putting the squeeze on laboratories nationwide September 2000; Datta, P. Resolving Discordant Samples. Advance for the Administrators of Laboratories; 2005: p.60

1.3 La comunicazione come fattore di successo

Una buona comunicazione tra le persone coinvolte facilita il flusso di lavoro, evita malintesi e previene gli errori preanalitici dovuti all'assenza di informazioni o alla presenza di informazioni errate.



Nota: I problemi nell'ambito della fase preanalitica non potranno mai essere risolti singolarmente, ma soltanto attraverso la collaborazione di tutte le persone coinvolte nel processo, tra cui ad es. i medici, il personale sanitario e infermieristico e il laboratorio.

Obiettivo

Condizioni standardizzate per ...

- Preparazione del prelievo ematico
- Procedura di prelievo
- Conservazione / trasporto al laboratorio

Risultato

- Sicurezza per il paziente
- Riduzione dei costi dell'intero processo (ore di lavoro!)

2 Fattori influenzanti e fattori interferenti

“Dal prelievo ematico alla correttezza analitica, fino alla validazione del referto analitico, sono indispensabili l'esatta conoscenza e il rigoroso rispetto dei fattori influenzanti e dei fattori interferenti.”



2.1 Fattori influenzanti

Quali sono le informazioni che responsabilmente deve fornire il paziente?

- Indicazioni corrette per l'anamnesi
- Terapie farmacologiche (ad es. assunzione di Marcumar, pillola contraccettiva, integratori alimentari)
- Alimentazione (ad es. vegana, vegetariana, diete particolari, digiuno)
- Processo di campionamento corretto (sangue, urina, feci, ecc.)

Affinché il paziente fornisca le indicazioni corrette per l'anamnesi, è essenziale porre le domande giuste **prima** del prelievo.

È importante tener conto di tutti i fattori di influenza, in quanto:

***I fattori influenzanti alterano le concentrazioni degli analiti.
L'effetto sulla concentrazione non dipende dalla malattia
e deve essere considerato nella valutazione dei risultati.***

I fattori influenzanti e i fattori interferenti illustrati nel capitolo seguente non costituiscono un elenco esaustivo. Per presentare questa tematica sono stati selezionati vari esempi.

2.1.1 Fattori influenzanti non controllabili



Popolazione

Esistono differenze significative nella popolazione africana rispetto alla popolazione europea in termini di valori ematici.

- Il numero di leucociti è significativamente più basso
- La concentrazione di vitamina B12 è 1,35 volte più elevata
- Gli intervalli di riferimento per creatinina, CK e alfa-amilasi sono significativamente più elevati

L'attività dell'alcol deidrogenasi è ridotta negli asiatici rispetto agli europei. La popolazione asiatica presenta inoltre una maggiore intolleranza al lattosio.



Sesso

Oltre ad altri elementi specifici legati al sesso (ad es. gli ormoni), anche la massa muscolare influisce su alcuni parametri.

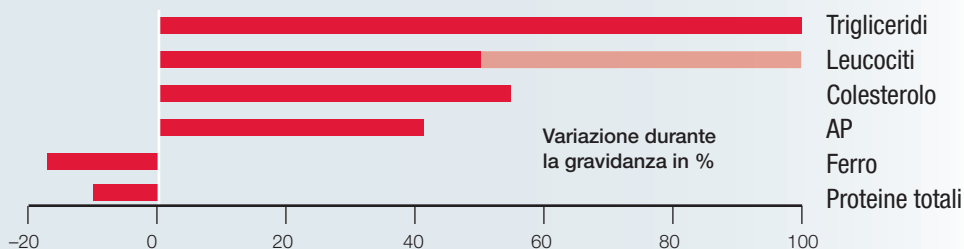
- Siccome la Creatina chinasi (CK) e la creatinina dipendono dalla massa muscolare, le loro concentrazioni sono generalmente molto più elevate negli uomini
- Per numerosi parametri è opportuno utilizzare intervalli di riferimento specifici legati al sesso



Gravidanza

La velocità di eritrosedimentazione (VES) aumenta di 5 volte durante la gravidanza.¹

¹ Guder et al.; Proben zwischen Patient und Labor; 2009



⁴ Seelig et al.; Präanalytik; 2008

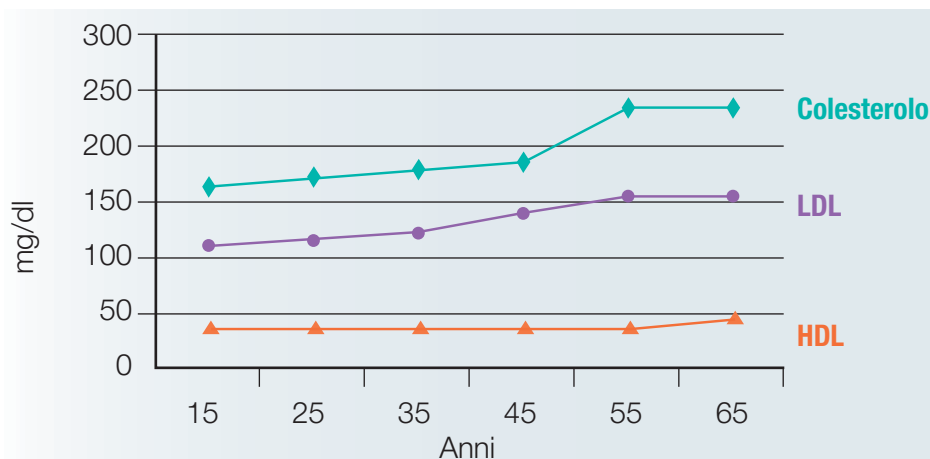


Età

Con l'età si osserva spesso un aumento dei livelli di colesterolo in entrambi i sessi. L'attività della fosfatasi alcalina nel plasma sanguigno è influenzata dal metabolismo osseo ed è quindi al suo massimo livello nei bambini in crescita e dopo una frattura.

I livelli di bilirubina, ematocrito ed emoglobina fetale sono più elevati nei lattanti (altri esempi sono disponibili nel *Capitolo 5 – Prelievo ematico in pediatria*).

Per molti parametri sono pertanto auspicabili intervalli di riferimento dipendenti dall'età, ma spesso tali riferimenti non esistono.



⁵ Guder, Narayanan; Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results 2015 DOI:10.1515/9783110334043



Ritmo biologico

La produzione di vitamina D (25OH) è soggetta a variazioni stagionali. In estate, l'aumento delle radiazioni UV permette di sintetizzare una maggiore quantità di vitamina D rispetto a quanto avviene in inverno.

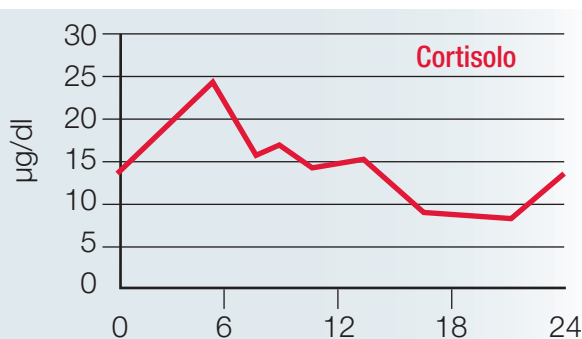


Ritmo circadiano

Anche noto come variazione ritmica giornaliera, il ritmo circadiano influisce sulle concentrazioni previste nel corso di una giornata per alcuni parametri endocrinologici e chimico clinici (ad es. renina, cortisolo, adrenalina, noradrenalina, VMA e TSH).

Il momento del prelievo è particolarmente importante per questo tipo di parametri e le misurazioni di controllo dovrebbero sempre essere eseguite in contemporanea. In linea di principio si consiglia di segnare l'ora del prelievo e comunicarla al laboratorio.

In alternativa, campioni raccolti nelle 24 ore (ad es. urina o saliva) consentono di ottenere risultati comparabili. Un esempio noto in questo contesto è rappresentato dal cortisolo come indicatore di stress, la cui massima concentrazione viene misurata al mattino.



Nota:

Il ritmo circadiano (o orologio biologico) può variare per effetto di viaggi attraverso diversi fusi orari e/o in caso di lavoro su turni. In caso di parametri influenzati dal ritmo circadiano, si raccomanda di chiarire questo aspetto in fase di anamnesi.

⁵ Guder, Narayanan; Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results 2015 DOI:10.1515/9783110334043

2.1.2 Fattori influenzanti controllabili



Uso di droghe

L'uso regolare di droghe, tra cui cannabis, eroina o morfina, provoca un'alterazione nel sangue dei seguenti parametri clinico-chimici:

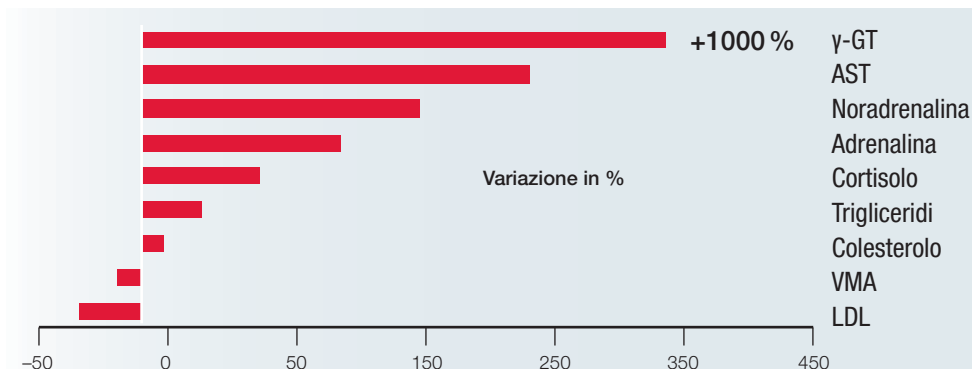
Il consumo di cannabis porta a un aumento delle concentrazioni di cloruro, urea, insulina, potassio e sodio nel sangue, mentre diminuiscono le concentrazioni di glucosio, acido urico e creatinina.

Il consumo di eroina provoca un aumento dei livelli di colesterolo, potassio e tiroxina. L'assunzione di morfina determina un aumento delle concentrazioni di ALT, amilasi, AP, bilirubina, lipasi, prolattina e TSH, ma comporta un calo delle concentrazioni di insulina e noradrenalina.



Stimolante: alcol

L'abuso cronico di alcol determina un aumento delle attività degli enzimi epatici, ad es. γ -GT, AST/ALT, mentre si riducono i valori di acido folico e vitamina B6.

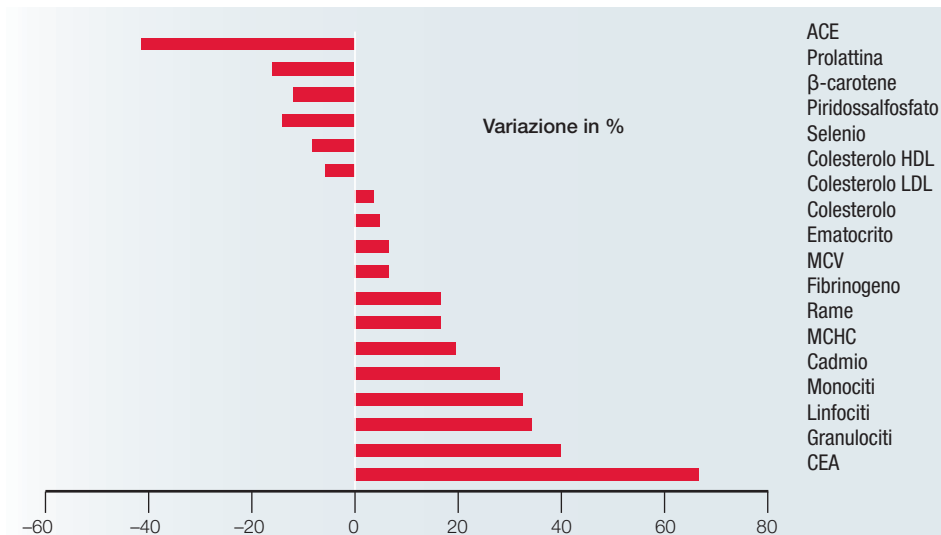


⁴ Guder, Narayanan; Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results 2015 DOI:10.1515/9783110334043, chapter 3.3.3



Stimolante: nicotina

Il consumo cronico di nicotina aumenta il numero di leucociti, di marcatori tumorali, tra cui CEA (in misura estremamente significativa negli uomini) e la fosfatasi alcalina placentare (PLAP).



⁴ Guder, Narayanan; Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results 2015 DOI:10.1515/9783110334043, chapter 3.3.3



Stimolante: caffeina

Già 200 mg di caffeina (2 tazzine di caffè Robusta o 2–4 tazzine di caffè Arabica) aumentano sia i livelli di adrenalina e noradrenalina che quelli del cortisolo (cortisolo + 40%).



Assunzione di farmaci

La penicillina e l'ibuprofene possono causare un aumento della concentrazione plasmatica di potassio, che invece diminuisce sotto l'effetto dell'insulina. La somministrazione di penicillina prolunga anche il tempo di tromboplastina (Quick).

L'assunzione di acido acetilsalicilico (ASS) aumenta i valori di AST (GOT), ALT (GPT), creatinina e acido urico in funzione del dosaggio.

Il Fenobarbital, somministrato nel trattamento dell'epilessia e per la preparazione dell'anestesia, esercita un effetto di induzione enzimatica. L'attività di AP e γ -GT aumenta, mentre la concentrazione di bilirubina nel sangue diminuisce.

Inoltre, i diuretici influiscono sull'equilibrio elettrolitico. Il loro effetto si manifesta a seconda della classe di sostanze, sui livelli di potassio, calcio e magnesio.

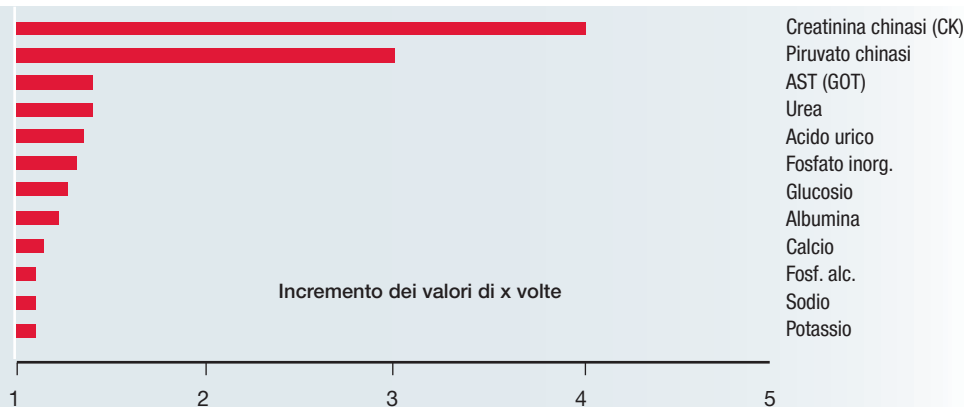
La somministrazione di Pantoprazolo (inibitore della pompa protonica) può causare una diminuzione dei livelli di calcio nel sangue.

I lassativi possono causare una diminuzione dei livelli di potassio.



Attività fisica

L'attività fisica, rispetto allo stato di riposo, può determinare l'aumento di diversi parametri chimico clinici.



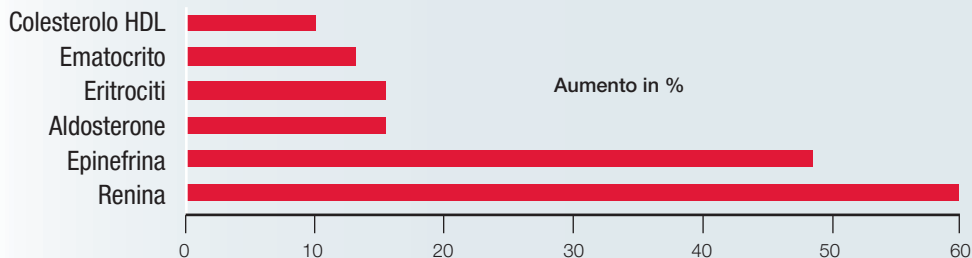
⁵ Guder, Narayanan; Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results 2015 DOI:10.1515/9783110334043

In questo caso l'attività fisica si riferisce a uno sforzo fisico eccezionale. Nelle persone sane può ad esempio trattarsi di una maratona, mentre per i pazienti allettati può rappresentare uno sforzo fisico eccezionale anche soltanto recarsi dal medico.



Influenza della posizione del corpo

La distribuzione dell'acqua nell'organismo è diversa a seconda della posizione assunta dal corpo. Alcuni parametri, come le cellule ematiche, le proteine e le sostanze legate alle proteine, hanno quindi concentrazioni più elevate se il paziente è seduto rispetto a quando è sdraiato.



⁵ Guder, Narayanan; Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results 2015 DOI:10.1515/9783110334043



Variazioni dovute al regime alimentare

Variazione delle concentrazioni degli analiti dopo digiuno di 4 settimane o dopo un pasto standard da 800 kcal.

Analita	Variazione in %	
	Digiuno	Pasto standard
Albumina, proteine totali	- 10	+ 5
Bilirubina		+ 15
Calcio		+ 5
γ-glutamilttransferasi (γ-GT)	- 50	
Glucosio		+ 15
AST (GOT)	+ 30	+ 20
ALT (GPT)		+ 10
Acido urico	+ 20	+ 5
Urea	- 20	+ 5
Potassio		+ 10
Creatinina	+20	
Fosforo		+ 15
Trigliceridi	- 40	

⁴ Seelig et al.; Präanalytik; 2008

2.2 Fattori interferenti

I fattori interferenti possono modificare i risultati delle misure e interferire con essi a seconda del metodo utilizzato.

La modifica del metodo di misurazione può eventualmente eliminare i fattori interferenti.

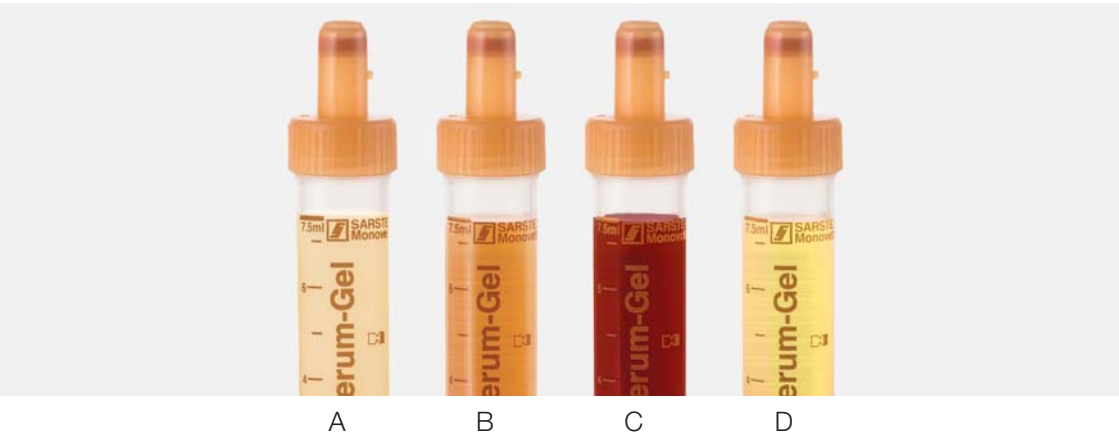


Immagine	Descrizione	Possibile causa
A	Lipemia	Dovuta a malattia o paziente non a digiuno
B	Ittero	Dovuto a sindrome o malattia
C	Emolisi	Errore in fase preanalitica o dovuta a malattia
D	Normale	Condizioni preanalitiche ottimali e corrette

Si distingue tra fattori interferenti propri dell'organismo (endogeni) ed esterni all'organismo (esogeni). Qui di seguito sono descritti alcuni esempi di fattori interferenti:

Fattori interferenti propri dell'organismo (endogeni)

Causa	Conseguenza
<ul style="list-style-type: none"> – Sindrome di Gilbert – Sindrome di Crigler-Najjar – Epatite acuta – Insufficienza epatica acuta 	<ul style="list-style-type: none"> → Iperbilirubinemia = ittero → Possibile interferenza ad es. in colesterolo, creatinina, acido urico
<ul style="list-style-type: none"> – Sferocitosi – Emolisi immune – Anticorpi emolitici – Emoglobinopatia 	<ul style="list-style-type: none"> → Emolisi → Distorsione significativa di numerosi metodi di misurazione ottici → Aumento dei valori misurati dovuto alla liberazione di eritrociti (ad es. potassio, LDH, AST)
<ul style="list-style-type: none"> – Iperlipoproteinemia – Alterazione del metabolismo lipidico 	<ul style="list-style-type: none"> → Lipemia → Prelievo ematico su paziente non a digiuno → Distorsione significativa di numerosi metodi di misurazione ottica – Valori falsamente bassi durante la misurazione degli elettroliti (sodio, potassio) dovuti all'effetto di diluizione
– Ematocrito > 65 %	→ Aumento di PTT e aPTT6
– Ematocrito < 20 %	→ Riduzione di PTT e aPTT

⁶ Endler et al.; The importance of preanalytics for the coagulation laboratory; Hämostaseologie 2010; 30(2): 63-70

Fattori interferenti esterni all'organismo (esogeni)

Causa	Conseguenza
<ul style="list-style-type: none"> – Farmaci (soluzione per infusione, antibiotici, emoderivati) – Anticoagulanti (contaminazione dovuta a carry-over di preparazioni) – Contaminazioni (batteri, funghi, biofilm batterico da catetere venoso centrale (CVC) per emocoltura) 	<ul style="list-style-type: none"> → risultati errati (possibile aumento o diminuzione)
– Bicicletta o equitazione	→ possono aumentare il valore del PSA

3 Il prelievo venoso

“Il sangue venoso è il materiale d’analisi più importante per fornire risposte agli interrogativi medici. Riveste pertanto particolare importanza la tecnica di prelievo corretta.”



3.1 Preparazione del paziente

Informazioni al paziente

- Informare il paziente in modo comprensibile sulle misure diagnostiche da adottare e sul loro scopo e significato aiuta a ridurre l'ansia e lo stress.

Spiegazione di determinate regole da rispettare, a integrazione delle informazioni fornite al paziente, ad es. riguardanti quanto segue

- Assunzione di farmaci
- Rispetto di determinati regimi alimentari
- Prelievo a digiuno (ad esclusione della diagnostica d'emergenza)

I bambini, in particolare, hanno bisogno di un'accurata preparazione, adattando le informazioni alla loro capacità di comprensione.

3.2 Quali sono le responsabilità del soggetto che esegue il prelievo ematico?

- Organizzazione del prelievo
- Corretta documentazione (identificazione del paziente e orario)
- Istruzione e preparazione del paziente per il prelievo
- Preparazione del campione (eventuale centrifugazione)
- Conservazione fino al trasporto in laboratorio (se necessario refrigerazione/riscaldamento)

Attenzione:

La comunicazione con il laboratorio e, se necessario, con il servizio di trasporto è essenziale per garantire modalità di trasporto e conservazione corrette!

Per ulteriori informazioni si rimanda al *Capitolo 10 – Trasporto e conservazione*.

3.3 Identificazione

Identificazione del paziente

- Cognome
- Nome
- Data di nascita
- Se necessario: numero identificativo, reparto, numero stanza

Gli errori non avvengono soltanto in caso di cognomi comuni.

Importante: Porre sempre domande dirette.

Non chiedere mai: “Lei è il Sig. Rossi?”

Questa domanda può essere interpretata erroneamente da un paziente con problemi d'udito, sordo o anziano, che potrebbe rispondere in modo affermativo con un semplice cenno.

Il paziente seduto sul letto indicato potrebbe anche essere soltanto un visitatore.

In caso di incertezza sull'identità del paziente, il prelievo dovrebbe essere eseguito previo opportuna verifica.

Identificazione del soggetto che esegue il prelievo ematico

Si deve conoscere l'identità del soggetto che esegue il prelievo ematico.

- Se necessario, riportare l'informazione sul modulo di richiesta

Eventuali domande sul tipo e l'ora del prelievo, possibili problemi durante il prelievo, sulle condizioni del paziente e su altri importanti particolari potrebbero essere d'aiuto in caso di risultati poco chiari.

Identificazione del medico richiedente

L'identità del medico richiedente consente eventuali approfondimenti in caso di

- richieste **illeggibili** (ad es. richiesta di visita specialistica)
- richieste **errate** (ad es. fosfatasi prostatica per una paziente di sesso femminile)
- indicazione delle analisi più importanti in caso di quantità insufficiente di campione

Identificazione del campione

- Le **provette** sprovviste di chiara identificazione non devono mai essere analizzate.
- Le **etichette con codice a barre** forniscono una chiara identificazione.
- L'**identificazione** deve sempre essere applicata al contenitore primario.
- In caso di **contenitori di vetro o plastica** utilizzare soltanto pennarelli resistenti all'acqua.
- Eventuali **additivi** (inibitore della coagulazione, attivatore della coagulazione, gel) sono identificati da una codifica colore delle provette. A causa della mancanza di una standardizzazione internazionale, può eventualmente rendersi necessaria un'etichettatura supplementare.

Non apporre mai l'identificazione del campione sul tappo, sull'imballaggio esterno o sul contenitore di trasporto.

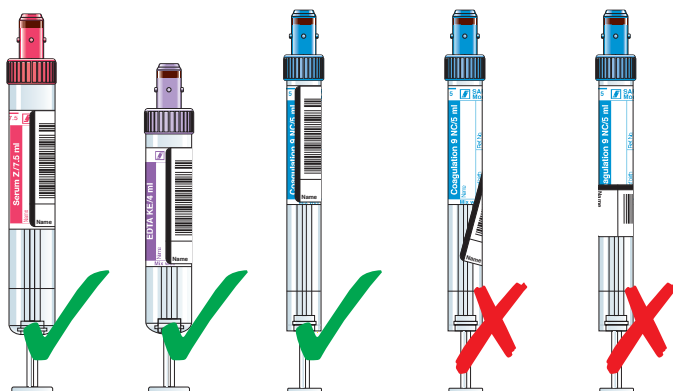


Requisiti legali ed etichettatura

- Il materiale per analisi inviato ed eventuali quantità parziali dello stesso devono essere associati a un paziente in modo inequivocabile. In caso contrario, il laboratorio medico non deve processare il materiale.

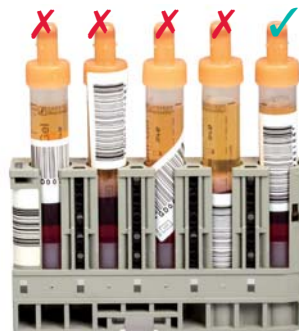
⁷ RiLiBÁK (Direttive Ordine federale dei medici) § 6.1.7. Parte A5

Soluzione: applicare il codice a barre sulla provetta un istante prima del prelievo ematico.



- Le provette sono etichettate in modo corretto quando:

- è possibile effettuare un esame visivo del contenuto
- è possibile controllare il livello di riempimento
- il tappo a vite può essere facilmente rimosso
- le provette e le etichette non si inceppano o si incollano nella centrifuga



3.4 Ambiti d'applicazione

Descrizione	In base a BS 4851 (codice UE)	ISO 6710:2017	Ambito d'applicazione
S-Monovette® Siero			Chimica clinica, sierologia, esami speciali
S-Monovette® Siero Gel			Chimica clinica, sierologia (solo diagnostica di routine)
S-Monovette® Citrato (1:10)			Analisi della coagulazione (ad es. Quick, PTT, TT, fibrinogeno)
S-Sedivette® VES (1:5)			Determinazione della VES secondo Westergren e/o S-Sedivette®
S-Monovette® Litio-Eparina			Prelievo di plasma per chimica clinica, sierologia
S-Monovette® Litio-Eparina Gel			Prelievo di plasma per chimica clinica, sierologia
S-Monovette® EDTA KE			Ematologia (ad es. Hb, HC, eritrociti, leucociti)
S-Monovette® Glucosio (Fluoruro/EDTA)			Determinazione di glucosio e lattato deidrogenasi.
S-Monovette® GlucoEXACT (Fluoruro/citrato)			Determinazione del glucosio (stabilità 48 h, temp.amb.)
S-Monovette® Analisi metalli			Analisi metalli

3.5 Sequenza del prelievo

In passato la corretta sequenza del prelievo è stata oggetto di intense e continue discussioni. Le attuali conoscenze e gli studi più recenti mostrano tuttavia che, impiegando un moderno sistema di prelievo ematico, è altamente improbabile che si verifichi un carry-over di additivi in caso di impiego corretto di un sistema chiuso di prelievo. Ad esempio, in caso di prelievo con l’ago Safety e la S-Monovette® non è stato osservato alcun carry-over di EDTA.⁸









L’eventuale carry-over di EDTA in una provetta contenente siero o eparina può aumentare i valori di potassio e ridurre quelli di calcio.⁹

Per ottenere condizioni di sicurezza ottimali anche nelle circostanze più sfavorevoli, si raccomanda tuttavia di attenersi a una delle seguenti sequenze di prelievo.











⁸ Sulaiman, Effect of order of draw samples during phlebotomy on routine biochemistry results; J Clin Pathol. 2011; 64(11): 1019-20
⁹ Calam et al.; Recommended “Order of Draw” for Collecting Blood Specimens into Additive-Containing Tubes; Clin. Chem.; 1982; 28(6): 1399

Sequenza di prelievo consigliata

Secondo Gurr¹⁰:

In base a BS 4851 (codice UE)	ISO 6710:2017	
		Emocoltura
		Provetta con siero / siero gel
		Provetta citrato
		Provetta con eparina / eparina gel
		Provetta con EDTA
		Provetta con fluoruro / citrato fluoruro

Secondo CLSI¹¹:

In base a BS 4851 (codice UE)	ISO 6710:2017	
		Emocoltura
		Provetta citrato
		Provetta con siero / siero gel
		Provetta con eparina / eparina gel
		Provetta con EDTA
		Provetta con fluoruro / citrato fluoruro

¹⁰ Gurr et al.; Musterstandardarbeitsanweisung Präanalytik; J Lab Med 2011
¹¹ CLSI Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, Approved Standard 2007, 6th edition GP 41-A6 (former H3-A6), 27 (26)

3.6 Come evitare il riempimento insufficiente

Per evitare misurazioni errate o non conformità in laboratorio causate da riempimento insufficiente, è necessario che il volume di riempimento sia corretto. In linea generale, tale principio deve essere considerato per tutte le preparazioni. Il riempimento corretto della provetta di prelievo ematico risulta fondamentale in particolare in caso di provette con citrato destinate all'analisi della coagulazione. Il riempimento insufficiente può causare un eccesso di citrato nella provetta (rapporto tra sangue e additivo). Poiché il citrato si lega al calcio, verrà legata una quantità di calcio superiore a quella attesa, con effetti sui risultati analitici. Se si esegue il prelievo con un ago Safety-Multifly® e si preleva per primo il citrato, si avrà un riempimento insufficiente dovuto al volume morto nel tubo.

Nota: *quanto più lungo è il tubo utilizzato, tanto maggiore sarà il riempimento insufficiente*

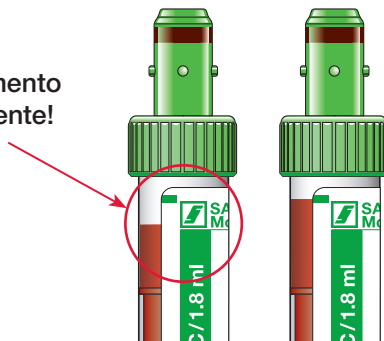
Volume morto = volume nel tubo:

Tubo di 30 cm: circa 450 µl

Tubo di 20 cm: circa 300 µl

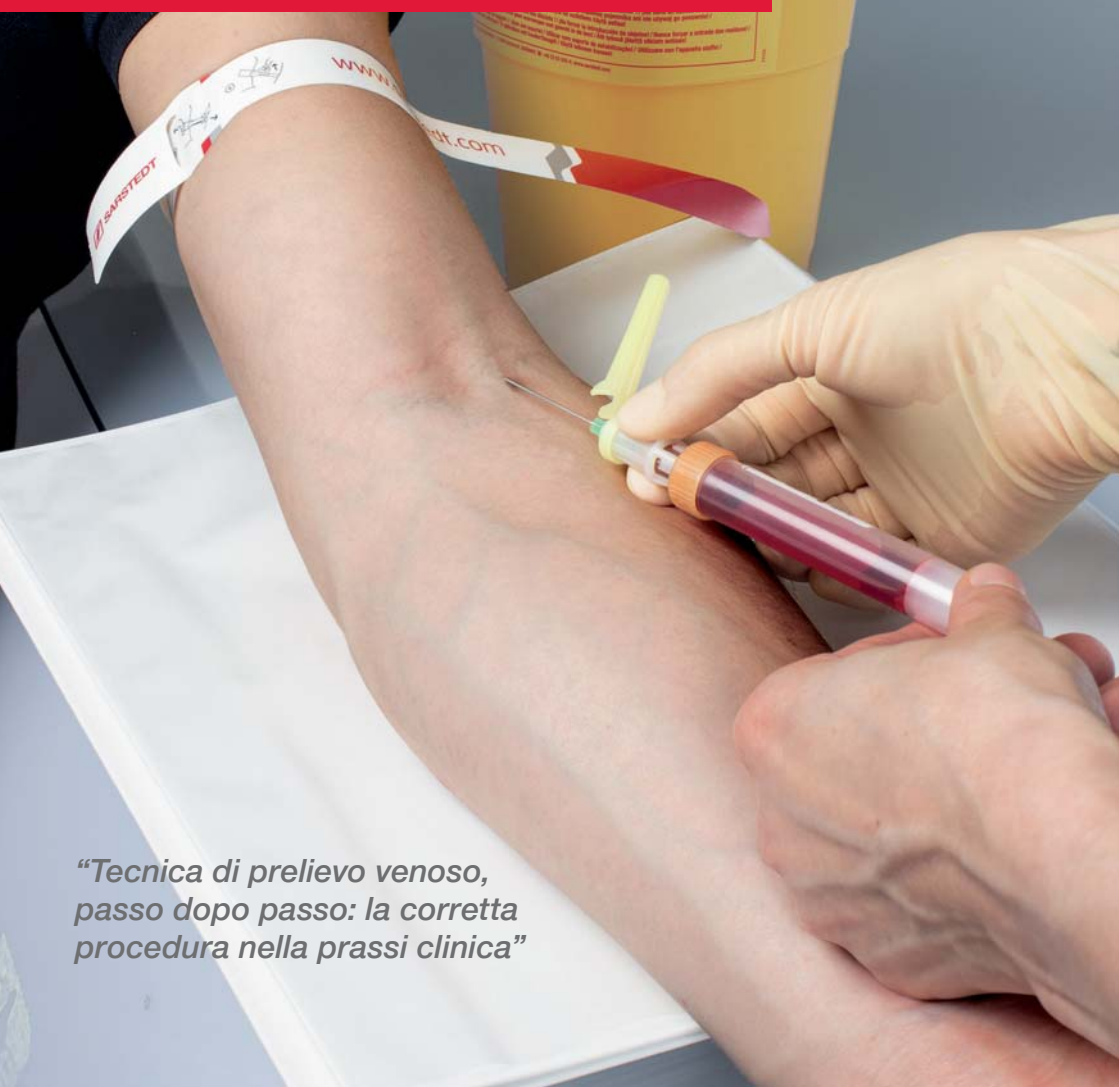
Tubo di 8 cm: circa 120 µl

Riempimento insufficiente!



Quindi, per riempire il tubo si deve utilizzare una prima provetta (citrato/neutro) e poi gettarla (provetta vuota/provetta a perdere). Soltanto dopo si può utilizzare l'effettiva provetta con citrato.

4 Esecuzione del prelievo venoso



*“Tecnica di prelievo venoso,
passo dopo passo: la corretta
procedura nella prassi clinica”*

4.1 Condizioni standard del prelievo

- Nessuna insolita attività fisica estrema nei 3 giorni precedenti il prelievo
- Nessun consumo eccessivo di alcol il giorno prima del prelievo (astinenza di 24 ore)
- A digiuno tra le 7 e le 9 del mattino (nessuna assunzione di alimenti solidi da 12–14 ore; è consentito bere acqua)
- Riposo (seduto o sdraiato) per almeno 10 minuti prima del prelievo
- Evitare di “pompare”! L’apertura e chiusura del pugno porta ad un significativo aumento dei livelli di potassio (fino a 2 mmol/l) nel siero/plasma
- Applicare il laccio emostatico per non più di 1 minuto (ideale: 30 secondi)
- Entrare in vena, allentare il laccio, prelevare il sangue
- Farmaci: assunzione o interruzione in accordo con il medico

4.2 Prelievo del campione: 12 passaggi

1. Disinfezione delle mani! Guanti!
2. Applicare il laccio emostatico
3. Esaminare le vene e sceglierne una
4. Disinfettare!
5. Non toccare il punto di prelievo dopo la disinfezione!
6. Rimuovere la custodia protettiva dall’ago Safety!
7. Lato tagliente dell’ago rivolto verso l’alto!
8. Angolo di puntura non superiore a 30°!
9. Tendere la pelle; fissare la posizione della vena!
10. Se necessario, “avvertire” il paziente!
11. Quando il sangue inizia a fluire, allentare il laccio emostatico!
12. Prelevare i campioni; rispettare la sequenza corretta!

4.3 Applicazione laccio emostatico e aree di prelievo



Applicare il laccio emostatico un palmo al di sopra del punto di prelievo designato

Il polso deve essere percepibile (pressione 50–100 mm Hg)

Tempo di emostasi max. 1 minuto



Disinfettare secondo il piano d'igiene vigente



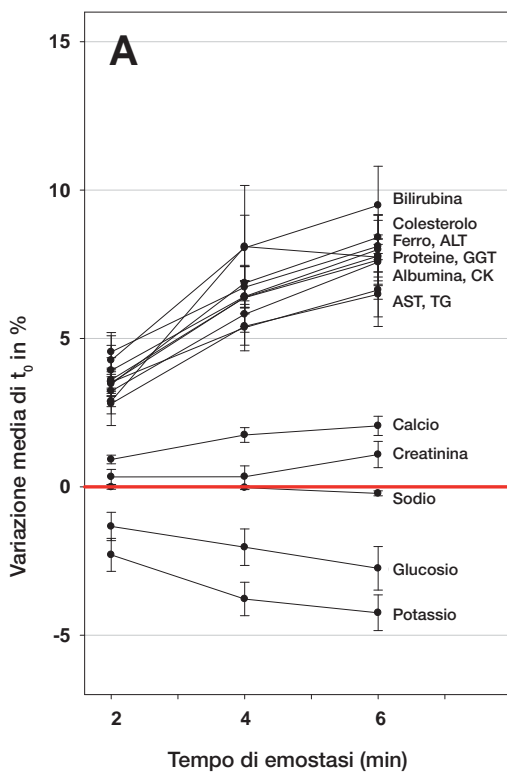
Aree di prelievo

- ❶ Vena basilica
- ❷ Vena cubitale mediana (si tratta della vena spessa e più profonda, non di colore blu, qui visibile soltanto come rigonfiamento)
- ❸ Vena cefalica, scorre sul lato del pollice
- ❹ Vena cefalica
- ❺ Vena basilica
- ❻ Rete venosa dorsale della mano

Tempo di emostasi

L'emostasi di durata superiore a 1 minuto può portare a variazioni importanti nei valori misurati. Sostanze ad alto peso molecolare (ad es. le proteine totali), nonché il calcio legato alle proteine possono causare valori falsamente elevati (evento particolarmente rilevante in caso di parametri con intervalli di riferimento ristretti). I valori di potassio possono diminuire all'aumentare del tempo di emostasi.

Confronto – emostasi di 2 min rispetto a emostasi di 6 min



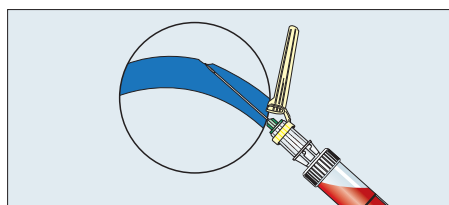
¹² Lichtinghagen et al.: Einfluss der Stauzeit auf normalisierte Laborwerte; J Lab Med 2013; 37(3): 131-37

4.4 Problemi prima / durante il prelievo ematico

Vene fragili

- Cercare un'altra zona di prelievo
- Applicare un cuscino riscaldato o un panno tiepido
- Utilizzare l'ago Safety-Multifly®
- Utilizzare la tecnica di prelievo in aspirazione

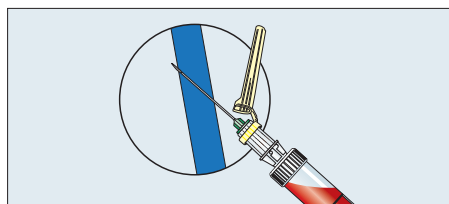
Interruzione del flusso ematico durante il prelievo



La punta dell'ago si trova contro la parete della vena

Soluzione:

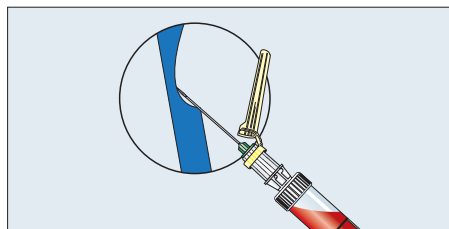
Ritirare leggermente l'ago fino al ripristino del flusso di ematico.



L'ago ha perforato la vena

Soluzione:

Ritirare leggermente l'ago fino al ripristino del flusso di ematico.



La vena è collassata

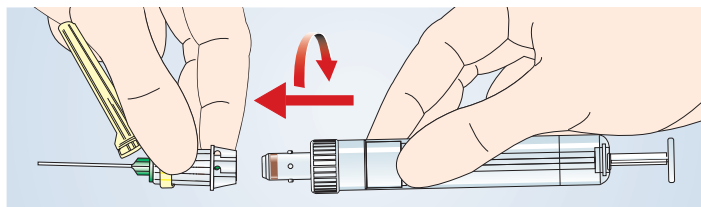
Soluzione:

Attendere il recupero della vena, quindi aspirare con cautela.

- “Pompare” con il pugno comporta un aumento dell'attività muscolare e quindi l'incremento di K^+ e Mg^{2+}
- L'emostasi eccessivamente prolungata altera parametri quali, ad es., K^+ , γ -GT
- Con la S-Monovette® non è necessario “piegare” l'ago Safety, poiché l'angolo di puntura è estremamente basso. La modifica del lume per effetto della piegatura dell'ago può danneggiare le cellule (emolisi).
- Anche l'impiego di un ago troppo sottile può causare emolisi.

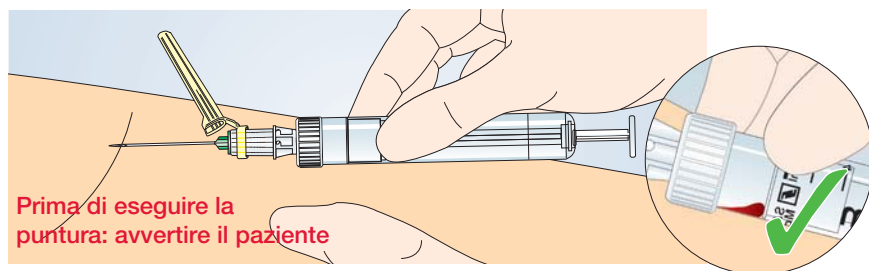
4.5 Tecnica di prelievo in aspirazione e sottovuoto

4.5.1 Tecnica di prelievo in aspirazione con la S-Monovette®

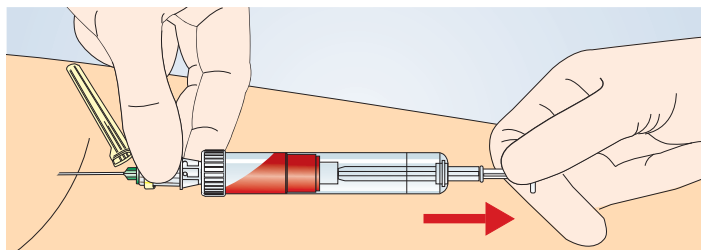


IMPORTANTE:

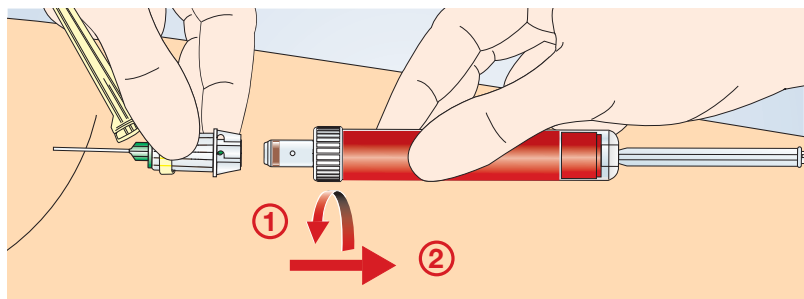
- Innestare la S-Monovette® sull'ago Safety subito prima del prelievo, ruotandola leggermente in senso orario.



- Tendere la pelle tirandola con il pollice della mano libera. Mantenere la vena in posizione. "Avvertire" il paziente ed entrare in vena. Subito dopo avere eseguito correttamente la venopuntura, nella S-Monovette® compare una prima goccia di sangue. Ciò consente all'operatore di sapere che l'ago è in vena.

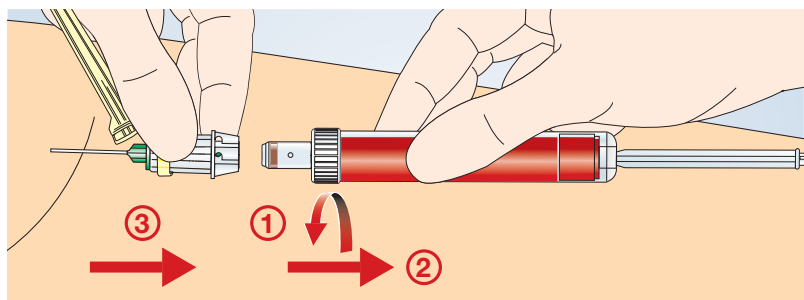


- Allentare il laccio emostatico e tirare lentamente l'asticella dello stantuffo fino all'arresto. Attendere che il flusso di sangue termini.

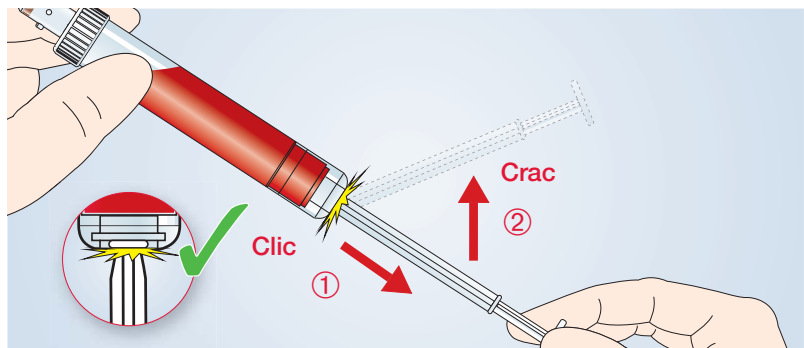


- Al termine del **singolo** prelievo ematico, capovolgere la S-Monovette® per 1 o 2 volte.
- Cambiare la S-Monovette® in caso di prelievi multipli. Separare la S-Monovette® dall'ago Safety ruotandola leggermente in senso antiorario. L'ago Safety rimane in vena.

Termine del prelievo ematico



- Estrarre **prima** la S-Monovette® dall'ago e **successivamente** sfilare l'ago Safety dalla vena.

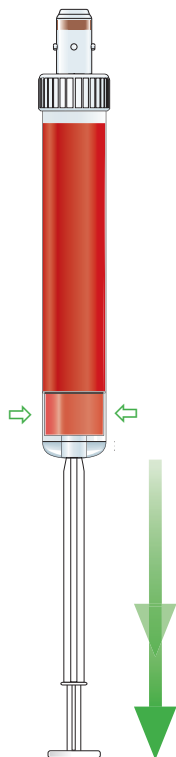


IMPORTANTE:

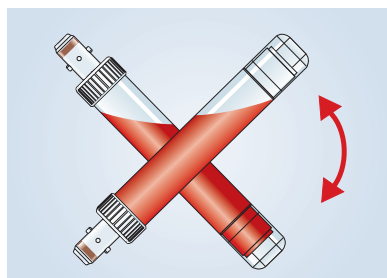
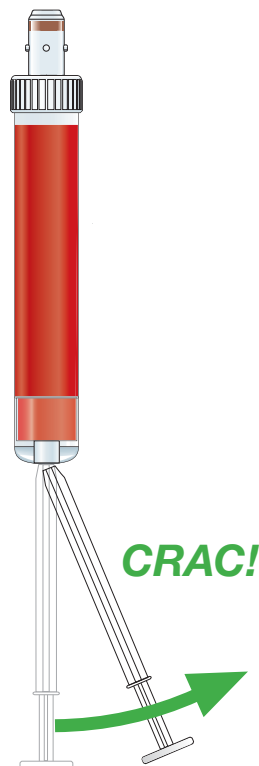
Dopo il prelievo, in tutte le S-Monovette® tirare l'asticella dello stantuffo portandola nella posizione indicata da "clac" e spezzarla!

Tirare l'asticella tenendola dritta finché lo stantuffo non scatta in posizione (**CLIC**).

Tirare lo stantuffo completamente all'indietro

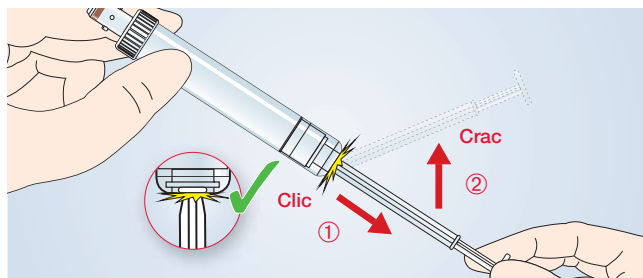


Solo a questo punto spezzare l'asticella! **CRAC!**

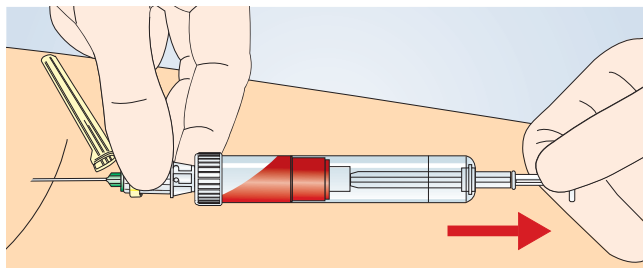
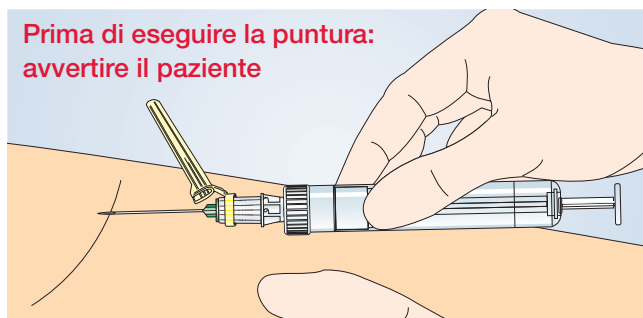


- Al termine del prelievo ematico, capovolgere accuratamente tutte le S-Monovette®.

4.5.2 Tecnica di prelievo sottovuoto con la S-Monovette®

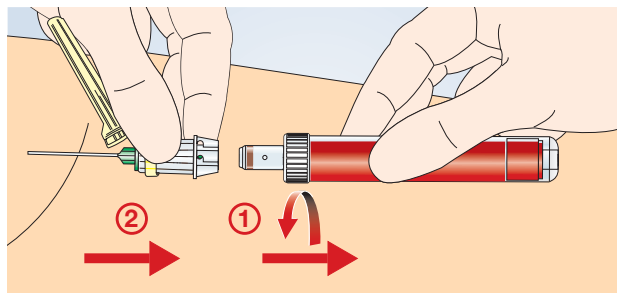
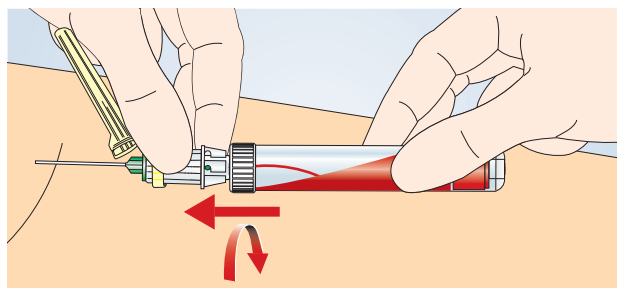


- Preparare le S-Monovette® – Creazione del vuoto “fresco”
Per eseguire questa operazione, tirare l’asticella e bloccare lo stantuffo sul fondo della S-Monovette® (“clic”). Quindi spezzare l’asticella (“crac”).
- In linea di principio, consigliamo di utilizzare la prima S-Monovette® con la tecnica in aspirazione per iniziare il prelievo in modo atraumatico.

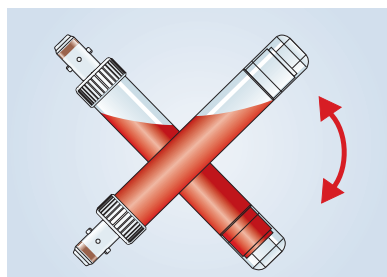


- Al termine del **singolo** prelievo ematico, capovolgere la S-Monovette® per 1 o 2 volte.

- Ora è possibile utilizzare la S-Monovette® con la tecnica di prelievo sottovuoto. A tal fine, inserire nell'ago Safety la S-Monovette® ruotandola in senso orario.



- Attendere l'arresto del flusso ematico, quindi staccare la S-Monovette® dall'ago Safety e infine sfilare l'ago Safety dalla vena.
- Al termine del prelievo ematico, capovolgere accuratamente tutte le S-Monovette®.



4.6 Prelievo ematico da catetere

Si consiglia di evitare il prelievo ematico da catetere a causa della possibile variazione dei valori misurati. I potenziali rischi sono emolisi e contaminazione da infusioni. Tuttavia, qualora non si possa fare a meno di effettuare il prelievo da catetere, è necessario rispettare le seguenti regole:



- Per evitare eventuali effetti di diluizione o contaminazioni, è necessario lasciare trascorrere almeno 15 minuti tra l'ultima infusione e il prelievo. La durata dipende dall'infusione e deve essere conforme ai regolamenti interni dell'ospedale.⁶
- Raccomandazioni relative al momento in cui eseguire il prelievo a seguito di infusioni.¹

Infusione	Tempo minimo (in ore) che deve trascorre per un prelievo ematico dopo l' infusione ¹
Emulsione lipidica	8
Soluzione ad alto contenuto di carboidrati	1
Aminoacidi, idrolizzati di proteine	1
Elettroliti	1

- Se il catetere è stato risciacquato con soluzione contenente eparina, si raccomanda di risciacquare con soluzione fisiologica prima del prelievo per esami di coagulazione.¹³
- Prima del prelievo eliminare 5–10 ml di sangue. Per evitare errori, contrassegnare questa provetta in modo appropriato.¹³

Di norma, l'indicazione al laboratorio che il campione è stato prelevato da un catetere risolve eventuali difficoltà di interpretazione di risultati analitici non plausibili. Per il monitoraggio terapeutico dei farmaci (TDM) occorre prestare attenzione in particolare al rischio di contaminazione. La presenza di residui di farmaci può portare a falsi valori elevati.

¹ Guder et al.; Proben zwischen Patient und Labor; 2009

⁶ Endler et al.; The importance of preanalytics for the coagulation laboratory; Hämostaseologie 2010; 30(2): 63-70

¹³ Spannagl et al.; Hämostaseologische Globaltests; Hämostaseologi 2006

Il fattore di rischio di emolisi: il catetere

In caso di prelievo di ematico da catetere, la tecnica di prelievo sottovuoto non è raccomandata a causa delle elevate velocità di flusso da cui può derivare un rischio maggiore di emolisi.¹⁴⁻¹⁷

La tecnica di aspirazione consente il **riempimento lento e atraumatico**¹⁸ della S-Monovette®, con conseguente sensibile riduzione del rischio di emolisi.

¹⁴ Margo et al.; Obtaining blood samples from peripheral intravenous catheters: best practice; AJCC, 2009; 18(5)

¹⁵ Lippi et al.; Prevention of hemolysis in blood samples collected from intravenous catheters; Clin Biochem 2013; 46(7-8): 561-4

¹⁶ Heyer et al.; Effectiveness of practices to reduce blood sample hemolysis in EDs: A laboratory medicine best practices systematic review and meta-analysis Clin Biochem 2012; 45(13-14): 1012-32

¹⁷ Grant; The Effect of Blood Drawing Techniques and Equipment on the Hemolysis of ED Laboratory Blood Samples; J Emerg Nurs 2003; 29(2):116-21

¹⁸ Benso; Can a blood sample for diagnostic exams be drawn from a peripheral venous catheter?; Assist Inferm Ric; 2015; 34(2): 86-92

Adattatore multiplo – la connessione diretta

La S-Monovette® può essere collegata direttamente a un catetere con l'ausilio dell'adattatore multiplo, evitando così l'uso di siringhe monouso e il relativo rischio di emolisi e contaminazione crociata.



- Per collegare la S-Monovette® con raccordi Luer, ad es. catetere in vitro o rubinetto a tre vie.

4.7 Prelievo ematico per emocoltura

Nel linguaggio comune, con sepsi si intende l'avvelenamento del sangue. Meno noto è che la mortalità (letalità) è pari a circa il 50 %¹⁹.

Sintomi frequenti:

- Apatia/debolezza
- Febbre, brividi
- Confusione
- Respirazione pesante e rapida
- Accelerazione del polso, diminuzione della pressione arteriosa
- Mani e piedi freddi, con scarso afflusso di sangue (centralizzazione)

La sepsi rappresenta una situazione di emergenza che richiede una diagnosi quanto più tempestiva possibile e una terapia immediata: le linee guida di trattamento nazionali e internazionali prescrivono la somministrazione di antibiotici entro un'ora. Prima della somministrazione di antibiotici devono essere eseguite almeno 2 emocolture.

È consigliabile eseguire il prelievo da una vena periferica al primo episodio febbrile. Il prelievo da accesso venoso (ad es. CVC) non è indicato.

L'attendibilità del risultato è in larga misura influenzata dalla prevenzione di contaminazioni, dalla durata del trasporto, dalle condizioni di conservazione e dalla comunicazione delle informazioni cliniche.²¹

Il laboratorio deve ricevere le seguenti informazioni²⁰:

- Luogo del prelievo
- Data del prelievo
- Identificazione del paziente
- Diagnosi sospetta
- Se necessario, indicazioni relative alla terapia antibiotica in corso

¹⁹ Pschyrembel 2004

²⁰ Borde et al.; Abnahme von Blutkulturen; Dtsch Med Wochenschr; 2010; 135: 355-58

²¹ Simon et al.; Blutkulturdiagnostik – Standards und aktuelle Entwicklungen; J Lab Med; 2012; 36(4):199–207

4.7.1 Requisiti igienici

Le emocolture falsamente positive sono generalmente imputabili a misure igieniche insufficienti e in alcuni casi comportano ricoveri ospedalieri prolungati, inutili trattamenti antimicrobici, diagnosi supplementari e notevoli costi aggiuntivi.²¹

Il prelievo ematico con flaconi per emocoltura deve essere eseguito nel rispetto dei requisiti igienici.

Per prevenire contaminazioni è necessario rispettare i seguenti passaggi:

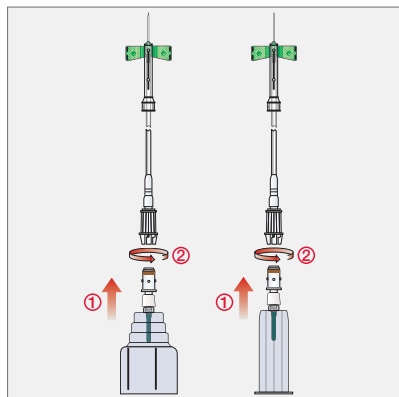
1. Disinfezione igienica delle mani
2. Indossare guanti
3. Disinfezione della zona di prelievo (ad es. con isopropanolo al 70 % o disinfettante per le mani)
 - a. Applicare il disinfettante
 - b. Applicare altro disinfettante e attendere che si asciughi

Importante: Non toccare il punto di prelievo dopo la disinfezione della cute.

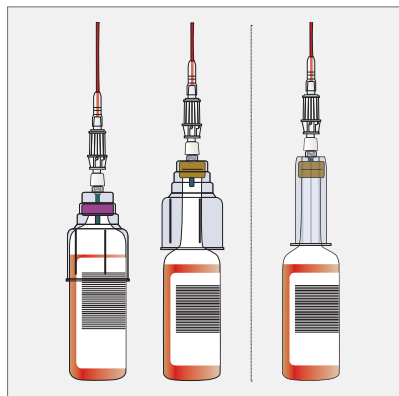
4. Disinfezione del flacone per emocoltura
 - a. Rimuovere il tappo di protezione
 - b. Disinfettare la membrana in gomma

²¹ Simon et al.; Blutkulturdiagnostik – Standards und aktuelle Entwicklungen; J Lab Med; 2012; 36(4): 199-207

4.7.2 Istruzioni per il prelievo ematico

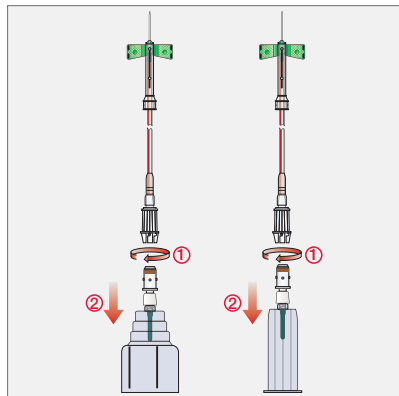


1. Adottare le misure igieniche sopra elencate. Collegare l'adattatore per emocoltura alla camicia dell'ago Safety-Multifly®. Eseguire la venopuntura e fissare l'ago in posizione.

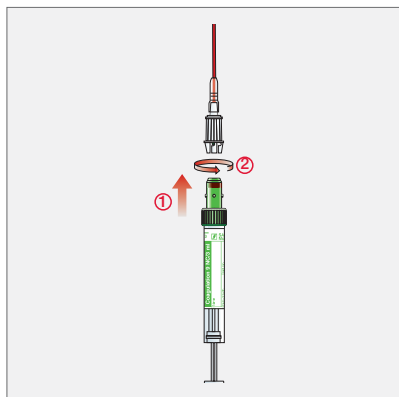


2. Inserire il flacone per emocoltura in posizione verticale nell'adattatore. Il mezzo di coltura del flacone non deve entrare in contatto con il tappo del flacone stesso. Il vuoto preesistente nel flacone per emocoltura ne consente il riempimento automatico.

Attenzione: rispettare il volume di riempimento.



3. Qualora dovesse essere necessario un ulteriore prelievo ematico con la S-Monovette®, rimuovere l'adattatore per emocoltura dalla camicia dell'ago Safety-Multifly®.



4. Successivamente è possibile eseguire il prelievo con l'ago Safety-Multifly® come d'abitudine.

Importante:

- Rispettare assolutamente le istruzioni d'uso del produttore del flacone per emocoltura.
- Il contenuto deve essere accuratamente miscelato dopo il prelievo.
- Non ventilare i flaconi, in quanto non è necessario.
- I flaconi devono essere inviati quanto prima al laboratorio a temperatura ambiente.

4.7.3 Volume del campione e numero dei flaconi

Attenzione:

Durante il prelievo controllare il volume del sangue con l'ausilio della scala graduata. Il volume a vuoto del flacone può essere maggiore del volume di riempimento richiesto.

L'applicazione di un contrassegno sul flacone in corrispondenza del livello di riempimento prima del prelievo semplifica il controllo del volume di riempimento di sangue durante la procedura.

La sensibilità dei test diagnostici per emocoltura dipende dal numero di coppie raccolte e dal volume del campione.

Esistono diverse raccomandazioni riguardanti il volume di sangue, il numero di coppie di emocoltura e l'uso di flaconi aerobici e anaerobici.

Si raccomanda pertanto di attenersi sempre alle istruzioni del produttore.

5 Il prelievo ematico in pediatria

“I pazienti pediatrici e neonatali hanno esigenze particolari e richiedono requisiti elevati per il personale e il sistema di prelievo.”



Pediatria

Per pediatria si intende la branca della medicina che si occupa di bambini e adolescenti. Un'importante specializzazione della pediatria è la neonatologia, cioè il trattamento dei bambini prematuri.

La vitalità dei prematuri inizia alla 23° settimana di gravidanza se i neonati pesano circa 500 grammi alla nascita.

Questi piccoli pazienti hanno esigenze particolari e richiedono requisiti elevati per il personale e il sistema di prelievo.

5.1 Anamnesi²²

L'anamnesi del bambino viene esposta da terzi, di solito la madre e/o i tutori legali. È comunque importante chiedere direttamente al bambino a partire dall'età scolare.

L'anamnesi deve includere l'acquisizione delle informazioni riportate di seguito

- Malattia corrente
- Anamnesi clinica completa del bambino
- Gravidanza e parto
- Anamnesi storica familiare dei genitori

Importante:

Un bambino può presentare uno stato di salute generale relativamente buono, pur in presenza di una malattia potenzialmente letale. L'aggravamento può verificarsi durante l'acquisizione dei dati anamnestici, l'esame clinico o anche dopo il ricovero.

²² Speer et al.; Pädiatrie; 2013

5.2 Requisiti per il prelievo ematico

Tra il 7° mese e il 3° anno d'età, le resistenze del bambino possono impedire il normale prelievo.

Per rendere più agevole la situazione, possono risultare utili i seguenti suggerimenti:

- Minori tempi di attesa
- Ambienti luminosi, caldi e a misura di bambino con giochi per tutte le età
- Piccoli regali (cerotti speciali, certificato di coraggio, ecc.)
- Atmosfera amichevole e premurosa
- Trattare eventualmente il bambino sulle ginocchia della madre
- Mani e materiali caldi
- Tenere conto del senso di imbarazzo, anche nei bambini piccoli



5.3 Il prelievo ematico in pediatria

Il volume totale di sangue di un neonato sano è di circa 300 ml. Un prematuro del peso di 1.000 g ha un volume totale di sangue di circa 80 ml. A fronte di tale volume ridotto, è ovviamente essenziale prelevare la minore quantità possibile di sangue, pur garantendo la quantità necessaria all'analisi.

A ciò si aggiunge la potenziale complessità del prelievo nei prematuri, nei neonati e nei lattanti. La scelta della tecnica di prelievo appropriata, associata a provette idonee, semplifica, ove possibile, queste difficili condizioni.

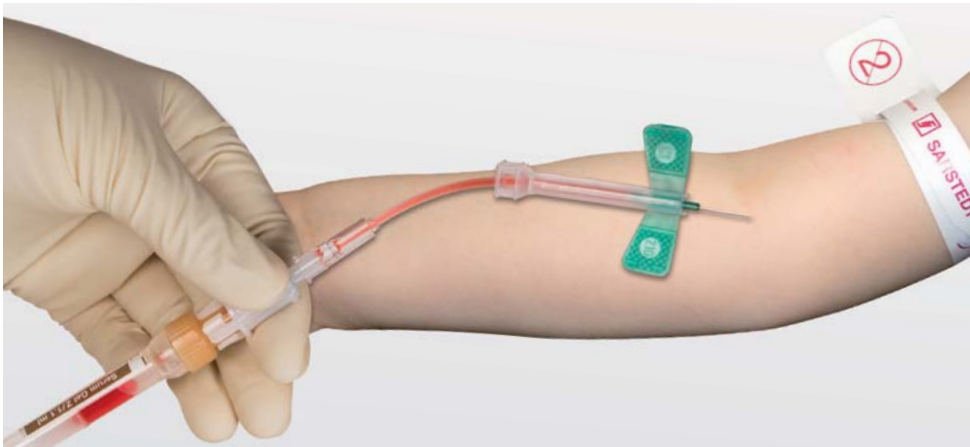
5.3.1 Il prelievo venoso

Esiste la possibilità di scegliere tra prelievo venoso con sistema chiuso e tecnica a gocciolamento (ad es. dalla vena cefalica).

Punto di prelievo	Prematuro	Neonato	Lattante	Bambino piccolo	Bambino in età scolare
Vena cefalica	Solo se <1 settimana	Consigliabile	Consigliabile	–	–
Vena brachiale	Se necessario	Se necessario	Se necessario	Consigliabile	Consigliabile
Dorso della mano	Consigliabile	Consigliabile	Possibile	Consigliabile	Consigliabile
Dorso del piede	Consigliabile	Consigliabile	Possibile	Se necessario (doloroso)	–

Prelievo venoso con sistema chiuso

Grazie alla tecnica in aspirazione che consente di eseguire prelievi ematici atraumatici (vedere *Capitolo 4 – Esecuzione del prelievo venoso*), la S-Monovette® pediatrica, abbinata all’ago corto Safety-Multifly®, rappresenta una soluzione ottimale per le complesse condizioni venose dei pazienti pediatrici.



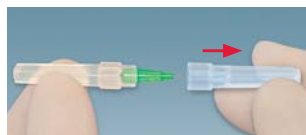
Prelievo ematico con tecnica a gocciolamento

Il micro-ago utilizzato in combinazione con le micro-provette preparate semplifica il prelievo di sangue dalla vena cefalica.

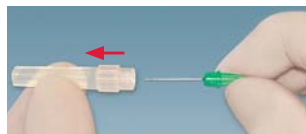
L'uso degli aghi Luer spezzati diventa superfluo. Questi aghi spezzati sono piccoli, difficili da maneggiare e possono causare emolisi (formazione di bave nell'ago).



Uso del micro-ago



1. Togliere il cappuccio di protezione.



2. Estrarre il micro-ago dalla custodia protettiva.



3. Disinfettare la sede del prelievo. Effettuare la venopuntura e lasciare gocciolare il sangue in una micro-provetta preparata. Se il flusso di sangue si interrompe, è possibile ruotare il micro-ago di 360° in modo sicuro grazie all' impugnatura.



4. Smaltire il micro-ago in un apposito contenitore.

5.4 Differenza tra sangue capillare e sangue venoso

Nella valutazione dei risultati di analisi è importante tenere conto del materiale del campione. Tra sangue capillare e sangue venoso esistono differenze in termini di concentrazione di diversi parametri. Ad esempio, la concentrazione sierica di proteine totali, bilirubina, calcio, sodio e cloruro sono significativamente più basse nel sangue capillare rispetto al sangue venoso.²³

Glucosio, lattato e Creatina Chinasi CK presentano invece concentrazioni più elevate nel sangue capillare rispetto al sangue venoso.

²³ Kupke et al.; On the composition of capillary and venous blood serum; Clin Chim Acta. 1981; 112(2): 177-85

5.5 Valori di riferimento

A seconda dell'età del bambino, le concentrazioni di analiti presentano valori di riferimento diversi rispetto a quelli degli adulti. Per questo motivo è importante valutare sempre i risultati delle analisi in relazione agli intervalli normali/di riferimento²⁴ corrispondenti all'età del paziente.

Nella seguente tabella sono riportati alcuni esempi di parametri.

²⁴ Kohse et al.; National and international initiatives and approaches for the establishment of reference intervals in pediatric laboratory medicine; J Lab Med 2015; 39(4): 197-212

Analita	Soggetto	SI	Convenzionale	Note
Bilirubina (totale)		μmol/l	mg/dl	Aumento della bilirubina indiretta nei neonati dovuto, tra l'altro, a incremento della degradazione degli eritrociti. Valore >16–18 mg/dl Rischio di kernittero. Misurazioni fotometriche dirette possibili nei neonati, bilirubina diretta non evidenziabile nei bambini sani.
	Neonato			
	Giorno 1	< 68	< 4	
	Giorno 2–3	< 154	< 9	
	Giorno 3–5	< 239	< 13–14	
	Lattante	1,7–14	0,1–0,8	
	Adulto	1,7–22	0,1–1,3	
Lattato		mmol/l	mg/dl	I neonati possono presentare valori più elevati il giorno 1. Aumenta, tra l'altro, in presenza di mitocondriopatie e ipossie tissutali.
	Bambino/adulto	0,5–2,2	4,5–20	

Analita	Soggetto	SI	Convenzionale	Note
Creatinina	Neonato	μmol/l	mg/dl	Valori in funzione della massa muscolare; valori inferiori nelle donne. La concentrazione di creatinina nel siero aumenta soltanto quando la velocità di filtrazione glomerulare è < 50 %.
	Giorno 1	37–113	0,41–1,24	
	Settimana 1	14–86	0,15–0,95	
	Settimana 4	12–48	0,13–0,53	
	Lattante	22–55	0,24–0,61	
	Bambino piccolo	25–64	0,28–0,70	
	Bambino	23–106	0,25–1,17	
	Adulto	74–110	0,81–1,21	
Eritrociti		Tpt/l (10 ¹² /l)	10 ⁶ /μl	Rapida degradazione dopo la nascita. Aumenta (policitemia) in presenza di disidratazione e in caso di/dopo prolungato soggiorno ad alta quota.
	Neonato	3,9–6,5	3,9–6,5	
	Settimana 1			
	Neonato	3,6–5,8	3,6–5,8	
	Settimana 2			
	Lattante	3,0–5,4	3,0–5,4	
	Bambino piccolo/Bambino	4,0–5,4	4,0–5,4	
Ematocrito (HCT/HC)	Adulto (m)	4,5–5,9	4,5–5,9	Aumento dell'ematocrito in caso di disidratazione, diminuzione in caso di iperidratazione.
	Adulto (f)	3,9–5,2	3,9–5,2	
		Frazione l/l	%	
	Neonato	0,45–0,65	45–65	
	Lattante	0,30–0,55	30–55	
	Bambino piccolo/Bambino	0,31–0,48	31–48	
	Adulto (m)	0,39–0,52	39–52	
	Adulto (f)	0,35–0,47	35–47	

Analita	Soggetto	SI	Convenzionale	Note
Emoglobina (HB)		mmol/l	g/dl	
	Neonato Settimana 1	9,3–13,7	15–22	
	Neonato Settimana 2	7,8–12,4	12,5–20	
	Lattante	5,9–9,9	9,5–16	
	Bambino piccolo/bambino	6,8–9,9	11–16	
	Adulto (m)	8,1–11,2	13–18	
	Adulto (f)	7,5–9,3	12–15	
Trombociti		Gpt/l($10^9/l$)	103 cellule/ μl	Trombocitopenia ad es. causata da morbillo 30 Gpt/l: maggiore tendenza al sanguinamento.
	Neonato	100–250	100–250	
	Bambino piccolo	220–500	220–500	
	Bambino	150–350	150–350	
	Adulto	150–400	150–400	
Leucociti		Gpt/l	Cellule/ μl	Variazioni della conta leucocitaria durante le prime settimane/anno di vita. L'aumento (leucocitosi) è spesso dovuto a incremento della concentrazione di granulociti neutrofili.
	Neonato Giorno 1	9–35	9.000–35.000	
	Neonato Settimana 1–4	5–20	5.000–20.000	
	Lattante/ bambino piccolo/bambino	5–18	5.000–18.000	
	Adulto (m)	4–10	4.000–10.000	

²² Speer et al.; Pädiatrie; 2013

5.6 L'emostasi in pediatria

Durante l'infanzia, in particolare nel primo anno di vita, alcuni componenti del sistema di coagulazione si modificano sensibilmente per adattarsi alle mutate condizioni di vita.

Una minore formazione di trombina, associata al contempo a una minore inibizione della trombina, rappresenta un meccanismo di difesa nel neonato.

In linea di principio, i neonati mostrano valori significativamente più bassi per la maggior parte dei fattori di coagulazione rispetto agli adulti. Nella maggior parte dei casi ciò è imputabile alla minore velocità di sintesi epatica del neonato, ma si ipotizza che anche l'accelerazione del turnover possa svolgere un ruolo in questo processo, in particolare durante il parto.

Numerosi componenti raggiungono i normali valori dell'adulto dopo il 1° anno di vita. A partire dal 1° mese di vita, la concentrazione di antitrombina è superiore del 10% rispetto a quella dell'adulto e rimane tale durante l'infanzia. Nei bambini, l'aPTT è generalmente più lungo rispetto a quello degli adulti. I fattori II e VII rimangono inferiori del 10–20%.

Nota: I bambini presentano svariate caratteristiche fisiologiche di cui occorre essere consapevoli per poterle distinguere in modo affidabile da eventuali alterazioni patologiche.

Valori di riferimento legati all'età (esempi)

Età	aPTT [s]*	Età	Antitrombina [%]	D-dimero [µg/l]
1–3 mesi	39 (28–49)	1 giorno	76 (58–90)	1470 (410–2470)
4–6 mesi	36 (31–44)	3 giorni	74 (60–89)	1340 (580–2740)
7–12 mesi	35 (29–42)	1–12 mesi	109 (72–134)	220 (110–420)
Fino a 4 anni	33 (28–41)	1–5 anni	116 (101–131)	250 (90–530)
5–9 anni	34 (28–41)	6–10 anni	114 (95–134)	260 (10–560)
10–18 anni	34 (29–42)	11–16 anni	111 (96–126)	270 (160–390)
Adulti	31 (26–36)	Adulti	96 (66–124)	180 (50–420)

* misurazione effettuata con il reagente Pathromtin SL

²⁵ Barthels et al.; Das Gerinnungskompndium; 2012

Nei neonati la quantità di plasma è inferiore a causa di un ematocrito fisiologicamente più alto.

In questo caso non è necessario correggere l'ematocrito, poiché i valori normali legati all'età sono stati misurati in queste condizioni e non occorre eseguire alcuna correzione.

È invece importante prelevare un volume di campione sufficiente per le analisi richieste tenendo conto della minore resa del plasma.



6 La sicurezza nel prelievo ematico

“L’informazione, la formazione e la fornitura di strumenti sicuri sono essenziali per evitare lesioni accidentali da ago e il rischio di infezione ad esse correlato.”



Sicurezza – Perché?

I principali agenti infettivi trasmessi tramite lesioni accidentali con ago (NSI) sono il virus dell'epatite B, il virus dell'epatite C e il virus dell'immunodeficienza umana (HIV). Questi incidenti possono tuttavia essere quasi completamente evitati adottando opportune misure di protezione²⁶

La **Direttiva UE 2010/32/UE²⁷** in materia di prevenzione delle ferite da taglio o da punta nel settore ospedaliero e sanitario prescrive un ambiente di lavoro quanto più sicuro possibile per gli operatori del sistema sanitario.

²⁶ La sottovalutazione degli infortuni sul lavoro, rischio di infezioni da lesioni accidentali da ago; Iniziativa SAFETY FIRST!

²⁷ Direttiva UE 2010/32/UE del Consiglio dell'Unione Europea del 2010 in materia di prevenzione delle ferite da taglio o da punta nel settore ospedaliero e sanitario

Misure di prevenzione e protezione

- Introduzione di norme di sicurezza sul lavoro
- Rispetto di misure igieniche generali
- Vaccinazioni preventive (contro l'epatite B)
- Dispositivi di protezione personale idonei
- Indossare guanti
- Copertura di eventuali tagli ed escoriazioni con cerotti impermeabili
- Eliminazione dell'uso di oggetti taglienti o acuminati quando tale utilizzo non sia strettamente necessario
- Adozione di strumenti medici dotati di meccanismi di protezione e di sicurezza
- Divieto di riposizionare il cappuccio di protezione sull'ago usato (divieto di reincappucciamento)

Nota: Oltre la metà di tutte le lesioni accidentali da ago si verifica durante lo smaltimento.²⁸

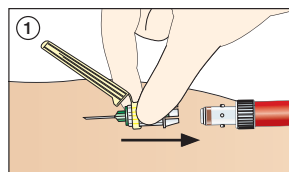
²⁸ SAFETY FIRST, Germania – www.nadelstichverletzung.de

6.1 Ago Safety

L'ago Safety è **pronto all'uso** poiché è già integrato con la camicia (adattatore). In questo modo si riduce il rischio potenziale di lesioni accidentali da ago causate dall'estremità dell'ago.

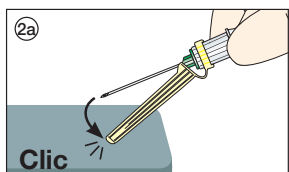


Istruzioni

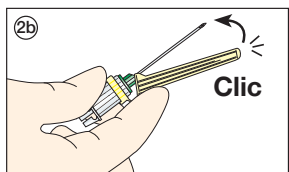


Dopo il prelievo:

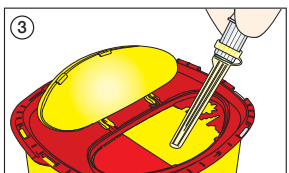
Staccare l'ultima S-Monovette® dall'ago Safety e sfilare l'ago Safety dalla vena.



Afferrare l'ago Safety dalla camicia, collocare la protezione dell'ago su una superficie stabile e piana, quindi fare scattare l'ago nella protezione, premendo leggermente verso il basso, fino a percepire chiaramente un "clic".



In alternativa, esiste anche la possibilità di attivare la protezione dell'ago con l'indice. Per garantire il funzionamento sicuro, assicurarsi che la protezione dell'ago sia attivata dall'estremità inferiore.



Dopo l'attivazione del meccanismo di protezione:

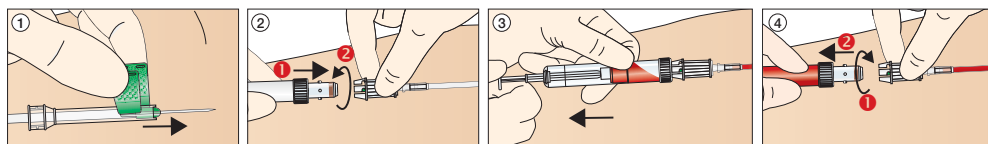
Smaltire l'ago Safety così protetto in un apposito contenitore.

6.2 Ago Safety-Multifly®

L'ago Safety-Multifly® con camicia integrata (adattatore) è **pronto all'uso**. La possibilità di attivazione con una sola mano del sistema di protezione dell'ago Safety-Multifly® garantisce la massima sicurezza dell'operatore.



6.2.1 Istruzioni per il prelievo ematico

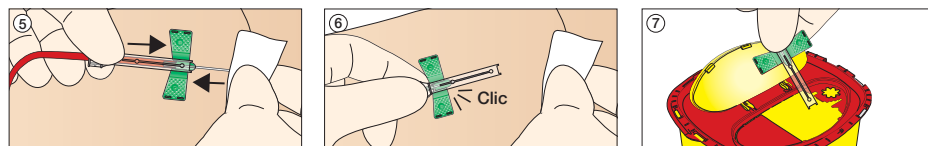


Attivazione della protezione...

Attivazione di sicurezza **sempre e soltanto** con **una mano sola!**

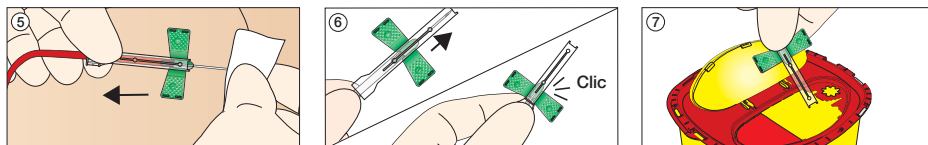
1)...in vena:

Attivare la protezione mentre si sfilare l'ago Safety-Multifly® dalla vena.



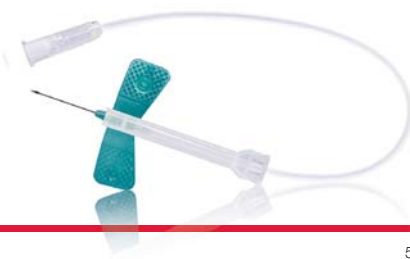
2)...fuori vena:

Sfilare l'ago Safety-Multifly® dalla vena e attivare la protezione.



6.2.2 Applicazione di infusione a breve termine

L'ago Safety-Multifly® senza camicia integrata (adattatore) può essere utilizzato direttamente per l'infusione a breve termine, nonché per la connessione ad adattatori Luer.



6.3 Contenitori per smaltimento Multi-Safe

Per la raccolta di oggetti acuminanti e taglienti, è necessario utilizzare appositi recipienti per rifiuti conformi alle vigenti norme TRBA 250 (Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe – deutsche Vorschrift, norme tecniche in materia di sostanze biologiche per uso professionale – regolamento tedesco) e la ISO 23907. Tale norme definiscono, ad esempio, i seguenti punti:

- Forma e aspetto
- Prova di resistenza a caduta da una determinata altezza
- Pareti del contenitore resistenti a perforazione fino alla pressione di 15 N

Qualora i contenitori siano smaltiti da un apposito servizio di smaltimento e debbano essere trasportati su strada, è obbligatoria la certificazione UN. I contenitori certificati si riconoscono dal codice UN a più cifre normalmente presente sul lato superiore del coperchio.

I contenitori per smaltimento senza tale codice devono essere smaltiti in altri contenitori che invece ne sono provvisti.

Smaltimento sicuro

Raccomandazione:

Riempire il Multi-Safe soltanto fino a circa $\frac{2}{3}$ del volume.

Non riempire eccessivamente il Multi-Safe:

Pericolo di lesioni!

Rispettare la linea di riempimento



- In linea di principio occorre sempre garantire il **corretto smaltimento igienico** degli articoli medici monouso potenzialmente infetti!



Indicazioni di sicurezza

- Utilizzare solo contenitori che abbiano dimensioni adeguate alla raccolta degli oggetti da smaltire.
- Il coperchio deve essere applicato e fatto scattare in sede prima di iniziare a riempire il contenitore.
- Svitare il contenitore per collegarlo all'adattatore adesivo apposito o fissarlo al supporto a parete, affinché non si ribalti.
- Non utilizzare il coperchio giornaliero per spingere gli oggetti da smaltire all'interno del contenitore.
- Prestare particolare attenzione mentre si introducono i bisturi nel contenitore per smaltimento. L'utilizzo di una forza eccessiva per introdurre altri oggetti o riempire oltre il consentito, può far sì che il contenitore si rovesci e le pareti o il fondo si danneggino.
- Inserire gli oggetti da smaltire nel contenitore tenendoli verticalmente.
- Non introdurre gli oggetti nel contenitore spingendoli con forza.
- Non introdurre sostanze liquide nel contenitore.
- Non cercare di afferrare con la mano o in altro modo oggetti all'interno del contenitore (pericolo di lesioni!).
- Non lanciare, scuotere o far cadere il contenitore.
- Prima di chiudere il contenitore accertarsi che non vi siano oggetti che sporgono dall'apertura.
- Prima di smaltire il contenitore verificare che il coperchio sia ben chiuso.

7 Centrifugazione

“La centrifugazione è un processo di separazione fisica basato sulle diverse densità di sostanze quali le cellule ematiche e il plasma.”

7.1 Gestione corretta durante la centrifugazione

Nella maggior parte delle analisi di laboratorio è necessario disporre della componente liquida del sangue, il cosiddetto siero o plasma, ottenibile tramite centrifugazione dei campioni. All'interno di una centrifuga, un rotore provvisto di supporti per provette ruota a una velocità di svariate migliaia di giri. Questa velocità di rotazione esercita una forza centrifuga equivalente a un multiplo dell'accelerazione della gravità terrestre (g).

In tal modo si ottiene la separazione dei componenti liquidi e solidi del sangue.

È importante distinguere tra la velocità di rotazione e il valore g (forza gravitazionale).

Il valore g corrisponde al dato rilevante per ottenere un risultato di centrifugazione ottimale.

Risulta quindi particolarmente importante nell'impostazione della centrifuga.

Il valore g può essere calcolato indicando il raggio (cm) e il numero di giri/minuto (rpm):

$$g = 11,18 \times r \times \left(\frac{n}{1000} \right)^2$$

r = rayon en cm

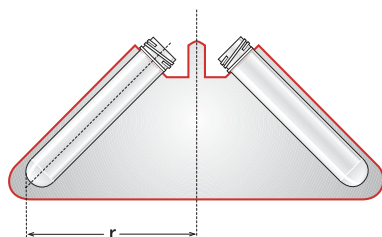
n = nombre de tours par minutes (min⁻¹)

Per la conversione del valore g in giri/minuto [min⁻¹] o viceversa, è possibile utilizzare il calcolatore di centrifugazione all'indirizzo

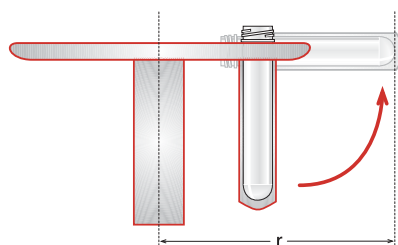
www.sarstedt.com/en/service/centrifugation.

Il raggio di centrifuga r può essere ricavato dai dati del fabbricante della centrifuga oppure è possibile determinarlo direttamente in base alla seguente rappresentazione:

Rotore ad angolo fisso



Rotore oscillante



7.2 Differenza tra rotore ad angolo fisso e rotore oscillante

Per le S-Monovette® preparate con gel si raccomanda di utilizzare esclusivamente rotori oscillanti.

Il rotore in una centrifuga ad angolo fisso è posizionato ad angolo fisso obliquo. Il cestello in un rotore oscillante si muove durante la centrifugazione dalla posizione verticale a quella orizzontale. In tal modo, la forza generata durante la centrifugazione agisce in modo uniforme dal tappo al fondo delle provette. Questo processo consente di ottenere uno strato di gel ben formato e orizzontale.

Rotore ad angolo fisso



Rotore oscillante



7.3 Prelievo di siero



S-Monovette® Siero Gel
con granulato ricoperto per
l'accelerazione della coagulazione

Dopo il prelievo di sangue, i campioni di siero devono coagulare per 30 minuti. Ciò significa che, durante il processo di coagulazione, i fattori di coagulazione (ad es. la fibrina) vengono consumati e le cellule ematiche si addensano formando un coagulo.

Il coagulo prende la forma corrispondente alla distribuzione delle cellule ematiche all'interno della provetta.

Ciò significa che se la S-Monovette® viene collocata in posizione orizzontale dopo il prelievo, le cellule ematiche sedimentano lungo la provetta aggregandosi in forma allungata.

La struttura risultante può essere compressa durante la centrifugazione, dopo la quale si apre nuovamente assumendo una forma a fisarmonica (fenomeno della "salsiccia").

Il siero ottenuto da questo campione non può essere dispensato automaticamente. È quindi importante tenere i campioni di siero in posizione verticale dopo il prelievo.



campione coagulato
in posizione verticale
dopo la centrifugazione



campione coagulato
in posizione orizzontale
dopo la centrifugazione



















7.4 S-Monovette® – Condizioni di centrifugazione

Il processo di centrifugazione è parte integrante della fase preanalitica. Nella routine del laboratorio, la centrifugazione simultanea di diverse S-Monovette® rappresenta la premessa indispensabile per potere soddisfare i requisiti di un rapido trattamento dei pazienti. I nostri range di centrifugazione ottimizzati per le S-Monovette® danno l'opportunità di scegliere le condizioni di centrifugazione migliori per il proprio caso.

Qualità ottimale del campione

Per garantire la qualità ottimale del campione nel quadro di questi range di centrifugazione, conduciamo studi completi e accuratamente validati. Per la valutazione della qualità dei campioni vengono scelti criteri significativi, quali ad es. l'integrità dello strato di gel, l'emolisi, il numero di cellule (solitamente trombociti) e la stabilità di tre parametri sensibili alle cellule (fosfato, glucosio, LDH). Per le S-Monovette® Citrato, il criterio è stato il numero dei trombociti < 10.000 (PPP) ai sensi della norma DIN 58905-1:2015-12.

Durata minima della centrifugazione

In base a BS 4851 (codice UE)	ISO 6710:2017	S-Monovette®	Accelerazione centrifuga relativa (g)				
			2000 x g	2500 x g	3000 x g*	3500 x g*	4000 x g*
		Siero	10 min	10 min	6 min	4 min	4 min
		Siero Gel	15 min	10 min	4 min	4 min	4 min
		Litio-Eparina	10 min	10 min	7 min	7 min	7 min
		Litio Eparina Gel	15 min	15 min	10 min	7 min	7 min
		Litio-Eparina Gel+	8 min	7 min	5 min	4 min	4 min
		EDTA	n. v.	n. v.	7 min	6 min	5 min
		EDTA Gel	15 min	10 min	10 min	7 min	7 min
		Citrato	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Fluoruro	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		GlucoEXACT	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Citrato PBM 1,8 ml Raggio di centrifuga > 17 cm	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Citrato PBM 1,8 ml Raggio di centrifuga > 9 e ≤ 17 cm	n.v.	n.v.	10 min	n.v.	n.v.

n.v. = non validato
Centrifugazione a 20° C

* Si applica a tutte le S-Monovette® ad esclusione di quella Ø 8 mm (S-Monovette® pediatrica)

7.5 Risalita del gel durante la centrifugazione

Risalita del gel nella S-Monovette® Siero Gel



Nella S-Monovette® Siero Gel il processo di coagulazione è già concluso prima della centrifugazione. In tal modo il gel sale rapidamente, senza ostacoli e in forma compatta, tra il sangue coagulato e le pareti della provetta. Alla fine sono presenti siero e sangue coagulato separati tra loro.

Risalita del gel nella S-Monovette® Litio-eparina Gel



Nella S-Monovette® Litio-Eparina Gel, prima della centrifugazione è presente sangue intero non coagulato. I componenti corpuscolari del sangue si distribuiscono diffusamente nel plasma ematico. Durante la centrifugazione si verifica una risalita frazionata del gel attorno ai componenti corpuscolari. La formazione ottimale della barriera di gel garantisce la sicura separazione tra plasma e componenti corpuscolari.

Ri-centrifugazione

La centrifugazione ripetuta di provette per campioni è sconsigliata.²⁹

I componenti lisati delle cellule ematiche possono in tal modo diffondersi di nuovo dalle cellule centrifugate nel siero/plasma. Successivamente vengono ad es. modificati parametri sensibili alle cellule quali potassio, fosfato, glucosio o LDH.³⁰

²⁹ CLSI, GP44-A4 2010; § 5.4.3

³⁰ Hue et al.; Observed changes in serum potassium concentration following repeat centrifugation of Sarstedt Serum Gel Safety Monovettes after storage; Ann Clin Biochem 1991; 28: 309-10

Shafi et al.; The Effect of Recentrifugation of Serum Separator Tubes on Concentration of Serum Analytes; Ann Clin Lab Sci 2012 42 (3):318-319

Hira et al.; Pseudohyperkalaemia caused by recentrifugation of blood samples after storage in gel separator tubes; Ann Clin Biochem 2001 38(Pt 4):386-90 Hira et al.; High Serum Potassium Concentrations after Recentrifugation of Stored Blood Specimens; NEJM 2000 343(2):153-154



8 Emolisi: di cosa si tratta?

“La distruzione degli eritrociti dovuta al danneggiamento della membrana cellulare determina la fuoriuscita di emoglobina nel plasma/siero. Ne risulta la colorazione rossastra del siero/plasma.”

Caratteristiche distintive di un'emolisi

La distruzione dello 0,5 % degli eritrociti determina l'alterazione cromatica del siero/plasma.



Dopo la centrifugazione, tale alterazione è riconoscibile dalla colorazione rossastra del plasma o del siero, la cui causa è riconducibile alla fuoriuscita di emoglobina, il colorante rosso del sangue, dagli eritrociti.

L'emolisi è identificabile nel siero/plasma da una concentrazione di circa **20 mg di emoglobina/dl!**

L'assenza di colorazione rossa non esclude interferenze dovute a emolisi.

L'emolisi (la distruzione degli eritrociti) è classificata in base alla sua origine *in vivo* (patologica) e *in vitro* (fisiologica).

³¹ CLSI; Hemolysis, Icterus, and Lipemia/Turbidity Indices as Indicators of Interference in Clinical Laboratory Analysis; Approved Guideline; 2012; C56-A

8.1 Emolisi *in vivo*

La distruzione degli eritrociti **all'interno dell'organismo** può essere imputabile a una condizione patologica. In questo caso si parla di emolisi *in vivo* o anemia emolitica.

L'origine di tale malattia può essere ereditaria o acquisita.

Ereditaria	Acquisita
Emoglobinopatie, quali: anemia falciforme, talassemia	Infezione da Mycoplasma pneumoniae Sindrome da agglutinine fredde Anemia emolitica autoimmune (AEA) Malattie autoimmuni, quali: Lupus eritematoso, leucemia linfatica cronica (LLC)
Deficit di glucosio-6-fosfato deidrogenasi	Infezioni (ad es.: malaria, babesiosi, Clostridium)
Difetti della membrana eritrocitaria (ad es. sferocitosi ereditaria o ellissocitosi ereditaria)	Sollecitazione meccanica nel circolo ematico, ad es.: Coagulazione intravascolare diffusa (CID) Sindrome emolitico-uremica (SEU) Porpora trombotica trombocitopenica (TTP) Sindrome di HELLP
Deficit di piruvato chinasi = eritroenzimopatia	Ustioni
	Droghe, tossine
	Trasfusione di sangue di gruppo sanguigno non compatibile

³² Lippi et al; In vitro and in vivo hemolysis, an unresolved dispute in laboratory medicine; 2012

8.2 Emolisi *in vitro*

Questa forma di emolisi insorge **al di fuori dell'organismo** ed è responsabile di oltre il 90 % dei campioni emolizzati. La causa è sempre legata alla fase preanalitica.

Cause frequenti durante il prelievo ematico

- Emostasi venosa prolungata / eccessiva
- Forze di taglio fisiche (ago troppo sottile, ago curvo)
- Venopuntura traumatica (prelievo difficoltoso)
- Prelievo ematico da catetere con tecnica sottovuoto¹⁵
- Catetere endovenoso in abbinamento a vuoto eccessivo^{17, 33-39}
- Soluzione di infusione (diluizione, alterazione)

¹⁵ Lippi et al.; Prevention of hemolysis in blood samples collected from intravenous catheters Clin Biochem 2013; 46(7-8): 561-64

¹⁷ Millius et al.; The „EPIQ“-Study (Evaluation of preanalytical quality): S-Monovette® in manual aspiration mode drastically reduces hemolytic samples in head-to-head study; 2021 Pract Lab Med 27 e00252

³³ Omar et al.; Reducing blood sample hemolysis in the emergency department using S-Monovette® in aspiration mode; 2023; Pract Lab Med 35 e00315

³⁴ Halm et al.; Obtaining blood samples from peripheral intravenous catheters: best practice? Am J Crit Care 2009;18(5): 474-78

³⁵ Wollowitz et al.; Use of butterfly needles to draw blood is independently associated with marked reduction in hemolysis compared to intravenous catheter. Ac Emerg. Med 2013; 20(11): 1151-55.

³⁶ ENA's Translation Into Practice. Reducing Hemolysis of Peripherally Drawn Blood Samples. 2012 (Emergency Nursing Association)

³⁷ Heyer et al.; Effectiveness of practices to reduce blood sample hemolysis in EDs: A laboratory medicine best practices systematic review and meta-analysis; Clin Biochem 2012; 45(13-14): 1012-32

³⁸ Straszewski et al. J; Use of seprate venipunctures for IV access and laboratory studies decreases hemolysis rates; Intern Emerg Med 2011; 6(4): 357-59

³⁹ Dugan et al.; Factors Affecting Hemolysis Rates in Blood Samples Drawn from Newly Placed IV Sites in the Emergency Department; J Emerg Nurs 2005; 31(4): 338-45

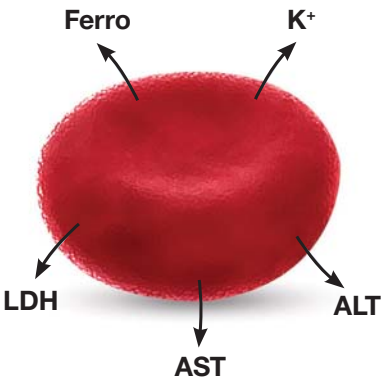
Cause frequenti dopo il prelievo ematico

- Miscelazione / agitazione troppo energica
- Effetti del trasporto (sollecitazione meccanica eccessiva, ad es. posta pneumatica)
- Campione troppo vecchio (il rischio di emolisi aumenta con l'età del campione)
- Refrigerazione / riscaldamento / congelamento eccessivi

8.3 Conseguenze di un'emolisi

Rilascio del contenuto cellulare – variazioni delle concentrazioni

In presenza di emolisi, le sostanze presenti negli eritrociti in concentrazione più elevata (concentrazione intracellulare) fuoriescono nel siero/plasma (concentrazione extracellulare) a causa della distruzione della membrana eritrocitaria. Ne conseguono risultati di misurazione falsamente elevati.



Rilascio del contenuto cellulare – interferenza ottica

Durante l'emolisi si verifica il rilascio di emoglobina, ossia il colorante rosso del sangue, nel siero/plasma. Tale condizione può causare segnali di misurazione errati nelle analisi fotometriche a causa dell'estinzione, o assorbanza, propria dell'emoglobina.

Segnale di misura errato = risultato errato

Rilascio del contenuto cellulare – interferenza specifica del metodo

I singoli metodi di test possono subire gli effetti e le interferenze derivanti dagli enzimi rilasciati dalle cellule.

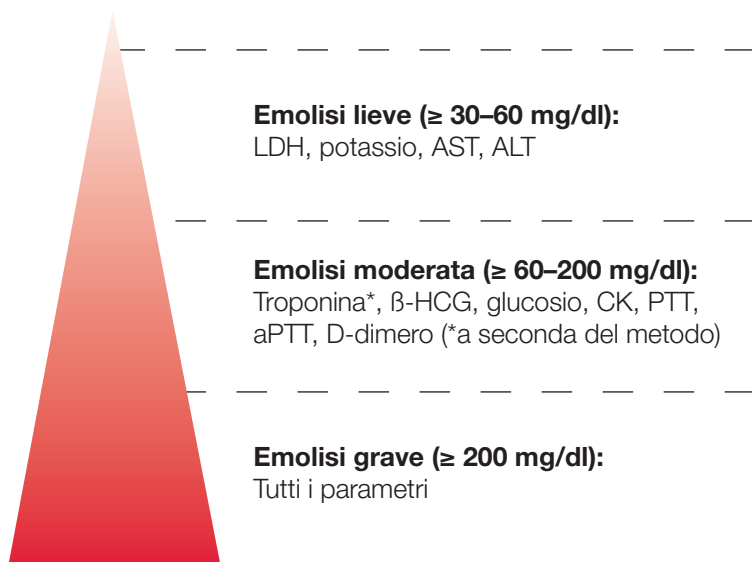
Contenuto cellulare rilasciato	Analisi interessate
Emoglobina libera	Bilirubina
Adenilato chinasi	CK, CK-MB
Idrolasi	Coagulazione

Rilascio del contenuto cellulare – trasferimento di volume

In presenza di emolisi grave o estesa si verifica un aumento del volume della frazione liquida all'interno del campione (dovuto alla scarsa presenza o completa assenza di cellule), con conseguente diluizione del siero/plasma.

8.4 Rilevanza clinica

Sono coinvolti i seguenti parametri:



⁴⁰ Lippi et al.; Hemolyzed specimens: a major challenge for emergency department and clinical laboratories, Crit Rev Clin Lab Sci 2011; 48(3): 143-53

Nota: I risultati delle analisi sono alterati dall'emolisi e non riflettono le condizioni del paziente. Tale situazione può portare a errori diagnostici, con conseguenti misure terapeutiche inadeguate o non necessarie, o l'assenza di tali misure.

In molti casi è necessario un nuovo prelievo ematico per determinare i valori analitici corretti.

Ciò causa oneri per il paziente, perdite di tempo e costi aggiuntivi che potrebbero essere evitati.^{33,41,42,43}

³⁹ Omar et al.; Reducing blood sample hemolysis in the emergency department using S-Monovette® in aspiration mode; 2023; Pract Lab Med 35 e00315

⁴¹ Cadamuro et al.; The economic burden of hemolysis; CCLM 2015

⁴² Jacobs et al.; Cost of hemolysis; AnnClinBiochem 2012; 49(Pt 4): 412

⁴³ Jacobs et al.; Haemolysis Analysis; An Audit of Haemolysed Medical Admission Blood Results; AcuteMed 2010; 9(1): 46-47

9 Conservazione e trasporto



“Le modalità di trasporto e di conservazione dei campioni dovrebbero essere scelte in modo tale da non influire sui risultati delle analisi.”

10.1 Trasporto dei campioni

Al fine di garantire le corrette condizioni di conservazione, trasporto e spedizione dei campioni, devono essere rispettate le disposizioni vigenti in materia di spedizione^{44,45}, così come deve essere considerata la stabilità dei vari parametri. Il rispetto di tale requisito presuppone un'organizzazione ottimale.

Importante: *Il mittente è responsabile della spedizione dei campioni e della scelta del sistema di trasporto appropriato.*

⁴⁴ P650 IATA/ADR

⁴⁵ TRBA 100

Trasporto dei campioni in conformità con l'istruzione di imballaggio

P650 dell'ADR & IATA

Prima di trasportare sostanze biologiche liquide di categoria B in scatole e casse di trasporto, occorre verificare che i campioni possano essere trasportati su strada, su rotaia o per via aerea.

A queste diverse modalità di trasporto si applica in modo specifico l'istruzione di imballaggio P650, contenuta nell'ADR (Accordo europeo relativo al trasporto internazionale di merci pericolose su strada/rotaia) e nella IATA (International Air Transport Association – trasporto aereo). Tale istruzione dispone il trasporto di campioni in un imballaggio costituito da 3 elementi:

- Contenitore primario (a tenuta di liquidi)
- Contenitore secondario (a tenuta di liquidi)
- Imballaggio esterno (rigido; dimensioni minime 100 x 100 mm; dicitura "MATERIALE BIOLOGICO, CATEGORIA" con codice UN "UN3373" all'interno di un rombo di dimensioni minime di 50 x 50 mm)

Il contenitore primario o quello secondario devono inoltre essere in grado di resistere a una pressione interna di 95 kPa senza perdita di contenuto. Tra il contenitore primario e quello secondario deve inoltre essere presente un materiale assorbente in grado di assorbire l'intero volume del contenuto.



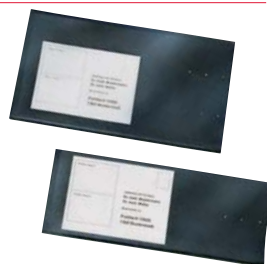
Trasporto di “campioni medici esenti”

I campioni classificabili come sostanze non infettive delle categorie A e B non sono soggetti alle disposizioni dell'ADR / IATA, ma devono essere imballati nel modo seguente.

Imballaggio a 3 componenti, composto come segue:

- Contenitore primario (impermeabile)
- Contenitore secondario (impermeabile)
- Imballaggio esterno (dimensioni minime 100 x 100 mm con la dicitura “CAMPIONE MEDICO ESENTE” o “CAMPIONE VETERINARIO ESENTE”)

Anche in questo caso, tra il contenitore primario e quello secondario deve essere inserito un materiale assorbente in grado di assorbire l'intero volume del contenuto. Di norma la P650 è uguale per entrambi i regolamenti.



Eccezione:

Le scatole di spedizione e le valigette di trasporto utilizzate per la spedizione di campioni di sostanze biologiche della categoria B devono essere state sottoposte a prova ai sensi dell'istruzione di imballaggio P650.

Trasporto interno / TRBA 100

Al fine di garantire il trasporto interno sicuro di campioni di agenti e sostanze biologiche, è necessario utilizzare contenitori di trasporto chiusi, indeformabili, infrangibili, a tenuta di liquidi, disinfettabili dall'esterno ed etichettabili in modo permanente. Tali contenitori non devono inoltre potersi aprire in modo accidentale per cause esterne.⁴⁵



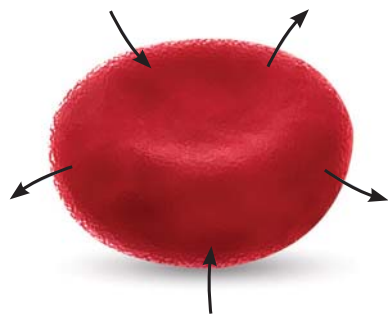
⁴⁵ TRBA 100

9.2 Effetti di temperatura, tempo e metabolismo cellulare

I valori di concentrazione misurati variano per effetto della stabilità dei singoli parametri e del metabolismo cellulare. Anche le sollecitazioni meccaniche o fisiche sui campioni possono causare variazioni.

Metabolismo cellulare

Il sangue è un tessuto vivo. Ciò significa che i processi metabolici, ossia il metabolismo cellulare, proseguono all'interno della provetta anche dopo il prelievo.



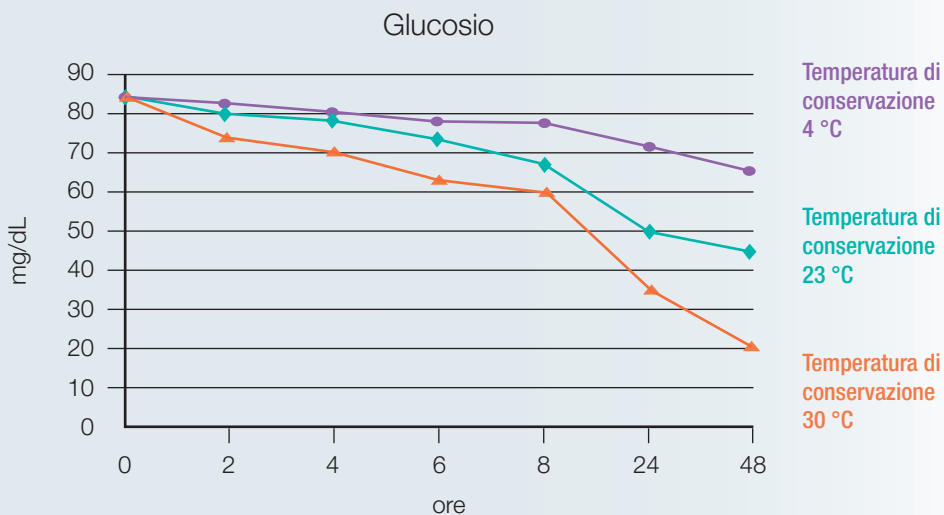
Nota: Il sangue è un tessuto vivo!

Effetti della conservazione su diversi parametri

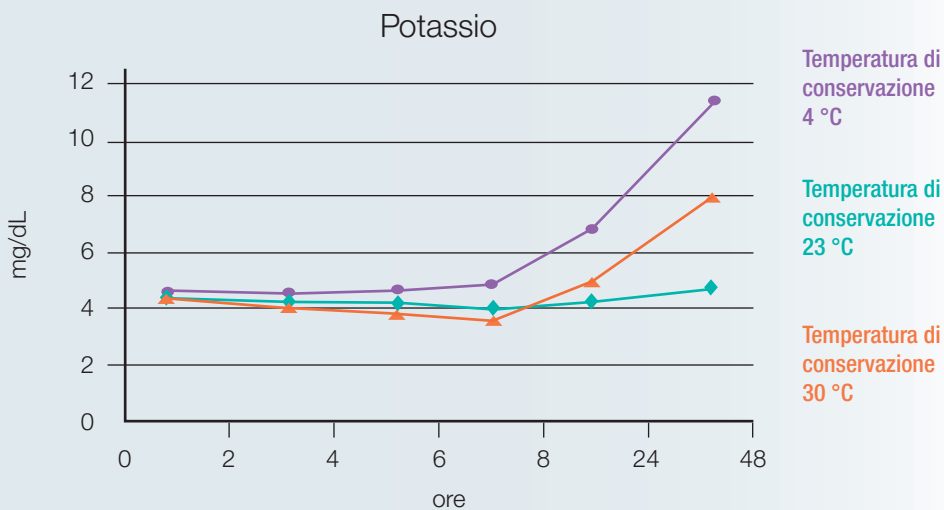
Parametro	Valore
Lattato	Aumenta
Ammoniaca	Aumenta
Potassio	Aumenta
Glucosio	Diminuisce
pCO ₂	Diminuisce

A seconda dei parametri, è possibile evitare le variazioni dei valori utilizzando speciali stabilizzatori nelle diverse preparazioni oppure tramite separazione fisica (gel, filtro Seraplas®, creazione di aliquote).

Effetto della temperatura di conservazione su glucosio e potassio



⁵ Guder, Narayanan; Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results 2015 DOI:10.1515/9783110334043



⁵ Guder, Narayanan; Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results 2015 DOI:10.1515/9783110334043

Nota: Non esiste una temperatura ideale. Campioni freschi e correttamente prelevati consentono risultati corretti.

Conservazione e trasporto



- Inviare il campione di sangue in laboratorio e analizzarlo il prima possibile.
- Dopo la centrifugazione, i gel di separazione o i filtri impediscono la diffusione di sostanze dagli eritrociti al siero/plasma.

Il sangue intero senza separazione siero/plasma mediante gel o filtro non deve in mai essere congelato. Tale procedura potrebbe provocare un'emolisi totale!

Chimica clinica:

- In caso di stoccaggio a lungo termine, il siero deve essere conservato in contenitori chiusi a 2–4 °C.
- I campioni di siero e plasma possono essere conservati per periodi di tempo prolungati a –20 °C.
- In caso di lunghi percorsi devono essere utilizzati appositi contenitori refrigerati.
- Per alcune analisi (ad es. ammoniaca) il trasporto deve avvenire rapidamente.

Test diagnostici della coagulazione:

- Nei test diagnostici della coagulazione, di solito i campioni devono essere trasportati a temperatura ambiente (18–25 °C).⁶
La maggior parte delle linee guida (3, 37) raccomandano di centrifugare i campioni di coagulazione entro un'ora dal prelievo e di analizzarli entro quattro ore. In tale intervallo temporale i campioni possono essere conservati a temperatura ambiente.

Ematologia:

- Il sangue contenente EDTA per un emocromo può essere conservato a temperatura ambiente (18–25 °C) fino a 24 ore.⁴⁶

⁶ Endler et al.; The importance of preanalytics for the coagulation laboratory; *Hämostaseologie* 2010; 30(2): 63-70

⁴⁶ Tatsumi et al.; Specimen Collection, Storage, and Transmission to the Laboratory for Hematological Tests; *International Journal of Hematology* 2002; 75(3); 261-66

Checklist per il trasporto

- Chiudere i campioni (evaporazione)
- Conservare il siero/plasma a 4–8 °C
- Conservare in posizione verticale
- Conservare l'EDTA per emocromo a temperatura ambiente
- Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento
- Proteggere i parametri fotosensibili dalla luce solare (ad es. la bilirubina)
- Utilizzare una preparazione speciale per la stabilizzazione (ad es. S-Monovette® HCY-Z Gel per omocisteina)



Trasporto tramite posta pneumatica

I sistemi di trasporto tramite posta pneumatica possono ridurre in misura significativa il tempo che intercorre tra il prelievo e il risultato dell'analisi⁴⁷, ma la velocità più elevata non corrisponde necessariamente a una migliore qualità. Sistemi di trasporto di scarsa qualità o regolati in modo scorretto possono causare emolisi o attivazione della coagulazione.^{48,49,50}

A scopo di controllo, si possono confrontare, tra l'altro, i valori di LDH e di potassio, la conta leucocitaria, il PTT e il D-dimero con e senza trasporto tramite posta pneumatica.

Il trasporto dei campioni tramite posta pneumatica può avvenire senza effetti significativi sui parametri seguendo i consigli riportati di seguito.^{51,52}

- Velocità massima 5 m/s
- Profili e raggi di curvatura “morbidi”
- Frenate “dolci” prima delle curve
- Uso di inserti di smorzamento nel contenitore per posta pneumatica
- Zone di uscita orizzontali lente
- Invio dei campioni di siero solo al termine della coagulazione

⁴⁷ Koessler et al.; The preanalytical influence of two different mechanical transport systems on laboratory analysis; Clin Chem Lab Med; 2011; 49(8): 1379-82

⁴⁸ Kratz et al.; Effects of a pneumatic tube system on routine and novel hematology and coagulation parameters in healthy volunteers; Arch Lab Med; 2007; 131(2): 293-96

⁴⁹ Sodi et al.; Pneumatic tube system induced haemolysis: assessing sample type susceptibility to haemolysis; Ann Clin Biochem; 2004; 41(Pt 3): 237-40

⁵⁰ Steige et al.; Evaluation of pneumatic-tube system for delivery of blood specimens; Clin Chem; 1971; 17(12): 1160-64

⁵¹ Koçak et al.; The effects of transport by pneumatic tube system on blood cell count, erythrocyte sedimentation and coagulation tests; Biochemia Medica; 2013; 23(2): 206-10

⁵² Tiwari et al.; Speed of sample transportation by a pneumatic tube system can influence the degree of hemolysis; Clin Chem Lab Med; 2011; 50(3): 471-74

10 Riferimenti bibliografici

1. Guder et al.; Proben zwischen Patient und Labor; 2009
2. Bonini et al.; Errors in Laboratory Medicine; Clin. Chem 2002; 48(5): 691-98
3. Foubister, Vida. Cap Today Bench press: The Technologist/technician shortfall is putting the squeeze on laboratories nationwide September 2000; Datta, P. Resolving Discordant Samples. Advance for the Administrators of Laboratories; 2005: p.60
4. Guder, Narayanan; Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results 2015 DOI:10.1515/9783110334043, Kapitel 3.3.3 / 3.3.4 Seelig et al.; Präanalytik; 2008
5. Guder, Narayanan; Pre-Examination Procedures in Laboratory Diagnostics: Preanalytical Aspects and their Impact on the Quality of Medical Laboratory Results 2015 DOI:10.1515/9783110334043
6. Endler et al.; The importance of preanalytics for the coagulation laboratory; Hämostaseologie 2010; 30(2): 63-70
7. RILIBÄK § 6.1.7 Teil A5
8. Sulaiman, Effect of order of draw samples during phlebotomy on routine biochemistry results; J Clin Pathol. 2011; 64(11): 1019-20
9. Calam et al.; Recommended "Order of Draw" for Collecting Blood Specimens into Additive-Containing Tubes; Clin. Chem.; 1982; 28(6): 1399
10. Gurr et al.; Musterstandardarbeitsanweisung Präanalytik; J Lab Med 2011
11. CLSI Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, Approved Standard 2007, 6th edition GP 41-A6 (former H3-A6), 27 (26)
12. Lichtinghagen et al.; Einfluss der Stauzeit auf normalisierte Laborwerte; J Lab Med 2013; 37(3): 131-37
13. Spannagl et al.; Hämostaseologische Globaltests; Hämostaseologi 2006
14. Margo et al.; Obtaining blood samples from peripheral intravenous catheters: best practice; AJCC, 2009; 18(5)
15. Lippi et al.; Prevention of hemolysis in blood samples collected from intravenous catheters; Clin Biochem 2013; 46(7-8): 561-64
16. Heyer et al.; Effectiveness of practices to reduce blood sample hemolysis in EDs: A laboratory medicine best practices systematic review and meta-analysis Clin Biochem 2012; 45(13-14): 1012-32
17. Millius et al.; The „EPIQ“-Study (Evaluation of preanalytical quality): S-Monovette® in manual aspiration mode drastically reduces hemolytic samples in head-to-head study; 2021 Pract Lab Med 27 e00252
18. Benso; Can a blood sample for diagnostic exams be drawn from a peripheral venous catheter?; Assist Inferm Ric; 2015; 34(2): 86-92
19. Pschyrembel 2004
20. Borde et al.; Abnahme von Blutkulturen; Dtsch Med Wochenschr; 2010; 135: 355-58
21. Simon et al.; Blutkulturdiagnostik – Standards und aktuelle Entwicklungen; J Lab Med; 2012; 36(4): 199-207
22. Speer et al.; Pädiatrie; 2013
23. Kupke et al.; On the composition of capillary and venous blood serum; Clin Chim Acta. 1981; 112(2): 177-85
24. Kohse et al.; National and international initiatives and approaches for the establishment of reference intervals in pediatric laboratory medicine; J Lab Med 2015; 39(4): 197–212
25. Barthels et al.; Das Gerinnungskompandium; 2012
26. Der unterschätzte Arbeitsunfall, Infektionsrisiko durch Nadelstichverletzungen; Initiative SAFETY FIRST!
27. EU-Richtlinie 2010/32/EU des Rates der Europäischen Union von 2010 Zur Vermeidung von Verletzungen durch scharfe/spitze Instrumente im Krankenhaus- und Gesundheitssektor
28. SAFETY FIRST, Deutschland - www.nadelstichverletzung.de
29. CLSI, GP44-A4 2010; § 5.4.3
30. Hue et al.; Observed changes in serum potassium concentration following repeat centrifugation of Sarstedt Serum Gel Safety Monovettes after storage; Ann Clin Biochem 1991; 28: 309-10
Shafi et al.; The Effect of Recentrifugation of Serum Separator Tubes on Concentration of Serum Analytes; Ann Clin Lab Sci 2012 42 (3):318-319 Hira et al.; Pseudohyperkalaemia caused by recentrifugation of blood samples after storage in gel separator tubes; Ann Clin Biochem 2001 38(Pt 4):386-90 Hira et al.; High Serum Potassium Concentrations after Recentrifugation of Stored Blood Specimens; NEJM 2000 343(2):153-154

31. CLSI; Hemolysis, Icterus, and Lipemia/Turbidity Indices as Indicators of Interference in Clinical Laboratory Analysis; Approved Guideline; 2012; C56-A
32. Lippi et al.; In vitro and in vivo hemolysis, an unresolved dispute in laboratory medicine; 2012
33. Omar et al.; Reducing blood sample hemolysis in the emergency department using S-Monovette® in aspiration mode; 2023; Pract Lab Med 35 e00315
34. Halm, et al. Obtaining blood samples from peripheral intravenous catheters: best practice? Am J Crit Care 2009; 18(5): 474-78
35. Wollowitz, et al. Use of butterfly needles to draw blood is independently associated with marked reduction in hemolysis compared to intravenous catheter. Ac Emerg. Med 2013; 20(11): 1151-55
36. ENA's Translation Into Practice. Reducing Hemolysis of Peripherally Drawn Blood Samples. 2012 (Emergency Nursing Association)
37. Heyer et al.; Effectiveness of practices to reduce blood sample hemolysis in EDs: A laboratory medicine best practices systematic review and meta-analysis; Clin Biochem 2012; 45(13-14): 1012-32
38. Straszewski et al. J; Use of seprate veniunctures for IV access and laboratory studies decreases hemolysis rates; Intern Emerg Med 2011; 6(4): 357-59
39. Dugan et al.; Factors Affecting Hemolysis Rates in Blood Samples Drawn from Newly Placed IV Sites in the Emergency Department; J Emerg Nurs 2005; 31(4): 338-45
40. Lippi et al.; Hemolyzed specimens: a major challange for emergency department and clinical laboratories, Crit Rev Clin Lab Sci 2011; 48(3): 143-53
41. Cadamuro et al.; The economic burden of hemolysis; CCLM 2015
42. Jacobs et al.; Cost of hemolysis; AnnClinBiochem 2012; 49(Pt 4): 412
43. Jacobs et al.; Haemolysis Analysis; An Audit of Haemolysed Medical Admission Blood Results; AcuteMed 2010; 9(1): 46-47
44. P650 IATA/ADR
45. TRBA 100
46. Tatsumi et al.; Specimen Collection, Storage, and Transmission to the Laboratory for Hematological Tests; International Journal of Hematology 2002; 75(3): 261-68
47. Koessler et al.; The preanalytical influence of two different mechanical transport systems on laboratory analysis; Clin Chem Lab Med; 2011;49(8):1379-82
48. Kratz et al.; Effects of a pneumatic tube system on routine and novel hematology and coagulation parameters in healthy volunteers; Arch Lab Med; 2007; 131(2): 293-96
49. Sodi et al.; Pneumatic tube system induced haemolysis: assising sample type susceptibility to haemolysis; Ann Clin Biochem; 2004; 41(Pt 3): 237-40
50. Steige et al.; Evaluation of pneumatic-tube system for delivery of blood specimens; Clin Chem; 1971; 17(12): 1160-64
51. Koçak et al.; The effects of transport by pneumatic tube system on blood cell count, erythrocyte sedimentation and coagulation tests; Biochemia Medica; 2013; 23(2): 206-10
52. Tiwari et al.; Speed of sample transportation by a pneumatic tube system can influence the degree of hemolysis; Clin Chem Lab Med; 2011; 50(3): 471-74

15 Note legali

Ci preme sottolineare che gli argomenti trattati in “Principi di base del prelievo di sangue venoso” nell’ambito del prelievo di sangue venoso hanno puramente carattere di raccomandazione e non sostituiscono in alcun modo una consulenza medica, scientifica o tecnica.

Con riserva di modifiche tecniche.

Questa brochure potrebbe contenere informazioni su prodotti non disponibili in alcuni Paesi.

Workflow preanalitico made by SARSTEDT

Approfittate della sinergia dei nostri sistemi.



Scoprite le
soluzioni a 360°
per la preanalitica
di SARSTEDT



workflow.sarstedt.com

In caso di domande,
siamo a disposizione!

Visitate anche la nostra pagina Internet: www.sarstedt.com

SARSTEDT S.r.l.

Via Leonardo Da Vinci, 97
20090 Trezzano sul Naviglio (MI)

Tel: +39 02 38292413

info.it@sarstedt.com
www.sarstedt.com