

Istruzione operativa

Prelievo di sangue per analisi di laboratorio

REDATTO DA	VERIFICATO DA	APPROVATO DA
Carmela di Natale	Slomp Paola	Anesi Adriano

Revisione N. 6 del 07/06/2023

Indice:

1. Scopo e campo di applicazione:	2
2. Responsabilità:	2
3. Modalità operative:.....	2
3.1 IDENTIFICAZIONE PAZIENTE E CAMPIONI.....	2
3.1.1 Identificazione del paziente al momento del prelievo	2
3.1.2 Identificazione dei campioni.....	3
3.2 PRELIEVO DI SANGUE VENOSO.....	3
3.2.1 Dispositivi per il prelievo.....	3
3.2.2 Preparazione del paziente.....	4
3.2.3 Esecuzione prelievo	4
3.3 FONTI DI ERRORE NELLA FASE DEL PRELIEVO	6
3.4 TRASPORTO E CONSERVAZIONE CAMPIONI.....	7
3.5 SINTESI DELLE RACCOMANDAZIONI	8
4. Allegati e documenti di riferimento:	9

1. Scopo e campo di applicazione:

La raccolta di materiali biologici rappresenta la fase iniziale del processo di medicina di laboratorio e ne rappresenta la fase più critica ~~di tutto il processo~~. Una percentuale variabile dal 60 al 70% degli errori totali riguarda la fase preanalitica, in cui le attività svolte dall'uomo rappresentano una quota rilevante.

Risultati di laboratorio non corretti possono dipendere da variabili legate allo stato del paziente (esercizio fisico, dieta, stress, effetti posturali, comorbidità, abitudini voluttuarie), dalle modalità d'esecuzione del prelievo, dai dispositivi utilizzati per esecuzione di prelievo e raccolta del campione, delle modalità di conservazione e trasporto fino al laboratorio di esecuzione.

Affinchè i campioni siano idonei all'esame è necessaria l'aderenza a modalità appropriate e standardizzate di raccolta.

L'Operatore Sanitario che raccoglie i campioni è il garante affinché il laboratorio riceva un campione di qualità, per consentire successivamente al clinico di disporre di risultati rappresentativi delle condizioni reali del paziente.

L'errore nella fase preanalitica, qualora venga intercettato, può prevedere la ripetizione dei prelievi che, oltre a rappresentare una perdita di tempo e di denaro per la struttura, può produrre conseguenze negative per la salute del paziente:

- Ritardo nel formulare la diagnosi corretta
- Rischio di somministrazione di terapie e farmaci inappropriati e relative complicazioni
- Possibile prolungamento della degenza ospedaliera (maggiore spesa per il Paziente e/o per il sistema sanitario)
- Anemia nosocomiale nei neonati, nei bambini piccoli e nei pazienti affetti da gravi patologie
- Trauma emotivo per il Paziente legato all'incertezza
- Infine, maggiore disagio e dolore imputabile alla ripetizione del prelievo

Il presente documento illustra le raccomandazioni formulate dalle società scientifiche riguardo la raccolta dei campioni di sangue.

2. Responsabilità:

La responsabilità della corretta applicazione della presente Istruzione Operativa è di tutto il personale sanitario che effettua prelievi di sangue a scopo diagnostico.

3. Modalità operative:

3.1 IDENTIFICAZIONE PAZIENTE E CAMPIONI

3.1.1 Identificazione del paziente al momento del prelievo

La prima operazione che il prelevatore deve compiere è **accertare l'identità del paziente con l'utilizzo di almeno due criteri identificativi (vedi standard JCI National Patient Safety Goal 01.01.01)**

Utente esterno afferente ai Centri Prelievo

I criteri di identificazione al momento del prelievo prevedono che il prelevatore chieda al paziente di dichiarare l'identità (nome, cognome e data di nascita) e verifichi la corrispondenza di quanto riferito sull'etichetta del contenitore primario.

Paziente ricoverato

I criteri di identificazione, **nessuno dei quali deve essere il numero di stanza o di letto**, comprendono: il controllo del braccialetto (recante codice a barre, o dati anagrafici del paziente) o, in assenza di questo, che il prelevatore chieda al paziente di dichiarare l'identità (nome, cognome e data di nascita) e verifichi la corrispondenza di quanto riferito sull'etichetta del contenitore primario.

Paziente non collaborante: controllo del braccialetto (recante codice a barre, o dati anagrafici del paziente), confronto identità con fotografia su documento identificativo

3.1.2 Identificazione dei campioni

Applicare le etichette identificative sulle provette prima di effettuare il prelievo.

Poiché il codice identifica non solo la richiesta, ma il singolo campione, è indispensabile che l'etichettatura delle provette avvenga rispettando l'abbinamento con il contenitore indicato sull'etichetta.

I campioni devono pervenire in Laboratorio già identificati con le etichette prodotte dai software di accettazione informatica (es. DNWEB o sistema Ippocrate), riportanti Cognome, Nome, data di nascita, sesso del paziente, reparto e codice univoco utilizzato dal LIS (Laboratory Informatic System) per l'identificazione della richieste e dei campioni in tutte le fasi lavorative e di archiviazione dei referti.

L'identificazione dei campioni è un punto molto delicato della fase preanalitica. Se si commette un errore in questa fase si verifica una delle NC più gravi: un errore di identificazione non è più rilevabile nei controlli successivi effettuati in laboratorio; la conseguenza è che ad un paziente vengono attribuiti esami eseguiti su campioni di un altro paziente.

Nelle stanze di degenza ove siano ricoverati più pazienti, il prelevatore entra in stanza solo con le provette destinate ad un paziente e preleva sempre e solo un paziente alla volta.

Le etichette devono essere applicate ai contenitori lasciando uno spazio attraverso il quale sia ben visibile il contenuto, per permettere agli operatori del laboratorio di controllare l'idoneità dei campioni (quantità, presenza di emolisi o coaguli...).

La stampa sulle etichette barcode deve essere di buona qualità per permettere la lettura automatica delle informazioni da parte della strumentazione. Le etichette devono essere integre, applicate orientando il lato maggiore lungo la provetta e parallelo ad essa, con il margine superiore più vicino possibile al tappo, senza sormontarlo.

Se le etichette barcode non sono applicate correttamente, l'analizzatore può non leggere il barcode e l'operatore di laboratorio deve ristampare l'etichetta ed applicarla correttamente (tale operazione comporta un **rischio di errore**).

Registrare l'identità del prelevatore per garantirne la rintracciabilità.

3.2 PRELIEVO DI SANGUE VENOSO

3.2.1 Dispositivi per il prelievo

E' **raccomandabile utilizzare** per il prelievo di sangue venoso **dispositivi che prevedano l'integrazione di aghi monouso, sistemi di supporto ("holder", adattatori o "camicie") e provette primarie sottovuoto ("vacuum")**.

Utilizzare aghi con calibro di 20 o 21 gauge (aghi di piccolo calibro, di diametro inferiore a 23 “gauge” (G), possono produrre emolisi e variazioni di alcuni analiti comuni - soprattutto ioni, indici fibrinolitici e conta piastrinica).

3.2.2 Preparazione del paziente

Per ridurre la variabilità analitica la fase di preparazione al prelievo deve essere standardizzata definendo il comportamento corretto durante il periodo antecedente al prelievo.

Norme generali che l'utente deve osservare prima di un prelievo di sangue.

Periodo antecedente

A partire da almeno 2 giorni prima del prelievo l'utente deve:

- **Evitare attività fisica intensa (sport, lavori pesanti, ecc.)**
- Astenersi dal variare la dieta abituale (salvo per la preparazione ad alcuni esami che richiedono una dieta particolare)
- Evitare, possibilmente, situazioni di stress.

Periodo immediatamente precedente

Il giorno prima l'utente deve:

- Consumare i pasti come di norma
- Astenersi dal fumo
- Osservare il digiuno per almeno 8 – 10 ore; è però possibile assumere modiche quantità di acqua (fino a 2 bicchieri).

Anche se alcuni test danno risultati attendibili anche in pazienti non digiuni, tuttavia i valori di riferimento per gli esami sono stati determinati sempre su popolazioni di pazienti digiuni.

Il digiuno è strettamente necessario per la determinazione di: glicemia, colesterolo e trigliceridi, sideremia, acido folico e vitamina B12, insulina, acidi biliari.

- In caso di assunzione di farmaci:
 - salvo diversa indicazione del medico prescrittore il prelievo per dosaggio del farmaco deve intendersi come determinazione del livello plasmatico più basso del farmaco, quindi da eseguire immediatamente prima dell'assunzione del farmaco;
 - evitare se possibile, sempre su consenso medico, l'assunzione di farmaci quali ansiolitici, antinfluenzali, antinfiammatori, analgesici prima del prelievo.

Il giorno del prelievo:

- Il tragitto al Centro Prelievi deve essere compiuto col minimo sforzo
- Effettuare il prelievo dopo 15 minuti di riposo a sedere; durante l'attesa astenersi dal cibo e dal fumo

3.2.3 Esecuzione prelievo

Il prelievo costituisce uno dei momenti più importanti della fase preanalitica; obiettivi della procedura di esecuzione del prelievo riportata qui di seguito sono:

- Minimizzare l'impatto traumatico sul paziente
- Ottenere un campione conforme e limitare la variabilità della fase preanalitica.

N.B.: prima del prelievo verificare se per gli analiti richiesti sono previste istruzioni particolari di conservazione /trasporto (vedi documento MD50 – Analiti instabili che necessitano di trattamento preanalitico in sede di prelievo e in laboratorio)

Prima di iniziare il prelievo, controllare che tutto il materiale necessario sia a portata di mano.

Individuazione della sede di prelievo

Le vene centrali dell'avambraccio (cubitale e cefalica) sono le preferibili; in alternativa, possono essere utilizzate anche la vena basilica e quelle del dorso del braccio; vene del polso e della mano sono utilizzabili solo qualora i precedenti siti non siano accessibili.

Sono invece da evitare prelievi da ampie cicatrici a seguito di ustioni o chirurgia, braccio omolaterale ad esito di recente mastectomia (i risultati degli esami potrebbero essere alterati per la presenza di linfedema), siti

contigui ad ematomi, trombi o edemi.

In presenza di dispositivi per terapia endovenosa (IV) e/o trasfusioni di **sangue**, se possibile prelevare da braccio controlaterale per evitare emodiluizione dovuta alla presenza di fluido nel dispositivo.

Qualora si decida comunque di prelevare il campione da siti d'infusione, deve essere seguita una procedura che prevede l'arresto del flusso nel dispositivo per almeno 2 minuti e la rimozione preventiva di non meno di 5 mL di sangue.

Qualora il punto di prelievo non sia immediatamente identificabile, per favorire il rigonfiamento della vena è possibile applicare il laccio emostatico, riscaldare brevemente il sito di prelievo, con un panno caldo, massaggiare il sito in senso opposto al flusso venoso; è indubbio che riscaldare brevemente il sito di prelievo con acqua calda sia di qualche aiuto, mentre non è opportuno percuotere il sito.

Applicazione del laccio emostatico

Anche se il prelievo andrebbe idealmente portato a termine senza stasi venosa, l'applicazione del laccio emostatico rappresenta prassi consolidata per aumentare la pressione intravenosa e favorire l'identificazione del sito più idoneo ed evitare il collasso del vaso durante la procedura. Esistono tuttavia evidenze che la misurazione di alcuni parametri (albumina, elettroliti, emoglobina, ematocrito, numero di elementi corpuscolati, tempo di protrombina, D-dimero, fibrinogeno) può essere influenzata da entità (pressione esercitata dal laccio) e durata della stasi (tempo di applicazione del laccio).

In presenza di vene grosse, visibili e palpabili, è preferibile non applicare il laccio emostatico.

Quando si renda necessario applicare il laccio per rendere maggiormente visibili le vene, si consiglia di procedere come segue:

- **posizionare il laccio circa 10 cm al di sopra del sito prescelto**
- **utilizzare una pressione sufficiente a generare stasi venosa ma non a causare dolore, fastidio od ostacolare la circolazione arteriosa**
- **non mantenere il laccio in sede per più di due minuti (quando è necessario più tempo per identificare una vena idonea o terminare il prelievo, il laccio deve rilasciato e riapplicato successivamente).**

L'uso del laccio è comunque da evitare nel prelievo per la determinazione del pH venoso.

Disinfezione della cute

Prima di procedere al prelievo, è necessario detergere accuratamente la cute utilizzando preferibilmente un batuffolo di ovatta imbevuto di clorexidina gluconato in soluzione alcoolica allo 0,5%, procedendo sempre nello stesso verso (onde evitare di rendere vana la detersione), asciugando poi accuratamente la cute con un batuffolo di ovatta asciutto (onde evitare contatto tra sangue e disinfettante, frequente causa di emolisi)

Puntura venosa e riempimento delle provette

Il sistema di prelievo prevede l'utilizzo di provette sotto vuoto: un ago, munito di una seconda estremità prossimale appuntita chiusa da una valvola di lattice, viene montato su di un dispositivo analogo al cilindro di una siringa (Holder).

Inserito in vena l'ago, vengono spinte nel cilindro una dopo l'altra le provette con tappo di gomma perforabile, ognuna delle quali contiene una quantità predosata di vuoto atta ad aspirare una quantità standard di sangue.

La provetta va rimossa soltanto quando è riempita o si è esaurito il vuoto (non aspira più) : questo è particolarmente importante per le provette con anticoagulante.

Lo standard CLSI H3-A6 raccomanda la seguente **successione di raccolta** delle provette:

1. Emocolture o qualunque provetta per esami colturali
2. Provette per esami di coagulazione (anticoagulante citrato)
3. Provette per esame su siero (senza anticoagulante)

4. Provette per esami su plasma (con anticoagulante eparina, tappo verde)
5. Provette per sangue intero (anticoagulante EDTA)
6. Provette contenenti ossalato/fluoruro (tappo grigio)

Per le provette con sodio citrato:

- Possibilmente effettuare il riempimento **senza** l'applicazione del laccio emostatico
- rispettare rigorosamente il livello di riempimento

Evitare il formarsi di schiuma.

Dopo aver riempito le provette **miscelare delicatamente per inversione:**

- **provetta per coagulazione: appena riempita**
- **altre provette: terminato il prelievo**

Fasi conclusive

Se non già fatto, rimuovere il laccio emostatico, estrarre l'ago ed esercitare una compressione sulla sede della puntura **mantenendo il braccio disteso, mai piegato**, per facilitare l'emostasi.

Prima di congelare il paziente verificare l'idoneità dei campioni (livello di riempimento, congruità colore del tappo/etichetta ecc.).

Evitare il travaso di materiale biologico da una provetta all'altra.

3.3 FONTI DI ERRORE NELLA FASE DEL PRELIEVO

Contaminazione da infusione venosa: Evitare di eseguire il prelievo dallo stesso braccio, anche se in sito lontano, ove sia presente una via infusiva (causa di contaminazione).

Utilizzando per il prelievo cateteri a permanenza o altri dispositivi per infusione di farmaci, sospensioni proteiche o lipidiche, glucidi o soluzioni elettrolitiche:

- prima di eseguire il prelievo attendere che l'infusione sia terminata da almeno
 - 1 ora per infusione di elettroliti, idrolisati di proteine e/o amminoacidi, carboidrati
 - 8 ore per infusione di lipidi
- Se il dispositivo non è utilizzato per infusione al momento del prelievo :
 - Rimuovere ed eliminare tutto il liquido del volume morto del dispositivo (si deve conoscere approssimativamente il volume morto che dipende dal tipo e dalla grandezza del dispositivo stesso)
 - Aspirare ed eliminare i primi 5 mL di sangue (wash-out del dispositivo) o 10 mL di sangue se il liquido di mantenimento del dispositivo era una soluzione eparinata o se si devono eseguire test coagulativi.

Le modalità sopra descritte si applicano anche ai cateteri venosi centrali a lungo termine Groshung.

Emolisi: L'emolisi è la rottura dei Globuli Rossi causata dal flusso turbolento del sangue e dà luogo al rilascio di contenuti intracellulari come enzimi cellulari, potassio, magnesio e fosfato. Inoltre, l'emoglobina libera provoca interferenza in molti metodi di dosaggio.

Molti campione emolizzati sono quelli prelevati da un catetere nel momento in cui viene posizionato. Altre cause di emolisi sono l'utilizzo di aghi con diametro troppo sottile; gli aghi di impiego abituale hanno un diametro di 1,016-0,610 mm, rispettivamente 19-22 Gauge; sono da evitare aghi di diametro di 23-24 gauge (Butterfly di colore azzurro). Altre manovre da evitare che causano emolisi sono:

- togliere la provetta prima che sia stata riempita
- eseguire un prelievo con la siringa e travasare il sangue nelle provette sottovuoto espellendolo dalla

siringa con ago innestato.

**Incompleto riempimento della provetta per esami coagulazione
Uso di provette con anticoagulanti o conservanti non idonei**

3.4 TRASPORTO E CONSERVAZIONE CAMPIONI

Trasporto e conservazione dei campioni devono essere idonei per gli esami richiesti (Refrigerato/riscaldato/a temperatura ambiente, con protezione dalla luce) vedi MD50

- Evitare inutili ritardi
- Evitare l'esposizione a temperature estreme ($>30^{\circ}\text{C}$)
- Evitare traumi al campione
- Adottare accorgimenti per minimizzare i rischi di rotture, perdite
- Seguire i requisiti legislativi specifici relativi al confezionamento, all'etichettatura e alla sicurezza degli Operatori coinvolti nel trasporto (rischio biologico)

Campioni venosi

- I campioni di sangue intero vanno centrifugati entro 2 ore dal prelievo per mantenere inalterata la stabilità
- Temperatura: sebbene diversa in relazione ai differenti parametri, per la loro grande maggioranza si raccomanda di mantenere il campione di sangue tra 10 e 22°C . Temperature sopra i 35°C devono essere evitate.
- Alte temperature accelerano il deterioramento dei costituenti ematici.
- Se non appropriatamente imballato, anche il trasporto ad una temperatura inferiore agli 0°C deve essere evitato poiché fonte di emolisi.
- Forti variazioni di pressione possono influenzare l'integrità dei campioni raccolti.
- Trasportare le provette in posizione verticale per evitare spargimenti
- Contenitore secondario fissato a supporti per evitare la formazione di emolisi

3.5 SINTESI DELLE RACCOMANDAZIONI

Raccomandazione	Grado
<i>Formazione dell'operatore</i>	
Introdurre corsi di formazione, basati sulla didattica frontale, tutoraggio e pratico per tutti i professionisti abilitati al prelievo ematico	A
<i>Dispositivi per il prelievo ematico</i>	
Utilizzare dispositivi che prevedano l'integrazione di aghi monouso, sistemi di supporto (Holder o camicie) e provette primarie sottovuoto ("vacuum")	A
Le siringhe rappresentano un'alternativa qualora:	
- in situazioni d'emergenza, non sia possibile reperire dispositivi di cui sopra	B
- particolari situazioni anatomiche e/o fisiche rendano impossibile o sconsigliabile utilizzare i dispositivi di cui sopra	B
Utilizzare dispositivi monouso che prevedano l'eliminazione di tutte le parti a diretto contatto con il sangue del paziente	A
Utilizzare sistemi che non consentano di re-incappucciare gli aghi e ogni altro possibile oggetto tagliente utilizzato nel corso del prelievo	A
Preferire aghi tradizionali	A
Utilizzare "butterfly" in situazioni specifiche quali vene difficilmente accessibili, per sede e calibro, con il dispositivo tradizionale	B
Preferire aghi di calibro uguale a 20 o 21 G	A
Riservare aghi di piccolo calibro a prelievi su vene molto piccole	B
Non utilizzare agocannule	A
<i>Norme relative al paziente</i>	
Identificare correttamente il paziente, utilizzando almeno due criteri, nessuno dei quali deve essere il numero di stanza del paziente	A
Utilizzare un solo set di provette destinate ad un solo paziente per volta	A
Prelevare sempre e solo un paziente alla volta	A
Accertarsi delle condizioni fisiche del paziente	A
Qualora il paziente non sia nelle condizioni idonee al prelievo, questo deve essere inevitabilmente differito in altra data	A
Controllare la prescrizione, verificando che il numero ed il tipo di esami coincidano con quelli accettati	A
Siti preferenziali di prelievo (in ordine decrescente): vene centrali dell'avambraccio (cubitale e cefalica), vena basilica, vene del dorso del braccio, vene del polso e della mano. Le vene dei piedi rappresentano l'ultima risorsa	A
Sono da evitare prelievi da:	
- ampie cicatrici a seguito di ustioni o chirurgia, braccio omolaterale ad esito di mastectomia, siti contigui ad ematomi, trombi o edemi	A
- dispositivi per terapia endovenosa e/o trasfusioni di sangue	A
Qualora si prelevi il campione da siti di infusione, il flusso nel dispositivo deve essere arrestato per almeno due minuti e devono essere eliminati non meno di 5 mL di sangue	A
Per favorire il rigonfiamento della vena è possibile:	
- Riscaldare brevemente il sito di prelievo con un panno caldo	B
- Massaggiare il sito in senso opposto al flusso venoso	B
- Riscaldare brevemente il sito di prelievo con acqua calda	C
Non è opportuno percuotere il sito	D
Non applicare il laccio in presenza di:	
- Vene grosse visibili e palpabili	A
- Prelievo per la determinazione del pH venoso	A
Se il laccio è invece necessario:	
- posizionarlo circa 10 cm al di sopra del sito di prelievo prescelto	A
- utilizzare una pressione sufficiente a generare stasi venosa ma non a causare dolore, fastidio o ostacolare la	A

circolazione arteriosa	
- non mantenerlo in sede per più di un minuto	A
- quando è necessario più tempo, rilasciarlo e riapplicarlo	A
Detergere la cute con un batuffolo di ovatta imbevuto di prodotto idoneo, procedendo sempre nello stesso verso e poi asciugare la cute	A
 <i>Norme relative al campionamento</i>	
Indossare i guanti durante il prelievo	
Utilizzare tubi primari con etichetta che indichino il tipo di provetta necessaria	A
Etichettare le provette prima del prelievo, mai dopo	A
Utilizzare sistemi di produzione automatica delle etichette	A
Seguire una sequenza specifica per la raccolta delle provette	B
Per provetta destinata ad esami di coagulazione, non è necessario raccogliere ed eliminare una provetta precedente	B
Evitare di accanirsi con l'ago all'interno del sito di prelievo	A
In caso di fallimento al primo tentativo:	
- avanzare o arretrare cautamente l'ago	A
- sostituire la provetta	A
- se l'esito è negativo estrarre l'ago e ritentare	A
- dopo due tentativi falliti trasferire il paziente ad un collega	A
Verificare che la quantità di sangue aspirato dal tubo primario sia idonea	A
Invertire gentilmente 4-6 volte tutte le provette contenenti anticoagulante	A
Non aprire mai le provette sottovuoto né trasferire sangue da una provetta all'altra	A
In presenza di errori, verificare la necessità di raccogliere altri campioni o contattare il laboratorio per delucidazioni	A
Rilasciare il laccio prima di estrarre l'ago dalla vena, posizionare immediatamente un batuffolo di ovatta sul sito di prelievo, chiedendo al paziente di operare una pressione moderata sullo stesso, mantenendo il braccio disteso	A
 <i>Norme da seguire al termine del prelievo</i>	
Eliminare il materiale contaminato in appositi contenitori di sicurezza idonei per il riconoscimento del tipo di materiale	A
Non reincappucciare, spezzare o frantumare l'ago utilizzato	A
Verificare lo stato di salute del paziente e l'insorgenza di eventuali complicazioni	A

4. Allegati e documenti di riferimento:

Lippi G., Caputo M. et al. Raccomandazioni per il prelievo di sangue venoso. Bioch. Clin..2008, 32 (6): 569-577.
 Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Approved Standard, H3-A6 – 6 ed. Wayne, PA: CLSI, 2007.