



Cause di emolisi: prelievo e trasporto

Davide GIAVARINA
(Vicenza)



Emolisi



▪ L'emolisi visibile nel campione dopo centrifugazione è definita in presenza di concentrazioni di emoglobina libera nel siero o nel plasma $> 300 \text{ mg/L}$ (18.8 nmol/L)

▪ Chimica clinica

- Aumento di costituenti intracellulari nello spazio extracellulare
- Interferenza con la procedura analitica
- Interferenza ottica

▪ Ematologia

- Diminuito conteggio eritrocitario
- DD con emolisi intravascolare

▪ Coagulazione

- Interferenza ottica
- Segnale di probabile attivazione della coagulazione in vitro

▪ ...



Cause di emolisi

In VIVO

- **meccanismi immunitari**
 - Anticorpi
 - Autoanticorpi
- **Agenti infettivi**
- **Tossici**
- **Agenti fisici**
- **Difetti enzimatici**
- **Difetti genetici dell'emoglobina**
- **Difetti genetici strutturali del globulo rosso**
- ...

In VITRO

- **Tecnica di prelievo**
 - Accesso venoso difficile,
 - Tipo di ago utilizzato,
 - Stasi da laccio,
 - Ostruzione parziale di cateteri,
 - Applicazione di pressione negativa da aspirazione con siringa
- **Trattamento del campione**
 - Esposizione a temperature calde o fredde,
 - Centrifugazione protratta ad alta velocità
 - Trasporto?



Page • 3



Due cause particolari di emolisi in vitro

Due esperienze di valutazione dell'emolisi causata da:

Agocannula



Posta pneumatica



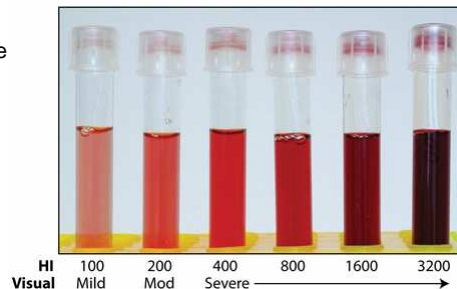
Page • 4



Premesse: modalità di rilevazione dell'emolisi in Vicenza

▪ INDICI DI SIERO/PLASMA

- Analisi = colore sviluppato dalla reazione + colore del campione
- Il colore proprio del campione è dovuto alla presenza nel siero o nel plasma di alcune sostanze "assorbenti" quali la bilirubina, l'emoglobina ed i lipidi
- È possibile "leggere" questo colore, assieme o parallelamente ai colori sviluppati dalle reazioni analitiche



Page • 5



Indici di Siero in Sistemi ADVIA Siemens

- Tre letture

- uso della misura mediana

- Sei lunghezze d'onda

- tre coppie – lettura bicromatica prevede come lunghezza d'onda principale quella corrispondente al picco e come secondaria quella con la minima assorbanza misurata

i trigliceridi a 658/694 nm per l'indice di lipemia

l'emoglobina a 571/596 nm per l'indice di emolisi

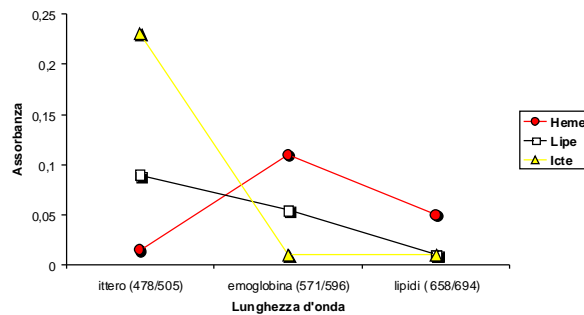
la bilirubina a 478/505 nm per l'indice di ittero

Page • 6



Uso di specifici standard per calibrare la misura

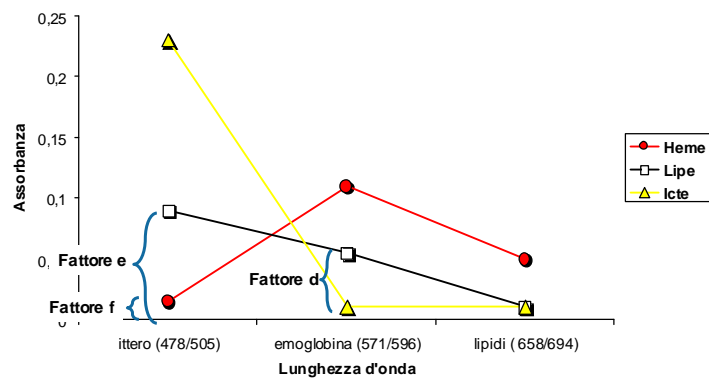
- Fattore a = "concentrazione standard lipemia" / Abs@LIPE(standard)
- **Indice Lipemia = fattore a x Abs@LIPE(campione)**
- Fattore b = "concentrazione standard emoglobina" / Abs@HEME(standard)
- **Indice Emolisi = fattore b x Abs@HEME(campione)**
- Fattore c = "concentrazione standard bilirubina" / Abs@ICTE(standard)
- **Indice Ittero = fattore c x Abs@ICTE(campione)**



Page • 7



Fattori di correzione

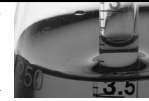


$$\text{Abs Corretto@HEME} = \text{Abs@HEME} - \text{fattore d (approx. 1.1)} \times \text{Abs@ LIPE}$$

$$\text{Abs Corretto@ICTE} = \text{Abs@ICTE} - [\text{fattore e (approx. 0.5)} \times \text{Abs@HEME} - \text{fattore d (approx. 1.1)} \times \text{Abs@LIPE}] - \text{fattore f (approx. 2.5)} \times \text{Abs@LIPE}$$

Page • 8





Raccomandazioni per la rilevazione e gestione dei campioni non idonei nei laboratori clinici

G. Lippi, G. Banfi, M. Buttarello, F. Ceriotti, M. Daves, A. Dolci, M. Caputo, D. Giavarina, M. Montagnana, V. Miconi, B. Milanese, A. Mosca, M. Morandini, G.L. Salvagno

per il Gruppo di Studio Intersocietario SIBioC-SIMeL-CISMEL
sulla Variabilità extra-analitica del dato di laboratorio

- D L'esecuzione della procedura non è raccomandata
E Si sconsiglia vivamente l'esecuzione della procedura

Sanità.

comandazione

comandata, ma si

intervento.

c) Gestione dei campioni non idonei per presenza di interferenti

- i) Esecuzione e comunicazione delle analisi per cui non è descritta interferenza; non esecuzione né comunicazione di risultati di analisi per cui non sia disponibile una tecnica o un metodo per eliminare l'interferenza; richiesta di un secondo campione; sostituzione del valore dell'analisi con un commento codificato in ragione della natura dell'interferente

(Per campioni emolitici destinati ad esami emocoagulativi)

- ii) Esecuzione e comunicazione di tutte le analisi del campione; correzione quelle influenzate all'interferenza mediante specifiche formule matematiche, con aggiunta di un commento specifico in accompagnamento al risultato.

- iii) Esecuzione e comunicazione di tutte le analisi del campione, correggendo quelle influenzate all'interferenza mediante specifiche formule matematiche, senza aggiunta di un commento specifico in accompagnamento al risultato

B

A

D

E

Cut-off

Raccomandazione di Grado C

- Per quanto riguarda la stima dell'interferenza, si assume in linea generale che essa debba essere considerata analiticamente significativa qualora la deviazione massima consentita (*Bias interferente* %) nella determinazione dell'analita espressa in termini percentuali rispetto al risultato senza interferenza sia maggiore della deviazione massima tollerata (*Bias analitico* %) per la medesima procedura analitica:

$$[Bias\ interferente\ \% > Bias\ analitico\ \%]$$

Analyte	Biological Variation		Desirable specification		
	CVw	CVg	I(%)	B(%)	TE(%)
Potassium	4.8	5.6	2.4	1.8	5.8

Raccomandazione di Grado B

- Poiché tuttavia la potenziale interferenza determina una modifica della misura della concentrazione di un analita che dipende intrinsecamente dalla variabilità totale, data dalla stima della variabilità biologica e analitica, può essere considerata clinicamente significativa una variazione che ecceda la variabilità totale espressa in termini di differenza critica o *Reference Change Value*

$$[RCV = z * \sqrt{CV^2a + CV^2i}]$$

$$RCV = 13\%$$



Vantaggi degli indici di siero

conclusioni	Cut-off Emolisi
<ul style="list-style-type: none">▪ Buona performances▪ Ripetibilità▪ Oggettività▪ Automazione▪ ...	<ul style="list-style-type: none">▪ 50 HI no LDH▪ 150 HI no + K▪ 200 HI no + AST▪ 300 HI no + ALP + Mg

Page • 11



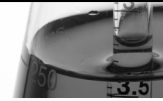
Agocannule

AUTORI	STUDIO
<p>1. Kennedy C, et al. A comparison of hemolysis rates using intravenous catheters versus venipuncture tubes for obtaining blood samples. J Emerg Nurs 1996;22:566-9.</p>	<ul style="list-style-type: none">▪ 165 pazienti,▪ 87 stati assegnati al gruppo A (agocannula)▪ 78 pazienti hanno partecipato al gruppo B (venipuntura diretta).
CONCLUSIONI	
<p>L'emolisi del campione di sangue ottenuto attraverso l'uso dell'agocannula è significativamente maggiore rispetto all'uso del Vacutainer. Inoltre c'è una proporzionalità inversa tra il diametro del catetere e il valore dell'emolisi che ne risulta.</p>	

Page • 12



Agocannule



AUTORI

2. **Grant MS.** The effect of blood drawing techniques and equipment on the hemolysis of ED laboratory blood samples. **J Emerg Nurs 2003;29:116- 21**

STUDIO

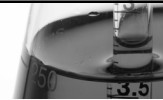
- **19 giorni dello studio,**
- **598 Prelievi**
- **l'agocannula (69%)**
- **dell'ago diretto (31%).**

CONCLUSIONI

Il prelievo venoso ottenuto attraverso l'agocannula risulta essere maggiormente emolizzato rispetto al prelievo ottenuto con l'ago diretto;
L'uso combinato tra l'agocannula e il sistema Vacutainer ha un'emolisi maggiore rispetto all'associazione agocannula e siringa.



Agocannule



AUTORI

3. **Dugan L, et al.** Factors affecting hemolysis rates in blood sample drawn from newly placed IV sites in the emergency department. **J Emerg Nurs 2005;31:338-45.**

STUDIO

- **Studio osservazionale su 100 pazienti consecutivi da cui si è avuto un campione emolizzato**

CONCLUSIONI

Causano emolisi:
raccolti tra le 12:00 e le 5:59 del mattino
prelevati a destra
prelevati da un agocannula 22 gauge
eseguiti con la siringa
richiedenti la provetta da siero, senza anticoagulante
con la provetta da 6 mL
prelevati con difficoltà
che creano resistenze durante l'aspirazione del sangue utilizzando la siringa;
raccolti da pazienti con diagnosi di patologia respiratoria.



Agocannule

AUTORI

4. **Lowe G, et al.** Nursing blood specimen collection techniques and hemolysis rates in an emergency department: analysis of venipuncture versus intravenous catheter collection techniques.
J Emerg Nurs 2008;34:26-32.

STUDIO

- **853 prelievi**
- **355 (41,6%) venipuntura diretta**
- **498 (58,4%) l'agocannula.**

CONCLUSIONI

- Emolisi: 5,6% a agocannula vs 0,3% da venipuntura diretta
- l'esperienza dell'infermiere può ridurre il numero di campioni emolizzati se raccolti attraverso il metodo della venipuntura diretta, ma non attraverso l'uso dell'agocannula

Page • 15

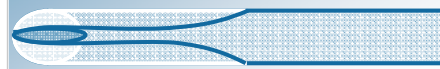


Perché L'agocannula emolizza?

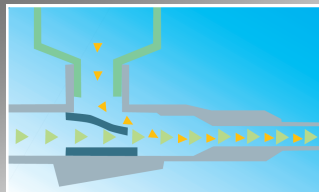
- **Maggiore traumatismo nell'inserimento in vena**



- **Collabimento della cannula durante l'aspirazione**
- **Dimensione della cannula**



- **Valvole di non ritorno / direzionali**



- **Liquidi di lubrificazione**



Page • 16

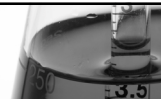
STUDIO: Valutazione dell'emolisi agocannula
 dipendente: **comparazione di materiali**



- 363 pazienti consecutivi (164 femmine e 199 maschi) afferenti al Pronto Soccorso dell'Ospedale San Bortolo di Vicenza
- agocannula 18 gauge
- gruppo di controllo: 100 prelievi consecutivi ottenuti mediante ago gauge 21 e holder, provenienti dall'Unità di Rianimazione e Terapia Intensiva
- 4 tipi di agocannula diversi, assegnati random
- Misura dell'emolisi

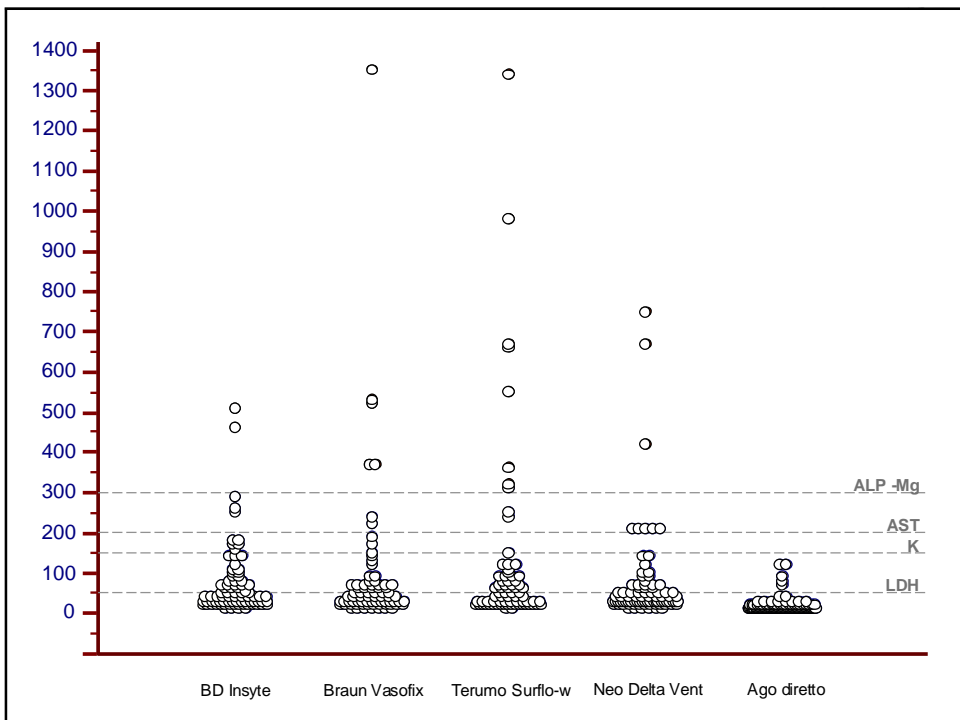


Caratteristiche principali dei diversi aghicannula



	Materialie	Lunghezza della cannula	Liquido lubrificante	Alette	Tappino per infusione	Altro
BD Insyte™ Autoguard™	Biomateriale	Corta	Rivestimento interno	Non presenti	Non presente	
Vasofix® Safety	FEP- Teflon, radiopaco	Lunga	Lucidatura elettrolitica	Presenti	Presente	Clip di sicurezza
Terumo Surflo-w	FEP- Teflon, radiopaco e biocompatibile	Corta	Non presente	Presenti	Presente	
Neo Delta Ven T	Poliuretano, radiopaco	Lunga	Non presente	Non presenti	Non presente	





Conclusioni Studio Agocannula e materiali

- conferma della non idoneità dei dispositivi agocannula per il prelievo venoso
- Tutti i sistemi emolizzano
- Le differenze tra materiali, seppur non statisticamente significative, indicano la possibilità di uno sviluppo di agocannule non emolizzanti

Page • 21



STUDIO: Valutazione dell'emolisi causata dal trasporto in **posta pneumatica**

- Valutazione eseguita a seguito di segnalazioni di reparti che dichiaravano una percentuale di campioni non refertati per emolisi maggiore per provette inviate per posta pneumatica.
- Prima prova: 22 campioni in doppio, uno in sede e uno inviato per posta pneumatica:

Posta Pneumatica

AUTORI

1. **Sodi et al.** Pneumatic tube system induced haemolysis: assessing sample type susceptibility to haemolysis.
Ann Clin Biochem 2004; 41: 237–240.

STUDIO

- **Vari tipi di Provette (siero/plasma; EDTA ed Eparina; 13 e 16 mm, gel e non gel) in doppio, una inviata per posta pneumatica.**
- **Non considerata la stazione di posta (unica stazione di lancio)**

CONCLUSIONI

La posta pneumatica può essere cause di emolisi.
Ci sono differenze tra le diverse provette (emolizzano di più il siero, le provette più grandi,...)
Le variabili sono molte, occorre che ogni Laboratorio valuti i propri sistemi per questo tipo di problema

Page • 23



Posta Pneumatica

AUTORI

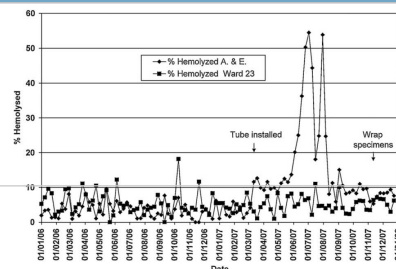
1. **Ellis G.** An episode of increased hemolysis due to a defective pneumatic air tube delivery system
Clinical Biochemistry 42 (2009) 1265–1269.

STUDIO

- **Case report: aumento dell'emolisi dopo installazione di un nuovo servizio di posta pneumatica**
- **Associazione con introduzione di nuova agocannula**

CONCLUSIONI

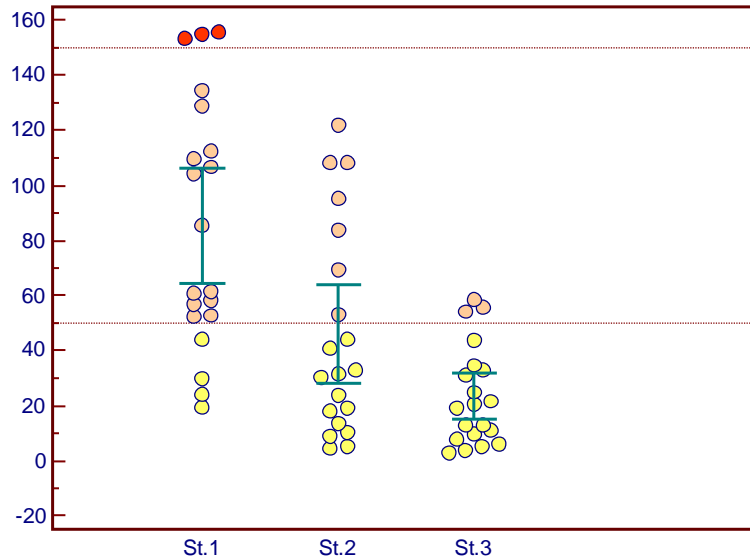
- Una variazione della posta pneumatica è stata causa di aumento di emolisi
- Il bloccaggio delle provette nel bossolo ha "risolto" il problema



Page • 24



Differenza di Emolisi Index tra base e invio per posta pneumatica



Page •

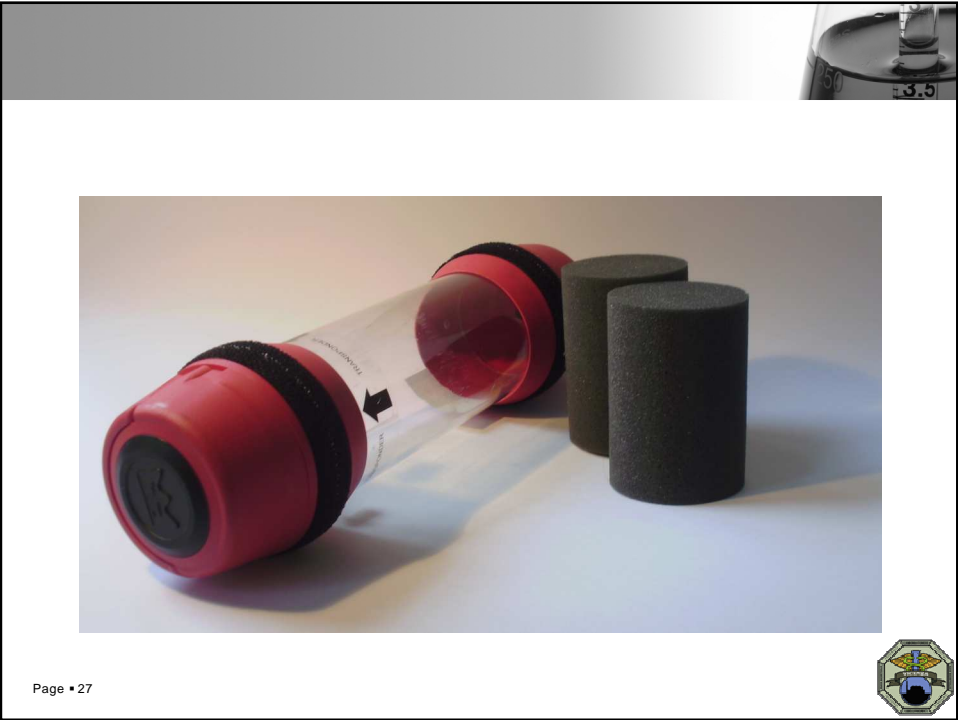
Conclusioni Studio Posta Pneumatica

- La posta pneumatica può emolizzare i campioni di sangue
- Ci sono differenze a seconda della distanza e della percorrenza
- Si conferma che il bloccaggio dei campioni all'interno del bossolo riduce fortemente il fenomeno

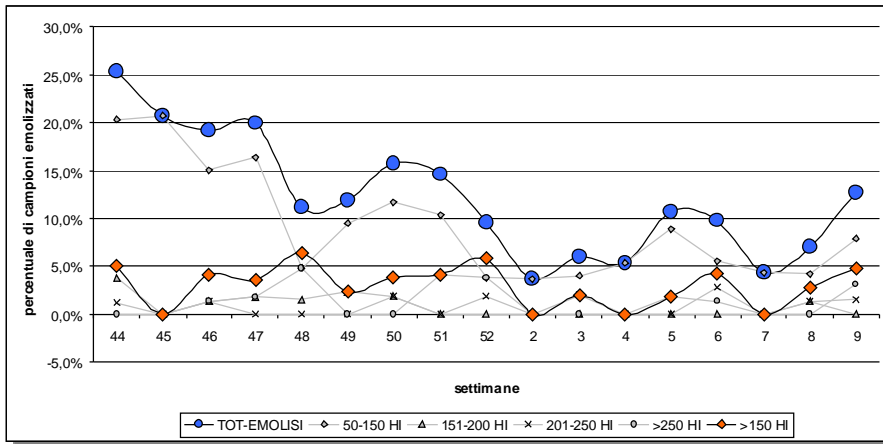


Introduzione di tamponi di gomma piuma all'interno dei bossoli
Istruzione dei reparti circa l'utilità dell'uso dei tamponi
Audit dopo un periodo di esercizio

Page • 26



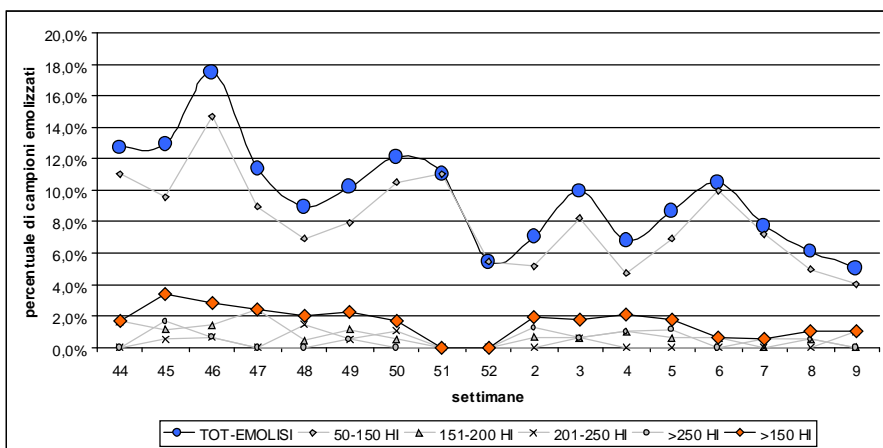
Ginecologia



Page • 29



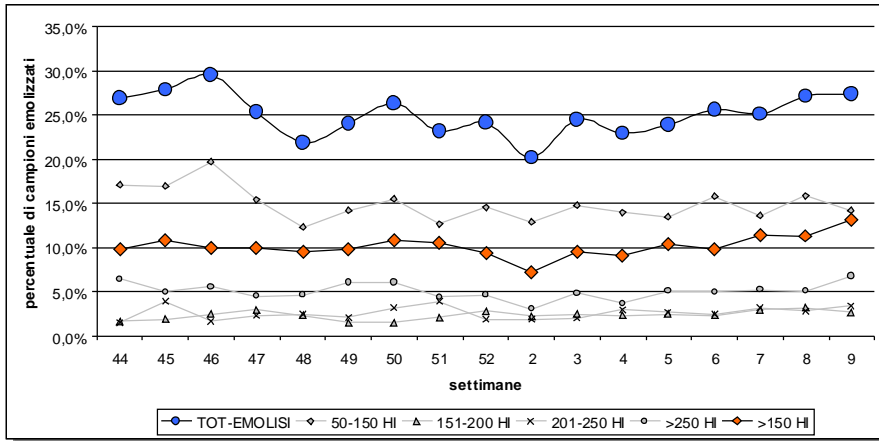
Chirurgia



Page • 30



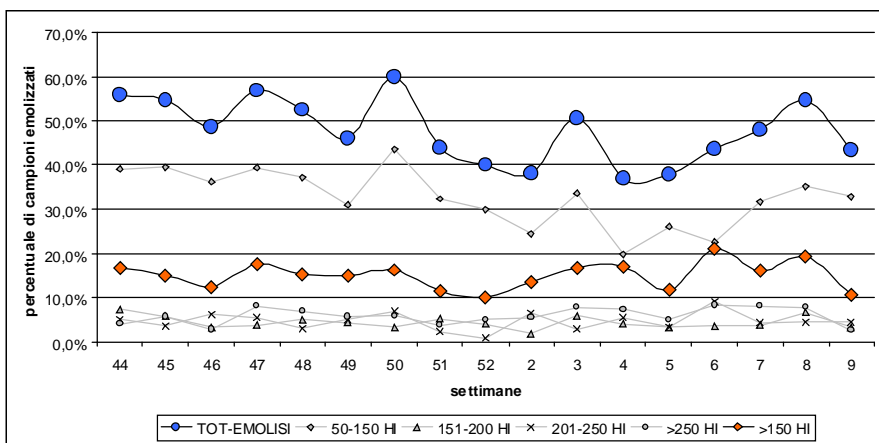
Pronto soccorso



Page • 31



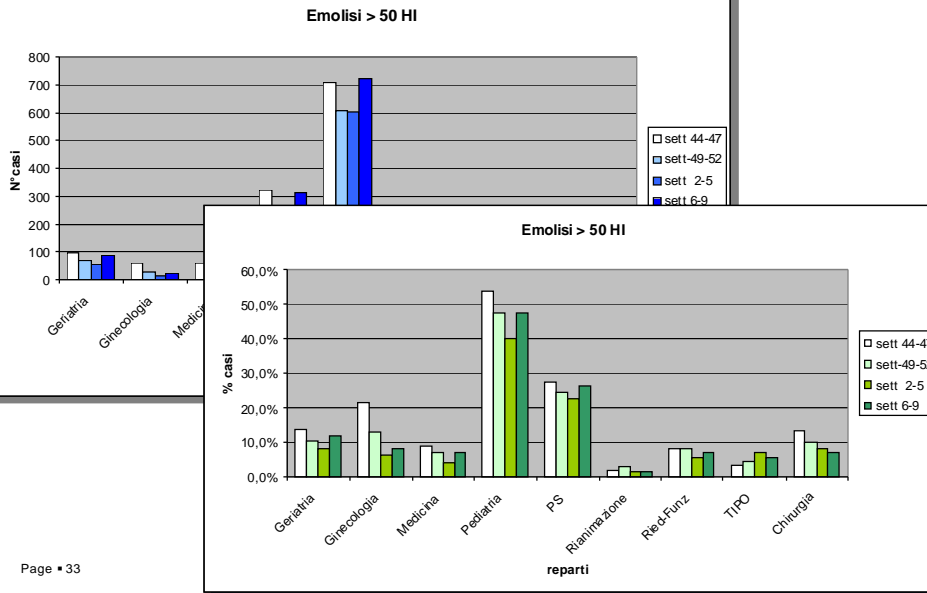
Pediatria



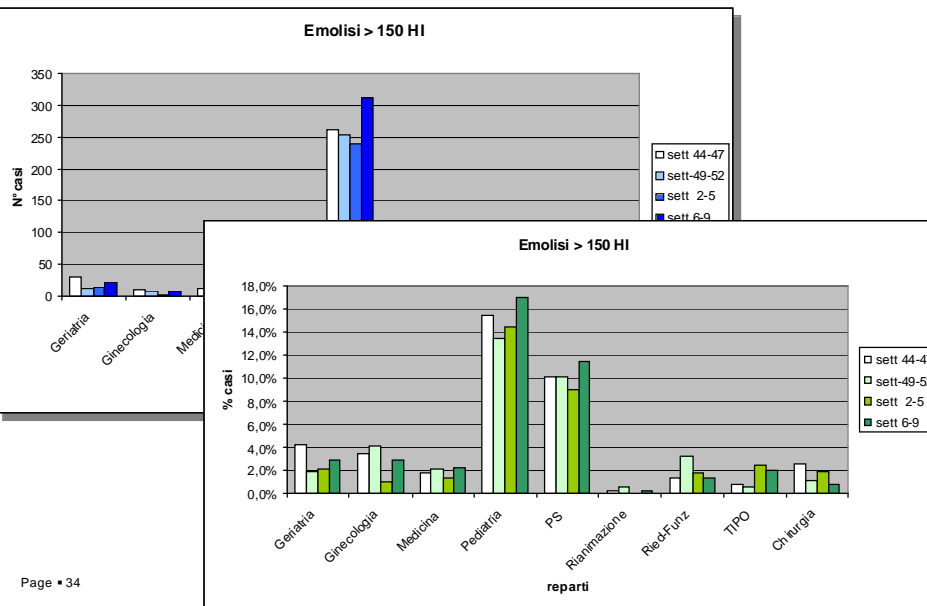
Page • 32



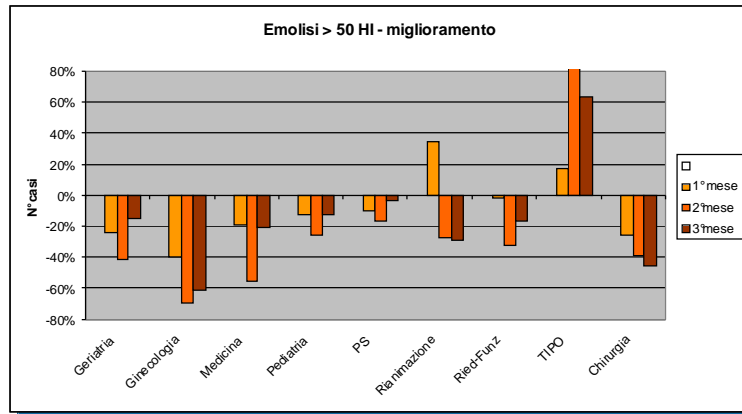
Emolisi > 50 HI



Emolisi > 150 HI



Miglioramento da bloccaggio provette nel bossolo



Page • 35



Conclusioni

- La posta pneumatica può essere una causa di emolisi, ma le tecniche di prelievo hanno importanza maggiore
- Esistono differenze tra stazione e stazione
- Il bloccaggio delle provette nel bossolo migliora la percentuale di campioni idonei per i campioni non emolizzati prima del carico, anche se si può ipotizzare una certa sinergia tra danno da prelievo e danno da trasporto.
- Le variabili sono molte, occorre che ogni Laboratorio valuti i propri sistemi per questo tipo di problema

Page • 36

