

Linee guida per la misurazione del pH e determinazione dei gas nel sangue

M. Stocchero, E. Pozzo, G.L. Rossettini, D. Urbani, L. Urbani, F. Zerbato
Laboratorio di Chimica Clinica ed Ematologia, Ospedale "San Bortolo", Vicenza

Introduzione

Queste linee guida vogliono essere un sunto operativo di quelle elaborate dal NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (1) con riferimento all'esecuzione dell'analisi dei gas e del pH nel sangue. Tali raccomandazioni rivestono particolare rilievo visto l'impatto immediato di questi parametri nella cura del paziente.

Cercheremo di tratteggiare rapidamente tutto l'iter di questi esami, partendo dalla terminologia, considerando le fasi preanalitica ed analitica, per arrivare all'applicazione del Point of Care Testing (POCT), visto soprattutto nella nostra esperienza quotidiana.

Terminologia

Un ripasso veloce dei vari parametri misurati e calcolati, che fanno parte di questa determinazione, permette di capire l'importanza di questa analisi.

Parametri misurati

- pH (logaritmo negativo dell'attività dello ione H^+) corrisponde alla misura della concentrazione di ioni idrogeno in soluzione
- pCO_2 (pressione parziale d'anidride carbonica)
- pO_2 (pressione parziale dell'ossigeno)
- tHb (emoglobina totale) le cui frazioni sono:
 - O_2Hb (ossi-emoglobina) forma dell'emoglobina legata all'ossigeno
 - HHb (deossi-emoglobina) forma dell'emoglobina ridotta, non legata all'ossigeno
 - COHb (carbossi-emoglobina) emoglobina legata al monossido di carbonio
 - MetHb (meta-emoglobina) forma intermedia dell'emoglobina, non in grado di legare l'ossigeno

elettroliti

- Na^+ maggior responsabile del mantenimento di una corretta osmolarità e del volume dei fluidi

- K le cui variazioni extracellulari hanno conseguenze sulla contrazione muscolare e sulla frequenza cardiaca
- Cl^- responsabile con il Na^+ del mantenimento dell'adeguata osmolarità
- Ca^{++} implicato in processi enzimatici, nella coagulazione, nella crescita cellulare, nella contrazione muscolare e nella conduzione nervosa.

metaboliti

- glucosio, determinazione su sangue intero
- acido lattico, importante per monitorare i pazienti in ipossia tissutale.

Parametri calcolati

- HCO_3^- (act) concentrazione di bicarbonati plasmatici
- HCO_3^- (std) concentrazione di bicarbonati standard calcolati con una pCO_2 di 40 mmHg
- BE (B) (eccesso di basi nel sangue) indica la deviazione dalla normalità, 48 mmol/L, dalla quantità totale di tamponi anionici nel sangue
- BE (ecf) (eccesso di basi nel liquido extracellulare) indica la deviazione dalla normalità della quantità totale di tamponi anionici presenti nei fluidi extracellulari
- ctO₂ (contenuto totale d'ossigeno)
- ctO₂ (Hb) (contenuto d'ossigeno dell'emoglobina)
- sO₂ (saturazione funzionale) (1).

Fase preanalitica

Un'importanza fondamentale ha la fase preanalitica che dovrebbe essere conforme ad un protocollo scritto, in modo da poter assicurare una linea di condotta chiara e standardizzata per cercare di ottenere il risultato più accurato possibile. Ogni laboratorio dovrebbe quindi elaborare procedure appropriate in base alle proprie esigenze e divulgare tutte le informazioni necessarie, in maniera chiara, concisa e comprensibile, a tutto il personale interessato.

Preparazione del paziente al prelievo: il paziente dovrebbe rimanere in posizione supina ed in uno stato

di ventilazione stabile, e quindi a riposo, per almeno 15 minuti prima del prelievo. Nel caso di pazienti in respirazione artificiale le condizioni di ventilazione dovrebbero rimanere immutate per almeno 30 minuti, quando questo naturalmente sia possibile. E' necessario ricordare che anche l'ansia ed il dolore, legato al prelievo, possono influenzare la respirazione.

Scelta del campione: per le determinazioni dei gas e del pH del sangue si raccomanda l'utilizzo di sangue arterioso che riflette meglio la funzione polmonare e l'equilibrio acido-base. Il sangue venoso, se prelevato in maniera appropriata, come descritto oltre, può in ogni modo essere utilizzato per la determinazione degli altri parametri (pCO₂, elettroliti, Ca⁺⁺, glucosio, acido lattico carbossemoglobina, ecc.).

Materiale in uso: la raccolta del campione dovrebbe essere effettuata per mezzo di siringhe monouso costruite con materiali particolari poco permeabili ai gas, (polipropilene) contenenti una minima quantità d'anticoagulante. L'anticoagulante di scelta è l'eparina di litio. Per evitare l'eparinizzazione casuale della siringa, è fondamentale utilizzare le siringhe appropriate contenenti eparina elettroliticamente bilanciata e liofilizzata in concentrazione idonea. Questo, perchè, essendo l'eparina un acido debole, se utilizzata in concentrazioni elevate, può determinare modificazioni del pH e del bicarbonato oltre ad una diminuzione del calcio ionizzato.

Prelievo: indipendentemente dalla scelta dell'arteria per il prelievo e dalla tecnica utilizzata devono essere seguite alcune norme:

- la siringa è sottovuoto e quindi prima dell'iniezione va preparata già con lo stantuffo in fase d'aspirazione
- una volta punta l'arteria si deve lasciare che il sangue fluisca liberamente all'interno della siringa senza aspirare, per evitare che tale manovra provochi emolisi, quest'ultima, infatti, causa un importante incremento del potassio ed una diminuzione del calcio ionizzato
- eventuali bolle d'aria devono essere eliminate entro 1-2', una volta prelevato il sangue, quindi, è buona norma utilizzare l'apposito cubetto di plastica generalmente accluso nelle confezioni delle siringhe
- il campione deve rimanere in anaerobiosi: una volta rimosso l'ago quindi è necessario chiudere la siringa con l'apposito cappuccio
- la siringa va quindi dolcemente invertita per cinque volte e ruotata tra i palmi delle mani per alcuni secondi per favorire il miscelamento tra plasma ed eparina.

Identificazione: il campione deve essere accuratamente etichettato e accompagnato da informazioni riguardanti il paziente (nome, cognome, data di nascita, data d'esecuzione, numero d'identificazione, ecc.) e, se possibile, da dati riguardanti lo stato di salute dello stesso (temperatura corporea, stato di respirazione, posizione, ecc.).

Trasporto: durante il trasporto, il metabolismo cellulare può provocare variazioni nella concentrazione dei gas. In particolare il processo della glicolisi determina il consumo di glucosio e la formazione d'acido lattico nel campione, con la conseguente diminuzione del pH e spostamento dello status verso l'acidosi metabolica. I processi glicolitici ed ossidativi sono ridotti se il sangue è conservato a 4 °C, ma non del tutto bloccati; considerando inoltre la non completa impermeabilità delle siringhe ai gas, si capisce come sia necessario analizzare il campione al più presto, possibilmente entro 15' minuti, se tale intervallo non può essere assicurato, la siringa va conservata immersa in acqua ghiacciata, per non più di 60' minuti. Da evitare invece l'uso del solo ghiaccio che provocherebbe emolisi (1,2,3).

Fase analitica

Interferenze

Emolisi: l'emolisi è particolarmente importante nella determinazione del K⁺. Il potassio, infatti, è contenuto all'interno della cellula in concentrazione 23 volte maggiore rispetto al plasma: in caso d'emolisi quindi la concentrazione dell'elettrolita viene falsata in maniera significativa. Lo stesso fenomeno, invece, riduce la concentrazione del calcio ionizzato; il Ca⁺⁺ intracellulare, infatti, è circa un millesimo del Ca⁺⁺ plasmatico e quindi l'emolisi provocherà una diluizione del Ca⁺⁺ contenuto nel campione. Cause d'emolisi possono essere il prelievo, l'invio del campione per posta pneumatica, il raffreddamento con ghiaccio secco.

Temperatura: parametri come pH, pCO₂ e pO₂ sono temperatura-dipendenti. Per standardizzare i risultati i dosaggi vengono quindi eseguiti a 37°C. Tuttavia questo può provocare variazione nella misura di questi parametri se il campione proviene da un paziente con temperatura diversa. Per questo certi analizzatori correggono i dati con appositi algoritmi, basandosi sulla temperatura. Non c'è accordo circa l'utilizzo di questi algoritmi, ma comunque si raccomanda la necessità di segnalare l'eventuale correzione dei dati (1).

Calibrazioni e controllo di qualità

Per quanto riguarda il capitolo della calibrazione non è possibile proporre delle linee guida specifiche, poiché ogni strumentazione differisce dall'altra per protocolli, procedure e raccomandazioni. Va, quindi, ricordato all'operatore, di seguire le informazioni descritte nel manuale di riferimento dell'analizzatore e le regole della buona maniera di comportamento professionale.

Per quanto concerne il controllo di qualità, quest'ultimo dovrebbe essere eseguito ad intervalli periodici,

con una frequenza minima giornaliera; ciò permette di poter seguire in modo costante e nel tempo le possibili variazioni, evitando così di incorrere in errori sistematici. E' inoltre importante ricordare che i valori ottenuti devono essere rintracciabili nel tempo e che protocolli d'intervento devono essere attuati, tempestivamente, in caso di necessità (1).

Applicazione delle linee guida al POCT

Come Point of Care Testing (POCT) possono essere definite tutte le analisi eseguite in modo decentrato dal Laboratorio, in maniera da ottenere risposte in tempi più rapidi rispetto a quelli offerti dal Laboratorio.

In alcuni Reparti di degenza del nostro Ospedale, si stava sempre più manifestando l'esigenza di poter disporre in tempi rapidi di alcuni parametri legati all'analisi dei gas e del pH del sangue. Da parte del Laboratorio si avvertiva la necessità di standardizzare il più possibile l'esecuzione di tale determinazione, in modo da poter ottenere un TAT (Turn Around Time) più adeguato, disponendo però, di risultati analitici affidabili. Grazie ad una collaborazione tra le parti interessate (Direzione, Laboratorio, Reparti di degenza), la possibilità di soddisfare entrambe le esigenze è arrivata con l'installazione di undici strumenti per l'emogasanalisi in altrettanti Reparti dislocati in punti diversi dell'Azienda.

Nove di questi strumenti, simili fra loro, ma non identici, in modo da poter rispecchiare le varie esigenze di ogni singola realtà, sono gestiti dal personale del Laboratorio.

Per seguire questa strumentazione in modo costante e professionale si è creato un gruppo di lavoro, costituito da un laureato medico e da cinque tecnici. Compito di questo staff è l'addestramento del personale dedicato nonché di controllo, di consulenza e di supporto tecnico (esecuzione manutenzioni ordinarie e/o straordinarie, verifica QC, gestione scorte materiale, ecc.).

Un aiuto al gruppo di lavoro è arrivato grazie all'installazione di un sistema di collegamento in rete che connette ogni singola entità ad un PC installato in Laboratorio. Tramite questo sistema si può, in tempo reale, verificare lo "status" di ogni singolo strumento; è così possibile verificare (24 ore su 24) l'efficienza strumentale (calibrazioni, manutenzioni in scadenza, ecc.) e quella del personale dedicato (esecuzione QC, corretta esecuzione di ogni singolo campione) così da poter intervenire in tempi brevi e in modo professionale in caso di necessità.

Data la complessità e la variabilità degli eventi che potevano derivare da una gestione di questo tipo, si è sentita la necessità di instaurare, con il personale dei vari Reparti, un rapporto di fiducia e stima reciproca, in modo da poter ottenere, grazie ad un loro coinvolgimento attivo e prolungato nel tempo, l'obiettivo di partenza: creare un POCT efficace.

Quindi tramite alcuni incontri delle parti interessate, dove sono emerse le più svariate esigenze ed i dubbi

più disparati, il personale del Laboratorio, grazie anche alla propria esperienza, ha potuto elaborare alcuni protocolli di comportamento riguardanti le fasi pre-analitica, analitica e post-analitica, che ogni singola realtà deve seguire per potersi uniformare al Laboratorio stesso, in modo da ottenere dei risultati accurati e quindi ottimizzati. Le procedure primarie che sono scaturite riguardano principalmente la fase preanalitica e analitica e sono qui riassunte:

Materiale in uso: poichè ogni Reparto utilizzava per il prelievo materiale più svariato (in alcune realtà si eparinizzavano casualmente le comuni siringhe), è stata indetta una gara per le siringhe monouso eparinate elettroliticamente bilanciate, quindi attraverso protocolli scritti riguardanti la procedura di prelievo si è sensibilizzato il personale dedicato all'uso di queste ultime, in modo di standardizzare il più possibile questa fase.

Identificazione: i campioni che pervengono in Laboratorio sono tutti identificati con un'etichetta "barcode", riportante tutte le informazioni utili (cognome, nome, data di nascita, data di prelievo, numero d'identificazione, ecc.), questo evita in modo determinante qualsiasi errore d'identificazione. Questa procedura purtroppo non avviene nei Reparti di degenza perchè, per motivi pratici e organizzativi, preferiscono eseguire l'analisi senza identificazione, per ovviare a questo deficit si sta collaborando per registrare il campione almeno, per ora, con il numero d'accettazione.

Trasporto: dato il numero di strumenti per l'emogasanalisi dislocati nei vari Reparti e quindi la possibilità di eseguire in tempi brevi l'analisi (TAT ridotto), questa fonte d'errore è stata quasi annullata (solo i campioni pervenuti in Laboratorio, che si trova situato lontano dai Reparti di degenza, giungono in acqua ghiacciata).

Esecuzione del QC: l'esecuzione del controllo di qualità, procedura al quanto sentita e standardizzata in Laboratorio, ha trovato nelle varie realtà di degenza un impatto diverso secondo la disponibilità del personale interessato (in alcuni Reparti viene eseguito giornalmente in altri addirittura settimanalmente!). Il gruppo di lavoro del Laboratorio, consapevole dell'importanza di questo protocollo, sta lavorando per standardizzare, in ogni realtà, questa procedura (4).

Conclusioni

Nel complesso questa nostra esperienza ci ha dimostrato come dei protocolli di comportamento, concepiti per il Laboratorio, possano essere uniformati all'interno di realtà diverse grazie ad una cooperazione bilaterale e continua nel tempo. Quindi il ruolo del per-

sonale tecnico cambia in modo costruttivo, non più solo esecutore bensì consulente e formatore per chi è preposto, nei diversi Reparti, all'uso della strumentazione del Point of Care Testing.

Bibliografia

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Blood gas and pH analysis and related measurements; Proposed Guideline. NCCLS Document C46-P. Wayne, PA: NCCLS 2000; vol. 20, n. 5.
2. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Approved IFCC recommendations of whole blood sampling, transport and storage for simultaneous determination of pH, blood gases and electrolytes. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995; 33:247-53.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Procedures for the collection of arterial blood specimens; Approved Standard. NCCLS Document H11-A3. Villanova, PA: NCCLS 1999; vol. 19, n. 8.
4. Price CP, Hicks JM, eds. *Point-of-Care-Testing*. Washington, 1999.