

Dicas e truques em pré-análise



Volume 1: Exames de sangue
em pequenos animais



SARSTEDT

Prefácio

O diagnóstico clínico laboratorial é parte integrante da prática veterinária. Após a anamnese e exame clínico, os exames a serem solicitados são especificados no plano de exames para comprovar ou excluir os diagnósticos diferenciais. A hematologia e a química clínica muitas vezes dão uma contribuição decisiva para a detecção de doenças.

Especialmente desde que a biologia molecular chegou aos laboratórios, a etiologia de algumas doenças pode ser mais bem esclarecida. Os resultados laboratoriais são posteriormente interpretados na monitorização, controlo da terapia e prognóstico da doença.



Prof. Dr. med. vet. Andreas Moritz

A citação do folheto informativo Dicas e Truques em Pré-análise escrito pelas empresas LABOKLIN e SARSTEDT "... com a mais alta precisão dos dispositivos de análise modernos, o resultado da medição só pode ser tão bom quanto a qualidade da

amostra permitir" ilustra a importância particular deste tópico. Pré-análise refere-se à parte do processo de diagnóstico laboratorial que ocorre antes da análise real das amostras. Isso inclui a colheita, armazenamento e transporte adequados de amostras após o histórico e a preparação do paciente para garantir que os resultados sejam fiáveis e significativos. Embora valores implausíveis no processo de análise possam ser verificados em laboratório por meio de medições repetidas, os erros pré-analíticos são geralmente irreparáveis. Portanto, é importante realizar todas as etapas com cuidado para minimizar possíveis erros.

Nos oito capítulos seguintes, os fatos básicos sobre o tema são apresentados de forma compreensível e informativa: O que significa pré-análise, – preparação do paciente, – visão geral dos materiais e tubos de amostra, – erros comuns na pré-análise, – colheita de amostras, – segurança em torno da colheita de amostras, – preparação do exame laboratorial, – rotulagem, armazenamento e transporte. Textos memoráveis em caixas cinzentas ajudam a compreensão, a aprendizagem e a memorização. Muito espaço é – e com razão – dado à preparação e avaliação de esfregaços de sangue. As imagens celulares dos esfregaços de sangue de cães, gatos e pequenos mamíferos são positivamente impressionantes e vão um pouco além da pré-análise. Ao clicar em códigos QR bem posicionados, pode aceder tutoriais on-line na forma de vídeos do YouTube (por exemplo, fazer e colorir um esfregaço de sangue).

Este compêndio de sucesso é altamente recomendado não apenas para veterinários, assistentes de veterinários e funcionários técnico-médicos como uma pequena obra de referência para a prática, mas também para estudantes de veterinária como material de aprendizagem divertido.

Prof. Dr. med. vet. Andreas Moritz estudou medicina veterinária na Universidade Justus Liebig (JLU) em Gießen. Após concluir o doutorado e a habilitação na área de medicina interna e diagnóstico clínico laboratorial, foi nomeado professor universitário do Departamento de Medicina Veterinária da JLU. Após estadias no exterior em St. Paul, Minnesota, EUA, e Ghent, Bélgica, ele retornou à JLU e foi nomeado professor de fisiopatologia clínica e diagnóstico laboratorial clínico em 2006. Além de gerir o laboratório central do departamento, assumiu a partir de 2017 a gestão da clínica de pequenos animais e medicina interna. É veterinário especialista em medicina interna e veterinário especialista em diagnóstico laboratorial clínico, bem como EBVS® European Veterinary Specialist in Small Animal Internal Medicine (Dipl. ECVIM-CA) e membro associado do European College of Veterinary Clinical Pathology (ECVCP). Além de formar estudantes de medicina veterinária, o Prof. Moritz está comprometido com a qualificação profissional nacional e internacional de veterinários na área de medicina interna de pequenos animais e diagnóstico clínico laboratorial. Atualmente é presidente da Sociedade Alemã de Medicina de Pequenos Animais (DGK-DVG).



ANIMAL HEALTH CARE

Primeira edição alemã:

Dicas e truques em pré-análise

Volume 1: Exames de sangue em pequenos animais

Janeiro de 2024

*Este livro foi elaborado em cooperação entre o laboratório veterinário
LABOKLIN e a empresa de tecnologia médica SARSTEDT.*

Autoras: Dr. Annemarie Baur-Kaufhold, Dr. Maria Brockmann, Ida Dolle

Link para a versão em PDF: www.sarstedt.com/coleta-de-sangue-vet

© 2024 LABOKLIN & SARSTEDT – Todos os direitos reservados



animalhealthcare.
sarstedt.com



laboklin.de

Conteúdo

Prefácio	2
1. O que significa pré-análise?	6
2. Preparação do paciente	8
2.1. Fatores de influência	10
2.1.1. Idade, raça e condições de vida	10
2.1.2. Seleção de teste	11
2.1.3. Medicação e biorritmia	12
2.1.4. Ordem de colheita ...	13
3. Resumo de materiais e tubos de amostra	14
3.1. Soro vs. plasma - Qual é a diferença?	16
3.2. Visão geral de vários materiais de amostra	17
3.2.1. Códigos de cores dos tubos	18
3.2.2. Tubos de heparina de lítio	19
3.2.3. Tubo de EDTA	20
3.2.4. Tubo de soro	22
3.2.5. Tubo de citrato	23
3.2.6. Tubo de sódio	24
3.3. Qual o tipo de amostra adequado para cada teste?	25
4. Erros comuns em pré-análise	26
4.1. Fatores de confusão	27
4.1.1. Hemólise	28
4.1.2. Hiperlipidemia (Lipemia)	30
4.1.3. Icterícia	31
5. Amostragem	32
6. Segurança da amostragem	42
7. Preparação do teste laboratorial	46
7.1. Centrifugação	48
7.2. Como faço um esfregaço de sangue?	51
8. Rotulagem, armazenamento e transporte	60
Bibliografia	66



1. O que significa pré-análise?





"Olá Rato, é um especialista em laboratório, certo?"

"Sim, fico feliz em ajudar e aconselhar!"

"O isso ótimo! O que realmente significa pré-análise e por que é importante saber isso?"

"A pré-análise inclui todos os processos que ocorrem antes da análise laboratorial e podem influenciar o resultado da medição. Afinal, mesmo com a mais alta precisão dos dispositivos analíticos modernos, o resultado da medição só pode ser tão bom quanto a qualidade da amostra permitir."



A pré-análise inclui todas as áreas que precisam ser consideradas antes da análise real do material da amostra. Isto inclui, entre outras coisas, a anamnese e o exame clínico, que determinam a indicação da respectiva análise. Isto também inclui a preparação do paciente, seleção dos recipientes de amostra corretos, colheita de amostras, preparação de amostras, transporte de amostras, bem como armazenamento de amostras, processamento de amostras e o caminho da amostra até o início da análise.

Como pode ser visto na lista, a maior parte da pré-análise ocorre antes da amostra chegar ao laboratório. Em muitos casos, o veterinário responsável pelo tratamento pode, portanto, dar uma contribuição decisiva para uma boa qualidade da amostra e, portanto, para um resultado representativo e avaliável. Devido ao grande número de possíveis fontes de erro, faz sentido familiarizar-se com vários aspectos da pré-análise antes de uma análise.

2. Preparação do paciente



Uma visita agradável e sem stress ao seu consultório para pacientes e tutores não é apenas boa para a sua imagem, mas também tem um impacto significativo na qualidade da amostra.

O tutor do animal deve ser informado com antecedência sobre a influência da atividade física ou do stress no resultado de um exame de sangue. Em particular, as enzimas associadas aos músculos, como CK, LDH e AST, podem ser detectadas em quantidades aumentadas no soro após esforço físico. Além disso, também são esperados valores séricos aumentados de glicose e lactato. S outros aspectos que devem ser esclarecidos antecipadamente serão considerados a seguir.



Nota

"Os carnívoros devem sempre ser apresentados para colheita de sangue com o estômago vazio (aproximadamente 12 horas sem comida), pois a lipemia pós-prandial pode influenciar muitas medições e, no pior dos casos, leva a uma amostra que não pode ser avaliada."*

** (Moritz et al., 2014)*



2.1. Fatores de influência

A seguir é apresentada uma visão geral dos fatores de influência que podem representar fontes potenciais de erros no diagnóstico. A sinalização, a terapia, o diagnóstico suspeito e os procedimentos de teste devem, portanto, ser conhecidos antes de cada exame.

2.1.1. Idade, raça e condições de vida

- Animais jovens: Eles podem ter valores mais altos ou mais baixos para alguns parâmetros (por exemplo, AP, fosfato...) do que os adultos (Humann-Ziehanck e Ganter, 2012).
- Características específicas da raça: existem desvios específicos da raça para alguns parâmetros (por exemplo, Galgos: menor concentração de tiroxina, concentração de leucócitos e plaquetas, maior hematócrito; Cavalier King Charles Spaniel: Possível macrotrombocitopenia (Zaldívar-López *et al.*, 2011)).



2.1.2. Seleção de teste

Antes de colher uma amostra de sangue, deve pensar no exame desejado e nos requisitos:

- O teste solicitado está disponível para a espécie?
- O paciente precisa estar em determinada condição (por exemplo, jejum) ou permanecer no consultório por um determinado período de tempo para o exame desejado?
- É um controle da terapia ou uma verificação da configuração correta da medicação?
- São necessários testes de supressão ou estimulação?
- Que material é necessário? A análise desejada é possível e sensata usando o material de amostra disponível? Exemplo: Os testes de coagulação só são possíveis a partir de plasma citratado!
- Que volume de amostra é necessário para o teste?
- A amostra pode sobreviver ao transporte para o laboratório de tal forma que o parâmetro desejado ainda possa ser medido de forma significativa? É aconselhável verificar antecipadamente a estabilidade dos parâmetros e esclarecer as condições pré-analíticas necessárias.

Stress excitação e grande esforço físico devem sempre ser evitados antes da colheita de sangue (Moritz *et al.*, 2014). Isso afeta principalmente animais selvagens, mas também animais que possuem pouca rotina no manuseamento (Braun *et al.*, 2015).

2.1.3. Medicação e biorritmia

- O paciente está a tomar uma medicação específica que pode influenciar os resultados do teste e potencialmente levar a uma interpretação incorreta? (Exemplos de combinações problemáticas são o tratamento com fenobarbital num epiléptico que será testado para hipotireoidismo ao mesmo tempo (Gaskill *et al.*, 2000), tratamento com glicocorticóides num cão em que deve ser realizado um teste de estimulação com ACTH ou pré-tratamentos com antibióticos antes do exame microbiológico.)
- Existe um ritmo biológico que precisa ser levado em consideração para o parâmetro solicitado?

Como já pode ser visto nesta seleção, nem todos os fatores de influência pré-analíticos podem sempre ser controlados. No entanto, o maior número possível de fatores deve pelo menos ser documentado (Braun *et al.*, 2015) para facilitar a interpretação posterior dos resultados.



2.1.4. Ordem de colheita recomendada

É aconselhável usar um esquema fixo e comprovado para a sequência de remoção, por exemplo, o esquema Gurr. O significado dos diferentes códigos de cores é explicado no Capítulo 3.2.1.

Código de cores da UE baseado em BS 4851	Código de cores ISO de acordo com ISO 6710	
		Cultura de sangue
		Soro/Gel de Soro – Sangue
		Citrato - Sangue
		Heparina/Gel de Heparina – Sangue
		EDTA - Sangue
		Fluoreto/Fluoreto de Citrato – Sangue

Gurr et al., (2011)



Agora colocamos a amostra de sangue no tubo de EDTA em vez do tubo de soro. Vou transferir rapidamente!

“Por favor, não! Porque a mistura do sangue com EDTA já ocorreu durante a colheita, o que falsifica os resultados da medição! As amostras nunca devem ser decantadas depois!”

(Moritz et al., 2014)



3. Resumo de materiais e tubos de amostra



Vários materiais estão disponíveis para exames de sangue. Eles são brevemente apresentados aqui.

Existe sangue total, soro e plasma. Estes diferem em sua composição. O processamento adicional da amostra também ocorre dependendo do material da amostra.

Sangue total é obtido de sangue total que foi misturado com um anticoagulante (por exemplo, heparina ou EDTA). Isso evita a coagulação do sangue e permite que os componentes líquidos do sangue sejam separados dos componentes sólidos.

Plasma é obtido a partir de sangue total que foi misturado com um anticoagulante (por exemplo, heparina ou EDTA) e é imediatamente separado em células sanguíneas (componentes sólidos) e plasma (componentes líquidos) por centrifugação. Ao contrário do soro, o plasma contém todos os fatores de coagulação do sangue porque não foram utilizados para a coagulação.

Soro também é obtido a partir de sangue total, mas sem adição de anticoagulante, mas geralmente com promotor de coagulação. A amostra irá e deverá coagular e, portanto, só poderá ser centrifugada após ficar em pé por pelo menos 30 minutos. O soro não contém quaisquer fatores de coagulação, pois estes são consumidos durante o processo de coagulação (Moritz *et al.*, 2014).



“Se deixar o tubo de soro por um período muito curto, pode ocorrer uma consistência de soro semelhante a um gel, o que torna as medições posteriores difíceis ou impossíveis!”

(Moritz et al., 2014)



3.1. Soro vs. plasma - Qual é a diferença?

Soro	Plasma
... sobrenadante livre de células de uma amostra completamente coagulada	... sobrenadante livre de células de uma amostra contendo anticoagulantes
... não contém fibrina	... contém fibrina
... menor rendimento	... maior rendimento
... a amostra deve primeiro coagular antes de poder ser centrifugada.	... a amostra pode ser centrifugada diretamente.

O bolo de sangue é criado na forma em que as células sanguíneas estão no tubo.

Isto significa que se o S-Monovette® permanecer plano após a colheita de sangue, as células sanguíneas sedimentam ao longo do tubo e formam uma forma alongada.

Esta estrutura resultante pode ser comprimida durante a centrifugação. Após a centrifugação, porém, ele levanta novamente em forma de acordeão (“fenômeno de salsicha”).



Nota

“O soro dessa amostra não pode ser pipetado automaticamente. Portanto, é importante armazenar as amostras de soro na posição vertical após a colheita de sangue.”





amostra coagulada vertical após centrifugação



amostra coagulada deitada após centrifugação

3.2. Visão geral de vários materiais de amostra

Os tubos de amostra mais importantes para a prática diária são mostrados com suas principais aplicações na tabela a seguir:

Material de amostra:	Aplicações
Citrato	Coagulação
Fluoreto de Sódio	Glicose/lactato
Gel de soro	Laboratório clínico
Heparina de lítio	Hemograma/química clínica
EDTA	Hemograma

3.2.1. Códigos de cores dos tubos

Não se confunda com as diferentes cores dos tubos!

As tampas dos diferentes tubos de amostra representam as diferentes preparações (= anticoagulantes/promotores) nos recipientes. Deve-se notar que existem dois códigos de cores diferentes.

- “Código de cores da UE” (baseado na norma britânica BS 4851)
- “Código de cores ISO” (baseado na norma internacional ISO 6710)

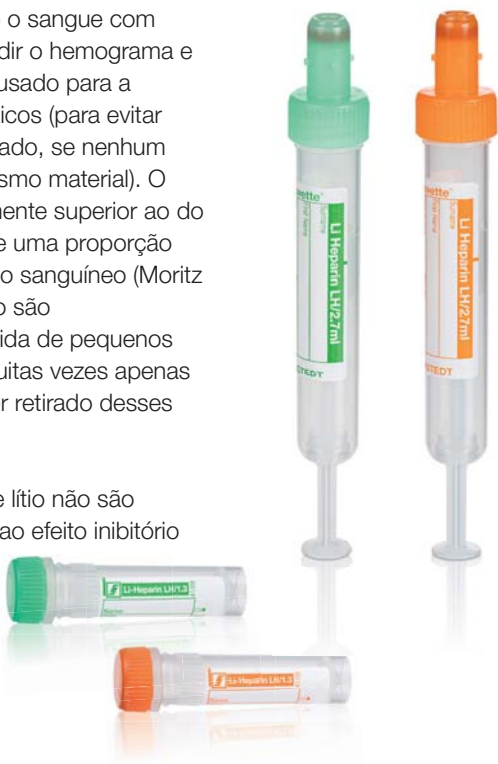
É melhor combinar um dos dois códigos de cores na prática e com o laboratório relevante. No entanto, a preparação exata está sempre listada por escrito no tubo, além do código de cores.



3.2.2. Tubos de heparina de lítio

Eles são versáteis entre os tubos, porque o sangue com heparina de lítio pode ser usado para medir o hemograma e o plasma com heparina de lítio pode ser usado para a análise de vários parâmetros clínico-químicos (para evitar hemólise, idealmente enviado já centrifugado, se nenhum hemograma for preparado a partir do mesmo material). O rendimento do plasma também é ligeiramente superior ao do soro, uma vez que com o soro há sempre uma proporção maior de líquido remanescente no coágulo sanguíneo (Moritz *et al.*, 2014). Os tubos de heparina de lítio são particularmente populares entre quem cuida de pequenos mamíferos ou animais exóticos, já que muitas vezes apenas um pequeno volume de amostra pode ser retirado desses animais.

Cave: Amostras em tubos de heparina de lítio não são adequadas para exames de PCR devido ao efeito inibitório (Schrader *et al.*, 2012).



Nota

“Importante: Se possível, o mesmo material (soro ou plasma) deve ser sempre utilizado para o exame clínico químico. Isso é particularmente verdadeiro para testes repetidos, já que alguns analitos, como o potássio, podem ter concentrações diferentes no soro e no plasma.”

(Humann-Ziebank e Ganter, 2012; Braun et al., 2015)



SARSTEDT

3.2.3. Tubo de EDTA

EDTA (ácido etilendiaminotetracético) é um agente quelante. Funciona como um anticoagulante ligando-se a íons metálicos, principalmente íons de cálcio, que são necessários para a coagulação do sangue. Diferentes formas de EDTA podem ser distinguidas, por exemplo, EDTA dipotássico e tripotássico. (Moritz *et al.*, 2014). O sangue em tubos de EDTA é usado principalmente para medir contagens sanguíneas.

É importante agitar suavemente a amostra imediatamente após a colheita de sangue para evitar coágulos, caso contrário a amostra não poderá mais ser analisada de forma significativa (Vap *et al.*, 2012)! Os tubos de EDTA nunca devem ser enchidos primeiro, caso contrário existe o risco da agulha ser contaminada com EDTA. Isso pode levar a medições incorretas para vários parâmetros (Sharratt *et al.*, 2009).

As amostras de EDTA são necessárias não apenas para medir contagens sanguíneas, mas também para determinar o grupo sanguíneo sorológico. Eles também podem ser usados para exames genéticos e detecção de patógenos por PCR (reação em cadeia da polimerase), desde que o patógeno que procura seja encontrado no sangue. No entanto, para alguns testes, como ACTH ou pró-BNP, é necessário plasma EDTA centrifugado e pipetado (para mais informações sobre centrifugação e rotulagem das amostras, consulte a página 48).



Nota

“Cuidado: O uso de EDTA é contra-indicado em répteis e espécies individuais de aves, pois o EDTA pode causar hemólise, o que impossibilita a avaliação subsequente.”

(Nardini et al., 2013)



3.2.4. Tubo de soro

Os tubos de soro geralmente contêm aceleradores de coagulação, que levam à coagulação rápida. O soro pode ser usado para a análise da maioria de todos os parâmetros químicos clínicos, bem como para vários procedimentos de testes sorológicos. Como o nome sugere, a eletroforese sérica também deve ser realizada a partir do soro.



Tubos de gel de soro:

Eles podem ser usados de forma semelhante aos tubos de soro. A vantagem é que após a centrifugação, o gel é colocado entre as diferentes camadas, dispensando a pipetagem do sobrenadante.



"Tenho um tubo aqui com a abreviatura CAT. Isso é só para gatos?"

"Não, os tubos de soro também estão marcados com a abreviatura CAT, que significa 'Ativador de Coágulos'."

(Moritz et al., 2014)



Tubos de soro neutro:

Os tubos de soro neutro estão marcados como “Neutro ou Neutro Z”. Eles não são revestidos e são usados como tubos de soro ou para decantar amostras de plasma (por exemplo, plasma citrato).



3.2.5. Tubo de citrato

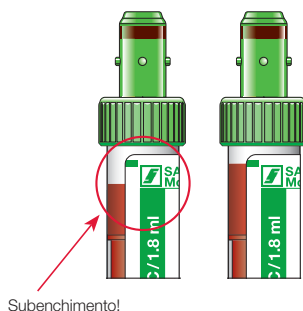
A proporção de mistura para sangue citratado é geralmente de 9:1. Sangue e/ou plasma citratado são particularmente necessários para análises de coagulação. Para um manuseamento correto, alguns pontos importantes devem ser considerados:

1. Os tubos de citrato nunca devem ser preenchidos primeiro (Moritz *et al.*, 2014), pois o processo de coagulação já é iniciado pelo processo de estase.
2. Mesmo que deva ser tomado cuidado para garantir que todos os tubos não excedam o prazo de validade (Braun *et al.*, 2015), este é o caso com estes tubos são particularmente importantes! Em caso de dúvida, novos tubos podem ser solicitados gratuitamente ao laboratório a qualquer momento.
3. Além disso, é importante garantir que os tubos sejam preenchidos exatamente até a marca ao colher amostras. O enchimento excessivo ou insuficiente leva a resultados de análise de coagulação não confiáveis. Nalguns casos, a amostra não pode ser coagulada no laboratório.
4. Para a maioria dos parâmetros de coagulação, recomenda-se centrifugar e pipetar imediatamente a amostra e usar plasma citrato resfriado (ver 3.2.4. Tubo de soro neutro) a ser usado para análise. No entanto, o sangue total citratado é necessário para a tromboelastografia!



A quantidade ideal de enchimento varia entre os tubos. Para que a marca dos níveis de enchimento seja mantida nos dois tubos da direita, veja a seta.

O enchimento insuficiente e excessivo deve ser evitado a todo custo! Os coágulos não apenas levam a resultados incorretos de medição hematológica, mas também podem bloquear os capilares dos dispositivos hematológicos (Moritz *et al.*, 2014).



3.2.6. Tubo de sódio

Estes são adequados apenas para medir lactato e glicose. Eles são particularmente importantes quando a glicose não pode ser medida diretamente na clínica, mas é enviada para um laboratório externo. O fluoreto de sódio tem como objetivo interromper a quebra da glicose na amostra, portanto, tubos de fluoreto de sódio podem ser usados para medir a concentração de glicose (Braun *et al.*, 2015).



3.3. Qual o tipo de amostra adequado para cada teste?

Nem todo o material de amostra pode ser usado para todos os exames. A tabela a seguir fornece uma visão geral de quais estudos podem ser realizados usando que material.

Possíveis usos de diferentes tipos de amostras

Anticoagulante	Material	Hemograma	Esfregaço de sangue	Parâmetros clínico-químicos	Sorologia	Coagulação
EDTA	Sangue total	Sim	Sim	Não	Não	Não
EDTA	Plasma	Não	Não	Restrito	Restrito	Não
Heparina de lítio	Sangue total	Sim	Restrito	Não	Não	Não
Heparina de lítio	Plasma	Não	Não	Sim	Sim	Não
Citrato	Sangue total	Não	Sim	Não	Não	Restrito
Citrato	Plasma	Não	Não	Não	Não	Sim
NaF (fluoreto de sódio)	Plasma	Não	Não	Glicose, lactato	Não	Não
Tubo de soro sem anticoagulante	Soro	Não	Não	Sim	Sim	Não

4. Erros comuns em pré-análise



4.1. Fatores de confusão

Os fatores perturbadores mais comuns na pré-análise incluem hemólise, vasos de amostra insuficientemente preenchidos e coágulos sanguíneos. A tabela a seguir fornece uma visão geral inicial das causas e fornece informações sobre as consequências.

Fatores perturbadores comuns em análises e suas possíveis causas

Fatores de confusão	Causa	Parâmetros afetados
Coágulo	Encher demais o tubo de EDTA, heparina de lítio ou citrato	Hemograma incluindo contagem de plaquetas, parâmetros de coagulação
Hemólise	Amostra não centrifugada, centrifugação inadequada, erros de pipetagem, longo tempo de armazenamento, temperaturas muito altas, geada	Vários parâmetros clínico-químicos são típicos, por exemplo, uma concentração de potássio incorretamente elevada e uma concentração de cálcio incorretamente baixa
Lipemia	Paciente sem jejum, medicação, endocrinopatias e diversas outras alterações patológicas	Vários parâmetros clínico-químicos, bem como parâmetros de hemograma isolados; Por exemplo, pode acontecer que o conteúdo de hemoglobina em amostras lipêmicas seja medido incorretamente.
Medicamentos	Terapia (por exemplo, infusões, glicocorticóides, antibióticos, sedativos)	Dependendo da medicação e dos parâmetros, varia (erroneamente alto ou erroneamente baixo). Por exemplo, típico da administração de glicocorticóides em cães são aumentos nas enzimas hepáticas (especialmente fosfatase alcalina).
Enchimento excessivo ou insuficiente	Nível de enchimento especificado não atingido	Parâmetros de coagulação



“A contaminação por EDTA, por exemplo, devido a uma sequência de amostragem incorreta, pode levar a alterações típicas, por exemplo, valores de potássio muito elevados e valores baixos de cálcio.”



4.1.1. Hemólise

Uma hemólise pode ter várias causas. A hemólise geralmente ocorre *in vitro*, por exemplo, devido a congestão excessiva, forças físicas de cisalhamento (agulha muito fina, agulha dobrada), punção venosa traumática ou balanço muito violento ou agitação da agulha na amostra de sangue, temperaturas demasiado altas ou baixas, velocidades de centrifugação demasiado elevadas, contaminação com água ou desinfetantes e amostras demasiado antigas. Embora a hemólise *in vitro* seja mais comum, a hemólise *in vivo* deve sempre ser considerada.



Consequências da hemólise

Libertação do conteúdo celular – diferenças de concentração

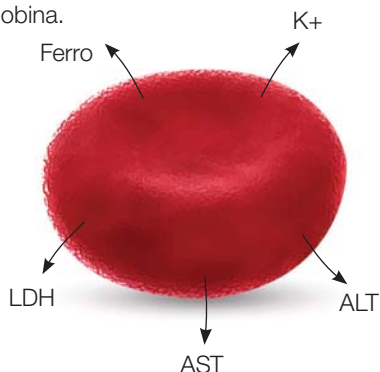
Substâncias que estão presentes em concentrações mais elevadas nos eritrócitos (concentração intracelular) escapam para o soro/plasma (concentração extracelular) devido à destruição da membrana celular dos eritrócitos durante a hemólise. A consequência são resultados de medição incorretamente altos.

Libertação de conteúdo celular – distúrbio visual

Durante a hemólise, a hemoglobina, o pigmento vermelho do sangue, também é liberada no soro/plasma. Isto pode levar a sinais de medição incorretos em análises fotométricas devido à extinção intrínseca da hemoglobina.

Sinal de medição errado = resultado

(Humann-Ziehanke e Ganter, 2012)



"Hemólise é a liberação de substâncias intraeritrocíticas após dano à membrana celular. A coloração vermelha do soro/plasma causa problemas durante as medições, principalmente em testes fotométricos."



4.1.2. Hiperlipidemia (Lipemia)

A lipemia pode influenciar vários parâmetros (Braun *et al.*, 2015). Dependendo do grau de lipemia, também pode acontecer que alguns parâmetros não possam ser medidos. Os carnívoros devem, portanto, ser sempre apresentados com o estômago vazio (cerca de 12 horas sem comida) para uma amostra de sangue. As causas da lipemia podem ser muito diferentes - embora no caso mais simples seja apenas hiperlipidemia pós-prandial, influências dietéticas e medicamentosas, bem como causas endocrinológicas, inflamatórias, neoplásicas ou genéticas também podem desempenhar um papel (Xenoulis e Steiner, 2015). A hiperlipidemia recorrente deve, portanto, ser mais investigada.

Amostra lipêmica



Nota

“Resultados laboratoriais corretos são fundamentais para futuras decisões terapêuticas – mas requerem boa qualidade de amostra pré-analítica.”



4.1.3. Icterícia

Mesmo com amostras ictericas, diversas interferências podem ocorrer durante a medição (Martínez-Subiela *et al.*, 2002; Berlanda *et al.*, 2020). Portanto, é importante que as amostras sejam verificadas visualmente e por meio de medições específicas quanto à presença de descoloração amarela. **Cave:** É importante saber que fisiologicamente o plasma ou soro de cavalos tem uma cor amarela clara!



Amostra icterica



Nota

“É bom poder ter uma impressão direta da qualidade da minha amostra com base nos índices de hemólise, lipemia e icterícia! Isso me permite avaliar melhor como interpretar os resultados dos respectivos testes!”



5. Colheita da amostra



Dependendo da espécie animal, diferentes veias são adequadas para a colheita de sangue venoso. O gráfico a seguir dá uma visão geral de quais veias são frequentemente usadas em quais espécies animais.



“Certifique-se sempre de se proteger ao manusear o produto e usar luvas!”



Possíveis locais de punção para colheita de sangue

Espécies	<i>V. jugularis</i>	<i>V. saphena lateralis</i>	<i>V. saphena medialis</i>	<i>V. cephalica antebrachii</i>	<i>V. auricularis</i>	<i>V. facialis (Wangenplexus)</i>
Cachorro	×	×		×		
Gato	×		×	×		
Coelho/Lebre		×		×	(×)	
Furão		×		×		
Porquinho da índia		×		×		
Rato, camundongo, gerbil		(×)				×
Cavalo	×		(×)	(×)		

(Moritz et al., 2014)

Em pequenos animais, o sangue é preferencialmente colhido com uma agulha de 20 G da *vena cephalica antebrachii* (Moritz et al., 2014).

Para cada animal, a solução ideal: juntos em nome do bem-estar animal.

No seu consultório/clínica, conhecerá muitas espécies animais diferentes, cada uma com suas necessidades individuais. A SARSTEDT oferece soluções adequadas para pré-análise em medicina veterinária.

S-Monovette® – colheita de sangue segura, suave e higiênica em pequenos animais

Multivette® – colheita sangue em pequenos animais de estimação de maneira suave e fácil usando apenas pressão venosa

A microagulha: colher cada gota de maneira segura também em animais especialmente sensíveis, por ex. utilizando um microrrecipiente de amostra ou um Microvette®

Regra geral, o sangue venoso é necessário para a maioria das análises. Raramente, o sangue capilar ou arterial pode ser necessário ou benéfico, por exemplo, para um exame de gases sanguíneos (sangue arterial) ou se houver suspeita de babesiose (sangue capilar).



O seguinte processamento de rotina é recomendado:

1. Forneça quantidades suficientes de utensílios necessários!
2. Consiga ajudantes!
3. Desinfecção das mãos! Usar luvas!
4. Examine as veias e faça uma seleção!
5. Tesoura e desinfecção!
6. Páre de palpar o local da punção!
7. Consiga ajudantes!
8. Remova a tampa protetora da agulha de segurança!
9. Lime o lado da agulha voltado para cima!
10. Ângulo de injeção abaixo de 30°!
11. Apertar a pele; Corrija a veia!
12. Possivelmente. “Avise” a pessoa!
13. Liberte o garrote quando o sangue fluir!
14. Colher amostras; Cuidado com a ordem!



“Tem alguma outra dica para colher amostras de sangue?”

“Claro! Evite prender por tempo prolongado, pois isso pode afetar alguns parâmetros, como o potássio. O bombeamento também deve ser evitado.”

(Moritz et al., 2014)





Assista ao
vídeo!



Colheita de sangue dum cão grande usando um S-Monovette® e uma agulha de segurança

O **sistema de colheita de sangue S-Monovette®** permite a colheita fechada de sangue usando duas técnicas. A técnica de aspiração oferece uma remoção suave e adaptada ao fluxo sanguíneo. Além da técnica de aspiração, o sistema dual do S-Monovette® também oferece a técnica de vácuo convencional para fluxos de sangue intensos.

Quando retirado utilizando o S-Monovette® e a agulha de segurança, o risco de transferência de EDTA é significativamente reduzido.

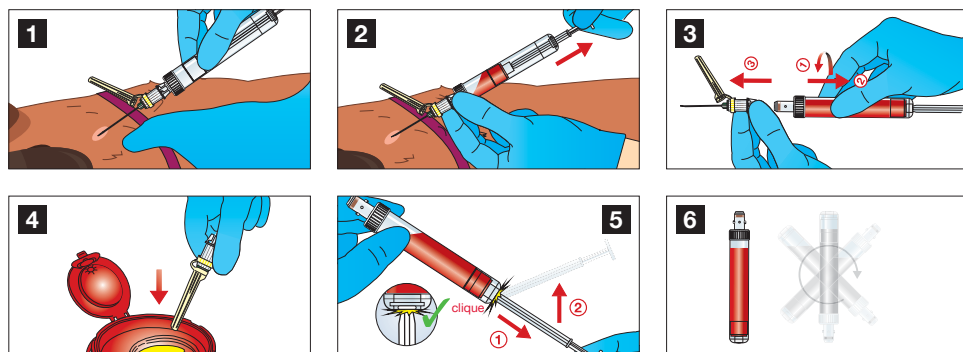
(Sulaiman, 2011)



“Se não tiver certeza se a quantidade da amostra é suficiente para todos os exames desejados, basta especificar a ordem de processamento desejada. Cuidado: Por exemplo, se o sangue com heparina de lítio for enviado apenas uma vez e um parâmetro químico clínico for anotado como o primeiro ponto na sequência, nenhum outro hemograma poderá ser medido após a centrifugação!”



Colheita de sangue com o sistema de colheita de sangue S-Monovette®



Depois do paciente e tudo o resto estiverem adequadamente preparados para a colheita de sangue, as etapas a seguir são executadas.

1. A veia selecionada é puncionada com a agulha de segurança, que é conectada a um S-Monovette®.
2. A haste do pistão do S-Monovette® é lentamente puxada para trás até a extremidade do tubo, ajustada ao fluxo sanguíneo, até que o fluxo sanguíneo páre.
3. O S-Monovette® pode ser facilmente separado da agulha de segurança com um movimento de torção. Isto significa que vários S-Monovettes podem ser removidos com uma agulha.
4. A agulha de segurança pode simplesmente ser fechada e descartada após a remoção.
5. Depois de todos os S-Monovettes serem removidos e o paciente tiver sido tratado, todas as hastes dos S-Monovettes são puxadas para trás até ouvir um clique. Então as hastes do pistão são quebradas.
6. Agora agite várias vezes e a amostra estará pronta para o laboratório.

Para usar a tecnologia de vácuo com o S-Monovette®, a haste do pistão é puxada para dentro da curva e quebrada antes da colheita de sangue. Isto cria um vácuo “fresco” no tubo de amostra. Se este S-Monovette® for conectado à agulha, o tubo de amostra será preenchido pelo vácuo.



Colheita de sangue dum gato usando Multivette® 600 e uma agulha Luer

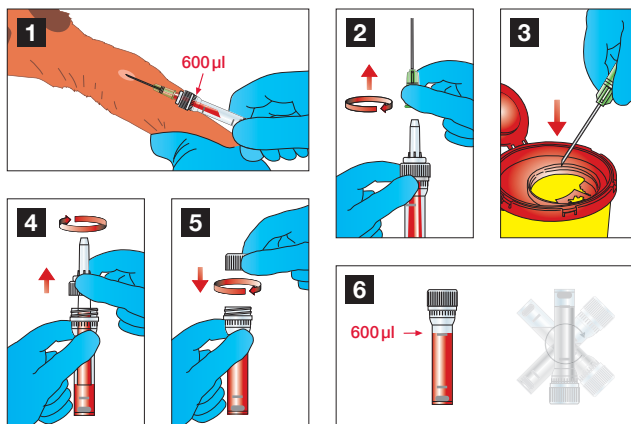
Assista ao
vídeo!



O **Multivette® 600** foi projetado e preparado para pequenos volumes de sangue de 600 μl . A colheita é feita numa condição quase fechada e utiliza pressão venosa natural. Isso faz com que a colheita seja especialmente económica e simples.

A amostra de sangue pode ser centrifugada diretamente no Multivette® 600. Isso facilita a colheita de sangue e economiza tempo. Devido ao diâmetro interno menor, a pipetagem após a centrifugação é particularmente simples. Além disso, a amostra pode ser selada e enviada para o laboratório.

Colheita de sangue com o Multivette® 600



Após o paciente e tudo o resto estarem devidamente preparados para a colheita de sangue, são realizados os seguintes passos:

1. A veia selecionada pode ser facilmente puncionada usando o Multivette® e uma agulha Luer padrão. Graças ao capilar interno, o Multivette® 600 enche-se exclusivamente através de pressão venosa. Isto torna a colheita de sangue particularmente suave e fácil. A linha de preenchimento mostra quando o Multivette® 600 está completamente cheio.
2. Após a colheita, a agulha Luer é removida.
3. As agulhas Luer são descartadas em caixa de descarte apropriada.
4. Devido ao design especial do Multivette® 600, o sangue flui para fora do capilar quando o Multivette® é segurado verticalmente e virado para cima.
5. O Multivette® é fechado com a tampa de rosca incluída.
6. Agora agite várias vezes e a amostra estará pronta para o laboratório.



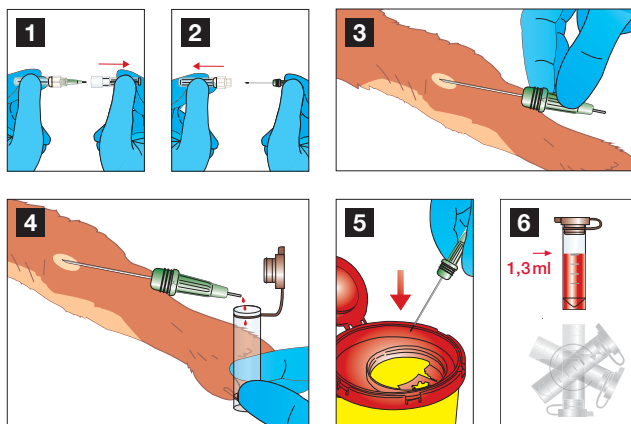
Assista ao
vídeo!



Colheita de sangue dum gato usando uma microagulha e um recipiente para microamostras

Especialmente em animais muito pequenos e em condições venosas difíceis, cada gota de sangue conta. A **microagulha** especial garante que cada gota de sangue seja transferida para dentro do tubo de amostra e não coagule antes. O tubo de amostra adequado pode ser selecionado de acordo com o volume de amostra esperado. O microrrecipiente de amostra é adequado para quantidades de 1,3 ml. Para pacientes menores, o Microvette® nos volumes de 100 µl a 500 µl é a escolha certa.

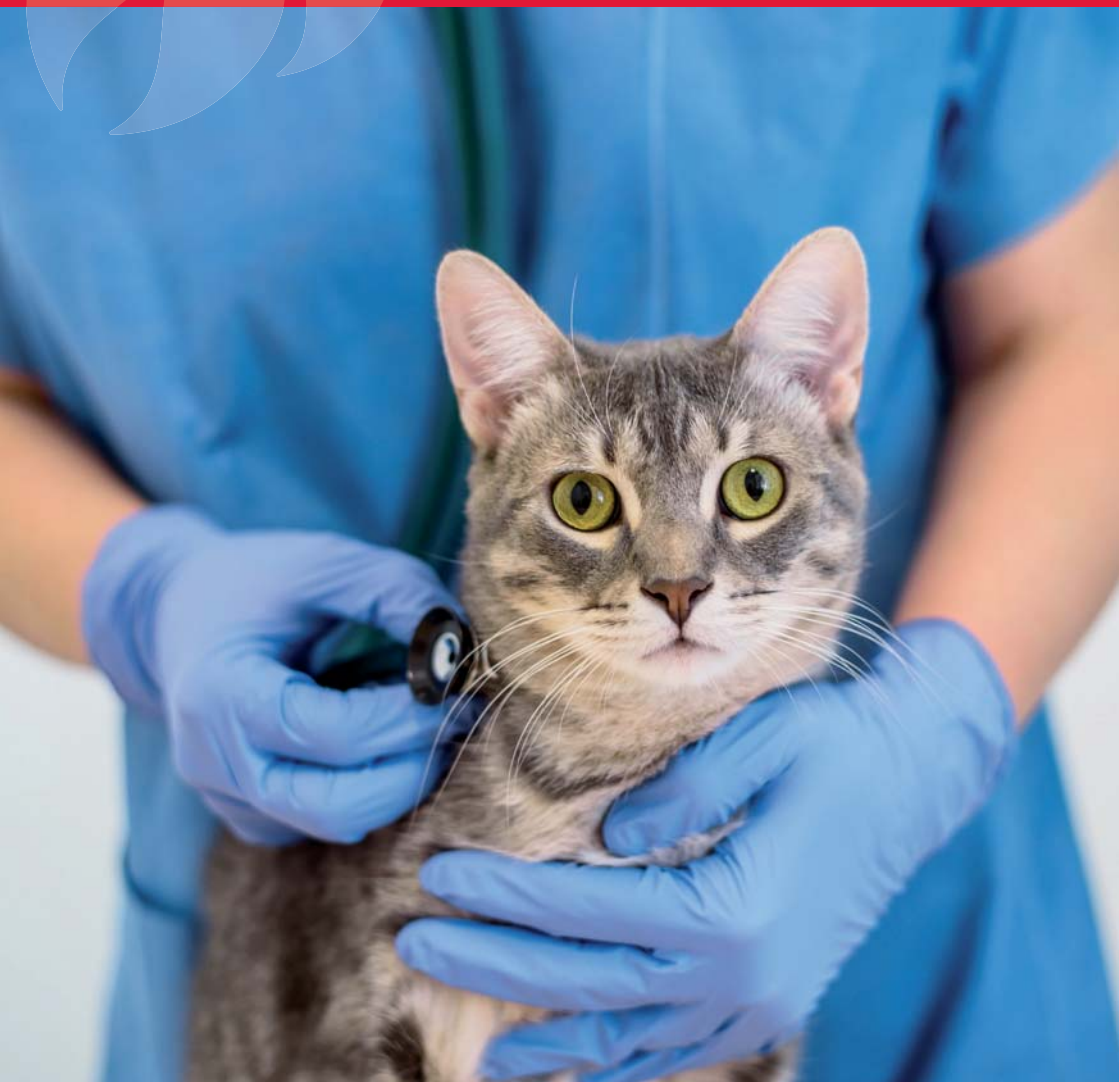
Colheita de sangue com microagulha e recipiente de microamostra



Após o paciente e tudo o resto estarem devidamente preparados para a colheita de sangue, são realizados os seguintes passos:

1. A microagulha é aberta no lado transparente.
2. Em seguida, a microagulha é segurada pela alça para remover a tampa protetora.
3. A veia selecionada é então puncionada.
4. O sangue é colheitado num recipiente de amostra adequado.
5. Após a colheita de sangue, a microagulha é descartada com segurança em uma caixa de descarte apropriada.
6. Agora agite várias vezes e a amostra estará pronta para o laboratório.

6. Segurança da amostragem



Vários patógenos zoonóticos e os seus perigos para os seres humanos são conhecidos, por exemplo Bartonella, Brucella, Campylobacter, Chlamydia, Coxiella, Dermatophytes, Giardia, Cryptosporidia, Leptospira, Listeria, Pasteurella, vírus da raiva, Salmonella, Toxoplasma e muitos outros (Jackson e Villarroel, 2012). Portanto, é aconselhável implementar regras de segurança específicas na sua própria prática e praticá-las através do uso regular. Isto inclui observar a higiene geral e tomar medidas adequadas de segurança ocupacional (luvas, máscara facial se necessário, cobrir feridas abertas, etc.). A (re)utilização de equipamentos potencialmente contaminados deve ser evitada! Também é preciso ter cuidado para manter as vacinas em dia. A Comissão Permanente de Vacinação também recomenda a vacinação contra a raiva para veterinários (Boletim Epidemiológico, 2023).

Devem ser fornecidos recipientes de resíduos adequados e usados para colheitar objetos pontiagudos ou perfurocortantes. Estes não devem estar superlotados.

Instruções de segurança

- Utilize apenas caixas de tamanho adequado para guardar os itens a serem descartados
- Antes de iniciar o enchimento, a tampa deve ser colocada e travada no lugar
- Conecte a caixa com o adaptador adesivo recomendado desparafusando-o ou fixe-o no suporte de parede para evitar que caia
- Não utilize a tampa diária para pressionar os itens a serem descartados
- Descarte os bisturis na caixa com especial cuidado (risco de encravar e danos nas paredes e no chão da caixa)
- Coloque apenas itens a serem descartados verticalmente na caixa
- Não force objetos dentro da caixa
- Não despeje líquidos na caixa
- Não toque na caixa com a mão ou de qualquer outra forma (risco de ferimentos!)
- Não coloque a caixa no chão, não agite, não deixe cair
- Antes de fechar a caixa, certifique-se de que nenhum objeto saia pela abertura
- Antes de descartar a caixa, verifique cuidadosamente se a tampa está bem fechada

Recomendação:

Encha o Multi-Safe apenas até aproximadamente 2/3 do volume!

Não encha o Multi-Safe demais:

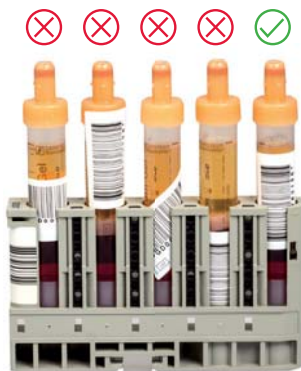
Perigo de ferimentos!

Preste atenção na linha de enchimento!



Processamento seguro

Importante: Antes de qualquer processamento adicional, deve-se garantir que as amostras possam ser claramente atribuídas ao paciente e estejam corretamente rotuladas! Mais informações podem ser encontradas no Capítulo 8 “Rotulagem, armazenamento e transporte”.



Os recipientes de amostras estão corretamente rotulados se:

- uma visão clara do conteúdo for garantida
- for possível verificar o nível de enchimento
- a tampa de rosca pode ser removida sem impedimentos.
- Não enkrave nem cole os tubos e etiquetas na centrífuga.



"Vou recolher as amostras imediatamente para processamento posterior..."

"Páre! As amostras só poderão sair da sala de colheita e do paciente depois de etiquetadas com o código de barras atribuído ao respectivo paciente."



7. Preparação do teste laboratorial



Antes das amostras serem analisadas no local ou enviadas para um laboratório externo, as amostras de sangue devem ser preparadas adequadamente. **Usar soro ou plasma em vez de sangue total tem diversas vantagens e é o método preferido em muitos casos pelos seguintes motivos:**

- Estabilidade e durabilidade: As amostras de soro geralmente têm uma vida útil mais longa do que as amostras de sangue total. A hemólise relacionada ao armazenamento pode ser evitada desta forma. Isto é particularmente importante se a amostra for transportada por longas distâncias ou se os testes forem realizados posteriormente.
- Padronização: O uso de amostras de soro ou plasma é padronizado em laboratórios e dispositivos analíticos.
- Melhor precisão e reprodução: A remoção das células sanguíneas pode ajudar a melhorar a precisão e a reprodução dos testes laboratoriais (especialmente no caso de dispositivos internos).

No entanto, também existem situações em que são necessárias amostras de sangue total, especialmente quando for necessário realizar testes específicos baseados nas próprias células sanguíneas. Este é o caso de todos os exames hematológicos. Dado que as células sanguíneas são muito sensíveis ao armazenamento, à temperatura, ao transporte e às alterações relacionadas com o tempo, o exame deve idealmente ser realizado dentro de algumas horas até um máximo de 2 dias após a colheita de sangue (sangue total armazenado refrigerado). Para evitar estas alterações (a degeneração celular começa imediatamente após a colheita do sangue), os esfregaços de sangue também devem ser colhidos imediatamente.

7.1. Centrifugação

A centrifugação de amostras de sangue é usada para separar componentes sólidos (células, coágulos de sangue) dos componentes líquidos.

Diferentes centrífugas podem ser usadas para isso - mas é crucial que as amostras sejam idealmente centrifugadas diretamente na prática. O que é importante aqui é que seja feita uma distinção entre velocidade e força g (força gravitacional). A força g é o valor relevante para um bom resultado de centrifugação. Portanto, é particularmente importante ao configurar a centrífuga.

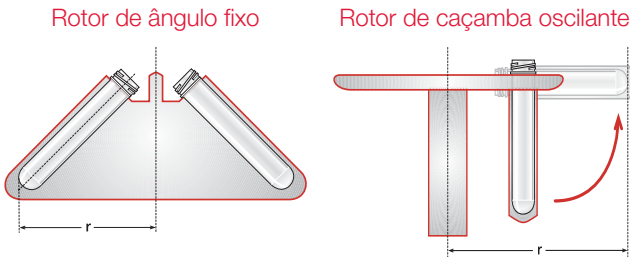
A força g pode ser calculada especificando o raio (cm) e a velocidade/minutos (rpm ou rpm):

$$g = 11,18 \times r \times \left(\frac{n}{1.000}\right)^2$$

r = Raio em cm
n = Velocidade por minuto (min⁻¹)

Para converter força g em velocidade/minuto [min⁻¹] ou vice-versa, pode usar a calculadora de centrifugação em www.sarstedt.com/service/zentrifugation.

Consulte as informações do fabricante da centrífuga para o raio da centrífuga r ou determine-o usando a seguinte ilustração:



"A centrifugação é um processo de separação física que se baseia em diferentes proporções de densidade de substâncias, por exemplo, células sanguíneas e plasma."



Diferença entre rotor de ângulo fixo e rotor de caçamba oscilante

Recomendamos apenas o uso de rotores de balanço para monovetetas de gel. O recipiente de amostra numa centrifugação de ângulo fixo é montado rigidamente num ângulo oblíquo. O recipiente de amostra dum rotor de caçamba oscilante se move de uma posição vertical para uma posição horizontal durante a centrifugação. Isto significa que a força pode atuar uniformemente da tampa para o fundo durante a centrifugação. O resultado é uma camada de gel horizontal bem formada.

Rotor de ângulo fixo























Rotor de caçamba oscilante



As amostras de soro e plasma são frequentemente centrifugadas a 2.000 × g por cerca de 10 a 15 minutos.

Após a centrifugação, o soro ou plasma é separado do restante da amostra de sangue para evitar hemólise subsequente.

Tempo mínimo de centrifugação

Orientado para BS 4851 (código da UE)	Orientado para DINISO 6710 (código ISO)	S-Monovette®	Aceleração centrífuga relativa [g]				
			2000 x g	2500 x g	3000 x g*	3500 x g*	4000 x g*
		Soro	10 minutos	10 minutos	6 minutos	4 minutos	4 minutos
		Gel de soro	15 minutos	10 minutos	4 minutos	4 minutos	4 minutos
		Li-Heparina	10 minutos	10 minutos	7 minutos	7 minutos	7 minutos
		Gel de Li-Heparina	15 minutos	15 minutos	10 minutos	7 minutos	7 minutos
		Gel de Li-Heparina+	8 minutos	7 minutos	5 minutos	4 minutos	4 minutos
		Gel de EDTA	15 minutos	10 minutos	10 minutos	7 minutos	7 minutos
		Citrato	9 minutos	8 minutos	7 minutos	6 minutos	5 minutos
		Fluoreto	9 minutos	8 minutos	7 minutos	6 minutos	5 minutos
		GlucoEXACT	9 minutos	8 minutos	7 minutos	6 minutos	5 minutos
		Citrato PBM 1,8ml Raio da centrífuga > 17 cm	9 minutos	8 minutos	7 minutos	6 minutos	5 minutos
		Citrato PBM 1,8ml Raio da centrífuga > 9 cm até ≤ 17 cm	n.d.	n.d.	10 minutos	n.d.	n.d.

n.d. = não validado

Centrifugação a 20 °C

* Aplica-se a todos os S-Monovettes com exceção de Ø 8 mm (S-Monovettes pediátricos).

Re-Centrifugação

A centrifugação repetida de tubos de amostra não é recomendada (CLSI, 2010).

Desta forma, os componentes sanguíneos lisados podem difundir-se de volta das células sanguíneas centrifugadas para o soro ou plasma. Como resultado, parâmetros sensíveis às células, como potássio, fosfato, glicose ou LDH, são alterados (Hue *et al.*, 1991).

7.2. Como faço um esfregaço de sangue?



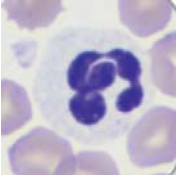
“Posso usar qualquer sangue para o esfregaço de sangue?”

“Não. O sangue deve ser anticoagulado. Sangue total para soro ou os últimos restos da agulha de colheita não devem ser utilizados. O anticoagulante de escolha é o EDTA. No entanto, se necessário, também pode usar heparina ou citrato de lítio.”

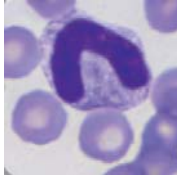


Conforme observado acima, um ou mais esfregaços de sangue devem ser enviados para cada exame de sangue. Isto é particularmente verdadeiro se também for desejado um exame citomorfológico, por exemplo, para verificar a contagem de plaquetas do dispositivo ou se houver suspeita de precursores eritrocitários nucleados, alterações morfológicas eritrocitárias, leucócitos atípicos, desvio à esquerda ou aglutinados.

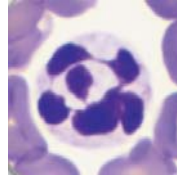
Hematologia - Cão



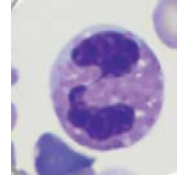
Núcleo segmentar
granulócito neutrófilo



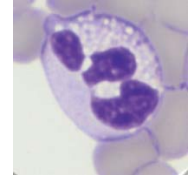
nucleado em bastonete
granulócito neutrófilo



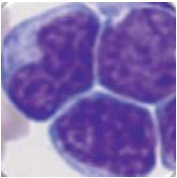
Hiper-segmentado
granulócito neutrófilo



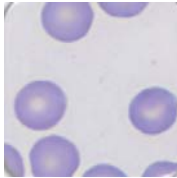
Núcleo segmentar
granulócito eosinófilo



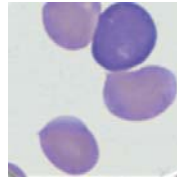
Núcleo segmentar
Granulócitos eosinófilos
em galgos



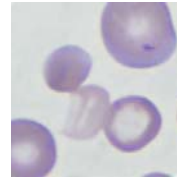
Grandes linfócitos
neoplásicos atípicos



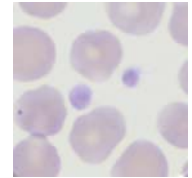
Fisiológico
Eritrócitos



Policromasia

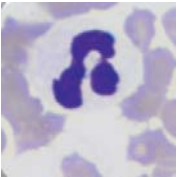


Anisocitose

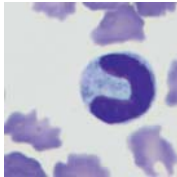


Fisiológico
Plaquetas

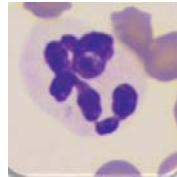
Hematologia - Gato



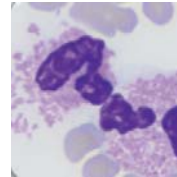
Núcleo segmentar
granulócito neutrófilo



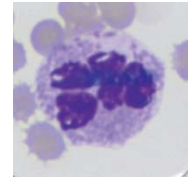
nucleado em bastonete
granulócito neutrófilo



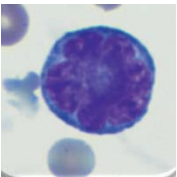
Hiper-segmentado
granulócito neutrófilo



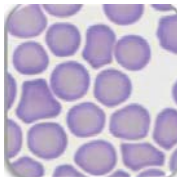
Núcleo segmentar
granulócitos eosinófilos



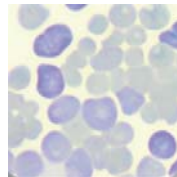
Núcleo segmentar
granulócito basofílico



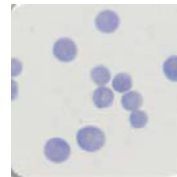
Linfócitos de tamanho
médio, basofílicos
escuros e atipicamente
reativos



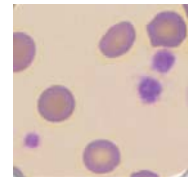
Eritrócitos fisiológicos



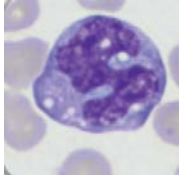
Policromasia



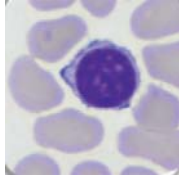
Anisocitose



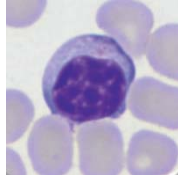
Anisocitose



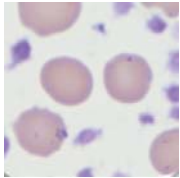
Monócito ativado



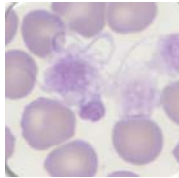
Semente madura
pequena
Linfócito padrão



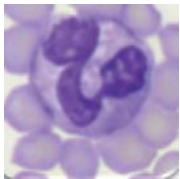
Linfócito reativo nuclear
pequeno e maduro



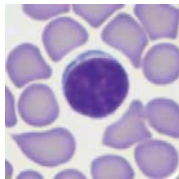
Plaqueta



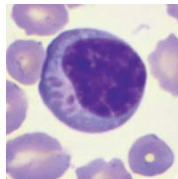
Macroplaquetas



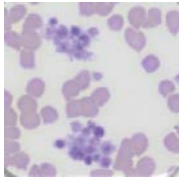
Monócito



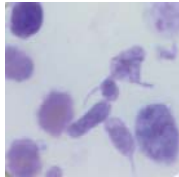
Semente madura
pequena
Linfócito padrão



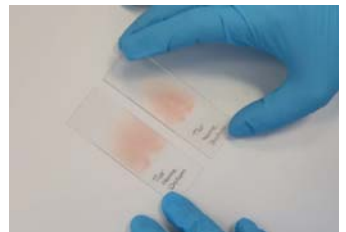
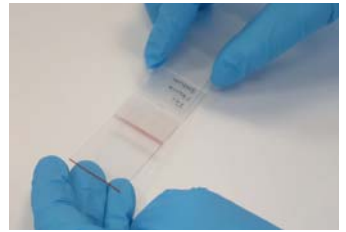
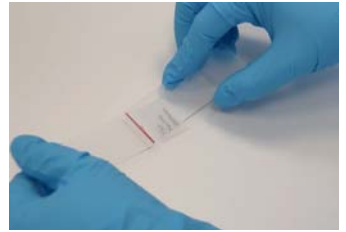
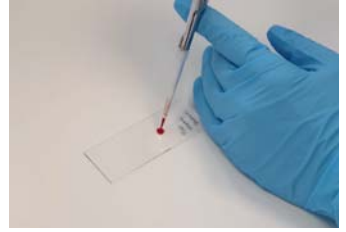
"Grande granulado
Linfócito" (LGL)



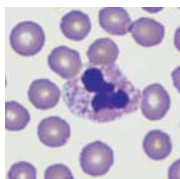
Agregados plaquetários



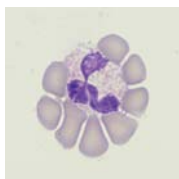
Plaquetas atípicas



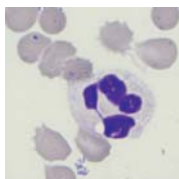
Hematologia – pequenos mamíferos



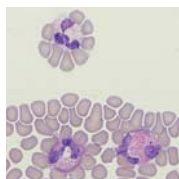
Granulócito heterofílico nuclear segmentar de coelho



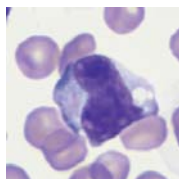
Granulócitos heterofílicos nucleares segmentados de porquinho-da-india



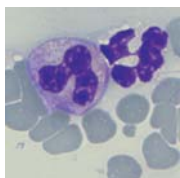
Granulócito neutrófilo nuclear segmentar de furão



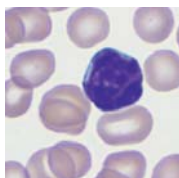
Heterófilo (acima), eosinófilos (abaixo) Porquinho da índia



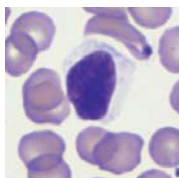
Monócito ativado de coelho



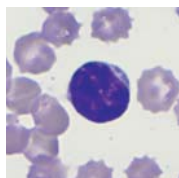
Granulócito eosinófilo de furão



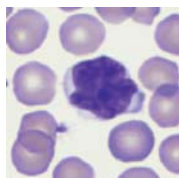
Linfócitos padrão nuclear maduro pequeno de porquinho-da-india



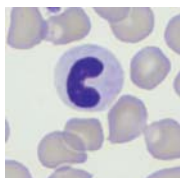
Linfócito nuclear reativado maduro pequeno de coelho



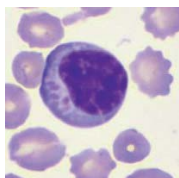
Linfócitos padrão de furão



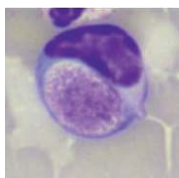
Linfócitos reativos atípicos entalhados de coelho



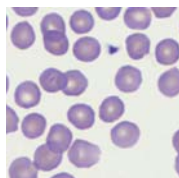
Granulócitos neutrófilos nucleados em bastonete de furão



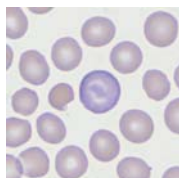
"Linfócitos granulares grandes (LGL)" de porquinho-da-india



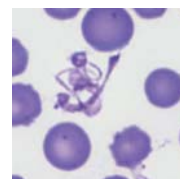
Células Foa-Kurloff de porquinho-da-india



Eritrócitos fisiológicos de coelho



Anisocitose, policromasia de coelho



Plaquetas atípicas de porquinho-da-india

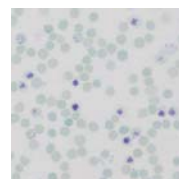
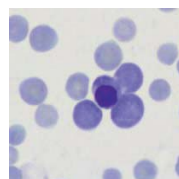
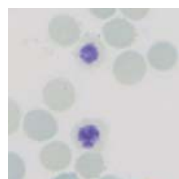


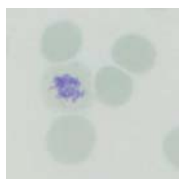
Imagem de visão geral dos reticulócitos de coelho



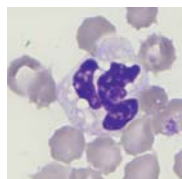
Normoblasto de coelho



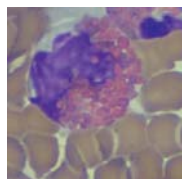
Grupo de reticulócitos I Coelho/Lebre



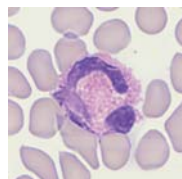
Grupo de reticulócitos II Coelho/Lebre



Monócito de furão



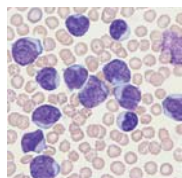
Granulócito eosinófilo de coelho



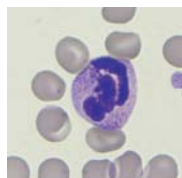
Granulócitos eosinófilos de porquinho-da-índia



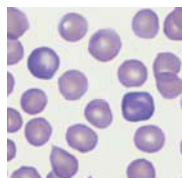
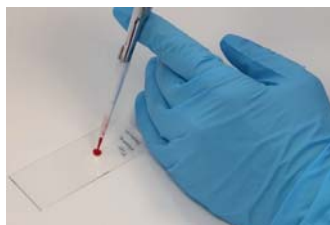
Locais de punção em porquinhos-da-índia
Li.: V. saphena: Punção lat. do tendão de Aquiles (terço médio da perna) em ângulo < 45°
Re.: V. cephalica antebrachii



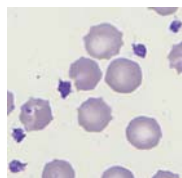
Linfoma estágio V
Grandes linfócitos neoplásicos atípicos de porquinho-da-índia



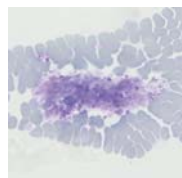
Basófilo granulócito de porquinho-da-índia



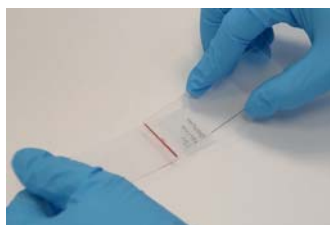
Policromasia de coelho



Plaquetas de furão



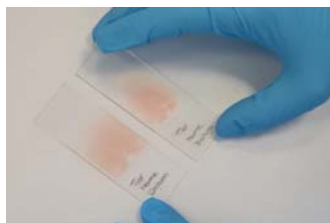
Agregado plaquetário de furão



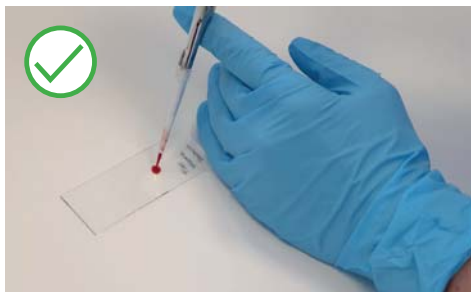
Grupo de reticulócitos III
Coelho/Lebre



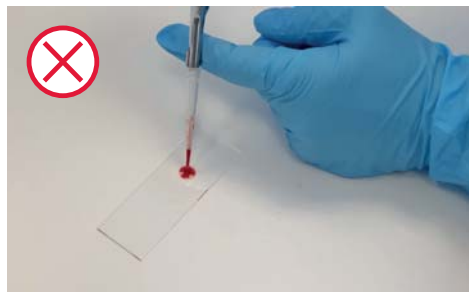
Grupo de reticulócitos IV
Coelho/Lebre



O que fazer e o que não fazer em esfregaços de sangue



A lâmina é etiquetada com lápis (ou outro álcool e caneta à prova d'água). Uma gota (aproximadamente 10 μ l) de sangue é colocada na lâmina.



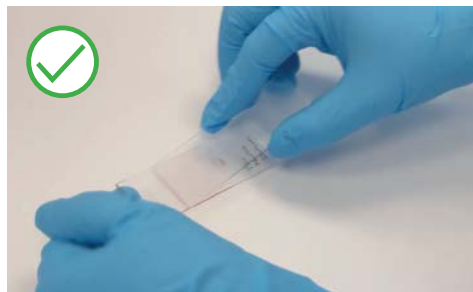
A etiqueta está em falta e o esfregaço não pode ser atribuído a um cliente. A gota de sangue aplicada é muito grande.



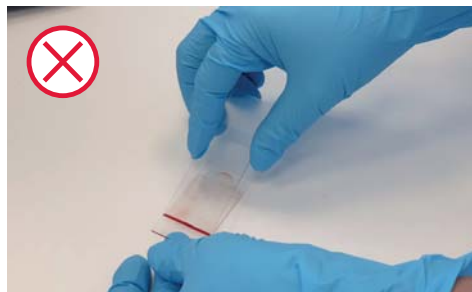
Uma segunda lâmina é colocada na frente da gota de sangue. A lâmina com listras é puxada em direção à gota de sangue até que todo o sangue esteja distribuído ao longo da borda.



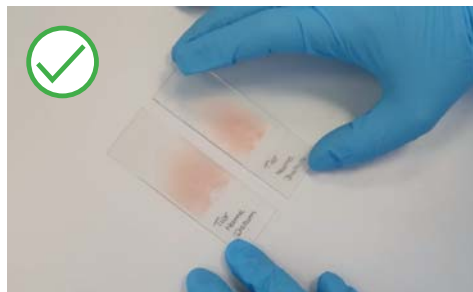
A gota de sangue não se espalha uniformemente ao longo da borda da lâmina. Causa: A corrediça não está plana ou a distribuição da pressão é irregular.



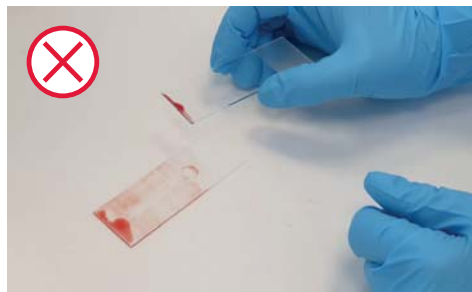
Com um movimento rápido e uniforme, ele é empurrado para a outra extremidade do escorregador (ângulo de aproximadamente 45°).



Espalhar-se muito lentamente leva a “paradas”. Devido à pressão excessiva e ao volume de amostra muito grande, todo o sangue é empurrado para o final do esfregaço.



Pode ver um esfregaço finalizado em “formato de língua”, da esquerda para a direita: corpo, monocamada (zona de avaliação) e bandeira. Importante: Considere secar ao ar antes de tingir e embalar em caixas de transporte!



Nenhuma divisão em corpo, monocamada e bandeira pode ser vista. O esfregaço de sangue é muito heterogêneo sem uma zona de avaliação e, portanto, não pode ser avaliado!



Dicas e truques Esfregaço de sangue de cão (F) e rato (A):

“Rato, estou a ter problemas para fazer bons esfregaços de sangue – pode ajudar?”

“Claro, o que exatamente quer saber?”



O esfregaço de sangue não se parece com uma língua, tem a mesma espessura da frente para trás e se estende até a borda. Onde está o erro?

A gota de sangue ou o volume de sangue provavelmente era muito grande. Deveria funcionar melhor com menos sangue. Se o esfregaço for muito curto, basta aumentar lentamente o volume sanguíneo. Para animais anêmicos com sangue muito fino, faz sentido usar uma gota de sangue menor.

Também pode ser que o ângulo do esfregaço seja muito raso ($< 45^\circ$). O ângulo controla o comprimento do esfregaço. Um ângulo acentuado ($> 45^\circ$) resulta em um esfregaço bastante curto, um ângulo raso ($< 45^\circ$) resulta em um esfregaço longo.

Meu esfregaço de sangue não é homogêneo, mas contém “paradas”. Como faço para mudar isso?

Estas “paradas” podem ter diversas causas. Frequentemente, são causadas pela distribuição muito lenta de muito material. Também é importante não desacelerar ao espalhar. Depois de começar a esfregar, deve terminar rapidamente.

Meu esfregaço de sangue tem espessuras diferentes em ambos os lados e contém listras. Por quê?

É muito provável que a lâmina/lamela a ser riscada não tenha sido colocada plana sobre a outra lâmina ou as condições de pressão durante a risca não tenham sido distribuídas uniformemente. É melhor colocar a lâmina/lamela bem na frente da gota de sangue e movê-la para frente e para trás. Sente a pressão e também percebe se algo está a partir. Às vezes, o corte não é o ideal ou há impurezas

na lâmina. Pode tentar limpar ou usar uma nova para espalhar.

As células dos meus esfregaços de sangue estão partidas, porquê?

Possivelmente muita pressão foi aplicada. Pode praticar espalhando com uma lamela. Se colocar muita pressão sobre ela, partirá muito rapidamente. No entanto, por vezes as células sanguíneas são muito frágeis e decompõem-se rapidamente (por exemplo, na presença de leucemia, inflamação grave ou anemia).

Meu esfregaço de sangue é muito grosso e muito curto, por que isso acontece?

Pode ser que a lâmina esteja muito inclinada. Um ângulo mais raso resulta em um esfregaço mais longo.

Existe algum lugar onde eu possa ver como fazer um esfregaço?

Sim. Por exemplo, no YouTube temos um curta-metragem sobre o assunto “LABOKLIN – Esfregaços de sangue” (ver página 54).

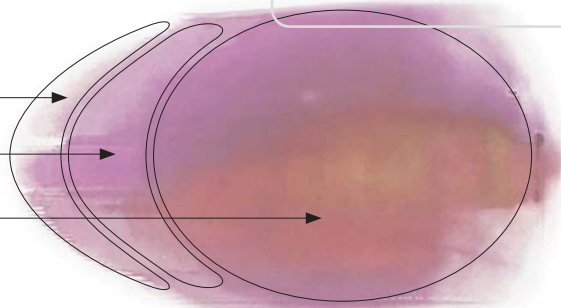
Quantos esfregaços de sangue devo fazer antes de obter “a amostra perfeita”?

Uma pergunta legítima que infelizmente não consigo responder em geral. Mas posso prometer que em algum momento terá sucesso, e então poderá repeti-lo. Fazer um esfregaço de sangue bom e interpretável é puramente uma questão de prática. Se é arte ou não, está nos olhos de quem vê.

Bandeira

Monocamada

Corpus



Diferentes áreas de um esfregaço de sangue

8. Rotulagem, armazenamento e transporte



Dependendo dos parâmetros do exame, uma série de coisas adicionais devem ser levadas em consideração após a colheita da amostra. Embora alguns testes também sejam possíveis utilizando material mais antigo e não refrigerado (principalmente testes relacionados com o material genético, como o diagnóstico de agentes patogênicos através de PCR), para outros o resfriamento contínuo deve ser garantido.

Em qualquer caso, as fortes flutuações de temperatura devem ser minimizadas durante a preparação para envio para um laboratório externo, por exemplo, evitando o sobreaquecimento da amostra num carro de prática quente (Humann-Ziehanke e Ganter, 2012). Para algumas análises, recomenda-se proteção adicional contra luz, por exemplo, um teste para bilirrubina (Braun *et al.*, 2015). Os requisitos exatos podem ser consultados na informação da candidatura ao exame junto à respectiva prova. Por exemplo, um ponto de exclamação significa que o ideal é que a amostra seja armazenada e transportada permanentemente congelada. Além disso, listas específicas listando parâmetros particularmente sensíveis podem ser solicitadas por todos os clientes. Deve-se notar que não apenas os pacotes de resfriamento (profundos), mas também as amostras devem ser pré-temperadas antes do transporte, pois a capacidade de resfriamento/congelamento da bateria e da caixa por si só não é suficiente para resfriar ou congelar adequadamente as amostras. Uma caixa especial pode ser adquirida no LABOKLIN; Consiste em uma caixa de isopor e um pacote especial de resfriamento/congelamento de amostras com o qual 2 tubos de amostra podem ser resfriados ao redor. Esta caixa é personalizada com a compra e devolvida gratuitamente após a recepção da amostra, assim como as bolsas de gelo, desde que suficientemente marcadas (prazo de entrega aprox. 10 dias úteis). O material centrifugado deve ser sempre armazenado na geladeira; para armazenamento mais prolongado, recomenda-se uma temperatura de armazenamento de -20 °C, ou melhor ainda -70 °C (Moritz *et al.*, 2014).



"A qualidade de muitas amostras de soro centrifugadas e pipetadas geralmente beneficia do congelamento da amostra - no entanto, congelamentos e descongelamentos repetidos devem ser evitados."

"Exatamente! Mas cuidado: O sangue total não deve, em circunstância alguma, ser congelado! O resultado seria hemólise completa!"

"E os esfregaços de sangue não devem ser congelados nem armazenados na geladeira."

(Vap et al., 2012)



Lista de verificação para o transporte

- Selar amostras (evitar evaporação)
- Armazenar soro/plasma entre 4–8°C
- Armazenar em pé, verticalmente
- Armazene EDTA para hemograma em temperatura ambiente
- Evitar múltiplo congelamento e descongelamento
- Proteja medições sensíveis à luz ("parâmetros solares") da luz do dia (por exemplo, bilirrubina)
- Utilize uma preparação especial para a estabilização (por ex., S-Monovette® HCY-Z-Gel para homocisteína)



Embalagem e rotulagem cuidadosas também são importantes. Isto garante a alocação correta da amostra no laboratório, evita a perda de amostra por vazamento e serve para proteger todos que entram em contato com a amostra. Por exemplo, as luvas de exame não são embalagens adequadas para amostras fecais, as amostras de urina em frascos de compota correm o risco de se partirem e de apresentarem um valor de glicose falsamente elevado, e as agulhas que ainda estão ligadas à seringa são desnecessárias fonte de perigo (e infelizmente muitas vezes subestimadas). Ao enviar amostras com potencial zoonótico particularmente elevado (por exemplo, de macacos ou cães com suspeita de leptospirose), o laboratório deve ser informado antecipadamente e a informação relevante deve ser claramente exibida na embalagem exterior.

Submission form

General

Business hours: Mon - Fri: 8:00 - 19:00, Sat: 9:00 - 13:00

Material → **Clinic address:** (Practice stamp or block letters) **Sample:**

- Whole blood
- Serum
- Plasma
- Urine / Uruliths
- Faeces
- Scraping / hair
- Swabs
- Aspirate
- CSF

Selo de prática → **VAT-No:** **Fax/Email:** **Date and practice signature:** _____

Dados do paciente → **Dog** **Cat** **Horse** **Other** **Name:** _____

O que deveria ser feito → **Sex:** F M F.N. M.N. **Breed:** _____ **Date of birth:** _____

Sample quality: Haemolytic Icteric Lipaemic Centrifuged Patient-Frozen

Follow-up to previous lab No.: _____ **Patient-ID:** _____

<p>Profiling - Small Animals</p> <p>200 Large Screening <input type="checkbox"/> Small Mammals <input type="checkbox"/></p> <p>201 Comp. Blood Count <input type="checkbox"/> Screening <input type="checkbox"/></p> <p>202 Small Feline Profile <input type="checkbox"/></p> <p>203 Large Feline Profile <input type="checkbox"/></p> <p>204 FIPF - Screening (cat) <input type="checkbox"/></p> <p>205 FIV Monitoring (cat) <input type="checkbox"/></p> <p>206 Comp. Blood Count <input type="checkbox"/></p> <p>207 Equine/Profiling-S/DMA <input type="checkbox"/></p>	<p>208 Comp. Blood Count <input type="checkbox"/> Screening <input type="checkbox"/></p> <p>209 Ferret Screening <input type="checkbox"/></p> <p>210 Reptile Screening <input type="checkbox"/></p> <p>211 Avian Screening <input type="checkbox"/></p> <p>212 Profiling - Large Animals <input type="checkbox"/></p> <p>213 Equine/Ruminant Large <input type="checkbox"/> Screening <input type="checkbox"/></p>	<p>Haematology</p> <p>214 Comp. Blood Count <input type="checkbox"/> incl. diff. & leukocytes <input type="checkbox"/></p> <p>215 Blood Smear, cytological <input type="checkbox"/></p> <p>216 Blood Parasites, microscopical <input type="checkbox"/></p> <p>217 Bone Marrow <input type="checkbox"/></p> <p>218 Cytology incl. blood count <input type="checkbox"/> Thrombocytopenia <input type="checkbox"/></p> <p>219 Profile large (50pc) <input type="checkbox"/></p> <p>220 Coagulation Status <input type="checkbox"/></p>
--	--	---

Customer-No. / Barcode _____

Owner's address: _____

Name: _____

First name: _____

Street: _____

Postal code/city: _____

Fax/Email: _____ **Tel.:** _____

Owner's signature: _____

Date: _____ **Courier**

LABOKLIN
LABOR FÜR KLINISCHE DIAGNOSTIK GMBH & CO. KG
PB 1810 DE-67668 Bad Kissingen
Tel +49 971 72020 Fax +49 971 68546
Email: info@laboklin.com

Código de barras

Tutor(a)

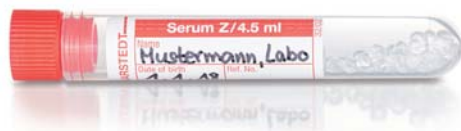
Rotulagem ideal na aplicação de teste: marque o teste desejado para que nenhum outro campo seja tocado! **Importante: Não se esqueça do relatório preliminar e dos possíveis pré-tratamentos!**



“O material de amostra correto está sempre diretamente na aplicação ao lado do exame desejado. Se não tiver certeza, uma confirmação rápida com o laboratório também pode ajudar!”



A rotulagem inclui não apenas informações sobre o paciente, incluindo o código de barras específico da clínica, mas também informações sobre o tipo de amostra (Gunn-Christie *et al.*, 2012) - se a amostra é urina, soro ou licor? Plasma EDTA centrifugado, plasma citratado ou plasma com heparina de lítio? Isto nem sempre é imediatamente aparente, mas pode determinar se uma investigação específica é possível a partir do material submetido. Recursos e tempo para os funcionários da prática e do laboratório podem ser economizados se o material já estiver anotado corretamente.



Para garantir que uma amostra é atribuída a um paciente, as informações sobre o respectivo paciente devem ser anotadas não apenas no pedido de exame, mas também diretamente na amostra. Particularmente importante aqui: O código de barras da amostra deve corresponder ao código de barras da aplicação de teste!

Tenha cuidado com tubos com tampas articuladas - existe o risco de abrirem durante o transporte e vazarem.

A embalagem externa correta (recipiente secundário) para cada amostra individual, incluindo um inserto absorvente, garante proteção máxima. Todas as amostras, incluindo o recipiente secundário, devem então ser reembaladas na embalagem externa!





“O remetente é sempre responsável pelo correto transporte da amostra!”



Todas as amostras devem ser rotuladas na embalagem externa: com “amostra veterinária isenta” para amostras não infecciosas ou com o adesivo UN3373 de acordo com o Regulamento de Substâncias Perigosas para amostras veterinárias potencialmente infecciosas. Os adesivos necessários podem ser solicitados ao laboratório.



Os requisitos de embalagem mais importantes são:

- Suficientemente resistente para que choques/tensões (vibrações/ mudanças de temperatura/umidade/pressão) durante o transporte normal não possam causar danos/vazamento do conteúdo.
- São necessários um recipiente de amostra ou recipiente primário e um recipiente de transporte adicional ou embalagem secundária, bem como embalagem externa, sendo que a embalagem secundária ou externa (por exemplo, capa protetora/saco de transporte) deve ser rígida. No transporte aéreo é sempre necessária uma embalagem externa rígida, que deve suportar uma pressão interna de 95 kPa (0,95 bar) e temperaturas de -40 a 55 °C (veja aqui os requisitos da IATA/Post/DHL).
- A embalagem externa deve ter uma dimensão superficial de pelo menos 100 × 100 mm.
- A embalagem deve passar no teste de queda de uma altura de pelo menos 1,2 m.

Bibliografia

Berlanda, Michele; Valente, Carlota; Bonsembiante, Federico; Badon, Tamara; Bedin, Sílvia; Contiero, Bárbara *et al.*, (2020): Avaliação de um ensaio imunoturbidimétrico automatizado para detecção de proteína C reativa canina. Em: Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc 32 (6), S. 948–952. DOI: 10.1177/1040638720960065.

Braun, Jean-Pierre; Bourghès-Abella, Nathalie; Geffré, Anne; Concorde, Didier; Trumel, Cathy (2015): The preanalytic phase in veterinary clinical pathology. Em: Veterinary clinical pathology 44 (1), S. 8–25. DOI: 10.1111/vcp.12206.

CLSI, GP44-A4 2010; § 5.4.3

Boletim Epidemiológico 4/2023, último acesso em julho de 2023, https://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/STIKO/Empfehlungen/Empfehlungen_node.html

Gaskill, C. L.; Burton, S. A.; Gelens, H. C.; Ihle, S. L.; Miller, J. B.; Shaw, D. H. *et al.*, (2000): Alterações nas concentrações séricas de tiroxina e hormônio estimulador da tireoide em cães epiléticos recebendo fenobarbital por um ano. Em: Journal of veterinary pharmacology and therapeutics 23 (4), S. 243–249. DOI: 10.1046/j.1365-2885.2000.00278.x.

Gunn-Christie, Rebekah G.; Flatland, Bente; Friedrichs, Kristen R.; Szlodovits, Balazs; Harr, Kendal E.; Ruotsalo, Kristiina *et al.*, (2012): ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical, analytical, and postanalytical factors for urinalysis, cytology, and clinical chemistry in veterinary laboratories. Em: Veterinary clinical pathology 41 (1), S. 18–26. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2012.00412.x.

Gurr *et al.*; Exemplo de procedimento operacional padrão para pré-análise; J Lab Med (2011)

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

Humann-Ziehank, E.; Ganter, M. (2012): Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. Em: Animal : an international journal of animal bioscience 6 (7), S. 1115–1123. DOI: 10.1017/S1751731111002679.

Jackson, J.; Villarroel, A. (2012): A survey of the risk of zoonoses for veterinarians. Em: Zoonoses and public health 59 (3), S. 193–201. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2011.01432.x.

Martínez-Subiela, S.; Tecles, F.; Montes, A.; Gutiérrez, C.; Cerón, J. J. (2002): Effects of haemolysis, lipaemia, bilirubinaemia and fibrinogen on protein electropherogram of canine samples analysed by capillary zone electrophoresis. Em: *Veterinary journal* (London, England : 1997) 164 (3), S. 261–268. DOI: 10.1053/tvjl.2001.0672.

Moritz, A.; Schwendewein, I.; Kraft, W. (2014) Em: Moritz, A (Hrsg.). *Diagnóstico clínico laboratorial em medicina veterinária*. 7 Aufl. Schattauer GmbH, Stuttgart.

Nardini, Giordano; Leopardi, Stefania; Bielli, Mattia (2013): Clinical hematology in reptilian species. Em: *The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice* 16 (1), S. 1–30. DOI: 10.1016/j.cvex.2012.09.001.

Schrader, C.; Schielke, A.; Ellerbroek, L.; John, R. (2012): PCR inhibitors - occurrence, properties and removal. Em: *Journal of applied microbiology* 113 (5), S. 1014–1026. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x).

Sharratt, C. L.; Gilbert, C. J.; Cornes, M. C.; Ford, C.; Gama, R. (2009): EDTA sample contamination is common and often undetected, putting patients at unnecessary risk of harm. Em: *International journal of clinical practice* 63 (8), S. 1259–1262. DOI: 10.1111/j.1742-1241.2008.01981.x.

Sulaiman, R. A.; Michael P Cornes, M. P.; Whitehead, S. J.; Othonos, N.; Ford, C.; Gama, R. (2011): Effect of order of draw samples during phlebotomy on routine biochemistry results. *J Clin Pathol.* 64(11): 1019-20

Vap, Linda M.; Harr, Kendal E.; Arnold, Jill E.; Freeman, Kathleen P.; Getzy, Karen; Lester, Sally; Friedrichs, Kristen R. (2012): ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical and analytical factors for hematology for mammalian and nonmammalian species, hemostasis, and crossmatching in veterinary laboratories. Em: *Veterinary clinical pathology* 41 (1), S. 8–17. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2012.00413.x.

Xenoulis, P. G.; Steiner, J. M. (2015): Hiperlipidemia canina. Em: *The Journal of small animal practice* 56 (10), S. 595–605. DOI: 10.1111/jsap.12396.

Zaldívar-López, S.; Marín, L. M.; Iazbik, M. C.; Westendorf-Stingle, N.; Hensley, S.; Couto, C. G. (2011): Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. Em: *Veterinary clinical pathology* 40 (4), S. 414–425. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2011.00360.x.

SARSTEDT Ltda.

Rodovia Marechal Rondon, km 126

Avecuia

CEP 18546-412

Porto Feliz – SP

Tel: +55 11 4152 2233

info.br@sarstedt.com · www.sarstedt.com



SARSTEDT