

Consigli e trucchi per la preanalitica



Volume 1: Esami del sangue in
animali di piccola taglia



SARSTEDT

Prefazione

La diagnostica clinica di laboratorio rappresenta parte integrante dell'ambulatorio veterinario. In seguito all'anamnesi e all'esame obiettivo, vengono stabiliti i test da richiedere nell'ambito di un piano di analisi al fine di confermare o escludere le diagnosi differenziali. Non di rado, sono

l'ematologia e la chimica clinica ad apportare il contributo decisivo per l'identificazione di una patologia.

In particolare, dall'ingresso della biologia molecolare nei laboratori, è possibile chiarire meglio l'eziologia di alcune malattie.

L'interpretazione dei risultati di laboratorio prosegue nell'ambito del monitoraggio, del controllo della terapia e della prognosi delle patologie.



Prof. Dr. med. vet. Andreas Moritz

La citazione tratta dalla brochure informativa "Consigli e trucchi per la preanalitica", redatta dalle aziende LABOKLIN e SARSTEDT, illustra la particolare importanza dell'argomento: "...con la massima

precisione dei moderni dispositivi analitici, il risultato delle analisi può essere valido solo nella misura in cui la qualità del campione lo consente". La preanalitica indica la parte del processo diagnostico laboratoriale che si svolge prima dell'analisi effettiva dei campioni. Comprende, in seguito all'anamnesi e alla preparazione dei pazienti, il prelievo, la conservazione e il trasporto corretti dei campioni al fine di garantire risultati attendibili e significativi. Benché sia possibile verificare i valori non plausibili durante il processo di analisi in laboratorio tramite misurazioni ripetute, non è possibile rimediare alla maggior parte degli errori preanalitici. È pertanto importante eseguire accuratamente tutti i passaggi per ridurre al minimo i potenziali errori.

Gli otto capitoli seguenti illustrano gli aspetti fondamentali dell'argomento in modo comprensibile e informativo: – Il significato della preanalitica, – La preparazione dei pazienti, – Panoramica dei campioni e delle provette, – Errori frequenti nella preanalitica, – Il prelievo del campione, – La sicurezza in relazione al prelievo dei campioni, – La preparazione dell'analisi di laboratorio, – Etichettatura, stoccaggio e trasporto. I testi facili da ricordare all'interno dei riquadri con sfondo grigio favoriscono la comprensione, l'apprendimento e la memorizzazione. Viene (giustamente) riservato ampio spazio alla realizzazione e alla valutazione di strisci ematici. Le immagini delle cellule degli strisci ematici di cani, gatti e piccoli mammiferi rappresentano una particolarità positiva ed esulano in parte dalla preanalitica. Tramite i codici QR ben posizionati, si accede a tutorial online sotto forma di video su YouTube (ad esempio realizzazione e colorazione di uno striscio ematico).

La lettura di questo opuscolo ben curato è vivamente consigliata non solo a veterinari, personale specializzato del settore veterinario e operatori tecnico-sanitari in qualità di piccola opera di consultazione pratica, bensì anche a studenti di medicina veterinaria in qualità di materiale didattico interessante.

Prof. Dr. med. vet. Andreas Moritz ha studiato medicina veterinaria presso la Justus-Liebig-Universität (JLU) di Gießen. In seguito al dottorato e all'abilitazione per la specializzazione di medicina interna e la diagnostica clinica di laboratorio, è stato nominato docente universitario presso la facoltà di medicina veterinaria della JLU. Dopo aver trascorso un periodo all'estero a St. Paul, Minnesota, negli Stati Uniti, e a Gand, in Belgio, è tornato alla JLU e, nel 2006, gli è stata affidata la cattedra di patofisiologia clinica e diagnostica clinica di laboratorio. Oltre alla direzione del laboratorio centrale del dipartimento, nel 2017 ha assunto la direzione della clinica per gli animali di piccola taglia, nel ramo di medicina interna. È veterinario di medicina interna e diagnostica clinica di laboratorio, nonché European Veterinary Specialist in Small Animal Internal Medicine (Veterinario europeo di medicina interna per animali di piccola taglia) (Dipl. ECVIM-CA) riconosciuto dall'EBVS® e Associate Member (Membro associato) dello European College of Veterinary Clinical Pathology (ECVCP, Albo europeo di patologia clinica veterinaria). Oltre che della formazione degli studenti di medicina veterinaria, il Prof. Moritz si occupa della specializzazione nazionale e internazionale dei veterinari in medicina interna di animali di piccola taglia e diagnostica clinica di laboratorio. Attualmente, è presidente della Deutsche Gesellschaft für Kleintiermedizin (DGK-DVG, Associazione tedesca di medicina per animali di piccola taglia).



ANIMAL HEALTH CARE

Prima edizione in tedesco:

Consigli e trucchi per la preanalitica

Volume 1: Esami del sangue in animali di piccola taglia

Gennaio 2024

La presente pubblicazione è stata realizzata in collaborazione con il laboratorio di medicina veterinaria LABOKLIN e l'azienda di tecnologia medica SARSTEDT.

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

Link alla versione PDF: www.sarstedt.com/esami-del-sangue-vet

© 2024 LABOKLIN e SARSTEDT. Tutti i diritti riservati.



animalhealthcare.
sarstedt.com



laboklin.de

Sommario

Prefazione	2
1. Il significato della preanalitica	6
2. La preparazione dei pazienti	8
2.1. Fattori condizionanti	10
2.1.1. Età, razza e condizioni di vita	10
2.1.2. Scelta degli esami	11
2.1.3. Trattamento e bioritmica	12
2.1.4. Procedura di prelievo	13
3. Panoramica dei campioni e delle provette	14
3.1. Confronto tra siero e plasma: qual è la differenza?	16
3.2. Panoramica dei diversi campioni	17
3.2.1. Codici colore delle provette	18
3.2.2. Provette con litio-eparina	19
3.2.3. Provette con EDTA	20
3.2.4. Provette per siero	22
3.2.5. Provette con citrato	23
3.2.6. Provette con sodio	24
3.3. Quale tipologia di campione è indicata per quale esame?	25
4. Errori frequenti nella preanalitica	26
4.1. Fattori di disturbo	27
4.1.1. Emolisi	28
4.1.2. Iperlipidemia (lipemia)	30
4.1.3. Ittero	31
5. Prelievo dei campioni	32
6. Sicurezza relativa al prelievo dei campioni	42
7. Preparazione dell'analisi di laboratorio	46
7.1. Centrifugazione	48
7.2. Come si realizza uno striscio ematico?	51
8. Etichettatura, stoccaggio e trasporto	60
Bibliografia	66



1. Il significato della preanalitica





"Ciao Topino, tu sei un esperto del laboratorio, vero?"

"Sì, sarò lieto di aiutarti in teoria e in pratica!"

"Fantastico! Cosa si intende per preanalitica e perché è importante conoscerla?"

"La preanalitica comprende tutti i processi precedenti all'analisi di laboratorio e può influire sul risultato degli esami. In definitiva, anche con la massima precisione dei moderni dispositivi analitici, il risultato delle analisi può essere valido solo nella misura in cui la qualità del campione lo consente."



La preanalitica abbraccia tutti gli aspetti da considerare prima dell'effettiva analisi del campione. Tra questi, si annoverano l'anamnesi e l'esame obiettivo, dai quali si evincono le indicazioni per l'analisi del caso. Inoltre, comprende la preparazione del paziente, la scelta dei contenitori per campioni adeguati, il prelievo, la preparazione e il trasporto dei campioni e lo stoccaggio, la rigenerazione e il percorso dei campioni fino all'inizio dell'analisi.

Come emerge dall'elenco, gran parte della preanalitica ha luogo già prima dell'arrivo del campione in laboratorio. In molti casi, perciò, il veterinario curante può contribuire in modo decisivo alla buona qualità del campione e, di conseguenza, all'ottenimento di un risultato rappresentativo e interpretabile. A fronte dell'elevata quantità di potenziali fonti di errore, è importante acquisire dimestichezza con vari aspetti della preanalitica prima di un'analisi.

2. La preparazione dei pazienti



Una visita ambulatoriale piacevole e rilassata per i pazienti e i loro proprietari non rappresenta un vantaggio solo per la reputazione del veterinario, bensì influisce significativamente anche sulla qualità dei campioni.

Nella fase preliminare, occorre informare il proprietario dell'animale circa l'influenza esercitata dall'attività fisica e dallo stress sugli esiti di un esame del sangue. In particolare, è possibile che gli enzimi associati alla muscolatura, quali CK, LDH e AST, risultino presenti in quantità più elevate nel siero in seguito a uno sforzo fisico. Inoltre, occorre prevedere valori sierici superiori anche per il glucosio e il lattato. Di seguito, sono illustrati gli ulteriori aspetti da chiarire in anticipo.



Attenzione

"I carnivori dovrebbero presentarsi fundamentalmente a digiuno (circa 12 ore di astinenza dal cibo) per il prelievo ematico, in quanto la lipemia postprandiale può influire su numerosi parametri di analisi e, nella peggiore delle ipotesi, comportare l'impossibilità di valutare un campione."*

* (Moritz et al., 2014)



2.1. Fattori condizionanti

Di seguito, viene fornita una panoramica dei fattori condizionanti che possono rappresentare potenziali fonti di errore nell'ambito della diagnostica. Pertanto, prima di ogni analisi, è necessario conoscere le caratteristiche del soggetto, la terapia, il sospetto di diagnosi e le procedure di esame.

2.1.1. Età, razza e condizioni di vita

- Animali giovani: per alcuni parametri (ad esempio AP, fosfato, ecc.) possono presentare valori superiori o inferiori rispetto agli animali adulti (Humann-Ziehanke e Ganter, 2012).
- Particolarità specifiche della razza: per alcuni parametri, esistono deviazioni correlate a una razza specifica, ad esempio concentrazioni inferiori di tiroxina, leucociti e trombociti ed ematocrito più elevato per i Greyhound o possibilità di macrotrombocitopenia per i Cavalier King Charles Spaniel (Zaldívar-López *et al.*, 2011).



2.1.2. Scelta degli esami

Prima del prelievo ematico, occorre formulare alcune riflessioni con riferimento all'analisi desiderata e sui relativi prerequisiti:

- L'analisi richiesta è disponibile per la tipologia di animale?
- Il paziente deve trovarsi in una condizione specifica per l'esame in questione (ad esempio a digiuno) o deve restare in ambulatorio per un determinato periodo?
- Si tratta di un controllo della terapia o di una verifica della terapia farmacologica adeguata?
- Servono test di soppressione o stimolo?
- Qual è il materiale necessario? L'analisi desiderata risulta possibile e utile con l'ausilio del campione a disposizione? Esempio: gli esami della coagulazione sono possibili solo con plasma citrato.
- Qual è il volume del campione necessario per l'esame?
- Il campione può tollerare il trasporto al laboratorio in modo che il parametro desiderato risulti ancora correttamente rilevabile? È consigliabile verificare la stabilità dei parametri in anticipo e stabilire le condizioni preanalitiche necessarie.

Occorre sempre evitare stress, agitazione e sforzi fisici elevati prima del prelievo ematico (Moritz *et al.*, 2014). Ciò riguarda, in particolare, gli animali selvatici, ma anche quelli poco abituati a essere maneggiati (Braun *et al.*, 2015).

2.1.3. Trattamento e bioritmica

- Il paziente assume farmaci che possono influire sui risultati degli esami e, quindi, condurre a un'interpretazione potenzialmente errata? Alcuni esempi di interazioni problematiche sono il trattamento con fenorbital nei soggetti epilettici che debbano essere contemporaneamente sottoposti a esami per l'ipotiroidismo (Gaskill *et al.*, 2000), il trattamento con glucocorticoidi in cani in cui sia necessario eseguire un test di stimolo con ACTH o i pretrattamenti antibiotici prima di analisi microbiologiche.
- Occorre osservare un ritmo biologico per il parametro richiesto?











Come si evince già da questo elenco, non è sempre possibile controllare tutti i fattori di influenza preanalitici.

Ciononostante, è necessario almeno documentare il maggior numero di fattori possibile (Braun *et al.*, 2015) al fine di agevolare la successiva interpretazione dei risultati.



2.1.4. Procedura di prelievo

Per la procedura di prelievo, si consiglia di avvalersi di uno schema fisso e comprovato, ad esempio quello proposto da Gurr. Il significato dei diversi codici colore è illustrato al capitolo 3.2.1.

Codice colore UE, in base a BS 4851	Codice colore ISO, in base a ISO 6710	
		Emocoltura
		Siero/siero gel, sangue
		Citrato, sangue
		Eparina/eparina gel, sangue
		EDTA, sangue
		Fluoruro/citrato-fluoruro, sangue

Gurr et al., (2011)



"Accidenti! Abbiamo inserito il campione ematico in una provetta con EDTA invece che per siero. Adesso lo travaso subito."

"Non farlo! Il sangue si è già mischiato con l'EDTA durante il prelievo e questo potrebbe alterare i risultati analitici. Non si devono mai travasare i campioni in un secondo momento."

(Moritz et al., 2014)



3. Panoramica dei campioni e delle provette



Sono disponibili diversi materiali per le analisi del sangue, descritti brevemente di seguito.

Si distingue tra sangue intero, siero e plasma, che si differenziano per la loro composizione. Anche l'ulteriore manipolazione dipende dal campione.

Il **sangue intero** si ottiene dal sangue intero miscelato con un inibitore della coagulazione (ad esempio eparina o EDTA). Ciò previene la coagulazione del sangue e consente la separazione degli emocomponenti liquidi da quelli solidi.

Il **plasma** si ottiene dal sangue intero miscelato con un inibitore della coagulazione (ad esempio eparina o EDTA) e subito dopo scisso in cellule ematiche (componenti solidi) e plasma (componenti liquidi) mediante centrifugazione. Al contrario del siero, il plasma contiene tutti i fattori della coagulazione del sangue, in quanto questi ultimi non vengono utilizzati per la coagulazione.

Anche il **siero** si ottiene dal sangue intero, ma senza l'aggiunta di un inibitore della coagulazione: di norma, si aggiunge un agente coagulante. Il campione, pertanto, si coagula e può essere centrifugato solo dopo almeno 30 minuti di riposo in posizione verticale. Il siero non contiene i fattori della coagulazione, in quanto questi vengono utilizzati durante il processo di coagulazione (Moritz *et al.*, 2014).



Attenzione

"Se la provetta per siero viene lasciata troppo poco in posizione verticale, il siero può assumere una consistenza gelatinosa che complica o rende impossibili le analisi successive."

(Moritz et al., 2014)



3.1. Confronto tra siero e plasma: qual è la differenza?

Siero	Plasma
... surnatante cell-free di un campione completamente coagulato	... surnatante cell-free di un campione miscelato con inibitori della coagulazione
... non contiene fibrina	... contiene fibrina
... resa inferiore	... resa superiore
... il campione deve coagularsi prima di poter essere centrifugato	... il campione può essere centrifugato direttamente

Il sangue coagulato si presenta nella stessa forma delle cellule ematiche all'interno della provetta.

Pertanto, se S-Monovette® si trova in posizione piana dopo il prelievo ematico, le cellule ematiche sedimentano lungo la provetta in posizione orizzontale e producono una forma allungata.

La forma così ottenuta si comprime durante la centrifugazione. In seguito a quest'ultima, tuttavia, si ricrea una struttura a fisarmonica ("effetto salsiccia").



"Non è possibile pipettare automaticamente il siero da un campione di questo tipo. Pertanto, è importante conservare i campioni di siero in posizione verticale in seguito al prelievo ematico."





Campione coagulato in posizione verticale in seguito alla centrifugazione



Campione coagulato in posizione orizzontale in seguito alla centrifugazione

3.2. Panoramica dei diversi campioni

La tabella seguente illustra le provette più importanti per la routine ambulatoriale e le relative applicazioni principali:

Campioni	Applicazioni
Citrato	Emocoagulazione
Fluoruro di sodio	Glucosio/lattato
Siero gel	Chimica clinica
Litio-eparina	Emocromo/chimica clinica
EDTA	Emocromo

3.2.1. Codici colore delle provette

Non serve preoccuparsi per i diversi colori delle provette.

I tappi delle varie provette sono associati alle diverse preparazioni (= inibitore della coagulazione/agente coagulante) dei contenitori. Occorre ricordare che esistono due codici colore differenti:

- Il "codice colore UE" (in base alla norma britannica BS 4851)
- Il "codice colore ISO" (in base alla norma internazionale ISO 6710)

Idealmente, si concorda la scelta di uno dei due codici colore presso l'ambulatorio e con il laboratorio interessato. Tuttavia, è sempre necessario indicare la preparazione esatta anche per iscritto sulla provetta, oltre che con la codifica a colori.



3.2.2. Provette con litio-eparina

Si tratta di provette universali, poiché il sangue con litio-eparina può essere utilizzato per l'analisi dell'emocromo e il plasma con litio-eparina può essere impiegato per l'analisi di diversi parametri clinico-chimici (idealmente, per prevenire l'emolisi, da inviare già centrifugato se non si deve ricavare l'emocromo dallo stesso campione). Inoltre, la resa del plasma risulta lievemente superiore a quella del siero, in quanto la quantità di liquido nel sangue coagulato risulta sempre più elevata per quest'ultimo (Moritz *et al.*, 2014). Le provette con litio-eparina sono particolarmente diffuse tra coloro che si occupano di piccoli mammiferi o specie esotiche, poiché spesso è possibile prelevare solo volumi di campione ridotti da questi animali.

Nota: le provette con litio-eparina non sono indicate per le analisi PCR a causa dell'effetto inibitore (Schrader *et al.*, 2012).



"Importante: occorre utilizzare il più possibile lo stesso materiale (siero o plasma) per l'analisi clinico-chimica. Questo principio vale, in particolare, per le analisi ripetute, in quanto alcuni analiti, ad esempio il potassio, possono essere presenti in concentrazioni differenti nel siero e nel plasma."

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



3.2.3. Provette con EDTA

L'EDTA (acido etilendiamminotetraacetico) è un agente chelante. Funge da anticoagulante, in quanto lega gli ioni metallici, soprattutto quelli di calcio, necessari per l'emocoagulazione. Si distinguono diverse forme di EDTA, tra cui quello dipotassico e tripotassico (Moritz *et al.*, 2014). Il sangue in provette con EDTA viene utilizzato prevalentemente per l'esame dell'emocromo.

È importante agitare delicatamente il campione subito dopo il prelievo ematico per prevenire coaguli: in caso contrario, infatti, non sarà più possibile analizzarlo adeguatamente (Vap *et al.*, 2012). Le provette con EDTA non devono mai essere riempite per prime al fine di evitare il rischio di contaminazione dell'ago con l'EDTA. Tale eventualità può successivamente causare misurazioni errate per numerosi parametri (Sharratt *et al.*, 2009).

I campioni con EDTA sono necessari non solo per l'esame dell'emocromo, bensì anche per la determinazione sierologica del gruppo sanguigno. Inoltre, possono essere impiegati per analisi genetiche e per il rilevamento di patogeni mediante PCR (reazione a catena della polimerasi), purché l'agente patogeno ricercato sia presente nel sangue. Per alcuni esami, però, ad esempio ACHT o pro-BNP, occorre plasma con EDTA centrifugato e pipettato (per maggiori informazioni sulla centrifugazione e sull'etichettatura dei campioni, vedere da pag. 48).



Attenzione

"Attenzione! Nei rettili e in alcune specie di uccelli, l'utilizzo di EDTA è controindicato, poiché può provocare un'emolisi che rende impossibile la successiva valutazione."

(Nardini et al., 2013)



SARSTEDT

3.2.4. Provette per siero

Di norma, le provette per siero contengono acceleratori della coagulazione, che favoriscono una coagulazione più rapida. Il siero può essere utilizzato per l'analisi della maggior parte dei parametri clinico-chimici e per numerose analisi sierologiche. Anche l'elettroforesi delle proteine sieriche, come suggerito dal nome, viene eseguita a partire dal siero.



Provette per siero con gel

Possono essere utilizzate analogamente alle provette per siero. Il loro vantaggio risiede nel fatto che, in seguito alla centrifugazione, il gel si posiziona tra i diversi strati, rendendo superfluo il pipettaggio del surnatante.



*"Ho qui una provetta con l'abbreviazione CAT.
È solo per i gatti?"*

*"No, le provette per il siero vengono indicate anche con
l'abbreviazione CAT, che significa 'clot activator'."*

(Moritz et al., 2014)



Provette per siero neutre

Le provette per siero neutre sono contrassegnate come "neutre" o "neutre Z". Non sono rivestite e vengono impiegate come provette per siero o per il trasferimento di campioni di plasma (ad esempio plasma citrato).

3.2.5. Provette con citrato

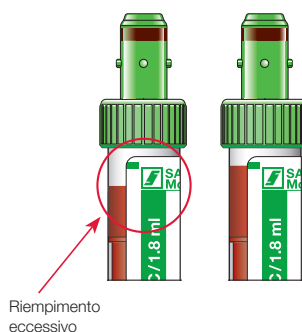
Il rapporto di miscela per il sangue citrato corrisponde in genere a 9:1. Il sangue e/o il plasma citrati servono, in particolare, per le analisi della coagulazione. Per una manipolazione corretta, occorre prestare attenzione ad alcuni elementi:

1. Le provette con citrato non devono mai essere riempite per prime (Moritz *et al.*, 2014), in quanto il processo di stasi attiva già la coagulazione.
2. Anche se occorre prestare attenzione a non superare la data di scadenza per tutte le provette (Braun *et al.*, 2015), ciò risulta particolarmente importante per questi prodotti. In caso di dubbi, è sempre possibile richiedere gratuitamente provette nuove in laboratorio.
3. Inoltre, durante il prelievo è assolutamente necessario riempire le provette solo fino all'apposita marcatura. Un riempimento eccessivo o insufficiente produce risultati degli esami della coagulazione inattendibili. In alcuni casi, la successiva coagulazione del campione in laboratorio può persino risultare impossibile.
4. Per la maggior parte dei parametri della coagulazione, è consigliabile centrifugare e pipettare tempestivamente il campione e utilizzare plasma citrato raffreddato (vedere 3.2.4. Provette per siero neutre) per l'analisi. Per la tromboelastografia è invece necessario sangue intero citrato.



Il livello di riempimento ottimale varia a seconda della provetta. Osservare la marcatura dei livelli di riempimento da rispettare per entrambe le provette a destra (vedere la freccia).

Evitare assolutamente il riempimento insufficiente o eccessivo. I coaguli non solo causano risultati delle analisi ematologiche errati, ma possono anche ostruire i capillari dei dispositivi ematologici (Moritz *et al.*, 2014).



3.2.6. Provette con sodio

Sono indicate esclusivamente per la misurazione del lattato e del glucosio. Risultano particolarmente importanti quando non è possibile misurare il glucosio direttamente in ambulatorio, ma è necessario inviare il campione a un laboratorio esterno. Grazie al fluoruro di sodio, la degradazione del glucosio nel campione si arresta: pertanto, le provette con fluoruro di sodio possono essere utilizzate per la misurazione della concentrazione del glucosio (Braun *et al.*, 2015).



3.3. Quale tipologia di campione è indicata per quale esame?

Non tutti i campioni sono idonei all'utilizzo per tutti gli esami. La tabella seguente fornisce una panoramica delle analisi possibili con ciascun campione.

Possibilità di utilizzo delle diverse tipologie di campioni

Anticoagulante	Campione	Emocromo	Striscio ematico	Parametri clinico-chimici	Sierologia	Coagulazione
EDTA	Sangue intero	Sì	Sì	No	No	No
EDTA	Plasma	No	No	Limitatamente	Limitatamente	No
Litio-eparina	Sangue intero	Sì	Limitatamente	No	No	No
Litio-eparina	Plasma	No	No	Sì	Sì	No
Citrato	Sangue intero	No	Sì	No	No	Limitatamente
Citrato	Plasma	No	No	No	No	Sì
NaF (fluoruro di sodio)	Plasma	No	No	Glucosio, lattato	No	No
Provetta per siero senza anticoagulante	Siero	No	No	Sì	Sì	No

4. Errori frequenti nella preanalitica



4.1. Fattori di disturbo

Tra i fattori di disturbo più frequenti nella preanalitica, sono compresi l'emolisi, il riempimento insufficiente dei contenitori per campioni e i coaguli del sangue. La tabella seguente fornisce una prima panoramica delle cause e illustra le conseguenze.

Fattori di disturbo frequenti durante l'analisi e potenziali cause

Fattore di disturbo	Causa	Parametri interessati
Coaguli	Riempimento eccessivo della provetta con EDTA, litio-eparina o citrato	Emocromo con conta piastrinica, parametri della coagulazione
Emolisi	Mancata centrifugazione del campione, centrifugazione inadeguata, errore di aspirazione, tempo di stoccaggio prolungato, temperature molto elevate, congelamento	Diversi parametri clinico-chimici: di norma, ad esempio, una falsa concentrazione di potassio elevata e una falsa concentrazione di calcio bassa
Iperlipidemia	Mancato digiuno del paziente, farmaci, endocrinopatie e diverse altre alterazioni patologiche	Diversi parametri clinico-chimici e parametri isolati dell'emocromo; ad esempio, può accadere che la percentuale di emoglobina risulti erroneamente elevata nei campioni lipemici.
Farmaci	Terapia (ad es. infusioni, glucocorticoidi, antibiotici, sedativi)	Differenti a seconda del farmaco e dei parametri (falso alto o falso basso): di norma, ad esempio, nei cani si rilevano incrementi degli enzimi epatici (in particolare della fosfatasi alcalina) in caso di somministrazione di glucocorticoidi.
Riempimento eccessivo o insufficiente	Mancato rispetto del livello di riempimento indicato	Parametri della coagulazione



"La contaminazione con EDTA, magari a causa di una procedura di prelievo del campione errata, può causare alterazioni tipiche, ad esempio valori di potassio molto elevati e valori di calcio ridotti."



4.1.1. Emolisi

L'emolisi può presentare diverse cause. Spesso, l'emolisi avviene *in vitro*, ad esempio a causa di una stasi eccessiva, di forze di taglio fisiche (ago troppo sottile o deformato), di una venipuntura traumatica, di un'agitazione o un'oscillazione troppo violenta del campione ematico, di temperature troppo elevate o basse, di un numero di giri eccessivo durante la centrifugazione, della contaminazione con acqua o disinfettanti o di un'età del campione troppo elevata. Benché l'emolisi avvenga più frequentemente *in vitro*, occorre considerare questo fenomeno anche *in vivo*.



Conseguenze dell'emolisi

Rilascio di contenuti cellulari: differenze di concentrazione

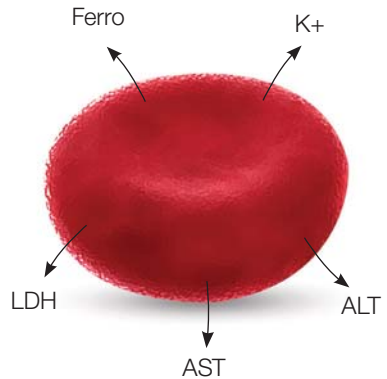
In caso di emolisi, alcune sostanze presenti in concentrazioni maggiori negli eritrociti (concentrazione intracellulare) fuoriescono nel siero/plasma (concentrazione extracellulare) a causa della distruzione della membrana cellulare degli eritrociti stessi. La conseguenza sono risultati di analisi erroneamente elevati.

Rilascio di contenuti cellulari: interferenza ottica

In caso di emolisi, nel siero/plasma viene rilasciata anche l'emoglobina, il colorante rosso del sangue. Nell'ambito delle analisi fotometriche, ciò può provocare segnali di misurazione errati a causa dell'auto-estinzione dell'emoglobina.

Segnale di misurazione errato = risultato errato

(Humann-Ziehanke e Ganter, 2012)



"Per emolisi, si intende la fuoriuscita di sostanze intraeritrocitarie in seguito al danneggiamento della membrana cellulare. A causa della conseguente colorazione rossa del siero/plasma, insorgono problemi durante l'analisi, soprattutto negli esami fotometrici."



4.1.2. Iperlipidemia (lipemia)

L'iperlipidemia può influire su numerosi parametri (Braun *et al.*, 2015). A seconda del grado di iperlipidemia, potrebbero persino non essere possibili analisi di nessun genere per alcuni parametri. I carnivori, pertanto, dovrebbero presentarsi fondamentalmente a digiuno (circa 12 ore di astinenza dal cibo) per il prelievo ematico. Le cause dell'iperlipidemia possono essere profondamente diverse: nei casi più semplici, si tratta di una semplice iperlipidemia postprandiale; tuttavia, possono essere coinvolti anche fattori dietetici e farmacologici nonché cause endocrinologiche, infiammatorie, neoplastiche o genetiche (Xenoulis e Steiner, 2015). Di conseguenza, è sempre necessario eseguire ulteriori accertamenti in caso di iperlipidemia ricorrente.



Campione lipemico



Attenzione

"Risultati di laboratorio corretti sono indispensabili per ulteriori decisioni terapeutiche, ma necessitano di una buona qualità preanalitica dei campioni."



4.1.3. Ittero

Anche in caso di campioni itterici, durante l'analisi possono verificarsi diverse interferenze (Martínez-Subiela *et al.*, 2002; Berlanda *et al.*, 2020). Pertanto, è importante verificare la presenza di una colorazione gialla effettuando un'ispezione visiva dei campioni e mediante un'analisi specifica. *Nota:* è importante sapere che il plasma e il siero nei cavalli presentano un'evidente colorazione gialla fisiologica.



Campione itterico



Attenzione

"È fantastico: gli indici di emolisi, iperlipidemia e ittero mi consentono di farmi subito un'idea della qualità del campione. Così posso valutare meglio come interpretare i risultati dei rispettivi esami."



5. Prelievo del campione



In base al tipo di animale, sono indicate vene differenti per il prelievo ematico venoso. La tabella seguente fornisce una panoramica delle vene utilizzate di frequente per ciascun tipo di animale.



Attenzione

"Ricorda di proteggerti sempre durante il prelievo e indossa i guanti."



Possibili siti di puntura per il prelievo ematico

Specie	V. giugulare	V. safena laterale	V. safena mediale	V. cefalica antebrachiale	V. auricolare	V. facciale
Cane	x	x		x		
Gatto	x		x	x		
Coniglio/lepre		x		x	(x)	
Furetto		x		x		
Cavia		x		x		
Ratto, topo, gerbillo		(x)				x
Cavallo	x		(x)	(x)		

(Moritz et al., 2014)

Negli animali di piccola taglia, il prelievo ematico avviene preferibilmente con un ago da 20 G dalla vena cefalica antebrachiale (Moritz et al., 2014).

La soluzione giusta per ogni animale: insieme per un maggiore benessere degli animali.

In un ambulatorio/una clinica viene trattata un'ampia varietà di animali, tutti con esigenze molto diverse. SARSTEDT offre soluzioni idonee alla preanalitica in medicina veterinaria.

S-Monovette®: prelievo ematico sicuro, delicato e igienico per animali di piccola taglia

Multivette®: prelievo ematico semplice e delicato con la sola pressione venosa per animali domestici di piccola taglia

Micro-ago: raccolta sicura di ogni goccia anche per animali particolarmente sensibili, ad esempio con un micro-contenitore per campioni o Microvette®

Generalmente, la maggior parte delle analisi richiede l'utilizzo di sangue venoso. In rari casi, il sangue capillare o arterioso può risultare necessario o vantaggioso, ad esempio per l'emogasanalisi (sangue arterioso) o in presenza di un sospetto di babesiosi (sangue capillare).



Si consiglia la seguente procedura di routine:

1. Preparare gli utensili necessari in quantità sufficiente.
2. Tenere i premi a portata di mano.
3. Disinfettare le mani e indossare i guanti.
4. Esaminare le vene e compiere una scelta.
5. Tosare e disinfettare.
6. Non palpare più il sito di puntura.
7. Nascondere i premi.
8. Rimuovere l'involucro protettivo dell'ago Safety.
9. Tenere il lato affilato dell'ago rivolto verso l'alto.
10. Utilizzare un'angolazione inferiore a 30°.
11. Tendere la cute; fissare la vena.
12. Eventualmente "mettere in guardia" il proprietario.
13. Quando il sangue fluisce, allentare il laccio.
14. Prelevare il campione; attenersi alla procedura.



"Hai altri consigli per il prelievo ematico?"

"Certo! Evita la conservazione prolungata, in quanto può influire su alcuni parametri, ad esempio il potassio. Occorre evitare anche il pompaggio."

(Moritz et al., 2014)





Prelievo ematico in un cane di grossa taglia con S-Monovette® e ago Safety

Guarda il video



Il **sistema di prelievo ematico S-Monovette®** consente un prelievo ematico con sistema chiuso mediante due tecniche. La tecnica in aspirazione permette l'adeguamento al flusso sanguigno e, quindi, un prelievo ematico delicato. In presenza di un flusso forte, il doppio sistema di S-Monovette® offre anche la tecnica sottovuoto convenzionale per il prelievo ematico.

In caso di prelievo con S-Monovette® e ago Safety, il rischio di contaminazione con EDTA si riduce notevolmente.

(Sulaiman, 2011)

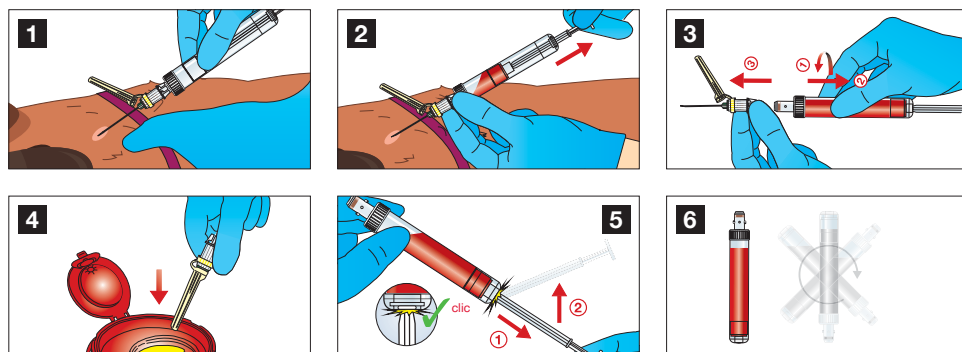


Attenzione

"In questo modo, se non si è certi che la quantità del campione sia sufficiente per tutte le analisi desiderate, è possibile indicare semplicemente la procedura di manipolazione richiesta. Attenzione: se, ad esempio, si spedisce solo sangue con litio-eparina e il primo punto della procedura corrisponde a un parametro clinico-chimico, dopo la centrifugazione non è più possibile ottenere l'emocromo."



Prelievo con il sistema di prelievo ematico S-Monovette®



In seguito alla preparazione del paziente e di tutto il necessario per il prelievo ematico, si eseguono i seguenti passaggi.

1. Con l'ago Safety, collegato a S-Monovette®, pungere la vena scelta.
2. Ritirare lentamente lo stantuffo di S-Monovette®, in base al flusso ematico, fino all'estremità della provetta e fino all'arresto del flusso sanguigno.
3. Mediante un movimento rotatorio, è possibile separare facilmente S-Monovette® dall'ago Safety. Ciò consente di riempire anche più S-Monovette® con un ago.
4. L'ago Safety può essere semplicemente chiuso e smaltito dopo il prelievo.
5. Se tutte le S-Monovette® risultano riempite e il paziente è stato trattato, tirare all'indietro tutti gli stantuffi delle S-Monovette® fino a udire un "clic". Staccare quindi gli stantuffi.
6. Agitare ripetutamente. Il campione è ora pronto per il laboratorio.

Per utilizzare la tecnica sottovuoto con S-Monovette®, tirare lo stantuffo fino alla piega e staccarlo. Si produce così un vuoto "fresco" nella provetta. Collegando la S-Monovette® all'ago, la provetta si riempie mediante il vuoto.



Prelievo ematico in un gatto con Multivette® 600 e un ago Luer

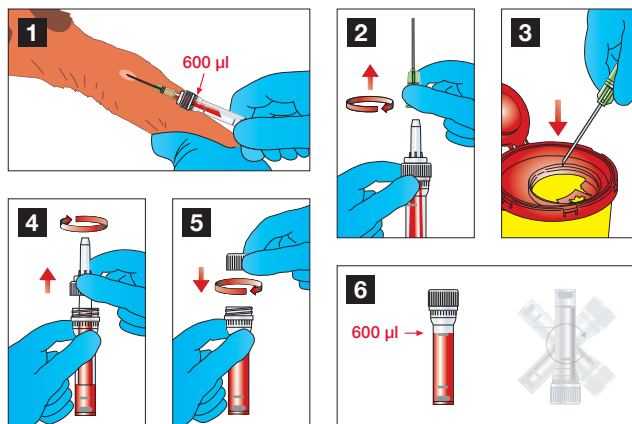
Guarda il video



Multivette® 600 è stata concepita e preparata per piccole quantità di sangue di 600 µl. Il prelievo avviene in uno stato praticamente chiuso e sfrutta la pressione venosa naturale. Questo rende il prelievo particolarmente delicato e facile.

Il campione ematico può essere centrifugato direttamente in Multivette® 600. Ciò agevola il prelievo ematico e consente di risparmiare tempo. Il diametro interno ridotto rende particolarmente facile il pipettaggio dopo la centrifugazione. Il campione può anche essere sigillato in modo sicuro e inviato al laboratorio.

Prelievo ematico con Multivette® 600



In seguito alla preparazione del paziente e di tutto il necessario per il prelievo ematico, si eseguono i seguenti passaggi.

1. Con Multivette® e un comune ago Luer, è possibile pungere facilmente la vena scelta. Grazie al capillare interno, Multivette® 600 si riempie autonomamente attraverso la pressione venosa. Il prelievo ematico risulta così particolarmente semplice e delicato. La linea di riempimento indica quando Multivette® 600 è completamente piena.
2. Dopo il prelievo, rimuovere l'ago Luer.
3. Smaltire adeguatamente gli aghi Luer in un contenitore apposito.
4. Grazie allo speciale design di Multivette® 600, il sangue fuoriesce dal capillare quando Multivette® viene tenuta in posizione perpendicolare e ruotata.
5. Chiudere Multivette® con il tappo a vite in dotazione.
6. Agitare ripetutamente. Il campione è ora pronto per il laboratorio.



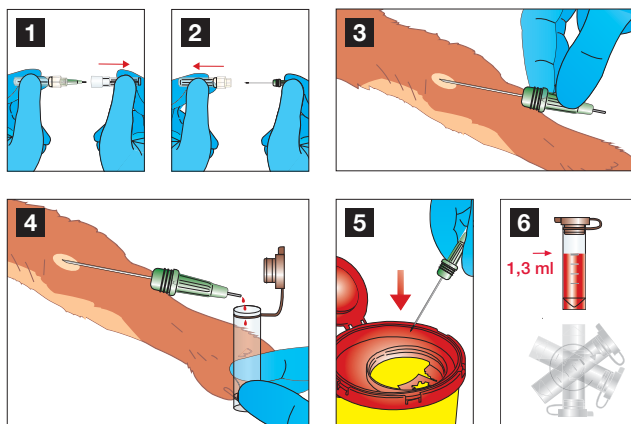
Prelievo ematico in un gatto con un micro-ago e un micro-contenitore per campioni

Guarda il video



Soprattutto nel caso di animali molto piccoli e in condizioni venose difficili, ogni goccia di sangue è importante. Lo speciale **micro-ago** garantisce che ogni goccia di sangue scorra nella provetta e non si coaguli prima. La provetta appropriata può essere selezionata in base al volume di campione previsto. I micro-contenitori per campioni sono indicati per quantità di 1,3 ml. Per i pazienti più piccoli, la scelta giusta è Microvette® nei volumi da 100 a 500 µl.

Prelievo ematico con micro-ago e micro-contenitore per campioni



In seguito alla preparazione del paziente e di tutto il necessario per il prelievo ematico, si eseguono i seguenti passaggi.

1. Aprire il micro-ago sul lato trasparente.
2. Impugnare quindi il micro-ago dall'impugnatura per rimuovere il cappuccio di protezione.
3. In seguito, pungere la vena scelta.
4. Raccogliere il sangue in un contenitore per campioni idoneo.
5. Dopo il prelievo ematico, smaltire il micro-ago in un contenitore apposito.
6. Agitare ripetutamente. Il campione è ora pronto per il laboratorio.

6. Sicurezza relativa al prelievo dei campioni



Sono noti diversi agenti zoonotici e i relativi rischi per l'uomo, ad esempio i generi Bartonella, Brucella, Campylobacter, Chlamydia, Coxiella, Giardia, Cryptosporidium, Leptospira, Listeria, Pasteurella, Salmonella, Toxoplasma, i dermatofiti, il virus della rabbia e molti altri (Jackson e Villarroel, 2012). Si consiglia pertanto di adottare specifiche regole di sicurezza nel proprio ambulatorio e di apprenderle mediante la pratica regolare. Tra queste, sono compresi l'attenzione all'igiene generale e il rispetto delle misure di protezione sul lavoro adeguate (guanti, eventualmente mascherina, copertura di ferite aperte, ecc.). Evitare l'utilizzo (o il riutilizzo) di materiale potenzialmente contaminato. Occorre inoltre verificare che le vaccinazioni protettive siano sempre aggiornate. Per i veterinari, la Ständige Impfkommission (Commissione permanente per i vaccini) consiglia anche la vaccinazione contro la rabbia (Epidemiologisches Bulletin, 2023).

Per la raccolta di oggetti appuntiti o affilati, occorre predisporre e utilizzare contenitori per i rifiuti idonei, che non devono essere riempiti eccessivamente.

Avvertenze di sicurezza

- Utilizzare solo contenitori di dimensioni idonee alla raccolta degli oggetti da smaltire.
- Prima di iniziare il riempimento, applicare e fissare il coperchio.
- Collegare il contenitore all'adattatore adesivo consigliato mediante rotazione o fissarlo al supporto a parete appendendolo per prevenire cadute.
- Non utilizzare il coperchio provvisorio per comprimere gli oggetti da smaltire.
- Smaltire i bisturi nel contenitore prestando particolare attenzione (rischio di inclinazione e danneggiamento delle pareti e del fondo del contenitore).
- Gettare gli oggetti da smaltire nel contenitore esclusivamente in posizione verticale.
- Non premere violentemente alcun oggetto nel contenitore.
- Non gettare liquidi nel contenitore.
- Non inserire la mano o altre parti del corpo all'interno del contenitore (rischio di lesioni).
- Non lanciare, agitare o far cadere il contenitore.
- Prima di chiudere il contenitore, assicurarsi che non fuoriescano oggetti dall'apertura.
- Prima di smaltire il contenitore, verificare attentamente che il coperchio sia chiuso saldamente.

Raccomandazione:

Riempire Multi-Safe solo fino a circa 2/3 del volume.

Non riempire eccessivamente Multi-Safe: ***rischio di lesioni!***

Rispettare la linea di riempimento.



Manipolazione dei campioni

Importante: prima di qualsiasi ulteriore manipolazione, è necessario assicurarsi che i campioni possano essere chiaramente assegnati al paziente e siano correttamente etichettati! Ulteriori informazioni in merito sono disponibili al capitolo 8 "Etichettatura, stoccaggio e trasporto".



I contenitori per campioni sono etichettati correttamente se:

- il contenuto risulta liberamente visibile;
- è possibile controllare il livello di riempimento;
- il tappo a vite può essere rimosso senza resistenza;
- la provetta e l'etichetta non si incastrano o appiccicano nella centrifuga.



"Allora porto i campioni direttamente alla prossima lavorazione..."

"Fermo! I campioni possono lasciare la stanza del prelievo e il paziente solo se sono stati corredati del codice a barre assegnato al relativo paziente."



7. Preparazione dell'analisi di laboratorio



Prima dell'analisi del campione in loco o della spedizione a un laboratorio esterno, i campioni ematici devono essere correttamente preparati. **L'utilizzo di siero o plasma in luogo del sangue intero presenta diversi vantaggi e, in molti casi, è il metodo preferito per i seguenti motivi:**

- Stabilità e periodo di conservazione: di norma, i campioni di siero possono essere conservati più a lungo di quelli di sangue intero. È così possibile prevenire l'emolisi correlata allo stoccaggio. Ciò risulta particolarmente importante se il campione viene trasportato su lunghe distanze o gli esami vengono eseguiti in un momento successivo.
- Standardizzazione: l'utilizzo di campioni di siero o plasma è un'operazione standard nei laboratori e nei dispositivi di analisi.
- Migliori precisione e riproducibilità: la rimozione delle cellule ematiche può contribuire ad aumentare la precisione e la riproducibilità degli esami di laboratorio (soprattutto per i dispositivi interni alla struttura).

Tuttavia, esistono anche situazioni in cui occorrono campioni di sangue intero, in particolare quando è necessario effettuare esami specifici basati sulle cellule ematiche stesse. È questo il caso per tutte le analisi ematologiche. Poiché le cellule ematiche sono molto inclini a reagire a variazioni correlate a stoccaggio, temperatura, trasporto e tempo, l'esame deve svolgersi idealmente nell'arco di poche ore, fino a un massimo di due giorni dal prelievo (sangue intero conservato refrigerato). Inoltre, per prevenire tali variazioni (la degenerazione cellulare inizia immediatamente dopo il prelievo ematico), occorre realizzare tempestivamente strisci ematici.

7.1. Centrifugazione

La centrifugazione dei campioni ematici serve a separare i componenti solidi (cellule, sangue coagulato) da quelli liquidi.

A tal fine, è possibile impiegare centrifughe differenti; tuttavia, è fondamentale centrifugare i campioni direttamente in ambulatorio nel migliore dei casi. In tal senso, è importante distinguere tra numero di giri e fattore G (forza di gravità). Il fattore G è il valore rilevante ai fini di un buon risultato di centrifugazione: pertanto, riveste una particolare importanza nella configurazione della centrifuga.

È possibile calcolare il fattore G a partire dal raggio (cm) e dal numero di giri al minuto (rpm o giri/min):

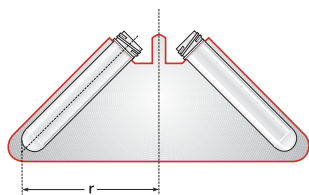
$$g = 11,18 \times r \times \left(\frac{n}{1.000} \right)^2$$

r = raggio in cm
 n = giri/min (min^{-1})

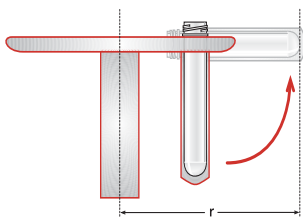
Per il calcolo del fattore G in giri/min [min^{-1}] o le operazioni inverse, è possibile utilizzare il calcolatore per la centrifugazione disponibile su www.sarstedt.com/service/zentrifugation.

Desumere il raggio della centrifuga r dalle informazioni fornite dal produttore del dispositivo o determinarlo in base alla seguente rappresentazione:

Rotore ad angolo fisso



Rotore oscillante



Attenzione

"La centrifugazione è un processo di separazione fisico basato sui diversi rapporti di densità delle sostanze, ad esempio cellule ematiche e plasma."



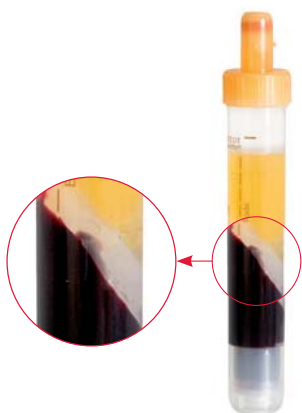
Guarda il video



Differenza tra rotore ad angolo fisso e rotore oscillante

Per le Monovette con gel, si consiglia esclusivamente l'utilizzo di rotori oscillanti. In una centrifuga a rotore ad angolo fisso, il contenitore per campioni è fissato a un angolo obliquo. Il contenitore per campioni di un rotore oscillante si muove da una posizione verticale a una orizzontale durante la centrifugazione. In questo modo, durante il processo, la forza può agire uniformemente dal coperchio verso il fondo. Il risultato è uno strato di gel orizzontale ben formato.

Rotore ad angolo fisso

























Rotore oscillante



I campioni di siero e plasma vengono spesso centrifugati da 10 a 15 minuti circa a 2000 × g.

In seguito alla centrifugazione, avviene la separazione del siero e del plasma dal resto del campione ematico per prevenire un'emolisi successiva.

Tempo di centrifugazione minimo

In base a BS 4851 (codice UE)	In base a DIN ISO 6710 (codice ISO)	S-Monovette®	Accelerazione centrifuga relativa (g)				
			2000 × g	2500 × g	3000 × g*	3500 × g*	4000 × g*
		Siero	10 min	10 min	6 min	4 min	4 min
		Siero gel	15 min	10 min	4 min	4 min	4 min
		Li-eparina	10 min	10 min	7 min	7 min	7 min
		Li-eparina gel	15 min	15 min	10 min	7 min	7 min
		Li-eparina gel+	8 min	7 min	5 min	4 min	4 min
		EDTA gel	15 min	10 min	10 min	7 min	7 min
		Citrato	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Fluoruro	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		GlucOEXACT	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Citrato PBM 1,8 ml Raggio centrifuga >17 cm	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Citrato PBM 1,8 ml Raggio centrifuga da >9 a ≤17 cm	n.v.	n.v.	10 min	n.v.	n.v.

n.v. = non validato

Centrifugazione a 20 °C

* Si applica a tutte le S-Monovette® eccetto quelle con Ø 8 mm (S-Monovette® pediatria).

Ricentrifugazione

È sconsigliata la ripetizione della centrifugazione delle provette (CLSI, 2010).

Gli emocomponenti soggetti a lisi possono diffondersi nuovamente dalle cellule ematiche centrifugate al siero o al plasma. Di conseguenza, i parametri correlati alle cellule, come potassio, fosfato, glucosio o LDH, risultano alterati (Hue *et al.*, 1991).

7.2. Come si realizza uno striscio ematico?



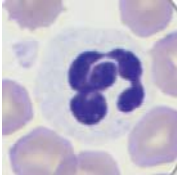
"Si può usare qualsiasi sangue per uno striscio ematico?"

"No, il sangue deve essere anticoagulato. Non è possibile utilizzare il sangue intero per il siero o gli ultimi residui dell'ago di prelievo. L'anticoagulante da preferire è l'EDTA. In caso di emergenza, però, si può ricorrere anche a litio-eparina o citrato."

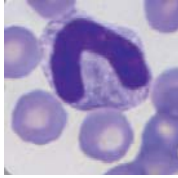


Come accennato in precedenza, è necessario includere uno o più strisci ematici per ogni analisi del sangue. Questa indicazione si applica soprattutto quando si desidera anche un esame citomorfologico, ad esempio per verificare la conta piastrinica del dispositivo o quando sussiste un'ipotesi di precursori degli eritrociti nucleati, alterazioni della morfologia degli eritrociti, leucociti anomali, deviazione a sinistra o agglutinati.

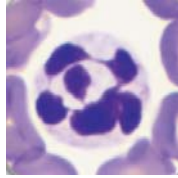
Ematologia: cane



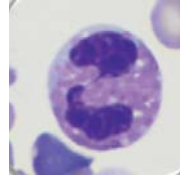
Granulocita neutrofilo con nucleo segmentato



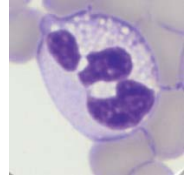
Granulocita neutrofilo con nucleo a bastoncino



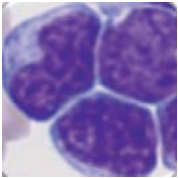
Granulocita neutrofilo ipersegmentato



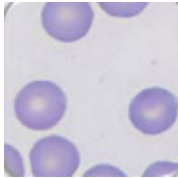
Granulocita eosinofilo con nucleo segmentato



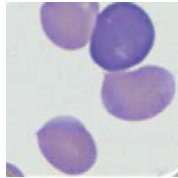
Granulocita eosinofilo con nucleo segmentato in levriero



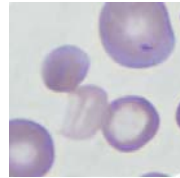
Linfociti neoplastici anomali grandi



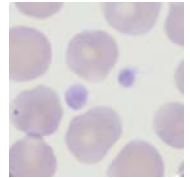
Eritrociti fisiologici



Policromasia

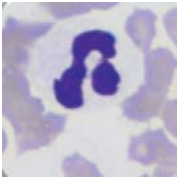


Anisocitosi

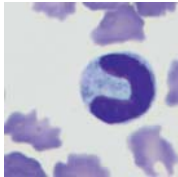


Trombociti fisiologici

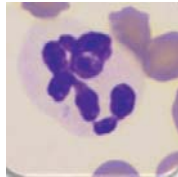
Ematologia: gatto



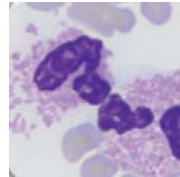
Granulocita neutrofilo con nucleo segmentato



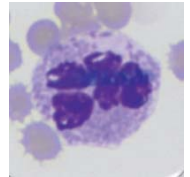
Granulocita neutrofilo con nucleo a bastoncino



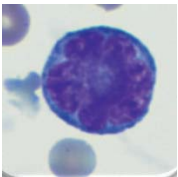
Granulocita neutrofilo ipersegmentato



Granulociti eosinofili con nucleo segmentato



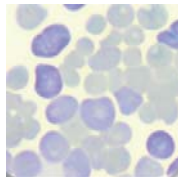
Granulocita basofilo con nucleo segmentato



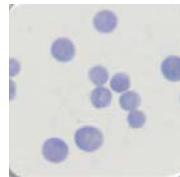
Linfociti reattivi anomali, basofili scuri di medie dimensioni



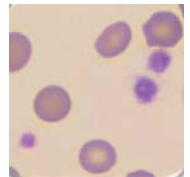
Eritrociti fisiologici



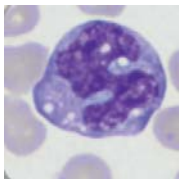
Policromasia



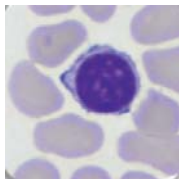
Anisocitosi



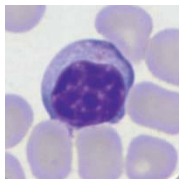
Trombociti fisiologici



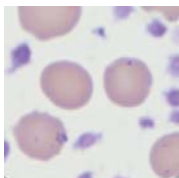
Monocita attivato



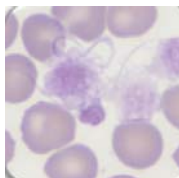
Linfocita normale con nucleo maturo piccolo



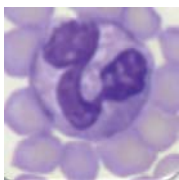
Linfocita reattivo con nucleo maturo piccolo



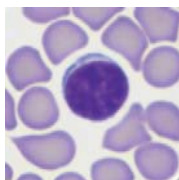
Trombocitosi



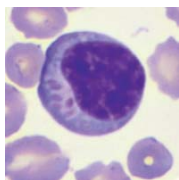
Macrotrombociti



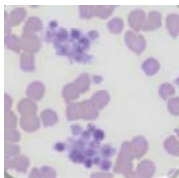
Monocita



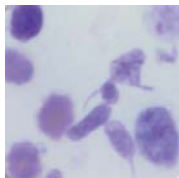
Linfocita normale con nucleo maturo piccolo



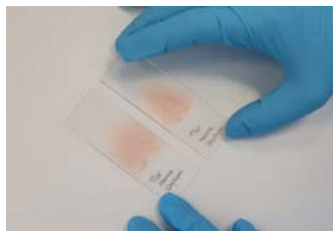
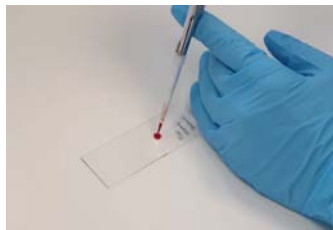
"Large Granular Lymphocyte" (LGL)



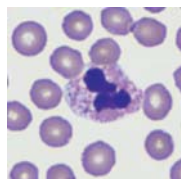
Aggregati piastrinici



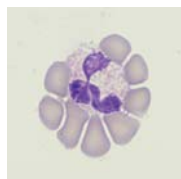
Trombociti anomali



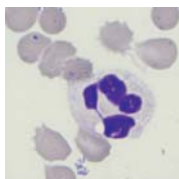
Ematologia: mammiferi di piccola taglia



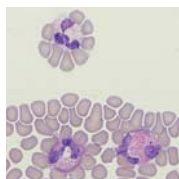
Granulocita eterofilo con nucleo segmentato (coniglio)



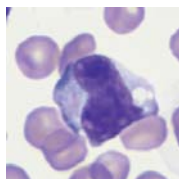
Granulocita eterofilo con nucleo segmentato (cavia)



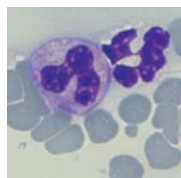
Granulocita neutrofilo con nucleo segmentato (furetto)



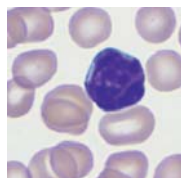
Eterofilo (sopra), eosinofilo (sotto) (cavia)



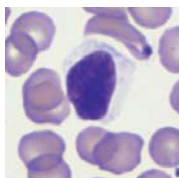
Monocita attivato (coniglio)



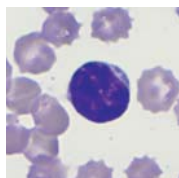
Granulocita eosinofilo (furetto)



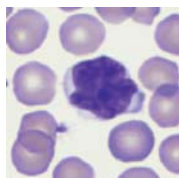
Linfocita normale con nucleo maturo piccolo (cavia)



Linfocita reattivo con nucleo maturo piccolo (coniglio)



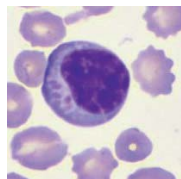
Linfocita normale (furetto)



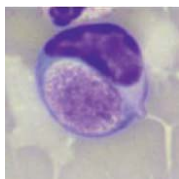
Linfocita reattivo anomalo (coniglio) con incavatura



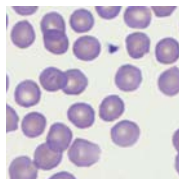
Granulocita neutrofilo con nucleo a bastoncino (furetto)



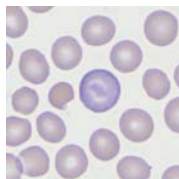
"Large Granular Lymphocyte" (LGL) (cavia)



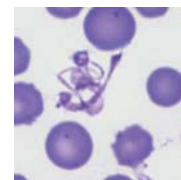
Cellula di Foà-Kurloff (cavia)



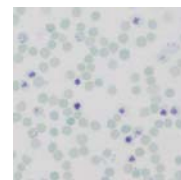
Eritrociti fisiologici (coniglio)



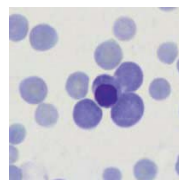
Anisocitosi, policromasia (coniglio)



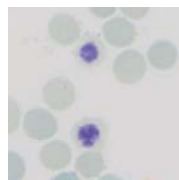
Trombociti anormali (cavia)



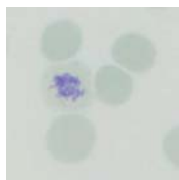
Panoramica di reticulociti (coniglio)



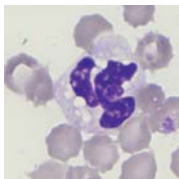
Normoblasto (coniglio)



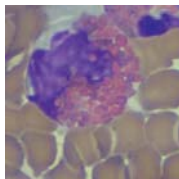
Reticolociti gruppo I (coniglio)



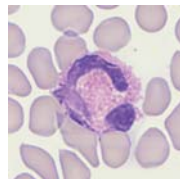
Reticolociti gruppo II (coniglio)



Monocita (furetto)



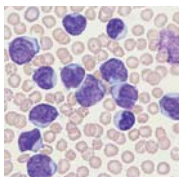
Granulocita eosinofilo (coniglio)



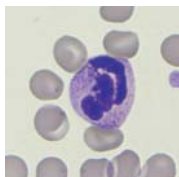
Granulocita eosinofilo (cavia)



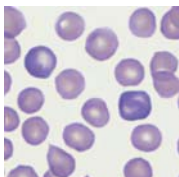
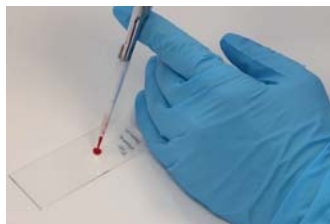
Siti di puntura per le cavie
Sx: v. safena; puntura a lato del tendine di Achille (terzo medio della parte inferiore dell'arto) a un angolo <math><45^\circ</math>. Dx: v. cefalica antebrachiale



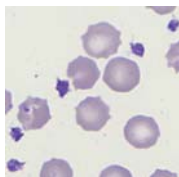
Linfoma di stadio V
Linfociti neoplastici anomali grandi (cavia)



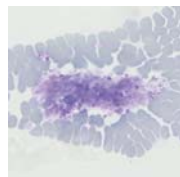
Granulocita basofilo (cavia)



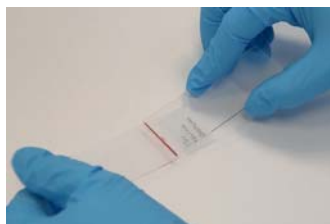
Policromasia (coniglio)



Trombociti (furetto)



Aggregato piastrinico (furetto)



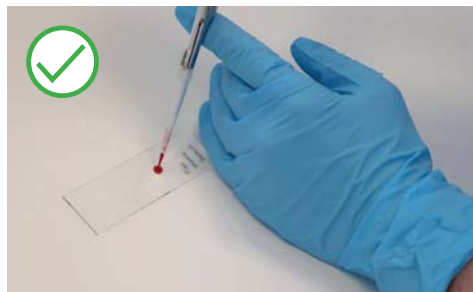
Reticolociti gruppo III (coniglio)



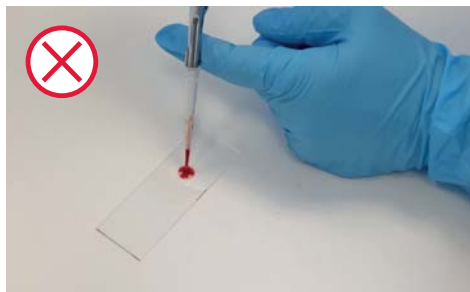
Reticolociti gruppo IV (coniglio)



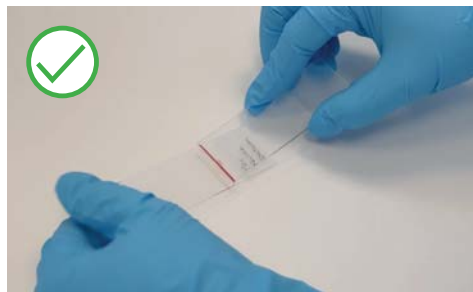
Strisci ematici: cose da fare e da evitare



Contrassegnare il vetrino portaoggetti con un matita (o un altro strumento resistente ad acqua e alcool). Depositare una goccia di sangue (circa 10 μ l) sul vetrino portaoggetti.



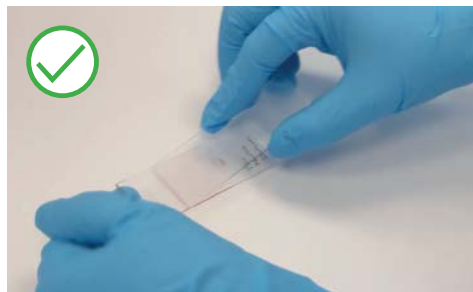
In assenza di dicitura, lo striscio non può essere assegnato ad alcun paziente. La goccia di sangue depositata è troppo grande.



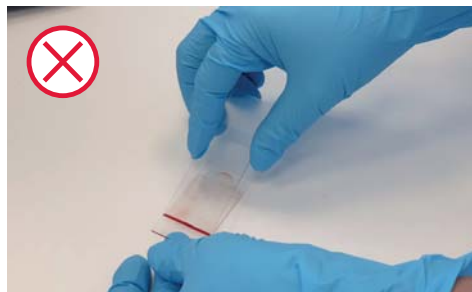
Collocare un secondo vetrino portaoggetti prima della goccia di sangue. Tirare il vetrino portaoggetti da strisciare all'indietro verso la goccia di sangue, finché tutto il sangue sia distribuito lungo il bordo.



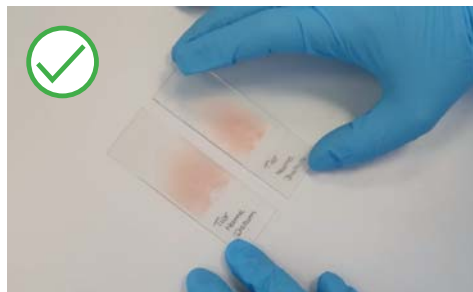
La goccia di sangue non si distribuisce uniformemente lungo il bordo del vetrino portaoggetti. Causa: il vetrino non si trova in piano o la distribuzione della pressione non è uniforme.



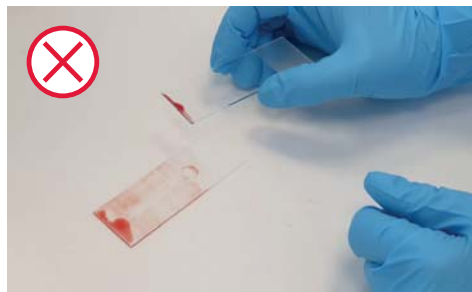
Con un movimento rapido e uniforme, spingere fino all'altra estremità del vetrino orizzontale (angolo di circa 45°).



Un movimento troppo lento causa una "interruzione". A causa di una pressione e un volume del campione eccessivi, tutto il sangue viene spinto all'estremità dello striscio.



L'immagine raffigura uno striscio completato a "forma di lingua"; da sinistra a destra: corpo, monostrato (area di valutazione) e coda. Importante: ricordare l'essiccatura all'aria prima della colorazione e del confezionamento per la spedizione.



Non si ravvisa alcuna suddivisione in corpo, monostrato e coda.
Lo striscio ematico è molto disomogeneo e senza area di valutazione, risultando così non analizzabile.



Consigli e trucchi Striscio ematico con Cagnolino (D) e Topino (R)

"Topino, non riesco a realizzare strisci ematici corretti. Puoi aiutarmi?"

"Certo, cosa vuoi sapere esattamente?"



Lo striscio ematico non ha la forma di una lingua: presenta la stessa larghezza da davanti a dietro ed esce dal bordo. Qual è l'errore?

Probabilmente, la goccia di sangue era troppo grande o il volume troppo elevato. Utilizzando meno sangue, la situazione dovrebbe migliorare. Se poi lo striscio risulta troppo corto, è sufficiente aumentare lentamente il volume del sangue. Negli animali anemici con sangue molto diluito, è meglio utilizzare una goccia più piccola.

Inoltre, può anche essere che l'angolo dello striscio sia troppo piatto ($<45^\circ$). Mediante l'angolo, si può controllare la lunghezza dello striscio. Un angolo maggiore ($>45^\circ$) produce più facilmente uno striscio corto, mentre un angolo inferiore ($<45^\circ$) produce uno striscio lungo.

Lo striscio ematico non è omogeneo e presenta "interruzioni". Come posso correggerlo?

Queste "interruzioni" possono presentare varie cause. Spesso sono dovute al movimento troppo lento di quantità di campione eccessive. È importante anche non rallentare durante lo striscio. Una volta iniziato lo striscio, occorre portarlo a termine rapidamente.

Lo striscio ematico presenta uno spessore differente sui due lati e contiene strie. Perché?

Molto probabilmente, il vetrino portaoggetti/coprioggetti da strisciare non è stato posizionato in piano sull'altro oppure la pressione durante lo striscio non è stata distribuita in modo uniforme. Il metodo migliore prevede il posizionamento del vetrino portaoggetti/coprioggetti da strisciare all'estremità della goccia di sangue, per poi muoverlo avanti e indietro. Ciò consente di determinare la pressione e notare eventuali scricchiolii. Talvolta, la levigatura non è perfetta o sul vetrino sono presenti impurità

. Si può provare a rimuoverle oppure utilizzare un nuovo vetrino per lo striscio.

Le cellule degli strisci ematici sono distrutte. Perché?

Può essere che sia stata applicata una pressione eccessiva. Ci si può esercitare effettuando lo striscio con un vetrino coprioggetti. La pressione eccessiva provoca una rottura molto rapida. A volte, però, le cellule ematiche stesse sono molto fragili e si distruggono velocemente (ad esempio in presenza di leucemia, forte infiammazione o anemia).

Lo striscio ematico è troppo spesso e corto. A cosa è dovuto?

Può essere che il vetrino portaoggetti sia troppo inclinato. Un angolo più piatto consente di realizzare uno striscio più lungo.

Posso vedere come si realizza uno striscio ematico da qualche parte?

Sì. Ad esempio, su YouTube è disponibile il cortometraggio "LABOKLIN: strisci ematici" (vedere pagina 54).

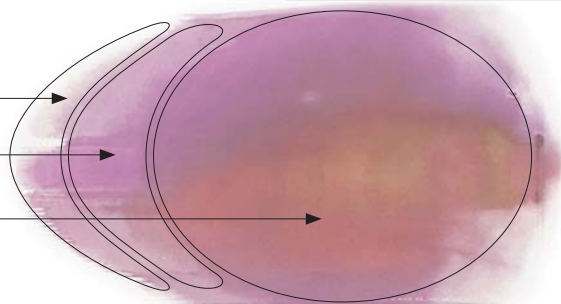
Quanti strisci ematici devo realizzare prima di ottenere la perfezione?

Una domanda lecita, alla quale purtroppo non posso rispondere in modo assoluto. Tuttavia, posso prometterti che prima o poi imparerai e, allora, riuscirai sempre a eseguire la procedura. La realizzazione di uno striscio ematico corretto e valutabile è una questione di puro esercizio. Spetta all'osservatore decidere se si tratti (o meno) di un'arte.

Coda

Monostrato

Corpo



Le diverse parti di uno striscio ematico

8. Etichettatura, stoccaggio e trasporto



A seconda del parametro da analizzare, dopo il prelievo del campione occorre prestare attenzione ad alcuni aspetti. Mentre alcuni esami sono possibili anche utilizzando campioni meno recenti e non refrigerati (prevalentemente esami correlati al patrimonio genetico, magari per la diagnosi dei patogeni mediante PCR), per altri è necessario garantire un raffreddamento continuo.

In ogni caso, occorre ridurre al minimo eventuali variazioni di temperatura significative già durante la preparazione della spedizione a un laboratorio esterno, ad esempio evitando il surriscaldamento del campione in una vettura dell'ambulatorio calda (Humann-Ziehank e Ganter, 2012). Per alcune analisi, inoltre, è consigliabile una fotoprotezione, ad esempio per un esame della bilirubina (Braun *et al.*, 2015). I requisiti esatti dipendono, di volta in volta, dalle informazioni fornite sulla richiesta di analisi, oltre che dall'esame in questione. Ad esempio, un punto esclamativo significa che, idealmente, il campione deve essere conservato e trasportato stabilmente congelato. Inoltre, tutti i clienti possono richiedere elenchi specifici su cui sono indicati parametri particolarmente sensibili. Prima del trasporto, occorre ricordare di pretemperare non solo le batterie refrigeranti/congelanti, bensì anche i campioni: infatti, la refrigerazione e il congelamento della sola batteria e del solo contenitore non sono sufficienti a raffreddare o congelare adeguatamente i campioni. È possibile acquistare un contenitore speciale da LABOKLIN: si tratta di un contenitore in Styropor dotato di una speciale batteria per la refrigerazione/il congelamento dei campioni che consente il raffreddamento completo di due provette. Questo contenitore viene personalizzato all'acquisto e rispedito gratuitamente in seguito all'arrivo dei campioni, analogamente alle batterie refrigeranti, purché siano adeguatamente contrassegnate (tempo totale di circa 10 giorni lavorativi). In linea di massima, i campioni centrifugati devono essere conservati in frigorifero; in caso di stoccaggio prolungato, si consiglia una temperatura di -20 °C, ancora meglio se di -70 °C (Moritz *et al.*, 2014).



"Di norma, la qualità di molti campioni di siero centrifugati e pipettati beneficia di un congelamento del campione; il congelamento e lo scongelamento ripetuti, tuttavia, sono da evitare."

"Esatto! Attenzione però: il sangue intero non può essere congelato in nessun caso. La conseguenza sarebbe un'emolisi completa."

"Anche gli strisci ematici non devono essere congelati né conservati in frigorifero."

(Vap et al., 2012)



Elenco di controllo per il trasporto

- Chiudere il campione (prevenire l'evaporazione).
- Conservare il siero/plasma da 4 a 8 °C.
- Conservare in posizione verticale.
- Conservare l'EDTA a temperatura ambiente per l'emocromo.
- Evitare il congelamento e lo scongelamento ripetuti.
- Proteggere i parametri fotosensibili ("sensibili alla luce del sole") dalla luce diurna (ad esempio la bilirubina).
- Utilizzare una preparazione speciale per la stabilizzazione (ad esempio S-Monovette® HCY-Z gel per l'omocisteina).



Inoltre, sono importanti un confezionamento e un'etichettatura accurati: consentono la corretta assegnazione del campione in laboratorio, ne prevengono la perdita a causa della scadenza e servono a tutelare tutte le persone che entrano in contatto con il campione. I guanti da laboratorio, ad esempio, non sono un imballaggio adeguato per i campioni di feci, l'utilizzo di vasetti di marmellata per i campioni di urina comporta un pericolo di rottura e la possibilità di valori di glucosio erroneamente elevati e gli aghi lasciati sulle siringhe rappresentano una fonte di pericolo superflua (e, purtroppo, spesso sottovalutata). In caso di spedizione di campioni con un potenziale zoonotico particolarmente elevato (ad esempio prelevati da scimmie o cani con sospetta leptospirosi), occorre informare il laboratorio in anticipo e apporre le informazioni pertinenti in modo chiaramente visibile già sulla confezione esterna.

Submission form
General

Customer-No. / Barcode: _____

LABOKLIN
LABOR FÜR KLINISCHE DIAGNOSTIK GMBH & CO. KG
PR 1810, DE-97668 Bad Kissingen
Tel +49 971 72020 Fax +49 971 68546
Email: info@laboklin.com

Campione: _____

Proprietario/a: _____

Timbro dell'ambulatorio: _____

Dati del paziente: _____

Operazioni da eseguire: _____

Clinic address: (Practice stamp or block letters) _____

Sample:
 Whole blood
 Serum
 Plasma
 Urine / uroliths
 Scraping / hair
 Swab
 Aspirate
 CSF

Owner's address: _____

Owner's name: _____

First name: _____

Street: _____

Postal code/city: _____

Fax/E-mail: _____

Tel.: _____

Date and practice signature: _____

Species:
 Dog Cat Horse Other

Sex: F M F.N. M.N. **Breed:** _____

Name: _____

Date of birth: _____

Sample quality: Haemolytic Icteric Lipaemic Centrifuged Cooled/Frozen

Follow-up to previous lab No.: _____

Profiling - Small Animals
 Large Screening (AP, GLDH, ALT, AST, CK, protein, trigly, cholesterol, urea, uric acid, POC, Ca, Na, K, Fe)
 Small Feline Profile (FIV, FeLV, FIV protein, albumin, albumin/globulin)
 Large Feline Profile (FIV, FeLV, FIV protein, albumin, albumin/globulin)
 FFV Monitoring (cat) (FIV, FeLV, FIV protein, albumin, albumin/globulin)
 FFV Monitoring (dog) (FIV, FeLV, FIV protein, albumin, albumin/globulin)


Profiling - Exotics
 Small Mammals Screening (AP, GLDH, ALT, AST, CK, protein, trigly, cholesterol, urea, uric acid, POC, Ca, Na, K)
 Ferret Screening (AP, GLDH, ALT, AST, CK, protein, trigly, cholesterol, urea, uric acid, POC, Ca, Na, K)
 Reptile Screening (AP, GLDH, ALT, AST, CK, protein, trigly, cholesterol, urea, uric acid, POC, Ca, Na, K)
 Avian Screening (AP, GLDH, ALT, AST, CK, protein, trigly, cholesterol, urea, uric acid, POC, Ca, Na, K)
 Equine/Reptilian/Large Mammals (AP, GLDH, ALT, AST, CK, protein, trigly, cholesterol, urea, uric acid, POC, Ca, Na, K)

Haematology
 Compl. Blood Count (Hb, Hct, RBC, WBC, PLT, MPV, MCH, MCHC, RDW, CRP, fibrinogen, D-Dimer)
 Small Blood Count (Hb, Hct, RBC, WBC, PLT, MPV, MCH, MCHC, RDW, CRP, fibrinogen, D-Dimer)
 Blood Smear (cytological)
 Blood Parasites, microscopical
 Bone Marrow (Cytology incl. blood count, Thrombocytopenia, Profile large dog)
 Coagulation (PT/APTT, Fibrinogen, D-Dimer, TAT, Fibrinolytic activity, Thrombolytic activity)

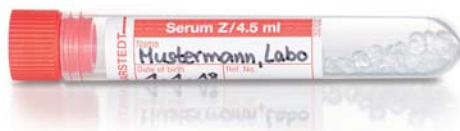
Compilazione ideale della richiesta di analisi: contrassegnare l'esame desiderato in modo da non intaccare nessun altro campo. **Importante:** non dimenticare la relazione preliminare e i possibili pretrattamenti.

Attenzione

"Il campione corretto è sempre già indicato direttamente sulla richiesta accanto all'analisi desiderata. In caso di dubbio, però, può essere utile una breve chiamata al laboratorio."



L'etichettatura non comprende solo le informazioni relative al paziente, incluso il codice a barre specifico dell'ambulatorio, bensì anche informazioni sul tipo di campione (Gunn-Christie *et al.*, 2012): si tratta di un campione di urina, siero o liquido cefalorachidiano? Si tratta di plasma con litio-eparina, citrato o EDTA centrifugato? Queste indicazioni non sono sempre immediatamente visibili, ma possono risultare determinanti per stabilire se un dato esame sia possibile con il campione inviato. È possibile risparmiare risorse e tempo dei collaboratori dell'ambulatorio e del laboratorio se il campione è già contrassegnato correttamente.



Per garantire l'assegnazione di un campione a un paziente, le informazioni relative al paziente in questione devono essere riportate non solo sulla richiesta di analisi, ma anche direttamente sul campione. Particolarmente importante: il codice a barre sul campione deve corrispondere al codice a barre sulla richiesta di analisi.

Prestare attenzione alle provette con tappo a scatto, in quanto sussiste un rischio di apertura e fuoriuscita durante il trasporto.

Una confezione esterna (contenitore secondario) adeguata per ogni singolo campione, comprensiva di inserto assorbente, garantisce la massima protezione. Tutti i campioni, incluso il contenitore secondario, devono poi essere imballati in una confezione esterna.





"Il trasporto dei campioni corretto è sempre responsabilità del mittente."



Tutti i campioni devono recare una dicitura sulla confezione esterna: "Campione veterinario esente" per i campioni privi di sostanze infettive o l'adesivo UN 3373 in base alla classificazione dei rischi per i campioni veterinari potenzialmente infettivi. È possibile richiedere gli adesivi necessari in laboratorio.



I requisiti più importanti per la confezione sono i seguenti:

- Resistenza sufficiente al fine di evitare il danneggiamento/la fuoriuscita del contenuto a causa di urti/sollecitazioni (vibrazioni o variazioni di temperatura, umidità e pressione) in condizioni di trasporto normali.
- Sono necessari un contenitore per campioni o un contenitore primario, un contenitore per la spedizione o un contenitore secondario, e una confezione esterna: o il contenitore secondario o la confezione esterna (ad esempio involucro protettivo/sacchetto per la spedizione) deve essere non flessibile. In caso di trasporto aereo, è sempre necessaria una confezione esterna rigida in grado di tollerare una pressione interna di 95 kPa (0,95 bar) e temperature da -40 a 55 °C (per le indicazioni di IATA/poste/DHL, consultare le relative risorse).
- La confezione esterna deve presentare dimensioni di almeno 100 × 100 mm su una superficie.
- Il pacchetto da spedire deve essere in grado di superare un test di caduta da un'altezza di almeno 1,2 m.

Bibliografia

Berlanda, Michele; Valente, Carlotta; Bonsembiante, Federico; Badon, Tamara; Bedin, Silvia; Contiero, Barbara *et al.* (2020): Evaluation of an automated immunoturbidimetric assay for detecting canine C-reactive protein. In: Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc 32 (6), pp. 948-952. DOI: 10.1177/1040638720960065.

Braun, Jean-Pierre; Bourgès-Abella, Nathalie; Geffré, Anne; Concordet, Didier; Trumel, Cathy (2015): The preanalytic phase in veterinary clinical pathology. In: Veterinary clinical pathology 44 (1), pp. 8-25. DOI: 10.1111/vcp.12206.

CLSI, GP44-A4 2010; § 5.4.3

Epidemiologisches Bulletin 4/2023, ultima consultazione a luglio 2023, https://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/STIKO/Empfehlungen/Impfempfehlungen_node.html

Gaskill, C. L.; Burton, S. A.; Gelens, H. C.; Ihle, S. L.; Miller, J. B.; Shaw, D. H. *et al.* (2000): Changes in serum thyroxine and thyroid-stimulating hormone concentrations in epileptic dogs receiving phenobarbital for one year. In: Journal of veterinary pharmacology and therapeutics 23 (4), pp. 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. In: Veterinary clinical pathology 41 (1), pp. 18-26. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2012.00412.x.

Gurr *et al.*; Musterstandardarbeitsanweisung Präanalytik; 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. In: Animal: an international journal of animal bioscience 6 (7), pp. 1115-1123. DOI: 10.1017/S1751731111002679.

Jackson, J.; Villarroel, A. (2012): A survey of the risk of zoonoses for veterinarians. In: Zoonoses and public health 59 (3), pp. 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. In: *Veterinary journal* (Londra, Inghilterra: 1997) 164 (3), pp. 261-268. DOI: 10.1053/tvj.2001.0672.

Moritz, A.; Schwendewein, I.; Kraft, W. (2014) In: Moritz, A (edito). *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*. 7 Aufl. Schattauer GmbH, Stoccarda.

Nardini, Giordano; Leopardi, Stefania; Bielli, Mattia (2013): Clinical hematology in reptilian species. In: *The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice* 16 (1), pp. 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. In: *Journal of applied microbiology* 113 (5), pp. 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. In: *International journal of clinical practice* 63 (8), pp. 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. In: *Veterinary clinical pathology* 41 (1), pp. 8-17. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2012.00413.x.

Xenoulis, P. G.; Steiner, J. M. (2015): Canine hyperlipidaemia. In: *The Journal of small animal practice* 56 (10), pp. 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. In: *Veterinary clinical pathology* 40 (4), pp. 414-425. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2011.00360.x.

SARSTEDT S.r.l.

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

Tel: +39 02 38292413

Fax: +39 02 38292380

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



SARSTEDT