

Tipy a techniky v preanalytice



Část 1: Analýza krve
u domácích zvířat



LABOKLIN



SARSTEDT

Úvod

Klinická laboratorní diagnostika je klíčovou součástí veterinární praxe. Po sepsání anamnézy a provedení klinického vyšetření se indikují testy, které mohou potvrdit nebo vyloučit podezření na konkrétní diagnózu. Hematologie a klinická chemie často poskytují nezbytné informace pro identifikaci onemocnění. S rozvojem molekulární biologie se

do laboratorní diagnostiky dostaly nové metody, které umožňují lépe objasnit etiologii některých nemocí. Laboratorní výsledky jsou stále neocenitelným nástrojem při sledování vývoje onemocnění, hodnocení účinnosti terapie a stanovení prognózy.



Prof. Dr. med. vet. Andreas Moritz

Citát z informační brožury *Tipy a techniky v preanalytice*, kterou připravily společnosti LABOKLIN a SARSTEDT, říká: „... při nejvyšší přesnosti moderní analytické techniky může být výsledek měření pouze tak kvalitní, jak to dovoluje kvalita vzorku.“ Tento výrok jasně ukazuje, jak důležitý je správný

přístup k preanalytické fázi. Preanalytická fáze zahrnuje všechny kroky laboratorního diagnostického procesu, které předcházejí samotné analýze vzorku. Po sepsání anamnézy a přípravě pacienta se zaměřuje na správný odběr vzorků, jejich správné uchovávání a transport, aby výsledky byly spolehlivé a diagnosticky platné. Zatímco v průběhu laboratorní analýzy je možné ověřit neobvyklé hodnoty opakováním měření, preanalytické chyby bývají obvykle neodstranitelné. Proto je kladen velký důraz na pečlivé provádění všech kroků, aby se minimalizovaly možné chyby.

V následujících osmi kapitolách jsou základní fakta o tématu prezentována a ilustrována informativním a snadno pochopitelným způsobem: Co je to preanalytika, – Příprava pacienta, – Přehled typů materiálů a zkumavek, – Běžné chyby v preanalytice, – Odběr vzorků, – Bezpečnost při odběru vzorků, – Příprava na laboratorní analýzu – Označení, uchování a transport. Snadno zapamatovatelné texty v šedých zvýrazněných boxech podporují pochopení, učení a zapamatování. Zhotovení a analýze krevních nátěrů je – oprávněně – věnováno dostatek prostoru. Cytologické obrázky z krevních nátěrů psů, koček a malých savců jsou demonstrativní a do jisté míry přesahují rámec preanalytiky.

Tato brožura je velmi doporučována nejen pro veterináře, veterinární asistenty a zdravotnické techniky jako praktická malá reference pro praxi, ale i pro studenty veterinární medicíny jako zajímavý studijní materiál.

Prof. Dr. med. vet. Andreas Moritz studoval veterinární medicínu na Justus-Liebig University (JLU) v Giessenu. Po získání doktorského titulu a habilitaci v oblasti interní medicíny a klinické laboratorní diagnostiky byl jmenován univerzitním lektorem na Katedře veterinární medicíny JLU. Po pobytu v zahraničí v St. Paul, Minnesota, USA, a v Gentu, Belgii, se vrátil na JLU, kde byl v roce 2006 jmenován profesorem klinické patofyziologie a klinické laboratorní diagnostiky. Kromě vedení centrální laboratoře převzal od roku 2017 vedení Kliniky pro malá zvířata v oboru interní medicíny. Je specialistou v oblasti veterinární interní medicíny a klinické laboratorní diagnostiky, EBVS® evropským veterinárním specialistou v oblasti interní medicíny malých zvířat (dipl. ECVIM-CA) a spolupracujícím členem Evropského kolegia veterinární klinické patologie (ECVCP). Kromě výuky studentů veterinární medicíny se prof. Moritz podílí na národní a mezinárodní profesní kvalifikaci veterinářů v oblasti interní medicíny malých zvířat a klinické laboratorní diagnostiky. V současnosti je prezidentem Německé veterinární asociace pro malá zvířata (DGK-DVG).





ANIMAL HEALTH CARE

Německé první vydání:

Tipy a techniky v preanalitice

Část 1: Analýza krve u domácích zvířat

Leden 2024

Tato kniha byla připravena ve spolupráci s veterinární laboratoří LABOKLIN a technologickou společností SARSTEDT.

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

Link na PDF verzi: www.sarstedt.com/laboklin-blood-test-vet-us

© 2024 LABOKLIN & SARSTEDT – všechna práva vyhrazená



animalhealthcare.
sarstedt.com



laboklin.de

Obsah

Úvod	2
1. Co je preanalytika?	6
2. Příprava pacienta	8
2.1. Ovlivňující faktory	10
2.1.1. Věk, plemeno a způsob chovu	10
2.1.2. Výběr testu	11
2.1.3. Medikace a biorytmus	12
2.1.4. Pořadí při odběru	13
3. Přehled typů materiálů a zkumavek	14
3.1. Sérum vs. plazma - v čem je rozdíl?	16
3.2. Přehled odběrových materiálů	17
3.2.1. Barevné kódy zkumavek	18
3.2.2. Lithium heparinové zkumavky	19
3.2.3. EDTA zkumavky	20
3.2.4. Zkumavky na sérum	22
3.2.5. Citrátové zkumavky	23
3.2.6. Zkumavky na glukózu/laktát	24
3.3. Který materiál je vhodný pro jaký test?	25
4. Běžné chyby v preanalytice	26
4.1. Interferující faktory	27
4.1.1. Hemolýza	28
4.1.2. Hyperlipidemie (lipemie)	30
4.1.3. Žloutenka/ikterus	31
5. Odběr vzorků	32
6. Bezpečnost při odběru vzorků	42
7. Příprava na laboratorní analýzu	46
7.1. Odstředění	48
7.2. Jak zhotovit krevní nátěr?	51
8. Označení, uchování a transport	60
Reference	66

1. Co je preanalytika?





„Ahoj myško, jsi expert v laboratoři, že?“

„Ano, jsem připravena ti pomoci a poradit!“

„To je skvělé! Co vlastně znamená preanalytika a proč je důležité to vědět?“

„Preanalytika zahrnuje všechny procesy, které probíhají před samotnou laboratorní analýzou a mohou ovlivnit naměřený výsledek. Nakonec, i při nejvyšší přesnosti moderních analyzátorů, může být naměřený výsledek pouze tak dobrý, jak to dovoluje kvalita vzorku.“



Preanalytika pokrývá všechny oblasti, které předcházejí samotné analýze vzorku. Patří sem anamnéza a klinické vyšetření, která poskytují indikace pro testování. Dále zahrnuje přípravu pacienta, výběr správných odběrových zkumavek, odběr vzorku, přípravu vzorku, transport vzorku, jeho uchovávání, zpracování a cestu vzorku až do okamžiku zahájení testování.

Jak je patrné z tohoto seznamu, většina preanalytických úkolů probíhá před tím, než vzorek dorazí do laboratoře. Ošetřující veterinář může tedy v mnoha případech zásadně přispět k dobré kvalitě vzorku a tím i k reprezentativnímu a hodnotitelnému výsledku. Vzhledem k velkému počtu potenciálních zdrojů chyb je rozumné se před analýzou seznámit s různými aspekty preanalytiky.

2. Příprava pacienta



Příjemná a bezstresová návštěva vaší praxe pro pacienty i jejich majitele/pečovatele není pouze dobrá pro vaši image, ale má také významný vliv na kvalitu vzorku.

Majitel zvířete by měl být předem informován o vlivu fyzické aktivity a stresu na výsledky krevních testů. Zvýšené hladiny zejména svalových enzymů, jako jsou CK, LDH a AST, mohou být detekovány v séru po fyzické námaze. Kromě toho se může objevit i zvýšená hladina glukózy a laktátu. Další aspekty, které by měly být předem zváženy, budou uvedeny níže.



Poznámka

„U masožravců by měl být odběr krve prováděn na lačno (přibližně 12 hodinová hladovka), protože postprandiální lipemie může ovlivnit mnoho měřených parametrů, což v nejhorším případě může vést k nehodnotitelným vzorkům.“*

** (Moritz et al., 2014)*



2.1. Ovlivňující faktory

Níže je uveden přehled faktorů, které mohou představovat potenciální zdroje chyb v diagnostice. Před každým vyšetřením by tedy měly být známy údaje o anamnéze, terapii, suspektní diagnóze a testovacích postupech.

2.1.1. Věk, plemeno a způsob chovu

- Mladá zvířata: U některých parametrů (např. AP, fosfát...) mohou vykazovat vyšší nebo nižší hodnoty než dospělá zvířata (Humann-Ziehank a Ganter, 2012).
- Plemenná specifika: U některých parametrů existují plemenné odchylky (např. chrti: nižší koncentrace tyroxinu, leukocytů a trombocytů, vyšší hematokrit; Kavalír King Charles španěl: možná makrotrombocytopenie (Zaldívar-López et al., 2011)).



2.1.2. Výběr testu

Před odběrem krve je třeba zvážit několik faktorů týkajících se požadovaného testu a jeho požadavků:

- Je požadovaný test dostupný pro daný druh zvířete?
- Musí být pacient v konkrétním stavu pro daný test (např. na lačno) nebo musí zůstat v ordinaci po určitou dobu?
- Jedná se o sledování terapie nebo kontrolu správnosti úpravy medikace?
- Jsou vyžadovány supresní nebo stimulační testy?
- Jaký materiál je potřebný? Je požadovaná analýza možná a užitečná s dostupným materiálem? Příklad: Koagulační testy jsou možné pouze s citrátovou plazmou!
- Kolik vzorku je pro test potřeba?
- Bude vzorek schopen odolat transportu do laboratoře tak, aby bylo možné změřit požadovaný parametr? Doporučuje se předem zkontrolovat stabilitu parametru a vyjasnit požadované preanalytické podmínky.

Stres, neklid a extrémní fyzická námaha by měly být vždy před odběrem krve vyloučeny (Moritz et al., 2014). To platí zejména pro divoká zvířata, ale i pro zvířata, se kterými je zřídka manipulováno (Braun et al., 2015).

2.1.3. Medikace a biorytmus

- Je pacient na určité medikaci, která ovlivňuje výsledky testu a může vést k falešné interpretaci? (Příklady problémových kombinací zahrnují léčbu fenobarbitalem u pacienta s epilepsií, když je současně testován na hypotyreózu (Gaskill et al., 2000), léčbu glukokortikoidy u psa, který má podstoupit ACTH stimulační test, nebo antibiotickou předléčbu před mikrobiologickým testováním.)
- Existuje biologický rytmus pro požadovaný parametr, který je třeba sledovat?

Je zřejmé, že ne všechny preanalytické vlivy lze monitorovat. Nicméně zdokumentováno by mělo být co nejvíce faktorů (Braun et al., 2015), aby bylo později usnadněno vyhodnocení výsledků.



2.1.4. Pořadí při odběru

Je doporučeno použití pevně stanovené rutiny pro pořadí odběru vzorků, například podle pořadí odběru podle Gurra. Význam různých barevných kódů je vysvětlen v kapitole 3.2.1.

EU barevný kód, založený na normě BS 4851	ISO barevný kód podle normy NCCLS	
		Hemokultivace
		Sérum/gel na sérum
		Citrát
		Heparin/gel na heparin
		EDTA
		Fluorid/fluorid citrát

Gurr et al., (2011)



„Och ne! Odběr krve jsme provedli do EDTA zkušavky místo do sérové zkušavky. Rychle to přeliji do té druhé!“

„Prosím, nedělej to! Krev už byla smíchána s EDTA během odběrového procesu, což následně zkreslí naměřené výsledky! Vzorky nikdy nesmí být přelévány z jedné odběrové zkušavky do druhé.“

(Moritz et al., 2014)



SARSTEDT

3. Přehled typů materiálů a zkumavek



Krev umožňuje testování několika složek, které jsou zde stručně představeny. Jedná se o plnou krev, sérum a plazmu. Tyto složky se liší ve své skladbě. Další zpracování vzorku závisí na typu vzorku.

Plná krev se využívá s přidaným antikoagulans (např. heparinem nebo EDTA). To zabraňuje srážení krve a usnadňuje separaci tekutých složek krve od pevných složek.

Plazma se získává z plné krve s přidaným antikoagulans (např. heparinem nebo EDTA) a následně je oddělena centrifugací na krevní buňky (pevnou složku) a plazmu (tekutou složku). Na rozdíl od séra, plazma obsahuje všechny srážecí faktory krve, protože tyto nebyly využity ke srážení.

Sérum se také získává z plné krve, avšak bez přídavku antikoagulans, obvykle s přídavkem induktoru srážení. Vzorek tedy srážením projde a může být následně centrifugován po 30 minutách vzpřímeného stání. Sérum neobsahuje žádné srážecí faktory, protože byly využity během procesu srážení (Moritz et al., 2014).



Poznámka

„Pokud je doba, po kterou se krev sráží, příliš krátká, sérum může vytvořit gelovitou konzistenci, což ztíží nebo znemožní testování!“

(Moritz et al., 2014)



3.1. Sérum vs. plazma - v čem je rozdíl?

Sérum	Plazma
...supernatant z plně sraženého vzorku	...supernatant ze vzorku s antikoagulans
...neobsahuje fibrinogen	...obsahuje fibrinogen
...méně výtěžné	...více výtěžné
...vzorek musí nejprve koagulovat, než jej lze centrifugovat.	...vzorek lze ihned centrifugovat.

Koagulum se vytváří ve tvaru, jaký zaujmou krvinky ve zkumavce.

To znamená, že pokud je S-Monovette® po odběru krve položena vodorovně, krvinky sedimentují a vytvoří podlouhlý tvar.

Tato forma může být během centrifugace stlačena. Po centrifugaci se však opět roztáhne.



Poznámka

„Sérum z takového vzorku nelze snadno pipetovat. Proto je důležité držet naplněné sérové zkumavky vzpřímeně.“





Vzorek po centrifugaci, který koaguloval ve vzpřímené poloze.



Vzorek po centrifugaci, který koaguloval v horizontální poloze.

3.2. Přehled odběrových materiálů

Běžně používané zkumavky a jejich hlavní použití jsou uvedeny v následující tabulce:

Odběrový materiál	Použití
Citrát	Hemostazeologie
Fluorid sodný	Glukóza/laktát
Sérum	Klinická biochemie
Lithium heparin	Hematologie/Klinická biochemie
EDTA	Hematologie

3.2.1. Barevné kódy zkumavek

Nenechte se zmást různými barvami zkumavek!

Rychlouzávěry zkumavek indukují materiál (antikoagulant / induktor koagulace) ve zkumavce.

Upozorňujeme, že existují dva různé barevné kódy.

- „EU barevný kód“
(na základě British Standard BS 4851)
- „ISO barevný kód“
(na základě mezinárodního standardu ISO 6710)

Nejlépeší je se v rámci laboratoře a praxe dohodnout na jednom z těchto dvou barevných kódů. I tak je přesný přípravek uveden na zkumavce.



3.2.2. Lithium heparinové zkumavky

Toto jsou „velcí hráči“ mezi zkumavkami, protože krev s lithiium heparinem lze použít pro stanovení krevního obrazu a plazmu s lithiium heparinem lze použít pro analýzu mnoha biochemických parametrů (aby se předešlo hemolýze, je ideální vzorek předem centrifugovat, pokud však z téhož vzorku není požadován i krevní obraz). Výtěžek z plazmy je také o něco vyšší než ze séra, protože u séra vždy zůstává větší podíl tekutiny v koagulu (Moritz et al., 2014). Zkumavky s heparinem jsou obzvláště oblíbené mezi těmi, kteří pečují o drobné savce nebo exotická zvířata, protože obvykle lze odebrat pouze malý objem vzorku.

Pozor: Vzorky ve zkumavkách s lithiium heparinem nejsou vhodné pro PCR analýzy kvůli inhibičnímu účinku (Schrader et al., 2012).



Poznámka

„Důležité: Kdykoliv je to možné, měla by být použita pro biochemickou analýzu stejná látka (sérum nebo plazma). To platí zejména pro opakované analýzy, protože u některých analytů, jako je draslík, se mohou v séru a plazmě vyskytovat různé koncentrace.“

(Humann-Ziehank and Ganter, 2012; Braun et al., 2015)



SARSTEDT

3.2.3. EDTA zkumavky

EDTA (kyselina etylendiamintetraoctová) je chelatační činidlo. Působí jako antikoagulant tím, že váže kovové ionty, zejména vápníkové ionty, které jsou nezbytné pro srážení krve. Existují různé formy EDTA, včetně dipotasně a tripotasně EDTA (Moritz et al., 2014). Krev v EDTA zkumavkách se především používá pro stanovení krevního obrazu.

Okamžitě po odběru krve je důležité jemně převrátit zkumavku, aby se zabránilo tvorbě sraženin, protože jinak již nebude možné vzorek spolehlivě testovat (Vap et al., 2012)! EDTA zkumavky by nikdy neměly být plněny jako první, protože existuje riziko kontaminace jehly EDTA. To může vést k nesprávným měřením u mnoha parametrů (Sharratt et al., 2009).

Vzorky EDTA nejsou potřeba pouze pro stanovení krevního obrazu, ale také pro sérologické krevní skupiny. Mohou být rovněž použity pro genetické testy a detekci patogenů pomocí PCR (polymerázové řetězové reakce), pokud je hledaný patogen přítomen v krvi. Pro mnoho vyšetření, jakými jsou stanovení ACTH nebo pro-BNP, je však potřeba centrifugovaná a pipetovaná EDTA plazma (podrobnosti o centrifugaci vzorků a jejich označování naleznete na str. 48 a násl.).



Poznámka

„Důležité! U plazů a některých ptačích druhů je použití EDTA kontraindikováno, protože EDTA může způsobit hemolýzu, která znemožní pozdější vyhodnocení.“

(Nardiní et al., 2013)



SARSTEDT

3.2.4. Zkumavky na sérum

Sérové zkumavky obvykle obsahují induktory, které vedou k rychlému srážení krve. Sérum lze použít pro analýzu mnoha biochemických parametrů a pro řadu sérologických testovacích metod. Elektroforéza séra, jak název naznačuje, by měla být také prováděna ze séra.



Sérové gelové zkumavky:

Tyto zkumavky mají podobné využití jako sérové zkumavky. Jejich výhodou je, že po centrifugaci odděluje gel jednotlivé vrstvy, což eliminuje potřebu pipetovat supernatant.



„Tady mám trubičku s označením CAT. Je to jen pro kočky?“

„Ne, sérové zkumavky jsou také označeny zkratkou CAT, která znamená ‘Clot Activator’ (aktivátor srážení).“

(Moritz et al., 2014)



Neutrální zkumavky:

Neutrální zkumavky jsou označeny „Neutral“ nebo „Neutral Z“. Neobsahují žádné látky a používají se buď jako sérové zkumavky, nebo pro přenos vzorků plazmy (např. citrátové plazmy).



3.2.5. Citrátové zkumavky

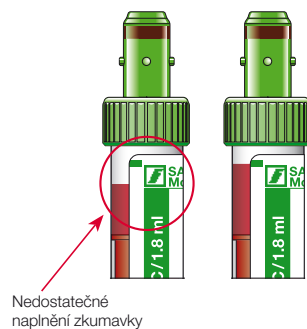
Poměr míchání pro citrátovou krev je obecně 9:1. Citrátová krev a/nebo citrátová plazma jsou nezbytné pro hemostazeologické vyšetření. Při správném zacházení je třeba zvážit několik důležitých bodů:

1. Citrátové zkumavky by nikdy neměly být plněny jako první (Moritz et al., 2014), protože při stagnaci procesu dochází k iniciaci srážení.
2. I když je třeba zajistit, aby u všech zkumavek nebyla překročena doba jejich expirace (Braun et al., 2015), je to zvláště důležité u těchto zkumavek! V případě pochybností by měly být objednány nové zkumavky.
3. Je nezbytné, aby byly zkumavky během odběru vzorku naplněny přesně až po rysku. Přeplnění nebo nedostatečné naplnění vede k nespolehlivým výsledkům analýz. V některých případech již vzorek nelze testovat.
4. U většiny parametrů koagulačních testů se doporučuje vzorek okamžitě centrifugovat a pipetovat a pro analýzu použít chlazenou citrátovou plazmu (viz 3.2.4. neutrální zkumavky). Nicméně pro trombelastografii je vyžadována citrátová plná krev!



Optimální objem naplnění se liší mezi zkumavkami. Podívejte se na rysku pro značku úrovně naplnění, kterou je třeba dodržet u dvou zkumavek vpravo. Je nezbytné se vyhnout nedostatečnému naplnění a i přeplnění!

Sraženiny nejenže vedou k chybným výsledkům, ale mohou také zablokovat kapiláry hematologického zařízení (Moritz et al., 2014).



3.2.6. Zkumavky na glukózu/laktát

Tyto zkumavky jsou vhodné pouze pro stanovení laktátu a glukózy. Jsou zvláště důležité, když glukózu nelze stanovit přímo v praxi, ale je odeslána do externí laboratoře. Fluorid sodný by měl zastavit degradaci glukózy ve vzorku, a proto mohou být zkumavky s fluoridem sodným použity pro stanovení koncentrace glukózy (Braun et al., 2015).



3.3. Který materiál je vhodný pro jaký test?

Ne každý materiál může být použit pro každý test. Následující tabulka poskytuje přehled, které testy jsou rozumně proveditelné z jednotlivých složek krve.

Možné použití různých materiálů

Antikoagulant	Složka	Hematologie	Krevní nátěr	Biochemie	Sérologie	Hemostazeologie
EDTA	plná krev	ano	ano	ne	ne	ne
EDTA	plazma	ne	ne	s omezením	s omezením	ne
Heparin	plná krev	ano	s omezením	ne	ne	ne
Heparin	plazma	ne	ne	ano	ano	ne
citrát	plná krev	ne	ano	ne	ne	s omezením
citrát	plazma	ne	ne	ne	ne	ano
NaF (fluorid sodný)	plazma	ne	ne	glukóza, laktát	ne	ne
Bez antikoagulans	sérum	ne	ne	ano	ano	ne

4. Běžné chyby v preanalytice



4.1. Interferující faktory

Hemolýza, nedostatečné naplnění zkumavky a krevní sraženiny patří mezi nejběžnější interferující faktory v preanalytice. Následující tabulka poskytuje přehled příčin a ovlivněných parametrů.

Běžné interference a jejich příčiny

Interference	Příčina	Ovlivněné parametry
Sraženiny	Přeplnění EDTA, lithium heparinu nebo citrátu	Hematologie vč. počtu trombocytů, hemostazeologie
Hemolýza	Nestočený vzorek, nesprávná centrifugace, chyba při pipetování, dlouhá doba skladování, velmi vysoké teploty, mraz.	Různé biochemické parametry, včetně falešně vysokých koncentrací draslíku a falešně nízkých koncentrací vápníku.
Lipemie	Pacient bez hladovky, léky, endokrinopatie a různé další patologické změny.	Různé biochemické parametry, stejně jako některé parametry krevního obrazu; například měření hemoglobinu může v lipemických vzorcích vykazovat falešně vysoké výsledky.
Medikace	Terapie (např. infuze, glukokortikoidy, antibiotika, sedativa)	Liší se v závislosti na léku a parametru (falešně vysoké nebo falešně nízké hodnoty), například u podání glukokortikoidů jsou u psů typické zvýšené jaterní enzymy (zejména alkalická fosfatáza).
Přeplnění nebo nedostatečné plnění	Nedodržení specifikované úrovně naplnění	Hemostazeologie



Poznámka

„Kontaminace EDTA, například v důsledku nesprávného pořadí odběru vzorků, může vést k typickým změnám, jako jsou velmi vysoké hodnoty draslíku a nízké hodnoty vápníku.“



4.1.1. Hemolýza

Hemolýza může mít různé příčiny. Hemolýza často vzniká *in vitro*, například v důsledku dlouhodobé aplikace škrtilidla, fyzikálních sil (příliš tenká jehla, ohnutá jehla), traumatického vpichu do žíly („píchnutí“), příliš intenzivního převrácení nebo třepání vzorku krve, příliš vysokých nebo nízkých teplot, příliš vysoké otáčecí rychlosti při centrifugaci, kontaminace vodou nebo dezinfekčními prostředky, stejně jako u vzorků které jsou příliš staré. I když k hemolýze dochází častěji *in vitro*, hemolýzu *in vivo* je vždy třeba také zvážit.



Důsledky hemolýzy

Uvolnění buněčného obsahu – rozdíly v koncentracích

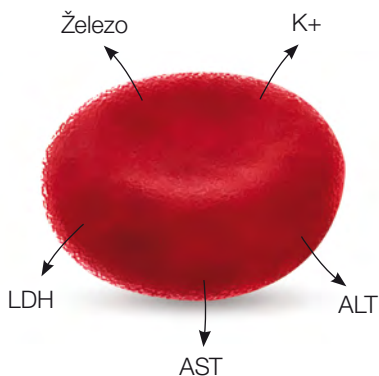
Látky, které jsou přítomny ve vyšších koncentracích v červených krvinkách (intracelulární koncentrace), unikají do séra/plazmy (extracelulární koncentrace) v důsledku destrukce membrány erytrocytů během hemolýzy. Důsledkem jsou falešně vysoké naměřené výsledky.

Uvolnění buněčného obsahu – optické interference

Během hemolýzy je do séra/plazmy uvolněn hemoglobin, červený krevní pigment. To může vést k falešným měřicím signálům ve fotometrických analýzách.

Falešný měřicí signál = falešný výsledek

(Humann-Ziehlank and Ganter, 2012)



Poznámka

„Hemolýza označuje únik intraerytrocytárních látek v důsledku poškození buněčné membrány. V důsledku červeného zabarvení séra/plazmy vznikají problémy při měření, zejména při fotometrických testech.“



SARSTEDT

4.1.2. Hyperlipidemie (lipemie)

Lipemie může ovlivnit řadu parametrů (Braun et al., 2015). V závislosti na stupni lipemie se může stát, že některé parametry nelze stanovit vůbec. Odběr krve u masožravých zvířat je nejlepší provádět nalačno (zhruba 12 hodin hladovky). Příčiny lipemie mohou být různé - zatímco v nejjednodušším případě jde pouze o postprandiální hyperlipidemii, vlivy diety, léků stejně jako endokrinologické, zánětlivé, neoplastické či genetické příčiny mohou také hrát roli (Xenoulis a Steiner, 2015). Opakovaně se vyskytující hyperlipidemie by proto měla být dále vyšetřena.



Lipemický vzorek



Poznámka

„Správné laboratorní výsledky jsou zásadní pro další rozhodování o léčbě - vyžadují však dobrou kvalitu vzorku, tedy dobrou preanalytiku.“



4.1.3. Žloutenka/Ikterus

Různé interference v měření se mohou vyskytnout u ikterických vzorků (Martínez-Subiela et al., 2002; Berlanda et al., 2020). Je proto důležité, aby byly vzorky zkontrolovány vizuálně na případnou diskoloraci a také prostřednictvím specifického měření. Upozornění: Je důležité mít na paměti, že plazma/sérum koní má fyziologicky žlutou barvu!



Ikterický vzorek



Poznámka

„Dobře, že pomocí indexů pro hemolýzu, lipemii a ikterus mám okamžitě představu o kvalitě svého vzorku! Mohu tak lépe posoudit, jak mám výsledky příslušných testů interpretovat.“



SARSTEDT

5. Odběr vzorků



V závislosti na druhu zvířete jsou pro odběr žilní krve vhodné různé žíly. Následující tabulka poskytuje přehled o tom, které žíly jsou běžně používány pro odběry u daných druhů zvířat.



Poznámka

„Vždy se ujistěte, že během odběru vzorku chráníte také sebe a používejte rukavice!“



Možná místa pro odběr vzorku krve

Druh	<i>V. jugularis</i>	<i>V. saphena lateralis</i>	<i>V. saphena medialis</i>	<i>V. cephalica na předloktí</i>	<i>V. auricularis</i>	<i>V. facialis</i>
Pes	×	×		×		
Kočka	×		×	×		
Králík/zajíc		×		×	(×)	
Fretka		×		×		
Morče		×		×		
Krysa/potkan, myš, pískomil		(×)				×
Kůň	×		(×)	(×)		

(Moritz et al., 2014)

U malých zvířat se odebírá nejlépe pomocí jehly 20-G z *v. cephalica* na předloktí (Moritz et al., 2014).

Správné řešení pro každé zvíře - společně pro lepší životní podmínky zvířat.

Ve veterinárních ordinacích/klinikách se setkáváme s mnoha různými druhy zvířat, která mají své vlastní, velmi individuální požadavky. SARSTEDT vám nabízí správná řešení pro preanalytiku ve veterinární medicíně.

S-Monovette® – bezpečný, šetrný a hygienický odběr krve u malých zvířat.

Multivette® – odebírejte krev od malých zvířat šetrně a snadno pouze s využitím tlaku žilní krve.

Mikro jehla – i od obzvláště drobných zvířat je možné spolehlivě odebrat každou kapku, např. do mikrozkrumavky nebo Microvette®.

Žilní krev je obecně vyžadována pro většinu analýz. Ve vzácných případech je nutná/ vhodnější kapilární nebo arteriální krev, například pro analýzu krevních plynů (arteriální krev) nebo v případě podezření na babesiózu (kapilární krev).



Doporučuje se postupovat následovně:

1. Připravte si dostatečné množství potřebného vybavení.
2. Přiveďte si asistenty.
3. Dezinfekce rukou. Rukavice.
4. Zhodnoťte cévy a vyberte.
5. Oholte/ostříhejte a dezinfikujte.
6. Přestaňte poklepávat na místo vpichu.
7. Požádejte asistenta o nasazení škrtidla.
8. Odstraňte ochranný kryt bezpečnostní jehly.
9. Zkosená strana jehly směřuje nahoru.
10. Úhel vpichu menší než 30°.
11. Napněte kůži; fixujte žílu.
12. Pokud je potřeba "varujte" asistenta.
13. Uvolněte škrtidlo, pokud krev vytéká.
14. Odeberte vzorky; poznačte si pořadí odebraných vzorků.



„Máš nějaké další tipy pro odběr krve?“

„Určitě! Zabraňte dlouhodobému působení škrtidla, může to ovlivnit řadu parametrů jako např. draslík. Vyhnete se také pumpování krve.“

(Moritz et al., 2014)



SARSTEDT



Odběr krve u velkého psa pomocí S-Monovette® a bezpečnostní jehly

Podívejte se
na video!



Odběrový systém S-Monovette® umožňuje uzavřený odběr krve pomocí dvou technik. Technika aspirace usnadňuje odběr krve tak, že se přizpůsobuje průtoku krve, což je šetrnější. Při vysokém průtoku krve umožňuje duální systém S-Monovette® také konvenční vakuovou techniku odběru krve.

Odběr pomocí S-Monovette® a bezpečnostní jehly významně snižuje riziko přenosu EDTA.

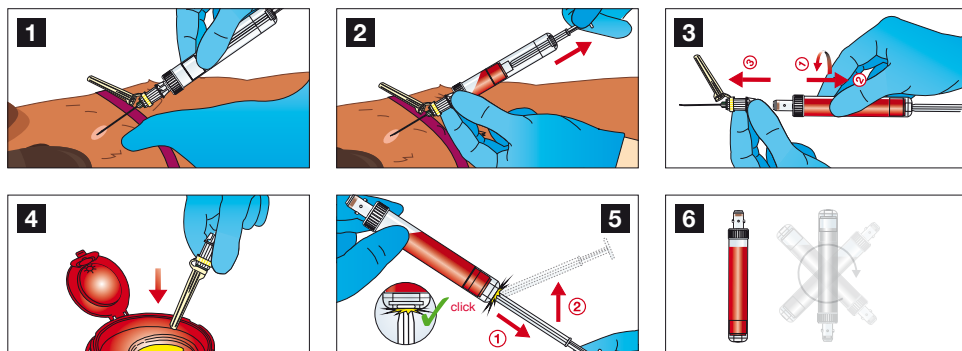
(Sulaiman, 2011)



„Pokud si nejste jistí, zda bude objem vzorku stačit na všechna požadovaná vyšetření, můžete jednoduše uvést vaše preference v pořadí vyšetření. Důležité: Pokud například odešlete pouze jeden vzorek Li-heparinové krve a jako prioritu uvedete biochemické parametry, nebude následně možné vyšetřit krevní obraz po odstředění vzorku.“



Odběr krve s S-Monovette® odběrovým systémem



Jakmile je pacient a potřebný materiál připraven na odběr krve, pak se postupuje následovně:

1. Zvolená žíla je napíchnuta pomocí bezpečnostní jehly s napojenou zkumavkou S-Monovette®.
2. Píst S-Monovette® je pomalu vytahován podle toku krve, až na konec zkumavky, dokud se tok krve nezastaví.
3. S-Monovette® lze snadno odpojit od bezpečnostní jehly otočným pohybem. To umožňuje vícenásobný odběr vzorků jednou jehlou.
4. Po odběru krve lze bezpečnostní jehlu jednoduše uzavřít do krytky a zlikvidovat.
5. Jakmile jsou všechny zkumavky S-Monovette naplněny a je postaráno o pacienta, všechny písty S-Monovette zkumavek se vytáhnou až do slyšitelného kliknutí. Následně jsou písty odlomeny.
6. Několikrát zkumavky otočte, promíchejte a vzorky jsou nyní připraveny pro laboratoř.

Pro využití vakuové techniky odběru krve pomocí S-Monovette®, vytáhněte píst až do konečné pozice a odlomte jej. To vytvoří ve zkumavce "čerstvé" vakuum. Jakmile je S-Monovette® spojen s jehlou, zkumavka se naplní díky vakuu.



Podívejte se
na video!

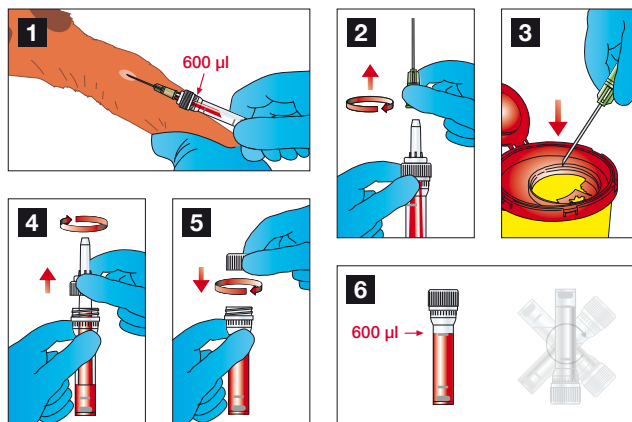


Odběr krve od kočky s použitím zkumavky Multivette® 600 a jehly Luer

Zkumavka **Multivette® 600** je navržena pro malé objemy krve činící 600 μ l. Krev je odebírána v prakticky uzavřeném stavu, prostřednictvím přirozeného tlaku krve. Díky tomu je odběr obzvlášť snadný a šetrný.

Vzorek krve může být odstředěn přímo ve zkumavce Multivette® 600. Tím odpadá přenos vzorku a šetří se čas. Malý vnitřní průměr usnadňuje pipetování po odstředění. Navíc může být vzorek bezpečně uzavřen a poslán do laboratoře.

Odběr krve se zkumavkou Multivette® 600



Jakmile je pacient a potřebný materiál připraven na odběr krve, pak se postupuje následovně:

1. Zvolenou žílu lze jednoduše napíchnout s Multivette® a komerčně dostupnou jehlou Luer. Díky vnitřní kapiláře se zkumavka Multivette® 600 plní sama prostřednictvím tlaku krve, což činí odběr krve obzvláště šetrný a jednoduchý. Plnicí čára naznačuje, kdy je zkumavka Multivette® 600 zcela naplněna.
2. Po odběru je jehla Luer odstraněna.
3. Jehla Luer se likviduje do příslušného boxu pro likvidaci odpadu.
4. Speciální design zkumavky Multivette® 600 napomáhá toku krve z kapiláry, když je zkumavka Multivette® držena ve svislé poloze a otevřená.
5. Zlumas Multivette® je uzavřena přiloženým šroubovacím uzávěrem.
6. Nyní zkumavku několikrát převraťte pro promíchání vzorku, a ten je tak připraven pro laboratoř.



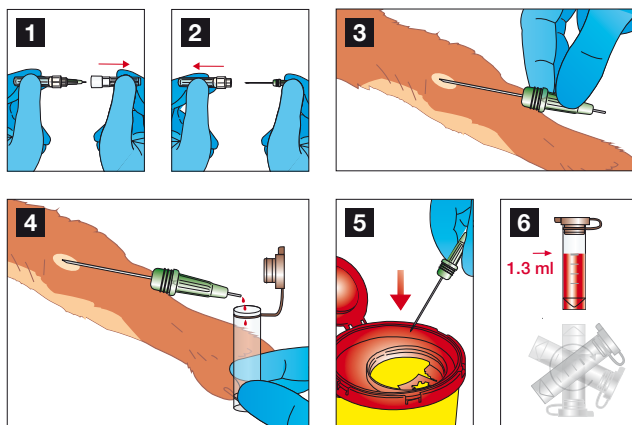
Podívejte se
na video!



Odběr krve od kočky s využitím Micro jehly a Micro zkumavky.

Zejména u velmi malých zvířat či při obtížně dostupných cévách se počítá každá kapka krve. Speciální **Micro jehla** zajistí, že každá kapka krve poteče do zkumavky a nedojde k jejímu sražení. Správná odběrová zkumavka může být zvolena podle očekávaného objemu vzorku. Micro zkumavky jsou vhodné pro objem 1,3 ml. Pro menší pacienty je vhodnou volbou zkumavka Microvette® s objemem 100-500 µl.

Odběr krve pomocí Micro jehly a Micro zkumavky



Jakmile je pacient a potřebný materiál připraven na odběr krve, pak se postupuje následovně:

1. Micro jehla je otevřena na transparentní straně.
2. Poté je Micro jehla uchopena za žebrovaný držák a ochranný kryt je odstraněn.
3. Zvolená žíla je napíchnuta.
4. Krev je odebrána do patřičné zkumavky.
5. Po odběru je Micro jehla bezpečně odstraněna do patřičného boxu na odpad.
6. Nyní zkumavku se vzorkem několikrát otočte pro promíchání, a vzorek je tak připraven pro laboratoř.

6. Bezpečnost při odběru vzorků



Jsou známy různé zoonotické patogeny a jejich riziko pro člověka, například *Bartonella*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Chlamydie*, *Coxiella*, *Dermatofyta*, *Giardie*, *Cryptosporidie*, *Leptospira*, *Listerie*, *Pasteurella*, virus vztekliny, *Salmonella*, *Toxoplasma* a řada dalších (Jackson a Villarroel, 2012). Proto je vhodné zavést a pravidelně testovat specifická bezpečnostní pravidla v praxi. Mezi ně patří například dodržování obecné hygieny a dodržování příslušných bezpečnostních opatření (rukavice, v případě potřeby obličejová maska, zakrývání otevřených ran atp.). Je třeba se vyvarovat (znovu-)používání potenciálně kontaminovaného vybavení. Mělo by se také zajistit, aby očkování bylo vždy aktuální. Stálý výbor pro očkování také doporučuje očkování na vzteklinu pro veterinární lékaře (Epidemiologický bulletin [Epidemiology Bulletin], 2023).

Musí být k dispozici vhodné kontejnery na odpad, které se používají na sběr špičatých nebo ostrých předmětů. Tyto nesmí být přeplněné.

Bezpečnostní informace

- Používejte pouze boxy vhodné velikosti pro likvidaci určených předmětů
- Před použitím musí být namontováno víko a zajištěno na svém místě
- Box by měl být zajištěn pomocí doporučeného mechanismu, buď přišroubováním nebo přimontováním na stěnu, aby se zabránilo jeho převržení
- Zvláštní opatrnost dbejte při likvidaci skalpelů (riziko naklonění a poškození stěn či dna boxu)
- Předměty určené k likvidaci vhazujte do boxu pouze ve svislé poloze
- Nevkládejte/netlačte předměty do boxu silou
- Nelijte do boxu tekutiny
- Nesahejte do boxu rukou či jinými předměty (riziko poranění!)
- Neházejte s boxem, netřeste s ním a ani jej nepusťte na zem
- Před uzavřením boxu se ujistěte, že žádný předmět nevyčnívá z víka
- Před vyhozením boxu pečlivě zkontrolujte, že je víko pevně uzavřené

Doporučení:

Naplňujte Multi-Safe box pouze zhruba do 2/3 kapacity!

Nepřeplňujte Multi-Safe box:

Riziko poranění!

Sledujte linii naplnění!



Zpracování vzorků

Důležité: Před jakýmkoli dalším zpracováním musí být zajištěno, že jsou vzorky jednoznačně přiřazeny k danému pacientovi a jsou správně označeny! Další informace k tomuto tématu najdete v kapitole 8 “Označení, uchování a transport”.

Zkumavky se vzorky jsou správně označeny, pokud:



- obsah je jasně viditelný.
- je možné zkontrolovat úroveň naplnění.
- šroubovací uzávěr může být bez potíží odstraněn.
- zkumavky a štítky se nezasekávají či nelepí k sobě v odstředivce.



„Tak já si ty vzorky vezmu rovnou na další zpracování...”

„Počkej! Vzorky mohou opustit místo odběru a pacienta pouze, pokud jsou označeny čárovým kódem přiřazeným k danému pacientovi.”



SARSTEDT

7. Příprava na laboratorní analýzu



Předtím než jsou vzorky vyšetřeny na klinice nebo odeslány do externí laboratoře, musí být patřičně připraveny. **Použití séra nebo plazmy místo plné krve má některé výhody a v mnoha případech je z těchto důvodů preferováno:**

- Stabilita a skladovatelnost: Vzorky séra mají obecně delší skladovatelnost než vzorky plné krve. Touto cestou lze předejít hemolýze během skladování. To je zejména důležité, pokud je vzorek transportován na delší vzdálenost nebo jsou testy prováděny později.
- Standardizace: Použití séra nebo plazmy je standardizováno v laboratořích a pro analytické vybavení.
- Lepší přesnost a reprodukovatelnost: Odstranění krevních buněk může pomoci zlepšit přesnost a reprodukovatelnost laboratorních testů (platí hlavně pro in-house vybavení).

Existují ale i situace, kdy je vyžadován vzorek plné krve, a to zejména pokud jsou prováděny specifické testy založené na krevních buňkách. To je případ všech hematologických vyšetření. Vzhledem k tomu, že krevní buňky reagují velmi citlivě na změny v souvislosti se skladováním, teplotou, transportem a časem, měly by být analýzy provedeny během několika hodin, nejpozději do 2 dnů, od odběru vzorku (plná krev skladována v chladu). Aby se zabránilo těmto změnám (degenerace buněk začíná okamžitě po odběru krve), měl by být okamžitě zhotoven také krevní nátěr.

7.1. Odstředění

Odstředění vzorku krve se využívá k oddělení pevných částí (buňky, krevní sraženiny) od tekuté složky.

K tomu lze využít různé odstředivky - je však nezbytné, aby byly vzorky odstředěny přímo v praxi. Důležité je také rozlišovat mezi rychlostí a silou g (gravitační silou). Síla g je hodnota, která je významná pro správný výsledek odstředění. Je velice důležitá při nastavování odstředivky.

Síla g lze vypočítat pomocí poloměru (cm) a počtu otáček za minutu (rpm):



„Odstředění je fyzikální separační proces založený na různém poměru hustot jednotlivých složek jako jsou krevní buňky a plazma.”



$$g = 11.18 \times r \times \left(\frac{n}{1,000}\right)^2$$

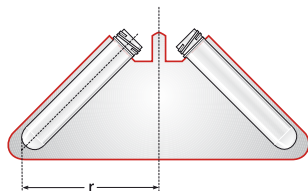
r = poloměr v cm
 n = otáčky za minutu (rpm)

Pro převod síly g na počet otáček za minutu (rpm) nebo naopak můžete využít kalkulačku na této adrese www.sarstedt.com/en/service/centrifugation/.

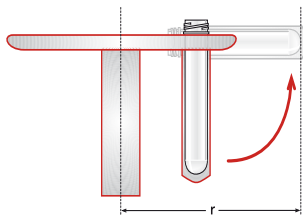
Poloměr odstředivky r najdete v informacích od výrobce odstředivky nebo jej můžete určit pomocí následujících obrázků:



Rotor s pevným úhlem



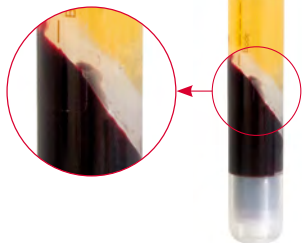
Výkyvný lopatkový rotor



Rozdíl mezi rotorem s pevným úhlem a výkyvným lopatkovým rotorem

Pro gelové Monovette zkumavky doporučujeme používat odstředivky s výkyvným lopatkovým rotorem. Zkumavky v odstředivce s rotorem s pevným úhlem jsou umístěny pod šikmým úhlem. Zkumavky v odstředivce s výkyvným lopatkovým rotorem se během odstředění pohybují ze svislé do vodorovné polohy. Během odstředování tak může odstředivá síla působit rovnoměrně od víka směrem ke dnu zkumavky. Výsledkem pak je dobře vytvořená vodorovná vrstva gelu.

Rotor s pevným úhlem



Výkyvný lopatkový rotor



SARSTEDT

Sérum i plazma jsou běžně odstředovány silou 2000 x g po dobu 10-15 minut.

Po odstředění je sérum nebo plazma oddělena od zbytku krve, aby se předešlo následné hemolýze.

Minimální čas odstředění

Na základě BS 4851 (předpis EU)	Na základě DIN ISO 3710 (ISO předpis)	S-Monovette®	Relativní odstředivá síla (g)				
			2000 x g	2500 x g	3000 x g*	3500 x g*	4000 x g*
		Serum	10 min	10 min	6 min	4 min	4 min
		Serum gel	15 min	10 min	4 min	4 min	4 min
		Li heparin	10 min	10 min	7 min	7 min	7 min
		Li heparin gel	15 min	15 min	10 min	7 min	7 min
		Li heparin gel+	8 min	7 min	5 min	4 min	4 min
		EDTA gel	15 min	10 min	10 min	7 min	7 min
		Citrate	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Fluoride	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		GlucoEXACT	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Citrate PBM 1.8 ml Poloměr odstředivky > 17 cm	9 min	8 min	7 min	6 min	5 min
		Citrate PBM 1.8 ml Poloměr odstředivky > 9 cm a ≤ 17 cm	n.v.	n.v.	10 min	n.v.	n.v.

n.v. = neověřeno

Odstředění při 20°C

* Platí pro všechny S-Monovette zkumavky kromě Ø 8 mm (S-Monovette pro pediatrii).

Opětovné odstředění

Opětovné odstředění vzorku se nedoporučuje (CLSI, 2010).

V takových případech mohou lyzované složky krve difundovat zpět z odstředěných krevních buněk do séra nebo plazmy. V důsledku toho dochází ke změnám například v parametrech citlivých na buněčný rozpad jako je draslík, fosfor, glukóza nebo LDH (Hue et al., 1991).

7.2. Jak zhotovit krevní nátěr?



„Mohu použít jakoukoliv krev pro přípravu krevního nátěru?“

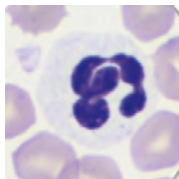
„Ne. Krev musí být nesrážlivá. Plná krev na sérum nebo zbytek krve, který zůstal v jehle po odběru, nelze použít.

Antikoagulantem volby je EDTA. Pokud je to nutné, lze využít i heparin nebo citrát.“

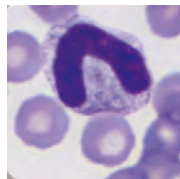


Jak bylo zmíněno výše, jeden nebo více krevních nátěrů by mělo být zasláno s každým vyšetřením. To platí zejména, pokud je dodatečně vyžadováno i cytomorfologické vyšetření, například pro ověření počtu destiček z analyzátoru, nebo pokud je podezření na přítomnost jaderných erytrocytárních prekurzorů, změn v morfologii erytrocytů, atypických leukocytů, posunu doleva nebo aglutinátů.

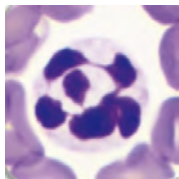
Hematologie - pes



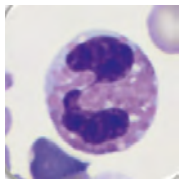
Segmentovaný
neutrofilní granulocyt



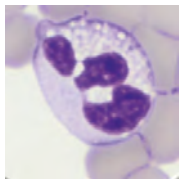
Neutrofilní granulocyt
- tyč



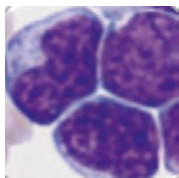
Hypersegmentovaný
neutrofilní granulocyt



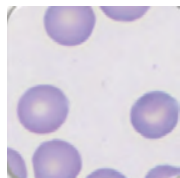
Segmentovaný
eozinofilní granulocyt



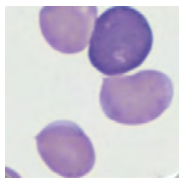
Segmentovaný
eozinofilní granulocyt u
chrtů



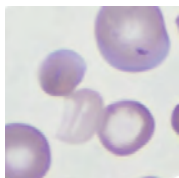
Velké atypické
neoplastické lymfocyty



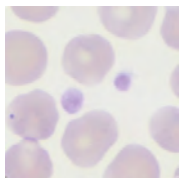
Fyziologické erytrocyty



Polychromazie

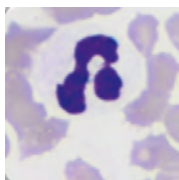


Anizocytóza

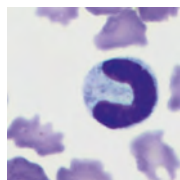


Fyziologické trombocyty

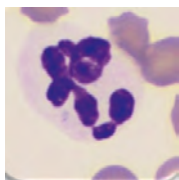
Hematologie - kočka



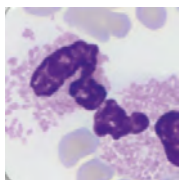
Segmentovaný
neutrofilní granulocyt



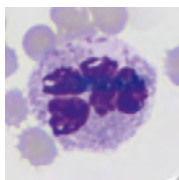
Neutrofilní granulocyt
- tyč



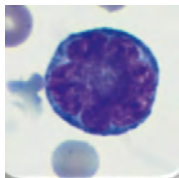
Hypersegmentovaný
neutrofilní granulocyt



Segmentovaný
eozinofilní granulocyt



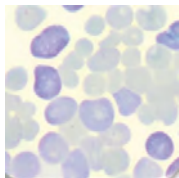
Segmentovaný
bazofilní granulocyt



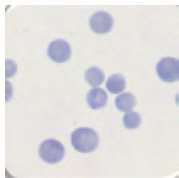
Středně velký, tmavě
bazofilní a atypický
reaktivní lymfocyt



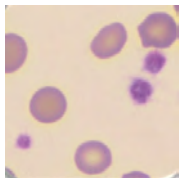
Fyziologické erytrocyty



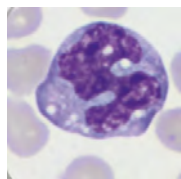
Polychromazie



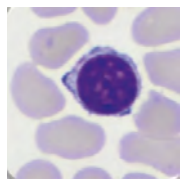
Anizocytóza



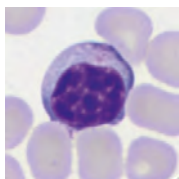
Fyziologické trombocyty



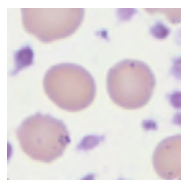
Aktivovaný monocyty



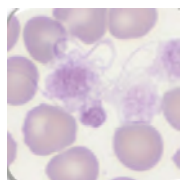
Malý zralý lymfocyt



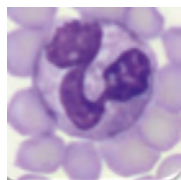
Malý zralý reaktivní lymfocyt



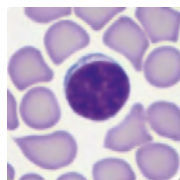
Trombocytóza



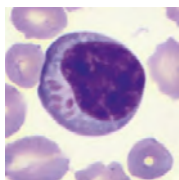
Makrotrombocyty



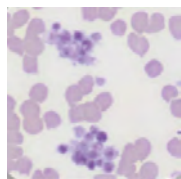
Monocyty



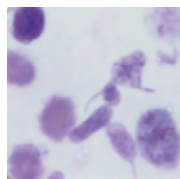
Malý zralý lymfocyt



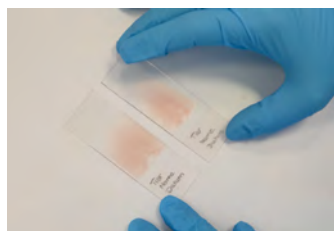
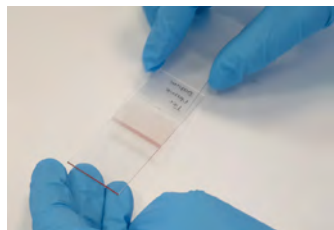
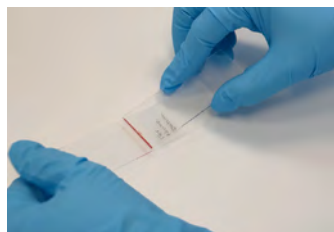
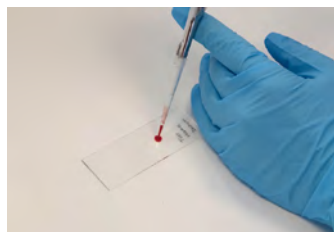
Velký granulovaný lymfocyt (LGL)



Agregáty trombocytů

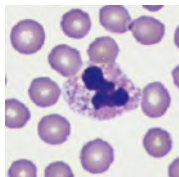


Atypické trombocyty

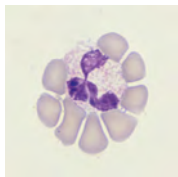


SARSTEDT

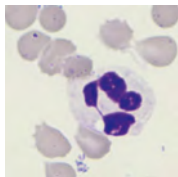
Hematologie - drobní savci



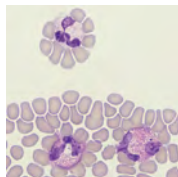
Segmentovaný heterofil,
králík



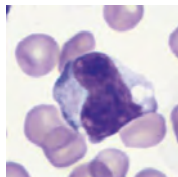
Segmentovaný heterofil,
morče



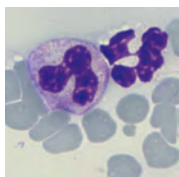
Segmentovaný neutrofil,
fretka



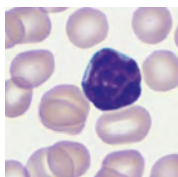
Heterofil (nahoře),
eozinofil (dole), morče



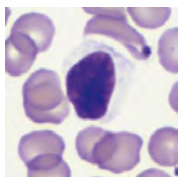
Aktivovaný monocyt,
králík



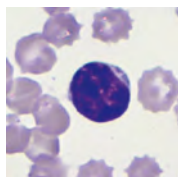
Eozinofil, fretka



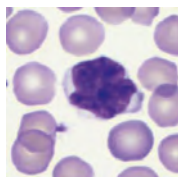
Malý zralý lymfocyt,
morče



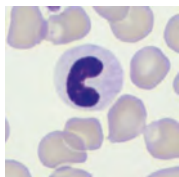
Malý zralý reaktivní
lymfocyt, králík



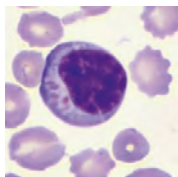
Lymfocyt, fretka



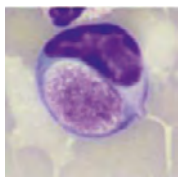
Atypický reaktivní
lymfocyt, králík



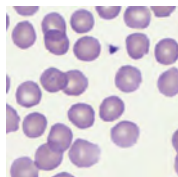
Neutrofilní tyč, fretka



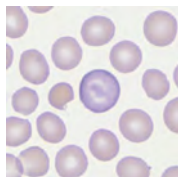
Velký granulovaný
lymfocyt (LGL), morče



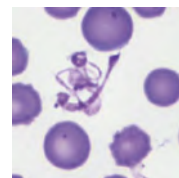
Kurloffova buňka, morče



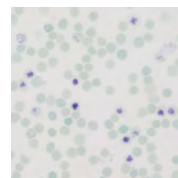
Fyziologické erythrocyty,
králík



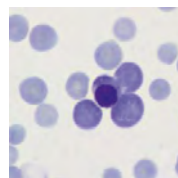
Anizocytóza,
polychromazie, králík



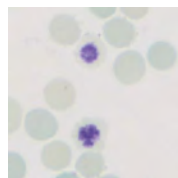
Atypické trombocyty,
morče



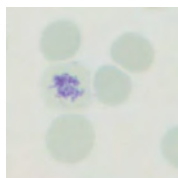
Retikulocyty, králík



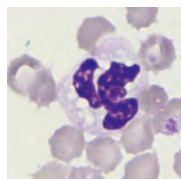
Erytroblast, králík



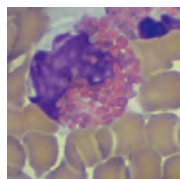
Retikulocyty I, králík



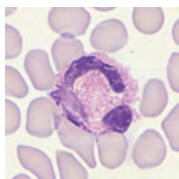
Retikulocyty II, králík



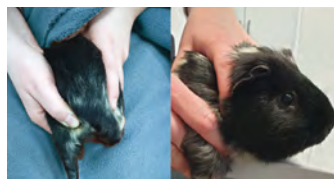
Monocyt, fretka



Eozinofil, králík



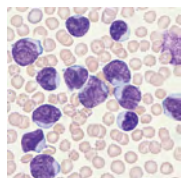
Eozinofil, morče



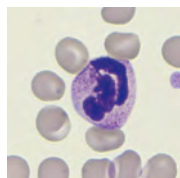
Místa odběru krve u morčat

Vlevo: v. *saphena*: vpich laterálně od Achillovy šlachy (střední třetina dolní končetiny) pod úhlem $< 45^\circ$

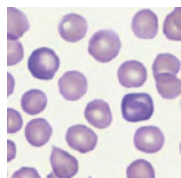
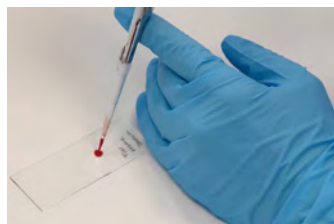
Vpravo: v. *cephalica* na předloktí



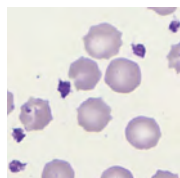
Velké atypické neoplastické lymfocyty, morče



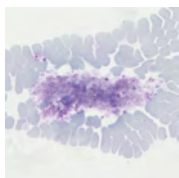
Bazofil, morče



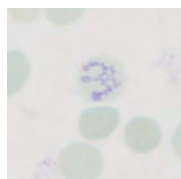
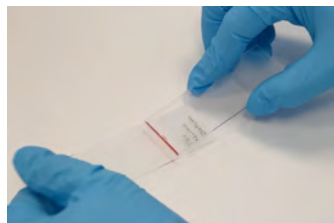
Polychromazie, králík



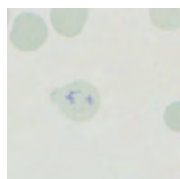
Trombocyty, fretka



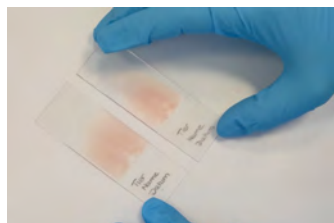
Agregáty trombocytů, fretka



Retikulocyty III, králík

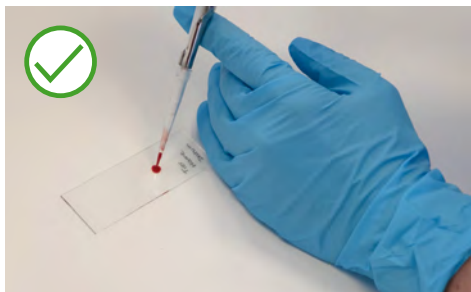


Retikulocyty IV, králík

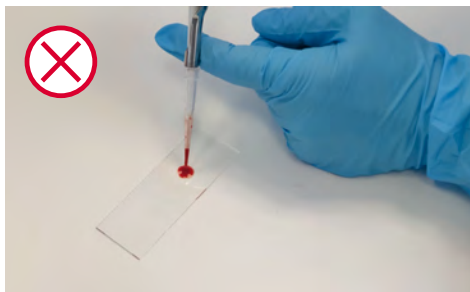


SARSTEDT

Co dělat a nedělat u krevních nátěrů



Mikroskopické sklo je popsáno tužkou (nebo perem odolným proti alkoholu a vodě). Na mikroskopické sklíčko se nanese jedna kapka (přibližně 10 μ l) krve.



Pokud chybí označení, nátěr nelze přiřadit ke klientovi. Také kapka krve je příliš velká.



Druhé mikroskopické sklíčko se umístí před kapku krve. Roztěrové sklíčko se poté přitáhne zpět ke kapce krve, dokud se všechna krev nerozprostře podél okraje.



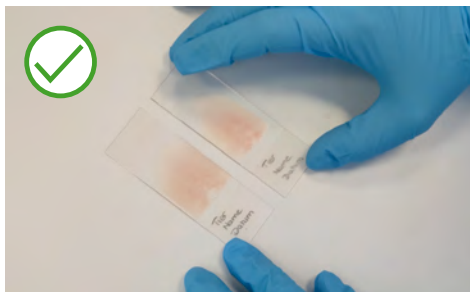
Kapka krve se nerozprostře rovnoměrně podél okraje sklíčka. Příčina: Mikroskopické sklíčko není položeno rovně, nebo tlak není rovnoměrně rozložen.



Rovnoměrným, rychlým pohybem se sklíčko posune na druhý konec podložního sklíčka (přibližně pod úhlem 45°).



Příliš pomalé natírání vede k „zastavení“. Příliš velký tlak nebo příliš velký objem vzorku způsobí, že veškerá krev bude odtlačena na konec nátěru.



Hotový nátěr má tvar „jazyka“ a skládá se z těchto částí (zleva doprava): tělo, monolayer (zóna pro hodnocení) a ocas. Důležité: Nechte nátěr vyschnout na vzduchu před barvením a zabalením do přepravních boxů!



Není viditelné rozdělení na tělo, monolayer a ocas. Krevní nátěr je velmi nehomogenní, bez zóny pro hodnocení, a proto není posouditelný!



Tipy a triky Krevní nátěr od psa a myšky:

„Myško, mám problémy s přípravou pěkných krevních nátěrů – můžeš mi pomoci?“
„Samozřejmě, co konkrétně bys chtěl vědět?“



Krevní nátěr nevypadá jako jazyk, je stejně silný od začátku do konce a přesahuje okraj. Kde jsem udělal chybu?

Předpokládám, že kapka krve / objem krve byl příliš velký. Mělo by to fungovat lépe s menším množstvím krve. Pokud je nátěr potom příliš krátký, stačí pomalu zvýšit objem krve. U anemických zvířat s velmi řídkou krví má smysl použít menší kapku krve.

Může také být, že úhel nátěru je příliš plochý ($< 45^\circ$). Úhel určuje délku nátěru. Strmý úhel ($> 45^\circ$) vytváří krátký, plochý úhel ($< 45^\circ$) vytváří dlouhý nátěr.

Můj krevní nátěr není homogenní, ale obsahuje „zastávky“. Jak to mohu změnit?

Tato „zastavení“ mohou mít různé příčiny. Často vznikají při velmi pomalém roztírání velkého vzorku. Je také důležité během roztírání nezpomalovat. Jakmile je roztírání zahájeno, mělo by být dokončeno rychle.

Můj krevní nátěr má na obou stranách různou tloušťku a obsahuje pruhy. Proč?

Velmi pravděpodobně nebylo sklíčko / roztěrové sklíčko použité pro roztahování položeno rovně („rovnoměrně“) na druhé sklíčko, nebo nebyl tlak při roztírání rovnoměrně rozložen. Ideálně by mělo být sklíčko / roztěrové sklíčko pro roztírání umístěno daleko před kapkou krve, aby byl možný pohyb vpřed a vzad. Tím získáte lepší pocit pro tlak a také si všimnete, pokud dojde k nějakému drhnutí.

Někdy není řez skla ideální nebo je na mikroskopickém sklíčku špína. Můžete se pokusit ji otřít, nebo použít nové sklíčko.

Buňky v mém krevním nátěru jsou poškozené, proč?

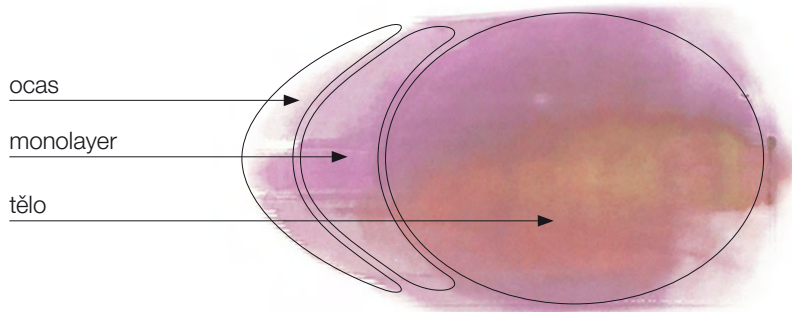
Možná byl při roztírání použit příliš velký tlak. To lze natrénovat roztíráním s krycím sklem. To se pod příliš velkým tlakem rychle zlomí. Občas však mohou být krevní buňky také velmi křehké a snadno poškozené (například u leukémie, vysoce intenzivního zánětu nebo anémie).

Můj krevní nátěr je příliš silný a příliš krátký, čím to je?

Může to být tím, že je roztěrové sklíčko drženo v příliš strmém úhlu. Mírnější úhel vede k delšímu nátěru.

Kolik krevních nátěrů musím udělat, než bude „dokonalý“?

Dobrá otázka, na kterou bohužel nemám úplnou odpověď. Ale mohu slíbit, že někdy to vyjde. Vytvoření dobrého, hodnotitelného krevního nátěru je čistě otázkou praxe. Ať je v tom (nebo není) nějaké umění, to je na posouzení každého jednotlivce.



Různé zóny krevního nátěru

8. Označení, uchování a transport



V závislosti na testovaných parametrech je třeba po odběru krve zvážit několik věcí. Zatímco mnoho analýz je možné provádět na starším a nechlazeném materiálu (například analýzy genetického materiálu, jako je diagnostika patogenů pomocí PCR), u jiných je nutné zajistit stálé chlazení.

V každém případě je nutné minimalizovat velké výkyvy teploty, a to i během přípravy na odeslání do externí laboratoře, například vyhnutím se přehřátí vzorku v teplém dopravním vozidle (Humann-Ziehank a Ganter, 2012). U některých analýz je navíc doporučeno chránit vzorky před světlem, například při testování bilirubinu (Braun et al., 2015). Přesné požadavky v každém případě naleznete v informacích k žádosti o test vedle příslušného testu. Specifické seznamy obzvláště citlivých parametrů jsou k dispozici na požádání. Je třeba si uvědomit, že nejen chladicí/mrazicí balíčky, ale i vzorky musí být před přepravou přivedeny na odpovídající teplotu, protože chladicí/mrazicí kapacita balíčku a boxu není dostatečná k adekvátnímu ochlazení nebo zmrazení vzorků. K dispozici jsou speciální boxy, které obsahují polystyrenový box a speciální balíček pro chlazení/mrazení vzorků, což umožňuje rovnoměrné chlazení 2 zkumavek. Centrifugovaný materiál by měl být přísně skladován v chladničce, pro delší skladování je doporučena teplota -20 °C, ještě lépe -70 °C (Moritz et al., 2014).



„Kvalita mnoha centrifugovaných a pipetovaných vzorků séra obvykle těžší z jejich zmrazení – avšak opakovanému zmrazování a rozmrazování bychom se měli vyhnout.“

„Přesně tak! Ale pozor: Plnou krev rozhodně nelze zmrazit! To by vedlo k úplné hemolýze!“

„A krevní nátěry by neměly být ani zmrazeny, ani uchovávány v chladničce.“

(Vap et al., 2012)



Kontrolní seznam pro transport

- Zapečetěte vzorky (aby se zabránilo odpařování)
- Skladujte sérum/plazmu při teplotě 4–8 °C
- Skladujte vzorky ve vzpřímené poloze
- Skladujte EDTA vzorky pro krevní obraz při pokojové teplotě
- Vyhněte se opakovanému zmrazování a rozmrazování
- Chraňte před světlem citlivé parametry („sluneční parametry“, např. bilirubin)
- Používejte speciální přípravek pro stabilizaci (např. S-Monovette® HCY-Z-Gel pro homocystein)



Opatrné zabalení a označení jsou také důležité. Zajišťují správné přidělení vzorku v laboratoři, zabráňují ztrátě vzorku v důsledku úniku a slouží k ochraně všech osob, které přijdou do kontaktu se vzorkem. Například vyšetřovací rukavice nejsou dostatečný obal pro vzorky stolice; existuje riziko rozbití a možnost falešně zvýšených hodnot glukózy, pokud jsou vzorky moči ve sklenicích na džem; a jehly stále připojené k injekční stříkačce představují zbytečný (a bohužel často podceňovaný) zdroj rizika. V případě vzorků s obzvláště vysokým zoonotickým potenciálem (například u opic nebo psů podezřelých z leptospirózy) by měla být laboratoř informována předem a odpovídající informace by měly být připevněny na vnější obal, aby byly již na první pohled viditelné.

Příklad žádanky:

Submission form
General

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

LABOKLIN
LABOR FÜR KLINISCHE DIAGNOSTIK GMBH & CO. KG
HG 1810 DE-67669 Bad Kissingen
Tel: +49 911 720200 Fax: +49 911 68546
Email: info@laboklin.com

čárový kód

materiál

razítko kliniky

data o pacientovi

testy

Customer-No. / Barcode

Owner's address:

Name:

First name:

Street:

Postal code/city:

Fax/Email:

Tel.:

Owner's signature

Courier

Follow-up to previous lab No.:

Profiles - Small Animals

Large Screening

Small Feline Profile

Large Feline Profile

FFBP-Screening (cat)

Compl. Blood Count

FFV Monitoring (cat)

Geriatric Profile/SDMA

Profiles - Exotics

Small Mammals Screening

Compl. Blood Count

Reptile Screening

Avian Screening

Profiles - Large Animals

Equine/Ruminant Large Intestine Screening

Haematology

Compl. Blood Count

Small Blood Count

Blood Smear

cytological Blood Parasites, microscopical

Bone Marrow

Cytology incl. blood count

Thrombocytopenia

Profile target (dog)

Prothrombinase, D-Dimer, Angpt, plasmin, fibrinogen

Coagulation

Coagulation Status

Coagulation

majitel

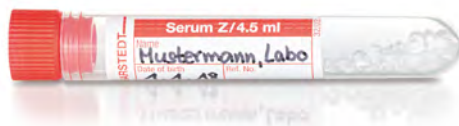
Ideální označení na žádosti o analýzu: Vyberte požadovaný test, aniž byste označili jakékoli jiné položky! **Důležité:** Nezapomeňte na anamnézu a informace o terapeutikách.

Poznámka „Správný materiál by měl být vždy označen na objednávce vedle požadované analýzy. Pokud jsou nějaké nejasnosti, krátký telefonát do laboratoře může pomoci!“



SARSTEDT

Štítky obsahují nejen údaje o pacientovi včetně specifického čárového kódu, ale také podrobnosti o typu vzorku (Gunn-Christie et al., 2012) – jedná se o vzorek moči, séra nebo mozkomíšního moku? Centrifugovaná EDTA plazma, citrátová plazma nebo plazma s lithium-heparinem? To není vždy okamžitě zřejmé, ale může to rozhodnout, zda je možné provést konkrétní analýzu ze zaslaného materiálu. Pokud je materiál již správně označen, šetří to čas i prostředky.



Pro zajištění přiřazení vzorku pacientovi by měla být příslušná data o pacientovi uvedena nejen na testovacím formuláři, ale také přímo na vzorku. Zvláště důležité je: čárový kód na vzorku musí odpovídat čárovému kódu na žádance!

Pozor u zkumavek s víčkem na klapku – při transportu hrozí riziko otevření a úniku.

Správné vnější balení (sekundární zkumavka) pro každý jednotlivý vzorek, včetně absorpční vložky, zajišťuje maximální ochranu. Všechny vzorky, včetně sekundární zkumavky, musí být následně opět zabaleny do vnějšího balení!





Poznámka

„Odesílatel je vždy zodpovědný za správný transport vzorku!“



Všechny vzorky musí být označeny na vnější obalu: buďto štítkem „veterinární vzorek vyjmutý z předpisů“ pro neinfekční vzorky, nebo lepicí nálepkou UN3373 v souladu s nařízením o nebezpečných látkách pro potenciálně infekční veterinární vzorky. Potřebné lepicí štítky si lze vyžádat v laboratoři.



Nejdůležitější požadavky na balení jsou:

- Dostatečná odolnost, aby při běžné přepravě (nárazy, vibrace, teplota, vlhkost, změny tlaku) nemohlo dojít k poškození nebo úniku obsahu.
- Potřebné jsou zkumavka / primární zkumavka, a navíc obal na zkumavku a vnější obal, přičemž vnější obal musí být pevný. Pro leteckou přepravu je vždy vyžadován pevný vnější obal, který musí vydržet vnitřní tlak 95 kPa (0,95 bar) a teploty v rozmezí -40 až 55 °C (viz příslušné informace společnosti pro požadavky IATA/Post/DHL).
- Jedna strana vnějšího obalu musí mít rozměr alespoň 100 × 100 mm.
- Přepravní jednotka musí projít testem pádu z výšky alespoň 1,2 m.



SARSTEDT

Reference

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), p. 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), p. 8–25. DOI: 10.1111/vcp.12206.

CLSI, GP44-A4 2010; § 5.4.3

Epidemiologisches Bulletin [Epidemiology Bulletin] 4/2023, last accessed in July 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), p. 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), p. 18–26. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2012.00412.x.

Gurr *et al.*; Musterstandardarbeitsanweisung Präanalytik [Sample standard operating procedure in pre-analytics]; 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), p. 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), p. 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 hemolysis, lipemia, bilirubinaemia and fibrinogen on protein electropherogram of canine samples analysed by capillary zone electrophoresis. In: *Veterinary Journal* (London, England : 1997) 164 (3), p. 261–268. DOI: 10.1053/tvjl.2001.0672.

Moritz, A.; Schwendenwein, I.; Kraft, W. (2014) In: Moritz, A (Publisher). *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin [Clinical Laboratory Diagnostics in Veterinary Medicine]*. 7 edition Schattauer GmbH, Stuttgart.

Nardini, Giordano; Leopardi, Stefania; Bielli, Mattia (2013): Clinical hematology in reptilian species. In: *The veterinary clinics of North America. Exotic Animal Practice* 16 (1), p. 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), p. 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), p. 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), p. 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), p. 595–605. DOI: 10.1111/jsap.12396.

Zaldivar-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), p. 414–425. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2011.00360.x.

SARSTEDT, Inc.

1025 St. James Church Road
P.O. Box 468
Newton, NC 28658 - 0468

Toll free: +1 800 257 5101
Fax: +1 828 465 4003

customerservice.us@sarstedt.com
www.sarstedt.com

LABOKLIN GMBH & CO. KG

Steubenstr. 4 · 97688 D-Bad Kissingen
Tel.: +49 971 7 20 20 · Fax: +49 971 6 85 46

Klientský servis Německo
Telefon +49 971 7 20 20

info@laboklin.com · www.laboklin.com

Dokument může obsahovat produkty, které nejsou ve vaší zemi dostupné.
Technické modifikace vyhrazeny.

BRO_25_953_0100_501_EU-ISO



SARSTEDT

LABOKLIN