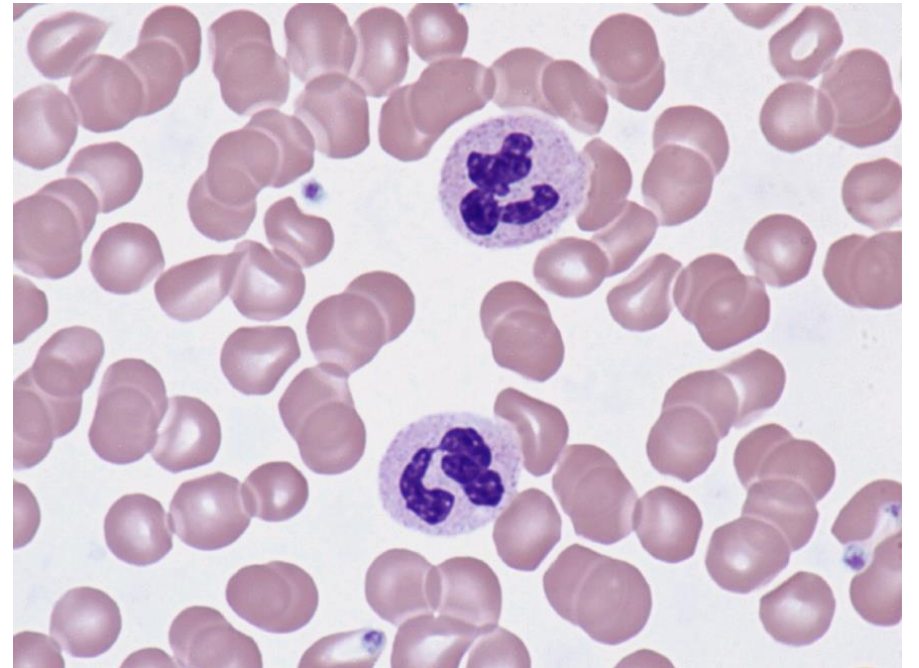


Tecniche di laboratorio di ematologia

Prof. Gian Matteo Rigolin
Ematologia

2. Raccolta del campione



Raccolta del campione

- Prima di richiedere un campione biologico, è necessario riflettere attentamente su quale materiale sia più idoneo per il risultato che si vuole ottenere, per evitare la raccolta di campioni inutili od inadeguati.
- È anche necessaria una collaborazione tra clinici e ed il personale di laboratorio che analizzerà il campione al fine di processare il campione in modo adeguato per il test che viene richiesto.
- Per ottenere dati di laboratorio affidabili ed accurati è innanzitutto necessaria una corretta raccolta del campione biologico.

PRE-COLLECTION

- Urination within 30 min; food or water intake within 2 h
- Smoking
- Physical activity (including fast walking) within 20 min
- Stress
- Drugs or dietary supplement administration within 8 h

DURING COLLECTION

- Different times (diurnal variance)
- Posture: lying, standing or sitting
- Haemoconcentration from prolonged tourniquet pressure
- Excessive negative pressure when drawing blood into syringe
- Incorrect type of tube
- Capillary versus venous blood

HANDLING OF SPECIMEN

- Insufficient or excess anticoagulant
- Inadequate mixing of blood with anticoagulant
- Error in patient and/or specimen identification
- Inadequate specimen storage conditions
- Delay in transit to laboratory

anticoagulanti

- Nella maggior parte dei casi i campioni ematici sono raccolti mediante prelievo in provette contenenti o meno anticoagulante.
- I tre anticoagulanti più usati sono:
 - I sali di tripotassio o disodico dell'acido etilenediaminotetra-acetico (EDTA),
 - Il trisodio citrato
 - L'eparina.

anticoagulanti

- EDTA ed il citrato di sodio **rimuovono il calcio**, essenziale per la coagulazione del sangue.
- L'eparina agisce formando un complesso con l'antitrombina III nel plasma **prevenendo la formazione della trombina**.

EDTA

- L'EDTA è l'anticoagulante preferito per i conteggi cellulari (emocromo) perchè produce una anticoagulazione completa con minime modificazioni morfologiche a livello cellulare.
- Il sangue anticoagulato può essere conservato fino a 24 ore a 4 °C senza alterare in modo significativo i conteggi e la morfologia cellulare

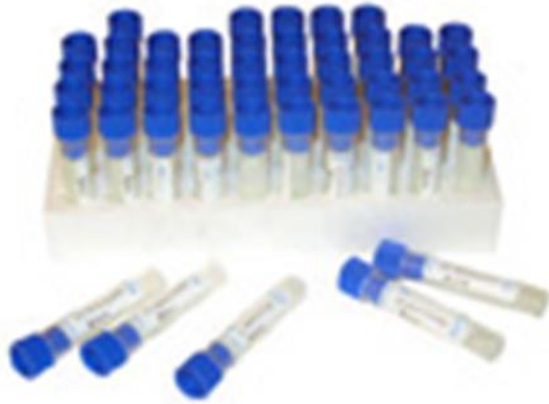
Eparina

- L'eparina causa invece una colorazione bluastra del fondo dopo colorazione MGG ma non modifica la forma e le dimensioni cellulari.
- L'eparina è più spesso usata per prevenire l'emolisi dei globuli rossi, per i test di fragilità osmotica, per test funzionali e le analisi immunologiche a carico dei leucociti.
- L'eparina non inibisce in modo completo il clumping dei leucociti e delle piastrine.

Sodio Citrato

- Il sodio citrato è l'anticoagulante preferito per i test coagulativi e per gli studi sulle piastrine.
- La concentrazione dell'anticoagulante può alterare i conteggi cellulari o le determinazioni se è alterato il rapporto anticoagulante sangue e può anche alterarne la morfologia cellulare.

prelievo





Provetta CON TAPPO LILLA



- **Contiene:** Anticoagulante EDTA
- **Si ottiene:** SANGUE INTERO PLASMA EDTA

- **Impiego:** Emocromo formula leucocitaria
- Differenziazione Leucociti
- Indici: MCV, MCH, MCHC
- Reticolociti Glucosio-6P-deidrogenasi
- Hb-glicosilata Elettroforesi Hb
- Test di coombs Valutazione linfociti T
- Malaria (test diretto) Piombo
- Cadmio,Bismuto,Cromo Ciclosporine
- Mercurio, Arsenico CO-emoglobina
- Viremie epatite B,C (pcr) HIV (pcr)
- Parathormone intatto Fattore V
- Emocromatosi Magnesio Ec
- Ac.folico negli Ec

Provetta CON TAPPO AZZURRO



- **Contiene:** Anticoagulante Na-Citrato 1:10
- **Si ottiene:** PLASMA

- **Impiego:** Quick, PTT, Fibrinogeno, Antitrombina III e tutti i test della
- **coagulazione.**

- **Per richieste speciali coagulazione interpellare il laboratorio!**

Provetta CON TAPPO VERDE



- **Contiene:** Li-Heparin
- **Si ottiene:** PLASMA

- **Impiego:** Alcool
- Ammoniaca (NH₃)
- Troponina - CK MB massa - Mioglobina

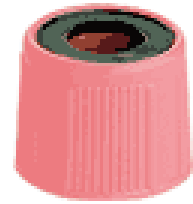
- **Oss.:** Recapitare la provetta in laboratorio entro 2 ore per l'NH₃, e non aprire la provetta!!

Provetta CON TAPPO GRIGIO



- **Contiene:** Anticoagulante Li-Jodacetat,
-
- **Si ottiene:** PLASMA Li-Heparin
- **Impiego:** Glucosio
- **Acido lattico:** mescolare bene subito e recapitare la provetta al laboratorio senza aprirla.

Altre provette



EFFETTI DELLA CONSERVAZIONE SUL CONTEGGIO SANGUE

- Vari cambiamenti avvengono nel sangue anticoagulato quando viene conservato a temperatura ambiente e questi cambiamenti si verificano più rapidamente a temperature ambiente più elevate.
- Questi si verificano indipendentemente dall'anticoagulante.

EFFETTI DELLA CONSERVAZIONE SUL CONTEGGIO SANGUE

- Il conteggio dei globuli rossi e bianchi, e delle piastrine e gli indici dei globuli rossi sono generalmente **stabili fino a 8 ore** dopo la raccolta del sangue, sebbene quando i globuli rossi iniziano a gonfiarsi l'ematocrito e il volume medio delle cellule inizia ad aumentare, la fragilità osmotica aumenta e il tasso di sedimentazione degli eritrociti diminuisce.
- Quando il sangue viene mantenuto a 4 ° C, gli effetti sull'emocromo di solito non sono significativi per un massimo di 24 ore.
- Pertanto, per molti scopi il sangue può essere tranquillamente lasciato riposare per una notte nel frigorifero se vengono prese precauzioni contro il congelamento.

EFFETTI DELLA CONSERVAZIONE SUL CONTEGGIO SANGUE

- È meglio contare i leucociti e in particolare le piastrine entro 2 ore
 - La diminuzione della conta dei leucociti e la progressiva diminuzione della conta assoluta dei linfociti possono essere diventare rilevanti entro poche ore, specialmente se c'è una quantità eccessiva di EDTA (> 4,5 mg / ml).
- La conservazione oltre 24 ore a 4 ° C produce dati errati per il conteggio differenziale automatico dei globuli bianchi.

EFFETTI DELLA CONSERVAZIONE SUL CONTEGGIO SANGUE

- La conta dei reticolociti rimane invariata quando il sangue viene tenuto in anticoagulante EDTA o ACD per 24 ore a 4 ° C, ma a temperatura ambiente il conteggio inizia a scendere entro 6 ore.
- Gli eritroblasti scompaiono nel campione di sangue entro 1-2 giorni a temperatura ambiente.
- La concentrazione di emoglobina rimane invariata per giorni.
- Entro 2-3 giorni, e specialmente a temperature ambiente elevate, i globuli rossi iniziano a lisare, determinando una riduzione di RBC e Hct, con un aumento dell'MCH e dell'MCHC calcolati.

EFFETTI DELLA CONSERVAZIONE SUL CONTEGGIO SANGUE

- La stabilità del test di coagulazione è fondamentale per la diagnosi e il trattamento delle coagulopatie;
 - si raccomanda di eseguire i test entro 2 ore quando il sangue o il plasma viene conservato a 22-24 ° C, entro 4 ore se conservato a 4 ° C, entro 2 settimane se conservato a -20 ° C e entro 6 mesi quando conservato a -70 ° C.
- Per un test del siero o del plasma, il sangue deve essere centrifugato entro 5 ore dalla raccolta.
- Per i dosaggi di vitamina B12 e folati, il siero o il plasma devono essere mantenuti a 4 ° C o a -20 ° C se è richiesta la conservazione per più di 2-3 settimane.
- Per la conservazione a lungo termine, i campioni devono essere divisi in più aliquote per evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti.

EFFETTI DELLA CONSERVAZIONE SUL CONTEGGIO SANGUE

- La manipolazione inappropriata di campioni di sangue durante il trasferimento in laboratorio (ad es. Scuotimento eccessivo o esposizione a temperature estreme) può causare emolisi, coagulazione parziale e disintegrazione cellulare.
- La spedizione dei campioni richiede un imballaggio speciale e deve raggiungere determinate specifiche minime.