

## Preanalitika weterynaryjna od pobrania do analizy

Na preanalitykę składają się czynności obejmujące przygotowanie próbki do badania laboratoryjnego. Do czynności tych zalicza się przygotowanie pacjenta, pobranie materiału, oznakowanie i opisanie, transport próbki do laboratorium oraz przygotowanie próbki do analizy. Preanalitika jest ważnym czynnikiem wpływającym na jakość badania laboratoryjnego, więc aby otrzymać jak najbardziej wiarygodny wynik, należy dołożyć wszelkich starań, aby faza ta przebiegła możliwie jak najlepiej.

### PRÓBKI KRWI, OSOCZA I SUROWICY

#### Przygotowanie pacjenta

Przed pobraniem materiału do badania, zwierzę nie powinno otrzymywać pokarmu przez 10-12 godzin. Jeśli zwierzę nie będzie na czczo wyniki badań mogą być nieprawidłowe. Szczególnie dotyczy to następujących parametrów: cholesterol, glukoza, TLI, amylaza, ALT, AST, bilirubina, białko całkowite, trójglicerydy, kwasy żółciowe, wapń oraz leukocyty.

Właściciel zwierzęcia powinien być również poinformowany o tym, że istotny wpływ na wyniki badań krwi może mieć wysiłek fizyczny powodujący podwyższenie poziomu takich parametrów jak: CK, LDH, AST, glukoza i mleczany.

#### Opis próbki

Zlecenie badań oraz próbkę należy czytelnie oznakować imieniem zwierzęcia lub nazwiskiem właściciela. W przypadku testów czynnościowych ważne jest podanie dokładnego czasu pobrania próbki. W przypadku testów gdzie pobierany jest materiał kilka razy w odstępie kilku godzin (np. testy stymulacji) ważne jest dokładne oznaczenie kolejnych prób.

#### Jaki materiał należy pobrać do badania?

Informacja o tym jaki materiał (krew pełna, surowica, osocze) potrzebny jest do wykonania danego badania, znajduje się na zleceniu badań przy każdym teście.

#### **Krew na EDTA (KE)**

- Materiał do wykonania morfologii ssaków (u gadów i ptaków do tego celu wykorzystuje się krew pobraną na heparynę litową).
- Krew pobrana na EDTA jest materiałem do wielu badań wykonywanych metodą PCR.
- Osocze EDTA wykorzystywane jest do badań biochemicznych/serologicznych jedynie w wyjątkowych przypadkach, gdyż EDTA jako antykoagulant może zaburzać niektóre oznaczenia.



### **Surowica (S)**

- Aby uzyskać surowicę, krew pobiera się do probówek bez antykoagulantu (na tzw. skrzep).
- Po pobraniu krew odstawia się na ok. 30-60 minut (wyjątkiem są specyficzne badania, gdzie w ciągu 20 minut po pobraniu krew musi zostać odwirowana i schłodzona aby można było wykonać dane oznaczenie).
- Wirowanie – 5 minut przy 4000 obr./min.
- Uzyskaną surowicę należy odciągnąć do nowej, czystej probówki.

### **Osocze (OE, OH, OC)**

- Osocze pobiera się do probówki z odpowiednim antykoagulantem (EDTA, heparyna, cytrynian).
- Uwaga: obecność antykoagulantów ogranicza zakres możliwości analitycznych!
- Krew można odwirować zaraz po pobraniu (10 min, 3000 obr./min.).

### **Krew pełna**

- Najlepszym materiałem do badań biochemicznych i serologicznych jest surowica.
- Jeżeli nie ma możliwości przygotowania surowicy, należy pamiętać, że nie wszystkie parametry są tak samo stabilne w pełnej krwi. Po dobie od pobrania z nieodwirowanej próbki niemożliwe jest oznaczenie np. glukozy i fosforu.
- Podczas transportu krwi istnieje ryzyko uszkodzenia błony erytrocytarnej w wyniku czego dochodzi do hemolizy.

### **Czynniki utrudniające analizę**

#### **Hemoliza**

Jako hemolizę określa się uwalnianie substancji obecnych w erytrocytach w wyniku uszkodzenia ich błony komórkowej. Obok żelaza i potasu należy tu wymienić przede wszystkim hemoglobinę, która powoduje czerwone zabarwienie surowicy lub osocza. To zabarwienie może utrudniać fotometryczną analizę parametrów biochemicznych.

Podwyższenie wyniku:

LDH, CK, AST, bilirubina, AP, kreatynina, Ca, glukoza, fosforan, K, Mg, Fe, fruktozamina, hemoglobina

#### **Lipemia**

Lipemia to mleczno-mętne zabarwienie surowicy lub osocza wywołane obecnością tłuszczów obojętnych. Jest ona najczęściej związana z nieodpowiednią dietą lub stresem.

Podwyższenie wyniku:

ALT, AST, AP, bilirubina, glukoza, Ca, fosforan, białko całkowite, lipidy, hemoglobina

Obniżenie wyniku:

albumina, amylaza, Na, Cl, K, fosforan

#### **Ikteria (żółtaczka)**

Na skutek nadmiernego uwalniania bilirubiny (uwarunkowane chorobowo), dochodzi do żółtawego zabarwienia surowicy lub osocza, co określane jest mianem ikterii.

Podwyższenie wyniku:

AP, białko całkowite, Cl, fosforan



Obniżenie wyniku:

trójglicerydy, kreatynina, Mg

**Leki**

Wpływ niektórych leków na parametry biochemiczne:

Penicylina G – ↑ K

Tetracykliny – ↓ K

Salicylany – ↑ CK, ↑ AP, ↑ glukoza, ↑ Na, ↑ białko całkowite, ↓ K, ↓ Ca

Kortykosteroidy – ↑ CK, ↑ AP, ↑ glukoza, ↑ Na, ↑ białko całkowite, ↓ K, ↓ Ca

Barbiturany – ↑ CK

Fenylobutazon – ↑ Ca, ↑ Na

Halotan – ↑ CK, ↑ fosforan

Glukoza – wlew i.v. – ↑ glukoza, ↓ fosforan

**Informacje dodatkowe**

**Morfologia**

- Krew pobrana na EDTA lub heparynę.
- Podczas pobierania próbki zaleca się usunąć pierwsze 0,5 ml krwi, gdyż zawiera ona podwyższone stężenie czynników krzepnięcia.
- Krew należy pobierać tak, aby sphywała powoli po ściance probówki.
- Należy uważać, aby nie pobrać zbyt dużej ilości krwi.
- Po zakończeniu pobierania materiał należy ostrożnie wymieszać wykonując probówką koliste ruchy.
- W razie podejrzenia o koagulopatię należy przygotować rozmaz krwi.
- W zimie materiał należy zabezpieczyć przed mrozem, natomiast latem w razie potrzeby należy go chłodzić.



**Oznaczenie poziomu glukozy i mleczanów**

- Możliwe jest tylko z krwi pobranej na fluorek sodu.

**Parametry krzepnięcia**

- Badanie wykonuje się z osocza pobranego na cytrynian sodu, w którym proporcje pobranej krwi do cytrynianu wynoszą 9:1 (9 części krwi, 1 część cytrynianu).
- Odwirowanie elementów morfotycznych powinno odbyć się w lecznicy w ciągu 30 minut od pobrania.
- W przypadku stosowania gotowych probówek z cytrynianem należy dokładnie stosować się do zaleceń dotyczących ilości pobranego materiału zaznaczonej na probówce.
- W przypadku zwykłych probówek, cytrynian (3,13%) dodaje się wcześniej strzykawką.
- Nie wolno stosować igieł ani cewników z heparyną.



## MIKROBIOLOGIA

W celu uniknięcia zanieczyszczenia fizjologiczną florą bakteryjną niezmiernie ważne jest, aby materiał pobierany był w możliwie jak najbardziej sterylny sposób.

### Przesyłanie materiału:

- Wymazy do badań bakteriologicznych i mikologicznych – podłoże transportowe.
- Mocz – na podłożu Uricult lub w jałowych probówkach.
- Włosy i zeskrubiny skórne w kierunku dermatofitów – w papierowych torebkach bądź w folii aluminiowej.
- Kał w specjalnych probówkach.

## HISTOPATOLOGIA I IMMUNOHISTOPATOLOGIA

Aby odpowiednio pobrać fragmenty tkanek do badań histopatologicznych należy stosować następujące zasady:

- Pobrany fragment zmiany powinien być wolny od artefaktów i mieć odpowiedni rozmiar (średnica >0,5 cm).
- Natychmiastowe utrwalenie materiału (4-10% formalina).
- Niezbędne jest przygotowanie możliwie jak najdokładniejszego opisu zmiany (lokalizacja, czas powstania, rozmiar, ogólny stan kliniczny itp.). Konieczne jest sporządzenie wstępnego sprawozdania zawierającego opis obrazu klinicznego, wcześniej przeprowadzonego leczenia oraz listę rozpoznań różnicowych.
- Przesłanie materiału w odpowiednim szczelnym pojemniku (dostępne bezpłatnie w LABOKLIN), zabezpieczonym tak aby w czasie transportu nie uległ on uszkodzeniu.



### Informacje szczegółowe

Do celów diagnostycznych należy pobrać reprezentatywny fragment tkanki bez uszkodzeń powstających podczas przygotowania próbki (np. rozerwanie, zmiżdżenie, elektrokoagulacja). Średnica pobranej próbki nie powinna być mniejsza niż 0,5 cm. Wyjątkiem są próbki, których ze względów technicznych nie da się pobrać w inny sposób (np. endoskopowa biopsja żołądka). Przy ustalaniu wielkości próbki należy pamiętać, iż zbyt mała ilość materiału nie dostarczy wystarczających informacji, natomiast zbyt duże fragmenty tkanek trudno się utrwała. Pożądana długość krawędzi próbki wynosi 1 cm, przy czym może się ona zmieniać w zależności od badanej zmiany, lokalizacji czy badanego problemu.

W przypadku niewielkich zmian, próbki należy pobierać centralnie. Przycinając próbkę należy uważać, aby jej nie zniszczyć. W razie wątpliwości należy pobrać kilka próbek.

### Biopsje skóry

W przypadku skóry, należy przysyłać fragmenty o średnicy min. 0,5 cm zawierające wszystkie warstwy skóry. Materiał należy pobierać z pierwotnych zmian z różnych miejsc na ciele. Biotaty powinny być pobierane z miejsc, które nie zostały wcześniej poddane żadnym zabiegom wstępnym (pobieranie zeskrubin, golenie).

W informacjach wstępnych należy podać wszystkie dane, które mogą być istotne z punktu widzenia diagnostycznego. Zachęcamy do wypełniania zlecenia badań – patologia, które dotyczy głównie diagnostyki skóry i nowotworów, ale jednocześnie oferujemy miejsce na wpisanie dodatkowych informacji.

### Cytologia

Materiał do badań cytologicznych pobiera się zwykle w formie odcisku, zeskrubin lub punkcji (np. płyn mózgowo-rdzeniowy). Najczęstszą metodą jest jednak biopsja cienkoigłowa, do której wykorzystuje się strzykawkę z igłą. W strzykawce powstaje podciśnienie, a tkankę przebija się w możliwie wielu miejscach i w różnych kierunkach. Przed wyjęciem igły należy zredukować podciśnienie, aby nie dopuścić do przedostania się materiału z igły do strzykawki. Na koniec pozyskany materiał наносzony jest na szkiełko podstawowe poprzez wytworzenie nadciśnienia. Drugim, ustawionym prostopadle szkiełkiem nakrywa się materiał, a następnie dociąga się je ostrożnie do krawędzi pierwszego. W przypadku materiału płynnego jest on rozprowadzany podobnie jak w przypadku rozmazu krwi.

W przypadku badań cytologicznych punktatów, wydzielin czy innych płynów materiał poddaje się wirowaniu przez 3-5 min. przy prędkości 1500 obr/min. Supernatant jest usuwany, a z odwirowanego osadu robi się rozmaz, jak w przypadku krwi, a następnie poddaje osuszeniu na powietrzu. Jeżeli nie mamy możliwości odwirowania i samodzielnego przygotowania rozmazu, materiał należy pobrać do probówek z EDTA i w ten sposób przesać do laboratorium. W przypadku cytologii pochwy wymazówkę (cytoszczoteczkę) należy obtoczyć na szkiełku podstawowym nie rozmazując materiału.

Wszystkie rozmazy należy przesyłać po uprzednim osuszeniu na powietrzu. Nie należy ich jednak utrwalać, ani barwić. Najważniejsze jest wykonanie cienkiego rozmazu, utworzonego przez jedną warstwę komórek. Zbyt grube rozmazy są najczęstszą przyczyną niskiej jakości próbki, a nierzadko również jej nieprzydatności do analiz.

## BADANIE PCR

- Materiał pobiera się na wymazówkę bez podłoża lub cytoszczoteczkę.
- Cytoszczoteczka umożliwia pobranie większej liczby komórek do badań.
- Materiałem do niektórych badań może być krew pobrana na EDTA.

## WYSYŁANIE MATERIAŁU

### Opakowanie próbki zgodnie z przepisami o materiałach niebezpiecznych

Przepisy o materiałach niebezpiecznych regulują zasady przewozu materiałów potencjalnie zakaźnych (tj. materiałów, o których wiadomo, że mogą zawierać chorobotwórcze drobnoustroje niebezpieczne dla ludzi i zwierząt) oraz odpadów klinicznych i próbek diagnostycznych.

### Jak zapakować próbkę?

Opakowania materiałów diagnostycznych sklasyfikowanych zgodnie z zaleceniami ONZ pod numerem 3373 podlegają instrukcji nr P650. Opakowania takie muszą spełniać następujące wymogi:

- muszą dostatecznie chronić próbkę przed wstrząsami, obciążeniami gwarantując, iż podczas zwykłego transportu nie nastąpi uszkodzenie ani uwolnienie zawartości;
- niezbędną jest naczynie zawierające samą próbkę (probówka), a także odpowiedni ochronny pojemnik transportowy o wadze do 0,5 kg.

Próbka (probówka i pojemnik transportowy) muszą przejść pomyślnie test upadku.

### Szczegółowe informacje dotyczące opakowania

#### **Materiały płynne:**

- naczynie z próbką musi być szczelne, a jego pojemność nie powinna przekraczać 250 ml
- opakowanie transportowe musi być również szczelne oraz powinno zawierać materiał absorbujący, który w razie uszkodzenia będzie w stanie wchłonąć całą objętość próbki
- opakowanie zewnętrzne: max. 0,5 l

#### **Materiały stałe:**

- naczynie z próbką: szczelne, max. 250 ml
- pojemnik transportowy: szczelny, w przypadku kilku próbek próbki nie mogą się wzajemnie dotykać
- opakowanie zewnętrzne: max. 0,5 kg



## Wypadki i uszkodzenia

Za zawartość przesyłki odpowiada nadawca (prawo do roszczeń regresowych wobec nadawcy w przypadku szkód spowodowanych nieprawidłowym opakowaniem próbek).

Prawidłowo opakowana próbka jest gwarancją bezpieczeństwa.

## Zasady pakowania materiału biologicznego przesyłanego do naszego laboratorium za pośrednictwem firmy kurierskiej



1

- Materiał biologiczny należy pobierać do szczelnych opakowań bezpośrednich – probówki, pojemniki na moc, naczynia na wycinki patologiczne itp.



2

- Opakowanie bezpośrednie należy umieścić w opakowaniu transportowym, jakie wysyłamy do Państwa dodatkowo. Opakowanie to spełnia wymogi firmy transportowej – jest ono szczelne, trwałe oraz zawiera wkład absorbujący, którego nie należy usuwać. Naczynie na wycinki patologiczne od razu dostarczamy w opakowaniu ochronnym.



3

- Tak zapakowany materiał należy umieścić w kopercie / worku foliowym jaki dostarczamy do Państwa.
- Kurier dodatkowo włoży tak przygotowany worek do własnego opakowania.



4

- Na opakowaniu zewnętrznym należy umieścić naklejkę z symbolem UN3373. Naklejki te będziemy wysyłać Państwu wraz z materiałami do badań.
- Waga przesyłki nie powinna przekraczać 1 kg a objętość 4 l.