COME PREPARARE CORRETTAMENTE UNO STRISCIO DI MIDOLLO OSSEO PER L'ESAME CITOLOGICO

Walter Bertazzolo, Med. Vet. DiplECVCP

Nelle due parti precedenti abbiamo descritto le indicazioni cliniche per un esame del midollo osseo e le modalità per un corretto campionamento di tessuto ematopoietico, sia per citologia che per l'esame istologico. Mentre l'esame istologico viene eseguito secondo le normali procedure comuni anche ad altri campionamenti bioptici (fissazione della frammento bioptico in formalina ed invio al laboratorio per un esame istologico standard), la preparazione dei campioni citologici merita molta più attenzione. Infatti non è sufficiente riuscire a campionare del materiale diagnostico, è molto importante sapere anche come effettuare degli strisci di qualità, che possano essere leggibili da parte del patologo. E' fondamentale capire che la valutazione microscopica risulterà sicuramente infruttuosa se il campionamento è stato inadeguato e/o la preparazione degli strisci è stata effettuata in maniera scorretta.

Primo step: evitare che il campione coaguli. Il sangue midollare coagula molto rapidamente (pochissimi secondi) per cui se non si attuano delle contromisure, sicuramente il prelievo midollare risulterà inutile (vedi video allegati). Una prima precauzione che si può utilizzare è quella di inserire nel cono della siringa una piccola quantità di EDTA in modo che al momento dell'aspirazione del sangue midollare, questo risulti istantaneamente anticoagulato. In alternativa, bisognerà essere molto rapidi nell'aspirazione e nel successivo spostamento del prelievo in una provetta contenente EDTA (normali provette per esame emocromocitometrico). Se vi accorgete che purtroppo in campione è coagulato, mettete in preventivo che quasi certamente quel prelievo risulterà inutile. In caso di prelievi di modesta entità, è possibile strisciare direttamente il midollo senza introdurlo prima in una provetta con anticoagulante, purché il tutto avvenga molto rapidamente.

Secondo step: fare uno striscio perfetto. Capita frequentementi di analizzare compioni con buona cellularità, quindi potenzialmente di buona qualità, che purtroppo risultano impossibili da valutare microscopicamente a causa di una procedura di striscio scorretta. Se il campione prelevato è scarso (poche gocce di sangue midollare), si deve procedere immediatamente allo striscio ponendo una goccia su vetrino e strisciandola con un altro portaoggetti, cercando di fare un monostrato. Una procedura utile per ridurre la componente ematica del prelievo, è di far colare la goccia di sangue midollare tenendo il vetrino i posizione quasi verticale, e poi strisciare la stria di midollo con un altro vetrino posto in maniera perpendicolare, in modo che le spicole si schiaccino e si formi il monostato di cellule. Uno degli errori più comuni che osservo personalmente, è la preparazione di strisci in realtà "non strisciati", ovvero lasciati colare sul vetrino portaoggetti ma non strisciati successivamente con un altro vetrino. Queta procedura produce campioni non valutabili e quindi è da evitare assolutamente.

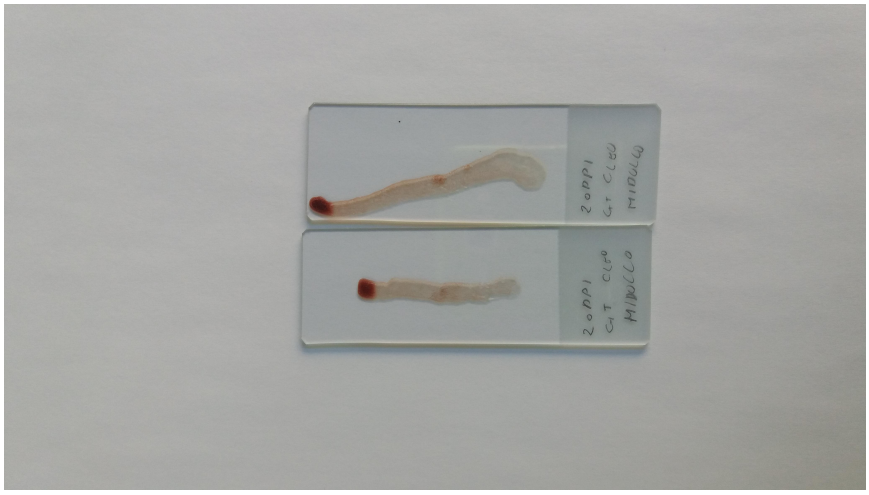

Figura 1. Esempio di striscio inadeguato: il campione è stato fatto colare sul portaoggetti ma poi non è stato strisciato, rendendolo non valutabile.

Figura 2. Esempio di campione correttamente strisciato (a destra) e non strisciato (a sinistra). Il primo sarà valutabile al microscopio, il secondo invece no.

Il sottoscritto, se ha a disposizione una sufficiente quantità di sangue midollare raccolto in una provetta, procede con un altro sistema, che aumenta la qualità dei campioni. In breve, dispongo alcune gocce di sangue midollare su una superficie liscia quale una piastra di Petri o altro contenitore piatto (es. potreste usare i coperchi delle scatoline dei vetrini coprioggetto); successivamente inclinandolo più volte cerco di spostare l'eccesso di sangue per visualizzare le spicole o particelle di midollo, riconoscibili in quanto rappresentate da frustoli biancastri/grigiastri in sospensione. Con una pipetta Pasteur cerco quindi di "pescare" queste particelle e le dispongo su un vetrino portaoggetti che usero per effettuare un normale striscio come sopra descritto. I vetrini così ottenuti devono esere rapidamente asciugati per esempio con un phone per capelli. E'

consigliabile eseguire strisci multipli e colorarne almeno 1-2 subito per verificare rapidamente se il campione contiene almeno del materiale diagnostico oppure se è costituito esclusivamente da sangue, rendendolo quindi inutile per una valutazione microscopica.
Si ricorda che al fine di una più accurata valutazione microscopica, è consigliabile lìutilizzo di colorazione May-Grünwald-Giemsa in luogo delle colorazioni ematologiche rapide.

Vi rimandiamo ai video allegati al Blog per una esemplificazione pratica della procedura di prelievo.

Walter Bertazzolo, Med Vet, DiplECVCP

Direttore Scientifico, Laboratorio LaVallonea