

Indice

01

LAVORO IN LABORATORIO

Processo analitico

1

Fase preanalitica

2

Modulo di richiesta

2

Criteri di rifiuto dei campioni

3

Errori più frequenti

7

Fase analitica

9

Fase post-analitica

9

Flusso di lavoro

9

Regole di base

10

Protocolli di lavoro standard

11

Magazzino e stoccaggio

12

Materiali e attrezzature necessari per un laboratorio

13

Reagenti chimici

20

Gestione dei rifiuti

22

Conservazione dei campioni biologici

24

Conservazione dei campioni da inviare a un laboratorio esterno

26

Trasporto di campioni biologici

26

02

SANGUE

Ematologia

33

Emogramma

33

Serie rossa

33

Serie bianca

37

Serie piastrinica

41

Emostasi

42

Striscio ematico

44

Raccolta del campione

44

Striscio del campione

44

Esame citologico degli elementi cellulari del sangue	47
Interpretazione dello striscio.....	51
Analisi biochimica del sangue.....	53
Profilo di base.....	54
Albumina.....	54
Glucosio.....	54
Creatinina.....	54
Alanina aminotransferasi (ALT).....	54
Proteine totali.....	54
Profilo renale.....	55
Azoto ureico.....	55
Calcio.....	55
Fosforo.....	55
Creatina chinasi (CK).....	55
Profilo epatico.....	56
Fosfatasi alcalina (ALP).....	56
Gamma-glutamilttransferasi (GGT).....	56
Bilirubina totale.....	56
Ionogramma.....	56
Potassio.....	57
Sodio.....	57
Cloro.....	57
Altri parametri.....	57
Colesterolo.....	57
Globuline.....	58
Fruttosamina.....	58
Magnesio.....	58
Lattato.....	58
Tirosina totale.....	58
Dimetilarginina simmetrica (sdma).....	59
Ammoniaca.....	59
Gasometria.....	60
Campione.....	60

Attenzione speciale verso il campione.....	62
Parametri.....	63
Interpretazione.....	64
Acidosi metabolica.....	65
Alcalosi metabolica.....	65
Acidosi respiratoria.....	65
Alcalosi respiratoria.....	65
Medicina trasfusionale	66
Tipi di prodotti ematici.....	68
Cura degli emoderivati: concentrato di eritrociti.....	68
Conservazione degli emoderivati: plasma fresco congelato.....	69
Conservazione degli emoderivati: altri componenti.....	70
Tipizzazione del sangue.....	70
Gruppi sanguigni nei gatti.....	72
Gruppi sanguigni nei cani.....	73
Test di emocompatibilità.....	74
Test rapido	77
Interpretazione.....	79
Possibili errori.....	79

03

URINA

Analisi sistematica	82
Analisi fisica.....	82
Colore.....	83
Odore.....	86
Torbidità.....	87
Densità urinaria.....	88
Altre caratteristiche fisiche.....	89
Analisi chimica.....	89
Eritrociti.....	91
Proteine.....	92
Glucosio.....	92
pH.....	92
Bilirubina.....	93
Chetoni.....	93
Leucociti.....	94

Nitriti.....	94
Urobilinogeno.....	94
Densità urinaria.....	94
Analisi dei sedimenti	95
Elementi microscopici.....	96
Cellule proprie.....	96
Microrganismi.....	100
Cristalli.....	102
Cilindri.....	104
Apparecchi e sostanze inquinanti.....	107
Goccioline di grasso.....	107
Bolle d'aria.....	108
Sperma.....	109
Peli.....	109
Granuli di amido.....	109
Muco.....	110
Polline.....	111
Spore di funghi.....	111
Altre analisi	111
Rapporto proteine:creatinina.....	111
Citologia urinaria.....	112

04

FECI

Campione	113
Tecniche di raccolta.....	114
Considerazioni per la raccolta del campione.....	114
Coprologia	116
Analisi delle feci.....	116
Studio macroscopico.....	117
Studio microscopico.....	121
Tecniche di analisi coproparassitologica.....	126
Analisi coprologica su prodotti freschi.....	126
Citologia fecale.....	127
Analisi coprologica per flottazione.....	128
Analisi coprologica mediante sedimentazione.....	130
Interpretazione dei risultati.....	131

Altre analisi delle feci	132
Coproantigeni.....	132
PCR in pazienti con diarrea.....	133
Coprocolture.....	133
Sangue occulto nelle feci.....	134

05 **LIQUIDI ORGANICI**

Liquidi sierosi	136
Analisi dei liquidi sierosi.....	141
Analisi macroscopica.....	141
Analisi microscopica e biochimica.....	141
Liquido cerebrospinale	147
Analisi del liquido cerebrospinale.....	148
Analisi macroscopica.....	149
Analisi microscopica e biochimica.....	149
Liquido sinoviale	152
Analisi del liquido sinoviale.....	153
Analisi macroscopica.....	153
Analisi microscopica e biochimica.....	154
Bile	156
Analisi della bile.....	157
Analisi macroscopica.....	157
Analisi microscopica.....	157
Altri liquidi	158

06 **PREPARATI CITOLOGICI**

Tipi di citologia	160
Tecniche di striscio	161
Striscio in linea.....	162
Errori comuni negli strisci in linea.....	162
Striscio di contatto.....	163
Striscio di un campione ottenuto tramite tampone.....	164

Striscio di un campione ottenuto mediante raschiato cutaneo	165
Striscio per impronta	165
Striscio di un campione ottenuto mediante cateterismo vescicale traumatico	165
Tecniche di colorazione	166
Cura dei coloranti e delle attrezzature	167
Porzioni di colorante per i campioni “sporchi”	168
Coloranti comunemente utilizzati negli ambulatori veterinari	169
Visualizzatore rapido per i preparati citologici	169
Colorazione speciale sopravvitale per i reticolociti	170
Colorazione con blu di metilene per le urine	171
Colorazione delle feci con soluzione di Lugol	171
Colorazione di Gram per i batteri	172
Tecniche di osservazione	173
Conservazione dei preparati citologici	175
Invio a un laboratorio specializzato	176
Artefatti e contaminanti in citologia	177
Artefatti	177
Contaminanti	178
Campioni citologici di qualità	178

07

ALTRI CAMPIONI

Campioni da biopsia	180
Tipi di biopsie	181
Biopsia nei centri veterinari	182
Margini chirurgici	185
Campioni provenienti da necropsopia	185
Campioni di midollo osseo	187
Aspirato di midollo osseo	187
Invio di midollo osseo per citometria a flusso e studio citologico	189
Biopsia del midollo osseo	189
Campioni respiratori	190
Lavaggio broncoalveolare	190
Analisi del liquido di lavaggio broncoalveolare	191
Laringoscopia	194

Campioni dermatologici..... 194

Tricogramma..... 194

Citologia ottica ed esame del cerume..... 195

Raschiati cutanei..... 197

Nastro adesivo..... 197

Coltura di dermatofiti..... 198

BIBLIOGRAFIA..... 202

01

LAVORO IN LABORATORIO

Il laboratorio clinico è un servizio degli ospedali veterinari, ma sempre più ambulatori ne hanno uno proprio. L'obiettivo principale di quest'area — e del personale che vi lavora — è trattare i campioni biologici nel modo più appropriato per evitare che la loro composizione reale (quella che avevano all'interno del corpo dell'animale) si modifichi prima di raggiungere un analizzatore.

Questi laboratori sono noti come POCT (Point-Of-Care Testing), sono definiti come sistemi analitici che si trovano in prossimità del luogo in cui il paziente riceve le cure e forniscono una serie di risultati di base in un breve periodo di tempo. I principali vantaggi dei POCT sono la facilità d'uso grazie a un design intuitivo, la rapidità dei risultati e la piena disponibilità, in quanto possono funzionare 24 ore su 24 senza interruzioni. Inoltre, alcune marche di analizzatori incorporano misure per evitare errori da parte di personale non specializzato, per esempio correggendo leggermente risultati irrealistici dovuti all'analisi di campioni lipemici.

Inoltre, i Tecnici Veterinari (TV) possono svolgere un gran numero di compiti pratici senza la diretta supervisione del veterinario. Per questo è importante ricevere una formazione specifica e avere una certa esperienza, pena la mancata garanzia di qualità degli studi e degli esami analitici.

PROCESSO ANALITICO

Prima di iniziare il lavoro in laboratorio, è necessario familiarizzare con i seguenti concetti:

- Campione primario: un campione ottenuto da un paziente allo scopo di studiarne lo stato di salute (per es. il sangue).
- Campione secondario: il campione primario che è stato trattato per garantirne la stabilità (per es. sangue anticoagulato con eparina) (Fig. 1.1).
- Campione di lavoro: è la frazione del campione secondario utilizzata per le determinazioni analitiche (per es. plasma eparinizzato).



Figura 1.1

Riempimento di una provetta di eparina con sangue venoso. Il campione scivola lungo la parete della provetta, senza che la siringa tocchi all'interno.

FASE PREANALITICA

È la prima fase del processo analitico. Va dalla richiesta di analisi al trattamento del campione.

Oltre l'80% degli errori si verifica in questa fase. La maggior parte è associata a personale non qualificato, preparazione inadeguata del paziente, informazioni insufficienti, approvvigionamento errato o conservazione e trasporto inadeguati.

Modulo di richiesta

Il personale veterinario compila il modulo con i dati del paziente e gli esami richiesti. Alcuni degli errori più comuni a cui prestare attenzione sono:

- Modulo compilato “su indicazione di”. Un modulo compilato viene consegnato al laboratorio da un'altra persona e non dal medico richiedente.
- Mancanza di sospetto clinico. Se si aggiunge il sospetto clinico o il motivo della visita, si eviteranno le ripetizioni dei parametri, si farà una valutazione adeguata dei dati analitici e si potrà persino dare priorità alla consegna di determinati risultati.
- Grafia non chiara o espressione scorretta. Ciò crea confusione nel selezionare i parametri desiderati.

- Dati mancanti del paziente. Se la cartella clinica è stata compilata correttamente, si potrà lavorare in modo efficiente ed evitare il lungo lavoro di ricerca dei dati mancanti. Un altro possibile errore è la duplicazione di cartelle cliniche in laboratorio o l’assegnazione dei risultati di un paziente a un altro con un nome simile.
- Tipo di campione non identificato. In caso di invio al laboratorio di campioni facilmente confondibili (per es. urina e liquidi organici), il tipo di campione deve essere identificabile tramite annotazione in un punto visibile.

È importante annotare nella dispensa o nel quaderno di laboratorio eventuali incidenti osservati al momento del ricevimento del campione, come per esempio:

- Nessun campione: i test vengono richiesti, ma i campioni non arrivano.
- Campione inadeguato: raccolto male, non adatto all’analisi richiesta, contenitore sbagliato, ecc.
- Campione insufficiente: non sufficiente a garantire la qualità dell’analisi. Se è possibile effettuare alcune determinazioni, queste devono essere specificate.
- Campione avanzato: vengono ricevuti campioni non necessari per l’analisi.

Criteri di rifiuto dei campioni

In generale, tutti i campioni che presentano una qualsiasi delle caratteristiche elencate nella Tabella 1.1 devono essere scartati.

Per gli esami del sangue, i pazienti dovrebbero arrivare al centro veterinario con un periodo di digiuno di 6-8 ore, poiché praticamente tutti i parametri sono alterati nel periodo postprandiale (Fig. 1.2).

Tabella 1.1 Motivi del rifiuto dei campioni.

Caratteristica	Motivo
Impossibile identificare il campione	Se non si conosce l’origine del campione, ottenere risultati è inutile.
Volume insufficiente	Se la quantità non è sufficiente, la qualità e l’affidabilità dell’analisi si riducono drasticamente o la procedura non può essere eseguita.
Imballaggio inadeguato	Qualsiasi campione non conservato correttamente altera il risultato.
Trasporto inadeguato	Come sopra, se il campione non è conservato correttamente, il risultato sarà alterato.
Campione emolizzato o lipoemico	I parametri verranno alterati, invalidando il risultato. Il prelievo deve essere ripetuto.

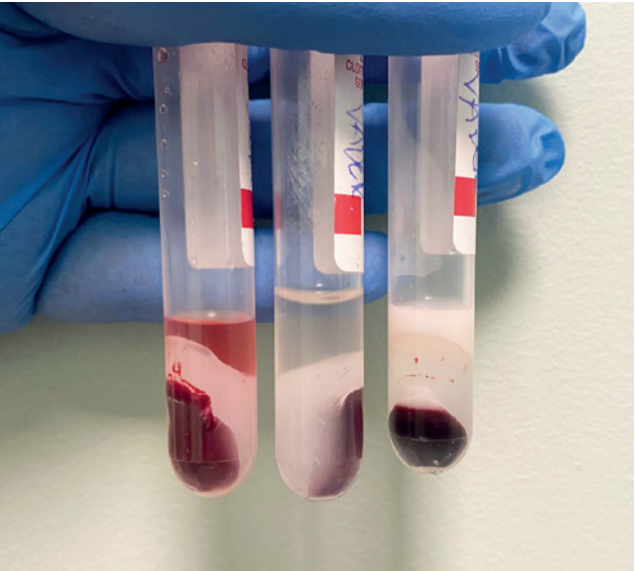


Figura 1.2 Tre sieri dello stesso paziente, *da sinistra a destra*: siero emolizzato da scarsa estrazione, siero di buona qualità e siero lipemico da non digiuno.

Indice HIL

L'indice HIL (emolisi-ittero-lipemia) è un sistema che cerca di ottenere informazioni sulle interferenze e sulla loro influenza sui risultati degli esami biochimici del sangue.

Esistono indici HIL standardizzati nei grandi laboratori e si possono trovare anche indici HIL specifici per ogni analizzatore automatico. Idealmente, dovrebbe essere disponibile un indice HIL accreditato dal produttore dell'analizzatore biochimico; tuttavia, questo non è attualmente disponibile nelle apparecchiature veterinarie. Pertanto, gli indici HIL semiquantitativi adattati possono essere utilizzati nelle cliniche veterinarie per fornire una guida su cui basarsi in caso di risultati anomali (Tab. 1.2).

Tabella 1.2 Alterazioni dell'indice HIL che interferiscono con la misurazione dei parametri biochimici.

Parametro	Emolisi	Ittero	Lipemia	Altre interferenze dei parametri
Alanina aminotransferasi (ALT)	↑	-	-	-
Albumina, secondo il metodo	↑	↑	↑	-
Bilirubina totale, secondo il metodo	↑	-	↑	-

Parametro	Emolisi	Ittero	Lipemia	Altre interferenze dei parametri
Calcio	-	↑	↑	Plasma EDTA: ipocalcemia artefatta Periodo postprandiale: ipercalcemia artefatta
Cloro	-	-	↓	Pazienti con iperproteinemia o campioni non chiusi: ipocloremia dovuta a disseccamento
Colesterolo	↑	-	-	-
Creatina chinasi (CK), secondo il metodo	↑	-	↑	-
Creatinina, secondo il metodo	↑	↓	↓	Presenza di vitamina C, acido urico, somministrazione di cefalosporine e piruvato: aumenta la creatinina
Fosfatasi alcalina (ALP)	↑	-	-	Analisi del plasma in EDTA
Fosforo, secondo il metodo	↑	↑	-	-
Gamma-glutamilttransferasi (GGT), secondo il metodo	↓	-	-	-
Glucosio	-	-	-	Non centrifugare e separare il campione nei 30-60 minuti dopo l'estrazione: ipoglicemia artefatta
Azoto ureico/urea, secondo il metodo	↑	-	↓	-
Potassio	↑	-	↓	Prelevare il campione da un'estremità in cui è presente una linea con la fluidoterapia a base di potassio
Proteine totali, secondo il metodo	↑	↑	↑	-
Sodio	↓	-	↓	Pazienti con iperproteinemia e iperglicemia: pseudoiponatremia

Si propone il seguente indice HIL adattato (Fig. 1.3):

- Emolisi: valutazione della colorazione, da leggermente rosa a rossa.
- Ittero: valutazione della colorazione, leggermente gialla o arancione.
- Lipemia: valutazione della torbidità, da leggermente torbida a opaca.

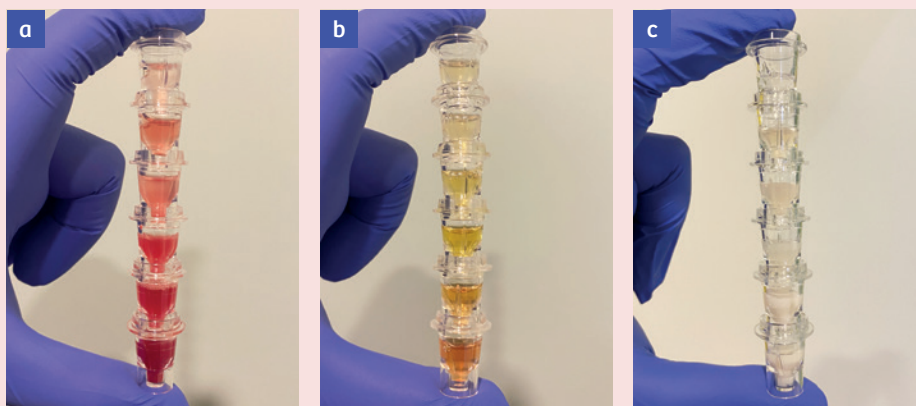


Figura 1.3 Gradienti di emolisi (a), ittero (b) e lipemia (c).

L'emolisi è la rottura dei globuli rossi, con conseguente colorazione rosata/rossastra del plasma o del siero. Possono verificarsi due tipi di emolisi: l'emolisi *in vivo*, cioè l'emolisi che si verifica all'interno del paziente a causa di alterazioni patologiche (per es. anemia emolitica) e che è impossibile prevenire al momento del prelievo del campione, e l'emolisi *in vitro*, che è artefatta a causa di una cattiva elaborazione del campione. Alcune cause dell'emolisi *in vitro* sono: tecnica di prelievo inadeguata (per es. spostamento dell'ago troppo in profondità nella vena, punture multiple dello stesso vaso, pressione eccessiva quando si ritrae lo stantuffo), mancata rimozione dell'alcol dalla pelle prima della puntura, agitazione eccessiva della provetta, centrifugazione del sangue prima che si sia coagulato per ottenere il siero o conservazione prolungata.

L'ittero è la colorazione gialla assunta dalla frazione liquida del sangue dovuta a un'aumentata concentrazione di bilirubina. La bilirubina proviene dagli eritrociti degradati e, quando si accumula in grandi quantità, dà origine a questo colore giallo. È spesso associata a malattie del fegato, ma anche a neoplasie o malattie infettive. Delle tre alterazioni dell'indice HIL, l'ittero, come l'emolisi *in vivo*, non può essere evitato perché dipende interamente dal paziente e non è influenzato dalla lavorazione del campione o da cause esogene.

La lipemia (in senso stretto, iperlipidemia) è forse il più comune dei tre disturbi e si manifesta come un'alterazione della densità del plasma o del siero, che diventa di colore biancastro. Di solito è dovuta a un prelievo di sangue postprandiale, sebbene siano state descritte anche alcune malattie ereditarie canine (per es. negli Schnauzer nani, nei Rottweiler e nei Pastori delle Shetland) con anomalie lipidiche.

Si raccomanda un digiuno di almeno 8 ore per eliminare il principale fattore di interferenza che causa la lipemia; tuttavia, ci sono pazienti che, anche con un lungo digiuno, rimangono con una lipemia associata a malattie come la pancreatite, le malattie epatiche, le nefropatie da perdita di proteine o la somministrazione di farmaci (per es. i glucocorticoidi). È importante notare che la lipemia provoca una maggiore fragilità delle cellule del sangue, con conseguente emolisi *in vitro*.

Poiché si tratta di un disturbo molto comune, esistono tecniche come l'ultracentrifugazione o l'aggiunta di reagenti che possono ovviare a questo problema. Anche se gli ambulatori veterinari di solito non dispongono di un'ultracentrifuga, è possibile ottenere un effetto simile con i seguenti suggerimenti:

- Prelevare una quantità di sangue superiore a quella necessaria per creare uno spazio tra lo strato lipidico (situato nella zona superiore) e il fascio cellulare (zona inferiore).
- Conservare in frigorifero per diverse ore (per es. per tutta la notte).
- Centrifugare a velocità più elevate del solito.

Tutti i campioni emolitici o lipemici devono essere scartati; tuttavia, una lieve emolisi (rosata, ma mai rossa o arancione) o una lieve lipemia (leggermente torbida) non alterano significativamente i risultati.



I campioni lipemici ed emolitici non devono essere analizzati. Nel caso di campioni emolitici, si raccomanda di ottenere un nuovo campione, prestando attenzione ai momenti più delicati. Nel caso di campioni lipemici, un nuovo prelievo deve essere riprogrammato dopo un digiuno di 8 ore.

Errori più frequenti

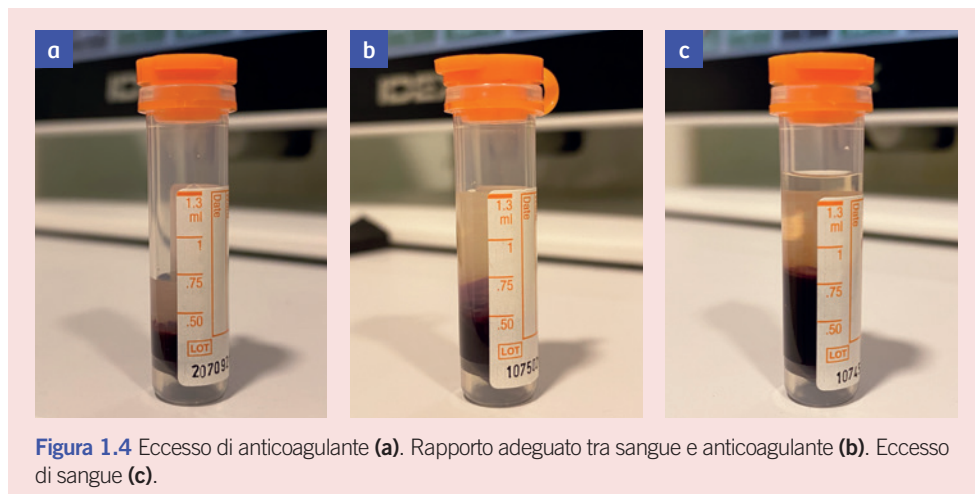
Di seguito, i criteri di scarto specifici sono elencati per tipo di campione. Conoscendo i “punti oscuri” in cui si commettono più spesso errori, è possibile prestare maggiore attenzione per evitarli.

Analisi ematologica

- Riempimento incompleto o non corretto della provetta.
- Prelevare il sangue dalla stessa estremità in cui si trova la linea con la fluidoterapia.
- Prelevare il campione con una siringa per emogasanalisi contenente eparina.
- Ritardare l'omogeneizzazione con l'anticoagulante, che può provocare una coagulazione totale o parziale del campione.
- Toccare l'interno del contenitore con la siringa.

Analisi biochimica

- Riempire la provetta senza anticoagulante con sangue proveniente da altre provette con additivi anticoagulanti o toccare l'interno del flacone con la siringa.
- Prelevare il sangue dalla stessa estremità in cui si trova la linea con la fluidoterapia.
- Spingere troppo forte lo stantuffo della siringa o agitare la provetta, provocando emolisi.
- Mancato lavaggio corretto delle provette di anticoagulanti (Fig. 1.4).



Quando il lavaggio è inadeguato, possono verificarsi due situazioni. Se c'è più sangue che anticoagulante, il campione si coagula e non può essere utilizzato. Se, invece, è stato raccolto un campione troppo scarso, oltre al fatto che potrebbe essere necessario un campione maggiore per lo studio, si verificheranno alterazioni come coagulazione o lisi cellulare o cambiamenti significativi nei risultati.

Gas ematico

- Non specificare l'origine del campione: arterioso, capillare o venoso.
- Non rimuovere completamente tutte le bolle d'aria.
- Ritardare l'analisi del campione o non conservarlo al freddo.
- Mancata omogeneizzazione adeguata del campione.

Analisi delle urine

- Ritardare l'analisi per più di 6 ore.
- Conservare il campione al freddo prima dell'analisi.
- Non temperare il campione refrigerato se si vuole effettuare una determinazione.
- Contaminazione fecale del campione.

Analisi delle feci

- Non utilizzare contenitori adatti.
- Riempire il contenitore fino all'orlo.
- Mancata chiusura corretta del contenitore.

Analisi di liquidi organici

- Non prelevare un campione di sangue periferico per confrontare i valori.
- Refrigerare il campione.
- Mancata separazione del campione in contenitori appropriati per lo studio.
- Nel caso del liquido cerebrospinale, ritardare l'analisi del campione per più di mezz'ora o metterlo in frigorifero.

FASE ANALITICA

La fase successiva è quella dell'analisi vera e propria, cioè dall'esecuzione della tecnica alla convalida dei risultati sull'apparecchiatura.

Circa il 6% di tutti gli errori di laboratorio si verificano durante la fase analitica e sono legati a reagenti difettosi, errori nelle diluizioni o alla mancanza di controlli e calibrazioni.

FASE POST-ANALITICA

L'ultima fase è quella post-analitica, che si concentra principalmente sulla comunicazione dei risultati.

Per quanto riguarda gli errori, in questa fase se ne registrano circa l'8% e sono dovuti a problemi di comunicazione all'interno del team e a errori nel calcolo e nella trascrizione dei risultati.

FLUSSO DI LAVORO

Lavorare in modo protocollato ed efficiente è la base del lavoro di laboratorio, sia per ottenere risultati rapidi e accurati sia per evitare contaminazioni incrociate.

Triage in laboratorio

Il triage è un sistema che classifica i pazienti in base alla loro gravità. È uno strumento comunemente utilizzato nelle cure d'emergenza, ma l'autore raccomanda di seguire questa classificazione di triage anche in laboratorio per ottimizzare il lavoro.

L'autore ha stabilito i seguenti livelli, che possono essere adattati in base alle esigenze dell'ospedale o dell'ambulatorio.

1. **Livello rosso:** emergenza. Pazienti in condizioni critiche. Tutte le altre attività vengono interrotte e questi campioni hanno la priorità (per es. determinare il glucosio e il potassio).
2. **Livello arancione:** pazienti instabili. Pazienti ricoverati ma per i quali è necessario conoscere rapidamente un valore per valutare la loro situazione (per es. per sapere se è necessario prescrivere un farmaco).
3. **Livello giallo:** consultazioni. Pazienti che vengono per un controllo o nell'ambito di un piano sanitario (per es. la determinazione della creatinina in pazienti con malattie renali croniche).
4. **Livello verde:** pazienti stabili. Pazienti ricoverati che rimangono stabili e nei quali i parametri vengono analizzati quotidianamente (per es. la determinazione degli ioni durante la fluidoterapia).
5. **Livello blu:** campioni da inviare a laboratori esterni. Se un campione deve essere inviato a un laboratorio esterno, deve essere preparato dopo l'esecuzione di tutte le altre analisi.

REGOLE DI BASE

I laboratori diagnostici veterinari, come quelli presenti nei centri veterinari, sono classificati come laboratori di livello di biosicurezza 2 (NBS 2). I laboratori NBS 2 sono quelli che trattano fluidi organici con agenti patogeni a rischio moderato associati a malattie umane che, sebbene contagiose, non sono pericolose per la vita.

Per questo motivo, le norme igieniche di base devono essere seguite e rispettate come misure preventive:

- Non mangiare, bere o fumare in laboratorio.
- Indossare sempre abiti da lavoro (camice o uniforme).
- Lavarsi regolarmente le mani.
- Il laboratorio deve essere situato in un locale adibito esclusivamente a questo scopo, lontano dalle aree di passaggio e ricreative.
- Indossare guanti ogni volta che si maneggia un campione biologico o un reagente chimico.

- Non lavorare senza protezioni (medicazioni) in caso di ferite alle mani o alle braccia.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- Il materiale biologico non deve mai lasciare il laboratorio.
- La preparazione e la manipolazione dei campioni devono essere eseguite nel più breve tempo possibile, ma con calma per ridurre al minimo la possibilità di aerosol.
- Gli effluenti degli analizzatori sono considerati infettivi e devono essere smaltiti direttamente nello scarico.
- Non toccare il viso o altre parti del corpo con le mani sporche.
- Per il corretto funzionamento dell'apparecchiatura devono essere presenti un'adeguata ventilazione, una buona illuminazione e una temperatura adeguata.
- L'ordine è essenziale per ridurre la contaminazione incrociata e i rischi potenziali e per garantire la qualità dell'analisi.
- Pulire l'area di lavoro prima e dopo la giornata lavorativa e ogni volta che si sporca.
- Smaltimento corretto del materiale.

PROTOCOLLI DI LAVORO STANDARD

Il personale che lavora in laboratorio deve seguire le procedure operative standard (POS) per garantire un lavoro metodico ed efficiente. Le POS sono documenti elaborati dal responsabile del laboratorio che descrivono le procedure standard. Devono essere comprensibili per tutti i lavoratori della struttura e compatibili con gli strumenti disponibili (Fig. 1.5).

I documenti coprono tutto, dalle istruzioni su come prelevare ed elaborare i campioni e le tecniche analitiche, evidenziando i “punti oscuri” in cui si commettono più errori, alle istruzioni sulla manutenzione delle apparecchiature.



Figura 1.5 I protocolli devono essere collocati in aree facilmente accessibili e raggiungibili da tutti i membri del team.

Il principale vantaggio dell'utilizzo delle POS è la riduzione degli errori, grazie alla possibilità di seguire sempre gli stessi passaggi. Inoltre, se un lavoratore lascia il suo posto per cause di forza maggiore, un altro lavoratore può continuare il suo lavoro senza problemi. Altri vantaggi delle POS sono che garantiscono la registrazione dei dati, migliorano l'organizzazione e l'esecuzione delle attività e facilitano il lavoro e il monitoraggio.

Anche le SDS dei reagenti chimici sono incluse nelle POS (si veda sotto).

MAGAZZINO E STOCCAGGIO

Il magazzino è l'insieme dei prodotti immagazzinati in attesa di essere utilizzati. Il controllo delle scorte fa parte delle funzioni quotidiane di un Tecnico Veterinario, con l'obiettivo principale di garantire che non vi sia mai una carenza di materiale e quindi evitare interruzioni involontarie del lavoro.

La diversità dei prodotti (Fig. 1.6) varia molto da un centro veterinario all'altro, poiché dipende direttamente dal numero di pazienti, dalle attrezzature utilizzate e dai test offerti. Per questo motivo, il personale responsabile dell'area dovrebbe stilare un elenco dei materiali necessari, tenendo conto del modello di lavoro, del budget disponibile, del numero dei pazienti, delle tecniche utilizzate e delle attrezzature che compongono il laboratorio.



Figura 1.6 Il controllo delle scorte deve essere effettuato settimanalmente. Non utilizzare mai un reagente scaduto, di aspetto dubbio o che si sospetta sia danneggiato.

Oltre a questi fattori, è necessario conoscere i seguenti concetti:

- **Scorta minima:** è la quantità minima necessaria per poter lavorare.
- **Scorta massima:** è la quantità massima che può essere immagazzinata. Dipende dallo spazio disponibile e dalle date di scadenza.
- **Momento dell'ordine:** è il momento in cui si decide di effettuare un ordine.
- **Scorte straordinarie:** si tratta di materiali che vengono ordinati in eccesso rispetto alla scorta massima, in ragione di una domanda elevata, di un vantaggio economico o di un evento imprevisto. Per esempio, se il volume di lavoro aumenta e questa settimana, invece di usare tre scatole di un prodotto, ne sono state usate sei, il momento dell'ordine verrà anticipato e ne verranno ordinate altre nel caso in cui la domanda continui.

Il magazzino del laboratorio deve essere ordinato, non deve avere temperature elevate per garantire la stabilità dei materiali e deve essere organizzato secondo la tecnica FIFO (*first in, first out*). Questa tecnica significa che il primo ad entrare è il primo ad uscire, cioè i prodotti da utilizzare per primi sono quelli che sono stati acquistati per primi.

Materiali e attrezzature necessari per un laboratorio

Come già detto, i materiali necessari dipendono dall'ambulatorio veterinario o dall'ospedale. I materiali e le attrezzature sono classificati come segue:

- **Gruppo A:** articoli con un costo elevato, utilizzabili nel tempo e suscettibili di manutenzione costante; chiamati anche articoli inventariabili (per es. apparecchiature analitiche).
- **Gruppo B:** articoli con un costo intermedio e una breve durata di conservazione (materiali di consumo), ma che possono essere riutilizzati (per es. micropipette).
- **Gruppo C:** materiali con un costo basso e un solo utilizzo (per es. provette per campioni).

Gruppo A

Esistono diverse aziende che vendono analizzatori automatici per la medicina veterinaria. Quando si acquista un dispositivo, è consigliabile informarsi non solo sul costo, ma anche sulle condizioni ambientali richieste, sullo spazio necessario e sulla manutenzione da effettuare.

In generale, per essere considerato ottimamente attrezzato, un laboratorio dovrebbe disporre delle seguenti apparecchiature:

- **Analizzatore ematologico.** Si tratta di un'apparecchiatura deputata alla conta delle cellule, di solito ematiche. Può essere utilizzata anche per altri liquidi, come i versamenti pleurici o le asciti. La manutenzione è semplice; di solito è sufficiente un risciacquo e una pulizia mensile dell'esterno e dei filtri.
- **Analizzatore biochimico.** In medicina veterinaria, la maggior parte di queste apparecchiature utilizza la tecnologia della biochimica a secco, vale a dire usa piastre reagenti, e la manutenzione è minima, limitata alla pulizia mensile e ai controlli semestrali o annuali. Esistono apparecchiature che utilizzano altre tecniche, come la biochimica umida, ma sono meno comuni e richiedono una cura molto maggiore per quanto riguarda i controlli, le calibrazioni e altri tipi di manutenzione rispetto alle apparecchiature per la biochimica a secco (Fig. 1.7).
- **Analizzatore di coagulazione.** Si tratta di apparecchiature molto sensibili e, sebbene di solito non richiedano manutenzione, è utile conoscerne alcuni dettagli:
 - Non è consigliabile tenerli in luoghi eccessivamente caldi o esposti alla luce diretta per lunghi periodi di tempo.
 - Questi dispositivi eseguono autocontrolli prima e durante l'analisi.
 - Vengono eseguiti controlli di qualità automatici.
- **Analizzatore di analisi delle urine.** Esistono diversi dispositivi sul mercato, soprattutto quelli per l'interpretazione delle strisce di urina, anche se gli analizzatori di sedimenti di urina stanno diventando sempre più comuni. La loro manutenzione si riduce alla pulizia e alla calibrazione settimanale.
- **Analizzatore di gas nel sangue.** Gli analizzatori di gas si trovano solitamente negli ospedali dotati di pronto soccorso o di un'unità di terapia intensiva (ICU). Di solito sono progettati per richiedere una manutenzione minima. La manutenzione varia a seconda delle marche, ma in genere richiede una calibrazione trimestrale e una pulizia regolare.
- **Analizzatori di test rapidi.** Sono apparecchiature che interpretano i risultati dei test rapidi. Non richiedono una manutenzione ordinaria; tuttavia, se necessario, i componenti interni possono essere puliti.
- **Microscopio ottico.** Si tratta di uno strumento che permette di osservare elementi che non possono essere visti a occhio nudo. Un fascio di luce e una serie di lenti vengono utilizzati per ingrandire le strutture fino a renderle visibili. Alcune considerazioni sui microscopi ottici includono:
 - Spegnere sempre la luce dopo ogni utilizzo, abbassare il piano di appoggio al massimo e lasciare l'obiettivo con l'ingrandimento più basso, vale a dire quello con le dimensioni più piccole, in modo che non urti il piano di appoggio.
 - Quando non viene utilizzato, il microscopio deve essere coperto con un rivestimento plastico per evitare che sporco e polvere si accumulino sopra.

- Se la polvere si trova in aree difficili da raggiungere, deve essere rimossa con uno scopino di plastica, una spazzola o un accessorio simile. Non soffiare mai via la polvere.
- Deve essere posizionato su un tavolo con una buona stabilità. Se è necessario trasportarlo, il braccio deve essere tenuto con una mano e la base sostenuta con l'altra.
- Non forzare le viti.
- Per utilizzare l'obiettivo 100x è necessario l'olio per immersione (Fig. 1.8).



La manutenzione di un microscopio ottico è semplice ma essenziale per prolungarne la durata e per poter osservare con precisione i campioni.

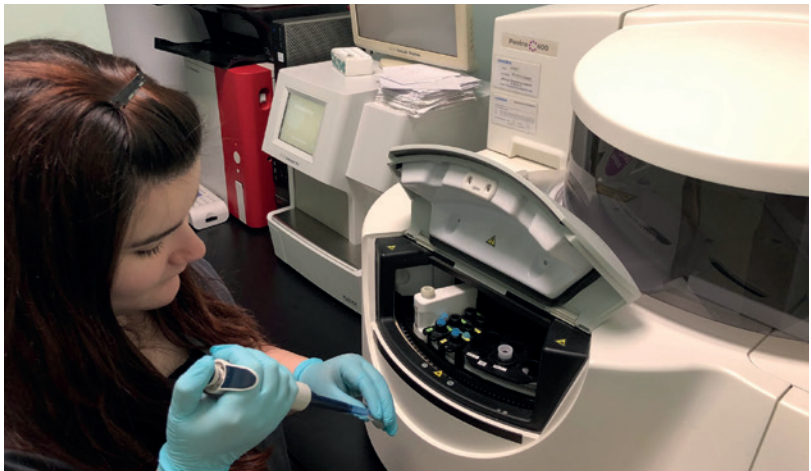


Figura 1.7 Gli analizzatori di biochimica per via umida non sono generalmente apparecchiature per test point-of-care e richiedono un'ampia manutenzione quotidiana.



Figura 1.8 Quando si utilizza l'obiettivo a immersione (100x), è necessario applicare dell'olio sul vetrino coprioggetto.

Come regolare facilmente un microscopio

L'uso corretto del microscopio ottico si basa su una buona manipolazione, che richiede la conoscenza delle sue componenti (Fig. 1.9). La tecnica corretta per l'osservazione e la messa a fuoco è la seguente:

1. Posizionare il vetrino sul piano di appoggio con il campione rivolto verso l'alto. L'obiettivo a più basso ingrandimento deve essere in posizione.
2. Accendere la sorgente luminosa.
3. Ruotare la vite macrometrica fino a quando le strutture del campo sono chiaramente visibili (non è necessario vederle completamente). Non è necessario utilizzare nuovamente la vite macrometrica.
4. Mettere a fuoco con la vite micrometrica ruotandola delicatamente fino a quando il campione è nitido e definito.
5. Passare a un obiettivo con un ingrandimento maggiore. Quando l'immagine è di nuovo sfocata, ruotare la vite micrometrica finché non è chiaramente visibile.
6. Ripetere l'operazione con gli obiettivi successivi.
7. Se si usa l'obiettivo a immersione, mettere una goccia di olio a immersione facendo attenzione a non toccare l'obiettivo 40x. Far scorrere il revolver fino a posizionare l'obiettivo 100x.
8. Ruotare le viti di mobilità, poste sotto il piano di appoggio, per individuare l'area di interesse. Tenete presente che l'immagine è invertita, quindi se girate la vite a destra, l'immagine si sposterà a sinistra e, allo stesso modo, se volete salire, dovete spostare la vite in basso.

Per l'osservazione al microscopio, si consiglia di posizionare un coprioggetto sul preparato per migliorare la visualizzazione. Un numero crescente di dispositivi dispone di obiettivi calibrati in base allo spessore del coprioggetto.

Se si utilizza l'olio per immersione, questo viene posto sul vetrino coprioggetto. È possibile aggiungere l'olio direttamente sul campione, ma in questo caso è bene tenere presente che il campione si macchierà con il reagente e sarà inutilizzabile per osservazioni future.

Gruppo B

Le attrezzature riutilizzabili più frequentemente impiegate sono centrifughe, rifrattometri e pipette automatiche.

- **Centrifuga.** Si tratta di un'apparecchiatura di base che si trova in tutti i laboratori. Viene utilizzata per separare i componenti in base alla loro densità, di solito per separare i solidi dai liquidi. La manutenzione della centrifuga è fondamentale:
 - Posizionarla su un piano stabile senza pericolo di scosse.
 - Non utilizzare mai senza compensazione, vale a dire i tubi da inserire devono essere sempre rivolti l'uno verso l'altro.

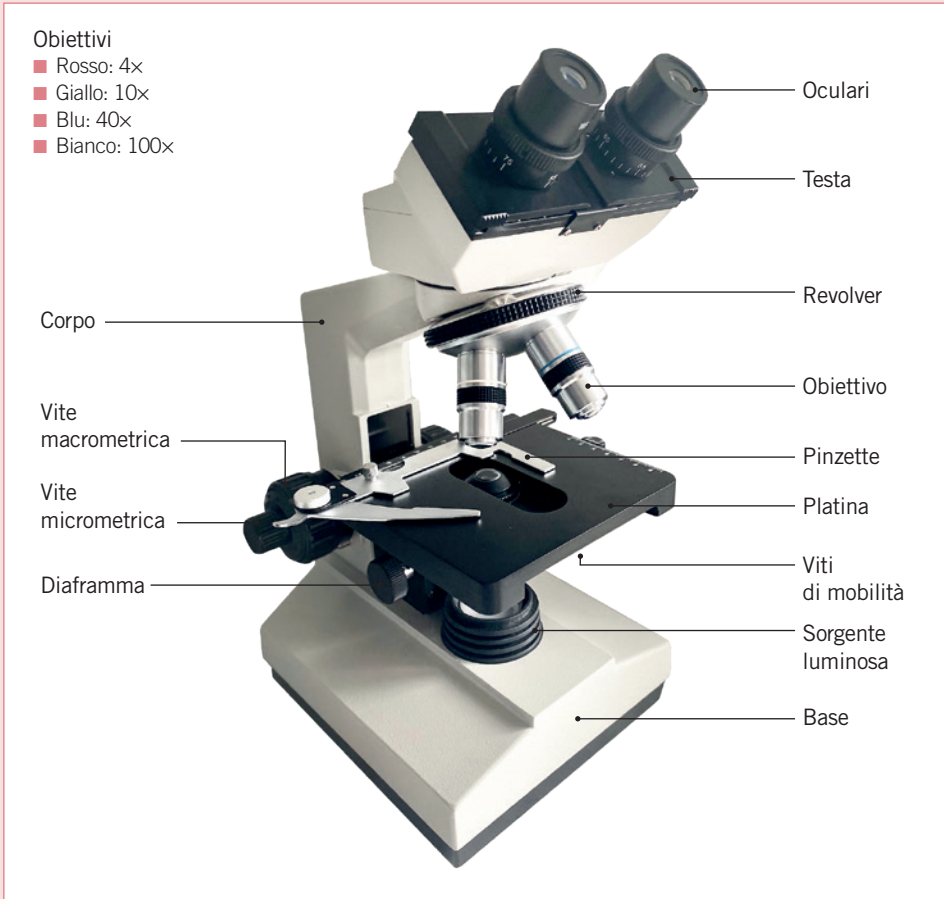


Figura 1.9 Parti del microscopio ottico.

- Non utilizzare provette di vetro in cattive condizioni.
- Non aprire l'apparecchiatura prima che si sia arrestata completamente o che si sia fermata.
- **Rifrattometro manuale o Goldberg** (Fig. 1.10). Si tratta di un semplice strumento che misura la luce rifratta attraverso un campione liquido. Nonostante l'apparente semplicità del rifrattometro, esso richiede una cura particolare rispetto ad altre apparecchiature:
 - Mantenere completamente puliti sia il coperchio che la copertura. Pulire con un panno inumidito con acqua distillata dopo ogni utilizzo.
 - Non graffiare in alcun modo.