

	UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO VETERINARIE	PROCEDURE DI BIOSICUREZZA ED ASSICURAZIONE DI QUALITÀ' DELL'OSPEDALE VETERINARIO UNIVERSITARIO DIDATTICO (OVUD)	PROC. OVUD Rev 01 Data: 06.06.22 Pag. 80 / 159
---	---	--	---

Procedure da applicare nel Laboratorio di Patologia Clinica

Introduzione

CARATTERISTICHE DEI LOCALI

OBIETTIVO

Fornire le corrette modalità di accesso da parte del personale autorizzato, le corrette modalità di ricezione dei campioni, il corretto allestimento e campionamento del materiale biologico da sottoporre ad analisi e relativa refertazione.

La presente procedura propone che i campioni diagnostici e di materiali biologici vengano manipolati con le necessarie misure e cautele di sicurezza, che le apparecchiature e le attrezzature vengano utilizzate in modo corretto, che siano utilizzati materiali e Dispositivi di Protezione Individuale e collettivi idonei.

CAMPO DI APPLICAZIONE

Le presenti indicazioni sono rivolte al personale addetto alla ricezione, preparazione ed allestimento del campione biologico da analizzare, nonché a tutto il personale docente, tecnico e studenti in tirocinio autorizzati ad accedere a tale laboratorio.

Locale ubicato al 1° piano dell'OVUD (cod. SIPE 14.16.1.013)

	<p>UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA</p> <p>DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO VETERINARIE</p>	<p>PROCEDURE DI BIOSICUREZZA ED ASSICURAZIONE DI QUALITÀ DELL'OSPEDALE VETERINARIO UNIVERSITARIO DIDATTICO (OVUD)</p>	<p>PROC. OVUD Rev 01 Data: 06.06.22 Pag. 81 / 159</p>
---	--	---	---

RESPONSABILITÀ

Le responsabilità sono attribuite al personale indicato nel campo di applicazione, nonché al Direttore Sanitario ed al Direttore del Dipartimento.

DPI/DPC DA UTILIZZARE

Per la protezione del corpo: camice o green con manica lunga e polsini elastici.

Per la protezione delle mani: guanti monouso in lattice/nitrile.

Per la protezione di bocca e occhi, rispettivamente mascherina monouso e occhiali di protezione.

DPC: cappa a filtrazione di classe I. A disposizione gel igienizzante per le mani.

Modalità operative per il trasporto e conferimento dei campioni

Le precauzioni di carattere generale a cui si fa riferimento nella presente procedura, devono essere applicate a:

- Sangue, plasma e siero
- Urine
- Versamenti (toracici, addominali, pericardici, ecc...)
- Liquido cerebrospinale
- Liquido sinoviale
- Colostro
- Qualunque altro liquido biologico
- Tutti i campioni diagnostici ed i materiali biologici devono essere considerati come potenzialmente infetti e posti in un apposito contenitore dotato di un sistema per evitare perdite durante il trasporto.
- I campioni di liquidi biologici vengono conferiti al laboratorio dopo essere stati preventivamente etichettati e identificati con il codice soggetto assegnato all'animale al momento della registrazione presso la reception dell'Ospedale Veterinario.
- I campioni, con la relativa richiesta d'esame riportante i dati dell'animale, del proprietario e naturalmente il codice soggetto, vengono inseriti in una busta di plastica trasparente (Fig. 55 A) per permettere una rapida valutazione del contenuto. E' fondamentale che non siano presenti tracce di contaminazione esterna o interna della busta.
- I campioni così predisposti devono essere: 1. etichettati con etichette recanti il relativo codice a barre identificativo, prima del loro ingresso in laboratorio, utilizzando il computer collegato all'etichettatrice posto su un apposito mobile all'esterno del laboratorio d'analisi (Fig. 55 B); 2. appoggiati sul tavolo al di fuori del laboratorio; prelevati dagli operatori.
- Le richieste d'esame vengono quindi numerate con una numerazione progressiva giornaliera, in modo che le diverse matrici biologiche della stessa richiesta d'esame siano facilmente rintracciabili sui rispettivi fogli di lavoro compilati successivamente all'identificazione. Nel caso in cui le matrici siano più di una, vengono smistate verso i rispettivi piani di lavoro: il sangue in EDTA al contaglobuli, il siero e il sangue in litio eparina in centrifuga per la separazione e le successive analisi biochimiche, il sangue in sodio citrato al coagulometro, le urine al fotometro, ecc...
- Attualmente i campioni che vengono conferiti al laboratorio in orario di apertura vengono analizzati immediatamente e refertati prima possibile, ad eccezione delle analisi biochimiche per le quali al momento sono previste tre routine giornaliere alle 10.30, alle 13.00 e alle 15.00, ma

	<p>UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA</p> <p>DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO VETERINARIE</p>	<p>PROCEDURE DI BIOSICUREZZA ED ASSICURAZIONE DI QUALITÀ DELL'OSPEDALE VETERINARIO UNIVERSITARIO DIDATTICO (OVUD)</p>	<p>PROC. OVUD Rev 01 Data: 06.06.22 Pag. 82 / 159</p>
---	--	---	---

in un prossimo futuro si pensa di ridurle a due con orari ancora da stabilire. Indipendentemente da questi orari è sempre possibile avanzare una richiesta d'esami urgente con una maggiorazione tariffaria ancora da definire.

- Qualora fosse espressamente richiesto di conservare un campione mediante refrigerazione o congelamento per successive indagini o per essere spedito ad un laboratorio esterno, questo viene identificato su un apposito foglio dove sono indicati la matrice, la data, il codice soggetto, nome del proprietario e la relativa posizione nel rack del frigorifero o congelatore.
- È in fase di finalizzazione l'interfacciamento di alcuni strumenti con il programma di gestione Fenice che permetterà di scaricare direttamente i risultati ottenuti nella cartella paziente, senza doverli inserire manualmente come avviene ora.

Fig. 55 A. Buste in plastica trasparente, per il trasporto di campioni biologici al laboratorio; Fig. 55 B. PC collegato all'etichettatrice.

A



B



Modalità operative per l'analisi dei campioni biologici

Ai fini dell'accettabilità dei campioni ematici, è necessario:

1. effettuare quotidianamente la calibrazione e controllo dei parametri analitici di tutte le macchine del laboratorio;
2. rispettare scrupolosamente il volume in ml indicato sulla provetta.

Emocromocitometrico: utilizzo di sangue intero raccolto esclusivamente in una provetta (tappo viola) con anticoagulante apposito (K- EDTA) (Fig. 56-A). Lo stesso campione in EDTA può essere utilizzato anche per la valutazione morfologica degli eritrociti, la formula leucocitaria, la stima piastrinica, la conta reticolocitaria, la determinazione del gruppo sanguigno.

Parametri della coagulazione: prevede l'utilizzo di sangue intero raccolto in una provetta (tappo celeste) con anticoagulante Sodio Citrato (Fig. 56-B). Molto importante rispettare il rapporto sangue/anticoagulante. Vengono determinati PT, APTT e Fibrinogeno. Questo tipo di analisi deve avvenire entro 4 ore dal momento del prelievo.

Biochimica-Clinica: utilizzo di plasma eparinato (provetta con tappo blu, Fig. 56-C) o siero (tappo rosso FIG. 53-D) dopo centrifugazione a 4000 - 5000 giri/minuto per 5 minuti. In caso del siero attendere 15 minuti prima di centrifugare il campione per favorire la formazione del coagulo. Nel caso non sia possibile eseguire l'esame immediatamente si procederà alla refrigerazione a + 4°C per

	<p>UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA</p> <p>DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO VETERINARIE</p>	<p>PROCEDURE DI BIOSICUREZZA ED ASSICURAZIONE DI QUALITÀ' DELL'OSPEDALE VETERINARIO UNIVERSITARIO DIDATTICO (OVUD)</p>	<p>PROC. OVUD Rev 01 Data: 06.06.22 Pag. 83 / 159</p>
---	--	--	---

un tempo massimo di 24 ore. Se i campioni non possono essere processati entro le 24 ore, si procederà al congelamento a - 20°C per un tempo massimo di 30 gg.

Esame delle urine: Il campione da 10 ml deve essere consegnato in idonee provette con tappo (Fig. 57-A) oppure nei classici contenitori sterili con tappo a vite da 100 ml (Fig. 57-B). Viene eseguito l'esame chimico-fisico tramite strisce reattive, il rapporto Proteine Urinarie / Creatinina Urinaria (PU/CU) con spettrofotometro, e l'esame del sedimento previa centrifugazione di circa 10 ml di campione in apposite provette a fondo conico per 5-10 minuti a 1000 giri.

Sieroelettroforesi: Il campione deve essere raccolto in apposite provette senza anticoagulante (tappo rosso, FIG. 50-D) e così consegnato al laboratorio dove verrà centrifugato per ottenere il siero da sottoporre a elettroforesi.

Test sierologici: i vari test sierologici eseguiti in laboratorio possono essere effettuati indistintamente su plasma eparinato, siero, sangue intero o plasma EDTA.

Emogasanalisi: i campioni da sottoporre ad emogasanalisi devono essere raccolti e conferiti al laboratorio in apposite provette in litio-eparina (provetta con tappo blu, Foto 45-C), in anaerobiosi e analizzati su sangue intero. L'esame deve essere eseguito immediatamente dopo il prelievo per l'elevata deperibilità del campione.

Microematocrito: i campioni da sottoporre a misurazione del microematocrito tramite centrifugazione ad alta velocità devono essere raccolti in provette con EDTA.

Fig. 56: A-provetta contenente K-EDTA; B-provetta contenente Sodio Citrato; C-provetta contenente Litio-Eparina; D-provetta per sierologia. Raccordo camicia-provetta.



	<p>UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA</p> <p>DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO VETERINARIE</p>	<p>PROCEDURE DI BIOSICUREZZA ED ASSICURAZIONE DI QUALITÀ' DELL'OSPEDALE VETERINARIO UNIVERSITARIO DIDATTICO (OVUD)</p>	<p>PROC. OVUD Rev 01 Data: 06.06.22 Pag. 84 / 159</p>
---	--	--	---

Fig. 57-A-provetta per urine da 10 ml; Fig.57-B-contenitore sterile con tappo a vite da 100 ml.

A



B



Criteri di inaccettabilità dei campioni

- Errata o mancante identificazione del campione (provetta e/o Modulo Richiesta Esami);
- Insufficiente volume del campione per eseguire l'analisi;
- Inadeguato rapporto sangue/anticoagulante (diluizione eccessiva del campione);
- Uso di contenitori inadeguati (sangue consegnato direttamente in siringa, urine in contenitori non idonei, contaminati o sporchi);
- Trasporto e conservazione incongrua;
- In particolare per quanto riguarda la determinazione di parametri biochimico-clinici, campioni eccessivamente emolitici, itterici o lipemici possono risultare inadeguati al fine di una corretta analisi.

Regolamentazione degli accessi

All'interno del laboratorio è permesso l'accesso solo a personale autorizzato. In particolare è consentito l'accesso:

- al personale tecnico responsabile del funzionamento del laboratorio autorizzato all'utilizzo degli strumenti analitici e alla manipolazione dei campioni biologici;
- al personale tecnico e Medico Veterinario afferente all'OVUD;
- agli studenti in tirocinio/orientamento, laureati frequentatori, borsisti, dottorandi/assegnisti di ricerca;
- ai tecnici addetti alla manutenzione ordinaria o straordinaria della strumentazione, opportunamente identificati da specifico cartellino di riconoscimento;
- ai responsabili del Servizio Prevenzione e Protezione, per permettere loro l'ispezione dei locali e delle attrezzature.
- i Medici Veterinari liberi professionisti non operanti in OVUD, i manutentori (come idraulici ed elettricisti) e gli informatori scientifici, possono occasionalmente accedere al laboratorio solo se accompagnati e previa autorizzazione da parte del Direttore Sanitario e per un tempo limitato.

Ad esclusione delle ultime due categorie è sempre fatto obbligo indossare il camice o altro idoneo indumento prima di accedere in laboratorio.

	<p>UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA</p> <p>DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO VETERINARIE</p>	<p>PROCEDURE DI BIOSICUREZZA ED ASSICURAZIONE DI QUALITÀ DELL'OSPEDALE VETERINARIO UNIVERSITARIO DIDATTICO (OVUD)</p>	<p>PROC. OVUD Rev 01 Data: 06.06.22 Pag. 85 / 159</p>
---	--	---	---

Norme comportamentali generiche da rispettare

- La porta di accesso del Laboratorio deve essere chiaramente identificata e riportare una targa con l'indicazione di "Ingresso vietato agli estranei" e di "Zona a rischio biologico".
- Gli addetti all'Assistenza Tecnica della strumentazione devono essere accompagnati e, se necessario, attrezzati con indumenti protettivi. Devono inoltre essere informati dei potenziali rischi (chimici, fisici, biologici) presenti in laboratorio e invitati alla sottoscrizione del Modulo DUVRI (Allegato 8).
- È vietato assumere cibi e bevande, fumare, truccarsi all'interno del laboratorio e manipolare lenti a contatto.
- È vietato usare recipienti o apparecchiature da laboratorio (es. frigoriferi, stufe o forni a microonde) come contenitori o per la preparazione di sostanze alimentari.
- I camici da lavoro devono essere obbligatoriamente indossati in laboratorio (ma non fuori da esso); devono essere disponibili con regolarità e sostituiti al bisogno; le calzature devono essere antidirucchio e coprire tutto il piede in maniera tale che proteggano da tagli ed eventuali spargimenti di liquidi. Gli indumenti impiegati nei laboratori non devono mai essere indossati nelle aree di riposo, sale riunioni e negli studi.
- I guanti protettivi devono essere indossati da tutto il personale coinvolto in attività che possono determinare un contatto diretto della cute con campioni potenzialmente infetti, nonché per la manipolazione di campioni di sangue e liquidi biologici, e devono essere immediatamente eliminati negli appositi contenitori per i ROT dopo il loro uso. E' vietato manipolare o toccare oggetti di utilizzo comune (telefoni, pc, maniglie, penne...) con guanti potenzialmente contaminati.
- Il lavaggio delle mani con acqua e sapone deve avvenire immediatamente dopo la manipolazione di materiali contaminati e dopo la fine del lavoro (anche quando si sono indossati i guanti).
- Si devono utilizzare occhiali con protezioni laterali o maschera facciale di sicurezza in tutte le operazioni che possono comportare schizzi verso gli operatori, come ad esempio l'apertura di contenitori, apertura di centrifughe, le operazioni di aspirazione forzata. In caso di schizzi accidentali si devono utilizzare i "lavaocchi" per eliminare prontamente ogni liquido potenzialmente pericoloso (Fig. 58).

Fig. 58. Lavaocchi



	<p style="text-align: center;">UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA</p> <p style="text-align: center;">DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO VETERINARIE</p>	<p style="text-align: center;">PROCEDURE DI BIOSICUREZZA ED ASSICURAZIONE DI QUALITÀ DELL'OSPEDALE VETERINARIO UNIVERSITARIO DIDATTICO (OVUD)</p>	<p>PROC. OVUD Rev 01 Data: 06.06.22 Pag. 86 / 159</p>
---	---	--	---

- Le superfici delle attrezzature devono essere mantenute pulite e le apparecchiature devono essere accuratamente decontaminate (salvo indicazioni diverse dalle ditte fornitrici) con ipoclorito di sodio diluito 1:10, poi risciacquate, prima di qualsiasi intervento di manutenzione interno e/o esterno.
- Raccogliere, separare e smaltire in modo corretto i rifiuti chimici: è assolutamente vietato scaricare rifiuti nei lavandini. I rifiuti solidi devono essere raccolti e smaltiti tramite appositi contenitori per materiale biologico recanti il simbolo biohazard per rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo (UNI 3291).
- I sistemi di pipettamento meccanico debbono essere gli unici usati per la gestione dei liquidi in laboratorio. È severamente vietato il pipettamento a bocca.
- Tutte le micropipette devono essere dotate di un eiettore di puntale in modo da evitare il contatto diretto dell'operatore con il materiale infetto. I puntali vanno sostituiti dopo ogni operazione e devono essere eliminati con i rifiuti da incenerire. È consigliabile acquistare i puntali dotati di microfiltro interno per ridurre i rischi di contaminazione. Al termine di ogni lavorazione la micropipetta deve essere pulita con detergenti antisettici in modo. Le micropipette devono essere sempre mantenute in posizione verticale, negli appositi contenitori, e mai adagate sul banco di lavoro.
- È consigliato effettuare la taratura delle pipette presso ditte specializzate.
- È consentito l'utilizzo sia di pipette Pasteur (in plastica o in vetro – Fig. 59-A), sia di propipette, congiuntamente alle pipette, per l'aspirazione e la successiva erogazione di liquidi. Generalmente di colore rosso o arancione, sono costituite da un palloncino di gomma con tre valvole (Fig. 59-B).
- Aghi, oggetti taglienti, vetri rotti e altri strumenti affilati devono essere maneggiati con attenzione ed eliminati in appositi contenitori resistenti alla perforazione. Per prevenire punture accidentali con aghi, questi ultimi non devono essere reincappucciati o volontariamente piegati o rotti, rimossi dalle siringhe o altrimenti manipolati. Contenitori resistenti alla puntura devono essere sistemati in vicinanza ed in posizione comoda rispetto alla postazione di lavoro.
- Per l'utilizzo di centrifughe, occorre seguire le seguenti linee generali in quanto il requisito fondamentale per la sicurezza microbiologica nell'uso delle centrifughe di laboratorio è un funzionamento soddisfacente della meccanica:
 1. essere usate seguendo le istruzioni del fabbricante e sottoposte a regolare periodica manutenzione;
 2. devono essere posizionate ad un'altezza tale da permettere anche agli operatori più bassi della media di vedere l'interno per inserire correttamente gli accessori ed i contenitori;
 3. i rotori ed i contenitori delle centrifughe devono essere ispezionati quotidianamente, per accertare l'assenza di corrosioni e di fessure capillari;
 4. i contenitori e gli accessori da centrifuga devono essere appaiati per peso e, con le provette nella loro sede debitamente sigillate, bilanciati con liquidi non corrosivi per metalli;
 5. dopo ogni utilizzo, i contenitori ed i rotori vanno riposti capovolti per farli asciugare;
 6. l'impiego dei tubi da centrifuga sigillati garantisce protezione contro la diffusione di eventuali aerosol infetti.

	<p>UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PARMA</p> <p>DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO VETERINARIE</p>	<p>PROCEDURE DI BIOSICUREZZA ED ASSICURAZIONE DI QUALITÀ' DELL'OSPEDALE VETERINARIO UNIVERSITARIO DIDATTICO (OVUD)</p>	<p>PROC. OVUD Rev 01 Data: 06.06.22 Pag. 87 / 159</p>
---	--	--	---

Fig. 59-A: pipette Pasteur (plastica, vetro); Fig. 59-B: propipetta

A



B



Modalità di refertazione

La refertazione deve avvenire tramite apposito software installato su PC (FENICE), protetto da password, e accessibile solo agli operatori del laboratorio.