

➤ Organizzazione del laboratorio di biochimica clinica

➤ Materiali e strumentazioni

➤ Campioni

Lo scopo e la funzione dei laboratoristi è quello di aiutare i clinici nel:

- Confermare o escludere una diagnosi
- Proporre linee guida per la gestione del paziente
- Individuare il tipo di malattie attraverso sintomi o screening
- Monitorare il decorso della malattia

Organizzazione di un laboratorio:

- personale

- luogo

- obiettivi

Il personale specializzato è, chiaramente, di fondamentale importanza.



E' necessario valutare accuratamente la ripartizione degli spazi all'interno di un laboratorio al fine di:

- preservare la sicurezza di tutti coloro che vi lavorano
- evitare contaminazioni

Esempi di diverse aree di lavoro:

- area riservata all'estrazione di acidi nucleici (necessario che non venga a contatto con altre aree di lavoro per evitare la degradazione del campione ed il rischio eventuale di contagio)
- area riservata agli studi cellulari (per evitare contaminazioni)
- area riservata all'utilizzo di sostanze radioattive (per motivi di sicurezza)
- banco da lavoro per operazioni varie (preparazione di soluzioni, di campioni per successive analisi, ecc.)

N.B. per molte procedure come preparazioni di gel, PCR, estrazione di acidi nucleici, ecc. è necessario lavorare sotto cappa

La maggior parte delle attività di laboratorio, quali la miscelazione, la frantumazione, l'agitazione, di materiale infetto possono inavvertitamente generare aerosol pericolosi; essendo gli aerosol importanti fonti di infezione, si deve cercare di ridurre la formazione e dispersione al minimo.

E' buona norma eseguire queste operazioni in una cappa di sicurezza biologica di tipo appropriato.



Le cappe agiscono come barriere per minimizzare il rischio di infezioni per via aerea impedendo la fuoriuscita di questi aerosol nell'ambiente di laboratorio e la loro inalazione da parte dei lavoratori.



APPROCCIO SPERIMENTALE

Necessita di :

- individuare il tipo di procedura da eseguire
- selezionare un sistema in vivo o in vitro da utilizzare nello studio
- progettare e ripetere l'esperimento per confermare i risultati ottenuti
- analizzare i risultati sperimentali mediante appropriati test statistici
- formulare ipotesi dai dati ottenuti

Nella progettazione di un esperimento devono essere valutati tutti i possibili problemi di sicurezza:

- **rischio chimico:** provocato dalle sostanze chimiche.

Le sostanze chimiche utilizzate (come acidi e basi forti) possono causare effetti irritativi e corrosivi alla pelle.

Altre possono essere tossiche a seguito ad inalazione, ingestione o assorbimento e determinare effetti di variabile intensità.

Rischio biologico: dovuto alla contaminazione dei fluidi biologici.

I fluidi biologici possono essere infetti a causa della presenza di patogeni (come virus HIV, epatite, CMV.....).

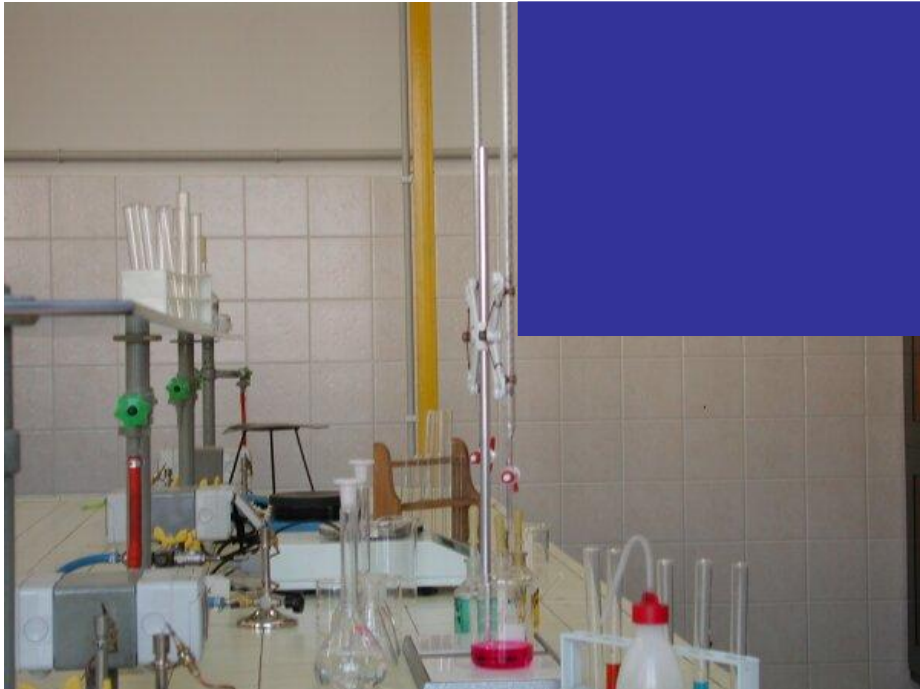
Inoltre l'utilizzo di animali da laboratorio puo' causare reazioni allergiche o trasmettere malattie.

Utilizzare:

- camici da laboratorio
- occhiali di sicurezza
- guanti
- cappa chimica per i composti pericolosi

Vetreteria da laboratorio

Il vetro è uno dei materiali più largamente usati per la fabbricazione dei recipienti da laboratorio in quanto è dotato di particolari proprietà:



In particolare la vetreria più comunemente utilizzata è in borosilicato, che è un vetro caratterizzato da un alto grado di termoresistenza, ha un alto contenuto di alcali e non possiede magnesio, zinco, metalli pesanti, arsenico e antimonio.

Proprietà

- trasparenza
- resistenza al calore (resiste a sbalzi termici notevoli senza pericolo di rottura)
- scarsa reattività ai reagenti chimici
- resistenza meccanica
- Tra i diversi tipi il più usato è il PIREX

In laboratorio

- Articoli monouso
- Provette in vetro
- Flaconi autoclavabili con tappo a vite
- Vetreria volumetrica
- Imbuti e apparecchi in vetro per filtrazione
- Articoli in vetro per uso generale
- Articoli in vetro per laboratorio
- Flaconi
- Disseccatori
- Apparato di vetro per filtrazione
- Imbuti

Articoli monouso

- Provette
- Separatori di siero
- Puntali
- microprovette
- Contenitori
- Prodotti per batteriologia



Provette :

Sono tubi di vetro e o plastica di varie misure chiusi ad una estremità, in modo che il fondo risulti tondo o conico.

Esistono di diversa misura e la loro scelta dipende dall'uso che se ne vuole fare.

Le più usate sono quelle a fondo tondo di misura 16 x 100 mm, particolarmente adatte per la centrifugazione.



Largo utilizzo trovano anche quelle a fondo conico specialmente quando si ha interesse a raccogliere il precipitato.

Infine sia le provette lunghe che quelle corte possono essere graduate e perciò utilizzate per usi particolari





Vetreteria tarata

- Cilindri graduati con becco
- Cilindri graduati con smeriglio e tappo plastica
- Burette automatiche
- Pipette graduate di Mohr
- Pipette tarate volumetriche



Imbuti e apparecchi in vetro per filtrazione:

- Imbuti gambo corto usati per filtrazioni quantitative rapide
- Imbuti gambo lungo
- Imbuti filtranti

Vetreteria tarata:

Serve per misure volumetriche uniche, il più precise ed accurate possibile.

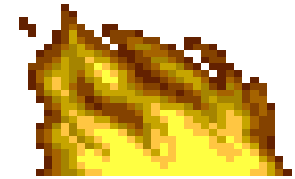
Poichè l'attendibilità del risultato di una analisi dipende in gran parte dalla precisione con la quale si misurano sia i volumi dei reagenti, che dei campioni, è importante conoscere l'uso al quale è destinato ogni oggetto per poter scegliere con senso critico volta per volta quello che occorre per la misura da fare.

Correntemente si esprime il volume dei liquidi usando come unità di misura sia il decimetro cubo (dmc) sia il litro (l), considerato ad esso equivalente.

La vetreria tarata comprende tutti quei recipienti la cui capacità è stata misurata con la massima accuratezza ad una determinata temperatura, generalmente 20° C, considerata come temperatura ambientale standard.

Per misure accurate di volume
si deve utilizzare vetreria
assolutamente asciutta:

- è necessario che la vetreria lavata sia lasciata asciugare a temperatura ambiente o in una stufa a bassa temperatura, per impedire una eventuale staratura del recipiente, sempre possibile a temperature elevate.



Cilindri graduati: servono solo per una misura approssimativa. Tuttavia per rendere più piccolo possibile l'errore della misura, è necessario che:

- Sia scelto un cilindro la cui capacità sia molto vicina al volume di liquido da misurare;
- Il travaso del liquido avvenga lentamente;
- La lettura del volume sia fatta tenendo il cilindro in posizione verticale.



Pipette :

Tubi di vetro usati per aspirare volumi ben definiti di liquidi.

Inferiormente terminano con una punta allungata con un foro tanto più piccolo quanto maggiore è la precisione della pipetta.

Pipette graduate o di Mohr: la pipetta porta una graduazione in ml. Esistono pipette graduate fino all'estremità inferiore (a svuotamento completo) , oppure terminare ad una certa distanza dalla punta (con spazio morto). Queste ultime sono più precise.



Pipette volumetriche:

non sono graduate quindi servono solo per trasferire quantità di liquido da un recipiente ad un altro.



Pulizia della vetreria:

Ha un'importanza fondamentale in laboratorio.
Costituisce il presupposto per l'attendibilità di qualsiasi risultato e presuppone una vetreria esente da contaminazioni.

Per ottenere questo risultato si ricorre a soluzioni acide o detergenti;

I detergenti devono essere allontanati dopo la pulizia perché tracce anche deboli di tali composti possono influire negativamente su alcune reazioni, specialmente in sierologia, batteriologia, enzimologia, fluorimetria





MICROPITETTE

Micropipette: usate per misurare volumi piccoli (0-1 ml). Per praticità il volume di queste pipette è indicato generalmente con il sottomultiplo microlito.

Flaconi autoclavabili con tappo a vite



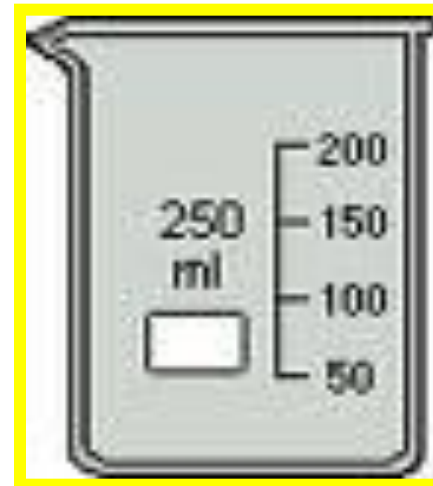
Beute :

Sono usate in particolare in quei casi in cui è necessario decantare il liquido senza disturbare il precipitato.



Bicchieri o becker:

Sono recipienti cilindrici con becco adatti, per la loro versatilità, a molteplici usi: decantazione, titolazione, ecc.



Agitatori

- *Elettromagnetici*
 - Senza Riscaldamento
 - Con Riscaldamento
- *Meccanico*
- *A Scuotimento*
 - Orbitale
 - Orizzontale



Bagni termostatici

- Ad acqua
- Ad olio
- Termostati
- Ad ultrasuoni
- Per istologia



Riscaldatori

- Piastre riscaldanti (in ghisa, alluminio, vetroceramica)
- Riscaldatori a secco
- Riscaldatori per palloni

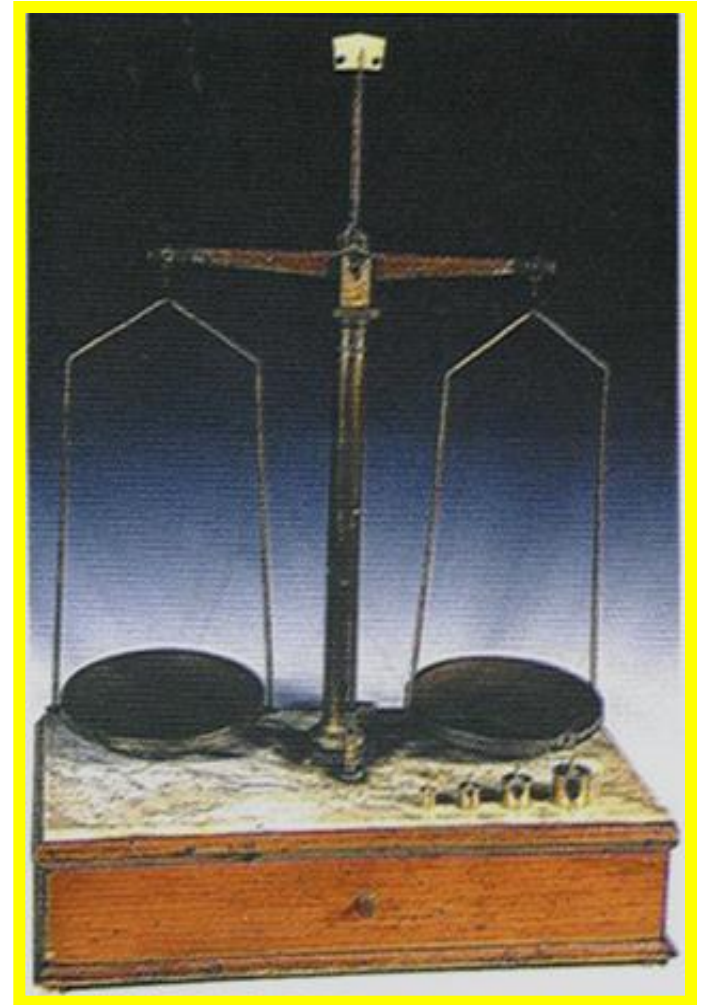


Autoclave:



BILANCE

L'utilizzo della bilancia in laboratorio fu introdotto dal chimico francese A. L. Lavoisier sul finire del XVIII secolo. Questa innovazione produsse un profondo mutamento nella chimica di quei tempi anche perché fino a quel momento lo studio dei fenomeni chimici era quasi esclusivamente qualitativo.



BILANCE

❖ L'unità di misura della massa nel sistema internazionale (SI) è il kilogrammo (kg).

❖ Il grammo (g) è la millesima parte di un kg ed è la misura più usata in un laboratorio chimico insieme ai mg (millesima parte del g).

❖ Le misure di massa vengono effettuate in genere tramite bilance elettroniche.

L'operazione di pesata consiste generalmente nel porre prima un foglio di carta o un contenitore, sul piatto della bilancia, per determinarne la massa; si aggiunge poi la sostanza da pesare e si esegue una seconda lettura.

La differenza tra le due masse corrisponde alla massa della sostanza aggiunta.

La massa del contenitore vuoto è detta tara. La maggior parte delle bilance possono venire tarate.

Le bilance elettroniche possono essere tecniche o analitiche in funzione della sensibilità della lettura (0.1-0.001g tecniche; 0.0001 g - 0.00001 g analitiche).



BILANCE TECNICHE



BILANCIA ANALITICA

Bilance tecniche:

Queste bilance vengono impiegate in laboratorio per pesare grandi quantitativi di sostanze (con un massimo di qualche chilo) in maniera veloce ma scarsamente accurata. La sua meccanica, particolarmente semplice le conferisce una certa inerzia che non permette stime al di sotto del decimo di grammo.

Bilance analitiche:

Questa bilancia è un elemento fondamentale per qualsiasi laboratorio. E' detta anche di precisione e permette di determinare con buona accuratezza fino al millesimo di grammo. Per realizzare queste prestazioni la meccanica della bilancia è più complessa rispetto alla precedente. Data l'alta sensibilità alle sollecitazioni esterne, queste bilance sono spesso racchiuse in teche di vetro.