

Il laboratorio di Analisi Morfologica di Cellule e Tessuti

Il laboratorio scientifico è un locale che fornisce condizioni controllate nel quale possano essere effettuati esperimenti scientifici, ricerche e misure.



Michael Faraday fisico e chimico del XIX secolo nel suo laboratorio

Corso di Formazione sulla Sicurezza e Salute sul Lavoro

Formazione dei Lavoratori, art.37, D. Lgs. n. 81 del 9 aprile 2008 Accordo Stato Regioni 21/12/2011

UNITE - Facoltà di Bioscienze

20 - 22 settembre 2021

BUONE PRATICHE DI LABORATORIO (BPL)

**GOOD LABORATORY
PRACTICE (GLP)**

https://www.unite.it/UniTE/Corsi_di_laurea_Bioscienze_e_tecnologie_agro-alimentari_e_ambientali/Sicurezza_in_laboratorio_Bioscienze_e_tecnologie_agro-alimentari_e_ambientali

Complesso di regole riguardanti le procedure organizzative e le condizioni in cui le attività di laboratorio sono programmate, eseguite, controllate, registrate e archiviate allo scopo di ottenere dati sperimentali di qualità

Il D.Lgs. 81/2008 si basa sulle relazioni tra le parti.

Il lavoratore non è oggetto di tutela, ma soggetto della prevenzione e per questo deve essere coinvolto e reso partecipe.

Secondo l'art. 20, oltre che osservare le disposizioni impartite, il lavoratore deve utilizzare correttamente le attrezzature, le sostanze, i DPI, segnalare condizioni di pericolo di cui vengano a conoscenza al fine di prendersi cura della propria salute e sicurezza e di quella delle altre persone presenti sul luogo di lavoro, conformemente alla formazione ricevuta.

L'attività di laboratorio richiede non solo un giudizio equilibrato e un'accurata valutazione del rischio, ma anche l'adozione di appropriate procedure per la riduzione del rischio a tutela della salute e della sicurezza dei soggetti coinvolti.

I **4 principi fondamentali** da adottare nell'attività pratica di laboratorio:

- 1) Effettuare una **valutazione preliminare**. Valutazione del potenziale pericolo associato con il metodo analitico prima di applicarlo;
- 2) **Minimizzare l'esposizione** agli agenti chimici. Evitare che gli agenti chimici vengano in contatto con la cute. Usare quanto più possibile le cappe e gli altri sistemi di ventilazione o di ricambio d'aria per ridurre al minimo la durata e l'esposizione agli agenti chimici. Indossare sempre i DPI individuati;
- 3) **Non sottostimare i rischi**. Assumere che tutte le sostanze o miscele chimiche siano più pericolosi dei singoli agenti chimici. Trattare tutte le sostanze la cui pericolosità non è conosciuta e i campioni da analizzare come agenti potenzialmente tossici;
- 4) **Essere pronti in caso di incidente**. Conoscere le specifiche azioni da intraprendere nel caso di incidente che interessi le sostanze pericolose. È necessario conoscere la localizzazione di tutti i sistemi di sicurezza, il più vicino sistema di allarme nel caso di incendio, il più vicino telefono, conoscere i numeri di telefono da chiamare e che cosa dire nel caso di un evento d'emergenza, essere preparati a mettere in atto le procedure di primo soccorso".

DPC/DPI

Per minimizzare i rischi associati all'uso di prodotti chimici e biologici occorre impiegare correttamente i dispositivi prescritti:

DPC – cappe di aspirazione chimica, cappe a flusso laminare, armadi di sicurezza...



verifica corretto funzionamento
e registrazione attività svolta

DPI – guanti, occhiali, mascherine, tappi auricolari, cuffie acustiche...a norma



sempre presenti nella tipologia e quantità necessarie («inventario»
sempre aggiornato)

Prima di cominciare

Nel momento in cui si entra in un laboratorio per lavorare occorre dapprima familiarizzare con il nuovo ambiente, ed in particolare:

1. Prendere visione delle procedure di emergenza, delle vie di esodo, e del punto di raccolta esterno.
2. Individuare dove sono collocati nel laboratorio, o nelle immediate vicinanze, docce d'emergenza, lavaggi oculari, cassetta di pronto soccorso, telefono con elenco dei numeri utili.
3. Individuare nel laboratorio dove sono riposti il kit di emergenza ed i materiali adsorbenti.
4. Essere informati sui dispositivi di protezione individuali (DPI) a disposizione del laboratorio e sul loro corretto modo di utilizzo.
5. Essere informati sul corretto metodo di raccolta dei rifiuti in laboratorio e sul loro smaltimento.

Prima di cominciare l'attività si devono conoscere le caratteristiche e il comportamento di tutte le sostanze coinvolte.

Norme generali di comportamento in Laboratorio

- Non lavorare da soli in situazioni con rischi particolari (agenti chimici, apparecchiature o reazioni pericolose, ecc.).
- Verificare se particolari processi lavorativi richiedano l'applicazione di specifiche istruzioni operative da predisporre preventivamente (ad es. operazioni con apparecchi sotto pressione, a temperature molto elevate, reazioni violente, ecc.).
- Non lasciare senza controllo reazioni chimiche in corso, queste devono essere interrotte in assenza di personale, a meno che non siano state predisposte apposite strutture e procedure.
- Non indossare i guanti fuori dei laboratori.
- Non toccare le maniglie delle porte e altri oggetti del laboratorio con i guanti con cui si sono maneggiati agenti chimici.
- Non tenere nelle tasche forbici, provette di vetro o altro materiale tagliente o contundente.
- I capelli lunghi devono essere tenuti raccolti.
- L'accesso a estintori, vie di esodo, quadri elettrici e quadri contenenti le valvole intercettazione e regolazione dei fluidi (gas tecnici, acqua ecc.) deve essere mantenuto sgombro.
- Vietare a persone non addette, l'accesso a zone a rischio.
- Ridurre al minimo necessario la presenza di persone esterne nei laboratori.
- All'interno del laboratorio non usare auricolari o altri dispositivi che possano ridurre l'attenzione del lavoratore.

Norme generali di comportamento in Laboratorio

- Riferire sempre prontamente al responsabile condizioni di non sicurezza, eventuali incidenti e situazioni pericolose.
- Non introdurre e non lasciare borse, zaini, giacche o cappotti all'interno del laboratorio.
- Nel corso di manipolazione di campioni sconosciuti, questi vanno considerati potenzialmente pericolosi finché non si sia acquisita la certezza del contrario.
- Lavare le mani frequentemente durante l'attività lavorativa.
- Non forzare mai la vetreria, né i tappi o le connessioni smerigliate bloccate. Per facilitare lo sbloccaggio, lasciare a bagno in acqua calda o in un bagno a ultrasuoni.
- Non orientare mai l'apertura di un recipiente verso di sé o altre persone.
- I reagenti volatili devono essere sempre impiegati sotto cappa.
- L'uso delle fiamme libere è consentito solo se strettamente necessario.
- E' vietato gettare sostanze chimiche o miscele nel lavandino o nei cestini per la carta. I rifiuti solidi e liquidi contaminati da agenti chimici devono essere smaltiti secondo le norme in vigore e raccolti negli appositi contenitori predisposti in laboratorio.
- La vetreria rotta deve essere raccolta in appositi contenitori e non gettata nei rifiuti comuni.
- Non conservare a lungo le sostanze chimiche nella vetreria graduata, né nella vetreria per reazioni (matraci, beute, etc.) ma trasferirle in bottiglie o recipienti adatti e apporre etichetta.

**I DISPOSITIVI DI
PROTEZIONE
INDIVIDUALE
- DPI -**

I Dispositivi di Protezione Individuale

- DPI -

CAPO II - USO DEI DISPOSITIVI DI PROTEZIONE INDIVIDUALE

Artico 74 - Definizioni

Si intende per *dispositivo di protezione individuale* (DPI) qualsiasi attrezzatura destinata ad essere indossata e tenuta dal lavoratore allo scopo di proteggerlo contro uno o più rischi suscettibili di minacciare la sicurezza o la salute durante il lavoro, nonché ogni complemento o accessorio destinato a tale scopo.

Artico 75 - Obbligo di uso

I DPI devono essere impiegati quando i rischi non possono essere evitati o sufficientemente ridotti da misure tecniche di prevenzione, da mezzi di protezione collettiva, da misure, metodi o procedimenti di riorganizzazione del lavoro.

LO STUDENTE IN LABORATORIO E' UN LAVORATORE!!!!!!

DPI IN UN LABORATORIO DI RICERCA

- GUANTI
- MASCHERINE E VISIERE
- CAMICE
- OCCHIALI

Dispositivi di protezione individuale (DPI)

I camici proteggono dalla contaminazione gli abiti.

Devono essere sempre indossati prima di accedere ai laboratori e riposti prima di uscire. Essi devono avere le seguenti caratteristiche:

- ✓ **sufficientemente aerati**
- ✓ **cotone per poter essere sterilizzabili**
- ✓ **cambio giornaliero quando si opera con microrganismi particolarmente pericolosi**



Occhiali protettivi e mascherine

Protezione del viso da schizzi, aerosol, polveri, si possono utilizzare occhiali protettivi o visiere costituite da calotte con uno schermo incolore.

I DPI per la protezione degli occhi e del viso devono avere il marchio **EN166**.

DPI: protezione vie respiratorie

Respiratori a filtro non assistiti

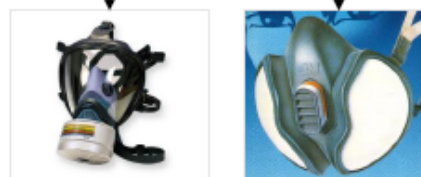
Semimaschera filtrante antipolvere



Semimaschera filtrante antigas



Semimaschera contro gas, vapori e polveri



Respiratori a filtro a ventilazione assistita o forzata



- facciale filtrante (materiale filtrante, può essere dotato di valvola di espirazione);
- semimaschera (copre solo naso e bocca);
- maschera (copre tutto il viso);
- elettrorespiratore (l'aria aspirata da un apparecchio autonomo viene filtrata e convogliata nella maschera).

DPI : GUANTI

Non esistono guanti capaci di dare una protezione assoluta.

I guanti monouso per rischio biologico devono:

- ✓ Devono avere il marchio **EN374**
- ✓ I guanti devono essere immediatamente sostituiti quando si rompono, si pungono, si lacerano, avendo cura di lavare le mani prima di indossarne un nuovo paio
- ✓ I guanti devono essere sempre disponibili e della giusta taglia affinché gli operatori che li indossano possano mantenere la sensibilità e la destrezza dei movimenti.
- ✓ Essere scartati se presentano difetti visibili ad occhio nudo
- ✓ Non devono mai essere lavati e/o riutilizzati e non vanno riposti vicino o sopra fonti di calore (es. termosifone)



Lavare le mani accuratamente e immediatamente se si verifica un contatto accidentale con sangue o fluidi corporei, anche se l'operatore ha indossato i guanti

Non tutti i guanti sono uguali!!!!

- Guanti di protezione contro i rischi meccanici (EN 388);
- Guanti di protezione contro i prodotti chimici e i microrganismi (EN 374/1/2/3);
- Guanti di protezione contro il calore o il fuoco (EN 407);
- Guanti di protezione contro il freddo (EN 511);
- Guanti elettricamente isolanti (UNI-EN 60903);
- Guanti e proteggi-braccia di maglia metallica (EN 1082-1)

Indicazioni per la scelta:

- Tipo di materiale in funzione dell'inquinante;
 - Spessore;
 - Tasso di permeazione

DISINFEZIONE

Per **disinfezione** si intende l'impiego di mezzi fisici o chimici per **ridurre** tramite uccisione, inattivazione od allontanamento/diluizione i microrganismi al fine di controllare il rischio di infezione o di contaminazione di oggetti od ambienti

La disinfezione chimica viene effettuata attraverso disinfettanti e/o antisettici (organici e inorganici), azione battericida, usati per la disinfezione di persone, animali ma anche oggetti e ambienti

Soluzione di ipoclorito di sodio

- ✓ Grosso versamento/elevata carica batterica (soluzione indiluita)
- ✓ Piccolo versamento/inattivazione dei virus (soluzione al 10 %)
- ✓ Disinfezione generale delle superfici (soluzione all' 1%)





Infiammabile - incendi gravi se esposto a scintille, fiamme, fonti di calore



Tossico per gli organismi acquatici
Danni a lungo termine per l'ecosistema



Può avere effetti molto gravi e di lunga durata sulla salute



Provoca ustioni cutanee e lesioni oculari
Corrosivo per i metalli



Può essere letale anche in piccole quantità e in seguito a breve esposizione



Irritazione cutanea e oculare
Effetti nocivi sulla salute
Danneggia lo strato di ozono



Esplosivo - sensibile a fuoco, fonti di calore, vibrazioni e attriti

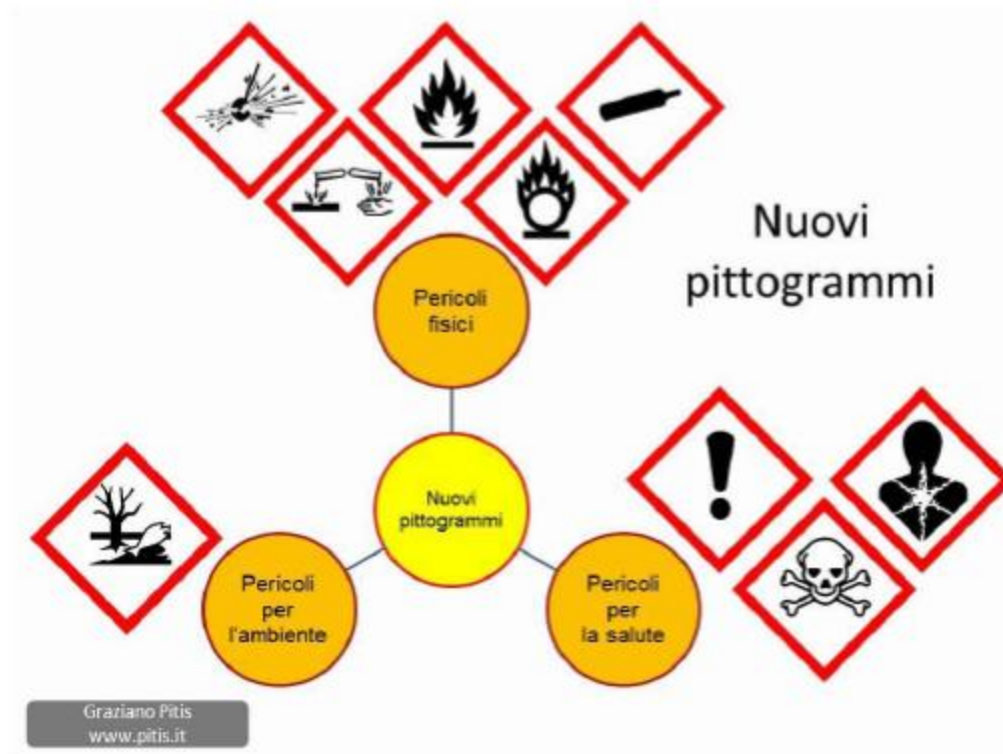


Può provocare o aggravare un incendio
Aumenta il pericolo d'incendio



Contenitore che può esplodere se riscaldato
Liquido molto freddo, può provocare ustioni

I pittogrammi



Il laboratorio di Citologia e Istologia

AULA -R. BARONE

ZONA di
PREPARAZIONE

ZONA di
OSSERVAZIONE

Il laboratorio di Citologia e Istologia

AULA -R. BARONE

**ZONA di
PREPARAZIONE**

Entrando in un laboratorio scientifico si ha la possibilità di visualizzare tutte quelle attrezzature utili ad effettuare un esperimento di tipo analitico.

RIPIANO PER REAGENTI NON TOSSICI

ACQUA DEIONIZZATA

CILINDRI, PALLONI,
BEUTE

BILANCIA ANALITICA

ESSICCATORE



Fonte: www.panalisi.com

Laboratorio di Citologia e Istologia



CAPPA CHIMICA

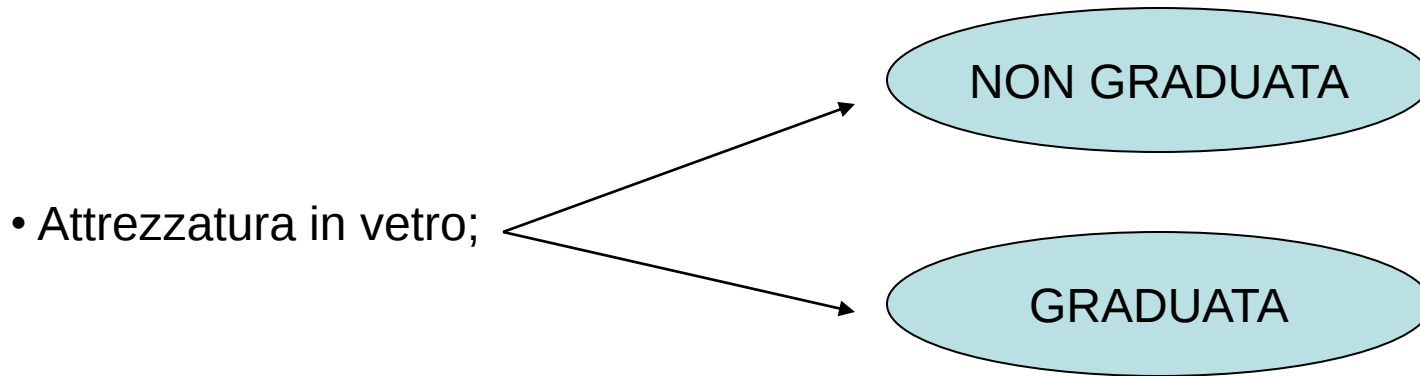


STUFE DA ESSICAZIONE



STUFE DA VUOTO

Le attrezzature e le strumentazioni



- Attrezzature in porcellana;
- Attrezzature metalliche, in legno, gomma;
- Strumentazioni per la miscelazione;
- Strumenti per la misurazione;
- Strumenti per lo scambio termico;

Attrezzature in vetro

Il vetro utilizzato per la costruzione di oggetti da laboratorio è in genere resistente all'azione di acidi, alcali ed agenti chimici. Per oggetti che devono essere riscaldati o sottoposti a sbalzi termici bruschi si usano vetri di tipo Pirex, un vetro borosilicato con aumentate caratteristiche termiche ed elettriche.

Gli oggetti più comuni in uso nei laboratori chimici sono:

- provette
- bicchieri o becher
- beute
- palloni
- imbuti
- imbuti separatori
- refrigeranti

VETRERIA NON GRADUATA

- cilindri graduati
- pipette
- matracci
- buretta

VETRERIA GRADUATA

VETRERIA NON GRADUATA



Fonte: www.yorkeitalia.com

Provette

La provetta è un recipiente tubolare di piccole dimensioni (diam. 8 - 18 mm, alt. 80- 100 mm), servono per eseguire prove e reazioni su piccole quantità di sostanza. Esistono anche graduate e sono utilizzate per saggi quantitativi.

Becher

Sono recipienti cilindrici di varie grandezze (100 - 3000 ml), con o senza becco, generalmente in vetro Pyrex. In essi si raccolgono e si scaldano soluzioni, si sciolgono sostanze, si fanno avvenire reazioni e si eseguono prove. Generalmente si trova graduato, ma a causa di un diametro piuttosto grande le graduazioni vengono utilizzate solo a scopo indicativo.



Fonte: <http://static-a.blogio.it>



Fonte: <https://extranet.fisher.co.uk>

Beuta

Sono recipienti di forma tronco-conica, con capacità diverse (10 - 1000 ml) e collo cilindrico con orlo normale o smerigliato. Si usano per raccogliere filtrati e per scaldare soluzioni. Hanno il vantaggio che una soluzione posta a bollire (lasciarvi sempre immerse delle sferette di vetro per evitarne il surriscaldamento) non si concentra troppo velocemente grazie alla loro forma.

Palloni

Hanno forma sferica, con fondo tondo o più raramente piano, con capacità in genere da 5 a 1000 ml. Possono avere collo normale o smerigliato. Sono comunemente utilizzati per l'evaporazione del solvente.



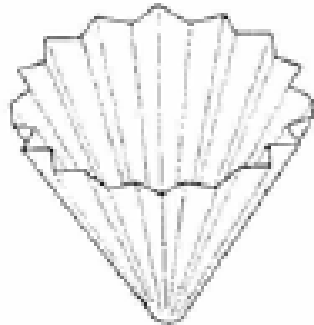
Fonte: www.wikipedia.it



Fonte: www.microglass.it

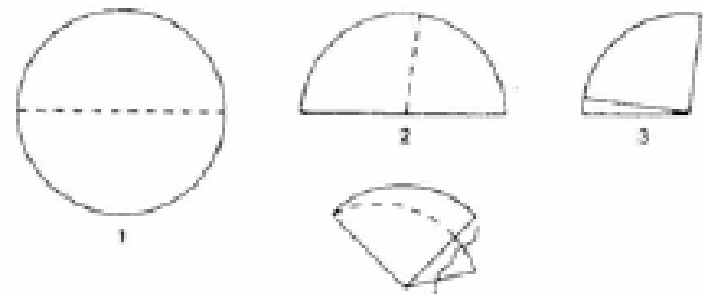
Imbuto

Serve essenzialmente per effettuare filtrazioni, metodo impiegato per separare un solido da un liquido. Il filtrato si raccoglie in una beuta o un Becher. Con la carta da filtro si preparano filtri lisci, se interessa recuperare il solido, o a pieghe se interessa solo il filtrato. I filtri a pieghe presentano una superficie utile maggiore di quelli lisci e consentono un'operazione più veloce.



Fonte: www.itispuozuoli.it

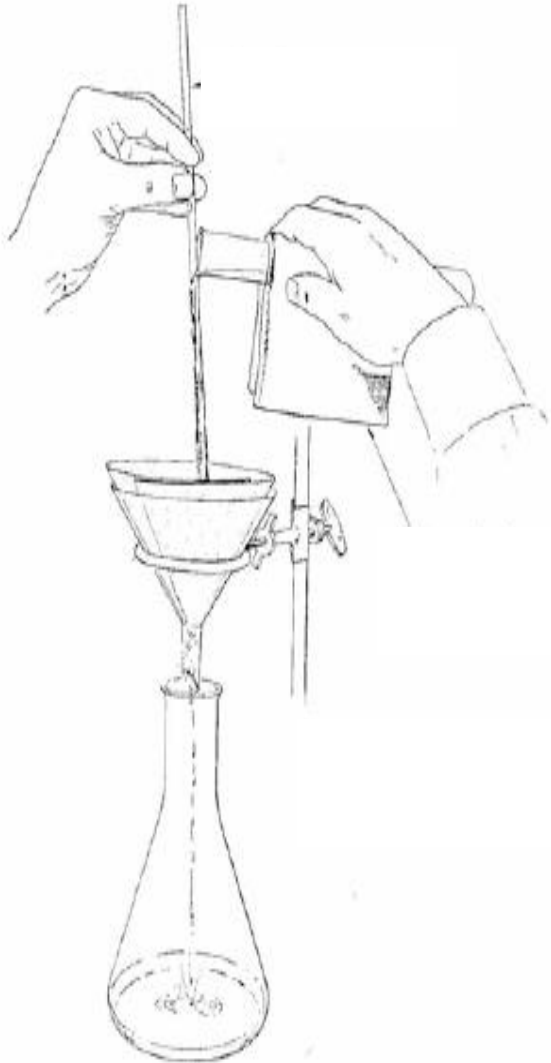
Filtro a pieghe



Fonte: www.itispuozuoli.it

Filtro liscio

Filtrazione



1. Disporre l'imbuto scelto sull'anello e porvi sotto il Becher o la beuta di dimensioni adatte a raccogliere il filtrato;
2. preparare un filtro che non sporga dall'imbuto e bagnarlo con un po' di solvente fresco (lo stesso che verrà filtrato);
3. versare sul filtro la sospensione di solido e liquido da filtrare aiutandosi con una bacchetta di vetro;
4. risciacquare la beuta con solvente fresco per recuperare le ultime particelle di prodotto e versare anche queste sul filtro;
5. quando dall'imbuto non gocciola più solvente, lavare filtro e precipitato con un po' di solvente fresco.



Fonte: www.wikipedia.it

Essiccatore

È impiegato per conservare i materiali asciutti conservati in essiccatori mentre si raffreddano per ridurre al minimo l'assorbimento di umidità. La parte alla base contiene un agente chimico essiccante, come il cloruro di calcio anidro oppure il solfato di calcio. Le superfici di vetro smerigliato sono leggermente ricoperte di grasso .

Unità di misura del volume

L'unità di misura del volume è il litro (L),
definito come 1 dm^3 ; il millilitro è un
millesimo di litro, o un cm^3 .

VETRERIA GRADUATA



Fonte: www.tecnomarket.it

Cilindri

Il cilindro graduato è uno degli strumenti di precisione media che il chimico utilizza in laboratorio. Si tratta di un tubo con una estremità chiusa e dotata di supporto e l'altra aperta con un piccolo beccuccio per facilitare le operazioni di travaso. È generalmente costruito con vetro borosilicato o vetro pyrex e viene usato per misurazioni o dosaggi di volumi di liquidi.

Pipetta

Mediante una pipetta il quale è possibile prelevare quantità definite o non definite di un liquido. Le pipette tarate presentano una scala graduata che permette di misurare la quantità esatta di liquido prelevato. Nella misura è prevista dal costruttore una tolleranza, o errore sistematico, che ne inficia la precisione e che è funzione di vari fattori, come il grado di precisione della scala graduata, la capienza della pipetta, la tipologia di materiale usato.

LINEA DI FEDE



Fonte: www.glasschimica.it



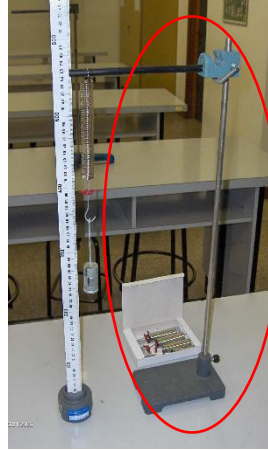
Fonte: <http://galilei2d.altervista.org>

Matraccio

Un matraccio è un recipiente tarato, provvisti di tappo ermetico, sono contenitori il cui volume è fisso ed indicato da una tacca sul collo. Vengono usati per la preparazione di soluzioni a titolo noto. Sono tarati per "riempimento" e generalmente, oltre al volume di taratura viene indicata sul matraccio la tolleranza di misura del volume (accuratezza, o sensibilità) e la temperatura alla quale la taratura è stata effettuata (normalmente 20°C). Per portare a volume la soluzione in un matraccio occorre riempirlo fino a quando il menisco inferiore della soluzione di riempimento diventa tangente alla tacca di misura tracciata sul collo del matraccio stesso.

Attrezzature metalliche, in legno, gomma

- sostegni metallici



Fonte: <http://www.fmboschetto.it>

- Spatole



- micropipette



- altre attrezzature minute comprendono gli anelli di sughero o di gomma per sostenere palloni o recipienti a fondo tondo.

Strumenti per la miscelazione

Agitatore magnetico



Fonte: www.directindustry.com

REGOLAZIONE
DELLA
TEMPERATURA

REGOLAZIONE
DELLA VELOCITA'

Sono piastre sotto le quali un'ancoretta magnetica può essere fatta ruotare a velocità regolabile. La dimensione e la forma dell'ancoretta magnetica determinano l'efficacia dell'agitazione stessa a parità di velocità di agitazione, per cui è opportuno scegliere la più adeguata in relazione alla quantità e qualità di liquido in lavorazione nonché al tipo di contenitore utilizzato. Spesso questi apparecchi incorporano la funzione di piastra riscaldante.



ANCORETTA MAGNETICA RIVESTITA
IN TEFLON

Fonte: www.glasschimica.it

La misura della massa

La massa inerziale m_i di un corpo definita dalla seconda legge di Newton come costante di proporzionalità tra la forza e l'accelerazione.

$$F = m * a$$

In fisica classica la forza peso agente su un corpo (oppure, più brevemente, *il suo peso*) è la forza di attrazione che su di esso applica un campo gravitazionale. Quindi:

$$m = P/g \qquad P = m * g$$

Secondo il Sistema Internazionale la massa si misura in Kg, nel sistema CGS l'unità di massa è il grammo.

Strumenti per la misurazione

Lo strumento per la misurazione della massa è la bilancia analitica, divisibile in tre categorie:

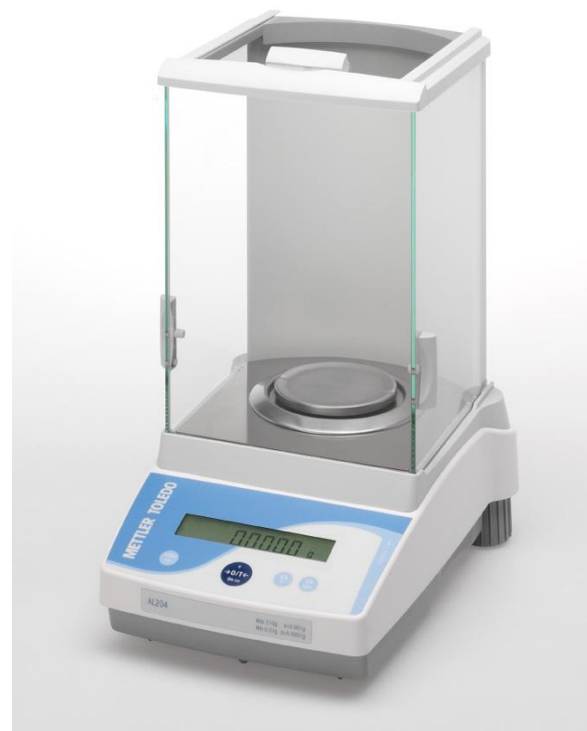
- **macrobilancia**, ha una capacità massima che oscilla tra i 160 ed i 200 grammi, le misure possono essere eseguite con una deviazione standard di $\pm 0,1$ mg;
- **bilancia semi-microanalitica**, con un carico massimo da 10 a 30 g ed una precisione di 0,01 mg,
- **bilancia microanalitica**, ha una capacità da 1 a 3 g ed una precisione di 0,001 mg.



MACROBILANCIA

Fonte: www.mt.com

MICROBILANCIA



Fonte: www.mt.com

Precauzioni nell'uso di una bilancia analitica

1. Portare “a bolla” la bilancia prima di ogni operazione di pesatura.
2. Centrare il carico sul piatto;
3. Proteggere la bilancia dalla corrosione;
4. Tenere scrupolosamente pulite la bilancia e la sua custodia;
5. Lasciare sempre che un oggetto che è stato riscaldato torni a temperatura ambiente prima di tentare di pesarlo;
6. Usare pinze o tamponi per le dita per evitare che gli oggetti prendano umidità;



Portare a bolla la bilancia vuol dire allineare la bilancia in maniera tale che la bolla d'aria si trovi al centro della livella. Le correzioni possono essere effettuate con piedini regolabili.

Pulizia della vetreria di laboratorio

Le superfici di vetro pulite mantengono uno strato sottile uniforme, che garantiscono la fedeltà del volume contrassegnato dalle ditte sulle attrezzature volumetriche. Lo sporco e l'unto provocano l'interruzione di questo strato sottile, per cui un breve ammollo in soluzione detergente calda è normalmente sufficiente a rimuovere queste impurezze. Dopo che la vetreria è stata abbondantemente risciacquata con acqua di rubinetto, deve necessariamente essere avvinata con acqua deionizzata. Raramente è necessario asciugare il materiale volumetrico prima dell'uso, in quanto questa operazione è uno spreco di tempo oltre che una potenziale fonte di contaminazione.

Allestimento di preparati Citologici e Istologici



MICROTOMI



CRIOSTATI O
MICROTOMI CONGELATORE



ULTRAMICROTOMI

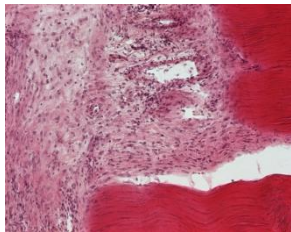
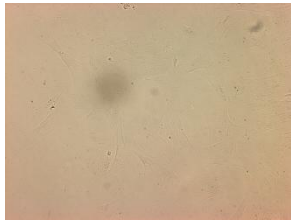
Il laboratorio di Citologia e Istologia

AULA -R. BARONE

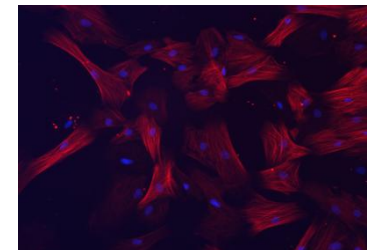
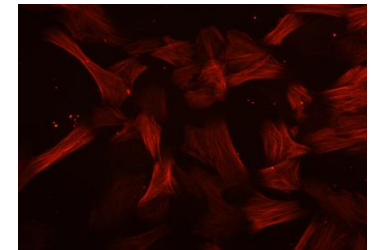
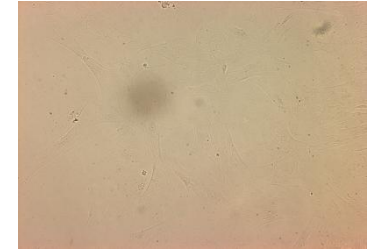
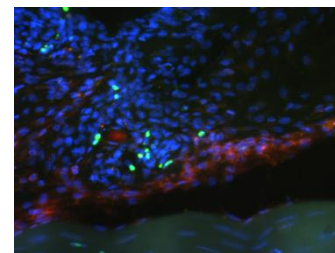
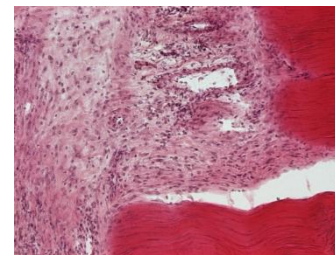
ZONA di
OSSERVAZIONE

Osservazione dei preparati Citologici e Istologici

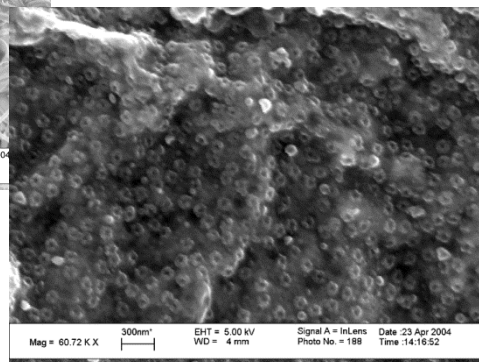
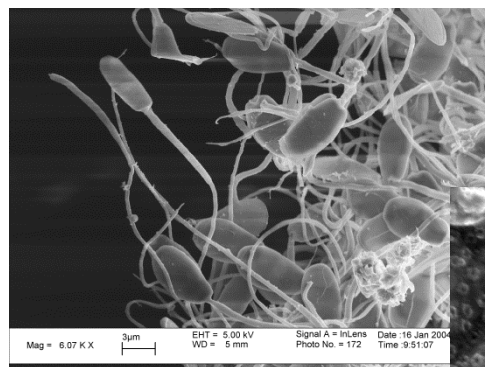
MICROSCOPIO OTTICO



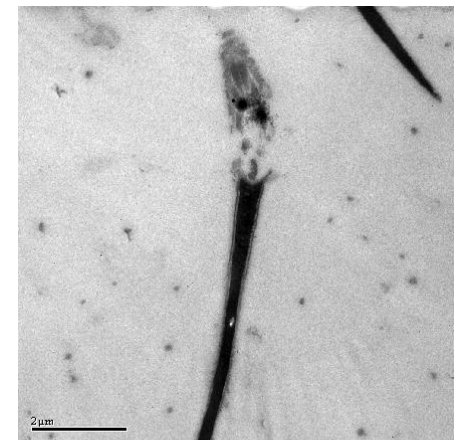
MICROSCOPIO OTTICO A FLUORESCENZA



MICROSCOPIO ELETTRONICO A SCANSIONE (SEM)



MICROSCOPIO ELETTRONICO A TRASMISSIONE (TEM)



Specimen : spz vetro attiva rettili pre/en
Frame D

Indicated Magnification : X12000

Image Notes :

Image Name : Frame
Resolution : 1024 x 1024 pixels
Acquisition Date : 14/07/2003
Acquisition Time : 16:11:59
Exposure Number : 2855
Exposure Time : 0.186449 s