

#### 4.14 APPARECCHIATURE UTILIZZATE IN LABORATORIO

L'uso appropriato e corretto delle apparecchiature presenti nel laboratorio è necessario per poter lavorare in sicurezza. Un uso appropriato comprende anche una manutenzione costante delle attrezzature, effettuata da personale competente e registrata nel registro di manutenzione e controllo che ogni apparecchio deve avere.

Di seguito si illustrano i pericoli e le precauzioni da adottare nell'uso delle apparecchiature di laboratorio più comuni. È comunque sempre necessario far riferimento ai manuali d'uso e manutenzione ed alle schede tecniche consegnate dal fornitore all'atto di acquisto/installazione.

Ad ogni modo l'utilizzo della strumentazione nei Laboratori del DiSVA è permesso solo al personale autorizzato e quindi sotto la diretta responsabilità del Docente Responsabile dell'Attività didattica e di Ricerca e del Responsabile del Laboratorio, che verifica la presenza dei suddetti manuali per ogni apparecchio presente nel Laboratorio di sua competenza per consentirne la consultazione agli utenti autorizzati.

Poiché molte delle attrezzature di laboratorio sono alimentate elettricamente, è opportuno adottare alcune semplici precauzioni per controllare il rischio elettrico nei laboratori, partendo dal presupposto che l'impianto sia stato progettato e realizzato a regola d'arte.

1. Ispezionare i cavi di alimentazione delle apparecchiature prima di ogni utilizzo.
2. Conoscere la collocazione dell'interruttore generale di sgancio della corrente elettrica di laboratorio.
3. Non utilizzare le prolunghine se non per operazioni temporanee.
4. Non utilizzare adattatori o prese multiple.
5. Installare le apparecchiature elettriche in posizioni nelle quali non possano entrare in contatto con solventi o acqua.
6. Utilizzare ESCLUSIVAMENTE apparecchiature elettriche a norma.

##### 4.14.1 Apparecchiature operanti a pressione diversa da quella atmosferica

Lavorare con agenti chimici pericolosi a pressione elevata o ridotta richiede speciali precauzioni ed accorgimenti per proteggersi sia dalle esplosioni che dalle implosioni. Particolare attenzione deve essere posta nella scelta delle attrezzature e nell'uso degli schermi di protezione, così come nella scelta e nel controllo delle parti in vetro.

##### 4.14.1.1 Recipienti ad alta pressione

- È necessario condurre operazioni ad alta pressione solo in recipienti appositamente scelti, adeguatamente certificati ed installati; dotati di dispositivi di sicurezza contro le sovrappressioni e di controllo della pressione.
- Prima di ogni messa in opera è opportuno eseguire una ispezione visiva.
- Un controllo periodico sull'integrità del recipiente e sull'efficienza dei dispositivi di sicurezza deve essere eseguito secondo la periodicità consigliata nel manuale dell'apparecchio.

##### 4.14.1.2 Linee da vuoto

- Le linee da vuoto devono essere sempre protette da schermi e poste sotto cappa chimica.
- Nel montare una linea da vuoto è importante fare attenzione a non inserire delle tensioni tra le diverse parti.
- Quando si aprono e chiudono i rubinetti bisogna farlo lentamente e con cautela.

- È necessario indossare sempre occhiali a mascherina o schermo facciale quando si utilizza una linea da vuoto.

#### 4.14.1.3 *Trappole da vuoto*

È necessario posizionare sempre una trappola tra l'apparato sperimentale e la sorgente del vuoto. Tale trappola ha lo scopo di proteggere la pompa da vuoto, la linea del vuoto ed evita il rilascio di sostanze tossiche.

La scelta del tipo di trappola e del sistema di filtrazione è legata alla tipologia delle sostanze in uso. Se per esempio vengono manipolati solventi organici volatili occorrerà molto probabilmente utilizzare una trappola raffreddata in modo tale da garantire la condensazione dei solventi. Spesso è sufficiente raffreddare la trappola con un bagno di ghiaccio secco e etanolo (-78°C). In altri casi è possibile utilizzare l'azoto liquido ricordandosi però che se il sistema è aperto e il bagno raffreddante ancora in contatto con la trappola, si può avere condensazione di ossigeno atmosferico che può reagire violentemente con le sostanze organiche presenti.

#### 4.14.1.4 *Contenitori in vetro*

Sebbene i contenitori in vetro siano frequentemente usati negli apparati in pressione o in depressione, essi possono esplodere violentemente anche in seguito ad un indebolimento del contenitore. Si raccomanda pertanto di:

- condurre tutte le operazioni dietro uno schermo di protezione;
- controllare prima dell'uso che i palloni non siano stellati o sbeccati;
- non riempire per più di  $\frac{3}{4}$  i tubi di vetro;
- sigillare con attenzione i tubi in vetro per centrifuga;
- non fare il vuoto in palloni con una capienza superiore ad 1L.

#### 4.14.1.5 *Serbatoi mobili di liquidi criogenici*

I contenitori per gas liquidi refrigerati hanno lo scopo di trasportare e conservare in volumi ridotti i gas in forma liquida mantenendoli isolati termicamente dall'ambiente esterno. A seconda dell'uso cui è destinato il gas liquefatto avremo: gli evaporatori freddi (tanks), destinati al trasporto e conservazione di grandi volumi di gas da immettere in una rete di distribuzione; contenitori più piccoli (vasi Dewar), usati per il trasporto, la conservazione e l'utilizzo del liquido nelle sue diverse applicazioni.

I rischi per la salute nell'uso dei contenitori per gas liquidi refrigerati sono principalmente legati alle caratteristiche fisiche del gas in essi contenuto. In particolare:

- il gas, conservato a temperature molto basse in forma liquida, in caso di contatto cutaneo provoca ustioni;
- la fuoriuscita del gas in forma liquida o gassosa dal contenitore posto all'interno di un ambiente chiuso o scarsamente ventilato (per esempio in seguito a sovrappressioni che determinano la fuoriuscita del gas dalla valvola di sicurezza) porta ad una rapida saturazione dell'ambiente con il rischio di asfissia per i presenti.

Per lo svolgimento delle attività che prevedono la manipolazione di gas criogenici è necessario:

- lavorare in locali ben areati, segnalati esponendo all'ingresso idonea segnaletica di sicurezza ed un estratto delle norme di sicurezza da seguire per operare correttamente;

- utilizzare DPI adeguati durante la manipolazione dei gas liquidi refrigerati: visiera, guanti composti da materiali isolanti dal freddo, idrorepellenti e di misura larga in modo da poterli sfilare in caso di penetrazione; paragambo a protezione dagli schizzi al corpo; calzature chiuse con ghette o con i pantaloni portati all'esterno di esse;
- apporre sui recipienti adeguata etichettatura relativa a bassa temperatura e tipo di gas contenuto.

#### **4.14.1.6 Evaporatori rotanti (rotavapor)**

##### Precauzioni d'impiego

- L'apparecchiatura deve essere posta in luoghi ben ventilati e in posizione orizzontale.
- I componenti in vetro di un rotavapor devono essere in vetro Pyrex.
- Tutte le parti in vetro devono essere adeguatamente schermate o ricoperte (ad esempio, rivestimenti di griglie metalliche, schermi di protezione, ecc).
- La velocità di rotazione deve essere aumentata gradualmente.
- L'applicazione del vuoto o la sua rimozione devono essere gradualmente.
- Il personale che lavora con apparati da vuoto deve usare occhiali di protezione.

#### **4.14.1.7 Liofilizzatori**

I pericoli legati all'utilizzo del liofilizzatore sono relativi alla produzione di aerosol e alla contaminazione per contatto diretto. Per il loro utilizzo occorre rispettare alcuni accorgimenti:

- utilizzare connessioni ad anello perfettamente aderenti per chiudere l'unità;
- utilizzare i filtri d'aria per proteggere le linee del vuoto;
- utilizzare un metodo valido di decontaminazione;
- ispezionare i tubicini del vuoto per cercare eventuali scalfitture della superficie in vetro;
- utilizzare solo materiale progettato per il vuoto;
- equipaggiare il liofilizzatore con una vaschetta umidificatrice in metallo ed un condensatore di vapore;
- linee da vuoto, essiccatori e tutti i contenitori sotto vuoto presentano un rischio di implosione. E' necessario pertanto che siano attentamente controllati prima di essere sottoposti al vuoto; devono inoltre essere circondati da adatti sistemi di contenimento (ad esempio, rivestimenti di griglie metalliche, schermi di protezione, ecc.);
- il personale che lavora con apparati da vuoto deve usare occhiali di protezione.

#### **4.14.2 Frigoriferi e congelatori**

I frigoriferi ed i congelatori sono utilizzati in laboratorio per conservare prodotti chimici di sintesi, campioni biologici, reagenti. I pericoli potenziali derivano dallo sviluppo di vapori al loro interno, dalla possibile presenza di composti chimici incompatibili e da versamenti accidentali. Solo frigoriferi e congelatori espressamente progettati per contenere prodotti chimici possono essere utilizzati nei laboratori e fra questi solo quelli certificati per contenere liquidi infiammabili possono essere utilizzati a tale scopo. Nei laboratori sono da evitare i frigoriferi tipo "defrost" che al loro interno hanno un tubo o un foro per trasportare via l'acqua in genere vicino all'area di compressione in cui si possono generare scintille. Per evitare i pericoli sopra menzionati occorre osservare corrette procedure di installazione, utilizzo e manutenzione:

- posizionare i frigoriferi ed i congelatori possibilmente lontano da fonti di calore e staccati dalla parete;
- nei frigoriferi e congelatori di laboratorio non possono essere riposti generi alimentari (cibi e bevande);
- i prodotti infiammabili possono essere stoccati solo nei frigoriferi certificati per quest'uso, su tali frigoriferi deve essere indicata chiaramente tale caratteristica;
- evitare di aprirli di frequente e inutilmente;
- tutti i contenitori stoccati all'interno devono essere chiaramente etichettati (mediante indicazioni indelebili), il materiale privo di etichetta deve essere eliminato;
- all'esterno di congelatori e frigoriferi deve essere indicato un elenco aggiornato delle sostanze contenute all'interno. Tale elenco deve riportare tutte le informazioni di sicurezza relative alle sostanze, la data di introduzione ed il responsabile;
- tutti i contenitori posti all'interno devono essere ben chiusi per impedire eventuali fuoriuscite di vapori;
- porre i contenitori delle sostanze all'interno di vaschette di contenimento posizionate sopra i ripiani, per contenere eventuali versamenti;
- fare attenzione a non riempire eccessivamente i contenitori destinati al congelamento;
- assicurarsi che le porte siano sempre chiuse ermeticamente. Segnalare tempestivamente al Responsabile dell'Attività qualsiasi malfunzionamento;
- è buona norma pulire e scongelare periodicamente frigoriferi e congelatori, verificare il buono stato dei contenitori stoccati ed eventualmente eliminare quelli rotti;
- durante la pulizia si devono utilizzare guanti in gomma pesante e pinze per asportare frammenti di vetro o plastica;
- in aggiunta ai guanti per la protezione chimica, per estrarre e manipolare campioni conservati a  $-80^{\circ}\text{C}$  e in azoto liquido, devono essere indossati guanti di protezione per le basse temperature per evitare ustioni da freddo;
- dopo la pulizia procedere alla disinfezione delle superfici del frigorifero/congelatore.

#### 4.14.3 Dispositivi per il mescolamento e l'agitazione

Quando si utilizzano gli agitatori per agitare/mescolare un campione, prima di avviare l'apparecchio occorre verificare che:

- la velocità di rotazione, od in generale di movimento, sia adatta a non provocare schizzi o rotture dei contenitori;
- il contenitore del campione sia integro e sia possibile chiuderlo in modo ermetico e stabile per evitare schizzi;
- in caso sia necessario trattenere con le mani il contenitore o il coperchio assicurarsi di poter garantire una buona presa (contenitore e guanti ben asciutti e non unti);
- al termine dell'agitazione aprire i contenitori sotto cappa attendendo qualche minuto prima di sollevare il coperchio per permettere agli aerosol di depositarsi;
- indossare idonei DPI durante tutte le operazioni: guanti, protezione per il viso, camice.

#### 4.14.4 Omogenizzatori, sonicatori

L'utilizzo di tali apparecchi può dar luogo a formazioni di schizzi ed aerosol causati da una pressione prodotta all'interno dei contenitori. Per contenere questi rischi occorre:

- utilizzare apparecchi progettati per l'uso in laboratorio;

- se possibile usarli in cappa chimica di sicurezza;
- riempire ed aprire il contenitore sotto cappa chimica e attendere circa 10 minuti prima di aprire il contenitore, per permettere agli aerosol di depositarsi;
- verificare prima dell'uso le condizioni dei contenitori (bicchieri, sacchetti) e delle chiusure (tappi e coperchi), evitare l'uso di contenitori di vetro e comunque accertarsi che non siano incrinati;
- evitare di riempire i contenitori oltre misura;
- indossare i guanti, utilizzare una protezione per il viso e il camice. Nel caso di sonicatori, l'utilizzatore dovrà indossare, in aggiunta, DPI per la protezione dell'udito (tappi, cuffie).

#### **4.14.5 Dispositivi per il riscaldamento**

Normalmente nei laboratori sono presenti diversi tipi di dispositivi per il riscaldamento: stufe, piastre riscaldanti, mantelli riscaldanti, bagni di sale, sabbia, olio, forni, muffole, microonde. Per il loro utilizzo occorre rispettare alcune precauzioni generali fra cui:

- tutte le apparecchiature per il riscaldamento devono essere opportunamente isolate e collocate in modo tale da prevenire contatti accidentali con parti calde o elettriche esposte;
- le superfici calde devono essere indicate con la segnaletica di sicurezza opportuna;
- deve essere verificata periodicamente l'integrità delle parti elettriche;
- utilizzare, quando possibile, riscaldatori elettrici piuttosto che fiamme libere. Qualora vengano usate fiamme libere, queste devono essere dotate di dispositivi di sicurezza.

##### **4.14.5.1 Stufe**

Normalmente le stufe sono utilizzate in laboratorio per rimuovere l'acqua o altri solventi dai campioni o per asciugare vetreria. Per il loro utilizzo occorre rispettare alcuni accorgimenti:

- non possono essere mai utilizzate per la cottura di cibi;
- devono essere costruite in modo tale da avere l'apparato riscaldante e il controllo della temperatura separati dall'area interna;
- deve essere preferito l'uso di stufe dotate di dispositivi per allontanare i vapori all'esterno mediante ventilazione forzata, per diminuire la probabilità di contaminazione dell'ambiente o la formazione di atmosfere esplosive;
- non possono essere utilizzate per allontanare sostanze tossiche da campioni di laboratorio a meno che non sia previsto un sistema di ventilazione forzata che trasporti i vapori direttamente all'esterno dell'area di lavoro;
- per evitare possibili esplosioni è bene che la vetreria risciacquata con solventi organici sia lavata nuovamente con acqua prima di essere introdotta nella stufa;
- il controllo della temperatura non deve avvenire mediante termometro a mercurio che rompendosi nella stufa potrebbe dare origine ad una grave contaminazione.

##### **4.14.5.2 Piastre riscaldanti**

Le piastre riscaldanti sono in genere utilizzate con bagni in cui immergere i contenitori. Gli apparecchi più moderni sono in genere costruiti per ridurre la probabilità di formazione di scintille, non così quelli vecchi, soprattutto

<b>Università Politecnica delle Marche</b> Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente	<b>MANUALE DELLA SICUREZZA</b> <b>a cura del Dott. L. Lambertucci RSPP-DiSVA</b>
--	---

nell'interruttore d'accensione, nel termometro e nel reostato per la regolazione della velocità di rotazione. Si consiglia quindi:

- sostituire gli apparecchi più vecchi con altri nuovi che rispettano moderne caratteristiche costruttive di sicurezza. Apparecchiature vecchie non vanno mai utilizzate quando sono coinvolte sostanze infiammabili;
- mai riporre o utilizzare una piastra riscaldante in vicinanza di sostanze infiammabili;
- non porre la piastra direttamente sul piano di lavoro ma su un elevatore a vite in modo che, in caso di necessità, si possa sfilare velocemente la fonte riscaldante;
- attendere che si raffreddi prima di riporla al chiuso nell'armadio.

#### **4.14.5.3 Mantelli riscaldanti**

Sono normalmente usati nelle operazioni di distillazione o per riscaldare reazioni condotte nei palloni. Si consiglia:

- prima dell'uso, di verificare che la parte in tessuto di fibre di vetro sia integra e che la parte elettrica sia isolata;
- di non utilizzare o riporre un mantello riscaldante in prossimità di sostanze infiammabili;
- al momento dell'utilizzo, di non collocarlo direttamente sul piano di lavoro ma su un elevatore a vite in modo che, in caso di necessità, sia possibile togliere velocemente la fonte riscaldante;
- di attendere che si raffreddi prima di riporla al chiuso nell'armadio.

#### **4.14.5.4 Pistole riscaldanti**

Questi apparecchi hanno recentemente sostituito i phon domestici che venivano utilizzati in laboratorio per asciugare la vetreria o aiutare lo sviluppo delle lastre per cromatografia su strato sottile. L'interruttore e il motore della ventola non sono privi di scintille e quindi devono essere utilizzati con cautela.

#### **4.14.5.5 Bagni termostatati ad acqua**

Sono apparecchi costituiti da vasche che possono contenere anche notevoli quantità di liquidi che vengono riscaldati da resistenze elettriche immerse, utilizzate per scopi diversi (reazioni biochimiche, crescita di colture batteriche, ecc.). Per il loro utilizzo occorre rispettare alcuni accorgimenti:

- verificare che non vengano prodotti schizzi o fuoriuscite accidentali di liquido o di campioni;
- sono da preferirsi bagni termostatati con coperchio inclinato che impedisce la caduta delle gocce di vapore condensato sui campioni in esame;
- dopo l'apertura del bagno termostatato non appoggiare mai il coperchio in vicinanza di cavi, prese, apparecchi elettrici sotto tensione;
- installare il bagno termostatato lontano da qualsiasi derivazione elettrica sotto tensione (prese, cavi, apparecchi);
- riempire il bagno termostatato con acqua distillata meglio se con l'aggiunta di un antimuffa o antimicrobico;
- sostituire l'acqua almeno 1 volta alla settimana e ogni volta che appare sporca o si contamina. Periodicamente procedere ad una pulizia approfondita del bagno indossando guanti idonei;
- evitare di immergere nell'acqua le mani nude;

<p><b>Università Politecnica delle Marche</b> Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente</p>	<p><b>MANUALE DELLA SICUREZZA</b> <b>a cura del Dott. L. Lambertucci RSPP-DiSVA</b></p>
--	---

- prima di procedere al riscaldamento verificare sempre la termoresistenza dei contenitori che si intendono impiegare così come le caratteristiche chimico fisiche delle sostanze impiegate (punto di ebollizione, d'infiammabilità ecc.).

#### **4.14.5.6      *Becchi Bunsen***

Il becco Bunsen è un becco a gas che mediante la fiamma serve a riscaldare rapidamente recipienti e materiali sino a temperature di 700 - 800°C. Per il loro utilizzo occorre rispettare alcuni accorgimenti:

- sono da usare esclusivamente i Bunsen dotati di termocoppia che fermano l'erogazione del gas in assenza della fiamma;
- il becco Bunsen deve essere tenuto pulito, la pulizia deve essere effettuata a secco;
- i tubi per il gas devono essere a norma UNI-CIG, di diametro adeguato, fissati saldamente con fascette e sostituiti periodicamente secondo la tempistica di legge;
- se si usano i becchi Bunsen per sterilizzare anse o altri oggetti da microbiologia si possono formare aerosol potenzialmente infetti; il fenomeno deve essere maggiormente considerato quando si sospetta la possibile presenza di agenti patogeni trasmissibili per via aerea. Tali operazioni andrebbero effettuate sotto cappa bio azard utilizzando però sistemi di sterilizzazione di tipo elettrico (micro bruciatori o sterilizzatori elettrici).

#### **4.14.5.7      *Forni a microonde***

L'utilizzo delle microonde per condurre reazioni chimiche è sempre più diffuso. Per tale scopo esistono degli strumenti per l'uso in laboratorio, è invece da evitare assolutamente l'utilizzo di forni a microonde domestici. I possibili pericoli che devono essere considerati utilizzando un forno a microonde in laboratorio sono:

- la fuoriuscita di microonde da portelli con chiusure o guarnizioni danneggiate, o per difetti dell'interblocco;
- la temperatura dei solventi può aumentare fino al punto d'ebollizione. Se tali solventi sono infiammabili c'è la possibilità di incendio o esplosione;
- poiché i vapori di liquidi infiammabili vengono generati in una cavità chiusa, la loro concentrazione può superare il limite inferiore di infiammabilità;
- l'apparato elettrico può fungere da sorgente d'innescio;
- all'interno della cavità si possono generare dei vapori tossici che possono investire l'operatore all'apertura dello sportello;
- le microonde possono produrre, per reazione o riscaldamento, prodotti più tossici di quelli di partenza;
- le microonde portano più frequentemente al surriscaldamento dei liquidi rispetto alle tecniche tradizionali.

Un forno a microonde che è stato progettato per il laboratorio ha diversi dispositivi di controllo e protezione che mancano nei forni domestici:

- ventilazione;
- sensori per i solventi che automaticamente spengono il microonde prima che sia stato superato il limite inferiore di infiammabilità;
- un sistema di controllo della temperatura delle soluzioni;
- minimizzazione delle variazioni della temperatura all'interno della cavità ed un controllo più preciso della stessa;

- i componenti elettrici sono isolati dalla cavità in modo da non diventare sorgenti d'innesco e per essere protetti dalla corrosione;
- lo sportello dell'apparecchio è progettato per resistere ad una esplosione di 1g di TNT equivalente.

Nell'uso dei forni a microonde occorre ricordarsi:

- mai utilizzare i forni per reazioni chimiche anche per riscaldare cibi e bevande;
- mai utilizzare i forni con lo sportello aperto;
- mai porre nei forni dei contenitori in metallo;
- mai porre all'interno dei contenitori chiusi ermeticamente (possono esplodere);
- quando si estraggono dei contenitori dai forni devono essere utilizzati dei guanti per la protezione dal calore.

#### 4.14.6 Ultrasonicatori

Gli ultrasuoni sono onde sonore con frequenza tra i 16 e 100 KHz, il pericolo per l'uomo dipende dal tipo di trasmissione e di contatto. Se il contatto con l'uomo avviene per trasmissione in aria non vi sono grandi effetti sulla salute, se non in dipendenza dal tempo d'esposizione (affaticamento e mal di testa). In questo caso è sufficiente chiudere il sonicatore in una scatola con pareti fonoassorbenti.

Il contatto diretto del corpo umano con liquidi e solidi soggetti ad ultrasuoni ad alta intensità può essere invece più pericoloso. Gli ultrasuoni creano delle cavità nei liquidi e distruggono le membrane cellulari. Il contatto con un solido vibrante sotto l'effetto degli ultrasuoni può causare gravi ustioni.

#### 4.14.7 Centrifughe – Ultracentrifughe – Microcentrifughe

Sono tra le apparecchiature maggiormente impiegate in un laboratorio. Durante la centrifugazione si possono generare aerosol, fuoriuscite di materiale e rottura di provette.

Si deve osservare che nei laboratori sono spesso utilizzate centrifughe di vecchia generazione. Queste macchine debbono essere controllate più frequentemente ed eventualmente sostituite (o messe a norma) se non fossero provviste del blocco dell'apertura durante l'esercizio o se non fossero provviste di un coperchio a tenuta in particolare se vengono usate per centrifugare composti radioattivi, organismi patogeni o materiale potenzialmente infetto. andrebbe inoltre controllata la presenza e la disponibilità del manuale d'uso, comprensivo delle caratteristiche tecniche e costruttive della macchina.

Occorre ricordare che l'insieme dei rischi derivanti da processi di centrifugazione sono solitamente associati a comportamenti non adeguati, a scelte operative non appropriate, ad acquisti non conformi alle necessità operative, all'uso di strumentazione obsoleta o accessori vecchi e tenuti in cattivo stato di efficienza e pulizia, oppure alla non adeguata valutazione delle caratteristiche di sicurezza necessarie. E' necessario maneggiare con cura particolare i campioni biologici potenzialmente infetti e pericolosi. Per il loro utilizzo occorre rispettare alcuni accorgimenti:

- devono essere installate correttamente ed usate solo da personale opportunamente addestrato;
- devono essere utilizzate esclusivamente delle centrifughe che abbiano un dispositivo di sicurezza atto ad impedire l'apertura del coperchio durante il funzionamento ed utilizzati solo rotori omologati dalla ditta costruttrice;
- i manuali delle centrifughe e dei rotori devono essere facilmente reperibili in prossimità delle apparecchiature stesse;
- prima dell'utilizzo bisogna assicurarsi che i dispositivi di sicurezza siano integri e funzionanti;

<p><b>Università Politecnica delle Marche</b> Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente</p>	<p><b>MANUALE DELLA SICUREZZA</b> <b>a cura del Dott. L. Lambertucci RSPP-DiSVA</b></p>
--	---

- prima dell'utilizzo bisogna assicurarsi che tutti gli accessori, rotore, contenitori, provette siano integri ed adatti allo scopo;
- le provette da centrifugare devono essere sempre inserite nel rotore in modo da essere appaiate per peso e correttamente bilanciate. È necessario evitare soluzioni saline perché corrodono i metalli;
- le provette da centrifugare non devono essere riempite eccessivamente per non incorrere in fuoriuscite di materiale. In particolare se si utilizzano rotori ad angolo fisso ed il materiale biologico è infetto o potenzialmente tale. Tra il livello del liquido ed il bordo della provetta devono essere lasciati circa 2 cm (escluse le provette piccole);
- utilizzare, se possibile, provette da centrifuga di materiale infrangibile, provviste di tappo di chiusura, meglio se a vite, autobloccante;
- non utilizzare i "parafilm" per chiudere le provette;
- pulire immediatamente e disinfettare in caso di fuoriuscita di liquido; gli accessori e l'interno delle centrifughe vanno puliti e disinfettati regolarmente, sempre prima di eseguire riparazioni;
- le operazioni di chiusura e apertura delle provette devono essere effettuate con grande cautela;
- durante le operazioni di carico e scarico delle centrifughe indossare idonei guanti di protezione;
- se la centrifuga è posizionata sotto una cappa occorre considerare che, durante la centrifugazione, il flusso d'aria proveniente dalla centrifuga provoca fenomeni di turbolenza;
- non devono essere superate le velocità massime consentite, in relazione anche alla densità del materiale da centrifugare;
- lasciare perfettamente puliti centrifuga e rotori dopo l'uso, così da poter essere impiegati successivamente senza rischio anche se siano state usate sostanze tossiche o nocive, o materiali con potenziale rischio biologico;
- programmare regolare manutenzione al fine di ridurre il rischio di guasti meccanici. Interrompere immediatamente il funzionamento della centrifuga nel caso di comportamenti anomali (ad es. nel caso di vibrazioni o rumori anomali durante il funzionamento);
- mai appoggiarsi ne posizionare materiale di qualsiasi tipo sopra una centrifuga in azione (in particolar modo se si tratta di un ultracentrifuga) per evitare danni all'apparecchiatura e soprattutto alle persone eventualmente presenti nelle vicinanze.

#### **4.14.8 Autoclavi**

L'autoclave serve per la sterilizzazione (distruzione di microrganismi spore incluse) sia di pipette, tamponi, che di terreni nutritivi, flaconi di campionamento ecc. È una caldaia che produce vapore saturo (attraverso la valvola del vapore manuale o automatica) sotto pressione ad alta temperatura. Il rischio è quello di esplosione o contatto con parti ad alta temperatura.

Le autoclavi con capacità superiore a 24L sono soggette, in base alla normativa vigente, a collaudo al momento dell'installazione, ogni qual volta vengano spostate da un laboratorio all'altro e dopo ogni intervento di manutenzione. Inoltre devono essere sottoposte annualmente a manutenzione ordinaria.

L'autoclave deve essere accessibile solo al personale autorizzato e addestrato che ha preso visione del manuale d'uso ed è consapevole dei rischi. Utilizzando un autoclave occorre:

- non riempire eccessivamente l'autoclave. Il volume di liquido contenuto nell'autoclave non deve superare la metà del volume totale;

<p><b>Università Politecnica delle Marche</b> Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente</p>	<p><b>MANUALE DELLA SICUREZZA</b> <b>a cura del Dott. L. Lambertucci RSPP-DiSVA</b></p>
--	---

- materiali taglienti o appuntiti devono essere autoclavati in contenitori rigidi;
- maneggiare con cautela le sacche per l'autoclave prendendole sempre dall'alto;
- controllare periodicamente la capacità di sterilizzazione dell'autoclave mediante appropriati indicatori biologici;
- non autoclavare insieme oggetti puliti e contaminati. In genere gli oggetti puliti richiedono un tempo di decontaminazione più breve (15-20 minuti) mentre i rifiuti infetti richiedono tempi più lunghi (45-60 minuti);
- in tutte le operazioni utilizzare sempre idonei DPI fra cui guanti resistenti al calore, occhiali di sicurezza o schermi protettivi e camice da laboratorio, per evitare danni per fuoriuscite di materiale patogeno e/o caldo;
- al termine della sterilizzazione, aprire con cautela il coperchio dell'autoclave e aspettare che tutto il vapore sia uscito, prima di rimuovere il contenuto. Prima delle operazioni di svuotamento controllare che la temperatura non sia superiore a 60°C e la pressione sia uguale a zero;
- poiché l'agar si scioglie in autoclave, porre le piastre dentro vassoi di contenimento;
- se si verifica un versamento all'interno dell'autoclave, aspettare che tutto il sistema si sia raffreddato prima di pulire. Se vi sono frammenti di vetro, rimuoverli attentamente con delle pinze;
- non abbandonare senza alcuna sorveglianza l'autoclave, occorre che vi sia sempre qualcuno nelle vicinanze in modo da poter intervenire prontamente in caso di problemi. Durante il funzionamento i dispositivi di controllo e sicurezza dell'autoclave devono essere costantemente sorvegliati;
- il valore massimo di pressione consentito deve essere chiaramente indicato nell'autoclave;
- la pressione indicata sul fondo scala del manometro non deve essere superiore a quella massima di esercizio prevista;
- dopo ogni utilizzo le apparecchiature devono essere controllate per constatare l'eventuale presenza di corrosione;
- è utile, inoltre, la costituzione di un registro per ogni autoclave sul quale annotare accuratamente ogni prova effettuata e gli interventi di manutenzione realizzati nel tempo;
- le autoclavi devono essere regolarmente e correttamente mantenute e ispezionate;
- controllare periodicamente e frequentemente l'efficienza delle guarnizioni;
- assicurarsi periodicamente dell'esistenza e dell'efficienza di dispositivi automatici di scarico per eccessiva pressione (dischi di rottura, valvole di sicurezza);
- è vietato intervenire su parti di apparecchiature in pressione (flange, raccordi, rampe, etc.); prima di effettuare l'intervento si deve sfiatare e, se necessario, bonificare.

#### **4.14.9 Dispositivi per elettroforesi**

L'apparecchiatura per l'elettroforesi è composta, fondamentalmente, da due parti: un alimentatore che fornisce un flusso di corrente continua agli elettrodi applicati alla cella elettroforetica ed una cella elettroforetica. L'elettroforesi viene solitamente condotta su un supporto inerte ed omogeneo. Il campione viene sciolto in un opportuno tampone col quale, inoltre, viene saturato l'eventuale supporto in modo da consentire la conduzione della corrente. Il pericolo è costituito dall'elettrocuzione a causa di contatti accidentali con parti in tensione. Per il loro utilizzo occorre rispettare alcuni accorgimenti:

- gli operatori devono essere a conoscenza delle istruzioni riportate nel manuale d'uso della vaschetta e dell'alimentatore utilizzati;
- l'apparato per l'elettroforesi deve essere posizionato lontano dai lavandini o da altre sorgenti d'acqua;

- verificare che la spina ed il filo di alimentazione elettrica dell'alimentatore e che i cavetti di alimentazione della vaschetta siano in perfetto stato;
- verificare la perfetta tenuta della vaschetta prima di utilizzarla;
- preparare tutte le soluzioni sotto cappa chimica;
- se si utilizza il bromuro d'etidio è utile avere una lampada portatile ad UV in modo da controllare la contaminazione della zona di lavoro;
- se l'elettroforesi deve essere condotta su gel d'acrilammide (cancerogena), si consiglia l'uso di gel già preparati o soluzioni già pronte, in modo da evitare l'operazione di pesatura della polvere;
- per contenere eventuali versamenti è opportuno effettuare tutte le operazioni di travaso su appositi vassoi;
- la decontaminazione delle superfici può essere fatta con etanolo;
- assicurarsi che i cavetti di alimentazione siano staccati prima di riempire la vaschetta da elettroforesi con il tampone e prima di caricare i campioni. Non riempire eccessivamente la vaschetta con il tampone;
- verificare che l'alimentazione sia spenta prima di connettere gli elettrodi;
- connettere un elettrodo alla volta utilizzando una sola mano. Assicurarsi che le mani siano asciutte durante la fase di connessione degli elettrodi;
- assicurarsi che il coperchio della vaschetta sia correttamente posizionato prima di collegare i morsetti;
- assicurarsi che l'alimentatore sia spento prima di collegare i morsetti della vaschetta;
- sorvegliare l'apparato durante il processo di elettroforesi;
- prima di rimuovere il coperchio della vaschetta, spegnere l'alimentatore e staccare i morsetti;
- smaltire tutti i materiali contaminati come rifiuti speciali pericolosi, in particolare il gel (che contiene prodotti chimici pericolosi come acrilammide o bromuro di etidio) ed i tamponi di corsa;
- in caso di problemi, rivolgersi al Responsabile dell'attività di Laboratorio.

#### 4.14.10 Compressori

I rischi relativi all'uso del compressore sono legati all'uso della macchina in genere: può provocare lesioni, schiacciamenti, contusioni, bruciature, ustioni, vibrazioni, scuotimenti, esposizione al rumore. Sono inoltre legati a rischi di elettrocuzione essendo alimentato elettricamente. Per l'utilizzo occorre rispettare alcuni accorgimenti:

- verificare che il motore, le cinghie e le parti in movimento siano adeguatamente protetti contro un contatto accidentale degli operatori;
- verificare che sulla macchina, o a portata di mano od in posizione facilmente accessibile, sia installato un comando per l'arresto d'emergenza;
- i comandi non devono avere parti sporgenti che possono permettere l'azionamento involontario;
- prima di procedere a qualsiasi operazione di manutenzione o a riparazione occorre togliere la tensione dal quadro di alimentazione e staccare le spine. Ogni organo dotato di moto dovrà essere lubrificato. Si dovranno controllare tutte le parti elettriche della macchina;
- mai manomettere od asportate per necessità di lavoro i dispositivi di sicurezza e protezione (schermi di protezione per ingranaggi, giunti rotanti, ecc.);
- provvedere ad una regolare manutenzione onde limitare il pericolo di guasti e proiezioni di parti meccaniche, scoppio serbatoio e tubazioni, ecc.;

<b>Università Politecnica delle Marche</b> Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente	<b>MANUALE DELLA SICUREZZA</b> <b>a cura del Dott. L. Lambertucci RSPP-DiSVA</b>
--	---

- usare il compressore solo per gli usi previsti;
- evitare contatti, anche accidentali, con organi in movimento (volani, pulegge, cinghie ...) e quindi prestare attenzione alle operazioni da svolgere;
- evitare contatti con organi ad elevata temperatura come ad esempio alette di raffreddamento, tubi di scappamento, ecc.;
- controllare che vi sia una adeguata protezione di terra e che gli impianti elettrici siano a norma;
- utilizzare adeguati dispositivi antirumore (cuffie o tappi) se l'esposizione a rumore supera gli 80 dB(A).

#### **4.14.11 Criotomi**

L'utilizzo del criotomo può dar luogo a rischi di congelamento delle parti che vengano eventualmente in contatto con il criostato (il congelamento a mani e braccia non protette può avvenire a temperature sotto i  $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e a rischi di tagli o ferite per contatto con la lama. Per il loro utilizzo occorre rispettare alcuni accorgimenti:

- evitare di toccare troppo spesso le parti di metallo all'interno della camera del criotomo;
- usare sempre la protezione salvadita nel manipolare il preparato e la lama;
- se possibile, mettere in posizione il preparato prima di inserire la lama nel supporto;
- prima di cambiare il porta-lama togliere sempre la lama che contiene;
- le lame non usate vanno conservate nell'apposito contenitore;
- stare attenti alla lama durante il sezionamento e/o quando si rimuovono le sezioni. Nelle operazioni al criotomo utilizzare guanti di protezione idonei.

#### **4.14.12 Microscopi**

Quando si utilizzano i microscopi per osservare microrganismi vivi (esame a fresco, ecc.) occorre osservare alcune regole di sicurezza:

- posizionare e rimuovere il vetrino utilizzando i guanti;
- pulire e disinfettare con una soluzione adatta (non corrosiva) le parti del microscopio eventualmente contaminate e l'area di lavoro;
- eliminare i vetrini nei contenitori per prodotti taglienti;
- spegnere e scollegare lo strumento prima di qualsiasi intervento di manutenzione. In caso di necessità di sostituzione delle lampade, attenersi al manuale del microscopio in uso. Attendere che le lampade siano fredde ed assicurarsi di indossare guanti idonei prima di procedere alla sostituzione. Le parti metalliche possono essere molto calde;
- per lampade a fluorescenza (vapori di mercurio) è opportuno contattare personale autorizzato ed effettuare adeguato smaltimento dei vecchi bulbi.

#### **4.14.13 Spettrofotometri – Fluorimetri**

Alcune delle sostanze chimiche utilizzate con gli spettrofotometri sono corrosive e/ o infiammabili e i campioni possono essere radioattivi, contenere sostanze tossiche, o essere potenzialmente infetti. Si devono seguire le normali procedure di laboratorio per la manipolazione di sostanze chimiche e biologiche pericolose.

<b>Università Politecnica delle Marche</b> Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente	<b>MANUALE DELLA SICUREZZA</b> <b>a cura del Dott. L. Lambertucci RSPP-DiSVA</b>
--	---

- Mai effettuare interventi di manutenzione senza aver prima spento e disconnesso dall'alimentazione lo strumento. In generale è sempre buona norma rivolgersi a personale specializzato per mantenere questo tipo di strumenti;
- Alcune parti metalliche possono essere molto calde, perciò prima di qualsiasi intervento ci si deve assicurare di indossare guanti idonei;

#### **4.14.14 Vetreria**

L'utilizzo di oggetti in vetro e di apparecchiature con parti in vetro per gli operatori può comportare tagli accidentali o altre serie conseguenze. Per questo è necessario adottare le seguenti misure:

- utilizzare se possibile materiale in plastica monouso;
- evitare di utilizzare vetreria rotta o sbeccata;
- manipolare con maggiore cautela la vetreria utilizzata più volte (vecchia). Il vetro sottoposto ad agenti fisici quali: calore, UV, microonde, urti, ecc. perde di resistenza;
- tutta la vetreria trovata fuori dalle aree di conservazione della vetreria pulita o non confezionata, come previsto, va considerata usata e deve essere ricondizionata prima del riutilizzo;
- se la vetreria da riutilizzare è stata utilizzata con materiale infetto o potenzialmente infetto occorre prima sterilizzarla, lavarla e, se occorre, risterilizzarla;
- in caso di rottura di provette, beute o altra vetreria, è opportuno rimuovere il materiale utilizzando pinze, scopa e paletta (non usare le mani anche se protette da guanti). I frammenti di vetro vanno smaltiti nei contenitori rigidi per taglienti. Durante queste operazioni indossare sempre dei guanti.

#### **4.14.15 Strumenti automatici di analisi**

Gli strumenti automatici di analisi presentano diversi fattori di rischio, possono per esempio, avere delle parti meccaniche in movimento che devono essere protette in modo da non provocare danni agli operatori o ai materiali posti nelle vicinanze.

- Le aree eventualmente interessate dal movimento automatico devono essere chiaramente segnalate.
- Le parti in tensione delle apparecchiature dovrebbero essere protette da schermi che non vanno mai rimossi, se non previsto dal costruttore, ed anche in questo caso solo dopo aver disconnesso l'alimentazione.
- Particolare attenzione si deve porre nel caso che tali apparecchiature siano dotate di pipette automatiche per il prelievo e la dispensazione dei campioni o di sistemi centrifughi per la miscelazione dei campioni con i reattivi; in entrambi i casi si può generare una dispersione fine di materiale nell'atmosfera circostante, che può depositarsi sulle superfici dell'apparecchio. Può essere necessario posizionare uno schermo di protezione. Occorre controllare e decontaminare le superfici dell'apparecchio, i portacampioni e l'area di lavoro circostante: per questa operazione si devono indossare guanti idonei e cambiare con frequenza i mezzi utilizzati per la pulizia (garze o altro).
- Nel caso in cui i puntali delle pipette non siano monouso, per la loro pulizia e/o sostituzione è opportuno agire con estrema cautela per evitare ferite accidentali.
- Alla fine delle sessioni di lavoro si devono eseguire dei cicli di pulizia come indicato dal costruttore.
- I liquidi di scarico raccolti in appositi contenitori direttamente collegati all'apparecchio ed i rifiuti solidi, sono da considerarsi come rifiuti speciali potenzialmente pericolosi e come tali devono essere smaltiti.

<b>Università Politecnica delle Marche</b> Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente	<b>MANUALE DELLA SICUREZZA</b> <b>a cura del Dott. L. Lambertucci RSPP-DiSVA</b>
--	---

- Gli apparecchi che durante il loro funzionamento possono dar luogo a fumi o aerosol potenzialmente pericolosi (gascromatografi, analizzatori a fiamma, spettrofotometri ad assorbimento atomico, ecc) devono avere un sistema di aspirazione dedicato.
- Gli apparecchi e gli accessori smontati, devono essere decontaminati prima di procedere a qualsiasi intervento di manutenzione e/o riparazione, specialmente se tali interventi saranno eseguiti da personale esterno al laboratorio. Se le caratteristiche costruttive lo permettono, le parti smontate potranno essere sterilizzate.
- Nel caso non sia possibile eseguire le operazioni di decontaminazione, segnalare in modo visibile il pericolo biologico.