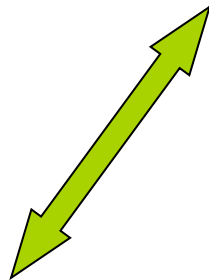


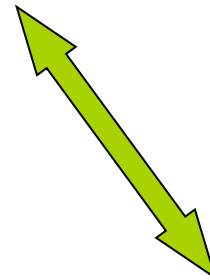
Istrumenti



Colture cellulari



Mezzi



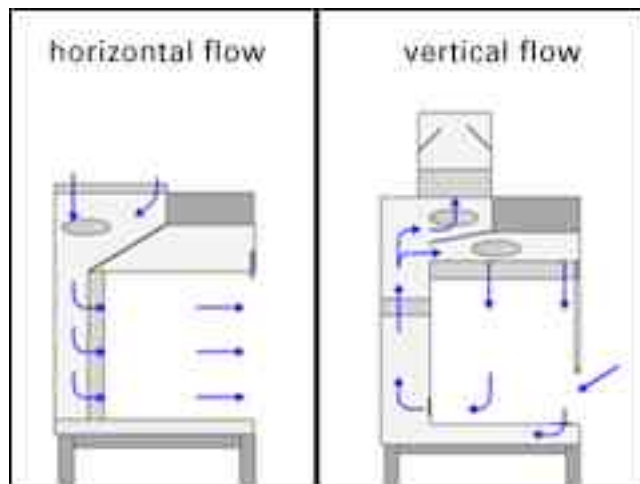
Contenitori

Attrezzature del Laboratorio di Colture Cellulari

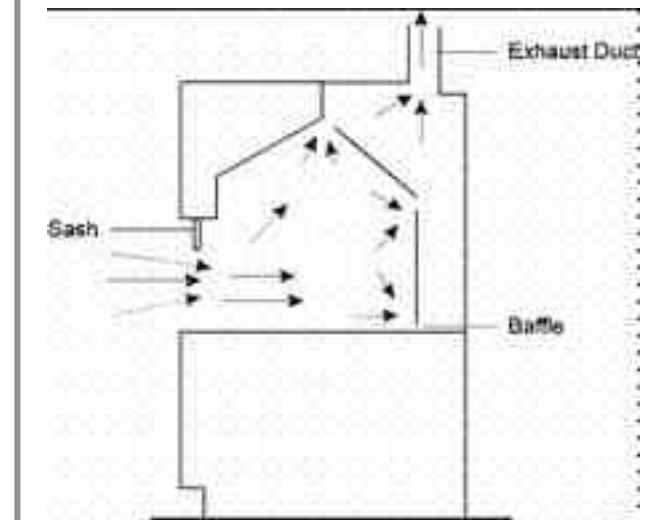
- Cappa a flusso laminare
- Incubatore a CO₂
- Microscopio rovesciato a contrasto di fase
- Centrifuga a bassa velocità, non refrigerata
- Bagno termostatico
- Frigorifero 4°C
- Congelatore -20°C
- Congelatore -80°C
- Contenitore azoto liquido -180°C

Cappe a flusso laminare per lavoro in sterilità

Due tipologie di cappe a flusso laminare: orizzontale e verticale



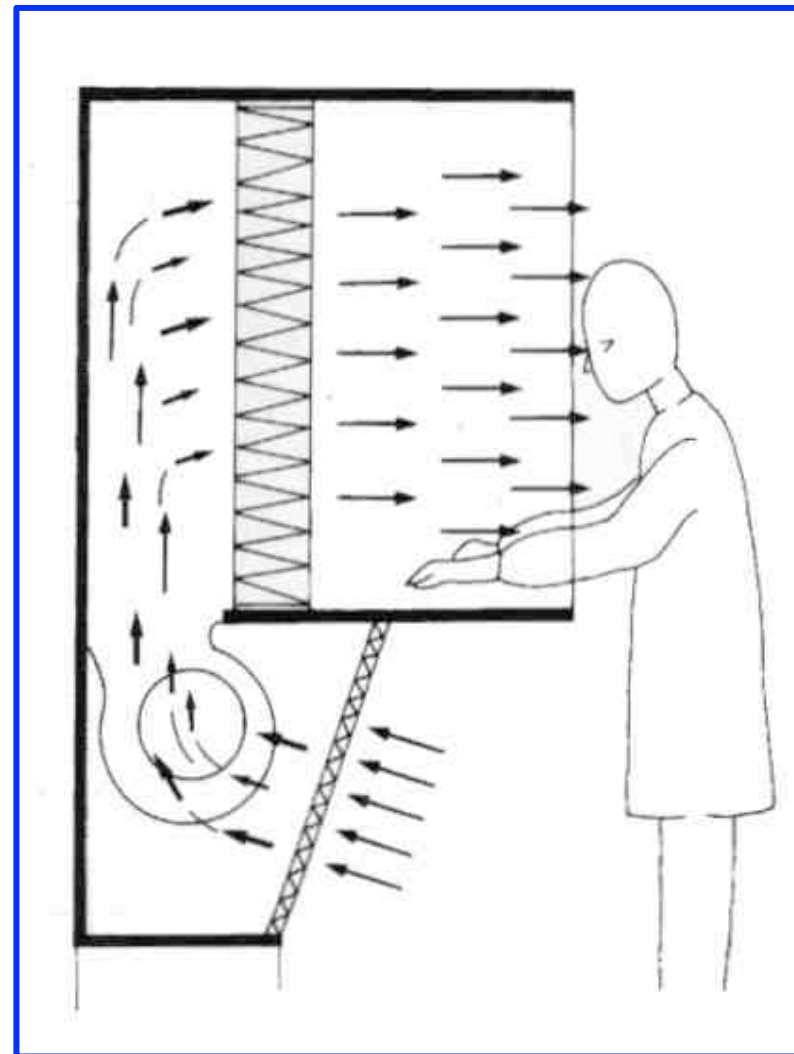
Non confondere cappe sterili e cappe chimiche



Cappa a flusso orizzontale

Una cappa a flusso orizzontale ("cappa sterile") non è una cappa di sicurezza biologica e non va usata come tale, perché pericolosa per l'operatore (che viene investito direttamente dall'aria contaminata) e per l'ambiente.

Schema di cappa a flusso orizzontale. Assolutamente da evitare perché l'operatore viene investito direttamente dall'aria contaminata.



Esistono tre tipi di cappe di sicurezza biologica: classe I, II, e III.

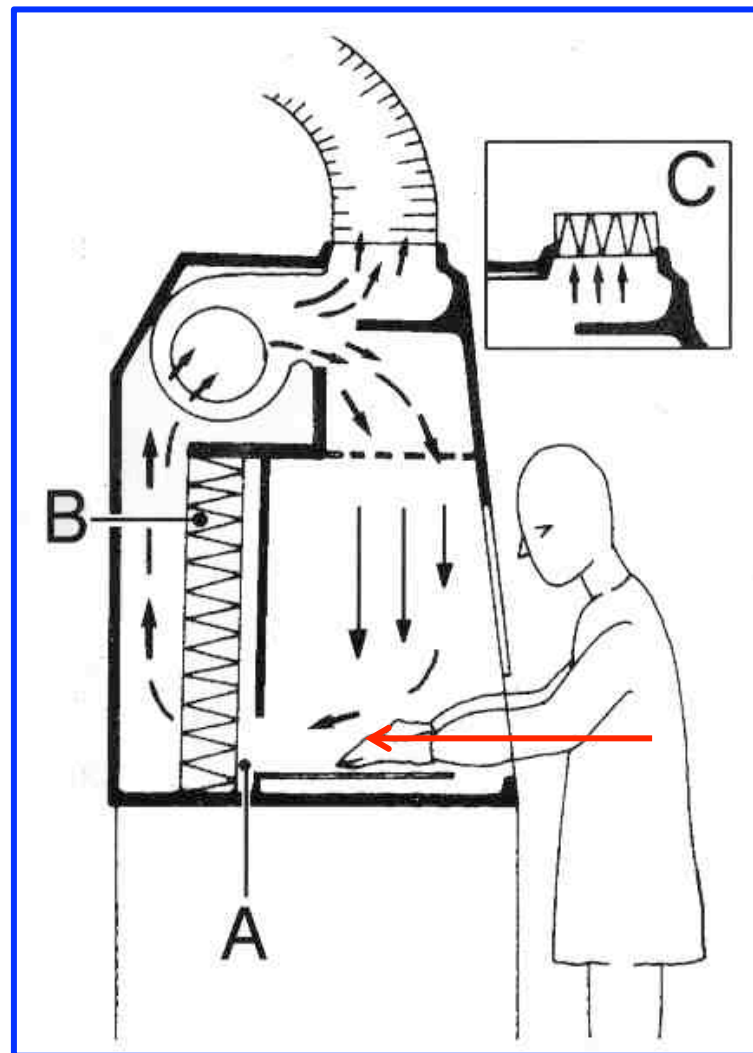
La loro efficacia dipende dal flusso dell'aria, dalla capacità di contenimento, dall'integrità dei filtri HEPA (high efficiency particulate airfilter) e, nel caso delle cappe I e II, dalla loro posizione nella stanza in relazione alle correnti di aria e ai movimenti del personale (vanno poste lontano dalle zone di passaggio e da correnti d'aria provenienti da porte, finestre e dall'impianto di aerazione).

Cappa di sicurezza biologica di classe I

Una cappa di sicurezza biologica classe I è una cappa ventilata aperta frontalmente progettata per la protezione dell'operatore tramite un flusso d'aria entrante che non viene rimandata in circolo. E' dotata di un filtro HEPA allo scarico per proteggere l'ambiente dalla fuoriuscita di microorganismi.

Le cappe classe I possono essere usate con agenti biologici che presentino un rischio basso o moderato (gruppi di rischio 2 e 3); proteggono l'operatore da contaminanti presenti nella cappa, ma **non proteggono dalla contaminazione i materiali** situati all'interno della cappa stessa (la sterilità non è garantita!).

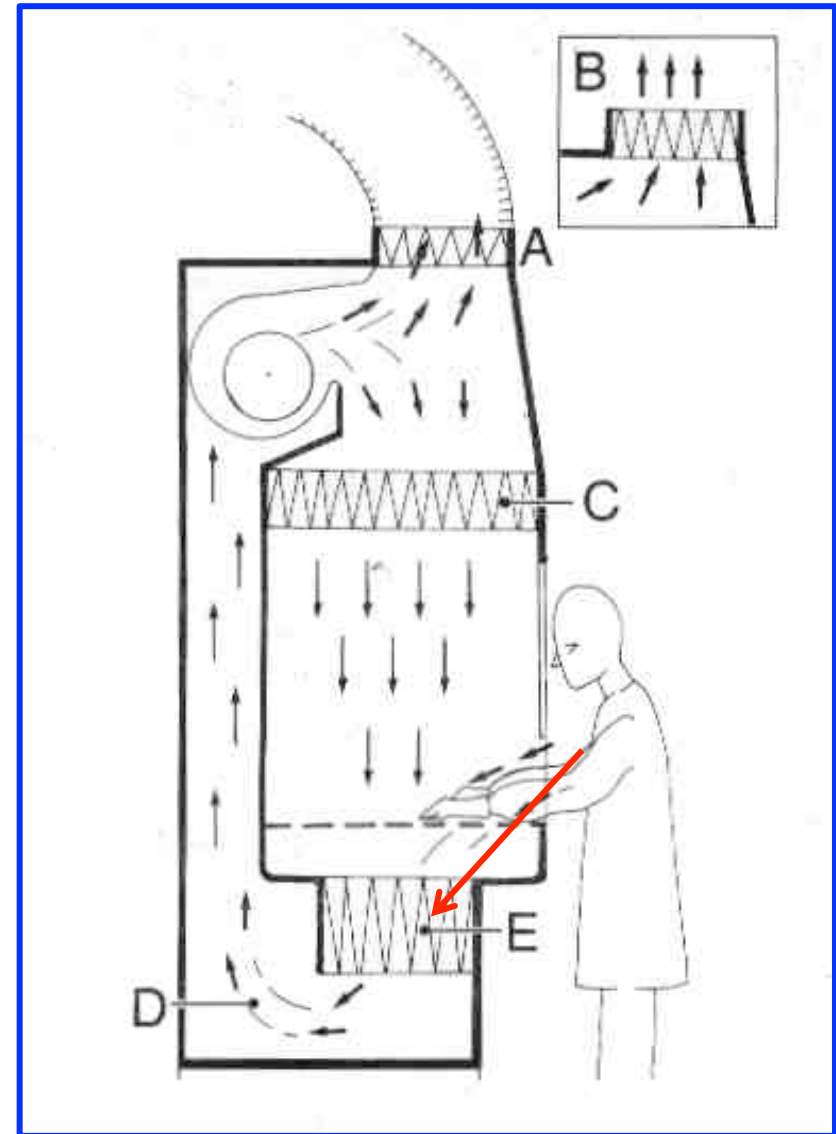
Non adatta a colture cellulari



(A) zona di preparazione facilmente decontaminabile con pannelli rimovibili; (B) filtro HEPA di espulsione e di parziale riciclo; (C) filtro a carbone attivo in caso di riciclo nello stesso locale.

Cappa di sicurezza biologica di classe II a flusso laminare verticale

Una cappa di sicurezza biologica classe II è una cappa ventilata aperta frontalmente progettata per la protezione dell'operatore, dei prodotti al suo interno e dell'ambiente circostante. E' caratterizzata da un flusso d'aria in ingresso e con filtrazione sia dell'aria aspirata sia di quella espulsa: il flusso laminare, proveniente dal sovrastante filtro HEPA, scende perpendicolarmente al piano di lavoro evitando di investire l'operatore, l'aria espulsa deve essere filtrata da un secondo filtro HEPA e, se ricircolata nello stesso locale, da un filtro supplementare a carbone attivo posto a valle del filtro HEPA, per trattenere eventuali frazioni gassose.



cappa a flusso laminare verticale di classe II. (A) filtro HEPA di espulsione dell'aria; (B) filtro a carbone attivo posizionato sopra il filtro HEPA (A) quando il riciclo dell'aria avviene nello stesso locale ; (C) filtro HEPA dell'aria di ricircolo; (D) zona a rischio facilmente raggiungibile per la decontaminazione; (E) filtro HEPA sostituibile.

1. cappa di classe II tipo A con il 70% di ricircolo di aria all'interno della cabina e il 30% nel locale;

2. cappa di classe II tipo B con il 30% di ricircolo di aria all'interno della cabina e il 70% all'esterno del locale.

Le **cappe classe II A** possono essere usate **per agenti biologici** che presentino un **rischio basso o moderato** (gruppi di rischio 2 e 3), per piccole quantità di agenti chimici tossici e per radionuclidi in tracce;

Le **cappe classe II B** sono adatte a maggiori quantità di sostanze tossiche, volatili o radioattive. Occorre prestare attenzione nella scelta della cappa più adatta per questi scopi.

Le norme europee (BS, DIN, AFNOR) e l'OMS raccomandano l'utilizzo di cappe di classe II tipo A trasformabili in B3, con il convogliamento del 30% dello scarico d'aria all'esterno del locale.

Negli USA sono previste le cappe del tipo B1 (30% di ricircolo di aria nella cabina e il 70% di aria inviata all'esterno) e B2 (0% di ricircolo di aria nella cabina e il 100% di aria inviata all'esterno e condotti per l'espulsione dell'aria all'esterno dell'edificio).

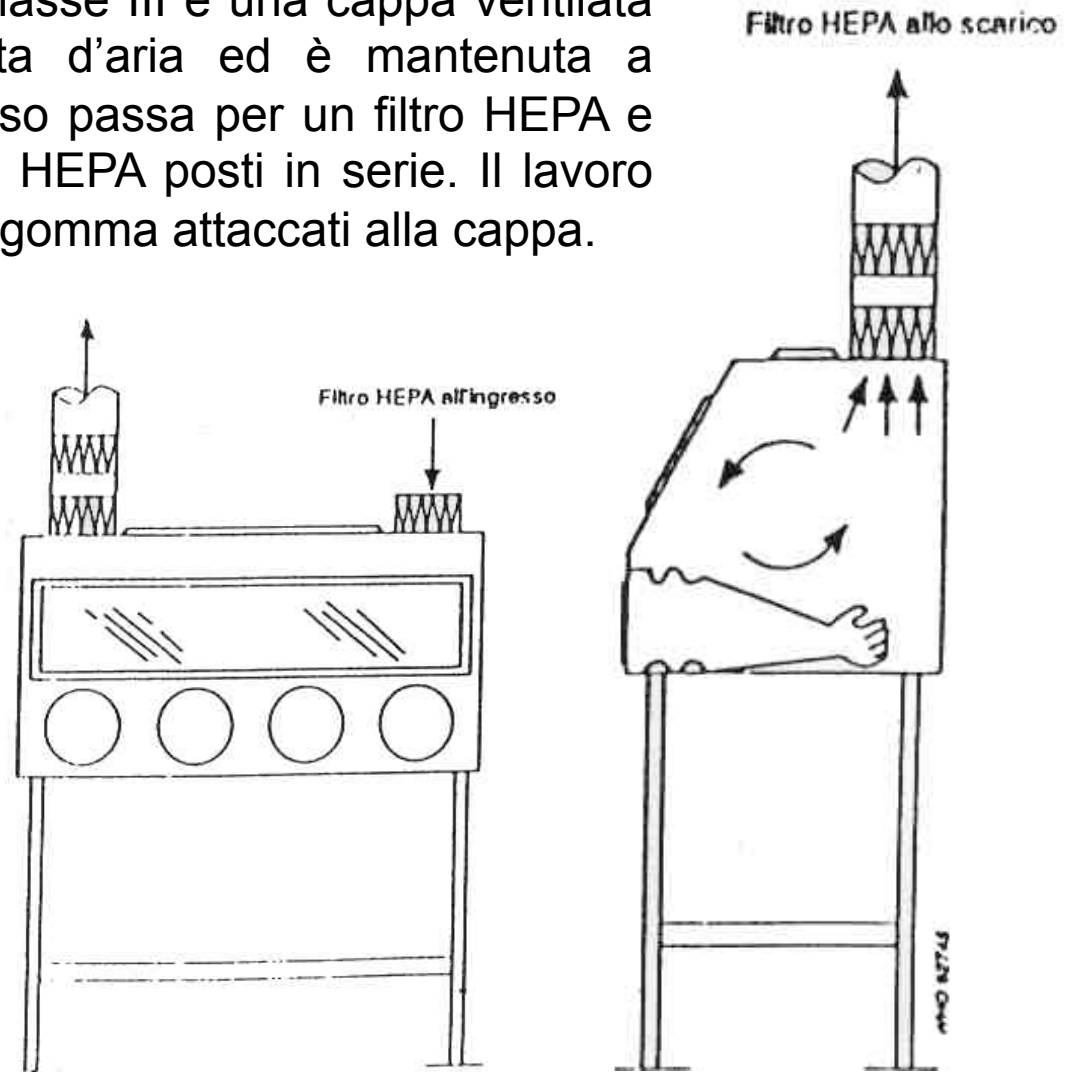
Configurazione	% Aria	% Aria	% Aria	Normative nazionali
classe II	Ricircolo nella cabina	Ricircolo nel locale	Quota inviata all'esterno	
A	70	30	0	D. DIN 12950 12980 FR. NFX 44-201 AUS. AS 2567 GB. BS 5726; USA NSF 49
B3	70	0	30	DIN 12980 USA NSF 49
B1	30	0	70	USA NSF 49
B2	0	0	100	USA NSF 49

Cappa di sicurezza biologica classe III: "glove box" ermeticamente chiusi.

Una cappa di sicurezza biologica classe III è una cappa ventilata totalmente chiusa che è a tenuta d'aria ed è mantenuta a pressione negativa. L'aria in ingresso passa per un filtro HEPA e quella in uscita passa per due filtri HEPA posti in serie. Il lavoro viene svolto con guanti a manica in gomma attaccati alla cappa.

Sono usate per lavorare con agenti biologici ad alto rischio (gruppo di rischio 4) e forniscono una barriera totale tra l'operatore e il lavoro.

Nelle cappe classe III non vanno usati gas infiammabili.



Principali caratteristiche tecniche delle cappe di sicurezza

1. Le cappe possono essere costituite, in relazione all'utilizzo previsto, da materiali vari: laminato plastico, acciaio verniciato con vernici epossidiche, acciaio inox.
2. Il piano di lavoro può essere a vassoio con griglie di ripresa anteriori e posteriori o forato, ha caratteristiche di resistenza agli agenti chimici, consente la pulizia, disinfezione e sterilizzazione.
3. I vetri frontali e, ove presenti, quelli laterali, sono costituiti da materiali di sicurezza ed insensibili ai raggi UV.
4. Il vetro frontale può essere fisso (apertura utile di 20-30 cm di altezza), o a scorrimento.
5. Le cappe possono essere dotate di sistemi di allarme ottici e acustici indicanti un basso flusso d'aria in espulsione, alta o bassa velocità del flusso laminare, malfunzionamento dei motori di ventilazione in ingresso e in uscita.
6. Per quanto concerne i filtri HEPA, in assenza di qualsiasi dispositivo di allarme, è indispensabile programmare controlli periodici.
7. Per la sterilizzazione della camera di lavoro, generalmente è presente una [lampada germicida a raggi UV](#).

Tecniche per l'uso delle cappe di sicurezza biologica

1. La cappa deve essere appropriata al campione da trattare,
2. prima dell'inizio dell'attività lavorativa, verificare che le lampade UV siano spente;
3. accendere il motore di aspirazione almeno 10 minuti prima dell'inizio delle attività per stabilizzare il flusso laminare;
4. al fine di garantire la corretta velocità del flusso d'aria, in particolare per le cappe di Classe II, assicurarsi che le griglie di aspirazione non siano bloccate da materiali, attrezzature, apparecchiature;
5. Quando la cappa è in uso, il pannello di chiusura in vetro non deve essere aperto.
6. Le attrezzature e i materiali nella cappa devono essere ridotti al minimo e posti in fondo all'area di lavoro.
7. **Nella cappa non si devono usare becchi Bunsen. Il caldo prodotto causa scompensi nel flusso d'aria e può danneggiare i filtri.** Si possono usare i microinceneritori, ma sono preferibili le anse monouso.
8. Tutte le operazioni devono essere eseguite nel mezzo o in fondo alla superficie di lavoro ed essere visibili dal pannello di vetro.
9. I rifiuti delle lavorazioni devono essere posizionati in idonei contenitori per rifiuti biologici
10. Il passaggio di cose e persone alle spalle dell'operatore deve essere ridotto al minimo.
11. L'operatore non deve disturbare il flusso d'aria introducendo e togliendo ripetutamente le braccia.
12. La ventola della cappa va lasciata in moto per almeno 5 minuti dopo la fine del lavoro.

Classe II



Classe III



Sistemi di aspirazione

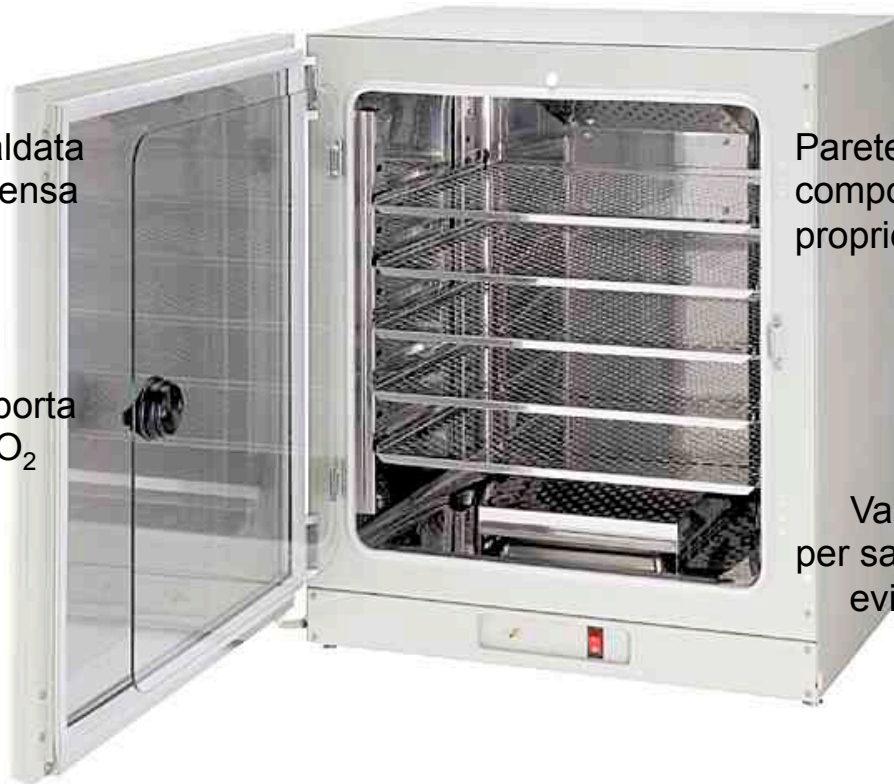


Incubatore CO₂

- accurato controllo del livello di CO₂
- recupero rapido della concentrazione ottimale di CO₂ dopo apertura dello sportello - stabilità della temperatura ottimizzata
- controllo preventivo della contaminazione microbica
- Utilizzo e manutenzione estremamente semplici

Porta esterna riscaldata per evitare la condensa

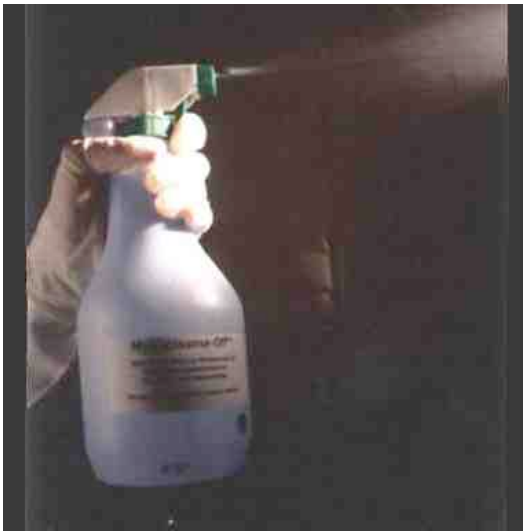
Maniglia chiusura porta vetro e richiamo CO₂



Parete e piani con trattamento o composizione (inox con rame) con proprietà battericide.

Vaschetta con acqua per saturare l'ambiente ed evitare evaporazione del mezzo

L'incubatore è collegato ad una bombola di CO₂
Un manometro permette di regolare la pressione in uscita



Il "Mycoplasma Off"uccide completamente i micoplasmi nel giro di pochi secondi. Non è corrosivo nè carcinogeno, è stabile a temperatura ambiente e non lascia residui. Molto apprezzato sia per la disinfezione del piano di lavoro che per tutti gli strumenti dove vengono effettuate manipolazioni con le colture cellulari (ad esempio incubatori, cappe, etc.)



Microscopi rovesciati per osservazioni



Rovesciato a contrasto di fase



Rovesciato a contrasto di fase e a fluorescenza



Microscopi rovesciati e camere per timelapse



Microscopi rovesciati per timelapse

