



Procedure per l'utilizzo di agenti biologici nei laboratori universitari di didattica e di ricerca

data emissione	dicembre 2019
data aggiornamento	

*Direzione Generale
Staff Sicurezza, Prevenzione e Protezione
Unità Operativa Servizio Prevenzione e Protezione*



Premessa

Il Titolo X del D. Lgs. 81/08 e s.m.i. disciplina l'utilizzo di agenti biologici in tutte le attività che ne prevedono l'impiego deliberato e in quelle comportanti un'esposizione potenziale.

*In accordo con le Linee guida e i Manuali di biosicurezza attualmente approvati dagli organismi internazionali, si configura un **uso o impiego deliberato** di agenti biologici quando questi ultimi vengono intenzionalmente introdotti nel ciclo lavorativo per sfruttarne le proprietà biologiche a qualsiasi titolo.*

Nelle università, le attività di ricerca e le sperimentazioni comportanti l'uso deliberato di agenti biologici sono:

- 1. ricerca e sperimentazione su animali o cellule;*
- 2. ricerca e sperimentazione di nuovi materiali e processi utilizzando agenti biologici;*
- 3. ricerca e sperimentazione di nuovi metodi diagnostici;*
- 4. sperimentazione di nuovi farmaci contenenti agenti biologici;*
- 5. ricerca e sperimentazione microbiologica.*

*Si configura, invece, un'**esposizione potenziale** ad agenti biologici nei casi in cui si viene a contatto con questi ultimi indirettamente mediante materiali biologici, persone o animali infetti ma l'attività lavorativa non ne prevede la deliberata manipolazione.*

Nelle università, le attività di ricerca e sperimentazione comportanti un'esposizione potenziale ad agenti biologici si svolgono prevalentemente nei laboratori:

- 1. chimico-clinici;*
- 2. medico-dentistici;*
- 3. zootecnici-veterinari;*
- 4. agricoli;*
- 5. microbiologici.*

Il presente documento è stato realizzato attenendosi ai Manuali di biosicurezza dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, dell'Istituto Superiore di Sanità, dell'INAIL, dell'Agenzie Regionali per la Protezione Ambientale, e nella convinzione che, per tale rischio specifico, l'unica azione efficace per il suo contenimento è la riduzione al più basso livello possibile dell'entità dell'esposizione individuale e della contaminazione ambientale.



Sommario

1. Scopo e campo di applicazione	5
2. Fonti normative	5
3. Definizioni	5
4. Caratteristiche di pericolosità degli agenti biologici	6
5. Classificazione degli agenti biologici.....	7
6. Laboratori biologici.....	7
NORME GENERALI PER I LABORATORI DI BASE (Livello di biosicurezza 1 e 2)	8
<u>Accesso al laboratorio</u>	<u>8</u>
<u>Aree di lavoro</u>	<u>8</u>
<u>Gestione dei campioni biologici all'interno del laboratorio</u>	<u>8</u>
<u>Misure individuali di protezione.....</u>	<u>9</u>
<u>Procedure comportamentali</u>	<u>10</u>
<u>Confezionamento e trasporto di sostanze potenzialmente infette</u>	<u>11</u>
<u>Trasporto di sostanze potenzialmente infette</u>	<u>11</u>
<u>Spedizione di sostanze potenzialmente infette</u>	<u>12</u>
7. Dispositivi di Protezione Individuali (DPI).....	12
8. Dispositivi di Protezione Collettiva: le cappe biologiche	13
9. Disinfezione e sterilizzazione	15
10. Manipolazione di colture cellulari	16
11. Gestione dei rifiuti prodotti dai laboratori biologici	17
12. Gestione delle emergenze nei laboratori biologici.....	20
PROCEDURE DI CONTENIMENTO	20
<u>Sversamento di un agente biologico</u>	<u>20</u>
<u>Spargimento di liquidi biologici sul piano di lavoro della cappa biologica</u>	<u>20</u>
<u>Spargimento di liquidi biologici sul pavimento o altra superficie</u>	<u>21</u>
<u>Misure di emergenza a seguito di incidente nel trasporto di campioni biologici</u>	<u>21</u>
<u>Iniezioni, tagli e abrasioni accidentali</u>	<u>21</u>
<u>Misure di prevenzione degli incendi in laboratorio</u>	<u>21</u>
<u>Misure di emergenza in caso di incendio.....</u>	<u>22</u>
13. Formazione e addestramento	22
14. Archiviazione	22
15. Bibliografia e Sitografia.....	22
<i>ALLEGATO 1 : Allegato XLVII al DLgs n. 81/08</i>	<i>24</i>
<i>ALLEGATO 2 : Segnale di rischio biologico</i>	<i>25</i>
<i>ALLEGATO 3 : Scheda near miss o quasi infortunio</i>	<i>26</i>
<i>ALLEGATO 4 : Sistema a triplo involucro</i>	<i>27</i>



ALLEGATO 5 : Etichette per trasporto di campioni refrigerati	28
ALLEGATO 6 : Sterilizzazione mediante autoclave	29
ALLEGATO 7 : Definizioni collegate ai vari gradi di decontaminazione.....	31
ALLEGATO 8 : Disinfettanti.....	32
Allegato 9: Allegato IV al D.Lgs. n. 206/2001	33
ALLEGATO 10 : Allegato I al D.P.R. n. 254/2003	34
ALLEGATO 11 : Rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo.....	37
ALLEGATO 12: Considerazioni sull'ipoclorito di sodio	38
ALLEGATO 13 : Procedure di contenimento di incidenti	39



1. Scopo e campo di applicazione

Il presente documento, elaborato allo scopo di favorire l'adozione e la diffusione di comportamenti e di misure di prevenzione per il rischio biologico, si applica a tutte le attività svolte nell'Ateneo di Bari che prevedono l'utilizzo di agenti biologici appartenenti ai gruppi 1 e 2 (allegato XLVI, DLgs 81/08) e a quelle che potrebbero comportare un'esposizione potenziale a tali agenti di rischio.

Il Responsabile della struttura alla quale i laboratori biologici afferiscono deve rendere note tali istruzioni a tutti gli operatori (ricercatori, studenti, tecnici, ecc.) e il Responsabile dell'Attività di Didattica e di Ricerca in Laboratorio (R.A.D.L.) deve vigilare sulla corretta applicazione delle stesse. In caso di operatori stranieri è necessario accertarsi che questi ne abbiano compreso i contenuti.

La distribuzione della presente procedura costituisce adempimento degli obblighi di informazione e formazione ai sensi del D.lgs 81/08 e s.m.i., artt. 36 e 37. L'obbligo dei lavoratori di applicare quanto indicato nel presente documento costituisce adempimento all'art. 20, comma 2, let. c del D.lgs. 81/2008 e s.m.i.

I laboratori con livello di sicurezza superiore al 2 e gli stabulari sono esclusi dal campo di applicazione della presente procedura.

2. Fonti normative

D.Lgs. 81/2008 e s.m.i. (Titolo X e X-bis) e dai relativi allegati (da XLIV a XLVIII).

Direttiva Comunitaria 2000/54/CE del 18/09/00 relativa alla protezione dei lavoratori contro i rischi derivanti da un'esposizione ad agenti biologici durante il lavoro.

Decreto Legislativo n. 206/2001 e s.m.i. concernente l'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati.

Decreto Legislativo n. 224/2003 e s.m.i. concernente l'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati.

Decreto del Presidente della Repubblica 15 luglio 2003, n. 254 e s.m.i. recante disciplina della gestione dei rifiuti sanitari a norma dell'art. 24 della legge 31 luglio 2002, n. 179.

3. Definizioni

Ai sensi dell'art. n. 267 del D.Lgs 81/08 e s.m.i. si intende per:

agente biologico: *qualsiasi microrganismo anche se geneticamente modificato, coltura cellulare ed endoparassita umano che potrebbe provocare infezioni, allergie o intossicazioni;*

microrganismo: *qualsiasi entità microbiologica, cellulare o meno, in grado di riprodursi o trasferire materiale genetico;*

coltura cellulare: *il risultato della crescita in vitro di cellule derivate da organismi pluricellulari.*



Ai sensi dell'art. n. 2 del D.Lgs 206/01 e s.m.i. si intende per:

microrganismo geneticamente modificato: *un microrganismo il cui materiale genetico è stato modificato in un modo che non avviene in natura per incrocio e/o ricombinazione naturale;*

impiego confinato: *ogni attività nella quale i microrganismi vengono modificati geneticamente o nella quale tali MOGM vengono messi in coltura, conservati, utilizzati, trasportati, distrutti, smaltiti o altrimenti utilizzati e per la quale vengono usate misure specifiche di contenimento, al fine di limitare il contatto degli stessi con la popolazione o con l'ambiente.*

La Circolare del Ministero della Salute n. 3 del 08/05/2003 definisce:

prodotti biologici: *materiali biologici finiti ad uso umano e veterinario, compresi sieri e vaccini, prodotti secondo requisiti sanciti dalla normativa vigente e trasportati dietro approvazione o permesso dell'Autorità Sanitaria; prodotti biologici finiti, trasportati prima di aver ottenuto il permesso, per scopi di studio e di ricerca umana o veterinaria; prodotti destinati al trattamento sperimentale di animali, preparati in ottemperanza alle normative vigenti;*

campioni diagnostici: *tutti i materiali di origine umana o animale, inclusi escreti, sangue e suoi componenti, tessuti e fluidi tissutali, raccolti a scopo diagnostico. Sono esclusi gli animali vivi infetti e i campioni diagnostici raccolti durante un'epidemia di malattia grave e di natura sconosciuta che, invece, devono essere trattati come sostanze infettive;*

sostanze infettive: *materiali contenenti microrganismi vivi quali batteri, virus, rickettsie, parassiti, funghi o tossine da essi prodotti, noti o ritenuti causa probabile di malattia infettiva nell'uomo o negli animali. Essi comprendono:*

- *colture che contengono o che potrebbero contenere agenti infettivi,*
- *campioni umani o animali che contengono un agente infettivo,*
- *campioni provenienti da pazienti con malattia grave da causa sconosciuta,*
- *campioni non appartenenti alle categorie sopracitate, ma definiti come infettivi da persone qualificate (medici, operatori sanitari, ricercatori).*

4. Caratteristiche di pericolosità degli agenti biologici

La pericolosità degli agenti biologici viene stabilita in base alla:

infettività: *intesa come la capacità di un microrganismo di penetrare e moltiplicarsi nell'ospite;*

patogenicità: *intesa come la capacità di un microrganismo di produrre malattia a seguito di infezione;*

trasmissibilità: *intesa come la capacità di un microrganismo di essere trasmesso da un soggetto infetto ad un soggetto suscettibile;*

neutralizzabilità: *intesa come la disponibilità di efficaci misure profilattiche per prevenire la malattia o terapeutiche per la sua cura.*



5. Classificazione degli agenti biologici

In base alle suddette caratteristiche, l'art. 268 del DLgs 81/08 suddivide gli agenti biologici nei quattro gruppi riportati nella tabella seguente.

Tab.1 – Classificazione degli agenti biologici

Gruppo	Possibilità di causare malattie	Possibilità di propagazione nella comunità	Misure profilattiche e terapeutiche	Esempi
1	poche	-----	-----	<i>Saccharomices cerevisiae, Lactobacillus casei, ...</i>
2	Si	Si, bassa	Efficaci	<i>Clostridium tetani, Virus del Morbillo, Legionella pneumophila, ...</i>
3	SI, grave	Si	Presenti	<i>HIV, HCV, Salmonella typhi...</i>
4	SI, grave	Si, alta	Assenti	<i>Ebolavirus, ...</i>

L'elenco degli agenti biologici classificati si trova all'allegato XLVI del DLgs 81/08, mentre l'allegato XLVII elenca le misure e i livelli di contenimento in relazione alla natura dell'agente biologico e alla valutazione del rischio per gli operatori. Tale elenco è riportato in allegato n. 1 al presente documento.

6. Laboratori biologici

I microrganismi appartenenti ai diversi gruppi devono essere manipolati in laboratori con caratteristiche di sicurezza specifiche, chiamate livelli di biosicurezza. Tali laboratori sono definiti, in base alle loro caratteristiche progettuali in:

laboratori di base - Livello di biosicurezza 1, per microrganismi appartenenti al gruppo 1;

laboratori di base - Livello di biosicurezza 2, per microrganismi appartenenti al gruppo 2;

laboratori di contenimento - Livello di biosicurezza 3, per microrganismi appartenenti al gruppo 3;

laboratori di massimo contenimento - Livello di biosicurezza 4, per microrganismi appartenenti al gruppo 4.

I laboratori di ricerca con uso deliberato di agenti biologici (wild type o geneticamente modificati), di diagnostica microbiologica e clinici (dove si viene a contatto con campioni diagnostici e sostanze infettive) rappresentano gli ambienti scientifici dove tali agenti di rischio sono più presenti.

Le più frequenti modalità di esposizione sono rappresentate da:

- contatto, attraverso cute e mucose, con materiale infetto;
- ingestione di materiale infetto per contaminazione delle mani;

<p>Rev. 0.0 data emissione: dicembre 2019</p>	<p>Direzione Generale Staff Sicurezza, prevenzione e protezione U.O. Servizio di prevenzione e protezione</p>
---	---



- inalazione di materiale infetto conseguente alla formazione di aerosol (per es.: apertura di contenitori, di provette e di capsule Petri dopo l'uso di agitatori e di centrifughe da laboratorio, ecc.).

Sulla porta di accesso ai locali dei predetti laboratori deve essere esposto il segnale di "rischio biologico", così come riportato in allegato 2 al presente documento.

NORME GENERALI PER I LABORATORI DI BASE (Livello di biosicurezza 1 e 2)

Per eliminare o limitare il rischio di contaminazione da agenti biologici è necessario adottare adeguate norme igieniche e operative ("Buone Pratiche di Laboratorio") che tengano in considerazione l'organizzazione del laboratorio e i comportamenti che ciascun operatore deve adottare durante le attività.

Di seguito viene riportato un compendio di tali norme.

Accesso al laboratorio

- Solo il personale autorizzato ha accesso al laboratorio.
- Sulla porta del laboratorio dove si manipolano microrganismi di gruppo 2 o superiore deve essere esposta idonea segnaletica con nominativo e numero di telefono del responsabile del laboratorio (in allegato 2 è fornito un esempio di tale cartellonistica).
- Le porte del laboratorio devono essere mantenute chiuse durante le lavorazioni.
- Evitare il più possibile l'affollamento del laboratorio ma non lavorare mai da soli.

Aree di lavoro

- Il laboratorio deve essere mantenuto in ordine, pulito e libero da materiali che non siano strettamente necessari alle attività.
- Le superfici di lavoro devono essere decontaminate con un germicida appropriato alla fine di ogni attività lavorativa e sempre dopo l'eventuale versamento di liquidi potenzialmente pericolosi.
- Vicino a ogni posto di lavoro devono essere posti idonei contenitori per la raccolta dei rifiuti speciali infetti o potenzialmente infetti.
- Nelle aree di lavoro del laboratorio sono ammessi soltanto operatori ai quali sia stata assicurata l'informazione/formazione specifica concernente i potenziali rischi connessi con l'attività lavorativa.
- È vietato consumare/conservare cibi o bevande in qualunque zona del laboratorio.
- È vietato fumare o fare uso di sigarette elettroniche.
- Nei laboratori non s'indossano calzature aperte.

Gestione dei campioni biologici all'interno del laboratorio

Tutti i campioni diagnostici e i materiali biologici devono essere considerati come potenzialmente infetti e, pertanto, è necessario adottare le norme comportamentali di seguito riportate:

- Il ricevimento dei campioni deve avvenire in una zona specifica del laboratorio.



- Se i campioni sono arrivati per posta e/o corriere devono risultare confezionati con il sistema del triplice contenitore e l'imballaggio esterno deve essere corredato da una scheda con i dati identificativi del contenuto. I campioni che non presentano le suddette caratteristiche devono essere respinti.
- L'apertura dell'imballaggio e la gestione dei campioni deve avvenire all'interno di una cappa di sicurezza biologica almeno di classe II.
- I campioni non identificabili non devono essere processati; essi devono essere smaltiti secondo le procedure previste per la gestione dei rifiuti speciali.
- Non toccare mai campioni con le mani nude, anche se chiusi in contenitori. Questi potrebbero essersi contaminati durante la raccolta degli stessi.
- Indossare due paia di guanti nel caso di campioni a rischio infettivo; quello interno fino a coprire i polsini del camice. I guanti esterni vanno rimossi al termine delle manipolazioni sotto la cappa e smaltiti nel contenitore per rifiuti sanitari a rischio infettivo.
- La movimentazione dei campioni all'interno del laboratorio, per sottoporli alle varie fasi di lavorazione, deve avvenire in contenitori di materiale infrangibile, con tappo a tenuta, e correttamente etichettati per facilitarne l'identificazione. I campioni con sospetta presenza di agenti biologici appartenenti al gruppo 3, di cui all'Allegato XLVI del D. Lgs. 81/08, devono riportare sull'etichetta anche l'indicazione di "pericolo di infezione".
- Se si procede allo stoccaggio dei campioni in frigorifero o in congelatore, su ogni contenitore deve essere indicato, in modo indelebile, la tipologia di materiale, la data e il nominativo dell'operatore che li ha riposti oltre ad eventuali altre note utili. Qualora lo stoccaggio preveda la conservazione in azoto liquido, oltre ad indossare i DPI idonei, occorre lavorare in postazioni ben areate.

Misure individuali di protezione

- Prima di ogni attività all'interno del laboratorio deve essere indossato il camice e lavarsi le mani.
- Prima di eseguire i protocolli che prevedono l'uso di liquidi biologici o altri materiali potenzialmente infetti, è necessario munirsi di idonei dispositivi di protezione (DPI) (guanti, occhiali, mascherina, ..).
- Occhiali di sicurezza, schermi facciali o altri dispositivi di protezione devono essere indossati quando è necessario proteggere occhi e faccia da spruzzi, urti e sorgenti di radiazione ultravioletta artificiale.
- Gli indumenti protettivi di laboratorio non devono essere indossati al di fuori dello stesso (uffici, biblioteche, bar, bagni, ambienti comuni).
- Gli indumenti protettivi che sono stati usati nel laboratorio non devono essere conservati negli stessi armadietti o mobiletti usati per gli indumenti personali.
- Lavarsi le mani al termine delle attività.



Procedure comportamentali

Ogni lavorazione deve essere svolta secondo le procedure concordate con il responsabile del laboratorio. Tali procedure devono essere adeguate per ogni singolo agente biologico/livello di rischio individuato, per ciascuna tecnica da utilizzare e devono essere conformi alle buone pratiche di laboratorio. Prima di iniziare le attività, l'operatore deve verificare che siano disponibili i dispositivi di protezione individuali ed efficienti i dispositivi di protezione collettivi, necessari allo svolgimento delle lavorazioni.

Durante l'esecuzione dei protocolli di lavoro:

- Non portare oggetti alla bocca.
- Non pipettare con la bocca.
- Tutte le micropipette devono essere dotate di eiettore del puntale.
- Le micropipette devono essere sempre mantenute in posizione verticale e mai adagiate sul banco da lavoro.
- Utilizzare preferibilmente materiale monouso.
- Minimizzare la formazione di aerosol e goccioline.
- Non toccare con i guanti in uso oggetti che non fanno parte della procedura che si sta eseguendo (computer, telefoni, interruttori, maniglie delle porte, ecc.).
- Non appoggiare recipienti, bottiglie o apparecchi in prossimità del bordo del banco di lavoro.
- Non lasciare senza controllo reazioni in corso e apparecchi in funzione.
- Etichettare correttamente (indicando anche la data) tutti i contenitori, in modo da poterne riconoscere in ogni momento il contenuto.
- Non abbandonare materiale non identificabile nelle aree di lavoro.
- Le superfici di lavoro e le apparecchiature scientifiche devono essere pulite alla fine di ogni attività lavorativa e decontaminate a seguito di eventuale versamento di materiali potenzialmente pericolosi.
- In caso di incidenti (sversamento di liquidi infetti, rottura di provette, apparecchiature difettose, ecc.) deve essere immediatamente avvisato il responsabile del laboratorio, il quale deve annotare opportunamente tale evento su apposita scheda (allegato n. 3);
- E' sconsigliato l'uso di lenti a contatto poiché possono essere causa di accumulo di sostanze nocive e, in caso d'incidente, possono pregiudicare le operazioni di primo soccorso. Se è indispensabile indossarle, munirsi di occhiali di sicurezza.
- Il responsabile dell'attività di didattica e di ricerca in laboratorio (RADRL) è tenuto a vigilare sull'applicazione delle misure di prevenzione e protezione da parte di tutti gli operatori del laboratorio (art. 5, comma 3 lettera d) del D.M. 363/98) con particolare attenzione nei confronti di studenti, borsisti, tesisti, specializzandi ecc.).
- Le donne in età fertile vanno informate dei rischi per il feto derivanti dall'esposizione ad agenti biologici. L'eventuale stato di gravidanza va notificato immediatamente al responsabile del laboratorio. In ogni caso, è vietato alle donne incinte e sino al settimo mese dopo il parto lavorare in laboratorio come riportato nella lettera circolare prot. n. 18647 dell'8 marzo 2016 reperibile al seguente link:



https://www.uniba.it/organizzazione/amm-centrale/dir-gen/sezione-sicurezza-prevenzione-e-protezione/uo-servizio-prevenzione-e-protezione/unita-operativa-servizio-prevenzione-e-protezione/tutela-delle-lavoratrici/iniziative/circolare_otto_marzo_fto.pdf

Confezionamento e trasporto di sostanze potenzialmente infette

Il confezionamento e il successivo trasporto di tali campioni devono essere eseguiti conformemente alla Circolare del Ministero della Salute n. 3 del 08/05/2003 di cui si riportano gli step più importanti.

Procedura di confezionamento

La procedura di confezionamento prevede un sistema a tre involucri così configurato:

Recipiente primario. *Esso contiene il campione o la sostanza infetta. Può trattarsi di provette, tubi, ampolle, in ogni caso deve essere di materiale impermeabile, a tenuta stagna, con chiusura ermetica, etichettato ed avvolto in materiale assorbente non particolato, quale carta bibula o cotone idrofilo, presente in quantità sufficiente ad assorbire tutto il liquido fuoriuscito in caso di rottura del recipiente.*

In caso di sostanze infettive, il volume totale presente nel recipiente primario non deve superare i 500 ml. In caso di campioni diagnostici, il recipiente primario può contenere una quantità di materiale anche superiore a 500 ml ma non eccedere i 4 litri.

Recipiente secondario. *È un contenitore di materiale resistente, impermeabile, a tenuta stagna, adatto a contenere e proteggere il recipiente primario. Esso può contenere anche più recipienti primari purché adeguatamente collocati e singolarmente avvolti in materiale assorbente. All'esterno del secondo recipiente devono essere applicate le schede riportanti i dati identificativi e descrittivi del contenuto e i dati riguardanti il destinatario e lo spedite.*

Recipiente esterno. *È il contenitore più esterno in cui collocare il recipiente secondario per evitare danneggiamenti causati da fattori esterni, quali agenti fisici o acqua. Il contenitore esterno può essere di cartone rigido, plastica, legno o altri materiali resistenti ad urti ed intemperie.*

In allegato n. 4 è mostrato il sistema a triplo involucro appena descritto.

Trasporto di sostanze potenzialmente infette

Trasporto locale

Per trasporto locale viene inteso il trasporto di un campione da un laboratorio a un altro.

In tali situazioni è necessario:

- *Utilizzare recipienti primari impermeabili e a tenuta stagna; se il campione è costituito da una piastra, essa deve essere opportunamente sigillata.*
- *Tutti i recipienti primari devono essere identificati in modo chiaro, univoco e indelebile.*
- *Nel caso in cui il contenitore del campione è una provetta, essa deve essere chiusa e collocata in una rastrelliera che la mantenga in posizione verticale.*



- I contenitori dei campioni e le rastrelliere devono essere posti in scatole robuste e a tenuta stagna di plastica o di metallo e ciascuna scatola deve essere etichettata in relazione al contenuto e accompagnata dalle schede con i dati del campione.
- Qualora, per il trasporto del campione, sia previsto l'uso di veicoli, la scatola deve essere sistemata in modo fermo e sicuro nel veicolo stesso e, a bordo, deve essere presente un kit con materiale assorbente, disinfettante a base di cloro, contenitore per rifiuti, guanti da lavoro resistenti.
- Nel caso di trasporto di campioni refrigerati, laddove venga usato **ghiaccio** o **ghiaccio secco**, questo deve essere posto all'esterno del contenitore secondario. In particolare, se si usa **ghiaccio secco**, esso deve essere posto in un contenitore che permetta il rilascio di CO₂ e la sua presenza deve essere sempre indicata con apposita etichetta (allegato 5, fig. a). Nel caso in cui venga usato come refrigerante **azoto liquido**, è necessario assicurarsi, al momento del confezionamento, che il contenitore primario sia in grado di sopportare temperature molto basse ed apporre sul contenitore esterno l'apposita etichetta (allegato n. 5, fig. b).

Spedizione di sostanze potenzialmente infette

La spedizione di campioni diagnostici e sostanze potenzialmente infette deve avvenire in conformità alla normativa nazionale e internazionale di settore. Specifiche prescrizioni sono previste dalla predetta circolare alla quale si rimanda per approfondimenti.

7. Dispositivi di Protezione Individuali (DPI)

I DPI per il rischio biologico sono generalmente monouso, devono essere cambiati frequentemente e, sempre, dopo manovre e operazioni a rischio. I DPI non monouso devono essere lavati, disinfettati ed eventualmente sostituiti (es. in caso di danneggiamento o usura).

<p>Dispositivi di protezione delle mani monouso (guanti preferibilmente in nitrile, vinile o in lattice) e non monouso (guanti in neoprene o in materiali più resistenti e antitaglio per prevenire lesioni che rappresentano possibili veicoli di agenti infettanti) devono essere conformi alla norma tecnica EN 374 e provvisti di marcatura CE. E' disponibile sul mercato un tipo di guanti realizzato con una matrice polimerica che esercita una disinfezione in grado di ridurre di circa l'80% la concentrazione dell'agente infettivo in caso di lacerazione. Tale tipologia è adatta per operatori che hanno necessità di manipolazione fine e non possono indossare guanti antitaglio. Talvolta può risultare opportuno utilizzare un secondo paio di guanti da indossare sopra il primo.</p>	
<p>Dispositivi di protezione delle vie respiratorie, in particolare facciali filtranti o maschere respiratorie monouso, dotate di filtri per la protezione da particolato (polveri, microrganismi ecc.) di tipo FFP2 o in alcuni casi FFP3, devono essere conformi alla norma tecnica EN 149 e provvisti di marcatura CE. Tali filtri proteggono bocca, naso e mento; si suddividono in tre classi in funzione dell'efficienza filtrante: FFP1,</p>	

<p>Rev. 0.0 data emissione: dicembre 2019</p>	<p>Direzione Generale Staff Sicurezza, prevenzione e protezione U.O. Servizio di prevenzione e protezione</p>
---	---



<p>FFP2 e FFP3. Le lettere FF sono l'acronimo di "facciale filtrante", P indica la "protezione dalla polvere", mentre i numeri 1, 2, 3 individuano il livello crescente di protezione (bassa > 80%, media > 94% e alta > 99%).</p>	
<p>Dispositivi di protezione del volto e degli occhi da schizzi di liquidi biologici quali occhiali protettivi, occhiali a maschera, visiere e schermi facciali devono essere conformi alla norma tecnica EN 166 e provvisti di marcatura CE.</p>	
<p>Gli indumenti specifici per la protezione del corpo (camici, tute, copricamiche impermeabili) contro gli agenti infettivi devono essere conformi alla norma tecnica EN 14126 e provvisti di marcatura CE.</p>	

8. Dispositivi di Protezione Collettiva: le cappe biologiche

Le cappe di sicurezza biologica devono essere conformi alla norma UNI EN 12469 e, come tutte le strumentazioni, correttamente installate. Esse sono classificate in tre categorie (Classe I, Classe II, Classe III) a seconda del livello di protezione che garantiscono all'operatore, all'ambiente circostante e al campione. Le cappe di sicurezza biologica sono provviste di filtri HEPA (High Efficiency Particulate Air) che prevengono la contaminazione particellare. Tali filtri sono costituiti da fogli di microfibre di vetro ripiegati più volte e separati da setti in alluminio in grado di trattenere particelle solide di 0,3 µm di diametro in accordo alle norme UNI EN 1822.

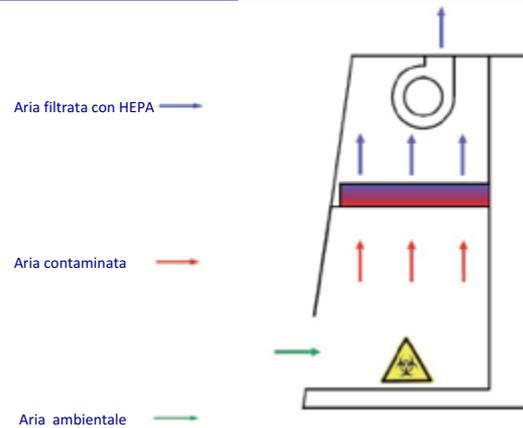
La scelta della cappa di sicurezza biologica è basata sul rischio potenziale dell'agente biologico utilizzato, sulla possibilità che le sperimentazioni di laboratorio possono generare aerosol e sulla necessità di proteggere l'operatore, l'ambiente o il prodotto da contaminanti aerotrasportati.

La scheda che segue mostra le principali caratteristiche delle 3 diverse classi di cappe biologiche.



Cappe di sicurezza biologica di Classe I:
cappa ventilata aperta frontalmente.

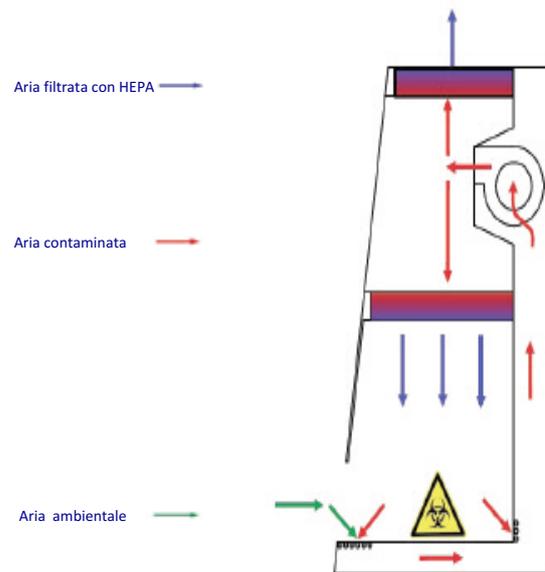
Il flusso d'aria aspirato da un'apertura frontale, senza pre-filtro, attraversa il piano di lavoro e viene espulsa all'esterno dopo filtrazione attraverso filtro HEPA. Le particelle di aerosol, eventualmente generate nell'area di lavoro, vengono così allontanate dall'operatore e dall'ambiente. Poiché l'aria che penetra all'interno della cappa non è sterile, non si ritiene che questo tipo di cappa garantisca la protezione del campione.



Fonte: ESCO WORD CLASS WORLDWIDE

Cappe di sicurezza biologica di Classe II:
cappa a flusso laminare verticale.

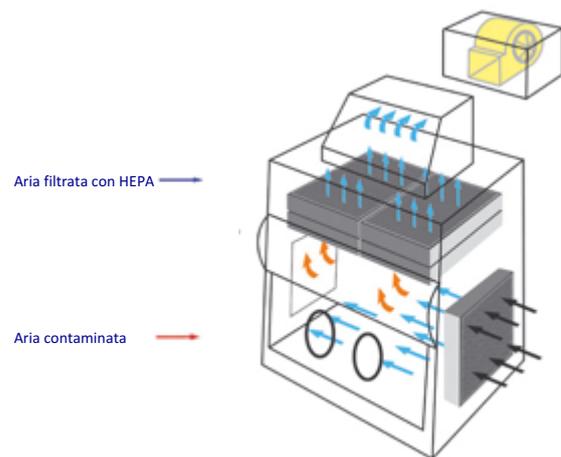
Il flusso d'aria esterno viene aspirato sotto il piano di lavoro, filtrato con filtro HEPA (minimizzando così la possibilità di contaminazioni del campione) prima di essere immessa, dall'alto, sul piano di lavoro. Il flusso laminare verticale, passa attraverso la griglia frontale di recupero dell'aria e quella posteriore per essere convogliata, in percentuale diversa, all'interno della cappa (aria ricircolata) o in uscita verso l'esterno dopo filtrazione HEPA. Le cappe di Classe II si differenziano in 4 tipi diversi per la percentuale di aria ricircolata e espulsa. Le cappe di Classe II assicurano un buon compromesso di protezione campione-operatore-ambiente.



Fonte: ESCO WORD CLASS WORLDWIDE

Cappe di sicurezza biologica di Classe III:
glove box

La cabina *glove box*, ermeticamente chiusa, garantisce il massimo contenimento per la manipolazione di agenti biologici ad alto rischio. L'aria in ingresso è immessa nella cabina attraverso un filtro HEPA, quindi espulsa attraverso un doppio filtro HEPA. Il piano di lavoro è accessibile solo tramite guanti a manicotto, incorporati nella struttura frontale della cappa, che assicurano una barriera totale tra l'operatore e il piano di lavoro.



Fonte: ESCO WORD CLASS WORLDWIDE



Tutte le procedure sperimentali nelle quali siano presenti agenti biologici pericolosi o materiali potenzialmente pericolosi devono essere eseguite con l'ausilio di cappe di sicurezza biologica. Le operazioni di pipettamento, di trasferimento, di mescolamento, di centrifugazione, di sonicazione possono generare diverse quantità di aerosol ed è pertanto necessario eseguire tali operazioni mantenendo sempre al giusto livello il vetro di protezione della cappa stessa, al fine di proteggere nel miglior modo possibile l'operatore.

Per il corretto utilizzo di tali dispositivi di protezione collettivi occorre:

- eseguire una rigorosa pulizia della cappa con un disinfettante idoneo, prima e dopo l'utilizzo;
- mantenere la griglia anteriore libera per garantire la massima efficienza;
- trattare con idonei disinfettanti i materiali non monouso (contenitori, provette e piccoli strumenti);
- non è consentito l'uso di fornelli Bunsen all'interno delle cappe;
- i contenitori per le pipette sterili devono essere posizionati all'interno della cappa;
- separare il materiale pulito da quello potenzialmente infetto;
- conservare appropriatamente il materiale non contaminato;
- lasciare la cappa sgombra da rifiuti e materiali di scarto;
- sostituire i filtri e effettuare la manutenzione della cappa con la periodicità indicata dal costruttore e registrarne la funzionalità.

All'inizio e al termine delle procedure sperimentali:

- mettere in funzione la cabina di sicurezza e accendere gli UV mezz'ora prima dell'inizio del lavoro (a garanzia della sterilità delle operazioni) e spegnerli con l'inizio delle attività;
- controllare che la cappa sia funzionante;
- assicurarsi che la griglia di aspirazione non sia bloccata da materiale o quaderni;
- al termine del lavoro accendere la lampada a UV e lasciarla accesa per circa 30 minuti.

9. Disinfezione e sterilizzazione

Ai sensi del DPR 15/07/2003 n. 254 si definisce:

disinfezione: la drastica riduzione della carica microbica da ambienti, superfici e parti del corpo effettuata con l'impiego di sostanze disinfettanti;

sterilizzazione: abbattimento della carica microbica tale da garantire un S.A.L. (Sterility Assurance Level) non inferiore a 10^{-6} .

Il primo processo differisce dal secondo per la mancanza del potere sporicida. Inoltre, il processo di disinfezione è influenzato dalla:

- popolazione microbica;
- quantità di sostanza organica presente (terra, sangue, ecc.);
- tipologia degli strumenti/materiali da disinfettare;
- condizioni di impiego del disinfettante (temperatura, pH, concentrazione, ecc.).

Generalmente si distinguono tre livelli di disinfezione. La disinfezione di livello basso utilizza disinfettanti in grado di eliminare la maggior parte di batteri, ad eccezione del *M. tuberculosis*, alcuni funghi e virus. Con la disinfezione di livello intermedio sono inattivati tutti i batteri in



forma vegetativa, compreso il *M. tuberculosis*, la maggior parte dei virus e dei funghi ma non necessariamente le spore. Nella disinfezione di elevato livello si ottiene la distruzione di tutti i microrganismi ad eccezione di un certo numero di spore batteriche.

La sterilizzazione consente la distruzione completa, mediante agenti fisici e chimici, di tutti i microrganismi (patogeni e non) comprese le spore batteriche più resistenti. L'avvenuta sterilizzazione del materiale è verificata con l'impiego di adeguati indicatori. La sterilizzazione mediante autoclave (allegato n. 6) è la pratica di sterilizzazione più diffusa nei laboratori di ricerca.

Autorevoli riferimenti internazionali, quali le linee guida dell'US National Institutes of Health (NIH guidelines for research involving recombinant DNA molecole") e la 5° edizione del manuale di "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)" – Appendice B – definiscono anche i processi di inattivazione e decontaminazione (allegato n. 7).

In allegato n. 8 sono elencati i principali disinfettanti utilizzati per la cute (allegato 8, tab. a) e quelli più largamente usati per le superfici, gli oggetti e le apparecchiature (allegato 8, tab. b).

10. Manipolazione di colture cellulari

Particolare attenzione deve essere posta per i laboratori dedicati alla manipolazione di colture cellulari, soprattutto se le cellule o i tessuti manipolati provengono da una biopsia; è preferibile considerare tali campioni, almeno in via precauzionale, come infetti.

Per la sicurezza degli operatori coinvolti nella manipolazione di linee cellulari primarie, di tessuti o di fluidi corporei è fondamentale l'applicazione delle "Buone Pratiche di Laboratorio" elencate al paragrafo n. 7 del presente documento e le regole di base di seguito elencate.

Regole di base da seguire nel laboratorio di colture cellulari:

- usare sempre camice e guanti (da cambiare spesso);
- considerare tutti i campioni e i tessuti provenienti da esseri umani e di altri primati come potenziali portatori di agenti patogeni;
- operare in laboratori che presentano un livello di biosicurezza di tipo 2;
- pulire tutte le superfici prima di ogni operazione e tra operazioni diverse (o diverso operatore) con disinfettante (es. etanolo 70%);
- identificare in maniera chiara tutti i contenitori che si usano;
- manipolare tutti i campioni in maniera aseptica, utilizzando il più possibile materiale in plastica monouso e strumenti sterili;
- lavorare tutti i campioni sotto cappa;
- tenere in ordine e mantenere la superficie della cappa il più possibile sgombra da oggetti;
- maneggiare una sola linea cellulare alla volta;
- verificare l'assenza nei terreni di contaminazione o di altre alterazioni;
- rispettare le scadenze di pulizia e di controllo di incubatore e cappa biologica;
- evitare il più possibile l'accesso contemporaneo di più operatori nel laboratorio;
- non manipolare cellule di dubbia origine contemporaneamente alle altre linee cellulari;



- non tenere le cellule per troppo tempo a confluenza;
- non usare terreni completi oltre le 6-8 settimane;
- I rifiuti biologici e chimici, solidi e liquidi prodotti nel laboratorio, devono essere raccolti, separati ed eliminati in modo corretto e seguendo procedure specifiche;
- le porte del laboratorio devono rimanere sempre chiuse durante lo svolgimento delle attività lavorative;
- lo staff di laboratorio che lavora con cellule e tessuti umani deve essere segnalato per un protocollo di sorveglianza sanitaria per i patogeni ematici.

11. Gestione dei rifiuti prodotti dai laboratori biologici

Il D.Lgs. n. 152/2006 - parte IV: *Norme in materia di gestione dei rifiuti e di bonifica dei siti inquinati* - e s.m.i. disciplina la gestione dei rifiuti in generale comprendendo così anche i materiali di scarto pericolosi e non dei laboratori di didattica e di ricerca universitari.

Il D.Lgs. n. 206/2001 e s.m.i., concernente l'impiego confinato dei MOGM, dispone che la valutazione dell'impiego confinato di tali microrganismi deve tenere in *particolare considerazione il problema dello smaltimento dei rifiuti e degli effluenti* (art. 5, comma 5). Infatti, l'Allegato IV – Tabb. I a, I b e I c – tra i requisiti minimi e le misure necessarie per ciascun livello di contenimento, fornisce indicazioni specifiche in materia di gestione dei rifiuti prodotti in attività di laboratorio così come riportate in allegato n. 9.

Inoltre, il DPR n. 254 del 15 luglio 2003, disciplina la gestione dei rifiuti sanitari, così come definiti all'art. 2, comma 1, lett. a) ed elencati in allegato n. 10 alla presente, e di conseguenza, condiziona anche la modalità di gestione dei rifiuti contaminati da MOGM prodotti nei laboratori biologici autorizzati.

Per alcune linee di ricerca particolari, per le quali si rende indispensabile l'uso di radioisotopi, si possono produrre rifiuti anche di tipo radioattivo. Tali rifiuti sono disciplinati da normativa speciale, ovvero dal D.Lgs. n. 230/1995 e s.m.i.

I rifiuti dell'attività dei laboratori biologici e tutti i prodotti monouso che sono venuti a contatto con essi (guanti, pipette, puntali, fiasche, ecc.) sono generalmente compresi nelle seguenti categorie:

- materiale non pericoloso;
- materiale contaminato destinato al riutilizzo;
- materiale tagliente contaminato;
- materiale non tagliente contaminato da eliminare.

Materiale non pericoloso (es. materiale cartaceo e/o plastico di laboratorio, contenitori, di medicinali, di kit, ecc.)

Il materiale non pericoloso può essere scartato come normale rifiuto nell'apposito cestino. In tale contenitore NON deve essere gettato materiale a rischio biologico o chimico, tagliente e acuminato.



Materiale contaminato destinato al riutilizzo (es. vetreria, piccole attrezzature di laboratorio: pinze, ecc.)

Il materiale contaminato destinato al riutilizzo deve essere autoclavato in idonee buste opportunamente etichettate con codice colorato. Dopo il passaggio in autoclave potranno essere effettuate ulteriori puliture o riparazioni che si dovessero rendere necessarie.

Materiale tagliente contaminato: (es. aghi, siringhe, bisturi, vetreria rotta, vetrini per microscopio).

Il materiale tagliente da eliminare va riposto negli appositi contenitori di plastica rigida con dicitura "oggetti taglienti" e riportante il pittogramma del rischio biologico.



Questi contenitori vanno riempiti per i $\frac{3}{4}$, riposti dentro gli appositi contenitori automontanti di cartone accoppiato, e inseriti nel circuito dei "rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo". La durata del deposito temporaneo di tali rifiuti non deve superare i 5 giorni (DPR n. 254/2003).

Materiale non tagliente contaminato da eliminare:

a) *Solido* (guanti, pipette, puntali, carta bibula, terreni di coltura solidi, ecc.)

A parte gli oggetti taglienti, tutti gli altri materiali contaminati o quelli che sono venuti a contatto con agenti patogeni, fluidi biologici infetti o presunti tali, vanno riposti negli appositi sacchetti di plastica, racchiusi in contenitori automontanti di cartone accoppiato appositamente forniti dalla ditta incaricata dello smaltimento con la dicitura *rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo* e contraddistinti dal simbolo del rischio biologico. Tali contenitori, oltre a riportare la data di inizio e di fine utilizzo, devono riportare un codice CER a tre coppie di cifre (xx xx xx); i rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo vengono identificati dai codici 18 (rifiuto sanitario), 01 (origine umana) o 02 (origine animale) ed altre due cifre (0x) che individuano in maniera più precisa la natura del rifiuto.



I contenitori pieni, chiusi come predisposti, vengono inviati all'inceneritore avendoli prima autoclavati se richiesto dalla pratica di laboratorio. Tali contenitori sono di seguito mostrati:



I *rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo* sono definiti all'art. 2, comma 1, lett. d) del DPR n. 254/2003 e riportati nella tabella fornita in allegato alla presente (allegato n. 11). Sono ad essi assimilabili gli scarti provenienti dallo svolgimento di attività di ricerca e di diagnosi batteriologica (es. piastre, terreni di colture ed altri presidi utilizzati in microbiologia e contaminati con agenti patogeni) nonché i rifiuti dei laboratori di colture cellulari (es. piastre di coltura e materiale monouso) che siano venuti a contatto con materiale biologico, non necessariamente infetto (G. Scafetta, A. Altimari, R. Romanazzi, 2013).

b) Liquido (inclusi i terreni di coltura)

In accordo con i manuali di buone prassi citati in premessa e le pubblicazioni scientifiche di settore, i rifiuti liquidi (inclusi i terreni di coltura) devono essere:

- se in piccole quantità, messi all'interno di contenitori in plastica (provette eppendorf, tubi falcon, ecc.) da porre in sacchetti da autoclave e avviate alla sterilizzazione. Al termine del procedimento di sterilizzazione tali rifiuti sono trasferiti in un idoneo contenitore fornito dalla ditta appaltatrice dello smaltimento dei rifiuti speciali pericolosi;
- se in quantità elevate, inattivate con ipoclorito di sodio (2-3% di cloro attivo) o altro agente disinfettante e avviate allo smaltimento come rifiuto chimico. Si consiglia di utilizzare ipoclorito prelevato da confezioni conservate ben chiuse e al fresco e di non preparare in anticipo la diluizione al 2-3% di cloro attivo (allegato n. 12).

Le procedure di disinfezione e di sterilizzazione si identificano quali misure di prevenzione ai sensi del Titolo X del DLgs n. 81/08 in quanto finalizzate a inattivare o distruggere microrganismi patogeni.

Il deposito temporaneo dei rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo deve essere effettuato *in condizioni tali da non causare alterazioni che comportino rischi per la salute e può avere una durata massima di cinque giorni dal momento della chiusura del contenitore. Nel rispetto dei requisiti di igiene e sicurezza e sotto la responsabilità del produttore, tale termine è esteso a trenta giorni per quantitativi inferiori a 200 litri* (art. 8, comma 3, del DPR 254/2003).



12. Gestione delle emergenze nei laboratori biologici

In ogni laboratorio ove si utilizzano agenti biologici e/o materiale biologico potenzialmente infetto è consigliabile:

- affiggere, in un luogo ben visibile, un cartello di sintesi delle principali procedure e comportamenti da seguire in caso di emergenza (allegato n. 13);
- eseguire una simulazione di tale procedura e ripeterla periodicamente anche in presenza di un nuovo procedimento o di nuovo personale nel laboratorio. Tale simulazione dovrà comprendere anche l'individuazione della via di fuga attraverso i percorsi di emergenza.

Qualsiasi incidente che si verifichi in laboratorio, ma anche l'incidente evitato ("quasi incidente" o "near miss"), va dichiarato al Responsabile di struttura e al Servizio di Prevenzione e Protezione utilizzando la scheda fornita in allegato n. 3.

La gestione dell'emergenza nei laboratori biologici impone l'adozione di specifiche procedure di contenimento; il Responsabile del laboratorio deve essere informato tempestivamente dell'accaduto.

PROCEDURE DI CONTENIMENTO

Sversamento di un agente chimico (controllare le Schede di Sicurezza).

- Indossare idonei DPI;
- disporre sul liquido la schiuma o la segatura;
- attendere il tempo necessario;
- raccogliere e smaltire come rifiuto chimico pericoloso.

Sversamento di un agente biologico

- Indossare idonei DPI;
- coprire il materiale sversato con carta assorbente imbevuta di disinfettante;
- attendere almeno 20 minuti e mettere in atto la procedura adeguata;
- smaltire come rifiuto biologico.

Spargimento di liquidi biologici sul piano di lavoro della cappa biologica

- Portare la ventilazione della cabina alla massima velocità;
- indossare guanti e mascherina protettiva;
- coprire il materiale con carta assorbente imbevuta di disinfettante;
- lasciare agire per almeno 20 minuti;
- maneggiare con le pinze eventuali frammenti di vetro e depositarli negli appositi contenitori;
- trasferire il tutto, unitamente a guanti e maschera, negli appositi contenitori per rifiuti biologici;
- pulire e disinfettare la superficie contaminata.



N.B.: se è stato usato ipoclorito di sodio come disinfettante, il materiale va eliminato come rifiuto speciale pericoloso.

Spargimento di liquidi biologici sul pavimento o altra superficie

- Vietare l'accesso agli estranei;
- indossare guanti e mascherina protettiva;
- coprire il liquido con carta assorbente sulla quale versare un disinfettante adeguato e lasciarlo agire per almeno 20 minuti;
- maneggiare con le pinze con manico lungo eventuali frammenti di vetro e depositarli negli appositi contenitori per oggetti taglienti;
- trasferire il tutto, unitamente a guanti e maschera, negli appositi contenitori per rifiuti biologici;
- pulire e disinfettare la superficie contaminata.

Se l'agente biologico appartiene al gruppo 2 (o superiori) le persone che eventualmente sono venute a contatto con esso devono essere prontamente inviate al Pronto soccorso.

Misure di emergenza a seguito di incidente nel trasporto di campioni biologici

- Indossare guanti e mascherina protettiva;
- se non si conosce il patogeno trasportato occorre identificarlo;
- isolare temporaneamente l'imballo;
- distruggere o autoclavare l'imballo e il contenuto.

Iniezioni, tagli e abrasioni accidentali

In caso di iniezioni, tagli e abrasioni accidentali: chiamare l'addetto al primo soccorso.

In sua assenza il soccorritore deve:

- indossare guanti monouso;
- rimuovere gli abiti, lavare la ferita e le parti coinvolte;
- comprimere localmente se ci sono piccole emorragie;
- coprire con garza la ferita;
- se necessario rivolgersi alle cure di un medico.

N.B.: si consiglia di affiggere in laboratorio i recapiti degli addetti al primo soccorso presenti nella struttura.

Misure di prevenzione degli incendi in laboratorio

Le cause più comuni di incendio nei laboratori sono:

- sovraccarico dei circuiti elettrici;
- carenza di manutenzione elettrica (isolamento nei cavi);
- apparecchiature lasciate inutilmente accese;
- presenza di apparecchiature non idonee all'ambiente di laboratorio;
- presenza di fiamme libere;



- manipolazione/conservazione impropria di materiali infiammabili.

N.B.: per prevenire incendi in laboratorio occorre evitare comportamenti impropri e evitare la presenza di ogni possibile fonte di innesco.

Misure di emergenza in caso di incendio

All'atto della comunicazione di emergenza che preveda l'abbandono del laboratorio:

- mettere in sicurezza il materiale a rischio biologico;
- spegnere le apparecchiature eventualmente in uso sotto cappa;
- chiudere le cappe chimiche;
- chiudere le cappe biologiche.
- avvisare tutti coloro che lavorano nel laboratorio nell'eventualità di abbandono del laboratorio;
- seguire i percorsi di esodo.

13. Formazione e addestramento

Il Responsabile dell'attività di didattica o di ricerca in laboratorio (RADL o RARL), nell'ambito delle proprie attribuzioni, provvede direttamente, o avvalendosi di un qualificato collaboratore, alla formazione ed informazione di tutti i soggetti esposti sui rischi e sulle misure di prevenzione e protezione che devono essere adottate, al fine di eliminarli o ridurli al minimo in relazione alle conoscenze del progresso tecnico, dandone preventiva ed esauriente informazione al datore di lavoro (art. 6, comma 1 – DM 363/98).

Inoltre, il *Regolamento in materia di tutela della salute e di sicurezza nei luoghi di lavoro dell'Ateneo di Bari*, emanato con DR n. 1144 del 18/04/2018, all'art. 6, comma 2, - let. a), precisa che: *con riferimento alle attività riconducibili alla didattica e/o alla ricerca, l'adempimento relativo alla fornitura dei DPI è di competenza dei preposti RADL o RARL.*

14. Archiviazione

La presente procedura è indirizzata a tutti i Responsabili di struttura, agli utilizzatori dei laboratori biologici e, per conoscenza, ai Rappresentanti dei Lavoratori per la Sicurezza. Essa è resa nota tutto il personale universitario e pubblicata sul sito istituzionale dell'Università di Bari Aldo Moro, nella pagina "Procedure, manuali, linee guida" della U.O. Servizio di Prevenzione e Protezione.

Una copia cartacea è custodita in originale presso la sede del predetto Servizio sita al primo piano del Centro Polifunzionale Studenti di P.zza C. Battisti, 1 Bari.

15. Bibliografia e Sitografia

Circolare n.3 del 8 maggio 2003 – Raccomandazioni per la sicurezza del trasporto di materiali infettivi e di campioni diagnostici. Ministero della Salute.



Manuale di biosicurezza nei laboratori, edizione italiana © AIREPSA 2005 Pubblicato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità con il titolo "Laboratory Biosafety Manual", terza edizione (2004) ISBN 88-89415-15-0

CDC - Biosafety Microbiological Biomedical Laboratories, 2009.

Il rischio biologico per i soccorritori non sanitari dell'emergenza. Manuale informativo, INAIL Dipartimento di Medicina del Lavoro ex ISPESL, 2010.

Manuale per la valutazione del rischio biologico. L Frusteri, D. De Grandis, F. Scarlini, G. Pontuale – EPC editore, 2011

MOGM e sicurezza in laboratorio – Manuale INAIL per la promozione della sicurezza nei laboratori che fanno uso di microrganismi geneticamente modificati (MOGM) - INAIL e Ministero della Salute, novembre 2012

Criteri ed indirizzi per la tutela della salute e sicurezza in tema di valutazione del rischio biologico nelle attività istituzionali delle Agenzie per la Protezione dell'Ambiente- ISPRA, Manuali e Linee Guida 93 /2013 ISBN 978-88-448-0624-8

Il rischio biologico nei laboratori che effettuano manipolazione di colture cellulari umane. G. Scafetta, A. Altamari, R. Giovinazzo in Rivista degli infortuni e delle malattie professionali, fasc n.3/2013 - INAIL

Rischio biologico nei laboratori. W D'Amico, P. Tomao, N. Vonesch – INAIL, dicembre 2017

Decreto Rettorale n. 1144 del 18/04/2018 "Regolamento in materia di tutela della salute e di sicurezza nei luoghi di lavoro dell'Università degli Studi di Bari Aldo Moro".

E-Fact 20 - Checklist for the prevention of accidents in laboratories, EU-OSHA, 28 novembre 2007

<https://osha.europa.eu/it/tools-and-publications/publications/e-facts/efact20/view>

<http://www.inail.it> - Istituto Nazionale per l'Assicurazione contro gli infortuni sul lavoro

<http://www.cdc.gov> - Centers for Disease Control (CDC)

<http://www.ilo.org> - International Labour Organization (ILO)

<http://www.iss.it> - Istituto Superiore di Sanità (ISS)

<http://www.lavoro.gov.it> - Ministero del Lavoro e delle Politiche Sociali

<http://www.salute.gov.it> – Ministero della Salute

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov> – National Center for Biotechnology Information (NCBI)

<https://osha.europa.eu/it> - European Agency for Safety and Health at Work (EU-OSHA)

a cura della dott.ssa Maria Carmela Simonetti



ALLEGATO 1: Allegato XLVII al DLgs n. 81/08

ALLEGATO XLVII

SPECIFICHE SULLE MISURE DI CONTENIMENTO E SUI LIVELLI DI CONTENIMENTO

Nota preliminare:

Le misure contenute in questo ALLEGATO debbono essere applicate in base alla natura delle attività, la valutazione del rischio per i lavoratori e la natura dell'agente biologico di cui trattasi.

A. Misure di contenimento	B. Livelli di contenimento		
	2	3	4
1. La zona di lavoro deve essere separata da qualsiasi altra attività nello stesso edificio	No	Raccomandato	
2. L'aria immessa nella zona di lavoro e l'aria estratta devono essere filtrate attraverso un ultrafiltro (HEPA) o un filtro simile	No	Si, sull'aria estratta	Si, sull'aria immessa e su quella estratta
3. L'accesso deve essere limitato alle persone autorizzate	Raccomandato	Si	Si, attraverso una camera di compensazione
4. La zona di lavoro deve poter essere chiusa a tenuta per consentire la disinfezione	No	Raccomandato	Si
5. Specifiche procedure di disinfezione	Si	Si	Si
6. La zona di lavoro deve essere mantenuta ad una pressione negativa rispetto a quella atmosferica	No	Raccomandato	Si
7. Controllo efficace dei vettori, ad esempio, roditori ed insetti	Raccomandato	Si	SI
8. Superfici idrorepellenti e di facile pulitura	Si, per il banco di lavoro	Si, per il banco di lavoro e per il pavimento	Si, per il banco di lavoro, l'arredo, i muri, il pavimento e il soffitto
9. Superfici resistenti agli acidi, agli alcali, ai solventi, ai disinfettanti	Raccomandato	Si	Si
10. Deposito sicuro per agenti biologici	Si	Si	Si, deposito sicuro
11. Finestra d'ispezione o altro dispositivo che permetta di vederne gli occupanti	Raccomandato	Raccomandato	Si
12. I laboratori devono contenere l'attrezzatura a loro necessaria	No	Raccomandato	Si
13. I materiali infetti, compresi gli animali, devono essere manipolati in cabine di sicurezza, isolatori o altri adeguati contenitori	Ove opportuno	Si, quando l'infezione è veicolata dall'aria	Si
14. Inceneritori per l'eliminazione delle carcasse degli animali	Raccomandato	Si, (disponibile)	Si, sul posto
15. Mezzi e procedure per il trattamento dei rifiuti	Si	Si	Si, con sterilizzazione
16. Trattamento delle acque reflue	No	Facoltativo	Facoltativo

<p>Rev. 0.0 data emissione: dicembre 2019</p>	<p>Direzione Generale Staff Sicurezza, prevenzione e protezione U.O. Servizio di prevenzione e protezione</p>
---	---



ALLEGATO 2: Segnale di rischio biologico

Segnale di Rischio Biologico



RISCHIO BIOLOGICO

Accesso consentito solo al personale autorizzato

Livello di Biosicurezza: _____

Responsabile: _____

In caso di emergenza chiamare: _____

N. tel. ufficio: _____

N. tel. mobile: _____

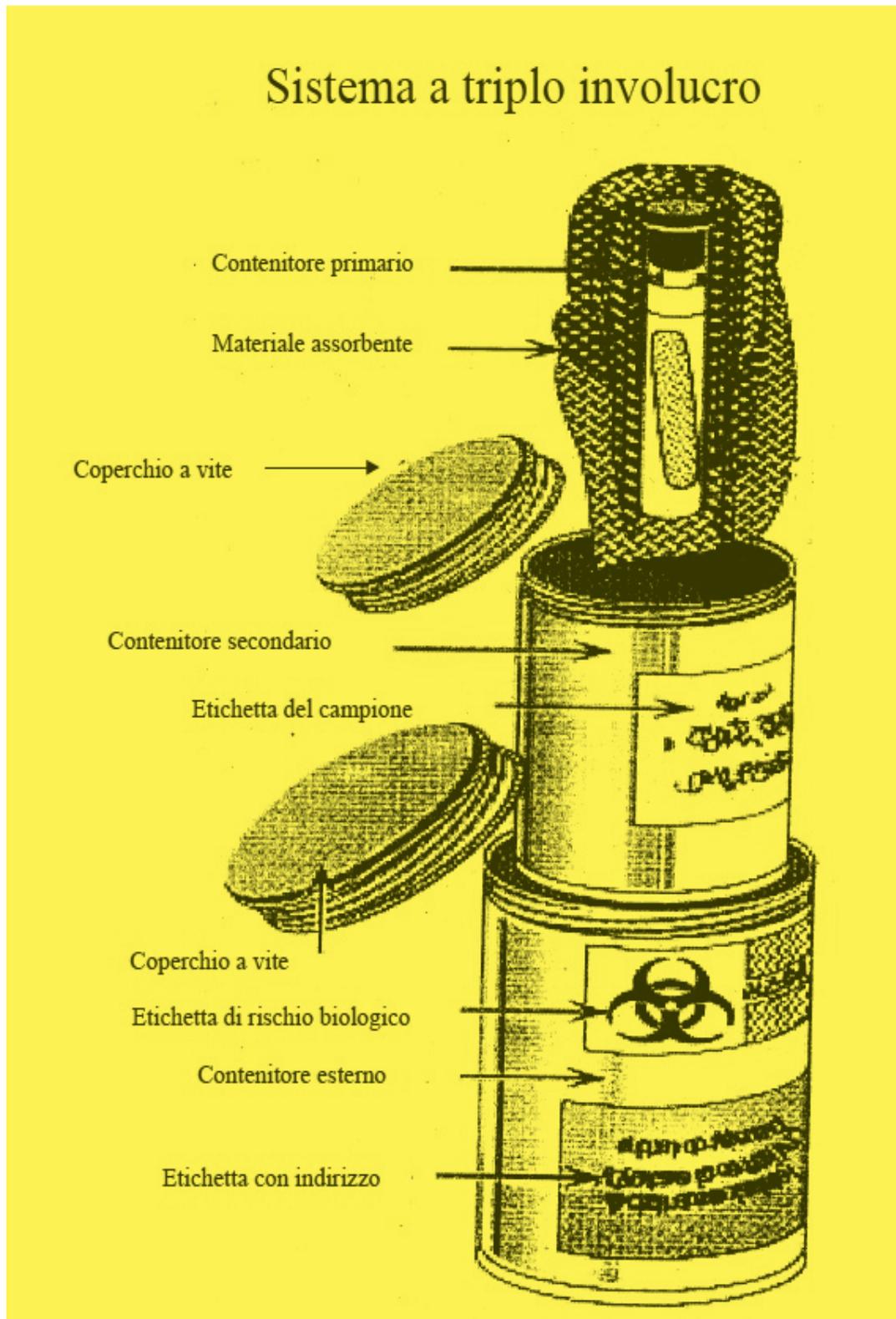


ALLEGATO 3: Scheda near miss o quasi infortunio

SEGNALAZIONE DI EVENTO QUALIFICABILE COME NEAR MISS o QUASI INFORTUNIO	
Al Direttore del Dipartimento Al Resp. del Servizio di Prevenzione e Protezione	
Il near miss o quasi infortunio è avvenuto in data _____ alle ore _____ presso il Laboratorio Biologico _____ ubicato al piano _____ del Dipartimento di _____ ed è stato comunicato da (cognome, nome, qualifica) _____	
Descrizione dell'incidente	
_____ _____ _____ _____	
Probabile causa	
<ul style="list-style-type: none">• Attrezzatura di lavoro difettosa• Spazio/Illuminazione non sufficiente• Mancanza di procedure operative• Scarsa conoscenza delle procedure operative• Disattenzione• Altro (specificare)	
Altre informazioni	
• E' la prima volta che accade?	SI NO
• Numero di persone coinvolte:	
• Si stavano usando agenti chimici?	SI NO
Se si, quali? _____	
Data _____	FIRMA _____



ALLEGATO 4: Sistema a triplo involucro





ALLEGATO 5: Etichette per trasporto di campioni refrigerati

Fig. a – Etichetta di rischio per anidride carbonica (ghiaccio secco)



Fig. b – Etichetta di rischio per azoto liquido





ALLEGATO 6: Sterilizzazione mediante autoclave

La sterilizzazione in autoclave elimina i microrganismi mediante l'azione della temperatura e del vapore saturo. Le autoclavi più utilizzate nei laboratori di ricerca sono:

- autoclavi a dislocamento per gravità. Il vapore sottopressione nella camera, sposta verso il basso l'aria più pesante, ed esce attraverso la valvola dello scarico, munito di filtro HEPA. Queste autoclavi operano generalmente a 121° C.
- autoclavi a prevuoto. In queste apparecchiature l'aria viene eliminata dalla camera, attraverso una valvola dotata di filtro HEPA, prima di immettere il vapore. Alla fine del ciclo, il vapore viene allontanato automaticamente. Queste autoclavi possono operare a 134°C ma non possono essere usate per trattare liquidi o materiali contaminati da prioni a causa della presenza del vuoto.

Un ciclo di sterilizzazione di un'autoclave prevede generalmente tre fasi:

Pre-trattamento: in tale fase tutta l'aria nella camera è sostituita da vapore saturo. Poiché l'aria ha una densità circa 1,7 volte maggiore del vapore, a parità di condizioni temperatura/pressione, se non viene eliminata completamente stratificherà nelle parti inferiori della camera e dei recipienti vuoti. Ciò impedisce il raggiungimento delle corrette condizioni di sterilizzazione. Se questa sostituzione non è completa le spore batteriche possono rimanere circondate da aria che ne impedisce l'umidificazione. In questo caso anche in presenza del calore sufficiente la spora non umidificata può sopravvivere. La graduale sostituzione dell'aria con il vapore ha luogo tramite le ripetute espulsioni di aria dalla camera e contemporanee sostituzioni della stessa con vapore.

Sterilizzazione: il materiale viene riscaldato dalla T ambiente alla T di sterilizzazione (121°C per 15 min. o 134°C per almeno 3 min.) per mezzo del vapore che si condensa su tutte le superfici con temperatura inferiore a quella del vapore. La pressione e la temperatura di sterilizzazione vengono specificate nei cicli indicati nei manuali di utilizzo in relazione alle apparecchiature e alle caratteristiche dei materiali da sterilizzare.

Post-trattamento: durante questa fase il vapore presente nella camera viene eliminato, si crea il vuoto e tramite il ripristino barico l'aria pulita dall'esterno rientra nella camera attraverso un sistema filtrante; a questo punto inizia il raffreddamento che permette, dopo un certo periodo di tempo, di riaprire l'autoclave.

Precauzioni nell'uso di autoclavi:

- effettuare la manutenzione ordinaria da parte di personale addestrato mediante l'ispezione periodica, della camera, della guarnizione dello sportello, e di tutti gli strumenti di misura e controllo presenti sull'apparecchio;
- il vapore deve essere saturo e privo di agenti chimici che potrebbero contaminare gli oggetti nel corso della sterilizzazione;
- tutti i materiali da autoclavare devono essere posti in contenitori che permettano una buona penetrazione del calore;
- la camera non deve essere troppo riempita, così che il vapore possa arrivare uniformemente al contenuto;
- gli operatori devono indossare guanti appropriati e visiere di protezione nell'aprire l'autoclave, anche quando la temperatura è scesa sotto gli 80°C;



- in ogni monitoraggio routinario delle prestazioni dell'autoclave, mettere al centro di ciascun carico indicatori biologici o termocoppie. Un regolare monitoraggio con termocoppie e l'abituale registrazione dei dati servono alla definizione dei corretti cicli di funzionamento;
- cestelli, contenitori di vetro devono essere in grado di resistere alle condizioni di temperatura ed umidità senza alterarsi in alcun modo;
- utilizzare le apposite strisce adesive che indicano l'avvenuta sterilizzazione dell'oggetto.

Le procedure e il manuale d'uso delle autoclavi devono essere collocati nelle vicinanze dell'apparecchiatura e devono risultare di pronta e facile consultazione da parte dell'operatore.



ALLEGATO 7: Definizioni collegate ai vari gradi di decontaminazione

TERMINE	DPR 15/7/2003	NIH guidelines (4/2002)	DHHS CDC BMBL 2009
Inattivazione	-----	Qualsiasi processo che distrugge la capacità di uno specifico agente microbiologico o cellula eucariotica di autoreplicarsi	-----
Decontaminazione	-----	-----	Rende un'area, un dispositivo, un articolo o un materiale sicuro da manipolare, riducendo il livello di contaminazione microbica in modo da eliminare la trasmissione delle infezioni
Disinfezione	Drastica riduzione della carica microbica effettuata con l'impiego di sostanze disinfettanti	Processo attraverso cui agenti microbiologici trasmissibili o cellule eucariotiche sono ridotte ad un livello tale da rendere improbabile l'induzione di malattie in uomini sani, animali o piante	Processo meno letale della sterilizzazione che elimina quasi tutti i microrganismi riconosciuti come patogeni, ma non necessariamente tutte le forme microbiche (per es. spore batteriche) presenti su oggetti inanimati
Sterilizzazione	Abbattimento della carica microbica tale da garantire un SAL (Sterility Assurance Level)	-----	Processo per distruggere tutti i microrganismi, incluso un elevato numero di endospore batteriche. Operativamente è un processo a seguito del quale la probabilità che un microrganismo sia sopravvissuto, su un oggetto sottoposto al trattamento, è inferiore a 1 su 1 milione (10^{-6})

NIH guidelines (4/2002) = National Institute of Health, linee guida per molecole di DNA ricombinante – App. K
DHHS CDC BMBL = Department of Health and Human Services, Manuale di “Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories” – Appendice B, ed. 2009

Rev. 0.0 data emissione: dicembre 2019	Direzione Generale Staff Sicurezza, prevenzione e protezione U.O. Servizio di prevenzione e protezione
---	--



ALLEGATO 8: Disinfettanti

Tab. a – Disinfettanti per la cute

COMPOSTO	IMPIEGHI e AVVERTENZE
Alcool etilico (etanolo 70%)	Antisepsi della cute integra, mantenere sulle mani lavate per almeno 2 minuti, non usare sulle ferite. Causa secchezza e irritazione della cute. Associato ad altri principi attivi (clorexidina, iodio e derivati, sali di ammonio quaternario) aumenta l'efficacia. Composto volatile e infiammabile.
Clorexidina al 4%	Può essere associata ad alcool etilico 70% e cetrimide. Antisepsi di ferite, ustioni, lavaggio antisettico delle mani. Evitare il contatto con gli occhi. Alle concentrazioni normalmente impiegate non presenta effetti indesiderati.
Iodio e iodofori	Le soluzioni a base di iodio e iodofori sono potenzialmente irritanti per la cute. A basse concentrazioni in soluzione acquosa (seguire attentamente le istruzioni del produttore in merito alla diluizione corretta e alla stabilità del prodotto) sono indicati per le piccole ferite e come detergente per il lavaggio antisettico delle mani.

Tab. b – Disinfettanti per attrezzature, oggetti e superfici

COMPOSTO	IMPIEGHI e AVVERTENZE
Cloroderivati: clorammina T, ipoclorito di sodio (candeggina)	Disinfettanti efficaci per oggetti, superfici contaminate, sporche di sangue o materiale organico. Sono consigliate concentrazioni di 5000 – 10000 ppm. Danneggiano i metalli. Non usare in presenza di acidi. Usare guanti e occhiali protettivi.
Derivati fenolici	Disinfezione di pavimenti, superfici, arredi, attrezzature. Stabili in presenza di materiale organico. Sono assorbiti da plastica, gomma, silicone da cui si rimuove con difficoltà
Gluteraldeide 2% attivata	Presenta attività disinfettante di alto livello. E' impiegata come agente chimico sterilizzante a freddo. Indicata per plastica, gomma, materiale da laboratorio. Non usare su superfici e piani di lavoro. Prodotto tossico, evitare l'esposizione della cute e delle mucose a vapori e soluzioni. Indossare guanti e occhiali protettivi.



Allegato 9: Allegato IV al D.Lgs. n. 206/2001

MISURE DI CONTENIMENTO E ALTRE MISURE DI PROTEZIONE

La sottoelencata tabella indica i requisiti minimi e le misure necessarie, per ciascun livello di contenimento, per la gestione dei rifiuti e degli scarti prodotti dalle attività svolte in laboratorio, nelle serre o camere di crescita e negli stabulari.

Rifiuti

ATTIVITÀ	SPECIFICHE		LIVELLI DI CONTENIMENTO			
			1	2	3	4
Laboratori, Serre e camere di crescita, Stabulari	20	<i>Inattivazione degli MOGM negli effluenti dei lavandini, degli scarichi o delle docce, se presenti, o in effluenti analoghi</i>	<i>Non necessario</i>	<i>Non necessario</i>	<i>Se Necessario</i>	<i>Necessario</i>
	21	<i>Inattivazione dei MOGM nei materiali e nei rifiuti contaminati</i>	<i>Se Necessario</i>	<i>Necessario</i>	<i>Necessario</i>	<i>Necessario</i>



ALLEGATO 10: Allegato I al D.P.R. n. 254/2003

TIPOLOGIE DI RIFIUTI SANITARI E LORO CLASSIFICAZIONE

(elenco esemplificativo)

Composizione	Tipo di rifiuto	Regime giuridico
1. Rifiuti a rischio infettivo di cui all'art. 2, comma 1, lettera d) Codici CER 180103 o 180202	Assorbenti igienici, pannolini pediatrici e pannolini	Pericolosi a rischio infettivo
	Bastoncini cotonati per colposcopia e paptest	
	Bastoncini oculari non sterili	
	Bastoncini oftalmici di TNT	
	Cannule e drenaggi	
	Cateteri (vescicali, venosi, arteriosi per drenaggi pleurici, ecc.) raccordi, sonde	
	Circuiti per circolazione extracorporea	
	Cuvette monouso per prelievo bioptico endometriale	
	Deflussori	
	Fleboclisi contaminate	
	Filtri di dialisi. Filtri esausti provenienti da cappe (in assenza di rischio chimico)	
	Guanti monouso	
	Materiale monouso: vials, pipette, provette, indumenti protettivi, mascherine, occhiali, telini, lenzuola, calzari, seridrape, soprascarpe, camici	
	Materiale per medicazione (garze, tamponi, bende, cerotti, lunghette, maglie tubolari)	
	Sacche (per trasfusioni, urina, stomia, nutrizione parenterale)	
	Set di infusione	
	Sonde rettali e gastriche	
	Sondini (nasografici per broncoaspirazione, per ossigenoterapia, ecc.)	
	Spazzole, cateteri per prelievo citologico	
	Speculum auricolare monouso	
	Speculum vaginale	
Saturatrici automatiche monouso		
Gessi o bendaggi		
Denti e piccole parti anatomiche non riconoscibili		
Lettiere per animali da esperimento		
Contenitori vuoti		
Contenitori vuoti di vaccini ad antigene vivo		
Rifiuti di gabinetti dentistici		
Rifiuti di ristorazione		
1-bis Rifiuti provenienti dallo svolgimento di attività di ricerca e di diagnostica batteriologica CER 180103 o 180202	Piastre, terreni di colture ed altri presidi utilizzati in microbiologia e contaminati da agenti patogeni	Pericolosi a rischio infettivo

Rev. 0.0 data emissione: dicembre 2019	Direzione Generale Staff Sicurezza, prevenzione e protezione U.O. Servizio di prevenzione e protezione
---	--



Composizione	Tipo di rifiuto	Regime giuridico
2. Rifiuti taglienti CER 180103 o 180202	Aghi, siringhe, lame, vetri, lancette, pungidito, venflon, testine rasoï e bisturi monouso	Pericolosi a rischio infettivo
2-bis Rifiuti taglienti inutilizzati CER 180101 o 180201	Aghi, siringhe, lame, rasoï	Non pericolosi
Organi e parti anatomiche non riconoscibili - Piccoli animali da esperimento CER 180103 o 180202	Tessuti, organi e parti anatomiche non riconoscibili. Sezioni di animali da esperimento	Rifiuti sanitari che richiedono particolari sistemi di gestione. Pericolosi a rischio infettivo
Contenitori vuoti, in base al materiale costitutivo dell'imballaggio vaassegnato un codice CER della categoria 1501: 150101 - 150102 - 150103 - 150104 - 150105 - 150106 - 150107 - 150109	Contenitori vuoti di farmaci, di farmaci veterinari, dei prodotti ad azione disinfettante, di medicinali veterinari prefabbricati, di premiscele per alimenti medicamentose, di vaccini ad antigene spento, di alimenti e di bevande, di soluzioni per infusione	Assimilati agli urbani se conformi alle caratteristiche di cui all'art. 5 del DPR 254/2003
Farmaci scaduti o inutilizzabili CER 180109 o 180208	Farmaci scaduti o di scarto, esclusi i medicinali citotossici e citostatici	Rifiuti sanitari che richiedono particolari sistemi di gestione. Non pericolosi
Sostanze chimiche di scarto CER 180107 o 180206	Sostanze chimiche di scarto, dal settore sanitario e veterinario o da attività di ricerca correlate, non pericolose o non contenenti sostanze pericolose ai sensi della decisione Europea 2001/118/CE	Non pericolosi

RIFIUTI SANITARI PERICOLOSI NON A RISCHIO INFETTIVO

(elenco esemplificativo)

Denominazione	C.E.R.
Rifiuti sanitari che richiedono particolari sistemi di gestione. Medicinali citotossici e citostatici dal settore sanitario o da attività di ricerca collegate	180108
Rifiuti sanitari che richiedono particolari sistemi di gestione. Medicinali citotossici e citostatici dal settore veterinario o da attività di ricerca collegate	180207
Sostanze chimiche di scarto, dal settore sanitario o da attività di ricerca collegate, pericolose o contenenti sostanze pericolose ai sensi dell'art. 1 della decisione Europea 2001/118/CE	180106
Sostanze chimiche di scarto, dal settore veterinario o da attività di ricerca collegate, pericolose o contenenti sostanze pericolose ai sensi dell'art. 1 della decisione Europea 2001/118/CE	180205
Rifiuti di amalgama prodotti da interventi odontoiatrici	180110
Oli per circuiti idraulici contenenti PCB	130101
Oli minerali per circuiti idraulici, clorurati	130109
Oli minerali per circuiti idraulici, non clorurati	130110
Oli sintetici per circuiti idraulici	130111
Oli per circuiti idraulici clorurati, facilmente biodegradabili	130112
Altri oli per circuiti idraulici	130113
Soluzioni fissative	090104
Soluzioni di sviluppo e attivanti a base acquosa	090101
Materiali isolanti contenenti amianto	170601

<p>Rev. 0.0 data emissione: dicembre 2019</p>	<p>Direzione Generale Staff Sicurezza, prevenzione e protezione U.O. Servizio di prevenzione e protezione</p>
---	---



Lampade fluorescenti	200121
Batterie al piombo	160601
Batterie al nichel-cadmio	160602
Batterie contenenti mercurio	160603



ALLEGATO 11: Rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo

RIFIUTI SANITARI PERICOLOSI A RISCHIO INFETTIVO¹
(individuati dalle voci 180103* e 180202* del Catalogo Europeo dei Rifiuti)

1)	tutti i rifiuti che provengono da ambienti di isolamento infettivo nei quali sussiste un rischio di trasmissione biologica aerea, nonché da ambienti ove soggiornano pazienti in isolamento infettivo affetti da patologie causate da agenti biologici di gruppo 4, di cui all'allegato XLVI del D.Lgs. 81/2008 e s.m.i.;				
2)	i rifiuti elencati a titolo esemplificativo nella precedente tabella e che presentano almeno una delle seguenti caratteristiche: <table border="1"> <tr> <td>2a)</td> <td>provengano da ambienti di isolamento infettivo e siano venuti a contatto con qualsiasi liquido biologico secreto od escreto dei pazienti isolati;</td> </tr> <tr> <td>2b)</td> <td>siano contaminati da: <ul style="list-style-type: none"> • sangue o altri liquidi biologici che contengono sangue in quantità tale da renderlo visibile; • feci o urine, nel caso in cui sia ravvisata clinicamente dal medico che ha in cura il paziente una patologia trasmissibile attraverso tali escreti; • liquido seminale, secrezioni vaginali, liquido cerebro-spinale, liquido sinoviale, liquido pleurico, liquido peritoneale, liquido pericardico o liquido amniotico. </td> </tr> </table>	2a)	provengano da ambienti di isolamento infettivo e siano venuti a contatto con qualsiasi liquido biologico secreto od escreto dei pazienti isolati;	2b)	siano contaminati da: <ul style="list-style-type: none"> • sangue o altri liquidi biologici che contengono sangue in quantità tale da renderlo visibile; • feci o urine, nel caso in cui sia ravvisata clinicamente dal medico che ha in cura il paziente una patologia trasmissibile attraverso tali escreti; • liquido seminale, secrezioni vaginali, liquido cerebro-spinale, liquido sinoviale, liquido pleurico, liquido peritoneale, liquido pericardico o liquido amniotico.
2a)	provengano da ambienti di isolamento infettivo e siano venuti a contatto con qualsiasi liquido biologico secreto od escreto dei pazienti isolati;				
2b)	siano contaminati da: <ul style="list-style-type: none"> • sangue o altri liquidi biologici che contengono sangue in quantità tale da renderlo visibile; • feci o urine, nel caso in cui sia ravvisata clinicamente dal medico che ha in cura il paziente una patologia trasmissibile attraverso tali escreti; • liquido seminale, secrezioni vaginali, liquido cerebro-spinale, liquido sinoviale, liquido pleurico, liquido peritoneale, liquido pericardico o liquido amniotico. 				
3)	i rifiuti provenienti da attività veterinaria, che: <table border="1"> <tr> <td>3a)</td> <td>siano contaminati da agenti patogeni per l'uomo o per gli animali;</td> </tr> <tr> <td>3b)</td> <td>siano venuti a contatto con qualsiasi liquido biologico secreto od escreto per il quale sia ravvisato, dal medico veterinario competente, un rischio di patologia trasmissibile attraverso tali liquidi.</td> </tr> </table>	3a)	siano contaminati da agenti patogeni per l'uomo o per gli animali;	3b)	siano venuti a contatto con qualsiasi liquido biologico secreto od escreto per il quale sia ravvisato, dal medico veterinario competente, un rischio di patologia trasmissibile attraverso tali liquidi.
3a)	siano contaminati da agenti patogeni per l'uomo o per gli animali;				
3b)	siano venuti a contatto con qualsiasi liquido biologico secreto od escreto per il quale sia ravvisato, dal medico veterinario competente, un rischio di patologia trasmissibile attraverso tali liquidi.				

¹ come definiti all'art. 2, comma 1 – lett. d) del DPR n 254 del 2003



ALLEGATO 12: Considerazioni sull'ipoclorito di sodio

Fonte: Manuale operativo rischio biologico – Istituto Superiore di Sanità

L'ipoclorito commerciale contiene il 5% di Cl attivo nominale. Tale agente chimico è instabile e la concentrazione di cloro in tali soluzioni tende a diminuire nel tempo, specialmente se esse sono esposte alla luce e al calore.

In genere, i prodotti formulati per l'uso domestico, insieme all'ipoclorito contengono sostanze stabilizzanti che ne favoriscono la conservazione. In ogni caso, le soluzioni di ipoclorito di sodio devono essere mantenute al riparo della luce diretta del sole e in un luogo fresco. In condizioni non idonee, la degradazione dell'ipoclorito è molto rapida; tale evento può rendere vane le operazioni di disinfezione a causa della bassa concentrazione di principio attivo nelle soluzioni disinfettanti utilizzate. Poiché l'unico modo per conoscere esattamente la concentrazione di cloro attivo nell'ipoclorito è attraverso la titolazione analitica, che non è praticabile routinariamente, si consiglia di utilizzare per la disinfezione ipoclorito prelevato da confezioni aperte da poco e conservate ben chiuse ed al fresco e di non preparare in anticipo la soluzione con concentrazione al 2-3% di Cl attivo.

Per l'uso nel trattamento di rifiuti biologici liquidi, prima di aggiungere i rifiuti versare nel contenitore apposito una quantità della soluzione di ipoclorito (preparata fresca) pari al 20% del volume del contenitore.



ALLEGATO 13: Procedure di contenimento di incidenti

PROCEDURE DI CONTENIMENTO DI INCIDENTI

Indossare idonei Dispositivi di Protezione Individuali (DPI):

- incidente chimico:
disporre sul liquido la schiuma o la segatura, attendere il tempo necessario, raccogliere e smaltire come rifiuto tossico e nocivo (controllare le Schede di Sicurezza);
- incidente biologico: coprire il materiale sversato con carta assorbente imbevuta di disinfettante, attendere almeno 20 minuti e mettere in atto la procedura adeguata (1, 2), smaltire come rifiuto biologico.

PROCEDURA 1

Sversamento di liquidi biologici sul piano della cappa biologica

1. portare la ventilazione della cabina alla massima velocità;
2. indossare guanti e mascherina protettiva;
3. coprire il materiale con carta assorbente imbevuta di disinfettante;
4. lasciare agire per almeno 20 minuti;
5. maneggiare con le pinze eventuali frammenti di vetro e depositarli negli appositi contenitori;
6. eliminare la carta e il materiale, unitamente a guanti e maschera, negli appositi contenitori per rifiuti biologici;
7. pulire e disinfettare la superficie contaminata.

PROCEDURA 2

Sversamento di liquidi biologici sul pavimento o altra superficie

1. vietare l'accesso agli estranei con apposito cartello* sulla porta;
2. indossare guanti e mascherina protettiva;
3. coprire il liquido con carta assorbente imbevuta di disinfettante;
4. lasciare agire per almeno 20 minuti;
5. maneggiare con le pinze con manico lungo eventuali frammenti di vetro e depositarli nei contenitori per rifiuti biologici;
6. eliminare la carta assorbente con delle pinze con manico lungo e depositarla nei contenitori per rifiuti biologici;
7. pulire e disinfettare la superficie contaminata.

*Cartello "NON ENTRARE: incidente chimico/biologico"