

## PROCEDURE DI SICUREZZA PER I LABORATORI CON USO DI AGENTI BIOLOGICI

### 1- Accesso al laboratorio

- Divieti e restrizioni
- Segnaletica e informazione

### 2 - Norme generali di comportamento

- Divieti
- Indumenti protettivi, abbigliamento e comportamento
- Trasporto di materiale contaminato/campioni biologici

### 3 - Area di lavoro e attrezzature

- Pulizia e decontaminazione superfici (cfr tabella disinfettanti)
- Gestione della cappa biologica
- Gestione del materiale contaminato e dei rifiuti
- Gestione emergenze

### ALLEGATO: TABELLA DEI PRINCIPALI DISINFETTANTI (proprietà e caratteristiche)

#### NOTA - RICHIAMI NORMATIVI-

In caso di utilizzo di agenti biologici di gruppo 2 o superiore occorre effettuare tempestiva comunicazione al Servizio Prevenzione e Protezione, in modo da provvedere ai necessari adempimenti normativi ai sensi del D.Lgs 81/08 (comunicazione all'organo di vigilanza).

In caso di impiego di MOGM (microrganismi geneticamente modificati) ai sensi del D.Lgs 206/2001, occorre, preventivamente all'inizio attività, verificare il possesso delle dovute autorizzazioni ministeriali o in caso contrario procedere alle pratiche autorizzative preliminari, facendone in ogni caso comunicazione al Servizio Prevenzione e Protezione. Si ricorda che ricadono nel campo di applicazione di tale normativa tutte le attività che implicano l'uso di microrganismi geneticamente modificati, inclusa la semplice conservazione di ceppi o linee cellulari geneticamente modificati, anche se acquistati come tali da ditte certificate.

## 1. Accesso al laboratorio

- L'ingresso al laboratorio è ristretto al personale autorizzato, al quale sia stata assicurata dal RAR l'informazione/formazione specifica riguardo ai potenziali rischi connessi con l'attività lavorativa, alle norme di comportamento, all'ubicazione degli apparati di emergenza (cassetta di pronto soccorso, lavaocchi, etc...).
- All'ingresso del laboratorio che utilizza agenti biologici di classe 2 o superiore, deve essere affisso il segnale di avvertimento di Rischio Biologico, oltre che di divieto di ingresso al personale non autorizzato.
- Le donne in età fertile vanno informate del rischio per un futuro bambino legato all'esposizione ad agenti biologici.
- Le lavoratrici in stato di gravidanza o in allattamento devono comunicare tempestivamente al Responsabile il proprio stato, affinché siano approntate tutte le misure preventive e protettive per la tutela delle lavoratrici madri in relazione alla valutazione dei rischi.
- Le porte del laboratorio con utilizzo di agenti biologici devono essere tenute chiuse.

## 2. Norme generali di comportamento

### a. Divieti

- Nelle aree di lavoro del laboratorio non è permesso mangiare, bere, fumare, applicare cosmetici o conservare cibo. Inoltre è vietato usare recipienti del laboratorio per conservare alimenti o adoperare attrezzature del laboratorio per preparare o scaldare alimenti e bevande.
- Nessun oggetto dovrebbe essere portato alla bocca in laboratorio (penne, matite, chewing-gum, etc...).
- È rigorosamente vietato pipettare a bocca.

### b. Indumenti protettivi, abbigliamento e comportamento

- Prima di ogni attività di analisi o di ricerca all'interno del laboratorio deve essere indossato il camice. Tale indumento non va indossato in aree diverse dal laboratorio. Inoltre nel laboratorio con uso di agenti biologici è preferibile adoperare anche calzature dedicate idonee all'uso o sovrascarpe; in ogni caso non si devono indossare calzature aperte e sono da evitare scarpe con i tacchi alti.
- Il personale che indossa lenti a contatto deve adoperare occhiali di sicurezza.
- I capelli lunghi devono essere tenuti raccolti. Togliersi bracciali, anelli, collane, sciarpe e ciondoli di vario tipo.
- Durante le attività di laboratorio indossare guanti idonei alla protezione da rischio biologico (recanti marcatura CE, aderenza a norma EN 374 e pittogramma relativo) verificandone prima dell'uso la idoneità e integrità. Non riutilizzare i guanti monouso.
- L'uso dei guanti non sostituisce l'igiene delle mani: dopo aver tolto i guanti procedere al lavaggio delle mani. Non toccare maniglie, telefoni, pc o altro con i guanti contaminati, ma procedere prima alla loro rimozione e al lavaggio mani. (Per approfondimenti cfr procedure di base per rischio biologico-uso dei guanti e igiene delle mani).
- Indossare i D.P.I indicati nei documenti di valutazione dei rischi, in particolare facciali filtranti e occhiali protettivi per le operazioni che possono esporre a bioaerosol e schizzi di materiale contaminato.
- Non tenere nelle tasche del camice forbici, provette o materiale tagliente.

### c. Trasporto di campioni contaminati/materiale biologico

- Lo spostamento dei campioni dal luogo di prelievo al laboratorio deve avvenire in contenitori di materiale infrangibile, con tappo a tenuta, correttamente etichettati per facilitarne l'identificazione.
- Per evitare perdite e sversamenti accidentali durante il trasporto, evitare di trasportare i contenitori di materiale biologico tenendoli in mano o nelle tasche del camice, ma collocarli in speciali contenitori secondari che assicurino la posizione verticale del campione.
- I contenitori secondari devono essere costituiti da materiale autoclavabile o in alternativa resistente a disinfettanti chimici; inoltre essi devono essere regolarmente decontaminati dopo l'uso.
- I contenitori per il trasporto di materiale biologico di origine clinica/ricerca di tipo umano o animale devono essere adeguatamente etichettati e riportare la frase "contiene materiale biologico" (se il caso di agenti del gruppo 2,3,4 con il segnale di rischio biologico).
- Nel caso di trasporto dal laboratorio ad altre sedi o di spedizione, si deve adottare un sistema a doppio contenitore a tenuta ermetica con materiale assorbente per impedire, in caso di incidente, la fuoriuscita del liquido. Il contenitore deve essere autoclavabile e nessun residuo deve rimanere sulla parete esterna di esso. Eventuali schede o altri documenti di accompagnamento non devono essere arrotolati intorno al contenitore ma inseriti in altro sacchetto a tenuta.

## 3. Area di lavoro e attrezzature

### a. Pulizia e decontaminazione superfici

- Le superfici di lavoro e le attrezzature devono essere decontaminate dopo qualsiasi sversamento di materiale potenzialmente pericoloso e alla fine di ogni giorno di lavoro, lasciando il posto di lavoro pulito e ordinato. In relazione ai prodotti da utilizzare per la decontaminazione fare riferimento alla tabella dei disinfettanti allegata alle procedure.
- Il laboratorio deve essere tenuto pulito, in ordine e sgombro da qualsiasi oggetto non pertinente al lavoro.
- Provvedere alla periodica e regolare pulizia delle apparecchiature quali incubatori, frigoriferi, centrifughe, bagni termostatici.
- Le finestre dei laboratori con uso di agenti biologici di classe 2 o superiori devono essere protette da zanzariere o altro dispositivo che impedisca l'ingresso dei vettori.

### b. Gestione della cappa biologica

- La cappa va messa in funzione mezz'ora prima dell'inizio del lavoro e spenta mezz'ora dopo l'attività.
- Spegnerne gli UV (se trovati accesi al momento di iniziare il lavoro).
- Accertarsi che la cappa sia funzionante (ad es. con un fazzoletto o un foglio di carta).
- Mantenere la griglia anteriore libera; se il flusso d'aria attraverso la griglia viene bloccato non si otterrà la massima protezione dalla cappa. Assicurarsi che la griglia di aspirazione non sia bloccata da quaderni, fogli di carta, o altro materiale.
- Non adoperare bruciatori Bunsen all'interno delle cappe perché il calore prodotto distorce il flusso d'aria e può danneggiare i filtri; in caso fosse necessario adoperare microbruciatori elettrici o preferibilmente anse sterili monouso.
- Dentro la cappa ridurre al minimo la presenza di strumenti e materiali (non adoperare la cappa come deposito).
- I contenitori per le pipette da eliminare o da autoclavare dovrebbero essere posizionati all'interno della cappa per non interrompere l'integrità del flusso d'aria, che potrebbe compromettere sia la protezione personale che quella del prodotto.
- Tutte le operazioni devono essere eseguite nella parte mediana o posteriore della superficie di lavoro; l'operatore non deve alterare il flusso dell'aria con movimenti ripetuti delle braccia dentro e

fuori o con movimenti bruschi; gli spostamenti alle spalle dell'operatore devono essere ridotti al minimo.

- Pulire la superficie di lavoro della cappa con disinfettante idoneo alla fine del turno di lavoro (ad es. Etanolo al 70%, o una soluzione di ipoclorito di sodio -per un livello intermedio di disinfezione adoperare concentrazione di 1000 ppm di Cloro disponibile-).
- Accendere gli UV alla fine del lavoro; lasciarli accesi per circa 30'.
- Effettuare una manutenzione periodica della cappa con sostituzione filtri richiedendo l'intervento di ditta specializzata, tenendo registro degli interventi effettuati. Contattare il Servizio Prevenzione e Protezione per la verifica periodica dell'aspirazione fumi.

### c. Gestione del materiale contaminato e dei rifiuti

- Manipolare tutti i campioni biologici come potenzialmente infetti.
- Fiale e provette contenenti agenti biologici devono essere aperte sotto la cappa biologica di sicurezza
- Il materiale di tipo riutilizzabile contaminato, potenzialmente infetto, non va prelavato, ma va prima sterilizzato in autoclave (o decontaminato) e poi lavato per il riutilizzo.
- Cellule e tessuti vanno sempre considerati come potenzialmente infetti (cfr procedure colture cellulari).
- I materiali e le colture, prima di essere scartati, dovranno essere sterilizzati in autoclave o decontaminati.
- Tutto il materiale non riutilizzabile venuto a contatto con campioni di origine umana o animale comprese le colture cellulari (escluso campioni animali di tipo alimentare), va smaltito nell'idoneo contenitore per rifiuti speciali sanitari a rischio infettivo adoperando il corretto C.E.R. (a seconda della tipologia e provenienza del rifiuto). Nel caso di dispositivi chirurgici e di aghi fare uso degli idonei contenitori omologati con pareti rigide e dispositivi rompi-ago opportunamente segnalati ed identificati (si ribadisce il divieto di reincappucciare gli aghi).
- I contenitori destinati a raccogliere i rifiuti biologici o i materiali venuti a contatto con essi non devono essere riempiti fino all'orlo in modo da evitare la fuoriuscita del materiale in essi contenuto.
- Considerare come rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo tutti i materiali che sono venuti a contatto con fluidi biologici infetti o presunti tali. Sono assimilabili a questo tipo di materiali rifiuti di laboratorio e di ricerca chimico-biologica (es. piastre di coltura e materiale monouso) che siano venuti a contatto con materiale biologico, non necessariamente infetto (per approfondimenti e codice C.E.R. cfr *"Manuale per la gestione dei rifiuti speciali prodotti nell'Università di Pisa"*). In nessun caso questi rifiuti possono essere smaltiti nel circuito dei rifiuti urbani (neanche dopo sterilizzazione).

#### d. Gestione emergenze (da esporre singolarmente)

##### **Norme di comportamento in caso di emergenza**

- Abbandonare immediatamente la zona interessata in caso di dispersione nell'ambiente e/o locale di un agente biologico appartenente ai gruppi 2, 3 e 4.
- Chiudere la stanza ed applicare sulla porta avvisi di zona contaminata e di divieto di ingresso.
- Segnalare al Responsabile del laboratorio (RAR) l'evento e concordare insieme la metodologia per rimuovere il pericolo.
- Accedere al locale solo dopo aver indossato gli opportuni D.P.I., tra cui anche quelli di protezione delle vie respiratorie, e procedere alla decontaminazione sotto la supervisione del RAR.
- In caso di dispersione di aerosol contaminato non entrare nel laboratorio per almeno un'ora, in modo da permettere all'aerosol di depositarsi prima di procedere alla decontaminazione.
- Segnalare immediatamente al Datore di lavoro eventuali infortuni o incidenti relativi all'uso di agenti biologici.
- In caso di infortunio avvisare immediatamente l'addetto al pronto soccorso e recarsi al Pronto soccorso, mettendo a disposizione dell'addetto o del medico la scheda di sicurezza della/e sostanza/e coinvolte nell'incidente.
- In caso di rottura di vetreria, porre i cocci negli appositi contenitori, che dovranno essere autoclavati prima di essere smaltiti, distinguendo se si tratta di vetro "contaminato" o "non contaminato".
- Sottoporsi ad adeguata sorveglianza sanitaria, indicando al Medico Competente la tipologia e la classe della sostanza utilizzata.

##### **Sversamento di materiale all'interno di cappe di sicurezza biologica**

- Portare la ventilazione della cabina alla massima velocità.
- Indossare guanti e facciale filtrante e disinfettare le superfici.
- Trasferire tutto il materiale raccolto, unitamente a guanti e maschera, in sacchetto autoclavabile.
- Sterilizzare in autoclave tutto il materiale usato per la pulizia e le griglie, se sono in acciaio.

##### **Sversamento di liquido biologico nel locale: decontaminazione**

- Indossare due paia di guanti e tutti gli indumenti protettivi.
- Coprire con un pezzo di stoffa o di carta assorbente imbevuto di disinfettante la sostanza sversata e lasciare agire per almeno 30 minuti.
- Prelevare la stoffa o la carta e il materiale danneggiato con una paletta ed eliminare in appositi contenitori per rifiuti biologici.
- Maneggiare i frammenti di vetro con pinze e disporli negli appositi contenitori.
- Pulire e disinfettare la superficie contaminata.
- Trattare come rifiuti biologici tutti i materiali contaminati, incluso i D.P.I. utilizzati.
- Copiare le informazioni su un altro foglio e gettare l'originale nel contenitore per rifiuti biologici, se si verifica contaminazione di documenti.
- Autoclavare o immergere per 24 ore nel disinfettante tutto il materiale utilizzato.
- Autoclavare o immergere per 24 ore nel disinfettante tutti i contenitori da smaltire.

##### **Norme di comportamento in caso di iniezioni, tagli e abrasioni**

- Togliersi i guanti e gli indumenti protettivi.
- Sciacquarsi le mani e la parte colpita abbondantemente (in caso di contatto con gli occhi adoperare il dispositivo lavaocchi).
- Applicare un disinfettante adatto per la pelle.
- Recarsi al pronto soccorso e informare il medico di turno sulla causa della ferita e, se è possibile, fornire informazioni riguardo all'agente biologico coinvolto.
- Segnalare l'evento al Servizio Medico Competente.

Disinfetta

Chiedi  
assistenza

Segnala  
l'evento

ALLEGATO - Proprietà dei principali disinfettanti

Categoria di disinfettante	Esempi	Efficace contro							Interferenza negativa data da			Attività, concentrazione tempo di azione	Meccanismo di azione	Vantaggi	Svantaggi	Impiego
		Funghi	Batteri Gram +	Batteri Gram -	Micobatteri	Spore	Virus lipidici	Virus non lipidici	Proteine	Acqua dura	Detergenti					
<b>Alcoli</b>	Alcool etilico Alcool isopropilico	-	xxx	xxx	xxx	-	x	v	+	+	-	Intermedia 70%, rapido	Precipitazione delle proteine Denaturazione dei lipidi	Azione rapida Assenza di residui	Rapida evaporazione (riduzione tempi di contatto, incapacità di penetrare il materiale organico residuo) Infiammabile Irritante oculare	Antisepsi cute integra Superfici e piani di lavoro
<b>Ipocloriti</b>	Candeggina CloramminaT Amuchina	x	xxx	xxx	xx	xx	x	x	+++	+	C	Intermedia 0,5%, rapido	Denaturazione delle proteine	Basso costo Fortement e attivi contro i virus epatitici	Altamente instabili Corrosivi per i metalli Inattivabili da materiale organico Corrosivo per la cute; da non usare con acidi (libera gas pericolosi)	Disinfettante d'elezione per le superfici e gli oggetti di lavoro  (Amuchina per antisepsi ferite e lavaggio antisettico mani)
<b>Biguanidine</b>	Clorexidina	x	xxx	xxx	variabile	-	x	x	nn	nn	+++ (inattivato)	Spesso associata a alcool etilico al 70% o a cetrimide	Altera la permeabilità di membrana	Ampio spettro	Funziona in un range limitato di pH (5-7) Tossico per l'ambiente	Antisepsi di ferite e ustioni, lavaggio antisettico mani
<b>Glutaraldeide</b>		xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	x (a)	x	+	+	-	Alta variabile (2%) da 30 min a 3 h	Denaturazione delle proteine	Alto livello di disinfesz.	Tossica per inalazione e contatto	Prodotto di riferimento per disinfeszione di alto livello e sterilizzazione di materiali non sterilizzabili con il calore (adatto per metalli e gomma/plastica) Non usare su superfici e piani di lavoro. Evitare il contatto con la cute. Indossare DPI

Categoria di disinfettante	Esempi	Efficace contro							Interferenza negativa data da			Attività, concentrazione tempo di azione	Meccanismo di azione	Vantaggi	Svantaggi	Impiego
		Funghi	Batteri Gram +	Batteri Gram -	Micobatteri	Spore	Virus lipidici	Virus non lipidici	Proteine	Acqua dura	Detergenti					
<b>Iodofori</b>	Betadine Providone	xxx	xxx	xxx	xxx	x (b)	x	x	+++	+	A	Intermedia	Denaturazione delle proteine		Irritanti Si inattivano a T>43°C	A basse concentrazioni indicati per piccole ferite e lavaggio antisettico mani
<b>Composti fenolici</b>	Triclosan	xxx	xxx	xxx	xx	-	x	v	+	+	C	Intermedia 0,4-3%, rapido	Denaturazione delle proteine e alterazione della permeabilità cellulare	Biodegradabili e scarsamente volatili	Irritanti, inattivabili da materiale organico	Per pavimenti, arredi, oggetti. Usare DPI
<b>Composti ossidanti</b>	Acido peracetico Perossido di idrogeno	variabile	xxx	xxx	xxx	Variabile (b)	xxx	xxx	variabile	nn	nn	alta	Ossidazione dei componenti cellulari	Ampio spettro	Danneggia alcuni metalli Corrosivo per occhi	Antisettico per cute lesa (perossido di idrogeno) e strumenti
<b>Composti di ammonio quaternario</b>	Citrosil Bialcol Zephiran	variabile	xxx	x	variabile	-	variabile	-	+++ (inattivato)	+++ (inattivato)	+++ (inattivato)	bassa	Denaturazione delle proteine e legame con fosfolipidi di membrana	Stabili Non irritanti Efficaci ad alte T e pH	Spettro di azione limitato	Antisettico e per superfici e strumenti (non critici)
<b>Legenda</b>		xxx = buono xx = adeguato x = leggero - = nullo				v = dipendente dai virus a =>20 °C b = su tempi di esposiz. lunghi			+++ = molto ++ = parzialmente + =debolmente - = nullo C =cationico A = anionico nn = non noto							

**NOTA:** La tabella fornisce solo un'indicazione delle caratteristiche dei principali disinfettanti tratte da pubblicazioni tecniche nazionali/internazionali: per ogni prodotto scelto o acquistato occorre prendere visione delle **schede di sicurezza** soprattutto relativamente alle caratteristiche di pericolo ed alle indicazioni per la sicurezza e l'uso.