

**INAIL**

# Requisiti e misure di contenimento dei laboratori che utilizzano MOGM



**Priscilla Boccia**

**SICUREZZA NEI LABORATORI  
BIOTECH DALLA TEORIA ALLA  
PRATICA**

**13 Dicembre 2022**  
*Milano*

Dipartimento Innovazioni Tecnologiche e Sicurezza degli Impianti Prodotti e insediamenti Antropici

## Quali sono i riferimenti normativi e principi da applicare per le misure di contenimento di MOGM ?

**Allegato IV del decreto 206/2001** (Attuazione della direttiva 98/81/CE che modifica la direttiva 90/219/CE, concernente l'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati)

*Le sottoelencate tabelle indicano i requisiti minimi e le misure necessarie, per ciascun livello di contenimento in attività di laboratorio (tabella I) e per altre attività (tabella II). Le tabelle Ib e Ic riportano aggiunte e modifiche, rispetto alla tabella Ia, rispettivamente per serre o camere di crescita (Ib) e per stabulari (Ic).*



Tabella 1 a

**Misure di contenimento, di prevenzione e altre misure di protezione per le attività di laboratorio**

| Specifiche |                                                               | Livelli di contenimento |                |            |            |
|------------|---------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------|------------|------------|
|            |                                                               | 1                       | 2              | 3          | 4          |
| 1          | Ambienti di laboratorio: isolamento(1)                        | Non necessario          | Non necessario | Necessario | Necessario |
| 2          | Laboratorio: sigillabile in modo da consentire la fumigazione | Non necessario          | Non necessario | Necessario | Necessario |

**Attrezzature**

|    |                                                                                                                  |                                |                      |                                                                                                      |                                                                                                                                                                                  |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3  | Superfici resistenti ad acqua, acidi, alcali, solventi, disinfettanti, agenti decontaminanti e facili da pulire. | Necessario (bancone)           | Necessario (bancone) | Necessario (bancone, arredo pavimento)                                                               | Necessario (bancone, arredo, pavimento, soffitto, pareti)                                                                                                                        |
| 4  | Accesso al laboratorio attraverso zona filtro (2)                                                                | Non necessario                 | Non necessario       | Se necessario                                                                                        | Necessario                                                                                                                                                                       |
| 5  | Pressione negativa rispetto alla pressione nelle immediate vicinanze                                             | Non necessario                 | Non necessario       | Necessario ad eccezione di attività in cui la trasmissione non avviene per via aerea                 | Necessario                                                                                                                                                                       |
| 6  | L'aria immessa nel ed emessa dal laboratorio deve essere sottoposta ad ultrafiltrazione (HEPA) (3)               | Non necessario                 | Non necessario       | Necessario per aria emessa ad eccezione di attività in cui la trasmissione non avviene per via aerea | Necessario per aria immessa ed emessa.<br><br>Quando si impiegano virus che non sono trattenuti da filtri HEPA si renderanno necessari requisiti supplementari per l'aria emessa |
| 7  | Cappa/box di sicurezza microbiologica                                                                            | Non necessario                 | Se necessario        | Necessario                                                                                           | Necessario                                                                                                                                                                       |
| 8  | Autoclave                                                                                                        | Nel sito                       | Nell'edificio        | Sul piano (4)                                                                                        | In laboratorio = a doppia entrata                                                                                                                                                |
| 9  | Presenza di strutture per il lavaggio e la decontaminazione del personale                                        | Necessari apparati di lavaggio | Necessario           | Necessario                                                                                           | Necessario                                                                                                                                                                       |
| 10 | Deposito sicuro per MOGM, nonché per attrezzature e materiali di laboratorio contaminati                         | Non necessario                 | Se necessario        | Necessario                                                                                           | Necessario                                                                                                                                                                       |

**Modalità di funzionamento**

|    |                                                                                     |                                  |                                  |                                                              |                                                                   |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 11 | Accesso limitato                                                                    | Non necessario                   | Necessario                       | Necessario                                                   | Necessario                                                        |
| 12 | Segnale di pericolo biologico sulla porta                                           | Non necessario                   | Necessario                       | Necessario                                                   | Necessario                                                        |
| 13 | Specifiche formazione del personale addetto                                         | Non necessario                   | Necessario                       | Necessario                                                   | Necessario                                                        |
| 14 | Misure specifiche per controllare la diffusione di aerosol                          | Non necessario                   | Necessario minimizzare           | Necessario prevenire                                         | Necessario prevenire                                              |
| 15 | Il personale deve fare una doccia prima di uscire dalla zona controllata            | Non necessario                   | Non necessario                   | Se necessario                                                | Necessario                                                        |
| 16 | Indumenti protettivi                                                                | Indumenti di protezione adeguati | Indumenti di protezione adeguati | Indumenti di protezione e (se necessario) calzature adeguate | Cambio completo di indumenti e calzature all'entrata e all'uscita |
| 17 | Guanti                                                                              | Non necessario                   | Se necessario                    | Necessario                                                   | Necessario                                                        |
| 18 | Controllo <b>efficace</b> di possibili vettori (ad esempio per roditori ed insetti) | Se necessario                    | Necessario                       | Necessario                                                   | Necessario                                                        |
| 19 | Specifiche procedure di disinfezione                                                | Se necessario                    | Necessario                       | Necessario                                                   | Necessario                                                        |

**Rifiuti**

|    |                                                                                                                            |                |                |               |            |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|---------------|------------|
| 20 | Inattivazione degli MOGM negli effluenti dei lavandini, degli scarichi o delle docce, se presenti, o in effluenti analoghi | Non necessario | Non necessario | Se necessario | Necessario |
| 21 | Inattivazione degli MOGM nei materiali e nei rifiuti contaminati                                                           | Se necessario  | Necessario     | Necessario    | Necessario |

**Altre misure**

|    |                                                                                                                      |                |                |               |            |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|---------------|------------|
| 22 | Il laboratorio deve contenere la propria attrezzatura                                                                | Non necessario | Non necessario | Se necessario | Necessario |
| 23 | Deve essere presente una finestra di osservazione, o una soluzione alternativa, che consenta di vedere gli occupanti | Se necessario  | Se necessario  | Se necessario | Necessario |

- (1) Isolamento = il laboratorio è separato dalle altre zone dello stesso edificio o si trova in un edificio separato  
(2) Zona filtro (air lock) : l'accesso deve avvenire attraverso una zona filtro che è un ambiente separato dal laboratorio. Il lato esente da contaminazione della zona filtro deve essere separato dalla parte ad accesso limitato da uno spogliatoio o da impianti doccia e, preferibilmente, da porte interbloccanti.  
(3) HEPA = High Efficiency Particulate Air  
(4) In base a procedure convalidate che consentano il trasferimento sicuro del materiale in un'autoclave al di fuori del laboratorio e che forniscano un livello di protezione equivalente.



Tabella I b

### Misure di contenimento e altre misure di protezione per serre e camere di crescita

I termini serra e camera di crescita si riferiscono ad una struttura dotata di pareti, tetto e pavimento progettata ed utilizzata principalmente per la coltivazione di piante in un ambiente controllato e protetto.

Si applicano tutte le disposizioni della tabella I a, con le seguenti aggiunte/modifiche:

| Specifiche | Livelli di contenimento |   |   |   |
|------------|-------------------------|---|---|---|
|            | 1                       | 2 | 3 | 4 |

### Edifici

|   |                                 |                |            |            |            |
|---|---------------------------------|----------------|------------|------------|------------|
| 1 | Serra: struttura permanente (1) | Non necessario | Necessario | Necessario | Necessario |
|---|---------------------------------|----------------|------------|------------|------------|

### Attrezzature

|   |                                                                            |                |                              |                       |                       |
|---|----------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| 3 | Accesso mediante compartimento separato dotato di due porte interbloccanti | Non necessario | Se necessario                | Se necessario         | Necessario            |
| 4 | Controllo degli scarichi idrici contaminati                                | Se necessario  | Minimizzare gli scarichi (2) | Impedire gli scarichi | Impedire gli scarichi |

### Modalità di funzionamento

|   |                                                                                                                                                                           |                           |                           |                        |                        |
|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|
| 6 | Misure per il controllo di specie indesiderate quali insetti, roditori, artropodi                                                                                         | Necessario                | Necessario                | Necessario             | Necessario             |
| 7 | Procedure per il trasferimento di materiale biologico tra la struttura protettiva della serra o camera di crescita e il laboratorio che impediscono la diffusione di MOGM | Minimizzare la diffusione | Minimizzare la diffusione | Impedire la diffusione | Impedire la diffusione |

- (1) La serra deve consistere in una struttura permanente dotata di una copertura continua impermeabile, deve essere ubicata in un sito sopraelevato rispetto al terreno in modo da evitare la penetrazione diicoli superficiali e deve essere dotata di porte autochiusanti e munite di serratura.
- (2) Nel caso la trasmissione possa avvenire attraverso il terreno



Tabella I c

### Misure di contenimento e altre misure per le attività degli stabulari

Si applicano tutte le disposizioni della tabella I a con le seguenti aggiunte/modifiche:

| Specifiche | Livelli di contenimento |   |   |   |
|------------|-------------------------|---|---|---|
|            | 1                       | 2 | 3 | 4 |

### Strutture

|   |                                                                                                                                       |                |                        |                                 |                                 |
|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 1 | Isolamento dello stabulario (1)                                                                                                       | Se necessario  | Necessario             | Necessario                      | Necessario                      |
| 2 | Strutture per animali(2) separate da porte munite di serratura                                                                        | Se necessario  | Necessario             | Necessario                      | Necessario                      |
| 3 | Strutture per animali previste in modo da agevolare la decontaminazione [materiale impermeabile e facilmente lavabile (gabbie, ecc.)] | Se necessario  | Se necessario          | Necessario                      | Necessario                      |
| 4 | Pavimento e/o pareti facilmente lavabili                                                                                              | Se necessario  | Necessario (pavimento) | Necessario (pavimento e pareti) | Necessario (pavimento e pareti) |
| 5 | Animali tenuti in installazioni di contenimento adeguate, quali gabbie, recinti o acquari                                             | Se necessario  | Se necessario          | Se necessario                   | Se necessario                   |
| 6 | Filtri per gli isolatori o le camere isolate (3)                                                                                      | Non necessario | Se necessario          | Necessario                      | Necessario                      |

- (1) Stabulario: un edificio o un'area separata all'interno di un edificio che contiene strutture per animali e altre aree come spogliatoi, docce, autoclavi, magazzini per alimenti, ecc.
- (2) Strutture per animali: una struttura impiegata normalmente per ospitare animali da stabulare, da allevare o da esperimento o che viene utilizzata per effettuare piccoli interventi chirurgici.
- (3) Isolatori: contenitori trasparenti nei quali gli animali di piccole dimensioni vengono confinati all'interno o all'esterno di una gabbia; per gli animali di grandi dimensioni possono essere più appropriate camere isolate.

**Tabella II**  
**Misure di contenimento e altre misure di protezione per attività diverse da quelle di laboratorio**

| Specifiche | Livelli di contenimento |   |   |   |
|------------|-------------------------|---|---|---|
|            | 1                       | 2 | 3 | 4 |

#### Aspetti generali

|   |                                                                                                                                                                  |                            |                                    |                                  |                                  |
|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 1 | I microorganismi vivi <b>devono</b> trovarsi in un sistema che separi il processo dall'ambiente (sistema chiuso)                                                 | Se necessario              | Necessario                         | Necessario                       | Necessario                       |
| 2 | Controllo dei gas di scarico dal sistema chiuso                                                                                                                  | Non necessario             | Necessario minimizzare il rilascio | Necessario impedire il rilascio  | Necessario impedire il rilascio  |
| 3 | Controllo degli aerosol durante il prelievo di campioni, l'aggiunta di materiale ad un sistema chiuso o il trasferimento di materiale ad un altro sistema chiuso | Se necessario              | Necessario minimizzare il rilascio | Necessario impedire il rilascio  | Necessario impedire il rilascio  |
| 4 | Inattivazione della massa dei brodi di coltura prima dell'eliminazione dal sistema chiuso                                                                        | Se necessario              | Necessario con mezzi convalidati   | Necessario con mezzi convalidati | Necessario con mezzi convalidati |
| 5 | I sigilli devono essere previsti in modo da ridurre al minimo o evitare il rilascio                                                                              | Nessun requisito specifico | Minimizzare il rilascio            | Impedire il rilascio             | Impedire il rilascio             |
| 6 | La zona controllata deve essere prevista in modo da circoscrivere la fuoriuscita dell'intero contenuto del sistema chiuso                                        | Se necessario              | Se necessario                      | Necessario                       | Necessario                       |
| 7 | La zona controllata deve essere sigillabile in modo da consentire la fumigazione                                                                                 | Non necessario             | Se necessario                      | Se necessario                    | Necessario                       |

#### Attrezzature

|    |                                                                                                                              |                                   |                                   |                                                                |                                                   |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 8  | Entrata attraverso una zona filtro.                                                                                          | Non necessario                    | Non necessario                    | Se necessario                                                  | Necessario                                        |
| 9  | Superfici resistenti ad acqua, acidi, alcali, solventi, disinfettanti, agenti decontaminanti e facili da pulire              | Necessario (bancone, se presente) | Necessario (bancone, se presente) | Necessario (bancone, se presente, pavimento)                   | Necessario (bancone, pavimento, soffitto, pareti) |
| 10 | Misure specifiche per ventilare adeguatamente la zona controllata in modo da ridurre al minimo la contaminazione atmosferica | Se necessario                     | Se necessario                     | Se necessario                                                  | Necessario                                        |
| 11 | La pressione atmosferica nella zona controllata deve essere mantenuta al di sotto di quella delle immediate vicinanze        | Non necessario                    | Non necessario                    | Se necessario                                                  | Necessario                                        |
| 12 | L'aria immessa ed emessa dalla zona controllata deve essere sottoposta ad ultrafiltrazione (HEPA)                            | Non necessario                    | Non necessario                    | Necessario per l'aria emessa, Se necessario per l'aria immessa | Necessario (aria immessa ed emessa)               |
| 13 | Presenza di strutture per il lavaggio e la decontaminazione del personale                                                    | Necessari apparati di lavaggio    | Necessario                        | Necessario                                                     | Necessario                                        |
| 14 | Deposito sicuro per MOGM, nonché per attrezzature e materiali di laboratorio contaminati                                     | Non necessario                    | Necessario                        | Necessario                                                     | Necessario                                        |

| Specifiche | Livelli di contenimento |   |   |   |
|------------|-------------------------|---|---|---|
|            | 1                       | 2 | 3 | 4 |

#### Modalità di funzionamento

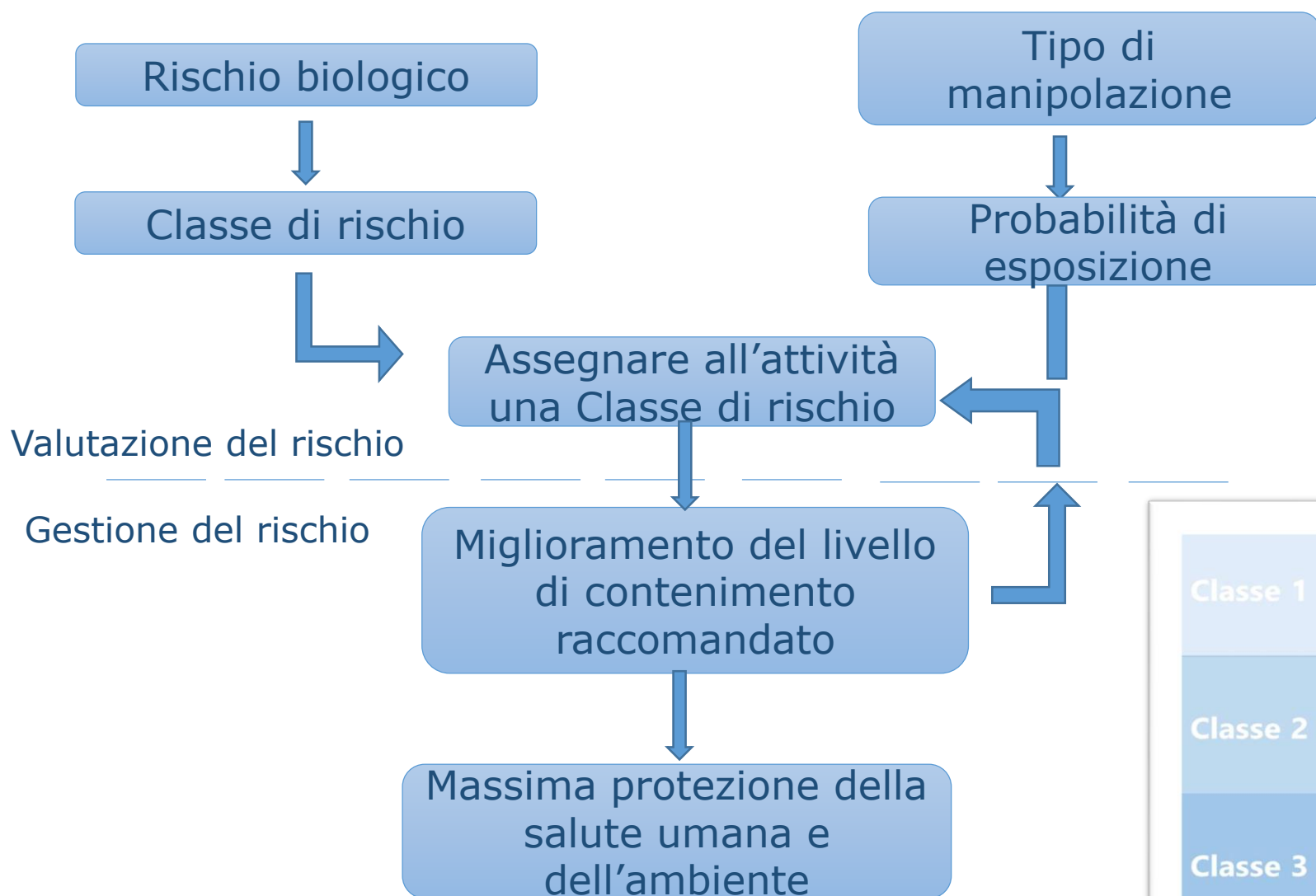
|    |                                                                                                                                         |                                  |                                  |               |                                                  |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------|--------------------------------------------------|
| 15 | I sistemi chiusi devono essere ubicati in una zona controllata                                                                          | Non necessario                   | Se necessario                    | Necessario    | Necessario                                       |
| 16 | L'accesso deve essere limitato al personale addetto                                                                                     | Non necessario                   | Necessario                       | Necessario    | Necessario                                       |
| 17 | Deve essere apposto un segno di pericolo biologico                                                                                      | Non necessario                   | Necessario                       | Necessario    | Necessario                                       |
| 18 | Specifica formazione del personale addetto                                                                                              | Non necessario                   | Necessario                       | Necessario    | Necessario                                       |
| 19 | Il personale deve fare una doccia prima di uscire dalla zona controllata                                                                | Non necessario                   | Non necessario                   | Se necessario | Necessario                                       |
| 20 | Il personale deve indossare indumenti protettivi                                                                                        | Necessario (indumenti di lavoro) | Necessario (indumenti di lavoro) | Necessario    | Cambio completo prima dell'entrata e dell'uscita |
| 21 | Devono essere fornite procedure operative standard scritte volte a garantire la sicurezza, incluse specifiche procedure di disinfezione | Non necessario                   | Se necessario                    | Necessario    | Necessario                                       |

#### Rifiuti

|    |                                                                                                                                |                |                                   |                                   |                                   |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 22 | Inattivazione degli MOGM negli effluenti dei lavandini e delle docce o in effluenti analoghi                                   | Non necessario | Non necessario                    | Se necessario                     | Necessario                        |
| 23 | Inattivazione degli MOGM nel materiale e nei rifiuti contaminati compresi gli effluenti di processo prima dello scarico finale | Se necessario  | Necessario, con mezzi convalidati | Necessario, con mezzi convalidati | Necessario, con mezzi convalidati |

2) In casi particolari, può essere richiesta l'applicazione di opportune combinazioni di specifiche di pari livello, indicate dalla tabella Ia e dalla tabella II.

3) In alcuni casi gli utilizzatori, previo accordo dell'autorità competente, possono non applicare una specifica ad un particolare livello di contenimento o combinare specifiche di due livelli diversi.



I livelli di classificazione, definiti mediante la valutazione del rischio, determinano i **requisiti** relativi al contenimento per le attività connesse ai MOGM, **il datore di lavoro** disporrà le misure di contenimento specifiche per la classe di assegnazione conformemente **all'Allegato IV**

|          |                                                                                                                                                                                         |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Classe 1 | <b>impieghi confinati che presentano rischi nulli o trascurabili</b> , ovvero operazioni per le quali un livello 1 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente |
| Classe 2 | <b>impieghi confinati a basso rischio</b> , ovvero operazioni per le quali un livello 2 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente                            |
| Classe 3 | <b>impieghi confinati che presentano un rischio moderato</b> , ovvero operazioni per le quali un livello 3 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente         |
| Classe 4 | <b>impieghi confinati ad alto rischio</b> , ovvero operazioni per le quali un livello 4 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente                            |

ALLEGATO XLVII

INDICAZIONI SU MISURE E LIVELLI DI CONTENIMENTO

Le misure previste nel presente allegato devono essere applicate secondo la natura delle attività, la valutazione del rischio per i lavoratori e la natura dell'agente biologico in questione. Nella tabella, «raccomandato» significa che le misure dovrebbero essere applicate in linea di principio, a meno che i risultati della valutazione del rischio, non indichino il contrario.

| A. Misure di contenimento                                                                                                                                   | B. Livelli di contenimento  |                                                                              |                                                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                             | 2                           | 3                                                                            | 4                                                                            |
| Luogo di lavoro                                                                                                                                             |                             |                                                                              |                                                                              |
| 1. Il luogo di lavoro deve essere separato da qualsiasi altra attività svolta nello stesso edificio                                                         | No                          | Raccomandato                                                                 | Sì                                                                           |
| 2. Il luogo di lavoro deve essere sigillabile in modo da consentire la fumigazione                                                                          | No                          | Raccomandato                                                                 | Sì                                                                           |
| Impianti                                                                                                                                                    |                             |                                                                              |                                                                              |
| 3. Il materiale infetto, compreso qualsiasi animale, deve essere manipolato in cabine di sicurezza o in condizioni di isolamento o di adeguato contenimento | Se del caso                 | Sì, in caso di infezione trasmessa per via aerea                             | Sì                                                                           |
| Attrezzature                                                                                                                                                |                             |                                                                              |                                                                              |
| 4. L'aria in entrata e in uscita dal luogo di lavoro deve essere filtrata con un sistema di filtrazione HEPA <sup>(1)</sup> o simile                        | No                          | <del>Sì, per l'aria in entrata e in uscita</del><br>Sì, per l'aria in uscita | <del>Sì, per l'aria in uscita</del><br>Sì, per l'aria in entrata e in uscita |
| 5. Superfici impermeabili all'acqua e facili da pulire                                                                                                      | Sì, per bancone e pavimento | Sì, per bancone, pavimento e altre superfici determinate nella               | Sì per bancone, pareti, pavimento e soffitto                                 |

|                                                                                                                    |              |                           |                                                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|---------------------------|---------------------------------------------------------|
| 6. Il luogo di lavoro deve essere mantenuto a una pressione negativa rispetto alla pressione atmosferica           | No           | Raccomandato              | Sì,                                                     |
| 7. Superfici resistenti ad acidi, alcali, solventi e disinfettanti                                                 | Raccomandato | Sì                        | Sì                                                      |
| Sistema di funzionamento                                                                                           |              |                           |                                                         |
| 8. L'accesso deve essere limitato soltanto agli operatori addetti                                                  | Raccomandato | Sì                        | Sì, attraverso una zona filtro (airlock) <sup>(2)</sup> |
| 9. Controllo efficace dei vettori, per esempio roditori e insetti                                                  | Raccomandato | Sì                        | Sì                                                      |
| 10. Procedure specifiche di disinfezione                                                                           | Sì           | Sì                        | Sì                                                      |
| 11. Stoccaggio in condizioni di sicurezza dell'agente biologico                                                    | Sì           | Sì                        | Sì, stoccaggio in condizioni di sicurezza               |
| 12. Il personale deve fare una doccia prima di uscire dall'area di contenimento                                    | No           | Raccomandato              | Raccomandato                                            |
| Rifiuti                                                                                                            |              |                           |                                                         |
| 13. Processo di inattivazione convalidato per lo smaltimento sicuro delle carcasse di animali                      | Raccomandato | Sì, sul sito o fuori sito | Sì, sul sito                                            |
| Altre misure                                                                                                       |              |                           |                                                         |
| 14. Il laboratorio deve contenere la propria attrezzatura                                                          | No           | Raccomandato              | Sì                                                      |
| 15. Presenza di una finestra di osservazione, o di una soluzione alternativa, che consenta di vedere gli occupanti | Raccomandato | Raccomandato              | Sì                                                      |

IN ITALIA  
Decreto Legislativo

9 aprile 2008, n. 81 e successive modifiche ed integrazioni, ed in particolare il Titolo IX (sostanze pericolose), Capo I (protezione da agenti chimici pericolosi) e il Capo II (protezione da agenti cancerogeni e mutageni). Tale D.Lgs. 81/2008 definisce i requisiti minimi per la protezione dei lavoratori contro i rischi per la salute e la sicurezza, derivanti dagli effetti degli agenti chimici presenti sul luogo di lavoro o che siano il risultato di ogni attività lavorativa che comporti la loro presenza.

note:

(1) HEPA: filtro antiparticolato ad alta efficienza.  
(2) Airlock/zona filtro: l'accesso deve avvenire attraverso una zona filtro che è un locale isolato dal laboratorio. La parte esente da contaminazione della zona filtro deve essere separata dalla parte ad accesso limitato tramite uno spogliatoio o docce e preferibilmente da porte interbloccanti

## D.Lg 206/01

### Attrezzature

|    |                                                                                                                  | 1                              | 2                    | 3                                                                                                    | 4                                                                                                                                                                                |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3  | Superfici resistenti ad acqua, acidi, alcali, solventi, disinfettanti, agenti decontaminanti e facili da pulire. | Necessario (bancone)           | Necessario (bancone) | Necessario (bancone, arredo pavimento)                                                               | Necessario (bancone, arredo, pavimento, soffitto, pareti)                                                                                                                        |
| 4  | Accesso al laboratorio attraverso zona filtro (2)                                                                | Non necessario                 | Non necessario       | Se necessario                                                                                        | Necessario                                                                                                                                                                       |
| 5  | Pressione negativa rispetto alla pressione nelle immediate vicinanze                                             | Non necessario                 | Non necessario       | Necessario ad eccezione di attività in cui la trasmissione non avviene per via aerea                 | Necessario                                                                                                                                                                       |
| 6  | L'aria immessa nel ed emessa dal laboratorio deve essere sottoposta ad ultrafiltrazione (HEPA) (3)               | Non necessario                 | Non necessario       | Necessario per aria emessa ad eccezione di attività in cui la trasmissione non avviene per via aerea | Necessario per aria immessa ed emessa.<br><br>Quando si impiegano virus che non sono trattenuti da filtri HEPA si renderanno necessari requisiti supplementari per l'aria emessa |
| 7  | Cappa/box di sicurezza microbiologica                                                                            | Non necessario                 | Se necessario        | Necessario                                                                                           | Necessario                                                                                                                                                                       |
| 8  | Autoclave                                                                                                        | Nel sito                       | Nell'edificio        | Sul piano (4)                                                                                        | In laboratorio = a doppia entrata                                                                                                                                                |
| 9  | Presenza di strutture per il lavaggio e la decontaminazione del personale                                        | Necessari apparati di lavaggio | Necessario           | Necessario                                                                                           | Necessario                                                                                                                                                                       |
| 10 | Deposito sicuro per MOGM, nonché per attrezzature e materiali di laboratorio contaminati                         | Non necessario                 | Se necessario        | Necessario                                                                                           | Necessario                                                                                                                                                                       |

## D.Lg 81/01

| Attrezzature                                                                                                              |                             |                                                                                        |                                               |  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--|
| 4. L'aria in entrata e in uscita dal luogo di lavoro deve essere filtrata con un sistema di filtrazione HEPA (4) o simile | No                          | Sì, per l'aria in entrata e in uscita                                                  | Sì, per l'aria in uscita                      |  |
| 5. Superfici impermeabili all'acqua e facili da pulire                                                                    | Sì, per bancone e pavimento | Sì, per bancone, pavimento e altre superfici determinate nella valutazione del rischio | Sì, per bancone, pareti, pavimento e soffitto |  |
| 6. Il luogo di lavoro deve essere mantenuto a una pressione negativa rispetto alla pressione atmosferica                  | No                          | Raccomandato                                                                           | Sì                                            |  |
| 7. Superfici resistenti ad acidi, alcali, solventi e disinfettanti                                                        | Raccomandato                | Sì                                                                                     | Sì                                            |  |

## D.Lg 206/01

### Modalità di funzionamento

1 2 3 4

|    |                                                                                                                                         |                                  |                                  |               |                                                  |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------|--------------------------------------------------|
| 15 | I sistemi chiusi devono essere ubicati in una zona controllata                                                                          | Non necessario                   | Se necessario                    | Necessario    | Necessario                                       |
| 16 | L'accesso deve essere limitato al personale addetto                                                                                     | Non necessario                   | Necessario                       | Necessario    | Necessario                                       |
| 17 | Deve essere apposto un segno di pericolo biologico                                                                                      | Non necessario                   | Necessario                       | Necessario    | Necessario                                       |
| 18 | Specifica formazione del personale addetto                                                                                              | Non necessario                   | Necessario                       | Necessario    | Necessario                                       |
| 19 | Il personale deve fare una doccia prima di uscire dalla zona controllata                                                                | Non necessario                   | Non necessario                   | Se necessario | Necessario                                       |
| 20 | Il personale deve indossare indumenti protettivi                                                                                        | Necessario (indumenti di lavoro) | Necessario (indumenti di lavoro) | Necessario    | Cambio completo prima dell'entrata e dell'uscita |
| 21 | Devono essere fornite procedure operative standard scritte volte a garantire la sicurezza, incluse specifiche procedure di disinfezione | Non necessario                   | Se necessario                    | Necessario    | Necessario                                       |

## D.Lg 81/01

2 3 4

| Sistema di funzionamento                                                        |              |              |                                                         |
|---------------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------|---------------------------------------------------------|
| 8. L'accesso deve essere limitato soltanto agli operatori addetti               | Raccomandato | Sì           | Sì, attraverso una zona filtro (airlock) <sup>(2)</sup> |
| 9. Controllo efficace dei vettori, per esempio roditori e insetti               | Raccomandato | Sì           | Sì                                                      |
| 10. Procedure specifiche di disinfezione                                        | Sì           | Sì           | Sì                                                      |
| 11. Stoccaggio in condizioni di sicurezza dell'agente biologico                 | Sì           | Sì           | Sì, stoccaggio in condizioni di sicurezza               |
| 12. Il personale deve fare una doccia prima di uscire dall'area di contenimento | No           | Raccomandato | Raccomandato                                            |

Documenti prodotti **dall'Unione Europea e dagli USA inerenti i requisiti minimi di contenimento** per manipolazione di microrganismi e MOGM ai fini della tutela della salute dell'uomo e dell'ambiente.

UNI EN 12128:2000

Biotechnologie - Laboratori di ricerca, sviluppo e analisi -  
Livelli di contenimento di laboratori microbiologici, aree  
di rischio, situazioni e requisiti fisici di sicurezza

UNI EN 12469:2000

Biotechnologie - Criteri di prestazione per le postazioni di  
sicurezza microbiologica

UNI EN 13091:2001

Biotechnologie - Criteri di prestazione per gli elementi  
filtranti e per i filtri.

UNI EN 13312-6:2001

Biotechnologie - Criteri di prestazione per tubazioni e  
strumentazione - Sonde di attrezzatura.

BELGIAN BIOSAFETY SERVER <https://www.biosafety.be/>

<https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311>

NIH GUIDELINES FOR RESEARCH INVOLVING RECOMBINANT OR SYNTHETIC NUCLEIC ACID MOLECULES  
(NIH GUIDELINES)

Nel modulo di **Notifica di Impianto** devono essere indicati:

Il responsabile dell'impianto

La localizzazione del laboratorio e le sue caratteristiche strutturali (classificazione delle aree)

La strumentazione utilizzata

Il volume delle attività che verranno svolte

La gestione dei rifiuti

Nel caso di operazioni con MOGM di classe 1- anche la  
VALUTAZIONE DEL RISCHIO

**Parte riservata al  
Ministero della Sanità:  
Data di ricevimento..... N° della Notifica.....**

**NOTIFICA DI IMPIANTO destinato ad impieghi confinati di microrganismi geneticamente modificati di classe/i..... secondo IL D. L.vo  
12 Aprile 2001 n. 206**

**A) Notificante**

- 1) Nominativo e qualifica del titolare dell'impianto (\*).....  
.....
- 2) Nome dell'Istituzione o della Società.....
- 3) Indirizzo.....
- 4) Persona da contattare.....  
Tel.....E-MAIL                      PEC.....

**B) Struttura del Servizio di prevenzione e protezione (\*\*)**

- 1) Nominativo del responsabile del Servizio di prevenzione e protezione; sua formazione e  
qualifica.....  
.....
- 2) presenza di eventuali comitati per il rischio biologico (allegarne composizione).....  
.....
- 3) eventuale presenza di un responsabile per la sicurezza biologica; sua formazione e  
qualifica.....  
.....

## C) Ubicazione e descrizione generale dell'impianto

1) Indirizzo.....

.....

2) Localizzazione: a) urbana

b) suburbana

c) extraurbana i) agricola ii) industriale

3) Descrizione:

a) Edificio isolato b) Parte di edificio

c) Numero delle sezioni distinte di cui è costituito l'impianto (cfr. parte D):..... ..

(\*) Il titolare dell'impianto è il datore di lavoro così come definito all'art. 2, comma 1, lettera b) del D.lgs. 81/08 e successive modifiche e integrazioni

(\*\*) Il Servizio di prevenzione e protezione è quello descritto al capo II (artt. 8-10) del D. L.vo 19.9.94 n. 626 e successive modifiche e integrazioni

## D) Descrizione di ciascuna sezione dell'impianto

(compilare un foglio per ogni sezione o reparto interessato dalla presente notifica)

1) Denominazione della sezione (o reparto):.....

2) Destinazione della sezione (o reparto)

a) Laboratorio di ricerca

b) Impianto sperimentale o pilota

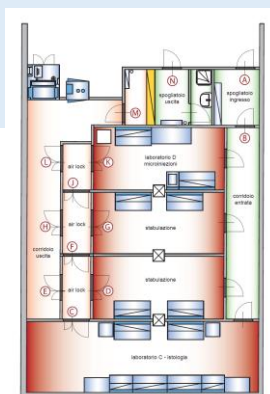
c) Impianto industriale

d) Altro, specificare.....

3) Pianta dettagliata allegata (\*\*\*) (obbligatoria per impianti destinati ad impieghi di classe 2, 3 e 4) **LAY-OUT LEGGIBILE OBBLIGATORIO ANCHE PER IMPIANTI DI CLASSE 1 CON INDICATI I NUMERI IDENTIFICATIVI DELLE STANZE, LEGENDA E COLLOCAZIONE DELLE ATTREZZATURE RILEVANTI (ES: AUTOCLAVE, CAPPRA, GABBIA PER CONTAMINAZIONE ANIMALI ECC.)**

SI

NO



Laboratorio di 3 avanzato



Livello di biosicurezza 2

4) Numero e sigle identificative dei locali costituenti la sezione (inclusi stabulari, serre, camere di crescita):

.....

5) Indicazioni sulla destinazione e sulle caratteristiche di ciascun vano e relativo livello di contenimento attuabile (1-4) soddisfacendo tutti i requisiti specificati nelle tabelle dell'allegato IV del D. L.vo 206/2001).

|    | Destinazione del locale | Livello di contenimento |   |   |   |
|----|-------------------------|-------------------------|---|---|---|
|    |                         | 1                       | 2 | 3 | 4 |
| a) | .....                   |                         |   |   |   |
| b) | .....                   |                         |   |   |   |
| c) | .....                   |                         |   |   |   |
| d) | .....                   |                         |   |   |   |
| e) | .....                   |                         |   |   |   |
| f) | .....                   |                         |   |   |   |

6) **Apparecchiature** (specificare se a contenimento separato):

- a)Cappe biologiche    n°.....                      di classe: I        II        III  
b)Incubatori.....  
c)Fermentatori.....  
d)Centrifughe.....  
e)Altro.....

7) Nome (leggibile), qualifica ed esperienza del responsabile della Sezione (allegare breve curriculum):.....

(\*\*\*) La pianta dovrà evidenziare l'ubicazione dei locali, dell'autoclave, dei servizi igienici e delle docce. Per livelli di **contenimento 3 e 4 dovranno** altresì essere riportati i percorsi in entrata e in uscita per il personale e per i materiali

## **AUTOCLAVE**

### **La sterilizzazione a vapore**

Processo comprovato, rapido ed economico per uccidere microrganismi, mediante l'applicazione di calore umido (vapore saturo) sotto pressione.

Il calore danneggia diverse strutture cellulari compresa la membrana citoplasmatica rendendo le cellule non vitali.



## **L'allegato IV del D.Lgs.206/01 stabilisce che l'autoclave:**

- In laboratorio a livello di contenimento **1 sia presente nel sito;**
- in un livello di contenimento **2 sia presente nell'edificio;**
- in livello di contenimento **3 sia sul piano** in base a procedure convalidate che consentano il trasferimento sicuro del materiale in un'autoclave al di fuori del laboratorio e che forniscano un livello di protezione equivalente;
- in un livello di contenimento **4 sia presente in laboratorio.**

# Laboratori per impiego di MOGM confinati di classe 2

Il lavoro microbiologico deve essere condotto in laboratori appropriati allo scopo e il livello di contenimento di ciascun laboratorio deve essere etichettato mediante affissione sulla porta del segnale di **pericolo biologico**. L'accesso è interdetto al **personale non addetto all'utilizzo dei MOGM**. Il personale addetto deve essere sottoposto ad una **formazione specifica**

|                                                                                                                                | Livello 1            | Livello 2            | Livello 3                               | Livello 4                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Ambiente di lavoro: isolamento                                                                                                 | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| Laboratorio sigillabile per la fumigazione                                                                                     | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| CARATTERISTICHE GENERALI                                                                                                       |                      |                      |                                         |                                                           |
| Superfici resistenti ad acqua, acidi, alcali, solventi, disinfettanti, agenti decontaminanti e facili da pulire e disinfettare | Necessario (bancone) | Necessario (bancone) | Necessario (bancone, arredo, pavimento) | Necessario (bancone, arredo, pavimento, soffitto, pareti) |
| Laboratorio equipaggiato con gruppo elettrogeno                                                                                | Non necessario       | Non necessario       | Preferibile                             | Necessario                                                |
| VENTILAZIONE                                                                                                                   |                      |                      |                                         |                                                           |
| - flusso d'aria verso l'interno                                                                                                | Non necessario       | Preferibile          | Necessario                              | Necessario                                                |
| - legata al sistema di ventilazione dell'edificio                                                                              | Non necessario       | Preferibile          | Se necessario                           | No                                                        |
| - dotata di sistema indipendente                                                                                               | Non necessario       | Preferibile          | Necessario                              | Necessario                                                |
| - Aria emessa dal laboratorio sottoposta ad ultrafiltrazione (HEPA)                                                            | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| Entrata con doppia porta                                                                                                       | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| Pressione negativa rispetto alla pressione nelle immediate vicinanze                                                           | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| La pressione del laboratorio monitorata con un sistema di allarme nel caso di variazioni di pressione non accettabile          | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| Accesso al laboratorio attraverso camera di compensazione                                                                      | Non necessario       | Non necessario       | Se necessario                           | Necessario                                                |
| Inattivazione dei MOGM negli effluenti dei lavandini, degli scarichi o delle docce, se presenti, o in effluenti analoghi       | Non necessario       | Non necessario       | Se necessario                           | Necessario                                                |
| AUTOCLAVE                                                                                                                      |                      |                      |                                         |                                                           |
| Sul piano                                                                                                                      | Necessario           | Necessario           | Necessario                              | Necessario                                                |
| Nel laboratorio                                                                                                                | Non necessario       | Non necessario       | Preferibile                             | Necessario                                                |
| A doppia entrata                                                                                                               | Non necessario       | Non necessario       | Preferibile                             | Necessario                                                |
| CAPPA BIOLOGICA                                                                                                                |                      |                      |                                         |                                                           |
| Classe II                                                                                                                      | Non necessario       | Se necessario        | Necessario                              | Necessario                                                |
| Classe III                                                                                                                     | Non necessario       | Non necessario       | Preferibile                             | Necessario                                                |

Caratteristiche di progettazione degli spazi

Illuminazione adeguata, evitando riflessi e luce troppo forte.

Presenza di lavabi dotati di acqua corrente.

Le porte devono rispondere agli standard antincendio

Disponibilità di un autoclave nel laboratorio o nello stesso edificio.

Un deposito sicuro per i MOGM.

Misure specifiche per controllare la diffusione di aerosol.  
Controllo efficace di possibili vettori (roditori, insetti)

Areazione possibilmente meccanica che assicuri un flusso d'aria entrante senza ricircolo.

Sistemi di sicurezza che comprenderanno: sistema antincendio, impianto elettrico di emergenza, illuminazione di emergenza, docce di emergenza



# PROGETTAZIONE DEGLI IMPIANTI: CARATTERISTICHE GENERALI

Struttura

Impiantistica idraulica

Impiantistica elettrica

Impiantistica gas

Sistema antincendio

Planimetria

Impianto di condizionamento e ventilazione

Filtri



PROCEDURE DI ACCESSO STEP BY STEP

DOWNLOAD

ACCESSO

VESTIZIONE

ACCESSO LABORATORIO  
PREPARAZIONE CAPPE

LAVORO SOTTO CAPPA

INATTIVAZIONE  
RIFIUTI

SVESTIZIONE

PROCEDURA DI ENTRATA

La vestizione avviene prima della riga gialla o eventuale panca.

- Indossare cuffia all'interno della quale inserire i capelli che devono essere legati;
- lavare le mani (è consigliato sapone sterile a base di etanolo o materiale di equivalente efficacia, i tempi e le modalità di applicazione del sapone devono essere quelli riportati dal produttore);
- Indossare il primo paio di guanti e solo successivamente il camice. Come regola generale, il primo paio di guanti deve essere indossato per primo e tolto per ultimo, (usare preferibilmente guanti di vinile a contatto con la pelle);
- indossare il sovra camice in tyvek (azzurro/verde) con polsi elasticizzati;
- proteggere delle membrane mucose mediante l'uso di mascherina e di occhiali di protezione o schermo antischizzi;
- Indossare i sovrascarpe stando seduti sulla panca (passare una gamba alla volta nella zona pulita solo dopo aver messo il corrispondente sovrascarpe, evitando di calpestare la zona sporca;
- superare la linea gialla o la panca;
- accedere alla camera di compensazione.

## MEZZI DI PROTEZIONE AMBIENTALE

### Cappa biologica, Cappa chimica, aree con specifico contenimento (P3-P4)

Sono sistemi **“fisico-strutturali”** che permettono di proteggere ulteriormente i lavoratori e la comunità da un eventuale pericolo di contaminazione

Sono costruiti appositamente e costituiscono una barriera alla diffusione accidentale dei microorganismi

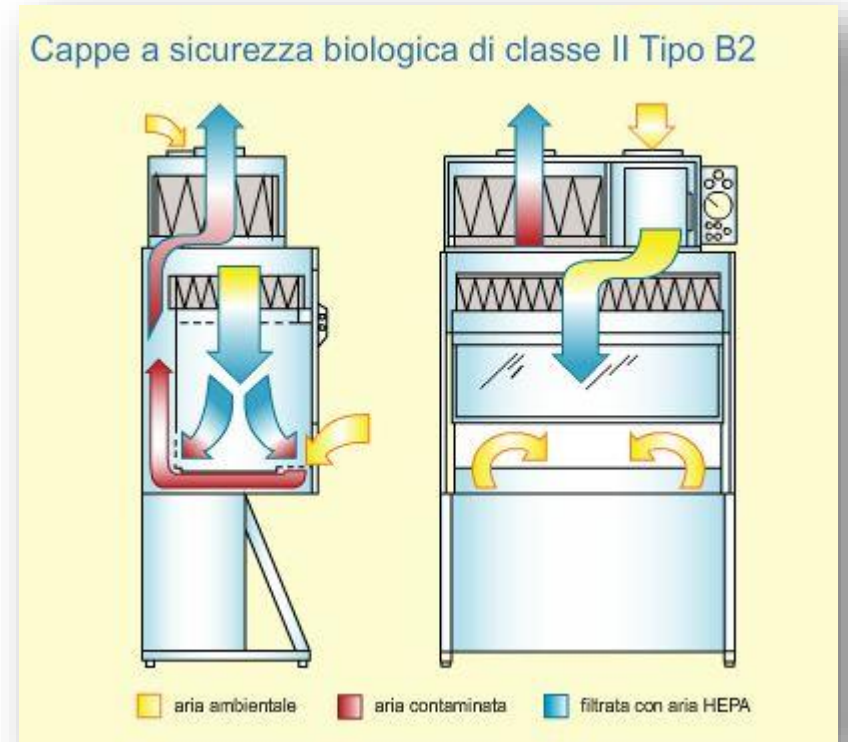


La cappa biohazard è uno degli elementi più importanti di contenimento fisico primario del rischio biologico durante le lavorazioni (manipolazione deliberata o rischio potenziale) per assicurare la protezione dell'operatore e del prodotto e per prevenire la dispersione di aerosol nell'ambiente

**La scelta della cappa di sicurezza biologica è determinata dal rischio associato all'impiego confinato di MOGM**

**L'utilizzo delle cappe di sicurezza biologica si ritiene necessario in quali laboratori** che manipolano MOGM con livello di contenimento 3 e 4.

Per quelli di livello di contenimento 2 il loro utilizzo è limitato alle operazioni per le quali il loro uso si ritiene necessario, mentre in quelli di livello di contenimento 1 il loro utilizzo non si ritiene necessario.



| Classe cabina                                                                                                                             | Protezione                                                    | Utilizzo                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| classe I<br>(0% aria ricircolata<br>100% aria espulsa)                                                                                    | <b>operatore<br/>ambiente<br/>esterno</b>                     | impiegate in tutti i casi in cui non sia indispensabile o prioritario proteggere il prodotto dall'aria presente in laboratorio (es. apertura di campioni biologici da analizzare, come protezione per centrifughe o altri apparati a rischio di aerosol, ecc.). |
| classe II A1 e A2<br>(70% aria ricircolata<br>30% aria espulsa,<br>differiscono per<br>gradiente di pressione e<br>sistema di espulsione) | <b>operatore<br/>ambiente<br/>esterno<br/>prodotto</b>        | indicati per rischi biologici medio-bassi (patogeni dei gruppi I-II) Quantità maggiori di agenti chimici tossici volatili o radioattivi                                                                                                                         |
| classe II B1<br>(30% aria ricircolata<br>70% aria espulsa)                                                                                | <b>operatore<br/>ambiente<br/>esterno<br/>prodotto</b>        | per patogeni del gruppo 2 e 3 e per sostanze marcate con traccianti radioattivi a bassa attività                                                                                                                                                                |
| classe II B2<br>(0% aria ricircolata<br>100% aria espulsa)                                                                                | <b>operatore<br/>ambiente<br/>esterno<br/>prodotto</b>        | per MOGM del gruppo 3 e 4, per colture cellulari trattate con sostanze cancerogene e/o mutagene o marcate con isotopi radioattivi.                                                                                                                              |
| classe III<br>(0% aria ricircolata<br>100% aria espulsa)                                                                                  | <b>Barriera totale<br/>tra operatore e<br/>area di lavoro</b> | indicati per rischi biologici alti (patogeni dei gruppi 4)                                                                                                                                                                                                      |

>  
sostanze  
tossiche  
rispetto  
al tipo A

## Filtri HEPA (High Efficiency Particulate Air)

Le cappe di sicurezza biologiche sono provviste di filtri HEPA che prevengono la contaminazione particellare costituiti da fogli di microfibre di vetro ripiegati più volte. La loro efficienza filtrante è rappresentata dalla capacità di trattenere particelle fino alla dimensione di  $0,3\mu\text{m}$  con un'efficienza minima del 99,95%;

*All HEPA filters must be tested and certified at least annually. Filters that are not designed to be scanned (functional testing to determine leakage) need to be replaced at regular intervals. All decisions on intervals between testing of filters or replacement must be based on risk assessment and must be documented in SOPs. The housing of the HEPA filter should be designed to allow in-situ decontamination, before filter removal. Alternatively, the filter can be removed in a sealed, gas-tight primary container for later decontamination and/or destruction by incineration (WHO).*

## Regole pratiche per l'uso delle cappe biologiche

L'uso delle cappe biologiche di sicurezza deve essere spiegato a tutti gli utilizzatori, con riferimento alla letteratura degli standard nazionali.

Devono essere forniti agli operatori **protocolli scritti o manuali** di sicurezza relativi alle procedure.

Ad ogni uso della cappa è necessario osservare delle corrette prassi operative:



## Decontaminazione delle cappe biologiche

Viene effettuata mediante nebulizzazione con i vapori di formaldeide (60 ml di formalina e 60 ml di acqua per 1 m<sup>3</sup> di cabina) a 21°C e con umidità relativa del 70% (dopo il processo è consigliabile l'inattivazione con ammoniaca).

**L'operatore addetto a tale attività deve indossare i DPI necessari ed esporre segnaletica idonea all'esterno del locale.**

## PROCEDURE DI ACCESSO STEP BY STEP



ACCESSO

VESTIZIONE

ACCESSO LABORATORIO  
PREPARAZIONE CAPPE

LAVORO SOTTO CAPPA

INATTIVAZIONE  
RIFIUTI

SVESTIZIONE

### PROCEDURA DI ENTRATA

La vestizione avviene prima della riga gialla o eventuale panca.

- Indossare cuffia all'interno della quale inserire i capelli che devono essere legati;
- lavare le mani (è consigliato sapone sterile a base di etanolo o materiale di equivalente efficacia, i tempi e le modalità di applicazione del sapone devono essere quelli riportati dal produttore);
- Indossare il primo paio di guanti e solo successivamente il camice. Come regola generale, il primo paio di guanti deve essere indossato per primo e tolto per ultimo, (usare preferibilmente guanti di vinile a contatto con la pelle);
- Indossare il sovra camice in tyvek (azzurro/verde) con polsi elasticizzati;
- proteggere delle membrane mucose mediante l'uso di mascherina e di occhiali di protezione o schermo antischizzi;
- Indossare i sovrascarpe stando seduti sulla panca (passare una gamba alla volta nella zona pulita solo dopo aver messo il corrispondente sovrascarpe, evitando di calpestare la zona sporca);
- superare la linea gialla o la panca;
- accedere alla camera di compensazione.



DOWNLOAD ▼

ACCESSO

VESTIZIONE

ACCESSO LABORATORIO  
PREPARAZIONE CAPPE

LAVORO SOTTO CAPPA

INATTIVAZIONE  
RIFIUTI

SVESTIZIONE

## LAVORO SOTTOCAPPA



Iniziare la manipolazione dei materiali dopo circa 1min dall'immissione delle mani/braccia all'interno della cappa in modo da far stabilizzare il flusso d'aria nella cappa, ed effettuare

l'"air sweep" delle mani e delle braccia per rimuovere i contaminanti microbici presenti sulla loro superficie. Non poggiare le braccia sulla parte anteriore della griglia della cappa, il flusso di aria della stanza potrebbe convergere nell'area di lavoro, invece di essere aspirata attraverso la griglia frontale. Evitare movimenti bruschi degli avambracci all'interno della cappa per non alterare il flusso laminare della cortina d'aria e spostare le braccia lentamente e perpendicolarmente al fronte di apertura della cappa.



Rispettare durante l'attività lavorativa un flusso "da pulito a contaminato", introdurre i materiali nella cappa limitando il

movimento di materiale "sporco" verso aree o oggetti più "puliti".

Stilare, prima di iniziare a lavorare, una lista del materiale da introdurre nella cappa, ridurre al minimo indispensabile il materiale o le attrezzature sul piano di lavoro per non diminuire il flusso di aria ed evitare turbolenze, possibili contaminazioni incrociate, e/o violazioni del grado di contenimento.

## E) Descrizione delle attività

1) Scopo delle attività:

- |                    |                             |
|--------------------|-----------------------------|
| a) insegnamento    | b) ricerca                  |
| c) sviluppo        | d) produzione               |
| e) uso commerciale | f) altro (specificare)..... |

2) Entità delle singole operazioni:

- |                       |                                |                 |                                |
|-----------------------|--------------------------------|-----------------|--------------------------------|
| a) scala sperimentale | Volume massimo di coltura..... | b) scala pilota | Volume massimo di coltura..... |
| c) scala industriale  | Volume massimo di coltura..... |                 |                                |

3) Tipo di processo: a) A ciclo continuo    b) A ciclo discontinuo

4) Classe (o classi) degli impieghi confinati previsti (cfr. art. 5 del D. L.vo 206/2001) CLASSE/I.....

5) Natura delle attività:

- a) produzione di biomassa
- b) produzione di sostanze biologiche
- c) clonaggio di materiale genetico specifico
- d) altro (specificare).....

Si dichiara contestualmente la conformità alla normativa vigente, sia a livello nazionale che regionale, relativa allo smaltimento dei rifiuti.

TIMBRO E FIRMA DEL TITOLARE

.....

**Parti F) e G) da compilarsi solo per impianti destinati a impieghi confinati di classe 1**

**F) Informazioni sulla gestione dei rifiuti a) rifiuti solidi**

- metodo di trattamento:.....

.....

- destinazione finale:                                      ditta autorizzata      altro      (specificare): .....

.....

.....

**b) rifiuti liquidi**

- metodo di trattamento: .....

.....

.....

- destinazione finale:                                      ditta autorizzata      altro      (specificare):.....

.....

.....

**G) Riepilogo della valutazione dei rischi (cfr.art 5 del D. L.vo 206/01)**

.....

**.DETTAGLIARE GLI IMPIEGHI DI CLASSE 1 CHE SI INTENDE EFFETTUARE (MOGM UTILIZZATO E SCOPO DELL'OPERAZIONE) CON RELATIVA VALUTAZIONE DEI RISCHI PER L'UOMO, GLI ANIMALI E L'AMBIENTE**

.....

.....

TIMBRO E FIRMA DEL TITOLARE

.....



## Sicurezza Biologica: norme generali

**Proibito fumare, mangiare, bere e tenere cibo o tabacco** in tutte le zone dove sono tenuti o maneggiati materiali biologici pericolosi.

Ogni volta che si maneggiano sangue, liquidi biologici e qualsiasi altro materiale proveniente dall'uomo o dagli animali **indossare guanti** monouso in lattice o in vinile (questi ultimi da preferire perchè non provocano allergie), **indumenti protettivi** quali camice con maniche lunghe e eventuale sovracamice idrorepellente in TNT (tessuto non tessuto), occhiali e visiera.

Non toccare le maniglie delle porte e altri oggetti del laboratorio con i guanti con cui si è maneggiato materiale potenzialmente infetto.

**Togliersi gli indumenti protettivi e i guanti quando si lascia il laboratorio.**

Rispettare le norme igieniche, **lavarsi le mani frequentemente** e ogni qualvolta ci si contamina o immediatamente dopo aver rimosso i guanti.



## Sicurezza Biologica: norme generali

Non pipettare con la bocca, usare solo pipettatrici meccaniche

Prendere precauzioni per prevenire danni dovuti ad oggetti taglienti

E' vietato reincappucciare gli aghi: è necessario riporli direttamente negli appositi contenitori

Eliminare le punte delle micropipette in contenitori di plastica rigida

Usare cappe adeguate per il livello di contenimento, in relazione al grado di pericolosità dei microrganismi e per tutte quelle procedure che possono provocare aerosol

Decontaminare le superfici di lavoro e gli strumenti ogni giorno o dopo uno spandimento. Si possono utilizzare diluizioni di ipoclorito di sodio (conc.1: 5) (varechina comune) o altri disinfettanti in alternativa

Nel caso si maneggi material di provenienza umana si consiglia la vaccinazione antiepatite B

Nelle aree dove sono utilizzati materiali biologici pericolosi, porre segnali di rischio biologico



<https://www.youtube.com/watch?v=RhlOYhOvCsQ>

[https://www.youtube.com/watch?v=YUeW4Xz\\_7M0](https://www.youtube.com/watch?v=YUeW4Xz_7M0)

## AEROSOL

Si tratta di una miscela bifasica con una fase disperdente aeriforme ed una fase dispersa liquida o solida, avente un certo carattere di stabilità. Distinguiamo due tipi fondamentali di aerosol:

- di dispersione: polveri, spray
- di condensazione: fumi, nebbie

La disseminazione sotto forma di aerosol rappresenta una rilevante fonte di dispersione nell'atmosfera di materiale infetto e costituisce una delle più frequenti modalità di contaminazione ambientale, tanto più pericolosa in quanto non visibile.

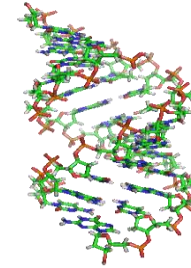
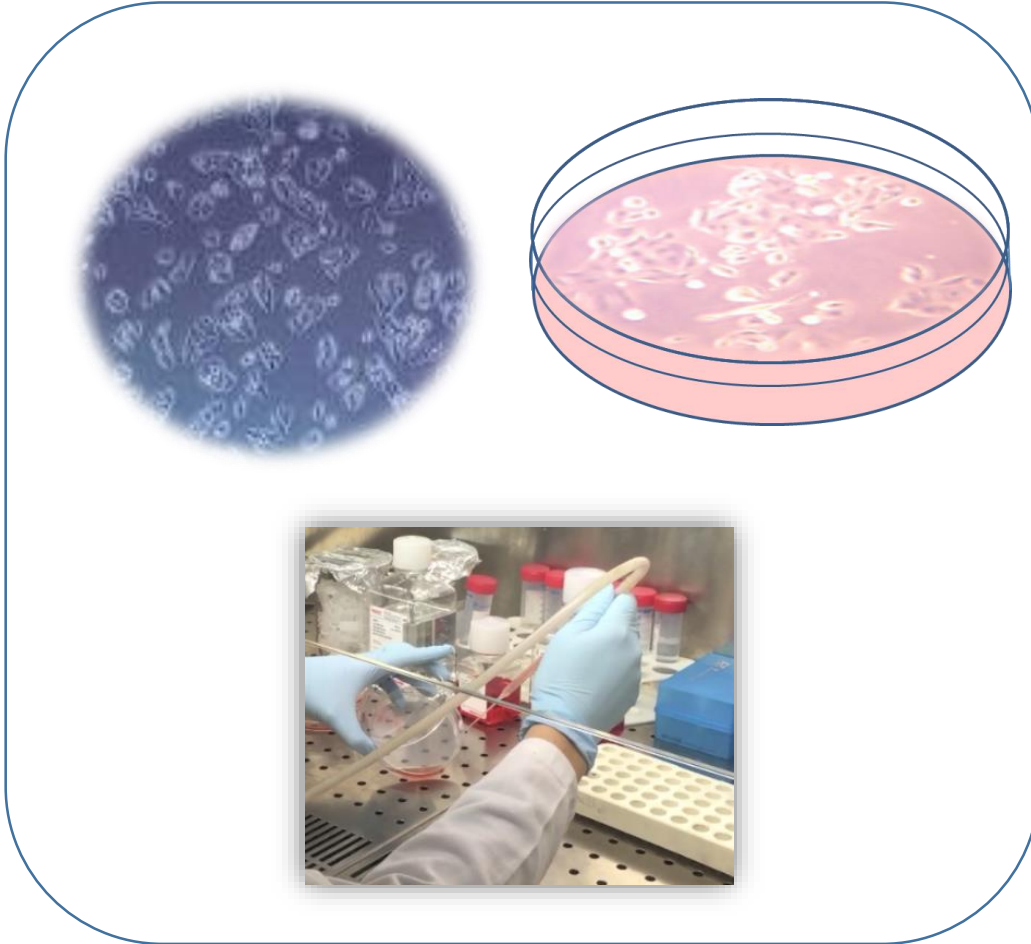
Tutte le tecniche di laboratorio, anche le più comuni, provocano la formazione di aerosol

Una drastica riduzione degli aerosol si ottiene utilizzando apparecchiature moderne e **conformi alle normative vigenti** (centrifughe, cappe biohazard, pipettatori automatici ecc...) progettate in funzione della sicurezza.

## ATTIVITÀ CON ELEVATA FONTE DI RISCHIO

| ATTREZZATURA                          | RISCHI                                                                 |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Aghi ipodermici                       | Inoculazione accidentale Produzione di aerosol Spandimenti             |
| Centrifughe                           | Produzione di aerosol Imbrattamenti Rottura di provette                |
| Ultracentrifughe                      | Produzione di aerosol Imbrattamenti Rottura di provette                |
| Giare per incubazioni anaerobiche     | Esplosione Dispersione di materiale infettivo                          |
| Essiccatori                           | Implosione Dispersione di frammenti di vetro e di materiale infettante |
| Omogenizzatori                        | Produzione di aerosol Percolamenti                                     |
| Trituratori di tessuti                | Rottura di contenitori                                                 |
| Sonicatori<br>Lavaggio a ultrasuoni   | Produzione di aerosol Danni all'udito Dermatiti                        |
| Agitatori di colture<br>Scuotitori    | Produzione di aerosol Spruzzi Spandimenti                              |
| Liofilizzatori (essiccatori a freddo) | Produzione di aerosol Contaminazioni per contatto diretto              |
| Bagnomaria                            | Crescita di microrganismi                                              |

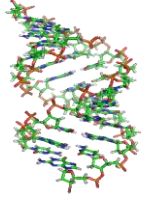
# Utilizzo di colture cellulari



Approfondimenti

Linee guida per la biosicurezza





## ATTIVITÀ

Natura del **DNA**  
(batterico, animale,  
vegetale, plasmidi,  
geni codificanti per  
tossine, sequenze di  
natura sconosciuta,  
DNA da sequenziare)  
e vettori

Natura dell'**RNA**

## RISCHIO

Formazione di aerosol

**Cellule:** possibile  
infezione.

**Animali:** possibili  
infezioni.

**Batteri:** rischio di  
contaminazione.

## PREVENZIONE

Manipolare con guanti  
e maschera sotto  
cappa. Eliminare in  
modo adeguato i  
rifiuti anche per la  
tutela dell'ambiente.  
Evitare il contatto con  
la pelle e  
l'ingestione

Evitare il contatto  
cutaneo (maneggiare  
coi guanti) e  
l'ingestione. Eliminare  
in modo adeguato i  
rifiuti anche a tutela  
dell'ambiente.



### **Centrifuga**

- ☐ Separare le cellule dal liquido
- ☐ 300 g x 5 minuti è l'accelerazione per sedimentare le cellule senza danneggiarle

#### **Raccomandazioni:**

- ☐ Localizzazione
- ☐ Bilanciamento
- ☐ Aerosol
- ☐ Rottura delle provette

### **Incubatore**

- ☐ Mantiene le condizioni ambientali ottimali
- ☐ Temperatura 37°C
- ☐ Umidità (circa 98%)
- ☐ pH 7,4 (CO2 sistema tampone bicarbonato)
- ☐ Pulizia regolare
- ☐ Controllo dei parametri
- ☐ Acqua con disinfettante
- ☐ Solfato di rame
- ☐ Antimicotici

**Regole base: cosa non fare**

Permettere l'accesso contemporaneo di più persone nel laboratorio

Manipolare cellule di dubbia origine nell'area principale di lavoro o contemporaneamente alle altre linee cellulari

Tenere le cellule in coltura per lungo tempo

Tenere le cellule per troppo tempo a confluenza

Usare terreni completi oltre le 6 settimane



Occhiali



Camici usa e getta o lavabili e disinfettabili



Grembiuli sterili durante la chirurgia



Guanti



Sovrascarpe



Cuffie



Maschere per polveri nello stabulario

## DPI

### Salute animali

gli animali non sono geneticamente modificati;  
gli animali inoculati sono mantenuti nel laboratorio stesso, adibito parzialmente a stabulario secondo le leggi vigenti;  
i roditori soppressi sono posti in idonei contenitori e in seguito inceneriti.

INAIL

sperimentazione animale è regolata dal [D.Lgs.vo 26/14](#)  
(attuativo di direttiva CE 63/2010)

**Personale di laboratorio** seguirà procedure precauzionali per evitare eventi dannosi derivanti dal contatto fisico con gli animali o da attività di laboratorio (campionamento di sangue, interventi chirurgici, necropsia o manipolazione di materiale biologico di origine animale)

### Ambiente

tutti i rifiuti, oggetti o strumenti, che vengono in contatto con i vettori virali GM sono inattivati tramite sterilizzazione in autoclave o, se è possibile mediante agenti disinfettanti, prima dell'eventuale incenerimento.

***D.Lgs.vo 152/2006 parte IV***

**LA STERILIZZAZIONE** è il processo chimico o fisico in grado di distruggere tutte le forme di microrganismi viventi (su materiali perfettamente asciutti) che si attua tramite:

**Mezzi fisici:** calore, filtrazione, radiazioni ionizzanti

**Mezzi chimici:** disinfettanti

Completa e radicale denaturazione delle proteine e del DNA o RNA microbico. Interferiscono con i processi vitali dei microrganismi in modo irreversibile e selettivo



## **DISINFEZIONE**

Implica la distruzione del microorganismo, ma non delle sue spore.

I prodotti in elenco sono utilizzabili, ma prevedono precauzioni nella manipolazione e l'utilizzazione di DPI:

**Composti fenolici:** proteggere occhi e pelle Ipoclorito: irritante per occhi, pelle e polmoni

**Aldeidi** (formaldeide-glutaraldeide): irritante per occhi, pelle e polmoni

**Alcool e miscele:** proteggere gli occhi

**Sali di ammonio quaternari:** soluzioni in uso innocue

**Ioduri:** proteggere gli occhi

**Composti del mercurio:** tossici, in genere non più usati in laboratorio

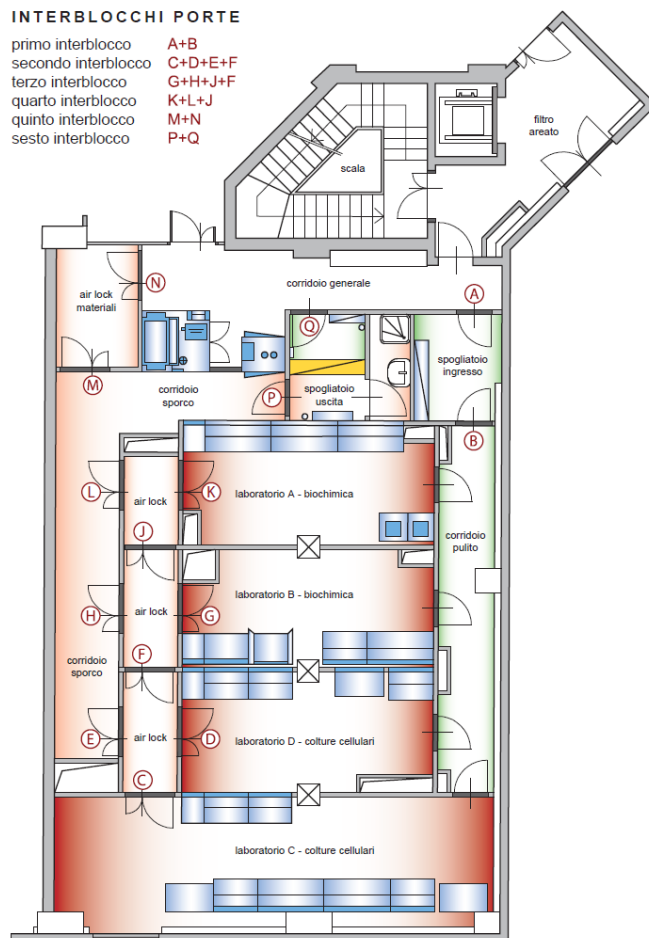


**STERILIZZAZIONE (secondo OMS)**  
**Procedura fisica o chimica che distrugge tutti i microrganismi, incluso un largo numero di spore batteriche altamente resistenti**

| METODI                                                         |               |         |                                     | APPLICAZIONI                                                                         | RACCOMANDAZIONI                                                                                             | SVANTAGGI                                                    |
|----------------------------------------------------------------|---------------|---------|-------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Agenti                                                         | Mezzi         | T°C     | Tempo                               |                                                                                      |                                                                                                             |                                                              |
| Calore a secco<br>Frequenti controlli Non adatto per i tessuti | Stufa a secco | 160-180 | 130-180 min                         | Metallo, vetro, olio, talco                                                          | Frequenti controlli                                                                                         | Non adatto per i tessuti                                     |
| Calore umido                                                   | Autoclave     | 121-134 | 20 min                              | Metallo, vetro, tessuti, gomma che tollerino i 134°C                                 | Creare il vuoto prima della partenza. Completa saturazione e perfetta asciugatura.                          | L'evacuazione dell'aria è difficile se la pompa è inadeguata |
| Ossido di Etilene                                              | Autoclave     | 20-60   | Dipendente dal tipo di attrezzature | Oggetti che non tollerino i 120°C o l'eccessiva umidità<br>Impacchettamenti speciali | Impacchettamenti speciali. Aerazione necessaria per oggetti di materiale assorbente. Controlli sui residui. | Gas tossico ed infiammabile                                  |
| Formalina                                                      | Autoclave     | 60-80   | Dipendente dal tipo di attrezzature | Oggetti che non tollerino i 134°C                                                    | Impacchettamento che permetta la penetrazione di formalina                                                  | Poca capacità penetrante alla umidità relativa: 90%          |

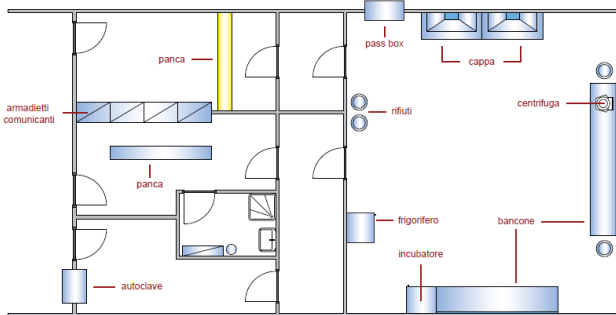
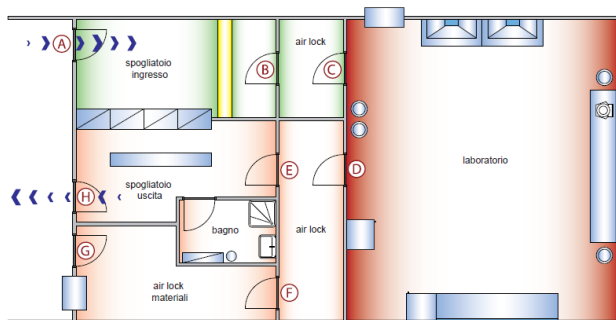
# INTERBLOCCHI PORTE

primo interblocco A+B  
secondo interblocco C+D+E+F  
terzo interblocco G+H+J+K  
quarto interblocco L+M+N  
quinto interblocco O+P+Q  
sesto interblocco R+S

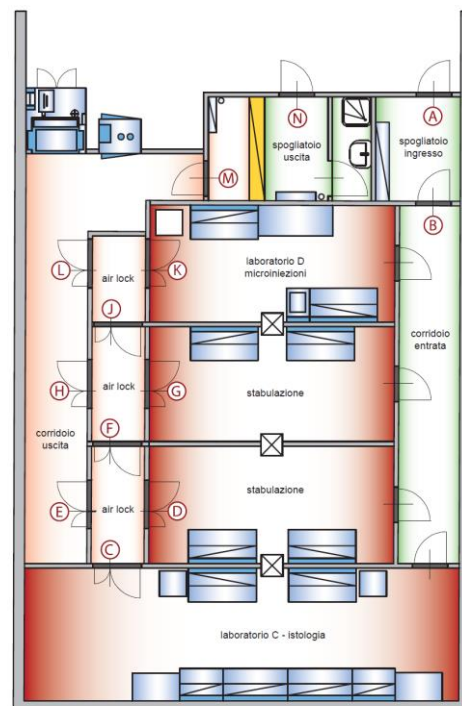


|                                                                                                                                | Livello 1            | Livello 2            | Livello 3                               | Livello 4                                                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| Ambiente di lavoro: isolamento                                                                                                 | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| Laboratorio sigillabile per la fumigazione                                                                                     | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| <b>CARATTERISTICHE GENERALI</b>                                                                                                |                      |                      |                                         |                                                           |
| Superfici resistenti ad acqua, acidi, alcali, solventi, disinfettanti, agenti decontaminanti e facili da pulire e disinfettare | Necessario (bancone) | Necessario (bancone) | Necessario (bancone, arredo, pavimento) | Necessario (bancone, arredo, pavimento, soffitto, pareti) |
| Laboratorio equipaggiato con gruppo elettrogeno                                                                                | Non necessario       | Non necessario       | Preferibile                             | Necessario                                                |
| <b>VENTILAZIONE</b>                                                                                                            |                      |                      |                                         |                                                           |
| - flusso d'aria verso l'interno                                                                                                | Non necessario       | Preferibile          | Necessario                              | Necessario                                                |
| - legata al sistema di ventilazione dell'edificio                                                                              | Non necessario       | Preferibile          | Se necessario                           | No                                                        |
| - dotata di sistema indipendente                                                                                               | Non necessario       | Preferibile          | Necessario                              | Necessario                                                |
| - Aria emessa dal laboratorio sottoposta ad ultrafiltrazione (HEPA)                                                            | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| Entrata con doppia porta                                                                                                       | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| Pressione negativa rispetto alla pressione nelle immediate vicinanze                                                           | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| La pressione del laboratorio monitorata con un sistema di allarme nel caso di variazioni di pressione non accettabile          | Non necessario       | Non necessario       | Necessario                              | Necessario                                                |
| Accesso al laboratorio attraverso camera di compensazione                                                                      | Non necessario       | Non necessario       | Se necessario                           | Necessario                                                |
| Inattivazione dei MOGM negli effluenti dei lavandini, degli scarichi o delle docce, se presenti, o in effluenti analoghi       | Non necessario       | Non necessario       | Se necessario                           | Necessario                                                |
| <b>AUTOCLAVE</b>                                                                                                               |                      |                      |                                         |                                                           |
| Sul piano                                                                                                                      | Necessario           | Necessario           | Necessario                              | Necessario                                                |
| Nel laboratorio                                                                                                                | Non necessario       | Non necessario       | Preferibile                             | Necessario                                                |
| A doppia entrata                                                                                                               | Non necessario       | Non necessario       | Preferibile                             | Necessario                                                |
| <b>CAPPA BIOLOGICA</b>                                                                                                         |                      |                      |                                         |                                                           |
| Classe II                                                                                                                      | Non necessario       | Se necessario        | Necessario                              | Necessario                                                |
| Classe III                                                                                                                     | Non necessario       | Non necessario       | Preferibile                             | Necessario                                                |

## Laboratorio di 3 avanzato



Laboratorio di 3 avanzato



Livello di biosicurezza 3



Livello di biosicurezza 2

# FLUSSO DEL PERSONALE E PROCEDURE OPERATIVE

## Procedura di accesso all'impianto di classe 3

Solo il personale che deve eseguire **operazioni con MOGM di classe 3** relative a programmi di ricerca o diagnostici, ha l'autorizzazione all'**accesso**. Tale personale deve essere istruito sulle procedure operative, in modo da essere in grado di operare correttamente nel laboratorio di livello di contenimento 3.

### Ingresso

Controllare il manometro

Tappeto decontaminante

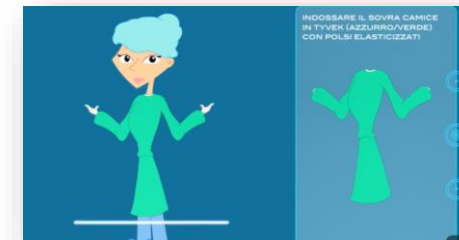
Accesso controllato con badge



## SPOGLIATOIO

La vestizione **avviene prima della riga gialla o eventuale panca.**

- indossare cuffia all'interno della quale inserire i capelli che devono essere legati;
- lavare le mani (è consigliato sapone sterile a base di etanolo o materiale di equivalente efficacia, i tempi e le modalità di applicazione del sapone devono essere quelli riportati dal produttore).
- indossare il primo paio di guanti e solo successivamente il camice. Come regola generale, il primo paio di guanti deve essere indossato per primo e tolto per ultimo, (usare preferibilmente guanti di vinile a contatto con la pelle);
- indossare il sovracamice in tyvek (azzurro/verde) con polsi elasticizzati;
- proteggere delle membrane mucose mediante l'uso di mascherina e di occhiali di protezione o schermo antischizzi.
- indossare i sovrascarpe stando seduti sulla panca (passare una gamba alla volta nella zona pulita solo dopo aver messo il corrispondente sovrascarpe, evitando di calpestare la zona sporca);
- superare la linea gialla o la panca;
- accedere alla camera di compensazione



### **Air-lock** (camera di compensazione):

- accedere alla camera di compensazione dallo spogliatoio;
- attendere che la porta si chiuda per poter accedere al laboratorio (nel caso le due porte siano aperte contemporaneamente suona un allarme ottico-acustico);
- accedere al laboratorio.



## **Laboratorio:**

- Prima di lavorare sotto cappa è necessario indossare il secondo paio di guanti con eventuali coprimaniche, che deve essere sostituito spesso: ogni qualvolta si ritiene possa esserci stata una eventuale contaminazione e quando si sospende la manipolazione del materiale infetto.
- Al termine dell'attività lavorativa e dopo la raccolta del materiale da autoclavare si può procedere a scartare il paio di guanti più esterni ed eventuali coprimaniche.

## **Procedura di uscita**

- uscire dal laboratorio attraverso la camera di compensazione;
- accedere allo spogliatoio;
- togliere sovrascarpe e sovracamice (o tuta), maschera, cuffia, occhiali ed il secondo paio di guanti e gettarli nell'ecobox;
- togliere il camice;
- lavarsi accuratamente le mani;
- uscire attraversando l'accesso controllato.

## Progetto CCM 2009 "Promozione della sicurezza nei laboratori che fanno uso di microrganismi geneticamente modificati (MOGM)"

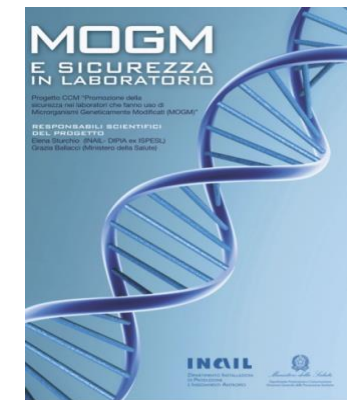
E' stato realizzato, dai ricercatori dell'INAIL ex ISPESL, un Cd-rom multimediale e interattivo corredato da un manuale relativo alla sicurezza nei laboratori che fanno uso di MOGM, il cui intento è quello di offrire agli operatori biotecnologici un valido strumento operativo che riassume in sé la formazione, l'informazione, la divulgazione fin dalle scuole superiori e l'interattività delle principali problematiche attinenti al settore delle biotecnologie. Il Cd-rom evidenzia in maniera chiara ed esaustiva i processi lavorativi e le misure di controllo atte ad evitare o minimizzare il rilascio di MOGM nei luoghi di lavoro e nell'ambiente ed espone dettagliatamente la procedura di valutazione dei rischi correlati con l'impiego confinato di MOGM in conformità alla Direttiva 2009/41/CE.



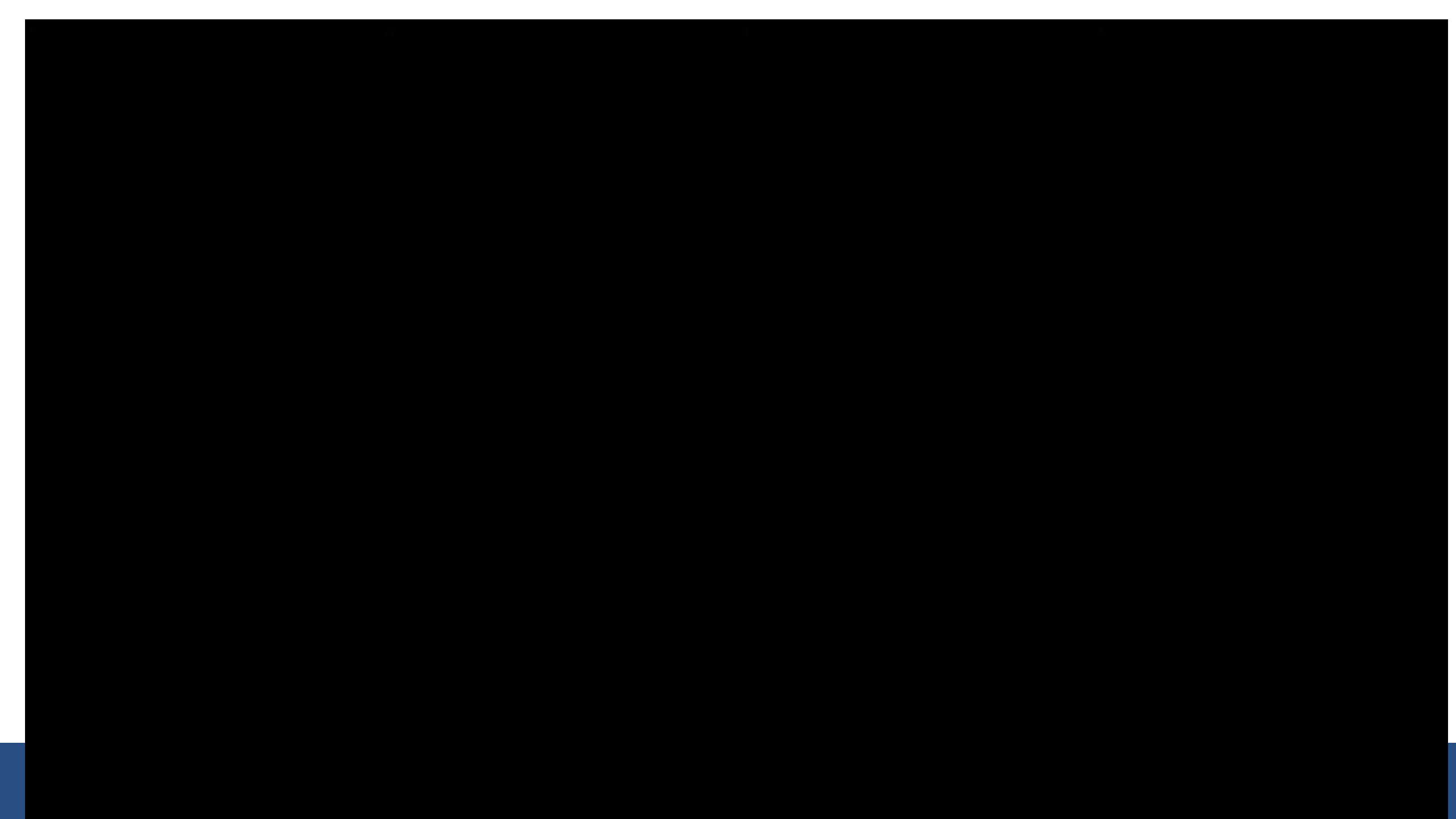
Livello di biosicurezza 2



Livello di biosicurezza 3



<https://www.biotechsafety.org/downloads/linee-guida-biosicurezza/>  
[www.innsite.it](http://www.innsite.it)



**L'ambito di applicazione del Dlgs 206/01 non è stato esteso all'uso confinato di piante e animali geneticamente modificati ma nei suoi Allegati sono previste le misure minime di contenimento da adottare.**

## OGM IMPIEGATI IN AMBIENTE CONFINATO

- ❖ Le misure di confinamento si basano sugli stessi principi di confinamento stabiliti dal decreto legislativo 12 aprile 2001, n.206 "Attuazione della direttiva 98/81/CE che modifica la direttiva 90/219/CE, concernente l'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati (MOGM).
- ❖ Per l'impiego in ambiente confinato di OGM, intesi come organismi pluricellulari è opportuno ricordare che non è prevista e non è necessaria l'autorizzazione. Infatti, il Decreto legislativo 12 aprile 2001, n.206 si applica solamente all'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati, ma se si fa uso di Mogm in animali o in piante sarà necessario notificare lo stabulario o la serra per l'impiego confinato di tali Mogm.



**Solo nel caso in cui è previsto l'impiego confinato di OGM, prodotti presso altre strutture autorizzate, e non manipolati, non è prevista autorizzazione.**

In questo caso, gli utilizzatori di OGM in ambiente confinato, possono su base volontaria rivolgersi all'Autorità competente MASE per chiedere una **verifica dell'idoneità delle misure di confinamento** adottate. In questi casi il MASE, richiede all'utilizzatore di fornire tutte le informazioni utili per tale verifica e successivamente le trasmette all'ISPRA per avere un parere tecnico in merito.

L'Ispra è coinvolta in quanto, il DM n. 58 del 1/3/2018, le ha trasferito le funzioni di supporto al MASE già esercitate dalla Commissione interministeriale di valutazione di cui all'articolo 6 del D.lgs 224/2003.

Sperimentazioni con zanzare (*Anopheles gambiae*) geneticamente modificate



**Tabella I b**

**Contenimento e altre misure di protezione per serre e camere di crescita**

I termini serra e camera di crescita si riferiscono ad una struttura dotata di pareti, tetto e pavimento progettata ed utilizzata principalmente per la coltivazione di piante in un ambiente controllato e protetto.

Si applicano tutte le disposizioni della tabella Ia, con le seguenti aggiunte/modifiche:

| Specifiche | Livelli di contenimento |   |   |   |
|------------|-------------------------|---|---|---|
|            | 1                       | 2 | 3 | 4 |

**Edifici**

|   |                                 |                |            |            |            |
|---|---------------------------------|----------------|------------|------------|------------|
| 1 | Serra: struttura permanente (1) | Non necessario | Necessario | Necessario | Necessario |
|---|---------------------------------|----------------|------------|------------|------------|

**Attrezzature**

|   |                                                                            |                |                              |                       |                       |
|---|----------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| 3 | Accesso mediante compartimento separato dotato di due porte interbloccanti | Non necessario | Se necessario                | Se necessario         | Necessario            |
| 4 | Controllo degli scarichi idrici contaminati                                | Se necessario  | Minimizzare gli scarichi (2) | Impedire gli scarichi | Impedire gli scarichi |

**Modalità di funzionamento**

|   |                                                                                                                                                                           |                           |                           |                        |                        |
|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|
| 6 | Misure per il controllo di specie indesiderate quali insetti, roditori, artropodi                                                                                         | Necessario                | Necessario                | Necessario             | Necessario             |
| 7 | Procedure per il trasferimento di materiale biologico tra la struttura protettiva della serra o camera di crescita e il laboratorio che impediscono la diffusione di MOGM | Minimizzare la diffusione | Minimizzare la diffusione | Impedire la diffusione | Impedire la diffusione |

- (1) La serra deve consistere in una struttura permanente dotata di una copertura continua impermeabile, deve essere ubicata in un sito sopraelevato rispetto al terreno in modo da evitare la penetrazione diicoli superficiali e deve essere dotata di porte autochiusanti e munite di serratura.
- (2) Nel caso la trasmissione possa avvenire attraverso il terreno



**Tabella I c**

**Misure di contenimento e altre misure per le attività degli stabulari**

Si applicano tutte le disposizioni della tabella I a con le seguenti aggiunte/modifiche:

| Specifiche | Livelli di contenimento |   |   |   |
|------------|-------------------------|---|---|---|
|            | 1                       | 2 | 3 | 4 |

**Strutture**

|   |                                                                                                                                      |                |                        |                                 |                                 |
|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 1 | Isolamento dello stabulario (1)                                                                                                      | Se necessario  | Necessario             | Necessario                      | Necessario                      |
| 2 | Strutture per animali(2) separate da porte munite di serratura                                                                       | Se necessario  | Necessario             | Necessario                      | Necessario                      |
| 3 | Strutture per animali previste in modo da agevolare la decontaminazione (materiale impermeabile e facilmente lavabile (gabbie, ecc)) | Se necessario  | Se necessario          | Necessario                      | Necessario                      |
| 4 | Pavimento e/o pareti facilmente lavabili                                                                                             | Se necessario  | Necessario (pavimento) | Necessario (pavimento e pareti) | Necessario (pavimento e pareti) |
| 5 | Animali tenuti in installazioni di contenimento adeguate, quali gabbie, recinti o acquari                                            | Se necessario  | Se necessario          | Se necessario                   | Se necessario                   |
| 6 | Filtri per gli isolatori o le camere isolate (3)                                                                                     | Non necessario | Se necessario          | Necessario                      | Necessario                      |

- (1) Stabulario: un edificio o un'area separata all'interno di un edificio che contiene strutture per animali e altre aree come spogliatoi, docce, autoclavi, magazzini per alimenti, ecc.
- (2) Strutture per animali: una struttura impiegata normalmente per ospitare animali da stabulare, da allevare o da esperimento o che viene utilizzata per effettuare piccoli interventi chirurgici.
- (3) Isolatori: contenitori trasparenti nei quali gli animali di piccole dimensioni vengono confinati all'interno o all'esterno di una gabbia; per gli animali di grandi dimensioni possono essere più appropriate camere isolate.



Il ruolo principale svolto dal laboratorio di ecologia e genetica consiste nell'allevamento di popolazioni di zanzare wild type e GM, quest'ultime provenienti da un laboratorio inglese, al fine di verificare, in un ambiente confinato che riproduce fedelmente le condizioni climatiche delle zone in cui la malaria è endemica, le caratteristiche e la competitività delle linee di zanzare che esprimono gene drive.

## **Polo d'Innovazione di Genomica, di Genetica eBiologia SCaRL Impianto Terni**

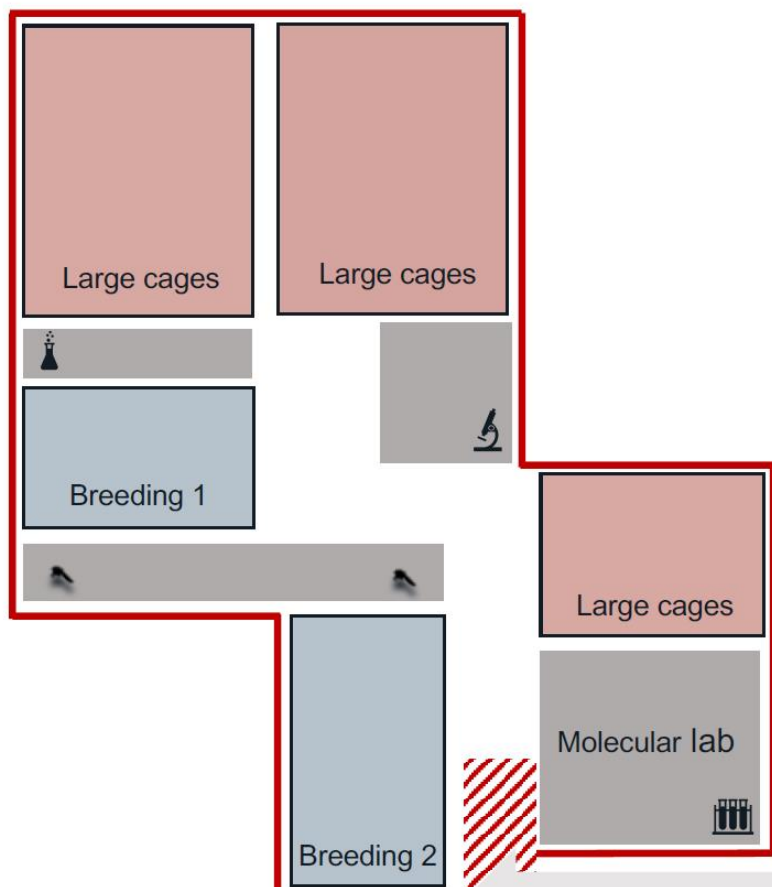
Ridurre la popolazione di zanzare responsabili della malaria attraverso l'uso del gene drive in ambiente controllato

# Sperimentazione con zanzare geneticamente modificate

---



- L'accesso all'area di contenimento BSL2 / ACL2 è consentito attraverso un locale filtro con doppia con funzione di interblocco
- il personale tecnico è obbligato a vestirsi o svestirsi in caso di ingresso o uscita dall'area di confinamento.
- In corrispondenza della porta di accesso al vestibolo è installato un dispositivo di ventilazione con scopo di barriera antizanzare.
- E' inoltre installato uno specchio in corrispondenza della porta di uscita dall'area di contenimento al fine di permettere allo stesso operatore un'ispezione visiva della superficie del vestiario.
- La facility di contenimento non è dotata di finestre, né di scarichi a pavimento.
- Ogni condotta elettrica è sigillata con resine di poliuretano per evitare l'entrata/uscita di artropodi.
- sistema di riscaldamento, ventilazione e raffreddamento "a tutta aria", con ricambio totale (100%) senza ricircolo parziale, mantiene la pressione dell'area confinata minore rispetto alle aree esterne, a evitare la fuoriuscita di insetti adulti attraverso i dotti di circolazione. In aggiunta, filtri HEPA (tipo G4) sono installati a livello di ogni ventola con aria in entrata e in uscita.
- Tuttavia, tali misure di contenimento non
- sono specifiche per gli artropodi GM per cui sono state utilizzate anche tecniche di contenimento specifiche per gli artropodi ACL 2 definite da esperti e istituzioni scientifiche internazionali



## Large cages



## Sperimentazione con zanzare geneticamente modificate

---



Le grandi gabbie climatiche. L'accesso alle gabbie è autorizzato solo per personale esperto e addestrato, per evitare fughe di zanzare è severamente vietato entrare mentre gli esperimenti sono in corso. L'entrata è permessa per l'allestimento, alla fine degli esperimenti per la pulizia e per ragioni straordinarie quali la caduta del contenitore per il pasto di zucchero sul pavimento.

---

# **D.lgs 206/2001, principi generali e appropriate misure di contenimento .**

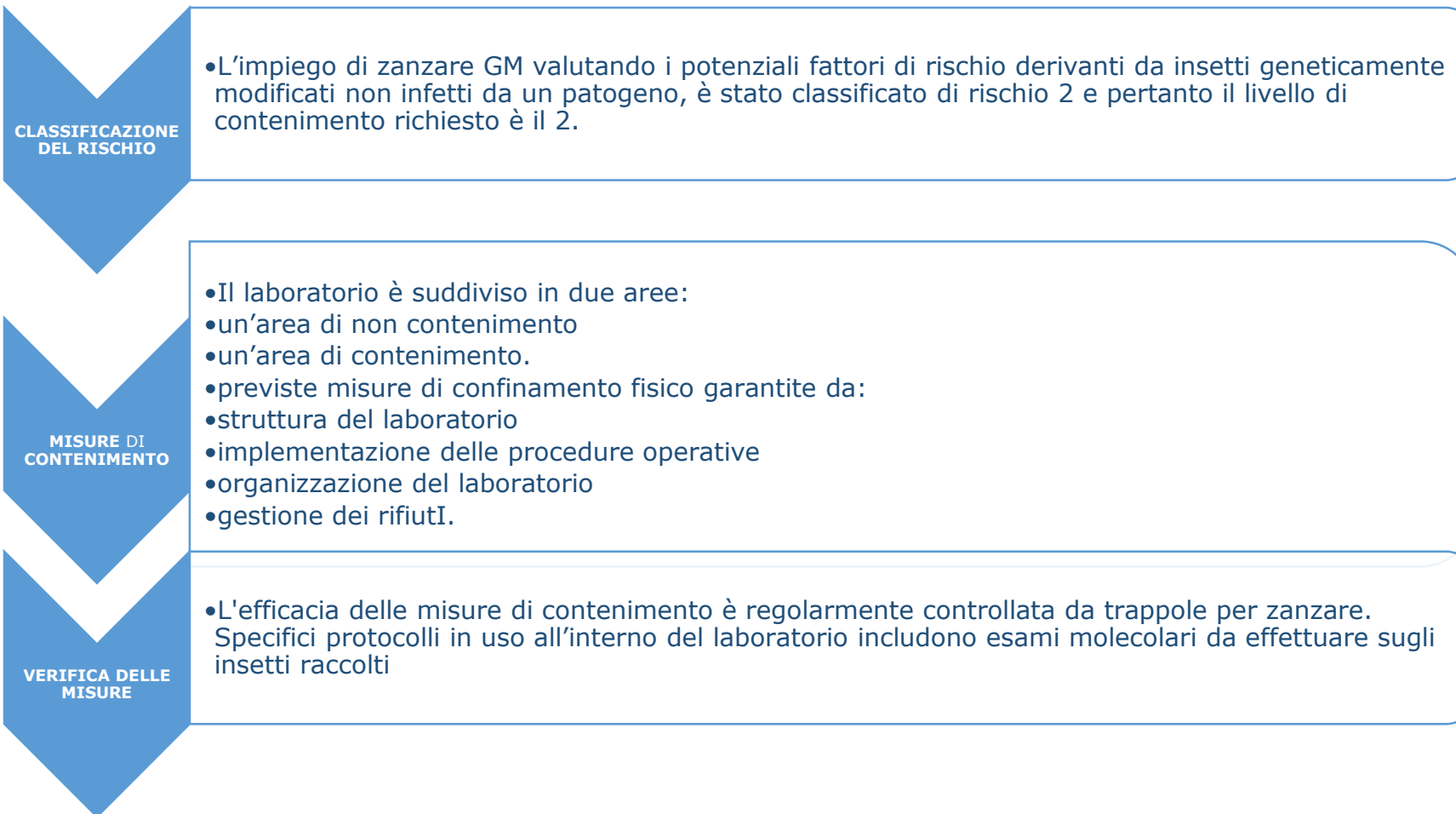
---

**L'allegato IV definisce i principi generali e le appropriate misure di contenimento e le altre misure di protezione corrispondenti alla classe dell'impiego confinato, tali da mantenere l'esposizione del luogo di lavoro e dell'ambiente al più basso livello ragionevolmente realizzabile, e assicurare un alto livello di sicurezza.**

- **Il contenimento si ottiene anche mediante il ricorso a:**
  - **buone pratiche di lavoro**
  - **Formazione**
  - **attrezzature di confinamento**
  - **speciale progettazione degli impianti.**
- **Per tutte le operazioni che prevedono l'impiego di MOGM e OGM si applicano i principi di buona prassi microbiologica, nonché i principi di buona sicurezza e igiene del lavoro.**

# Sperimentazione con zanzare geneticamente modificate

---





**KEEP  
CALM  
AND**

**GRAZIE  
PER L'ATTENZIONE**

# Impiego confinato di OGM

---

D.lgs 224/2003, concernente  
l'emissione deliberata  
nell'ambiente di OGM

D.lgs 206/2001, concernente  
l'impiego confinato di MOGM

**l'impiego confinato di OGM**, qualora siano applicati i principi di confinamento stabiliti dal D.lgs 206/2001, **non costituisce un rilascio deliberato nell'ambiente** Art.3 D.lgs 224/2003

## **Scenario 1.** OGM prodotto presso altre strutture.

- **Autorizzazione Impianto, non necessaria**
- **Autorizzazione Impiego, non necessaria**

## **Scenario 2.** OGM prodotto presso altre strutture, impiego di MOGM di classe 1.

- **Autorizzazione Impianto, necessaria**
- **Autorizzazione Impiego, non necessaria**

## **Scenario 3.** OGM prodotto presso l'impianto.

- **Autorizzazione Impianto, necessaria**
- **Autorizzazione Impiego, necessaria, per lo sviluppo di un OGM sono generalmente utilizzati MOGM di classe 2 (es. linee cellulari).**

## D.lgs 224/2003

- Non è richiesta autorizzazione;
- Necessario applicare misure rigorose e specifiche di confinamento, basate sui principi stabiliti dal D.lgs 206/2001, atte a limitare il contatto con la popolazione e con l'ambiente e a garantire un livello elevato di sicurezza per questi ultimi;

## D.lgs 206/2001, qualora sia previsto l'impiego di MOGM

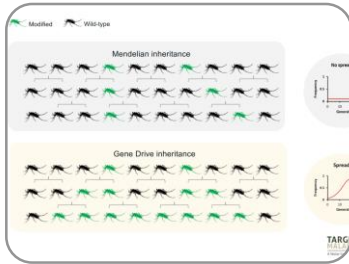
- MOGM classe di rischio 1:
  - Richiesta autorizzazione impianto
- MOGM classe di rischio >1:
  - Richiesta autorizzazione impianto
  - Richiesta autorizzazione impiego.

# Sperimentazione con zanzare geneticamente modificate



## Notificante

- Polo d'Innovazione di Genomica, di Genetica e Biologia SCaRL
- Impianto Terni



## Scopo

- Ridurre la popolazione di zanzare responsabili della malaria attraverso l'uso del gene drive in ambiente controllato



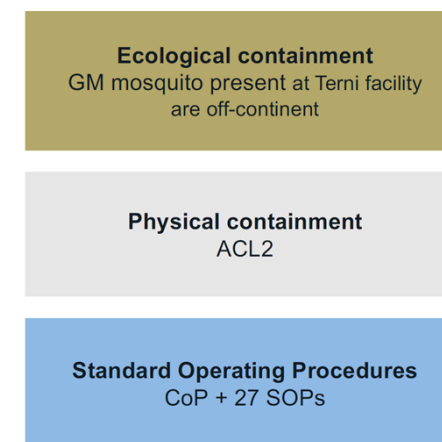
## OGM

- Zanzare della specie *Anopheles gambiae*,
- Plasmidi con CRISPR/Cas anti *Doublesex gene*, espresso nella linea germinale determina gene drive

**Particolare attenzione deve essere prestata durante tutte le fasi del lavoro in insettario al fine di prevenire il rilascio di zanzare dal contenimento primario.**

Sono quindi previste misure di confinamento fisico garantite da: la struttura del laboratorio, l'implementazione delle procedure operative, l'organizzazione del laboratorio e la gestione dei rifiuti funzionali al fine di ridurre al minimo la possibilità che le zanzare geneticamente modificate possano essere rilasciate accidentalmente o deliberatamente nell'ambiente.

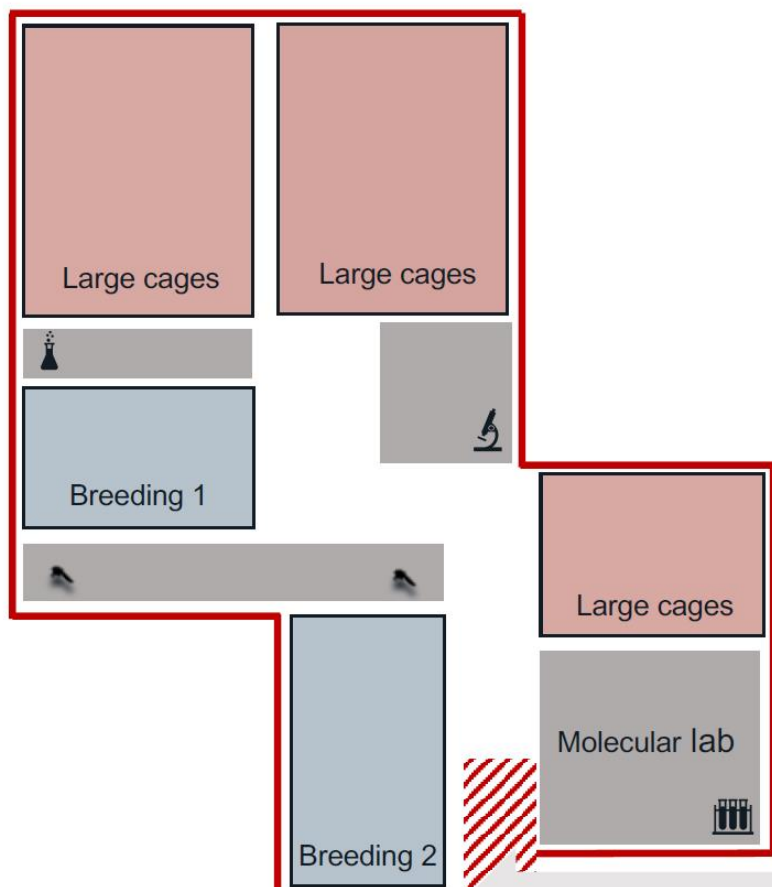
### Containment



- > Location
- > Infrastructure
- > Procedures



Il ruolo principale svolto dal laboratorio di ecologia e genetica consiste nell'allevamento di popolazioni di zanzare wild type e GM, quest'ultime provenienti da un laboratorio inglese, al fine di verificare, in un ambiente confinato che riproduce fedelmente le condizioni climatiche delle zone in cui la malaria è endemica, le caratteristiche e la competitività delle linee di zanzare che esprimono gene drive.



## Large cages



## Large cages



➤ The environment mimics tropical condition

# **D.lgs 206/2001, principi generali e appropriate misure di contenimento .**

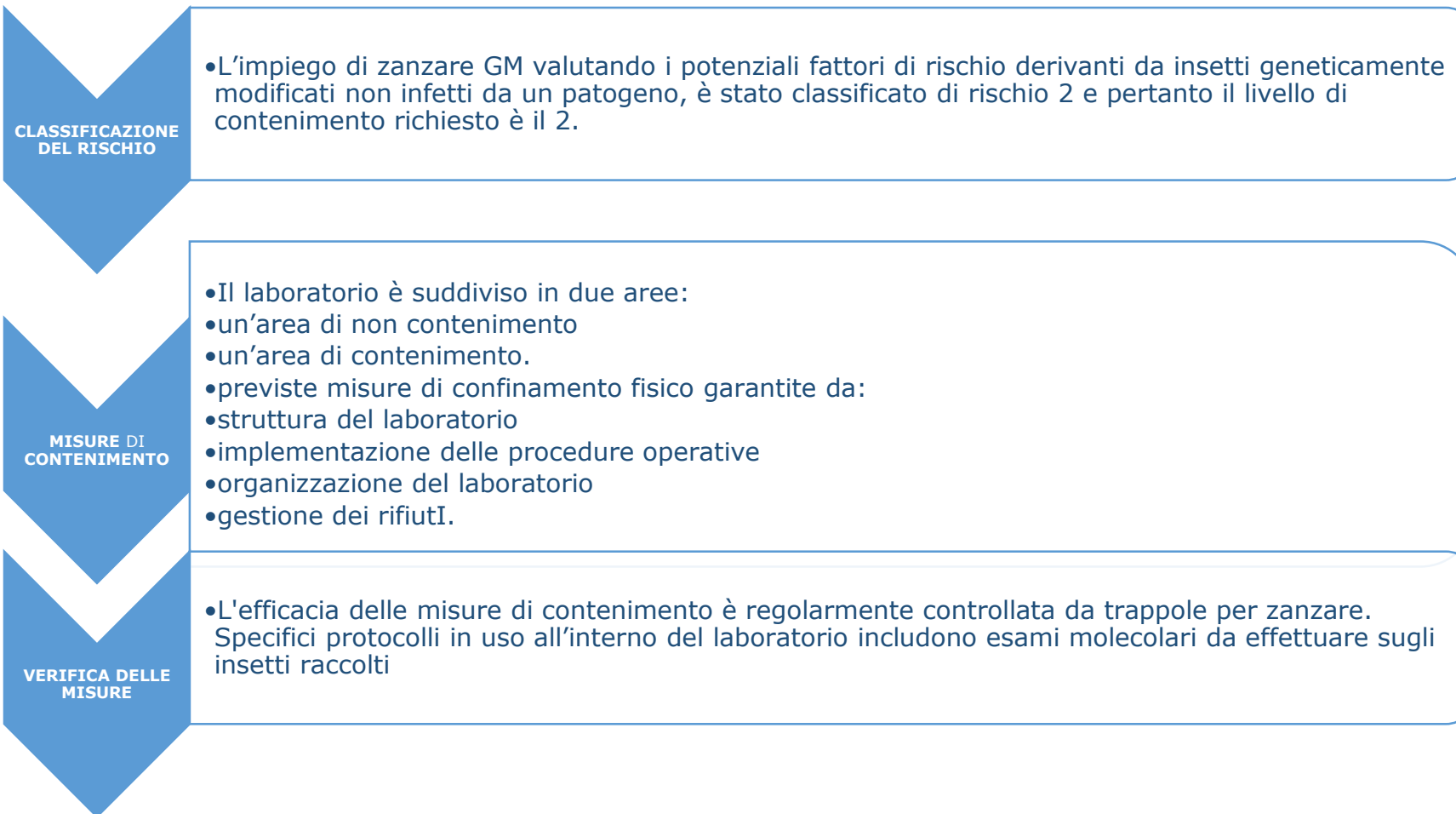
---

**L'allegato IV definisce i principi generali e le appropriate misure di contenimento e le altre misure di protezione corrispondenti alla classe dell'impiego confinato, tali da mantenere l'esposizione del luogo di lavoro e dell'ambiente al più basso livello ragionevolmente realizzabile, e assicurare un alto livello di sicurezza.**

- **Il contenimento si ottiene anche mediante il ricorso a:**
  - **buone pratiche di lavoro**
  - **Formazione**
  - **attrezzature di confinamento**
  - **speciale progettazione degli impianti.**
- **Per tutte le operazioni che prevedono l'impiego di MOGM e OGM si applicano i principi di buona prassi microbiologica, nonché i principi di buona sicurezza e igiene del lavoro.**

# Sperimentazione con zanzare geneticamente modificate

---



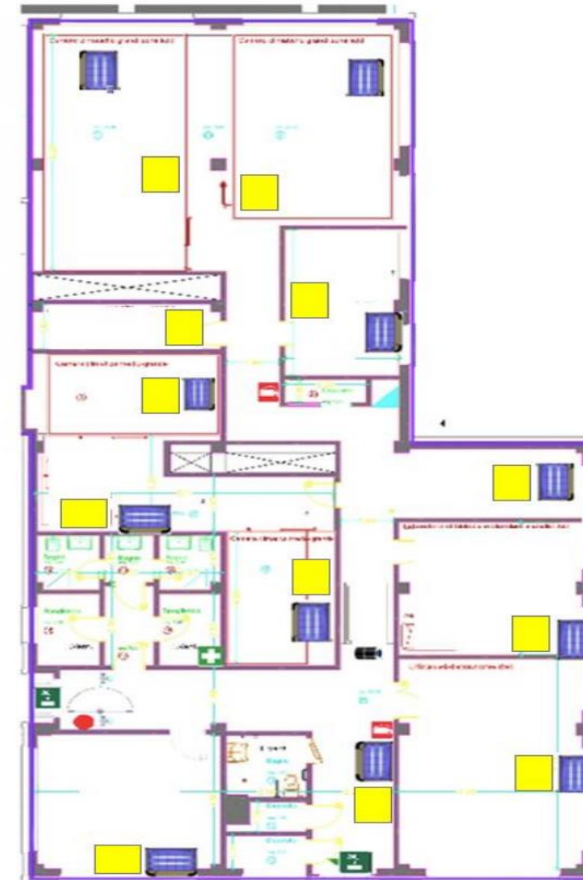
# Sperimentazione con zanzare geneticamente modificate

---



- L'accesso all'area di contenimento BSL2 / ACL2 è consentito attraverso un locale filtro con doppia con funzione di interblocco
- il personale tecnico è obbligato a vestirsi o svestirsi in caso di ingresso o uscita dall'area di confinamento.
- In corrispondenza della porta di accesso al vestibolo è installato un dispositivo di ventilazione con scopo di barriera antizanzare.
- E' inoltre installato uno specchio in corrispondenza della porta di uscita dall'area di contenimento al fine di permettere allo stesso operatore un'ispezione visiva della superficie del vestiario.
- La facility di contenimento non è dotata di finestre, né di scarichi a pavimento.
- Ogni condotta elettrica è sigillata con resine di poliuretano per evitare l'entrata/uscita di artropodi.
- sistema di riscaldamento, ventilazione e raffreddamento "a tutta aria", con ricambio totale (100%) senza ricircolo parziale, mantiene la pressione dell'area confinata minore rispetto alle aree esterne, a evitare la fuoriuscita di insetti adulti attraverso i dotti di circolazione. In aggiunta, filtri HEPA (tipo G4) sono installati a livello di ogni ventola con aria in entrata e in uscita.
- Tuttavia, tali misure di contenimento non
- sono specifiche per gli artropodi GM per cui sono state utilizzate anche tecniche di contenimento specifiche per gli artropodi ACL 2 definite da esperti e istituzioni scientifiche internazionali

## Sperimentazione con zanzare geneticamente modificate



Planimetria dell'impianto e ubicazione delle Light Traps per insetti (quadrati blu) e delle trappole specifiche per moscerini (in giallo)

# Sperimentazione con zanzare geneticamente modificate

---



camera climatica di piccole e medie dimensioni



## Sperimentazione con zanzare geneticamente modificate

---



Le grandi gabbie climatiche. L'accesso alle gabbie è autorizzato solo per personale esperto e addestrato, per evitare fughe di zanzare è severamente vietato entrare mentre gli esperimenti sono in corso. L'entrata è permessa per l'allestimento, alla fine degli esperimenti per la pulizia e per ragioni straordinarie quali la caduta del contenitore per il pasto di zucchero sul pavimento.

---