

## PROCEDURE DI SICUREZZA DA ADOTTARE NEL LABORATORIO CHIMICO-BIOLOGICO

### Regolamentazione degli accessi e delle presenze in laboratorio:

- ➔ solo il personale autorizzato può avere accesso al laboratorio;
- ➔ è consentita la manipolazione di sostanze chimiche e/o altre operazioni di laboratorio solo al personale autorizzato, nonché appositamente formato, previa lettura e sottoscrizione per presa visione delle procedure sotto riportate;
- ➔ è fatto obbligo che la presenza dei laureandi sia condizionata alla presenza di almeno un rappresentante del personale strutturato;
- ➔ è fatto obbligo che ciascun laureando (ma anche assegnista, contrattista, dottorando, ecc.) al suo primo ingresso in laboratorio sia adeguatamente istruito dal Responsabile per l'Attività di Ricerca in laboratorio (R.A.R.), o da altra persona dallo stesso delegata, sulle norme di comportamento, sull'ubicazione degli apparati di emergenza (estintori, lavaocchi, coperta antifiama, cassetta di pronto soccorso, ecc.) e sulle figure referenti alle quali rivolgersi tempestivamente per le segnalazioni di eventuali situazioni di emergenza;
- ➔ deve essere comunicato tempestivamente al proprio Responsabile l'eventuale stato di gravidanza, affinché siano approntate tutte le misure e le procedure per la tutela delle lavoratrici madri in relazione alla valutazione dei rischi, inclusa l'astensione obbligatoria dall'attività lavorativa che esponga a rischi per la gravidanza e l'allattamento;
- ➔ deve essere evitato il più possibile l'affollamento nel laboratorio.

### Regole generali di comportamento sicuro:

- indossare i D.P.I. idonei a proteggere dal rischio connesso con l'operazione in corso o con la sostanza manipolata;
- utilizzare camici possibilmente di puro cotone o comunque di materiali con caratteristiche a bassa reazione al fuoco;
- indossare indumenti e/o accessori adatti (scarpe chiuse, scarpe con tacchi bassi, evitare gioielli, particolarmente con ciondoli, tenere i capelli lunghi raccolti, evitare l'uso di lenti a contatto soprattutto se non si fa uso di occhiali di sicurezza, ecc.);
- non tenere in laboratorio quanto non sia strettamente necessario per lo svolgimento delle esperienze;
- non abbandonare materiale non identificabile nelle aree di lavoro;
- non bloccare le uscite di emergenza, i pannelli elettrici, le attrezzature di soccorso ed i presidi di protezione incendio, né nascondere la relativa segnaletica;
- etichettare correttamente tutti i contenitori al fine di individuarne facilmente il contenuto, nonché il rischio ad esso correlato, apponendo un'etichetta riportante almeno il nome chimico della sostanza, della frase di rischio e del simbolo del pericolo, in modo che l'etichetta rimanga leggibile anche a distanza di tempo;

- i contenitori contenenti preparati, ottenuti a seguito di reazioni, devono recare idonea indicazione del nome del prodotto e della frase di rischio, se conosciuti, altrimenti comunque deve essere segnalato il pericolo anche generico (per esempio mediante apposizione sul recipiente di bollino rosso);
- prima di manipolare qualsiasi sostanza chimica, leggere attentamente la relativa scheda di sicurezza e predisporre le misure per la corretta manipolazione, lo stoccaggio e lo smaltimento, nonché per limitare i danni in caso di incidente (per esempio predisporre il materiale per l'assorbimento e/o la neutralizzazione del prodotto in caso di sversamento accidentale, ecc.);
- intermedi e prodotti finali che si ottengono dalle singole reazioni, a meno che non si sia certi delle loro caratteristiche di innocuità, devono essere trattati come agenti potenzialmente pericolosi e quindi maneggiati con le dovute cautele;
- non lavorare da soli, specialmente fuori orario, in caso di operazioni complesse e/o pericolose;
- conservare con cura i D.P.I., preservandoli dalla polvere, da eventuali contaminanti e da tutti quegli agenti che ne possano compromettere le caratteristiche di efficienza, nonché la corretta igiene nell'uso;
- non mangiare, non bere e non fumare in laboratorio e non detenere sostanze alimentari;
- mantenere pulito ed ordinato il laboratorio (l'ordine e la pulizia è una prima e importante misura di sicurezza);
- non toccare con i guanti, con cui si sono maneggiate sostanze pericolose, superfici con le quali tutti vengono normalmente in contatto senza indossare dispositivi di protezione (maniglie delle porte, oggetti e apparecchiature varie di laboratorio non interessati dall'esperimento in corso, ecc.);
- per una corretta igiene, lavarsi le mani spesso e non portare oggetti alla bocca (p.es. è vietato l'uso di pipette a bocca);
- non utilizzare i frigoriferi da laboratorio per riporre prodotti alimentari;
- non tenere nelle tasche qualsiasi materiale che possa causare eventuali tagli o danni alla persona (materiale in vetro, forbici, materiale di acciaio appuntito, ecc.);
- utilizzare sempre le cappe chimiche per la manipolazione delle sostanze chimiche pericolose o potenzialmente pericolose, nonché per le reazioni giudicate a rischio e per il travaso di solventi;
- evitare il travaso di prodotti pericolosi in contenitori non idonei, privi di indicazioni sul contenuto;
- osservare le indicazioni riportate sulle etichette e sulle schede di sicurezza delle sostanze utilizzate;
- l'eventuale utilizzo di sostanze cancerogene e/o mutagene deve avvenire con la più assoluta sicurezza di non contaminazione delle superfici dei banchi di lavoro (uso di vassoi antisversamento, carta stagnola, carta assorbente con fondo impermeabile, ecc.);
- le sostanze cancerogene, classificate come R45-R49, devono essere conservate nell'armadio di deposito reagenti e potranno essere prelevate solo nella quantità necessaria e con le modalità di prelievo indicate dal Responsabile dell'attività di Ricerca o Didattica;
- nel laboratorio le sostanze tossiche e/o cancerogene non devono essere accumulate in quantità superiore alle necessità dell'esperimento;
- prima di utilizzare qualsiasi apparecchio leggere il manuale delle istruzioni; non utilizzare apparecchiature elettriche non a norma e tenerle il più lontano possibile da fonti di umidità e/o vapori di solventi infiammabili;

- accertarsi che tutti i tubi di gomma utilizzati per la circolazione di acqua o di gas vari, siano idonei al fluido circolante nonché siano integri e opportunamente bloccati con fascette metalliche;
- qualora si intenda intraprendere un esperimento pericoloso è opportuno comunicarlo ai colleghi, nonché ai colleghi dei locali adiacenti ed infine preavvisare la squadra antincendio;
- non abbandonare mai il laboratorio durante un esperimento in corso o con apparecchi in funzione e, nel caso, munirli di opportuni dispositivi di sicurezza;
- segnalare tempestivamente al proprio Responsabile eventuali anomalie o situazioni che possano fare presagire possibili incidenti o situazioni di emergenza;
- nel lavaggio della vetreria, privilegiare il lavaggio con acqua senza uso di solventi infiammabili o tossici. L'uso di solventi per il lavaggio deve essere autorizzato dal Responsabile dell'attività di Ricerca o Didattica che fornirà modalità e strumenti;
- raccogliere, separare ed eliminare in modo corretto i rifiuti chimici, biologici e radioattivi, solidi e liquidi, prodotti nei laboratori; è vietato scaricarli in fogna e nei cassonetti;
- terminato l'esperimento ripristinare le condizioni precedenti (ricollocare al proprio posto le apparecchiature e le attrezzature utilizzate);
- trasportare sostanze chimiche e materiali pericolosi in maniera adeguata. Il trasporto di sostanze chimiche e/o pericolose in soluzione, specie se contenute in recipienti di vetro, deve essere eseguito con precauzione;
- tenere separati i prodotti incompatibili;
- mantenere pulito ed in ordine il laboratorio e non introdurre sostanze ed oggetti estranei alle attività di lavoro;
- prima di lasciare il laboratorio è necessario accertarsi che il proprio posto di lavoro sia pulito ed ordinato e che tutti gli apparecchi, eccetto quelli necessari che comunque devono essere segnalati, siano spenti, che i rubinetti di erogazione dei vari gas siano chiusi.

## **Come utilizzare cappe chimiche:**

- Prima di iniziare la lavorazione accertarsi che la cappa sia in funzione, per esempio con un fazzoletto od un foglio di carta (il semplice rumore del motore non significa che la cappa sta aspirando correttamente).
- Evitare di creare delle correnti d'aria in prossimità di una cappa in funzione (apertura di porte o finestre, transito frequente di persone).
- Le fonti di emissione dovrebbero essere tenute almeno 15-20 cm all'interno della cappa.
- Non introdurre la testa all'interno della cappa.
- Durante la sperimentazione mantenere il frontale abbassato il più possibile. Più il frontale è abbassato meno il funzionamento della cappa risente delle correnti nella stanza.
- Mantenere pulito ed ordinato il piano di lavoro dopo ogni operazione.
- Tenere sotto cappa solo il materiale strettamente necessario all'esperimento. Non ostruire il passaggio dell'aria lungo il piano della cappa e qualora sia necessario utilizzare attrezzature che ingombrano il piano sollevarle almeno di 5 cm rispetto al piano stesso e tenerle distanziate anche dalle pareti. Non vanno in ogni caso ostruite le feritoie di aspirazione della cappa.
- Non utilizzare la cappa come deposito.

- Non utilizzare la cappa come mezzo per lo smaltimento dei reagenti mediante evaporazione forzata.
- Qualora si utilizzino nella cappa apparecchiature elettriche (che devono essere adatte ad atmosfera con pericolo d'incendio) ogni connessione deve essere esterna alla cappa.
- E' opportuno che ogni operatore alla fine di ogni utilizzo della cappa la pulisca usando prodotti specifici a seconda delle sostanze adoperate in modo da evitare rischi impropri per chi userà la cappa in tempi successivi.
- Quando la cappa non è in uso spegnere l'aspirazione e chiudere il frontale.

### **Regole per la manipolazione di campioni e materiali infetti:**

- ➔ Trattare tutti i campioni biologici come potenzialmente pericolosi ed applicare le adeguate precauzioni.
  - ➔ Utilizzare sempre la cappa a flusso laminare per la manipolazione di qualsiasi materiale biologico, indipendentemente da ciò che si cerca.
  - ➔ Nel laboratorio è vietato fumare, conservare ed assumere cibi e bevande, applicarsi cosmetici e lenti a contatto.
  - ➔ Esporre il segnale di rischio biologico sulle porte dei laboratori dove si utilizzano agenti biologici di gruppo 2, 3 e 4. Segnalare anche contenitori per rifiuti, termostati, frigoriferi, apparecchi ecc., utilizzati per materiale biologico infetto o potenzialmente infetto.
  - ➔ Indossare sempre i camici, guanti e, ove previsto, i dispositivi di protezione individuali (DPI): guanti, occhiali, maschere, ecc per rischio biologico.
  - ➔ Non utilizzare le pipette a bocca, utilizzare sempre sistemi di tipo meccanico.
  - ➔ Rispettare le elementari norme igieniche come lavarsi le mani dopo ogni procedura, sempre alla fine del lavoro e prima di lasciare il laboratorio.
  - ➔ Ridurre l'uso di oggetti taglienti ed aghi. Dopo l'uso non rimettere i cappucci agli aghi ma smaltirli in appositi contenitori resistenti alle punte od al taglio.
  - ➔ La manipolazione dei materiali potenzialmente infetti deve essere fatta in modo da minimizzare la formazione di aerosol. Aprire con cautela le fiale di materiale liofilizzato o congelato.
  - ➔ Conservare i campioni biologici in contenitori a tenuta stagna. Dopo la chiusura ermetica non devono rimanere tracce di contenuto all'esterno.
  - ➔ Tenere aperti i recipienti contenenti gli agenti biologici solo per il tempo strettamente necessario;
  - ➔ Evitare il travaso di prodotti pericolosi in contenitori non idonei, privi di indicazioni sul contenuto;
  - ➔ Osservare le indicazioni riportate sulle etichette e sulle schede di sicurezza delle sostanze utilizzate;
- 
- ➔ Aprire con cautela le fiale del materiale pericoloso, sia esso anche liofilizzato o congelato;
  - ➔ Porre una vaschetta o un foglio di carta assorbente sopra il piano di lavoro;
  - ➔ Accertarsi, prima di centrifugare, che le provette non siano lesionate e che l'interno delle coppe porta - provette non presenti pareti ruvide;
  - ➔ Evitare di riempire le provette fino all'orlo;
  - ➔ Usare un tampone di ovatta inumidito con opportuno disinfettante attorno al tappo e all'ago quando si prelevano sostanze infette da un recipiente chiuso con tappo di gomma;

- ➔ Ripulire periodicamente i contenitori riposti nel congelatore o nel ghiaccio secco, dove sono state conservate le colture, per rimuovere fiale o tubi rotti, indossando DPI per le mani e l'apparato respiratorio;
- ➔ Evitare la diffusione di microrganismi sul banco di lavoro adottando anse monouso sterili in plastica
- ➔ In caso di sversamento di materiale biologico contaminato usare un panno o carta imbevuta di disinfettante da applicare sulla superficie interessata. Informare sempre il responsabile di laboratorio dell'incidente.
- ➔ Sanizzare, disinfettare o sterilizzare usando:
  - Alcool etilico (antisepsi della cute);
  - Etanolo al 70% (antisepsi);
  - Cloroderivati (antisepsi ed ustioni);
  - Clorexidina al 4% (antisepsi, ustioni, antisettico mani);
  - Iodio e Idrofori a basse concentrazioni (disinfezioni piccole ferite);
  - Gluteraldeide 2% attivata (disinfettante per apparecchi e superfici inerti);
  - Derivati fenolici (pavimento, superfici, oggetti, arredi);
  - Coramina T (disinfettante di 1° scelta per oggetti).
- ➔ Disinfettare gli apparecchi di laboratorio prima di qualsiasi intervento di manutenzione o riparazione.
- ➔ Separare sempre i contenitori dei campioni dalla documentazione di accompagnamento.
- ➔ Raccogliere, separare, disinfettare ed eliminare in modo corretto i rifiuti infetti, solidi e liquidi, prodotti nei laboratori; è vietato scaricarli in fogna e nei cassonetti.
- ➔ Prima di lasciare il laboratorio, decontaminare i piani di lavoro con un disinfettante chimico di riconosciuta efficacia (vedi tabella); è consigliabile effettuare la rotazione periodica dei disinfettanti.

Tabella dei disinfettanti chimici necessari per la decontaminazione dei piani di lavoro, delle attrezzature e da utilizzare in caso di emergenza:

COMPOSTO	IMPIEGO ED AVVERTENZE	ATTIVITA'
Alcool etilico, etanolo 70%	Antisepsi della cute integra; mantenere sulle mani lavate per almeno 2 minuti, non usare sulle ferite. L'uso frequente causa secchezza ed irritazione della cute. Associato ad altri principi attivi (clorexidina, iodio e derivati, sali di ammonio quaternario) aumenta l'efficacia. Composto volatile ed infiammabile.	Batteri Gram+ (+++) Batteri Gram-(+++) Mycobatteri(+++) Spore(+++)
Amuchina 5%	Ampio spettro d'azione, antisepsi e di ferite superficiali, ustioni. Inattivato dalla presenza sostanze organiche. Soluzioni concentrate possono essere irritanti e tossiche.	Ampio spettro
Clorexidina al 4%	Può essere associata ad alcool etilico al 70% e cetrimide. Antisepsi di ferite, ustioni, lavaggio antisettico delle mani. Evitare il contatto con gli occhi e le orecchie. Alle concentrazioni normalmente impiegate non presenta effetti indesiderati.	Ampio spettro
Iodio e iodofori (paniodine, betadine)	Le soluzioni a base di iodio e gli iodofori sono potenzialmente irritanti per la cute. A basse concentrazioni in soluzione acquosa sono indicati per le piccole ferite, in base detergente per il lavaggio antisettico delle mani	Miceti(+++) Batteri Gram+ (+++) Batteri Gram- (+++) Mycobatteri (++) Spore (+)
Glutaraldeide 2% attivata	Presenta attività disinfettante di alto livello. E' impiegata come agente chimico sterilizzante a freddo. Attiva in presenza di sostanze organiche, non corrode i metalli. Indicata per la plastica, gomma, materiale da laboratorio, lenti e fibre ottiche. Non usare su superfici e piani di lavoro. Prodotto tossico, evitare l'esposizione della cute e delle mucose a vapori e soluzioni. Indossare guanti ed occhiali protettivi.	Miceti(+++) Batteri Gram+ (+++) Batteri Gram- (+++) Mycobatteri (++) Spore (+++, sopra i 20°C)
Derivati fenolici (es. ortofenilfenolo)	Disinfezione di pavimenti, superfici, arredi, oggetti. Stabile in presenza di materiale organico. Sono assorbiti da plastica, gomma, silicone da cui si rimuove con difficoltà. Irritanti della cute e delle mucose, usare guanti ed occhiali protettivi.	Miceti(+++) Batteri Gram+ (+++) Batteri Gram- (+++) Mycobatteri (++)
Cloramina T, ipoclorito di sodio (candeggina)	Disinfettanti di 1° scelta per oggetti, superfici contaminate, sporche di sangue o materiale organico, in questi casi, sono consigliate concentrazioni di 5000-10000 ppm. Danneggiano i metalli. Non usare in presenza di acidi. Prodotti tossici, usare guanti ed occhiali protettivi.	Miceti(+) Batteri Gram+ (+++) Batteri Gram- (+++) Mycobatteri (++)

## Come utilizzare le cappe biologiche:

- Prima di iniziare la lavorazione accertarsi che la cappa sia in funzione, per esempio con un fazzoletto od un foglio di carta (il semplice rumore del motore non significa che la cappa sta aspirando correttamente).

- accendere il flusso laminare e lasciarlo in funzione almeno 15 minuti prima di iniziare a lavorare;
- Lavorare tenendosi quanto più possibile al centro o verso il fondo del piano di lavoro;
- Effettuare tutte le operazioni sotto cappa, dolcemente e paralleli al piano di lavoro;
- Non introdurre la testa all'interno della cappa.
- Al termine di ciascuna operazione, rimuovere le sostanze e/o il materiale utilizzato dalla cappa e pulire bene il piano di lavoro e le pareti laterali interne usando prodotti specifici a seconda delle sostanze adoperate in modo da evitare rischi impropri per chi userà la cappa in tempi successivi.
- Ultimata l'operazione di pulizia interna della cappa, liberato il piano di lavoro, comportarsi come segue:
  - se la cappa è provvista di lampada UV, spegnere la cappa e dopo aver chiuso il frontale e lasciare accesa la lampada UV per qualche ora;
  - se la cappa non è provvista di lampada UV, lasciare accesa la cappa per ulteriori 30 minuti.
- Non utilizzare la cappa come deposito.
- Tutto il materiale potenzialmente infetto o contaminato deve essere estratto dalla cappa, messo in contenitori chiusi a tenuta e puliti all'esterno;
- Non utilizzare la cappa come mezzo per lo smaltimento dei reagenti mediante evaporazione forzata.

### **Norme di comportamento in caso di emergenza (sversamento di sostanze pericolose).**

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

## **Norme di comportamento per procedere alla decontaminazione del locale da attuare in caso di emergenza.**

- indossare due paia di guanti e tutti gli indumenti protettivi;
- coprire con un pezzo di stoffa o di carta assorbente imbevuto di disinfettante la sostanza sversata e lasciare agire per almeno 30 minuti;
- prelevare la stoffa o la carta e il materiale danneggiato con una paletta ed eliminare in appositi contenitori per rifiuti biologici;
- maneggiare i frammenti di vetro con pinze e disporli negli appositi contenitori;
- pulire e disinfettare la superficie contaminata;
- trattare come rifiuti biologici tutti i materiali contaminati, incluso i DPI utilizzati;
- copiare le informazioni su un altro foglio e gettare l'originale nel contenitore per rifiuti biologici, se si verifica contaminazione di documenti;
- autoclavare o immergere per 24 ore nel disinfettante tutto il materiale utilizzato;
- autoclavare o immergere per 24 ore nel disinfettante tutti i contenitori da smaltire.

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

- togliersi i guanti e gli indumenti protettivi;
- sciacquarsi le mani e la parte colpita abbondantemente;
- applicare un disinfettante adatto per la pelle;
- recarsi al pronto soccorso e informare il medico di turno sulla causa della ferita e, se è possibile, fornire informazioni riguardo all'agente biologico coinvolto.

## **Norme di comportamento in caso di ingestione accidentale di materiale potenzialmente pericoloso :**

- togliere gli indumenti protettivi e recarsi al pronto soccorso;
- informare il medico circa il materiale ingerito.

## **Norme di comportamento in caso di emergenza (principio d'incendio).**

- in caso di incendio avvisare immediatamente l'addetto antincendio di turno (tramite il centralino) ed il Responsabile, poi prepararsi ad evacuare l'ambiente ordinatamente, spegnendo le fiamme libere e le apparecchiature alimentate elettricamente;
- in caso di evacuazione avvertire sempre il Responsabile del Laboratorio e, prima di abbandonare il locale, assicurarsi che tutte le attività di sperimentazione e di analisi in corso, che potrebbero determinare un pericolo maggiore (scoppio, esplosione, incendio generalizzato, ecc.) se abbandonate a sé stesse e/o lasciate in maniera non controllate, siano interrotte;
- in caso di incendio provare a spegnere l'incendio **se e solo se** addestrati all'uso degli estintori;

- in caso di persona infortunata, chiamare immediatamente l'addetto al pronto soccorso (tramite il centralino) e, in caso di contatto con sostanze pericolose, mettere a disposizione dell'addetto o del medico la scheda di sicurezza della\e sostanza\e coinvolte nell'incidente;
- in caso di rottura di vetreria, porre i cocci in apposite scatole distinguendo se si tratta di vetro "contaminato" o "non contaminato".

**Il Responsabile per l'Attività di Ricerca/Didattica**  
**Prof. ....**

\_\_\_\_\_

**Il Direttore di Dipartimento**  
**Prof. ....**

\_\_\_\_\_