



LAVORARE IN SICUREZZA NEI LABORATORI DEL DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Quando si comincia a lavorare in un laboratorio di ricerca è necessario innanzitutto:

- individuare le vie di esodo e i punti di raccolta;
- individuare dove sono collocati nel laboratorio, o nelle immediate vicinanze, cassette di pronto soccorso, lavaggi oculari, docce d'emergenza, telefono con elenco dei numeri utili;
- essere informati sulle unità di personale addette al primo soccorso medico;
- essere informati sulle unità del personale addestrate all'uso del defibrillatore (l'apparecchio in dotazione al Dipartimento è custodito accanto al box del personale addetto alla vigilanza al livello -1);
- essere informati sui DPC, i DPI e del loro corretto uso;
- essere informati e formati sul corretto metodo di raccolta e smaltimento dei rifiuti speciali prodotti in laboratorio.

NORME GENERALI

- In laboratorio è necessario indossare il camice prima di ogni attività lavorativa e non va indossato in aree diverse da quella del laboratorio;
- è buona norma non indossare scarpe aperte o forate;
- i capelli lunghi devono essere raccolti dietro la nuca;
- cibi e bevande non possono essere consumati all'interno dei laboratori né possono essere conservati in camera fredda o in frigoriferi adibiti alla conservazione di prodotti chimici;
- il **RADRL** (responsabile dell'attività didattica o di ricerca in laboratorio) di ciascun laboratorio è direttamente responsabile del corretto smaltimento dei prodotti chimici, solventi, colture etc. secondo le norme indicate nel manuale predisposto dal Dipartimento;
- qualora in un laboratorio abbiano luogo lavorazioni pericolose, occorre segnalare con apposito avviso la natura del pericolo;
- non utilizzare mai un contenitore etichettato per conservare prodotti diversi da quello indicato;
- mantenere sempre perfettamente chiusi tutti i contenitori con prodotti chimici;
- identificare sempre il contenuto di provette, bottiglie beute etc. soprattutto se riposti in camera fredda, camera termostata o in qualsiasi laboratorio comune; evidenziare inoltre il nome dell'operatore e la data;
- non utilizzare prodotti chimici prelevati da contenitori privi di etichetta;
- mai pipettare con la bocca;
- non usare mai vetreria incrinata o sbeccata;
- tutti gli incidenti devono essere immediatamente riferiti al responsabile del laboratorio (RADRL);
- per la manipolazione di ghiaccio secco o azoto liquido usare schermi e guanti adatti;
- ricorrere all'uso dei DPC tutte le volte che le operazioni effettuate lo richiedono; tenere presente che l'uso dei DPC è prioritario rispetto a quello dei DPI;
- il banco di laboratorio è dotato oltre che di prese per la fornitura di elettricità, di rubinetti per l'erogazione di acqua e gas. Al fine di consentire un rapido riconoscimento, i vari rubinetti hanno un colore diverso: verde per l'acqua, giallo per il gas combustibile, grigio per la linea da vuoto e



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II
Scuola Politecnica e delle Scienze di Base
Dipartimento di Biologia



blu per l'aria compressa. Accertarsi che tutti i tubi di gomma utilizzati per la circolazione di acqua o di gas vari, siano a norma, di diametro adeguato e fissati saldamente con fascette metalliche, controllate e rinnovate periodicamente;

- si ricorda che i tubi utilizzati per alimentare con gas metano il becco bunsen, hanno una data di scadenza oltre la quale non possono essere utilizzati seppur apparentemente integri;
- mai lavorare da soli in laboratorio;
- è fatto divieto assoluto di lavorare in laboratorio a tirocinanti, volontari etc. se sprovvisti di copertura assicurativa;
- ciascun utilizzatore di un laboratorio è responsabile del mantenimento dei banchi di lavoro e delle proprie attrezzature in condizioni di ordine e pulizia;
- ogni laboratorio comune ha un responsabile a cui vanno segnalati eventuali incidenti, anomalie o uso improprio del locale;
- ogni apparecchio ad uso comune va utilizzato solo dopo un opportuno training;
- qualora fosse necessario trasportare beute, bottiglie e/o altro contenenti reagenti, tamponi, brodi di coltura etc. dal proprio laboratorio in qualunque altro luogo del Dipartimento è necessario usare il carrello o comunque una vaschetta.
- non sversare nel lavandino liquidi a meno che non si tratti di soluzioni acquose diluite di sostanze comunque non pericolose;
- adottare il criterio, dove possibile, di sostituire l'uso di sostanze pericolose con altre innocue o comunque meno pericolose (D. Lgs 81/08 art. 15 comma 1 lettera f);
- chi indossa lenti a contatto deve essere informato dei particolari rischi che comportano (es. assorbimento di agenti chimici dall'aria, soprattutto se la lente è del tipo gas permeabile);
- nelle aree di lavoro del laboratorio devono essere ammesse soltanto persone alle quali sia stata assicurata l'informazione/formazione specifica riguardo ai potenziali rischi connessi con l'attività lavorativa. È necessario un aggiornamento periodico di tutti gli operatori del laboratorio (D. Lgs 81/08 art. 15 comma 1 lettera n);
- la lavoratrice non appena accertato lo stato di gravidanza deve darne comunicazione al Direttore del Dipartimento con un certificato medico che attesti tale stato;
- non ostruire con apparecchi o arredi le vie di fuga;
- non depositare sui davanzali oggetti che impediscono l'apertura delle finestre;
- non ostruire l'accesso alle attrezzature antincendio e cassette di pronto soccorso;
- lasciare libero lo spazio antistante le docce di emergenza;
- non appoggiare mai oggetti sul bordo dei tavoli o in equilibrio instabile;
- le ultime persone a lasciare il laboratorio al termine delle attività lavorative, sono responsabili del controllo finale del laboratorio;
- riporre il camice su appendiabiti dedicati.



REAGENTI PERICOLOSI

- Prima dell'utilizzo di qualsiasi prodotto chimico leggere attentamente l'etichetta: pittogrammi di pericolo, indicazioni di pericolo (frasi H) e consigli di prudenza (P), e leggere attentamente la scheda di sicurezza (SDS);
- usare sempre guanti di protezione adatti quando si manipolano sostanze pericolose evitando di toccare porte, maniglie, telefono, computer e quant'altro indossando i guanti con cui sono state maneggiate tali sostanze;
- in caso di rischio di schizzi di sostanze pericolose indossare gli occhiali protettivi;
- non trasferire acidi, basi o comunque sostanze pericolose tenendo i contenitori all'altezza degli occhi;
- ridurre al minimo la durata e l'intensità dell'esposizione a sostanze pericolose;
- non maneggiare mai solventi infiammabili in prossimità di una fiamma;
- i quantitativi di solventi in giacenza in laboratorio devono essere ridotti al minimo e comunque al termine della giornata riposti negli appositi armadi;
- ogni reagente pericoloso va conservato in opportuni armadi di sicurezza a seconda della caratteristica di pericolo. Qualora i singoli laboratori ne siano sprovvisti, le stanze comuni presenti in ciascun piano del Dipartimento, sono dotate di armadi per infiammabili, armadi per acidi e basi e armadi per sostanze tossiche o nocive.

APPARECCHIATURE ELETTRICHE

- Utilizzare apparecchi e strumenti elettrici a norma dotati di marcatura di conformità europea CE
- Non utilizzare apparecchi sprovvisti di messa a terra o con connessioni elettriche prive di un adeguato isolamento;
- assicurarsi che i macchinari e gli strumenti siano spenti prima di essere collegati alla rete elettrica in modo da evitare funzionamenti improvvisi e incontrollabili;
- non maneggiare parti elettriche in tensione con le mani bagnate ed evitare che i dispositivi elettrici funzionino in prossimità di zone del laboratorio in cui ci sono accumuli di acqua o di altri liquidi;
- non lasciare funzionanti inutilmente le apparecchiature. Le strumentazioni che necessitano di un funzionamento continuo vanno opportunamente segnalate;
- ogni apparecchiatura lasciata in funzione durante la notte deve essere controllata dall'interessato prima di lasciare il Dipartimento per evitare pericoli di incendio o di allagamento. Apporre un avviso con data e durata dell'esperimento.



DISPOSITIVI DI PROTEZIONE

I dispositivi di protezione si dividono in:

- dispositivi di protezione collettiva (DPC)
- dispositivi di protezione individuale (DPI)

Dispositivi di protezione collettiva (DPC). Per **DPC** in laboratorio si intendono i sistemi che intervengono direttamente sulla fonte inquinante, riducendo o eliminando il rischio di esposizione del lavoratore e la contaminazione dell'ambiente di lavoro.

Cappa chimica: le cappe sono il dispositivo più importante di protezione collettiva nei laboratori. Le cappe chimiche possono essere ad espulsione d'aria (in cui gli inquinanti vengono convogliati all'esterno, con o senza filtro ambientale) o a ricircolo (in genere cappe da bancone di piccole dimensioni). La presenza della cappa chimica in laboratorio non è da sola sufficiente a garantire la sicurezza, occorre quindi che la cappa sia utilizzata correttamente.

Si riportano le raccomandazioni per un corretto uso delle cappe:

- verificare innanzitutto che l'aspirazione funzioni con metodi empirici (ad esempio con un foglio di carta). Se ci sono dubbi sul funzionamento mettere subito al corrente il responsabile di laboratorio;
- evitare di creare correnti d'aria in prossimità di una cappa in funzione (apertura di porte o finestre, transito frequente di persone);
- tenere sempre accesa la ventilazione della cappa una volta iniziata l'attività;
- tenere la finestra verticale della cappa nella posizione più bassa possibile in modo da consentire di lavorare ed estendere le braccia all'interno della cappa;
- quando la cappa non è in uso tenere la finestra abbassata;
- non mettere mai la testa dentro la cappa per controllare il processo analitico in atto;
- evitare di aprire e chiudere rapidamente la finestra verticale della cappa, e di muoversi continuamente in prossimità della cappa. Questi movimenti possono ridurre l'efficienza di aspirazione;
- ricordarsi che più il frontale è abbassato, meno il funzionamento della cappa risente di correnti nella stanza;
- le sostanze da maneggiare devono essere tenute almeno 15-20 cm all'interno della cappa;
- evitare di lasciare bottiglie oppure apparecchiature sotto cappa;
- tenere sotto cappa solo il materiale strettamente necessario all'attività: non usare la cappa come deposito;
- se è possibile, non usare apparecchiature molto ingombranti all'interno della cappa perché creano ostacolo alla circolazione d'aria;
- non utilizzare la cappa per smaltire per evaporazione sostanze volatili.

si ricorda "la priorità delle misure di protezione collettiva rispetto alle misure di protezione individuale" D. Lgs. 81/08 art 15 comma 1 lettera i



Dispositivi di protezione individuale (DPI). L'art 74 del D.Lgs 81/08 definisce i **DPI** come:
"qualsiasi attrezzatura destinata ad essere indossata e tenuta dal lavoratore allo scopo di proteggerlo contro uno o più rischi suscettibili di minacciarne la sicurezza o la salute durante il lavoro, nonché ogni complemento o accessorio destinato a tale scopo".

I DPI devono essere impiegati a complemento e non in sostituzione di misure preventive, quali l'organizzazione e la razionalizzazione del lavoro, e la realizzazione di protezioni collettive, al fine di ridurre i danni inerenti ai rischi residui.

Tutti i DPI devono essere in possesso della marcatura CE e di tutte le certificazioni previste.

Tranne i DPI monouso, tutti gli altri necessitano di manutenzione.

Inoltre in caso di rischi multipli che richiedono l'uso simultaneo di più DPI, questi devono essere tra di loro compatibili e tali da mantenere inalterata la propria efficacia nei confronti dei rischi corrispondenti.

I dispositivi di protezione individuale vengono classificati o a seconda della gravità del rischio oppure in base alle parti del corpo da proteggere.

Classificazione di DPI in base alla parte da proteggere

Corpo: il comune camice in cotone va indossato tutte le volte che si entra in laboratorio e protegge da rischi lievi. Nel caso in cui è necessario maneggiare sostanze particolarmente corrosive, si può far uso di grembiuli di materiale resistente al tipo di reagente in questione.

Occhi: la protezione degli occhi deve essere scelta in base allo stato fisico delle sostanze, alle operazioni e al livello di tossicità dei prodotti in uso: gli occhiali di sicurezza proteggono gli occhi dai materiali solidi (schegge) e da schizzi; gli schermi facciali sono visiere che proteggono l'intero volto e permettono l'uso degli occhiali da vista, proteggono dai raggi UV del transilluminatore e inoltre sono richiesti quando si versa o si travasano materiali corrosivi o pericolosi soprattutto se in grande quantità.

Mani: le mani devono essere protette con guanti confortevoli e adatti ai rischi presenti nel laboratorio, devono possedere alcuni requisiti generali definiti dalla norma EN 420 e da norme specifiche in funzione del particolare agente di rischio (EN 374 per i rischi chimici e derivanti da microorganismi, EN 388 per i rischi meccanici, EN 511 per la protezione dal freddo, EN 407 per la protezione dal calore), e devono essere forniti di istruzioni. I guanti più comunemente usati sono in lattice, nitrile o PVC. Poiché non è trascurabile la percentuale di persone allergiche al lattice, sarebbe utile accertarsi di tale condizione prima di usare guanti di questo materiale.

I guanti vanno usati per il tempo strettamente necessario per l'operazione che ne ha richiesto l'uso. È utile inoltre conoscere il tempo di permeazione, cioè il tempo impiegato da una sostanza per impregnare il guanto e raggiungere la cute.

Quando si manipolano oggetti conservati in azoto liquido (tra -120°C e -190°C) si usano guanti detti criogenici, che comunque non devono essere immersi nell'azoto liquido in quanto perderebbero flessibilità. I guanti criogenici dovrebbero essere sufficientemente lunghi da proteggere parte dell'avambraccio ed essere strutturati in modo che dita e pollici mantengano un alto grado di mobilità. I guanti di questo tipo, sono molto utili anche in altri ambienti freddi, quali congelatori -80°C e nel maneggiare ghiaccio secco.

Per la protezione contro il rischio termico si usano guanti specifici che proteggono le mani contro il calore e/o le fiamme.



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II
Scuola Politecnica e delle Scienze di Base
Dipartimento di Biologia



Vie respiratorie: durante le normali attività lavorative non è necessario indossare una protezione delle vie respiratorie, in quanto nel caso in cui si debbano maneggiare sostanze volatili, irritanti o nocive per le vie respiratorie è d'obbligo far uso della cappa chimica.

I DPI delle vie respiratorie vanno indossati in casi di emergenza o durante manutenzioni ordinarie o straordinarie e in presenza di contaminanti dell'aria.

Udito: nei laboratori è frequente la produzione di rumori provenienti da macchinari e attrezzature di vario tipo. Nel Dipartimento di Biologia le attrezzature particolarmente rumorose quali liofilizzatori, sonicatori etc, sono ubicati in locali comuni dove nessuno sosta quotidianamente per un tempo prolungato, ma nel caso in cui sia necessario lavorare in prossimità di una fonte di rumore possono essere utilizzate le cuffie acustiche in grado di offrire un abbattimento acustico dai 15 ai 30 decibel.



RISCHIO BIOLOGICO

Il rischio biologico è definito dalla probabilità di sviluppare infezioni a seguito del contatto con agenti biologici potenzialmente infettivi. (D. Lgs 81/08 Titolo X)

Gli agenti biologici, definiti come “qualsiasi microrganismo, anche se geneticamente modificato, coltura cellulare ed endoparassita umano che potrebbe provocare infezioni, allergie o intossicazioni” (D.Lgs 81/08 art 267 comma 1 lettera a)), vengono classificati in quattro gruppi per rischio crescente di infezione (D.Lgs. 81/08 art. 268):

- ✓ **gruppo 1:** “agente che presenta poche probabilità di causare malattie in soggetti umani”
- ✓ **gruppo 2:** “agente biologico che può causare malattie in soggetti umani e costituire un rischio per i lavoratori; è poco probabile che si propaghi nella comunità; sono di norma disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche”
- ✓ **gruppo 3:** “agente che può causare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori; l’agente biologico può propagarsi nella comunità, ma di norma sono disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche”
- ✓ **gruppo 4:** “agente biologico che può provocare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori e può presentare un elevato rischio di propagazione nella comunità; non sono disponibili, di norma, efficaci misure profilattiche o terapeutiche”

L'allegato XLVI del D. Lgs 81/08 riporta l'elenco degli agenti biologici classificati nei gruppi 2, 3 e 4

N.B. Gli agenti biologici che non sono stati inclusi nei gruppi 2, 3 e 4 dell'elenco non sono implicitamente inseriti nel gruppo 1

La manipolazione di agenti biologici prevede misure di sicurezza (livelli di contenimento) proporzionate alla pericolosità dell’agente biologico manipolato:

- livello di **contenimento 1** (laboratorio di base), per agenti biologici appartenenti al gruppo 1
- livello di **contenimento 2** (laboratorio di base), per agenti biologici appartenenti al gruppo 2
- livello di **contenimento 3** (laboratorio di sicurezza), per agenti biologici appartenenti al gruppo 3
- livello di **contenimento 4** (laboratorio di massima sicurezza), per agenti biologici appartenenti al gruppo 4

Nel Dipartimento di Biologia si maneggiano agenti biologici solo del gruppo 1

Vediamo quindi di seguito le buone norme comportamentali previste nei laboratori di base (livelli di contenimento 1 e 2); norme che vanno aggiunte a quelle generali già elencate in precedenza.

- Solo sulle porte dei laboratori in cui si maneggiano agenti biologici di classe 2 deve essere esposto il simbolo internazionale di rischio biologico;
- tutte le procedure tecniche devono essere condotte in modo da minimizzare la formazione di aerosol e goccioline;
- le superfici di lavoro e le apparecchiature scientifiche devono essere decontaminate dopo qualsiasi versamento di materiali pericolosi o potenzialmente infettivi e alla fine di ogni giorno di lavoro;
- vicino a ogni posto di lavoro vanno posizionati idonei contenitori per la raccolta dei rifiuti speciali di tipo sanitario;



- utilizzare preferibilmente materiale monouso;
- tutte le micropipette devono essere dotate di eiettore del puntale. Quest'ultimo deve essere eliminato insieme agli altri rifiuti speciali di tipo sanitario.
- In caso di versamento di liquidi, d'incidenti e di esposizione a materiale a rischio infettivo, deve essere immediatamente avvisato il responsabile del laboratorio (RADRL);
- il responsabile di ogni laboratorio deve vigilare sulla corretta applicazione delle misure di prevenzione e protezione da parte di tutti i frequentatori del laboratorio con particolare attenzione nei confronti degli studenti.

Cappa di sicurezza biologica

Nelle attività di laboratorio con manipolazione di materiale a rischio infettivo assume un ruolo rilevante, nella prevenzione dell'eventuale contaminazione dell'operatore e dell'ambiente, il corretto utilizzo delle cappe di sicurezza biologica ("biohazard").

In base agli standard internazionali, le cappe di sicurezza biologica sono suddivise in tre classi a seconda del livello di protezione garantito, che dipende dalla barriera d'aria in aspirazione, dalla eventuale barriera anche fisica e dal sistema di filtrazione d'aria.

Il Dipartimento di Biologia è dotato di cappe di classe II adatte alla manipolazione di agenti biologici di classe 1 e 2. Si tratta di cappe a flusso laminare verticale, aperte frontalmente, progettate per la protezione dell'operatore, dei prodotti al suo interno e dell'ambiente circostante. Sia il flusso d'aria in entrata che quello in uscita passano attraverso un filtro HEPA.

Bibliografia:

Caiola S, Gallina A. Manuale operativo per l'uso delle sostanze chimiche nei laboratori. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2013. (Rapporti ISTISAN 13/34)

Zinno F, Daniele N. La sicurezza nel laboratorio biomedico. EPC editore. 2016

Di Caterina R C. Manuale della sicurezza nei laboratori. BastogiLibri. 2014

Decreto Rettorale 2896 del 20/07/2018

Decreto Ministeriale 363 del 05/08/1998