

CAPITOLO 3. ANALISI DEI RISCHI DEL DIPARTIMENTO

3.1 Rischio biologico

Per agente biologico si intende qualsiasi microrganismo (parte di esso o suo prodotto) anche geneticamente modificato, coltura cellulare, parassita (protozoi e metazoi) o organismo superiore che può provocare infezioni, allergie e intossicazioni. Alcuni agenti biologici possono non costituire un rischio per l'uomo, ma rappresentare un pericolo per gli altri animali. Gli agenti biologici sono classificati nei seguenti quattro gruppi a seconda del rischio di infezione e sulla base della trasmissibilità ad altri animali e/o del loro potenziale zoonotico ai sensi del D.Lgs 81 del 2008.

- **agente biologico del gruppo 1:** un agente che presenta poche probabilità di causare malattie in soggetti umani e/o animali.
- **agente biologico del gruppo 2:** un agente che può causare malattie in soggetti umani e/o animali e costituire un rischio per i lavoratori; è poco probabile che si propaghi nella comunità; sono di norma disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche.
- **agente biologico del gruppo 3:** un agente che può causare malattie gravi in soggetti umani e/o animali 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.
- **agente biologico del gruppo 4:** un agente biologico che può provocare malattie gravi in soggetti umani o animali, 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.

Le modalità più frequenti di contaminazione in un laboratorio o locale ove presente il rischio biologico comprendono:

- l'inoculazione di materiale infetto attraverso la cute;
- l'ingestione di materiale infetto dovuta alla contaminazione delle mani;
- la formazione di aerosol causata dall'apertura di contenitori, provette o piastre Petri, così come dall'uso di agitatori, siringhe o centrifughe o idropultrici.

Tutti i locali in cui è potenzialmente presente un rischio biologico sono contrassegnati dal pittogramma "biohazard", riconosciuto a livello internazionale (Figura 1). Le prescrizioni specifiche per ogni tipologia di locale a rischio biologico sono dettagliate nei rispettivi capitoli del manuale.



Figura 1. Pittogramma del rischio biologico riconosciuto a livello internazionale.

CAPITOLO 4. PROCEDURE OPERATIVE GENERALI DI SICUREZZA E BIOSICUREZZA

4.2.4 Rifiuti sanitari

I rifiuti sanitari devono essere identificati in modo appropriato, contenuti in sicurezza ed eliminati secondo le procedure. Per i rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo, è necessario identificarli chiaramente, raccogliarli in contenitori rigidi e chiusi, conservarli in ambienti dedicati e affidarli per lo smaltimento a ditte autorizzate. I rifiuti sanitari pericolosi non a rischio infettivo richiedono invece una classificazione che evidenzi la loro pericolosità, un imballaggio resistente e uno stoccaggio sicuro, con smaltimento in impianti autorizzati per garantire il rispetto delle normative.

4.2.4.1 Gestione e smaltimento dei rifiuti sanitari a rischio infettivo

I rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo includono materiali che sono venuti a contatto con fluidi biologici infetti o presunti tali, come rifiuti di laboratorio e materiale monouso contaminato. Questi rifiuti sono identificati dai codici CER 18 01 03* (origine umana) e 18 02 02* (origine animale), applicabili ai rifiuti prodotti nel DMV, salvo casi particolari. Tra questi rifiuti figurano microrganismi, colture cellulari, oggetti taglienti, rifiuti di vetro e plastica contaminati e materiali generali come garze e tamponi di origine animale. È importante minimizzare il contatto tra materiali non infetti e fonti potenzialmente infettive per ridurre il quantitativo di rifiuti pericolosi. Tali rifiuti devono essere raccolti direttamente sul luogo di produzione in imballaggi monouso (Figura 12) con la dicitura "Rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo", contrassegnati dalla lettera "R" (vedi Figura 11) e il simbolo del rischio biologico (vedi Figura 1).



Figura 12. Esempio di contenitore a norma per la raccolta dei rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo.

Nei laboratori o nei locali dove è prevista la necessità di smaltire materiali taglienti, come lame e siringhe, devono essere utilizzati imballaggi rigidi monouso, resistenti alla puntura e identificati con la dicitura "Rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo taglienti e pungenti" (Figura 13).



Figura 13. Esempi di contenitori per la raccolta di aghi e/o rifiuti taglienti.

4.3 Igiene delle mani

Per garantire un'igiene efficace, è importante seguire correttamente le procedure di lavaggio delle mani, sia con acqua e sapone sia con una soluzione alcolica (Figura 15). Indicazioni precise su come eseguire il lavaggio sono state fornite nell'opuscolo della World Health Organisation in occasione della "Giornata mondiale per l'igiene delle mani" del 2017.

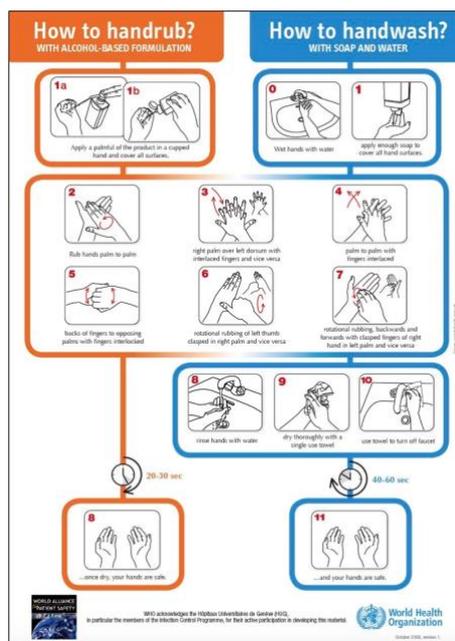


Figura 15. Procedura di lavaggio delle mani con sapone e con soluzione alcolica.

In assenza di acqua corrente, è possibile utilizzare gel igienizzanti specifici per le mani, seguendo la procedura di applicazione: distribuire il prodotto sul palmo di una mano, frizionare su entrambe le mani per circa 20-30 secondi fino ad asciugatura completa. È fondamentale seguire le indicazioni del produttore relative alla quantità e al tempo di azione del prodotto.

4.10 Prevenzione delle ferite da taglio e da punta

L'uso professionale di dispositivi medici taglienti o acuminati può comportare rischi significativi per i lavoratori, inclusi ferite e infezioni locali o sistemiche derivanti dalla contaminazione percutanea o dall'inoculazione accidentale di agenti biologici, presenti nei pazienti, o chimici, presenti

nell'ambiente, o farmaci. Gli incidenti da puntura di ago possono determinare il trasferimento di fluidi contaminati da agenti patogeni, vaccini con organismi vivi, chemioterapici, ormoni o batteri della cute animale, favorendo infezioni o infiammazioni secondarie. Le ferite rappresentano un punto d'ingresso diretto per microrganismi, superando la protezione naturale della barriera cutanea.

Nel settore veterinario, la natura zoonosica delle patologie trasmissibili richiede particolare attenzione. Patogeni come *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Pasteurella* spp., *Streptococcus* spp. e *Bartonella* spp. sono associati a incidenti da puntura di ago, a differenza dei rischi interumani (HIV, HBV, HCV).

Per garantire la sicurezza, è essenziale adottare rigorose procedure operative, conformi al D.Lgs. 81/08, applicabili sia alle pratiche sanitarie e veterinarie che alla ricerca laboratoristica. I lavoratori devono avere a disposizione contenitori tecnicamente sicuri e segnalati per lo smaltimento di oggetti taglienti e pungenti, posizionati il più vicino possibile ai punti di utilizzo. Questi contenitori devono riportare simboli di rischio biologico e indicazioni di "rifiuti sanitari a rischio infettivo". Aghi e siringhe riutilizzabili non devono essere smontati prima della sterilizzazione in autoclave, e per manipolazioni rischiose si consiglia l'uso di un doppio paio di guanti (Figura 20).



Figura 20. Esempio di utilizzo del doppio guanto. Generalmente i due guanti sono di colore diverso per identificare più facilmente il danneggiamento.

L'utilizzo di oggetti taglienti deve essere limitato allo stretto necessario. Dove possibile, è preferibile optare per dispositivi con sistemi di sicurezza integrati, come aghi retrattili o a punta smussa, e siringhe monouso che integrino l'ago per ridurre i rischi di incidenti. Il re-incappucciamento manuale degli aghi è, quando possibile, vietato (Decreto Ministero della Sanità del 28.09.1989); in caso di necessità, si devono adottare tecniche sicure come il metodo one-hand o strumenti specifici come salvadita o scatole portapuntali (Figura 21).



Figura 21. Illustrazione del one-hand method per il re-incappucciamento degli aghi ed esempio di strumento salva-dita.

Inoltre, gli strumenti taglienti non devono mai essere passati di mano direttamente, e le operazioni che prevedono il loro utilizzo devono essere eseguite con la massima precisione, riducendo al minimo i gesti non necessari.

CAPITOLO 5. RISCHIO BIOLOGICO E PROCEDURE DI SICUREZZA

5.2 Procedure per i laboratori dove presente rischio biologico

5.2.1. Accesso ai laboratori

L'ingresso al laboratorio è ristretto al personale autorizzato, al quale sia stata assicurata, a cura del Responsabile, l'informazione/formazione specifica riguardo ai potenziali rischi connessi con l'attività lavorativa, alle norme di comportamento, all'ubicazione degli apparati di emergenza (cassetta di pronto soccorso, lavaocchi, etc...). Le donne in età fertile devono essere informate dei rischi legati all'esposizione ad agenti biologici. Le lavoratrici in stato di gravidanza o in allattamento devono seguire le procedure riportate sul sito del Servizio di Prevenzione e Protezione dell'Ateneo disponibili all'indirizzo: <https://www.unipg.it/ateneo/organizzazione/servizio-di-prevenzione-e-protezione>.

È fatto obbligo che la presenza degli studenti sia condizionata alla presenza di almeno un Responsabile delle attività; ciascuno studente (ma anche assegnista, contrattista, borsista, dottorando, etc...) al suo primo ingresso nel laboratorio deve essere a conoscenza del Manuale di Sicurezza e Biosicurezza del DMV, adeguatamente istruito dal Responsabile sulle norme di comportamento, sull'ubicazione degli apparati di emergenza e sulle figure referenti alle quali rivolgersi tempestivamente per le segnalazioni di eventuali situazioni di emergenza.

5.2.2 Norme generali di comportamento

Nelle aree di lavoro del laboratorio è vietato assumere cibi e bevande, conservare cibo, ed è proibito fumare. Nessun oggetto dovrebbe essere portato alla bocca in laboratorio (penne, matite, gomme da masticare, etc...). È altresì rigorosamente vietato pipettare a bocca.

Prima di ogni attività all'interno dei laboratori deve essere indossato il camice, di cotone o comunque di materiale con caratteristiche a bassa reazione al fuoco. Tale indumento, che deve essere sempre pulito, non va indossato in aree diverse dal laboratorio. Inoltre, nel laboratorio con uso di agenti biologici, sarebbe preferibile usare calzature dedicate idonee all'uso e in ogni caso è obbligatorio non utilizzare calzature aperte. I capelli lunghi devono essere tenuti raccolti.

Durante le attività di laboratorio occorre indossare guanti idonei alla protezione da rischio biologico. I guanti monouso per rischio biologico devono:

- avere marcatura EN374 richiesta per operazioni dove sono prevedibili elevate esposizioni ad agenti biologici
- non essere indossati per un tempo superiore a 30 minuti
- essere scartati se presentano difetti visibili ad occhio nudo
- essere sempre rimossi quando si esce dall'area di lavoro o si toccano oggetti "puliti"

È inoltre obbligatorio indossare i DPI indicati nel DVR del DMV, in particolare maschere, occhiali o schermi facciali nelle situazioni a elevato rischio biologico di contaminazione (es:

campioni ematici di cani con sospetta leptospirosi) o per le operazioni che possono esporre a bioaerosol di materiale contaminato.

5.2.3 Manipolazione di campioni e materiali infetti

La Circolare del Ministero della Sanità n. 3 del 08/05/2003 regola la sicurezza del trasporto di materiali infettivi e di campioni diagnostici. Tale trasporto prevede un sistema di confezionamento a 3 involucri:

- un recipiente primario contenente il campione (provette, tamponi, ecc) di materiale impermeabile, a tenuta stagna, con chiusura ermetica, etichettato e avvolto in materiale assorbente (Figure 25-28).



Figura 25. Esempi di provette Vacuette® per il prelievo di sangue o altri liquidi biologici.



Figura 26. Esempi di tamponi. A destra tampone sterile con terreno di trasporto, al centro tampone semplice in cotone senza terreno di trasporto, a destra tampone uterino per grandi animali.



Figura 27. Esempio di contenitore con formalina per campioni biotici.



Figura 28. Esempio di contenitore per raccolta di feci ed urine.

- un recipiente secondario, cioè un contenitore di materiale resistente, impermeabile e a tenuta stagna, adatto a contenere e proteggere il recipiente primario. Esso può contenere anche più recipienti primari purché adeguatamente collocati e singolarmente avvolti in materiale assorbente (Figure 29-31).



Figura 29. Esempio di contenitore secondario per Vacuette® con inserto in spugna.



Figura 30. Esempio di sacchetti secondari per trasporto di campioni biologici.



Figura 31. Esempio di contenitore primario per campione di feci con il suo contenitore secondario protettivo.

- un recipiente terziario, contenitore più esterno in cui collocare il recipiente secondario per evitare danneggiamenti causati da fattori esterni quali agenti fisici o acqua (Figura 32).



Figura 32. Esempio di contenitore terziario – a destra, box di trasporto monouso.

I recipienti secondario e terziario devono essere etichettati con il simbolo di Biohazard. Il recipiente primario deve recare informazioni sul paziente e sul tipo di campione che si sta inviando; il recipiente secondario deve essere accompagnato da una scheda con la richiesta di esami specialistici e tutte le informazioni utili per il destinatario (anamnesi, terapie in atto, sospetto clinico etc).

Per i campioni interni all'OVUD, è ammesso lo spostamento dal luogo di prelievo ai laboratori utilizzando il solo contenitore secondario, accompagnato dalla scheda.

Una volta pervenuti al laboratorio, è buona norma considerare tutti i campioni biologici come potenzialmente infetti e applicare le adeguate precauzioni. La manipolazione dei materiali potenzialmente infetti deve essere attuata in modo da minimizzare la formazione di aerosol. Tenere aperti i recipienti contenenti gli agenti biologici solo per il tempo strettamente necessario. Evitare lo stravasamento di prodotti biologici in contenitori non idonei, privi di indicazioni sul contenuto. Evitare la diffusione di microrganismi sul bancone di lavoro adottando, se possibile, anse monouso sterili in plastica.

Nei laboratori del DMV si utilizzano in modo deliberato, per scopi di ricerca, solo microrganismi appartenenti al gruppo 1 e 2. Una potenziale esposizione ad organismi di gruppo 3 è però possibile durante le attività legate alla diagnostica; tali attività vengono svolte da personale adeguatamente formato, utilizzando DPI adeguati e/o cappe di sicurezza biologiche (Figura 33).



Figura 33. Esempio di cappa biologica di classe 2.

Queste ultime sono suddivise in tre classi, in grado di garantire diversi livelli di sicurezza (Tabella 6):

- Classe I: per impieghi a basso rischio (Agenti biologici del gruppo 1, 2)
- Classe II: per impieghi a medio rischio (Agenti biologici del gruppo 2, 3)
- Classe III: per impieghi ad elevato rischio (Agenti biologici del gruppo 4)

Tabella 6. Caratteristiche delle cappe di sicurezza biologiche.

Tipo di Cappa	Protezione	Flusso d'aria	Uso tipico	Filtro HEPA
Classe I	Operatore, ambiente	Verso l'interno; filtrata ed espulsa	Microorganismi a basso rischio biologico	Sì. Per l'espulsione.
Classe II	Operatore, ambiente e campione	Filtrata HEPA, parte ricircolata e parte espulsa	Attività microbiologiche con cellule, batteri o virus di rischio moderato.	Sì. Per ingresso ed espulsione.
Classe III	Completamente operatore, ambiente e campione.	Cappa sigillata con guanti integrati. Aria filtrata e completamente confinata.	Agenti patogeni letali. Livello biosicurezza 4.	Sì doppio. Per ingresso ed espulsione.

Presso i laboratori del DMV le cappe di sicurezza biologica sono di classe II e devono essere gestite secondo un preciso iter, specificato nel testo a seguire.

- La cappa di sicurezza biologica va messa in funzione mezz'ora prima dell'inizio del lavoro e spenta mezz'ora dopo l'attività.
- Spegnerne gli UV (se trovati accesi al momento di iniziare il lavoro).
- Mantenere la griglia anteriore libera poiché se il flusso d'aria attraverso la griglia viene bloccato non si otterrà la massima protezione dalla cappa.
- Assicurarsi che la griglia di aspirazione non sia bloccata da quaderni, fogli di carta, o altro materiale.
- Non utilizzare becchi Bunsen all'interno delle cappe perché il calore prodotto distorce il flusso d'aria e può danneggiare i filtri HEPA.
- Dentro la cappa la presenza di strumenti e materiali va ridotta al minimo.

- I contenitori per materiali da eliminare dovrebbero essere posizionati all'interno della cappa per non interrompere l'integrità del flusso d'aria, che potrebbe compromettere sia la protezione del personale che quella del campione biologico.
- Tutte le operazioni devono essere eseguite nella parte mediana o posteriore della superficie di lavoro; l'operatore non deve alterare il flusso dell'aria con movimenti ripetuti delle braccia dentro e fuori o con movimenti bruschi.
- Pulire la superficie di lavoro della cappa con disinfettante idoneo alla fine di ogni turno di lavoro (ad es. Etanolo al 70%, o una soluzione di ipoclorito di sodio o analoghi).
- Al termine delle operazioni, effettuare un ciclo di sterilizzazione dell'interno della stessa mediante irraggiamento UV per 30 minuti, da effettuarsi con l'apposita lampada in dotazione alla cappa biologica stessa.
- Effettuare una manutenzione periodica della cappa con sostituzione filtri HEPA richiedendo l'intervento di ditta specializzata e tenendo registro degli interventi effettuati.

5.2.5 Gestione del materiale contaminato e dei rifiuti

In nessun caso questi rifiuti possono essere smaltiti con i rifiuti urbani.

5.1 Procedure generali, indumenti protettivi e Dispositivi di Protezione Individuale (DPI)

È fondamentale utilizzare guanti conformi alla normativa EN 374 (Figura 22), dotati di marcatura CE e pittogramma del rischio biologico, siano essi monouso o riutilizzabili (come quelli in neoprene) (Figura 23). Guanti di gomma "domestici" non sono considerati DPI adeguati.



Figura 22. Pittogrammi identificativi per guanti a norma per laboratori con rischio biologico.



Figura 23. Esempio di guanti monouso in nitrile.

Prima dell'uso, è necessario verificare che i guanti siano integri, della taglia corretta e della lunghezza appropriata. Devono essere indossati e rimossi correttamente per evitare contaminazioni, e sostituiti immediatamente in caso di danni o contatto con materiale infetto. I guanti monouso non devono mai essere riutilizzati e non è permesso mantenerli indossati per

toccare superfici come maniglie, telefoni o computer dopo aver maneggiato sostanze chimiche o materiali biologici.

I DPI monouso contaminati devono essere smaltiti in appositi contenitori per rifiuti speciali, classificati come sanitari a rischio infettivo o non, in base alla normativa vigente.

CAPITOLO 8. PROCEDURE DI GESTIONE DELL'EMERGENZA

8.2 Procedura e gestione dell'emergenza in caso di rischio biologico

In **caso di infezione o sospetta infezione con agente trasmissibile** di interesse veterinario o a rischio zoonotico dei gruppi 2 e 3:

- utilizzare tutti i presidi atti a impedire la diffusione dell'infezione ad altri pazienti, agli operatori e all'ambiente (camici monouso, guanti monouso, mascherine monouso, agenti disinfettanti etc.).

In **caso di contatto (mani, occhi, bocca) con materiale potenzialmente infetto**:

- lavare con acqua abbondante (in caso di contatto oculare, mantenendo le palpebre aperte)
- togliere gli indumenti contaminati
- avvisare gli addetti al primo soccorso se è necessaria l'attivazione del piano di emergenza ed eventualmente chiamare il 112, come riportato nel DVR Biologico del DMV disponibile sul sito del DMV all'indirizzo <https://medvet.unipg.it/home/sicurezza>.

In **caso di contaminazioni oculari con materiali di natura chimica o biologica**:

- interrompere l'esecuzione delle operazioni
- provvedere al lavaggio immediato delle parti colpite, mediante lavaocchi a spruzzo
- se necessario, lavaggio corporeo supplementare, mediante l'uso delle docce presenti negli spogliatoi.

In **caso di spargimento di materiale biologico** su superfici:

- indossare mascherina, occhiali e guanti di gomma
- coprire con carta assorbente un'area più vasta di quella visibilmente contaminata
- versare disinfettante ad ampio spettro di azione
- lasciare agire almeno per 15 minuti
- asportare con pinze e guanti il materiale così trattato e smaltire come rifiuto speciale
- lavare con detergente con tensioattivi o sali d'ammonio
- risciacquare
- ripetere la procedura di disinfezione.

In **caso di sversamento di materiale** all'interno delle cappe di sicurezza biologica:

- Impostare la ventilazione della cabina alla massima velocità
- Indossare guanti e facciale filtrante, quindi disinfettare accuratamente le superfici
- Raccogliere tutto il materiale contaminato e trasferirlo, insieme ai guanti e alla maschera, in un sacchetto per i rifiuti sanitari a rischio infettivo
- Sterilizzare in autoclave tutto il materiale non monouso utilizzato per la pulizia.

Procedura di decontaminazione in caso di sversamento di liquido biologico:

- Indossare due paia di guanti e l'intero equipaggiamento DPI.

- Coprire la sostanza sversata con un panno o carta assorbente imbevuta di disinfettante e lasciare agire per almeno 30 minuti.
- Prelevare il materiale assorbente e gli oggetti contaminati con una paletta e smaltirli negli appositi contenitori per rifiuti biologici.
- Raccogliere eventuali frammenti di vetro con pinze e riporli nei contenitori specifici.
- Pulire e disinfettare accuratamente la superficie contaminata.
- Tutti i materiali contaminati, inclusi i DPI utilizzati, devono essere trattati come rifiuti biologici.
- In caso di contaminazione di documenti, trascrivere le informazioni su un nuovo foglio e smaltire l'originale nei contenitori per rifiuti biologici.
- Autoclavare o immergere per 24 ore nel disinfettante tutto il materiale non monouso che si è contaminato.

Nel **caso di dispersione ambientale o nel locale (laboratorio) di un agente biologico di gruppo 2 e 3**:

- Abbandonare immediatamente la zona interessata;
- Chiudere la stanza ed applicare sulla porta avvisi di zona contaminata e di divieto di ingresso;
- Segnalare al Responsabile l'evento e concordare insieme la metodologia per rimuovere il pericolo.

In **caso di segni o sintomi attribuibili a reazioni allergiche**, come irritazioni cutanee, congiuntivite o difficoltà respiratorie, riconducibili alla propria attività lavorativa (ad esempio, contatto con animali o piante responsabili dell'evento), è necessario che il lavoratore lo segnali prontamente al proprio Responsabile e richieda una visita medica al Medico Competente.

Inoltre, eventuali patologie allergiche devono essere comunicate al Medico Competente, il quale, a sua volta, darà indicazioni al Direttore del DMV o al Responsabile della struttura di appartenenza, delle misure di tutela a garanzia della salute del lavoratore.

MANUALE DI BIOSICUREZZA E ANALISI E PREVENZIONE DEI RISCHI

Versione 01/2025 - Aprile 2025

Università degli Studi di Perugia
Dipartimento di Medicina Veterinaria

Redazione a cura della Commissione Sicurezza sui luoghi di Lavoro e Biosicurezza



Membri della Commissione Coinvolti nella Stesura

F. Beccati (Delegato Dipartimentale)

S. Businelli (Addetto del Servizio di Prevenzione e Protezione dell'Ateneo di Perugia), M.B. Conti,
M. Diaferia, D. Miraglia, M. Sforza, V. Stefanetti, L. Terracina, M. Gatti (studentessa), A. Quartesan
(studentessa)

Revisionato da:

Servizio di Prevenzione e Protezione dell'Ateneo di Perugia, Esperto di Radioprotezione e Esperto
responsabile della sicurezza in Risonanza Magnetica (Dr. A. Chiappiniello) dell'Ateneo di Perugia,
Personale strutturato docente e tecnico-amministrativo del Dipartimento di Medicina Veterinaria,
Contrattisti dell'Ospedale Veterinario Universitario Didattico di Perugia

Approvato da:

Consiglio di Dipartimento di Medicina Veterinaria Allargato