

Pulizia e decontaminazione delle aree di lavoro condivise per le attività di diagnostica molecolare

Nicla Marri,
09 maggio 2019



DOCUMENTI DI RIFERIMENTO E SUPPORTO ①

- ✓ **Decreto Legislativo 9 aprile 2008 n° 81 e s.m.i.: Attuazione dell'articolo 1 della Legge 3 agosto 2007, n. 123 in materia di tutela della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro**
- ✓ **AFNOR NF U 47-600-1: Méthodes d'analyse en santé animale - PCR (réaction de polymérisation en chaîne) - Partie 1 : exigences et recommandations pour la mise en oeuvre de la PCR en santé animale**
- ✓ **AFNOR NF U 47-600-2: Méthodes d'analyse en santé animale - PCR (réaction de polymérisation en chaîne) - Partie 2 : exigences et recommandations pour le développement et la validation de la PCR en santé animale**
- ✓ **UNI EN ISO 17025:2018: Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e taratura**
- ✓ **Manuale della Biosicurezza**





DOCUMENTI DI RIFERIMENTO E SUPPORTO ②

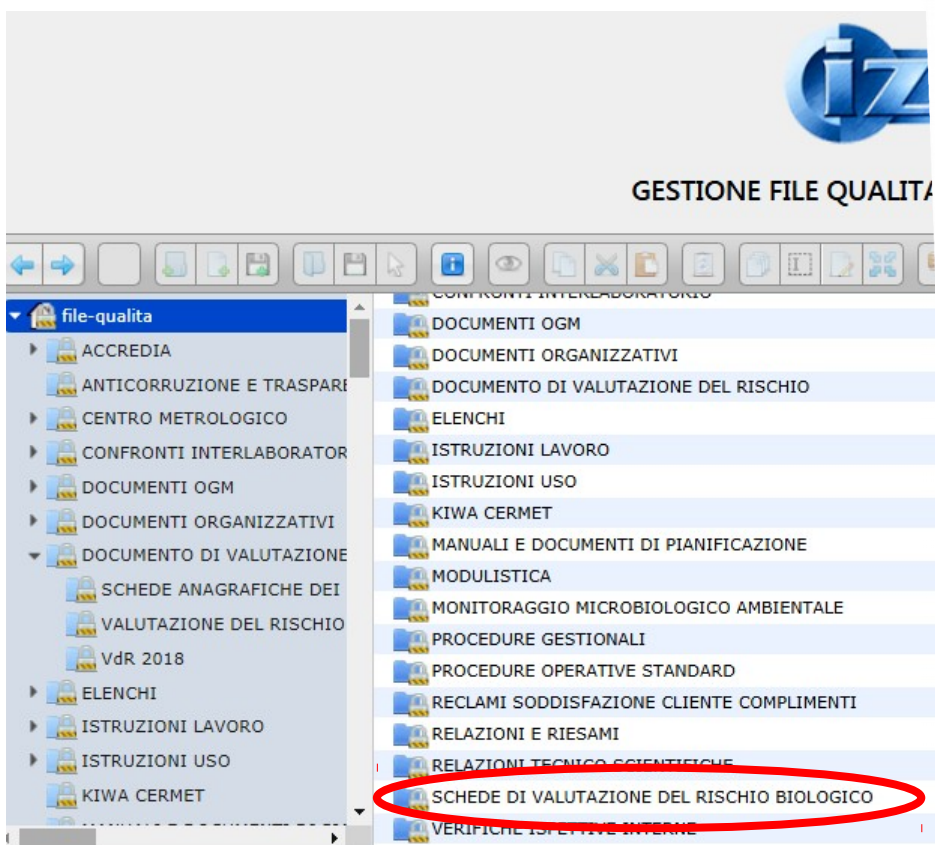
- ✓ PG QUA 008 - Gestione delle emergenze da contaminazione di agenti biologici
- ✓ PG DIG 006 - Norme di sicurezza, modalità operative per l'utilizzo, la manutenzione, la sanificazione ed il monitoraggio microbiologico delle apparecchiature e delle superfici presso la D.O. Diagnostica Generale
- ✓ PG DMV 004 - Gestione delle aree di lavoro e delle apparecchiature dedicate alla manipolazione di agenti patogeni di classe 2 e 3^(**)
- ✓ PG VIR 003 – Gestione delle aree e delle attività per l'esecuzione dei protocolli di PCR
- ✓ PG VIR 009 – Manuale operativo per la gestione delle aree di prova comuni ed attività di diagnostica molecolare
- ✓ PG SPP 002 – Uso dei dispositivi di protezione individuale
- ✓ IL – Istruzioni di lavoro relative ai DPI e alla decontaminazione delle apparecchiature in uso presso le aree comuni di diagnostica molecolare





DOCUMENTI DI RIFERIMENTO E SUPPORTO ③

| | | |
|--|---|----------------------------------|
| ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE REGIONI LAZIO E TOSCANA | SCHEDA VALUTAZIONE DEL RISCHIO BIOLOGICO DIREZIONE OPERATIVA DIAGNOSI DELLE MALATTIE VIRALI E DELLE LEPTOSPIROSI | SVR DMV 001 Pagina 1 di 1 |
| Titolo: SCHEDA DI VALUTAZIONE DEL RISCHIO BIOLOGICO: VIRUS DELLA RABBIA | | |
| Redatto da: <i>Francesca Rosari</i> | | Data: 05/05/16 |
| Verificato da: <i>[firma]</i> | | |
| Approvato da: <i>[firma]</i> | | |



Per il virus della rabbia, classificato nel Gruppo di rischio 3 (**), l'All. XLVI del D. Lgs. 09/04/2008 n° 81 prevede che possa essere sufficiente assicurare livelli di contenimento previsti per gli agenti del gruppo 2, purché siano evitate operazioni che producano nebulizzazione, previa vaccinazione preventiva del personale addetto alla manipolazione.

Agente patogeno: Ordine Mononegavirales, famiglia Rhabdoviridae (RABV), genere Lyssavirus, prototipo del virus della Rabbia, cui sono associati la maggior parte dei casi di malattia nell'uomo. Identificate fino a 14 specie di virus correlati che sebbene siano geneticamente differenziabili da RABV sono tutte in grado di provocare una sintomatologia sovrapponibile a quella della rabbia. Nei chiroteri europei sono stati identificati 5 Lyssavirus rabbia correlati, in Europa le due specie più diffuse sono: European Bat Lyssavirus (EBLV) 1 e 2. Per entrambi i virus è stata confermata la trasmissione ad altri mammiferi, uomo incluso, tuttavia i casi segnalati sono rari.

Persistenza dell'agente nell'ambiente: Il virus è labile nell'ambiente, e risulta essere:

- sensibile ai raggi UV
- nei processi putrefattivi non viene completamente inattivata la proteina N che potrà essere evidenziata con l'IF
- si conserva a lungo a -20°C, liofilizzato per circa 5 anni
- resiste per circa 1 mese a 0°C

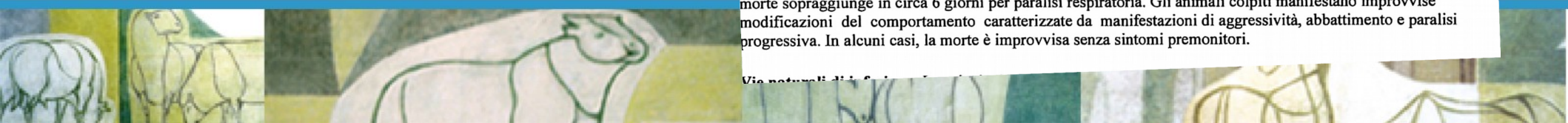
Disinfettanti con comprovata efficacia ed effetto virucida da utilizzare: Virkon alla concentrazione 0.5g/100ml (principio attivo OXONE - sale di potassio perossimonsolfato con azione ossidante, clorurante detergente e sviluppo di pH acido); Ipoclorito di Sodio 1%; EsoFenolo (10 %)

Patogenicità: Tutti i mammiferi sono sensibili all'infezione.

Incubazione: da 7 giorni ad oltre 12 mesi (in media 1-3 mesi).

La latenza è in relazione alla carica infettante, all'estensione ed alla sede di inoculazione, ai meccanismi di difesa dell'ospite e distanza da questa rispetto al sistema nervoso centrale.

Sintomi: Nell'uomo la rabbia provoca parestesie o paralisi, convulsioni. In assenza di interventi terapeutici la morte sopraggiunge in circa 6 giorni per paralisi respiratoria. Gli animali colpiti manifestano improvvise modificazioni del comportamento caratterizzate da manifestazioni di aggressività, abbattimento e paralisi progressiva. In alcuni casi, la morte è improvvisa senza sintomi premonitori.





DOCUMENTI DI RIFERIMENTO E SUPPORTO ③



| | | |
|--|---|----------------------------------|
| ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE REGIONI LAZIO E TOSCANA | SCHEDA VALUTAZIONE DEL RISCHIO BIOLOGICO DIREZIONE OPERATIVA DIAGNOSI DELLE MALATTIE VIRALI E DELLE LEPTOSPIROSI | SVR DMV 001 Pagina 2 di 1 |
| Titolo: SCHEDE DI VALUTAZIONE DEL RISCHIO BIOLOGICO: VIRUS DELLA RABBIA | | |
| Redatto da: <i>Stavros Loupe</i> | | Data: 05/05/16 |
| Verificato da: | | |
| Approvato da: <i>h</i> | | |

l'esecuzione della prova di IF (striscio del materiale su vetrini/fissazione in acetone, colorazione e lettura) e per l'esecuzione della ricerca del virus su tessutocolture. Coltura in vitro per produzione del ceppo attenuato CVS e per l'esecuzione della prova di sieroneutralizzazione (FAVN) per la ricerca di anticorpi per rabbia. Ricerca del genoma virale mediante PCR.; Spedizione di campioni sospetti/positivi.

Operazioni e fasi di laboratorio da considerare a rischio per la trasmissione:

- Accettazione/presa in carico di campioni sospetti e/o infetti non correttamente confezionati
- Apertura del cranio e prelievo del cervello e di porzioni dello stesso,
- Striscio e impronta del tessuto nervoso sul vetrino
- Produzione di aerosol nelle fasi di manipolazione del campione
- Lettura del vetrino
- Disinfezione impropria delle attrezzature contaminate
- Confezionamento di campioni sospetti e/o infetti non correttamente confezionati
- Smaltimento dei campioni sospetti e/o infetti





DEFINIZIONI 1 - MANUALE PER LA BIOSICUREZZA

- Decreto Legislativo 9 aprile 2008 n° 81 e s.m.i
- Regolamento Tecnico del Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare PGRTBL01 - Prescrizioni per la valutazione del sistema di gestione della Biosicurezza

- ♦ **Contaminazione:** Presenza di microrganismi patogeni in una determinata area e loro contatto con le superfici
- ♦ **Biosafety:** Principi di contenimento, le tecnologie e le metodologie operative messe in atto per prevenire un'esposizione non intenzionale ad agenti biologici e tossine, o il loro rilascio accidentale, descritti dal sistema di gestione della Biosicurezza
- ♦ **Biosecurity:** Mezzi di protezione, controlli e responsabilità, per agenti biologici e tossine all'interno del laboratorio, adottati con finalità di prevenire la loro perdita, sottrazione indebita, o usi non consentiti, accessi non autorizzati al laboratorio, o rilasci intenzionali non autorizzati, descritti dal sistema di gestione della Biosicurezza
- ♦ **Decontaminazione:** Procedura che elimina o riduce gli agenti biologici e le tossine a livelli di sicurezza rispetto al rischio di trasmissione di infezioni o di altri effetti avversi
- ♦ **Disinfezione:** Processo finalizzato a ridurre il numero di microrganismi, ma generalmente non il numero di spore, senza necessariamente uccidere o rimuovere tutti i microrganismi



DEFINIZIONI 2

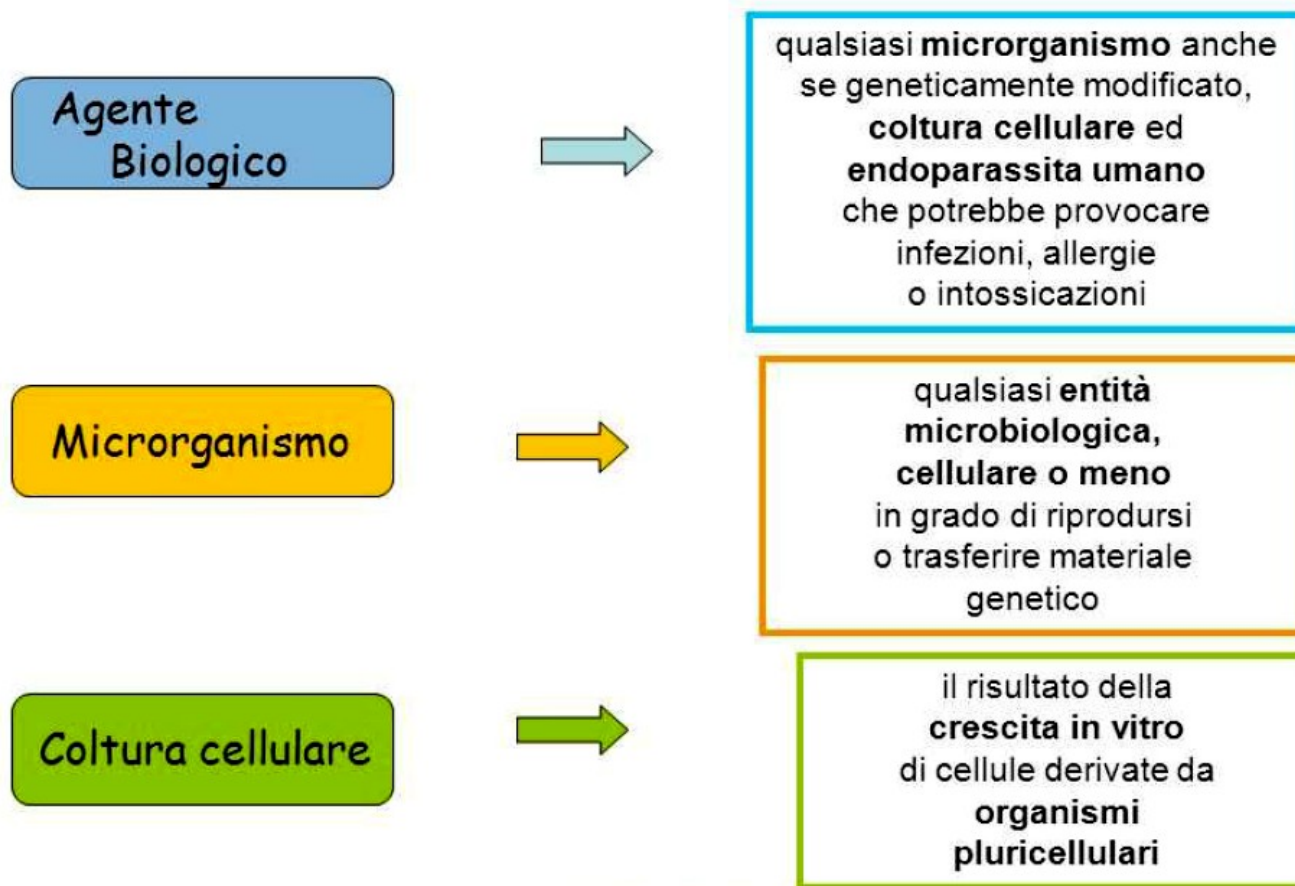
TITOLO X - ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI

D.Lgs. 09 aprile 2008 n. 81

TITOLO X - ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI

CAPO I - DISPOSIZIONI GENERALI

Art.267 - Definizioni

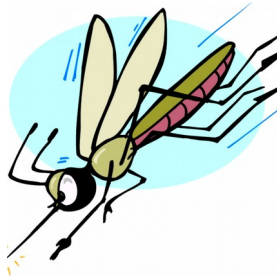


CRITERI DI CLASSIFICAZIONE DEGLI AGENTI BIOLOGICI

- ◆ **Patogenicità del microrganismo**



- ◆ **Modalità di trasmissione del microrganismo**



- ◆ **Disponibilità di efficaci misure preventive**

- ◆ **Disponibilità di terapie efficaci**



TITOLO X - ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI

D.Lgs. 09 aprile 2008 n. 81

TITOLO X - ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI

CAPO I - DISPOSIZIONI GENERALI Art.268 Classificazione agenti biologici

Tabella 1. Classificazione dei microrganismi infettivi per gruppo di rischio

Gruppo di rischio 1 *(nessun rischio, o basso rischio individuale e collettivo)*

Un microrganismo che difficilmente è causa di malattia nell'uomo o negli animali.

Gruppo di rischio 2 *(moderato rischio individuale, basso rischio collettivo)*

Un patogeno che può causare malattia nell'uomo o negli animali, ma che difficilmente pone un serio pericolo per il personale di laboratorio, la collettività, il bestiame o l'ambiente. L'esposizione in laboratorio può causare infezione grave, esistono misure preventive e terapie efficaci ed il rischio di diffusione dell'infezione è limitato.

Gruppo di rischio 3 *(elevato rischio individuale, basso rischio collettivo)*

Un patogeno che di solito è causa di grave malattia nell'uomo o negli animali ma che normalmente non si trasmette da un individuo infetto ad un altro. Esistono misure preventive e terapie efficaci.

Gruppo di rischio 4 *(elevato rischio individuale e collettivo)*

Un patogeno che usualmente provoca gravi malattie nell'uomo o negli animali e che può essere trasmesso da un individuo all'altro, per via diretta o indiretta. Non sono disponibili efficaci misure preventive o terapie.

da "Manuale di sicurezza nei laboratori" - ISPESL





ALLEGATO XLVI
ELENCO DEGLI AGENTI BIOLOGICI CLASSIFICATI

ALLEGATO XLVI ELENCO DEGLI AGENTI BIOLOGICI CLASSIFICATI

- ➔ 1. Sono inclusi nella classificazione unicamente gli agenti di cui è noto che possono provocare malattie infettive in soggetti umani.
I rischi tossico ovvero allergenico eventualmente presenti sono indicati a fianco di ciascun agente in apposita colonna.
- ➔ Non sono stati presi in considerazione gli agenti patogeni di animali e piante di cui è noto che non hanno effetto sull'uomo.
In sede di compilazione di questo primo elenco di agenti biologici classificati non si è tenuto conto dei microrganismi geneticamente modificati.
- ➔ 2. La classificazione degli agenti biologici si basa sull'effetto esercitato dagli stessi su lavoratori sani.
Essa non tiene conto dei particolari effetti sui lavoratori la cui sensibilità potrebbe essere modificata, da altre cause quali malattia preesistente, uso di medicinali, immunità compromessa, stato di gravidanza o allattamento, fattori dei quali è tenuto conto nella sorveglianza sanitaria di cui all'[articolo 41](#).
- 3. Gli agenti biologici che non sono stati inclusi nel [gruppi 2, 3, 4](#) dell'elenco non sono implicitamente inseriti nel [gruppo 1](#).



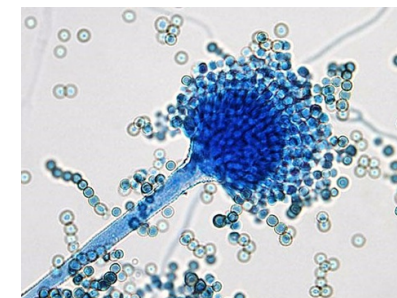
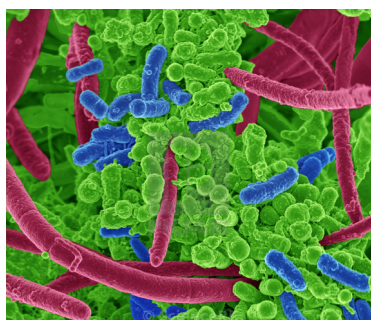


ALLEGATO XLVI

ELENCO DEGLI AGENTI BIOLOGICI CLASSIFICATI

D.Lgs. 09 aprile 2008 n. 81

| | |
|--|------------|
| ALLEGATO XLVI | 157 |
| ELENCO DEGLI AGENTI BIOLOGICI CLASSIFICATI..... | 157 |
| BATTERI e organismi simili | 158 |
| VIRUS..... | 160 |
| PARASSITI..... | 163 |
| FUNGHI..... | 164 |



A: possibili effetti allergici;

D: l'elenco dei lavoratori che hanno operato con detti agenti dove essere conservato per almeno dieci anni dalla cessazione dell'ultima attività comportante rischio di esposizione;

T: produzione di tossine;

V: vaccino efficace disponibile.



| Agente biologico | Classificazione | Rilievi |
|---------------------------------------|-----------------|---------|
| <i>Clostridium botulinum</i> | 2 | T |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 2 | |
| <i>Clostridium tetani</i> | 2 | T,V |
| <i>Clostridium</i> spp. | 2 | |
| <i>Mycobacterium microti</i> | 3 (**) | |
| <i>Mycobacterium paratuberculosis</i> | 2 | |
| <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> | 2 | |
| <i>Mycobacterium simiae</i> | 2 | |
| <i>Mycobacterium szulgai</i> | 2 | |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 3 | V |
| <i>Mycobacterium ulcerans</i> | 3 (**) | |

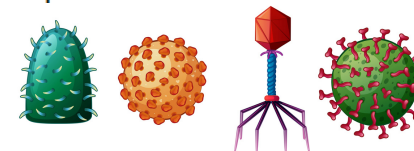


A: possibili effetti allergici;

D: l'elenco dei lavoratori che hanno operato con detti agenti dove essere conservato per almeno dieci anni dalla cessazione dell'ultima attività comportante rischio di esposizione;

T: produzione di tossine;

V: vaccino efficace disponibile.



| Agente biologico | Classificazione | Rilievi |
|--|-----------------|---------|
| Flaviviridae: | | |
| Encefalite d'Australia (Encefalite della Valle Murray) | 3 | |
| Virus dell'encefalite da zecca dell'Europa Centrale | 3(**) | V |
| Absettarov | 3 | |
| Hanzalova | 3 | |
| Hypr | 3 | |
| Kumlinge | 3 | |
| Virus della dengue tipi 1-4 | 3 | |
| Virus dell'epatite C | 3(**) | D |
| Virus dell'epatite G | 3(**) | D |
| Encefalite B giapponese | 3 | V |

4. Quando un ceppo è attenuato o ha perso geni notoriamente virulenti, il contenimento richiesto dalla classificazione del ceppo parentale non è necessariamente applicato a meno che la valutazione del rischio da esso rappresentato sul luogo di lavoro non lo richieda.

6. Taluni agenti classificati nel [gruppo 3](#) ed indicati con doppio asterisco (**) nell'elenco allegato possono comportare un rischio di infezione limitato perché normalmente non sono veicolati dall'aria.

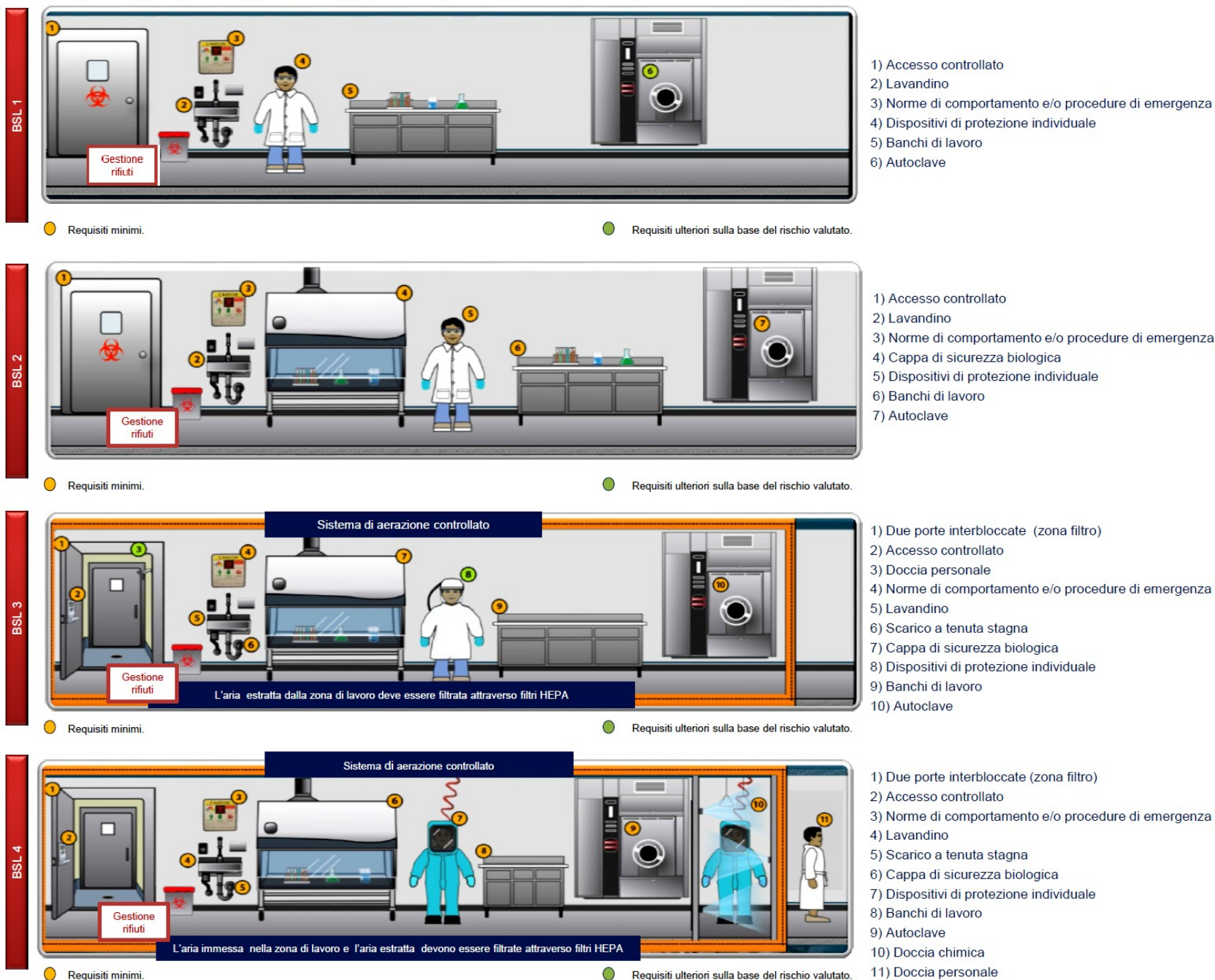


CLASSIFICAZIONE DEI LABORATORI

Tabella 2. *Gruppi di rischio per Livello di Biosicurezza*

| Gruppo | Livello di Biosicurezza | Tipo di Laboratorio | Pratiche | Attrezzature |
|--------|-----------------------------------|------------------------------------|---|--|
| 1 | Base Livello 1 | Insegnamento di base, ricerca | Buona pratica di laboratorio | Nessuna, banco da lavoro |
| 2 | Base Livello 2 | Diagnostica di base, ricerca | Buona pratica di laboratorio più Dispositivi di protezione Individuali (DPI) e segnale di pericolo | Banco da lavoro più Cappe di sicurezza per le procedure che producono aerosol |
| 3 | Contenimento Livello 3 | Diagnostica specialistica, ricerca | Come Livello 2 più DPI speciali, accesso controllato, ventilazione senza ricircolo | Cappe di sicurezza per tutte le procedure |
| 4 | Massimo contenimento Livello 4 | Patogeni pericolosi | Come Livello 3 più ingresso autorizzato, doccia di decontaminazione, adeguato sistema di smaltimento dei materiali monouso come rifiuti | Cappe di sicurezza di classe III (glove-box) o Tute pressurizzate con Cappe di classe II, più autoclave passante e sistema di ventilazione con filtri assoluti |





DISPOSITIVI DI PROTEZIONE INDIVIDUALE

Tabella 11. *Apparecchiature per la sicurezza biologica*

| Apparecchiatura | Rischio eliminato | Caratteristiche di sicurezza |
|-------------------------------------|--------------------------------------|--|
| Tute, divise, camici da laboratorio | Contaminazione degli abiti | <ul style="list-style-type: none"> • Apertura posteriore • Copre gli abiti civili |
| Grembiuli plastificati | Contaminazione degli abiti | <ul style="list-style-type: none"> • Impermeabilizzati |
| Calzari | Impatto e schizzi | <ul style="list-style-type: none"> • Chiusura ermetica |
| Occhiali | Contatto e schizzi | <ul style="list-style-type: none"> • Lenti resistenti all'impatto (devono essere corretti otticamente o indossati sopra gli occhiali da vista) • Schermi laterali |
| Schermi facciali | Impatto e schizzi | <ul style="list-style-type: none"> • Scherma il viso intero • Facilmente rimuovibile in caso di incidente |
| Maschere, respiratori | Inalazione di aerosol | <ul style="list-style-type: none"> • Sono disponibili maschere monouso; maschere capaci di proteggere a metà o totalmente il viso e purificare l'aria attraverso filtri, maschere pieno facciali, respiratori riforniti di aria |
| Guanti | Contatti diretti con i microrganismi | <ul style="list-style-type: none"> • Latex, Vinile o Nitrile testati per la tenuta ai microrganismi • Protezione delle mani |
| | Tagli | |





DECONTAMINAZIONE

- ◆ Procedura che elimina o riduce gli agenti biologici e le tossine a livelli di sicurezza rispetto al rischio di trasmissione di infezioni o di altri effetti avversi

→ Obiettivi:

- ◆ tutelare gli operatori , gli addetti al trasporto e al lavaggio del materiale contaminato
- ◆ prevenire la contaminazione ambientale
- ◆ ridurre la presenza di microrganismi sul materiale, sulle superfici, sulle strumentazioni da trattare
- ◆ facilitare le operazioni di pulizia
- ◆ favorire le successive operazioni di disinfezione



→ Modalità di azione:

- ◆ Pulizia
- ◆ Disinfezione
- ◆ Sterilizzazione





DISINFEZIONE

- ♦ **BIOCIDA:** composto che inattiva **TUTTI** i microrganismi viventi (patogeni e non) spore incluse
battericida, fungicida, virucida, sporicida
- ♦ **BIOSTATICO:** composto che impedisce la crescita dei microrganismi, non necessariamente inattivandoli
batteriostatico, fungistatico, virustatico

La disinfezione può essere effettuata tramite:

- ♦ **AGENTI FISICI** (calore, radiazioni)
- ♦ **AGENTI CHIMICI**
 - ✓ Ossidanti (H_2O_2)
 - ✓ Alogeni (cloro, iodio)
 - ✓ Alcoli (etilico, isopropilico)
 - ✓ Aldeidi
 - ✓ Fenoli
 - ✓ Sali quaternari di ammonio
 - ✓ Composti del cloro





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Decontaminazione delle aree di lavoro condivise per le attività di diagnostica molecolare

Gli Istituti Zooprofilattici Italiani, la FAO (Food and Agriculture Organization), la WHO (World Health Organization), l'EPA (Environmental Protection Agency) hanno inserito nei propri protocolli di disinfezione, sia per uso umano che veterinario, il Rely+On Virkon®



Sistema perossidico biodegradabile acido con azione combinata biocida e
detergente



**PROPRIETA' DI-
SINFETTANTE
IDEALE**

DISINFETTANTI

| | Aldeidi | Ipocloriti | NaDCC | Alcoli | QUACs | Fenoli sintetici | Clorexidina | Acido Pe- racetico | Virkon |
|------------------------------|---------|------------|-------|--------|-------|---------------------|-------------|-----------------------|--------|
| SPETTRO TOTALE | + | + | + | - | - | - | - | + | + |
| VELOCITA' D'AZIONE | - | + | + | + | - | - | - | + | + |
| PULIZIA + DISINFESTAZIONE | - | - | - | - | + | - | - | - | + |
| SICUREZZA PERSONALE | - | +/- | +/- | + | + | + | + | - | + |
| SICUREZZA MATERIALI | +/- | - | - | - | + | - | - | - | +/- |
| USO MULTIPLO | - | - | - | - | - | - | - | - | + |
| RESISTENZA AL MATER.ORGANICO | - | - | - | - | + | - | - | + | + |
| SEMPLICITA' D'USO | - | +/- | +/- | - | + | - | - | - | + |



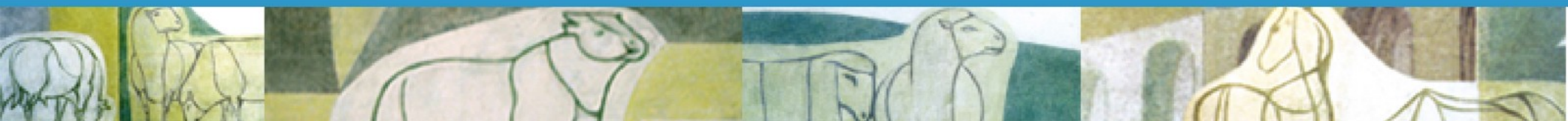
Rely+On Virkon®

- ◆ Ampio spettro di azione
- ◆ Elevato potere battericida
- ◆ NON tossico per l'uomo alle concentrazioni di utilizzo
- ◆ Rapida azione e Lunga persistenza
- ◆ Buon potere di penetrazione
- ◆ Facile maneggevolezza
- ◆ Costo contenuto
- ◆ Non corrosivo



| MICROORGANISMI | VIRKON | TEMPI | RIDUZ. |
|-------------------------|-------------------|-------|----------|
| Batteri Gram + e Gram - | 1% | 05' | > 6 Log. |
| Forme non vegetative | 1% | 10' | 5 Log. |
| Micobatteri | 3% in fisiologica | 20' | 5 Log. |
| Miceti | 1% | 10' | > 6 Log. |
| Virus | 1% | 10' | > 5 Log. |

(da scheda di Registr. Ministero della Sanità)





Rely+On™ PeraSafe®

- ◆ Disinfettante di Alto Livello Per Dispositivi Medici
- ◆ Composizione: acido peracetico e perossido d'idrogeno
- ◆ Utilizzato per strumenti e superfici in acciaio
- ◆ Elevata azione biocida
- ◆ Ampio spettro di azione
- ◆ NON tossico per l'uomo alle concentrazioni di utilizzo
- ◆ Rapida azione
- ◆ Facile maneggevolezza
- ◆ Costo contenuto
- ◆ Non corrosivo



| campo di applicazione | dose di utilizzo grammi prodotto / litri acqua | tempo di immersione (min.) |
|--------------------------|--|-------------------------------|
| decontaminazione | 16,2 / 2 | 10 |

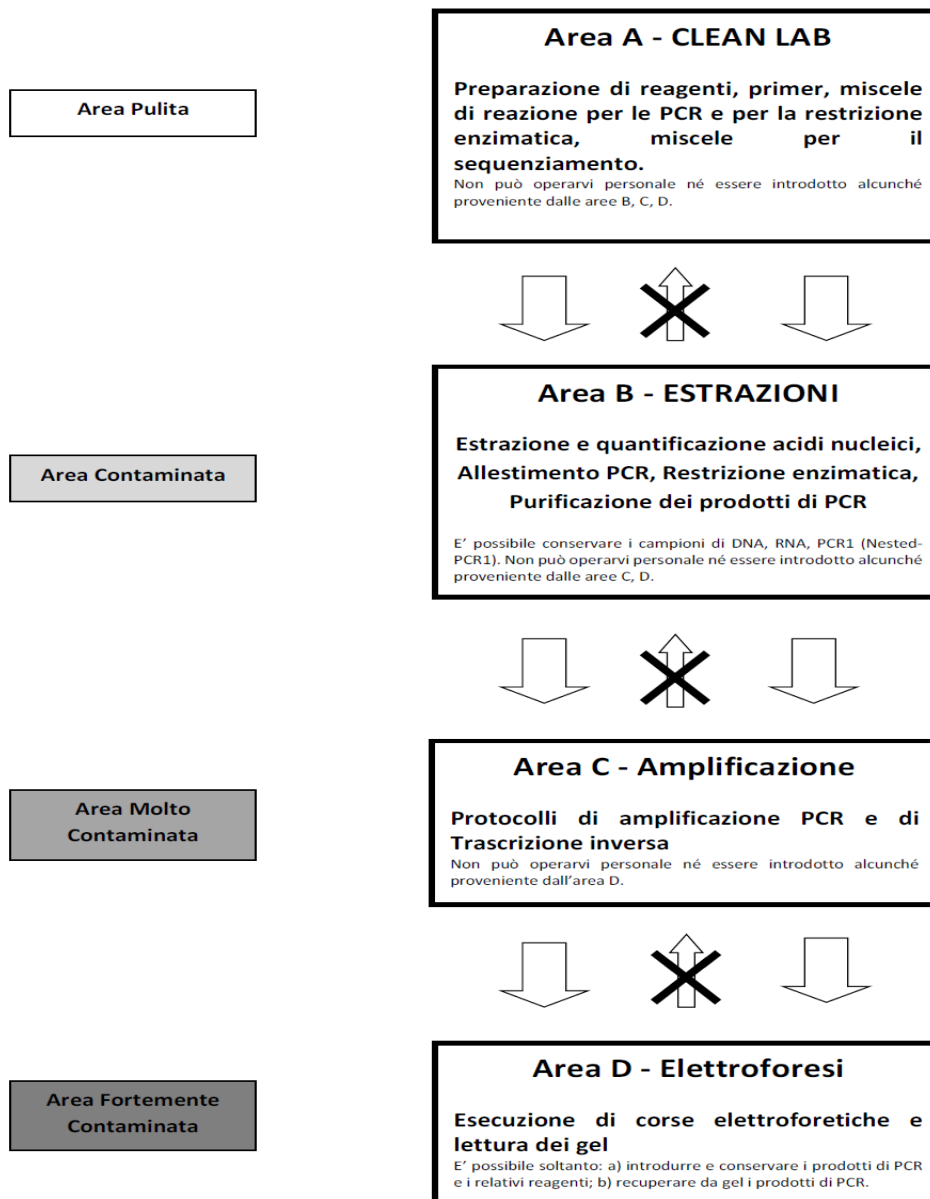
>5 log₁₀ *Bacillus subtilis* var. *niger* spore

>5 log₁₀ *Mycobacterium terrae*





FLUSSO DELLE ATTIVITA' da PG VIR 003





| AREA DI PROVA | PUNTI CRITICI | AZIONI DI PREVENZIONE |
|--|---|--|
| CleanLab | Contaminazioni | Specifiche norme di comportamento da parte del personale e specifiche soluzioni tecniche (divieto di introduzione di matrici, campioni e materiali provenienti dalle altre aree di prova). |
| Area preparazione dei campioni e materiali di riferimento | Contaminazioni, sicurezza e biocontenimento | Rispetto delle BPL, inattivazione di campioni a rischio biologico |
| Area estrazione acidi nucleici, allestimento reazioni PCR, restrizione enzimatica, purificazione dei prodotti di PCR | Contaminazioni, sicurezza e biocontenimento | Rispetto delle BPL |
| Area PCR | Contenimento delle contaminazioni e benessere del personale (calore, rumore e radiazioni elettromagnetiche) | I materiali di questa area non vengono trasferiti se non verso l'area elettroforesi o per lo smaltimento. Il caricamento dei dati e l'analisi delle corse avviene su PC posti al di fuori dell'area in modo da proteggere gli operatori da calore, rumore e radiazioni elettromagnetiche |
| Elettroforesi | Contenimento delle contaminazioni e protezione degli operatori da sostanze tossiche e irritanti | Utilizzo di metodi alternativi all'elettroforesi su gel. Buona ventilazione delle aree di lavoro e uso di cappe chimiche quando necessario |



Contaminazioni e relative misure di contenimento

AREA A – Clean LAB

CONTAMINAZIONE DEI REAGENTI

- Prima di svitare le provette dei reagenti per l'allestimento delle miscele di reazione, centrifugare per qualche secondo utilizzando la funzione “short spin” allo scopo di eliminare le tracce di liquidi o condensa dal tappo
- Se possibile aliquotare i reagenti in miscele ready to use



Contaminazioni e relative misure di contenimento

AREA B - Estrazioni

Le matrici devono essere precedentemente trattate prima dell'introduzione nelle aree condivise

Sanificazione e decontaminazione ordinaria delle superfici:

- soluzione di etanolo 70%,
- o soluzione Rely+On™ Virkon™ 1%,
- o soluzione Rely+On™ Perafase™ 1,62%,
- o ipoclorito di sodio 0,5%

Imbibire con abbondante disinfettante un panno di carta monouso e distribuire su tutta la superficie da sanificare in modo tale da creare uniformemente un sottile film di disinfettante. Lasciare agire per almeno 15 minuti prima di utilizzare la superficie in oggetto.



Contaminazioni e relative misure di contenimento

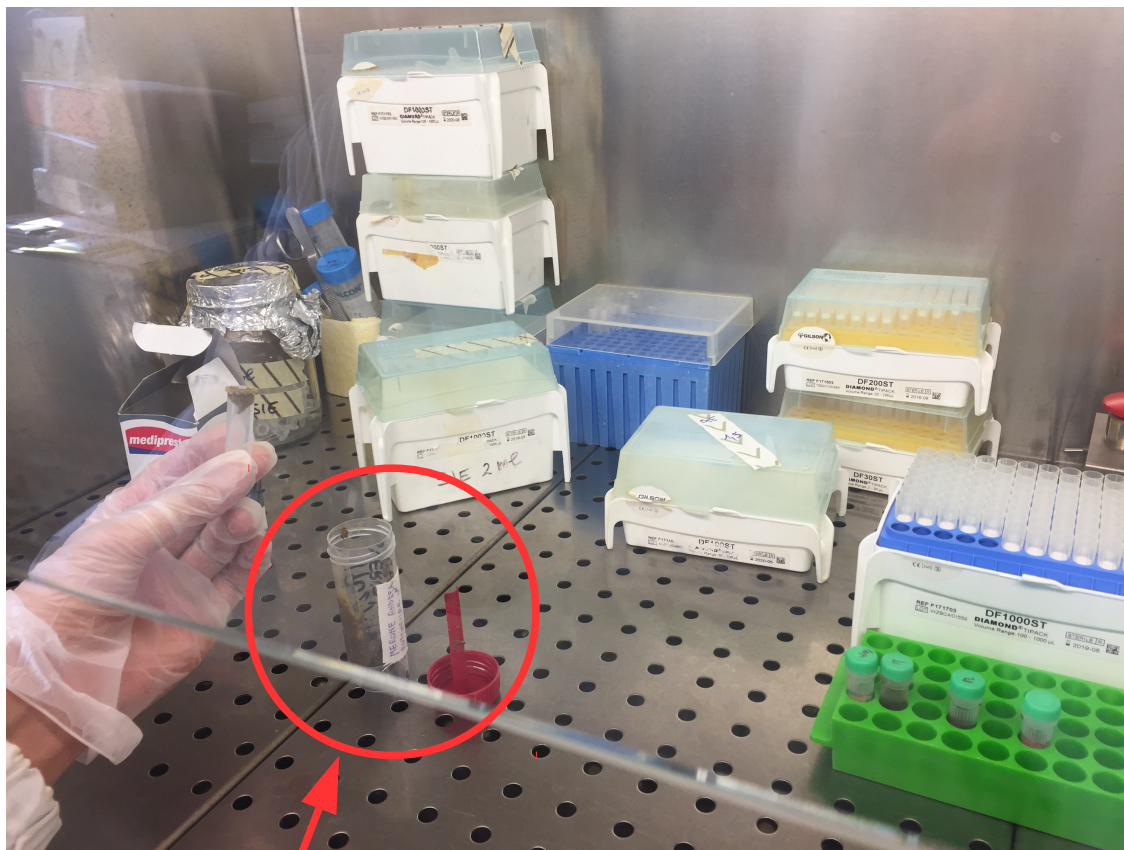
AREA B - Estrazioni

Decontaminazione delle apparecchiature:

- ◆ Soluzione di Rely+On Perafase™ 1,62% e
- ◆ Soluzione di etanolo 70%
- ◆ frequenza riportata nelle IM
- ◆ Lasciar agire per 15 min prima dell'uso

Cappe:

- Strumentazione e materiali ridotti al minimo e posizionati nella parte posteriore del piano di lavoro
- Griglia anteriore libera per non ostacolare il flusso laminare
- Al termine delle operazioni svuotare la cappa ed effettuare opportuna decontaminazione
- Spegnere flusso d'aria, chiudere portellone e accendere lampada U.V.
- A fine giornata rimuovere le griglie e disinfettare la vasca sottostante il piano di lavoro



NON NELLE AREE CONDIVISE





Contaminazioni e relative misure di contenimento

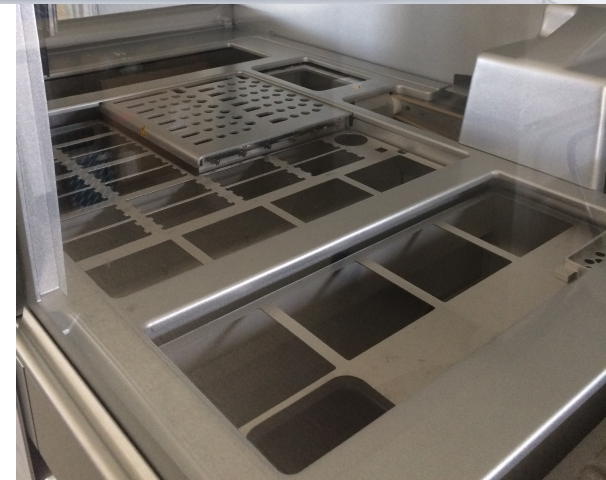
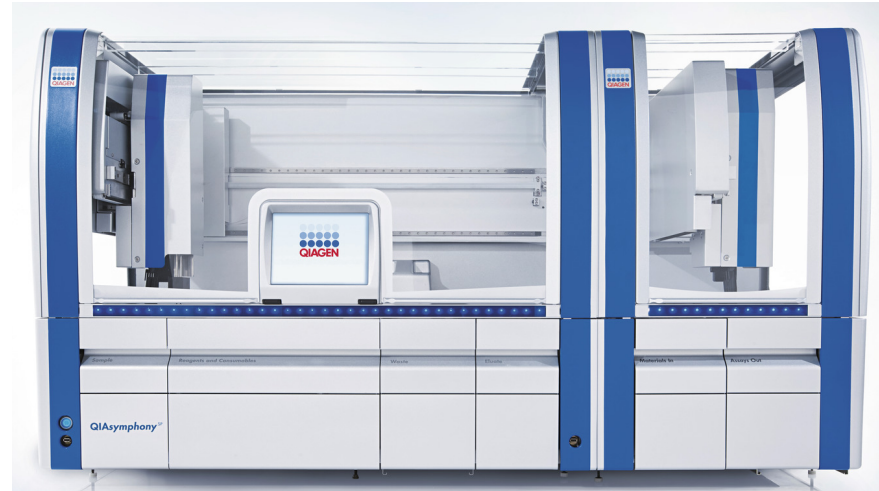
AREA B – Estrazioni QIASYMPHONY

Decontaminazione:

1. Rimuovere cartucce, contenitori per puntali e per raccolta liquidi
2. Eliminare sacco per scarti
3. Lavaggio con etanolo al 90%
4. Trattamento con luce UV per 45 minuti in dotazione ed interna all'apparecchiatura

Da Istruzioni per l'uso del kit QIAasympphony:

- ✓ accertarsi di pulire regolarmente i paragoccia dei puntali per minimizzare il rischio di cross-contaminazione





Contaminazioni e relative misure di contenimento

AREA C - Amplificazioni

Decontaminazione delle apparecchiature:

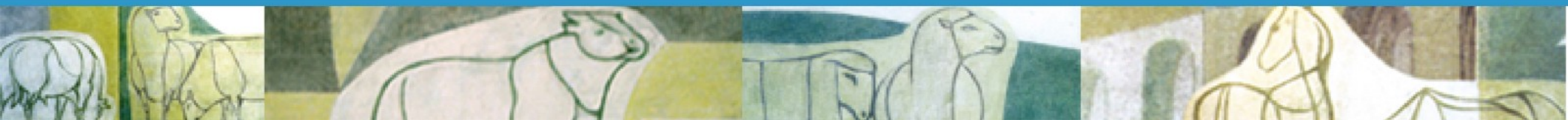
- ◆ Soluzione di Rely+On Perafase™ 1,62% e
- ◆ Soluzione di etanolo 70%
- ◆ frequenza riportata nelle IM
- ◆ Lasciar agire per 15 min prima dell'uso

► In caso di contaminazione del blocco termico in strumentazione per PCR end-point:

- ◆ Tampone imbibito con:
- ◆ soluzione di ipoclorito di sodio 0,5% ,
- ◆ e soluzione etanolo 70% ,
- ◆ poi risciacquo con acqua distillata

► In caso di contaminazione del blocco termico in strumentazione per PCR:

- ◆ contattare servizi tecnici



Contaminazioni e relative misure di contenimento

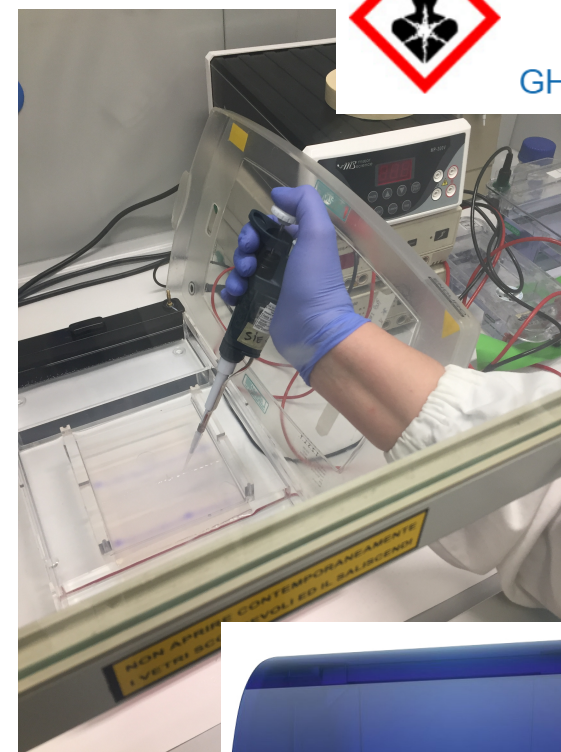
AREA D - Elettroforesi

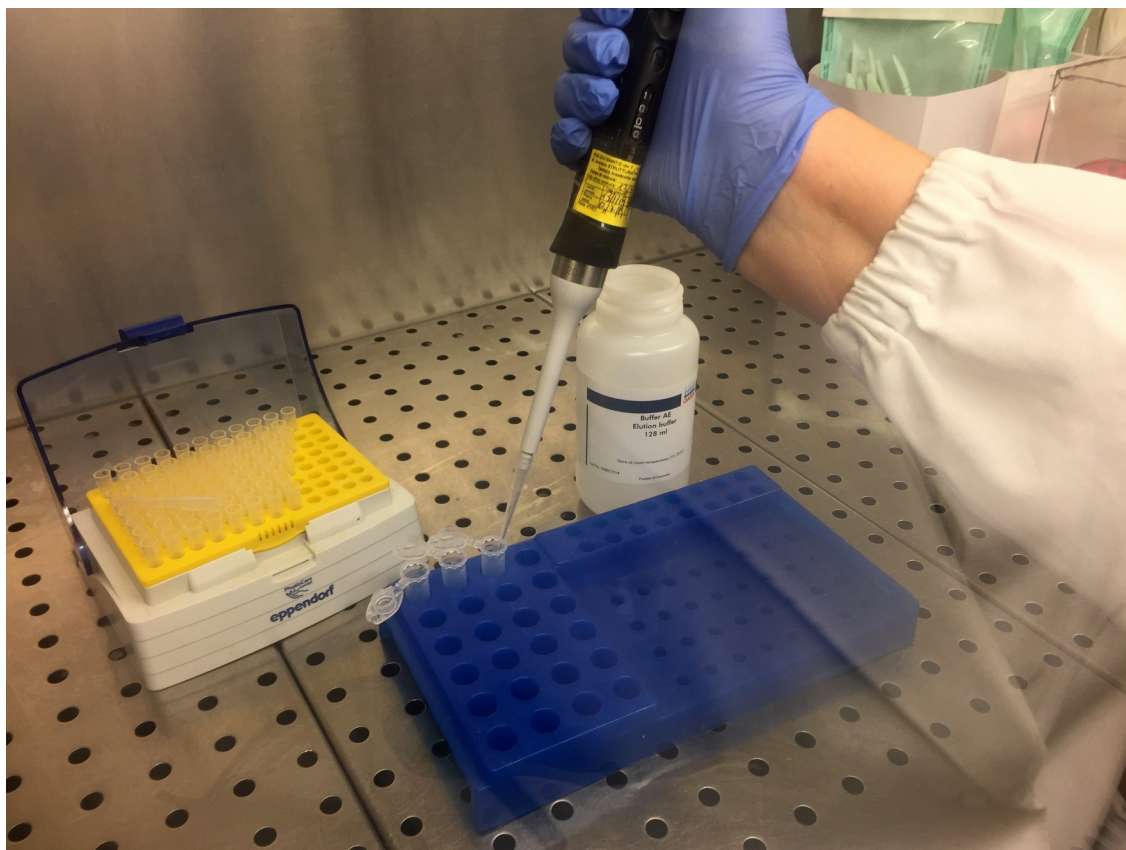
Decontaminazione delle cappe chimiche:

- ◆ Lavaggio con Soluzione di etanolo 70% e quindi con acqua distillata
- ✓ In caso di sversamento di reagente limitarne il flusso
- ✓ Reperire la scheda di sicurezza dell'agente chimico sversato
- ✓ Se necessario ventilare l'area aprendo finestre e porte
- ◆ Cappe chimiche: Usate solo per elettroforesi in gel di agarosio
- ◆ Elettroforesi capillare: QIAxcel è un sistema chiuso e non necessita di procedure di decontaminazione



GHS08





Decontaminazione delle micropipette:

Lavaggio con:

1. ipoclorito di sodio 0,5%
2. soluzione di etanolo 70%
3. Acqua distillata

Decontaminazione straordinaria delle micropipette:

- Smontare della pipetta secondo istruzioni
- Autoclavare porzione in plastica
- Rimontare tutte le porzioni
- Effettuare test di taratura prima dell'uso





Decontaminazione di materiale monouso:

1. Immersione in soluzione Rely+On™ Virkon™ 1% per 15 min
2. Eliminazione in contenitori monouso per rifiuti a rischio

Decontaminazione di materiale di vetro:

1. Immersione in soluzione Rely+On™ Virkon™ 1% o di ipoclorito di sodio 0,5% per 15 min
2. Risciacquare con acqua e sottoporre a sterilizzazione

Decontaminazione di utensili:

1. Immersione in soluzione Rely+On™ Virkon™ 1% o di ipoclorito di sodio 0,5% per 15 min, max 30 min
2. Risciacquare con acqua e se necessario sottoporre a sterilizzazione





N.B.: Utilizzare provette e flaconi integri,
con adeguata resistenza e contenimento

Decontaminazione delle centrifughe:

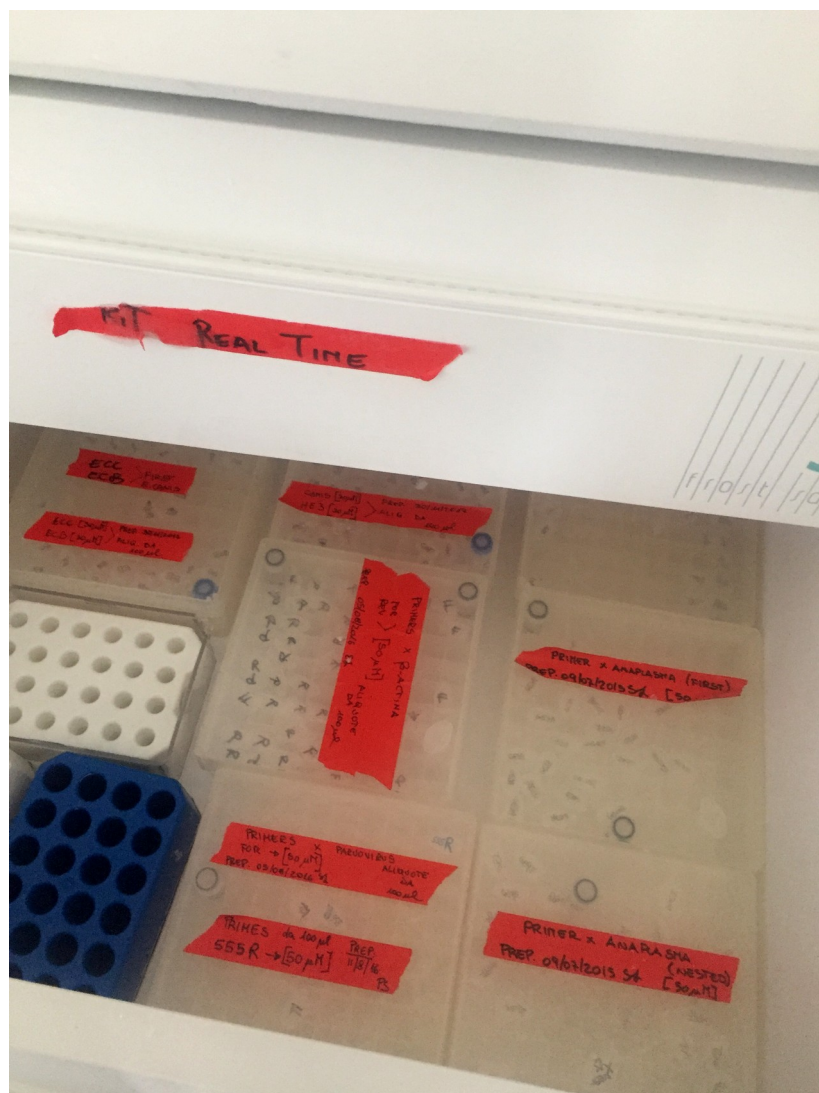
Lavaggio parte esterna con:

- ◆ Soluzione di Rely+On Perafase™ 1,62% e
- ◆ Soluzione di etanolo 70%
- ◆ Risciacquare con acqua distillata

In caso di formazione di incrostazioni:

- ◆ Smontare rotore
- ◆ Pulire interno centrifuga e rotore con
soluzione di etanolo 70%
- ◆ Risciacquare con acqua distillata





Decontaminazione frigo e congelatori:

Lavaggio con:

- ◆ Soluzione di Rely+On Perafase™ 1,62% e
 - ◆ Soluzione di etanolo 70%
 - ◆ Risciacquare con acqua distillata
 - ◆ Dopo pulizia asciugare per evitare la formazione repentina di ghiaccio
-
- ✓ Utilizzo supporti che evitino il rovesciamento dei campioni
 - ✓ Verificare la corretta chiusura degli sportelli
 - ✓ In caso di congelatori evitare di riempire completamente le provette





Utilizzo di moduli allegati 1

PG VIR 009/5 rev. 0

AREA CONTAMINATA DIVIETO DI ACCESSO

Data _____ ora _____

Apposto da _____ (nome e cognome per esteso)

Firma _____

Note _____

da PG VIR 009



PG VIR 009/4: quaderno giornaliero di utilizzo, pulizia e manutenzione delle apparecchiature

[illegible]

Contaminazioni e relative misure di contenimento

| RISCHIO | AZIONE PREVENTIVA | AZIONE CORRETTIVA |
|--|-------------------|---|
| Spandimento accidentale di materiale biologico | / | <ul style="list-style-type: none"> • Segnalare la zona di spandimento • Indossare due paia di guanti o un paio di quelli in gomma (nel caso ci siano vetri rotti) e, se necessario, anche soprascarpe, mascherina, schermo protettivo. • Coprire lo spandimento con carta assorbente imbevuta di idoneo disinfettante • Lasciare agire per 30 minuti; • Rimuovere i residui di materiale infetto utilizzando attrezzi adeguati (pinze, scopa e paletta); non usare le mani anche se protette da guanti. • Smaltire i frammenti taglienti nell'apposito contenitore rigido • L'altro materiale utilizzato per contenere lo spandimento sarà considerato rifiuto pericoloso a rischio infettivo e smaltito in idonei contenitori per la raccolta dei rifiuti speciali di tipo sanitario (ROT) • Successivamente lavare l'area con detergente/disinfettante. • Lasciare agire per il tempo indicato |

da PG QUA 008



| RISCHIO | AZIONE PREVENTIVA | AZIONE CORRETTIVA |
|---|---|--|
| Produzione di aerosol dalle operazioni di pipettatura | Per non rischiare la dispersione accidentale di materiale infetto, occorre evitare accuratamente l'eliminazione forzata dell'ultima goccia di liquido dalla pipetta ed il contatto della punta della pipetta umida con il tappo e l'orlo della provetta contenente materiali infetti o colture liquide. | <ul style="list-style-type: none"> Disinfettare la superficie di lavoro utilizzando una soluzione di ipoclorito di sodio 0,5%, Imbibire un panno di carta monouso con abbondante disinfettante e distribuire su tutta la superficie da sanificare in modo da distribuire uniformemente un sottile film di disinfettante. Lasciare agire per almeno 30 minuti; Risciacquare accuratamente con acqua Asciugare con carta assorbente |





| RISCHIO | AZIONE PREVENTIVA | AZIONE CORRETTIVA |
|--|-------------------|---|
| Sversamento di materiale potenzialmente infetto all'interno della cappa di sicurezza biologica | / | <ul style="list-style-type: none">• Lasciare la cappa in funzione durante la decontaminazione• Indossare i guanti (due paia) e la mascherina di protezione,• Fare assorbire con carta il liquido sversato, eliminare la carta in contenitori per rifiuti speciali (ROT)• Lavare con disinfettante tutto il piano della cappa, togliere le griglie, facendo attenzione ad eventuali bordi taglienti, e pulirle con della carta imbevuta di disinfettante eliminare la carta in contenitori per rifiuti speciali• Attendere 30 minuti |





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Decontaminazione delle aree di lavoro condivise per le attività di diagnostica molecolare

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

BIOSAFETY

