

**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
DEL LAZIO E DELLA TOSCANA M. ALEANDRI**

DELIBERAZIONE DEL DIRETTORE GENERALE

n.717..... del31/12/2018.....

OGGETTO: "Progetto di gestione e coordinamento di attività comuni di diagnostica molecolare delle strutture della sede centrale e delle sedi periferiche attraverso specifici accordi di lavoro"

Proposta di deliberazione n. 44/USD del 20/12/2018

Direttore Sanitario

L'Estensore Dr. Gian Luca Autorino

Il Responsabile del procedimento Dr. Gian Luca Autorino

Il Direttore Sanitario dott. Andrea Leto

Il Direttore della UOC Diagnosi delle malattie virali e delle Leptosirosi dott. Gian Luca Autorino

Visto di regolarità contabile.....n. di prenot.

Parere del Direttore Amministrativo
Avv. Mauro Pirazzoli

Favorevole Non favorevole

Parere del Direttore Sanitario
Dott. Andrea Leto

Favorevole Non favorevole

Allegati: 3

IL DIRETTORE GENERALE

Dott. Ugo Della Marra



IL DIRETTORE SANITARIO

Dott. Andrea Leto

IL DIRETTORE DELL'UFFICIO DI STAFF BIOTECNOLOGIE

Dott. Gian Luca Autorino

Oggetto: “Progetto di gestione e coordinamento di attività comuni di diagnostica molecolare delle strutture della sede centrale e delle sedi periferiche attraverso specifici accordi di lavoro”

PREMESSO

- che con deliberazione del Direttore Generale n. 556/2017 è stato approvato il Regolamento per l'ordinamento dei servizi dell'Istituto Zooprofilattico sperimentale del Lazio e della Toscana;
- che nella sezione 17 dell'allegato 1 di detto Regolamento è previsto che la Direzione Operativa Virologia ... *omissis* ... “effettua e gestisce le attività di diagnostica molecolare per le altre strutture delle sedi centrali e periferiche attraverso specifici accordi di lavoro”;
- che, con l'obiettivo di rendere maggiormente omogenee le attività di estrazione degli acidi nucleici e razionalizzare i costi dei materiali impiegati, a partire dal secondo semestre del 2017, su richiesta della Direzione Sanitaria, è stata acquisita in prova un'apparecchiatura ad alta processività da impiegare in comune fra le differenti strutture potenzialmente utilizzatrici;
- che tale esperienza ha creato le condizioni per favorire la consapevolezza fra operatori di differenti strutture per condividere processi produttivi e operativi comuni, anche ottimizzando gli spazi attraverso l'aggregazione di attività omogenee;
- che a seguito dell'identificazione delle attività ordinarie e straordinarie di diagnostica molecolare della sede di Roma è stata condotta, da parte del gruppo di lavoro cui hanno partecipato dirigenti di tutte le strutture (di seguito identificato come gruppo) ed il responsabile della sicurezza e della qualità dell'Istituto, una verifica sulla possibilità di riallocare e riorganizzare le attività e gli strumenti tendo conto degli spazi attualmente disponibili;
- che, con note del Direttore Sanitario n.n. Protocollo 3233/18 e 33549/18 rispettivamente del 26 aprile e 10 maggio veniva richiesto: a) di identificare le modalità organizzative del lavoro, anche mediante l'attribuzione del coordinamento ad un incarico di alta professionalità; b) di predisporre una procedura gestionale che definisca responsabilità e competenze, gestione della sicurezza, norme di comportamento degli operatori, gestione delle aree di prova e dei flussi analitici nonché degli approvvigionamenti di materiali di consumo comuni a più strutture;

- che in prima applicazione, sino a completamento delle opere di ristrutturazione, le aree di lavoro individuate sono quelle indicate come A, B, C e C bis presso il Piano secondo dell'edificio 4 e D della Direzione Operativa Chimica del complesso di Roma (Allegato 1);
- che nella fase, successiva all' *“Adeguamento alle norme di sicurezza sui luoghi di lavoro e di prevenzione incendi della palazzina 4 del complesso di Roma”* il gruppo, di comune accordo con i responsabili delle strutture che attualmente occupano le aree di lavoro del secondo piano dell'edificio, ha individuato spazi adeguati e funzionali per garantire attività comuni con flussi rispondenti alle esigenze delle buone pratiche di laboratorio nella diagnostica molecolare (Allegato 2);

PRESO ATTO

- che rispetto all'attuale organizzazione e nella prospettiva di attuazione del Regolamento 556/2017 le aree di lavoro individuate (Allegato 1) garantiscono la possibilità di riorganizzare le attività di diagnostica molecolare in spazi e con attrezzature condivise in condizioni operative migliori rispetto a quelle attualmente disponibili;
- che gli adeguamenti strutturali proposti nel Progetto definitivo di adeguamento e ristrutturazione del Piano secondo dell'edificio 4 del complesso di Roma citati in premessa (Allegato 2), sono funzionali allo svolgimento delle attività trasversali di diagnostica molecolare;
- di quanto concordato nel corso della riunione tenuta in data 6 dicembre 2018 in cui veniva:
 - a) approvata la bozza di Procedura gestionale (PG VIR 009 rev. 0 - Manuale operativo per la gestione delle aree di prova comuni ed attività di diagnostica molecolare) di seguito nominata come *“Manuale operativo”*;
 - b) valutata l'importanza di presentare il progetto e la PG VIR 009 rev. 0 al personale del comparto;
 - c) richiamata la necessità di pianificare la formazione specifica degli operatori, coinvolgendo anche altre Strutture non ancora coinvolte nel progetto, comprese le Sezioni Territoriali che comunque manterranno la propria autonomia operativa;
 - d) definito di valutare gli aspetti amministrativi per la gestione dei materiali e reagenti in comune, considerando la possibilità di creare un apposito Centro di Costo, anche mediante il coinvolgimento degli uffici competenti;

- e) organizzare una simulazione operativa (programmazione delle attività, turni degli operatori, materiale e apparecchiature) per verificare se il sistema descritto nella PG VIR 009 rev.0 sia efficiente e funzionale;
- f) organizzare operativamente, congiuntamente al responsabile della Direzione tecnica e patrimoniale gli spostamenti delle apparecchiature scientifiche e la riallocazione delle attività della Sierologia, previa verifica del carico delle apparecchiature in relazione alle caratteristiche di staticità delle aree di lavoro individuate e degli assorbimenti elettrici nelle singole aree di prova;
- che a seguito della richiesta formulata dal Direttore Sanitario di individuare la persona cui attribuire l'incarico di elevata professionalità nell'ambito della Direzione Operativa Virologia cui attribuire le funzioni di coordinamento, il Dott. Gian Luca Autorino propone la Dott.ssa Antonella Cersini per le specifiche competenze maturate nel corso degli anni anche in attività trasversali e per le spiccate capacità relazionali;

PROPONGONO

Per i motivi esposti in narrativa che ivi si intendono integralmente trascritti di approvare:

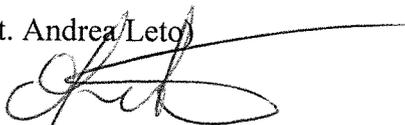
- di prevedere gli adeguamenti strutturali funzionali alle attività trasversali di diagnostica molecolare proposti nel Progetto definitivo di adeguamento e ristrutturazione del Piano secondo dell'edificio 4 del complesso di Roma;
- la PG VIR 009 rev.0 "Manuale operativo per la gestione delle aree di prova comuni ed attività di diagnostica molecolare" (Allegati 3 e 4);
- di attribuire alla Dott.ssa Antonella Cersini l'incarico di elevata professionalità cui attribuire le funzioni di coordinamento delle attività comuni di diagnostica molecolare nell'ambito della Direzione Operativa Virologia, dando alla stessa, avvalendosi della collaborazione dei partecipanti al gruppo di lavoro citato in premessa, il mandato di avviare le seguenti attività:
 - a) presentare il progetto e la PG VIR 009 rev.0 al personale del comparto;
 - b) organizzare operativamente, congiuntamente alla responsabile della Direzione operativa Sierologia ed al responsabile della Direzione tecnica e patrimoniale e ingegneria clinica gli spostamenti delle apparecchiature scientifiche e la riallocazione delle attività della Sierologia, previa verifica del carico delle apparecchiature in relazione alle caratteristiche di staticità delle aree di lavoro individuate e degli assorbimenti elettrici nelle singole aree di prova;

patrimoniale gli spostamenti delle apparecchiature scientifiche e la riallocazione delle attività della Sierologia, previa verifica del carico delle apparecchiature in relazione alle caratteristiche di staticità delle aree di lavoro individuate e degli assorbimenti elettrici nelle singole aree di prova;

- pianificare, congiuntamente all'Ufficio di staff Formazione, comunicazione e documentazione, per l'anno 2019, la formazione specifica degli operatori in relazione alle istruzioni di lavoro presso le aree comuni ed in relazione alla logistica ed all'organizzazione a matrice delle attività di comune interesse;
- organizzare una simulazione operativa (programmazione delle attività, turni degli operatori, materiale e apparecchiature) per verificare se il sistema descritto nella PG VIR 009 rev.0 sia efficiente e funzionale;
- di dare mandato al responsabile della Direzione Operativa Diagnosi delle Malattie Virali e delle Leptosirosi, congiuntamente agli Uffici amministrativi competenti ed agli altri responsabili di budget delle strutture che effettuano attività di diagnostica molecolare, di valutare gli aspetti relativi alla creazione di un Centro di Costo per la gestione delle apparecchiature, dei materiali di consumo e reagenti in comune;

IL DIRETTORE SANITARIO

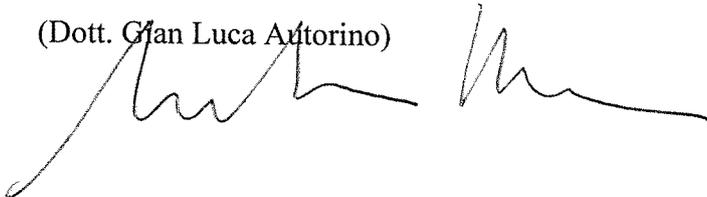
(Dott. Andrea Leto)



IL RESPONSABILE

Direzione Operativa Diagnosi delle Malattie Virali e delle Leptosirosi

(Dott. Gian Luca Autorino)



IL DIRETTORE GENERALE

VISTA la proposta di Deliberazione n. 44 del 20/12/2018 avente ad oggetto: “Attuazione del progetto di gestione e coordinamento di attività comuni di diagnostica molecolare delle strutture della sede centrale e delle sedi periferiche attraverso specifici accordi di lavoro”

SENTITO il Direttore Amministrativo che ha espresso parere favorevole alla adozione del presente provvedimento.

RITENUTO di doverla approvare così come proposta;

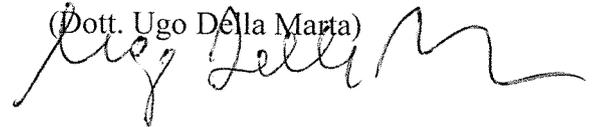
DELIBERA

- Di approvare integralmente la proposta di Deliberazione n. 44 del 20/12/2018 avente ad oggetto: “Attuazione del progetto di gestione e coordinamento di attività comuni di diagnostica molecolare delle strutture della sede centrale e delle sedi periferiche attraverso specifici accordi di lavoro” comprendente:
 - a) gli adeguamenti strutturali funzionali alle attività trasversali di diagnostica molecolare proposti nel Progetto definitivo di adeguamento e ristrutturazione del Piano secondo dell’edificio 4 del complesso di Roma;
 - b) la PG VIR 009 rev.0 Manuale operativo per la gestione delle aree di prova comuni ed attività di diagnostica molecolare allegata che costituisce parte integrante della presente delibera;
 - c) di attribuire l’incarico di elevata professionalità con funzioni di coordinamento delle attività comuni di diagnostica molecolare alla Dott.ssa Antonella Cersini, e di avviare, in ordine di priorità le seguenti attività che dovranno concludersi entro il mese di marzo 2019:
 - i. presentazione del progetto e della PG VIR 009 rev.0 al personale del comparto;
 - ii. organizzazione operativa e coordinata con il responsabile della Direzione operativa Sierologia ed il responsabile della Direzione Tecnica e patrimoniale degli adeguamenti delle aree di lavoro e degli spostamenti delle apparecchiature scientifiche, riallocando le attività della Sierologia, previa verifica del carico delle apparecchiature in relazione alle caratteristiche di staticità delle aree di lavoro individuate e degli assorbimenti elettrici nelle singole aree di prova;

- iii. pianificare, congiuntamente all'Ufficio di staff Formazione e documentazione, la formazione specifica degli operatori in relazione delle istruzioni di lavoro presso le aree comuni ed in relazione alla logistica ed all'organizzazione a matrice delle attività di comune interesse;
 - iv. organizzare una simulazione operativa (programmazione delle attività, turni degli operatori, materiale e apparecchiature) per verificare se il sistema descritto nella PG VIR 009 rev.0 sia efficiente e funzionale;
- d) di dare mandato agli Uffici amministrativi competenti, al responsabile della Direzione operativa Virologia ed agli altri responsabili di budget delle strutture che effettuano attività di diagnostica molecolare, di definire l'istituzione di un Centro di Responsabilità per la gestione delle apparecchiature, dei materiali di consumo e reagenti in comune, entro la data prevista per la negoziazione dei budget di struttura;

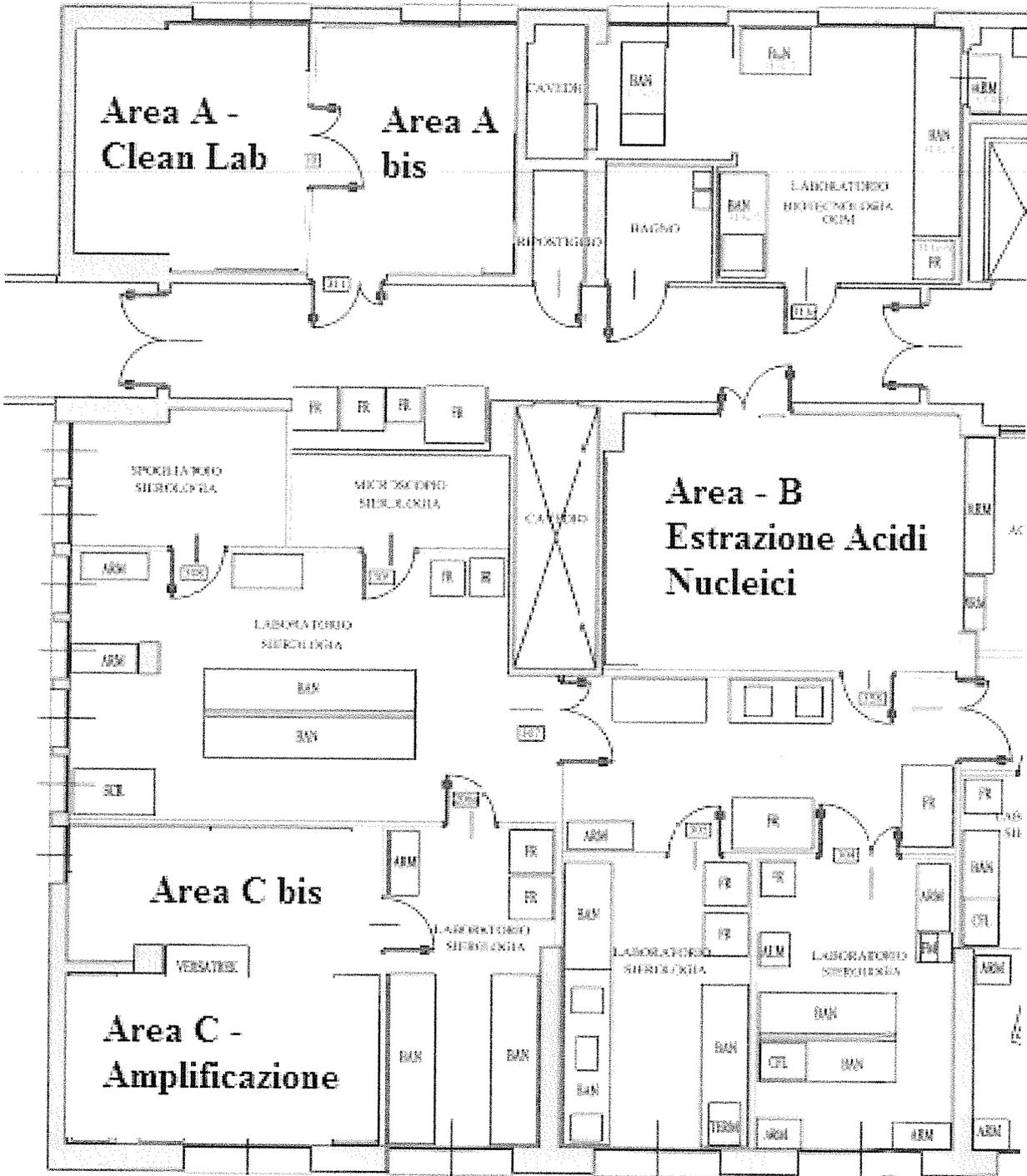
IL DIRETTORE GENERALE

(Dott. Ugo Della Marta)

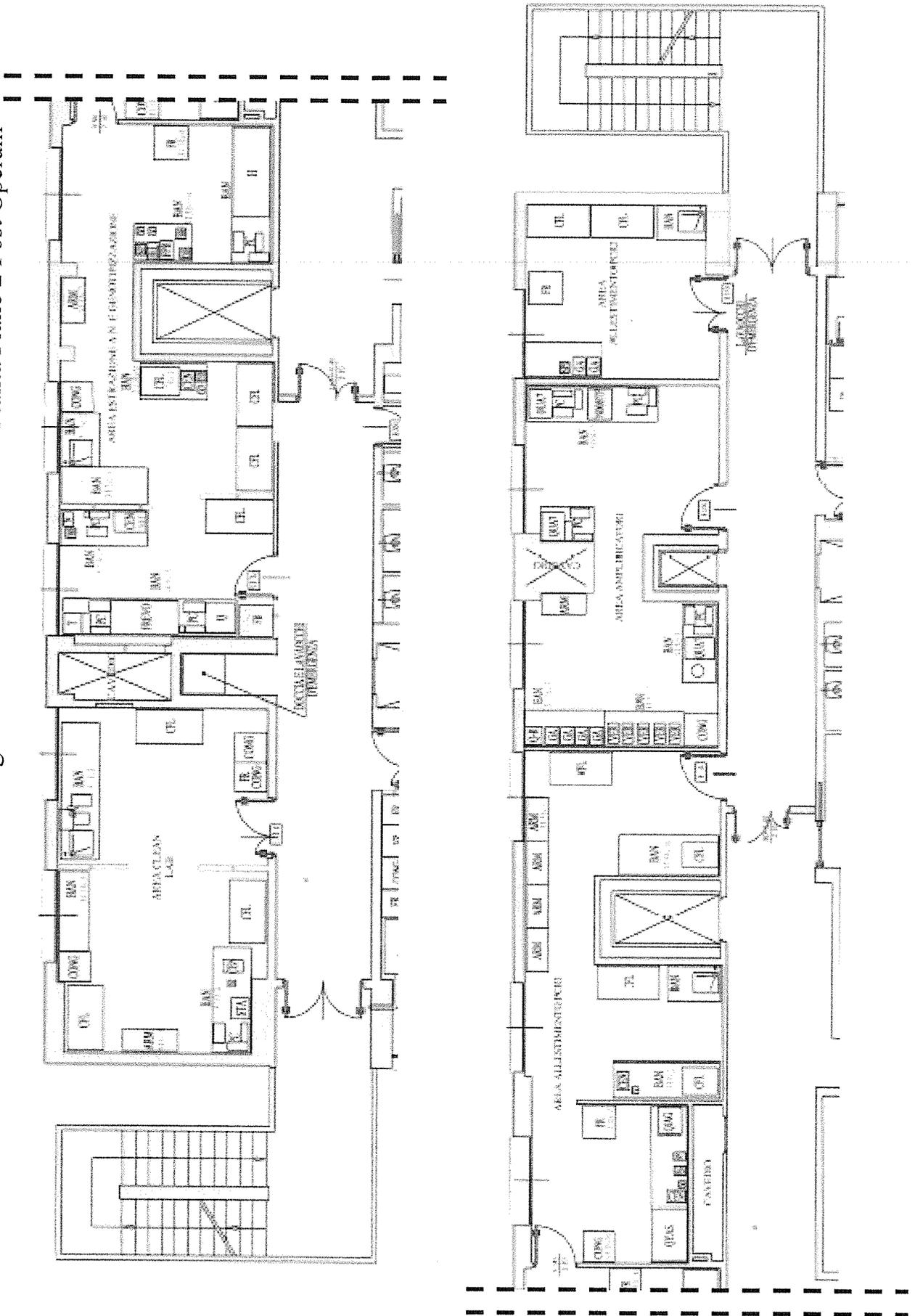


Pianta aree di lavoro Attività Comuni di Biologia Molecolare “Ante Operam”

Palazzina 4 – Secondo Piano



Aree Comuni Attività Biologia Molecolare - Palazzina 4 - Pianta Piano 2 Post Operam





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

DIREZIONE OPERATIVA VIROLOGIA

PG VIR 009 rev 0

MANUALE OPERATIVO PER LA GESTIONE DELLE AREE DI PROVA COMUNI ED ATTIVITA' DI DIAGNOSTICA MOLECOLARE

pag. 1 di 12

MANUALE OPERATIVO PER LA GESTIONE DELLE AREE DI PROVA COMUNI ED ATTIVITÀ DI DIAGNOSTICA MOLECOLARE

Rev.	Data di emissione:	Redazione	Verifica del Responsabile di struttura	Convalida Qualità	Verifica Direttore Sanitario
0	20/12/2018	Antonella Cersini Giuseppe Manna Alessia Franco Nicla Marri Manuela Scarpulla Maria Teresa Scicluna Rita Lorenzini	Gian Luca Autorino	Silvana Guzzo	Andrea Leto

Descrizione delle modifiche/motivo della redazione	Il presente manuale ha lo scopo di descrivere le responsabilità per la gestione delle aree e delle attività comuni di diagnostica molecolare presso la sede di Roma.
----------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

1. Scopo e campo di applicazione

Il Manuale descrive:

- le responsabilità e le competenze sui diversi livelli;
- la gestione della sicurezza;
- le norme di comportamento degli operatori e l'applicazione delle buone pratiche di laboratorio;
- l'approvvigionamento dei materiali di consumo;
- i flussi analitici nelle aree comuni di diagnostica molecolare presso la sede di Roma;
- la gestione delle aree e delle attività per l'esecuzione dei protocolli di PCR, inclusa l'estrazione degli acidi nucleici;
- la programmazione delle attività del laboratorio;
- la decontaminazione delle aree, delle apparecchiature e delle superfici;
- la gestione delle osservazioni e dei rilievi.

Le definizioni e le abbreviazioni sono riportate nella nota¹; i riferimenti sono riportati nella nota²

1

ALC: aree di lavoro condivise

DRC: Dirigente Responsabile del Coordinamento

CT: Coordinatore Tecnico

Attività pianificata: serie di attività legate ai piani e alla routine che rientrano nella sfera delle attività programmabili e per le quali sono definiti tempi di risposta.

Urgenze: attività non programmabili legate a situazioni contingenti.

Emergenza: evento critico per il quale è necessario garantire tempi di risposta rapidi.

Piano di contingenza: piano che ridefinisce la riprogrammazione delle attività in occasione di urgenze/emergenze e criticità strutturali e strumentali.

2

Delibera del Direttore generale 556/2017; Approvazione della proposta regolamento per l'ordinamento interno dei servizi dell'Istituto, ai sensi dell'art.9 co. 1, lett. B del vigente Statuto e successive modifiche

Manuale della Biosicurezza dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana "M. Aleandri

PG DIG 006: Norme di biosicurezza-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 002 Attività diagnosi Biologia Molecolare

PG DMV 003 Gestione approvvigionamenti magazzino

PG DMV 004: Accesso alla gestione delle apparecchiature nelle aree di lavoro dedicate alla manipolazione di agenti patogeni di classe 2 e 3

PG PRO 001: Acquisto materiali di consumo

PG QUA 001: Manutenzione delle apparecchiature/infrastrutture.

PG QUA 002: Gestione delle apparecchiature/attrezzature critiche.

PG SPP 002: Uso dispositivi di protezione individuale

PG SPP 004: Piano di emergenza. Sede di Roma

PG QUA 008: Gestione delle emergenze da contaminazione da agenti biologici

PG QUA 005: Gestione dei documenti

PG QUA 006: Gestione dei rilievi (Non Conformità – Osservazioni – Commenti)

2. Moduli allegati

PG VIR 009/1: Elenco strutture afferenti e personale

PG VIR 009/2: schema di programmazione mensile delle attività

PG VIR 009/3: programma settimanale delle attività

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

PG VIR 009/5: foglio elettronico di lavoro con programmi di attività

3 Responsabilità

Il flusso delle responsabilità di seguito rappresentate nei paragrafi del punto 5 è riportato sinteticamente nel diagramma n. 1.

3.1 Dirigente responsabile del coordinamento

Il DRC si coordina i Dirigenti referenti delle strutture rispetto alla programmazione delle attività ed ha le responsabilità di:

- segnalare al responsabile della propria UOC e di quella di riferimento del personale coinvolto, ogni eventuale situazione di rischio e incidente;
- pianificare le attività secondo quanto previsto e concordato con i responsabili delle strutture utilizzatrici e comunicare il programma ordinario e straordinario (urgenze ed emergenze e piano di contingenza);
- verificare l'organizzazione delle ALC in funzione delle esigenze delle strutture afferenti
- verificare la gestione delle attrezzature;
- verificare il rispetto delle istruzioni di lavoro a garanzia dei risultati e della riservatezza degli esiti;
- gestire il rispetto delle norme di sicurezza e biocontenimento, anche in materia di smaltimento dei rifiuti;
- coordinare gli approvvigionamenti dei materiali comuni;
- organizzare e pianificare l'addestramento del personale afferente alle ALC;
- comunicare la programmazione delle attività e le informazioni necessarie all'operatività;
- segnalare al responsabile della qualità ed al responsabile della struttura di appartenenza eventuali comportamenti non conformi degli operatori per l'adozione delle rispettive azioni di competenza.

3.2 Coordinatore Tecnico

- È il preposto alla sicurezza nell'ambito delle attività coordinate;
- coadiuva il DRC nella programmazione settimanale delle attività e delle turnazioni degli operatori;
- verifica l'attuazione del programma settimanale e si coordina con il DRC per la riprogrammazione;
- gestisce il funzionamento delle attrezzature;
- verifica la pulizia e la manutenzione delle aree, delle apparecchiature e degli smaltimenti;

- gestisce gli approvvigionamenti dei materiali e dei reagenti, sulla base dei consumi registrati e segnalati per attività straordinarie;
- organizza e gestisce l'attività del personale ausiliario assegnato;
- segnala al DRC eventuali comportamenti non conformi degli operatori per l'adozione delle rispettive azioni di competenza.

3.3 Personale ausiliario

Il personale ausiliario è tenuto a:

- osservare le prescrizioni della qualità e della sicurezza;
- osservare le disposizioni del DRC e del CT;
- disporre nelle aree di lavoro i materiali di supporto per le procedure analitiche;
- collaborare con gli operatori tecnici nel preparare i contenitori per i rifiuti contaminati nelle cappe e provvedere al loro smaltimento, smaltire i contenitori di laboratorio dei rifiuti;
- effettuare le pulizie e le manutenzioni di propria competenza.

3.4 Operatori tecnici

Gli operatori tecnici sono tenuti a:

- osservare le prescrizioni della qualità e della sicurezza;
- osservare le disposizioni del Dirigente responsabile del coordinamento e del CT;
- registrare i consumi dei materiali e segnalare al CT il raggiungimento della scorta minima;
- segnalare tempestivamente al CT ogni evenienza strutturale, strumentale e organizzativa;
- operare in accordo alle disposizioni e alle turnazioni previste;
- effettuare le pulizie e le manutenzioni di propria competenza.

3.4 Dirigente Referente delle strutture afferenti

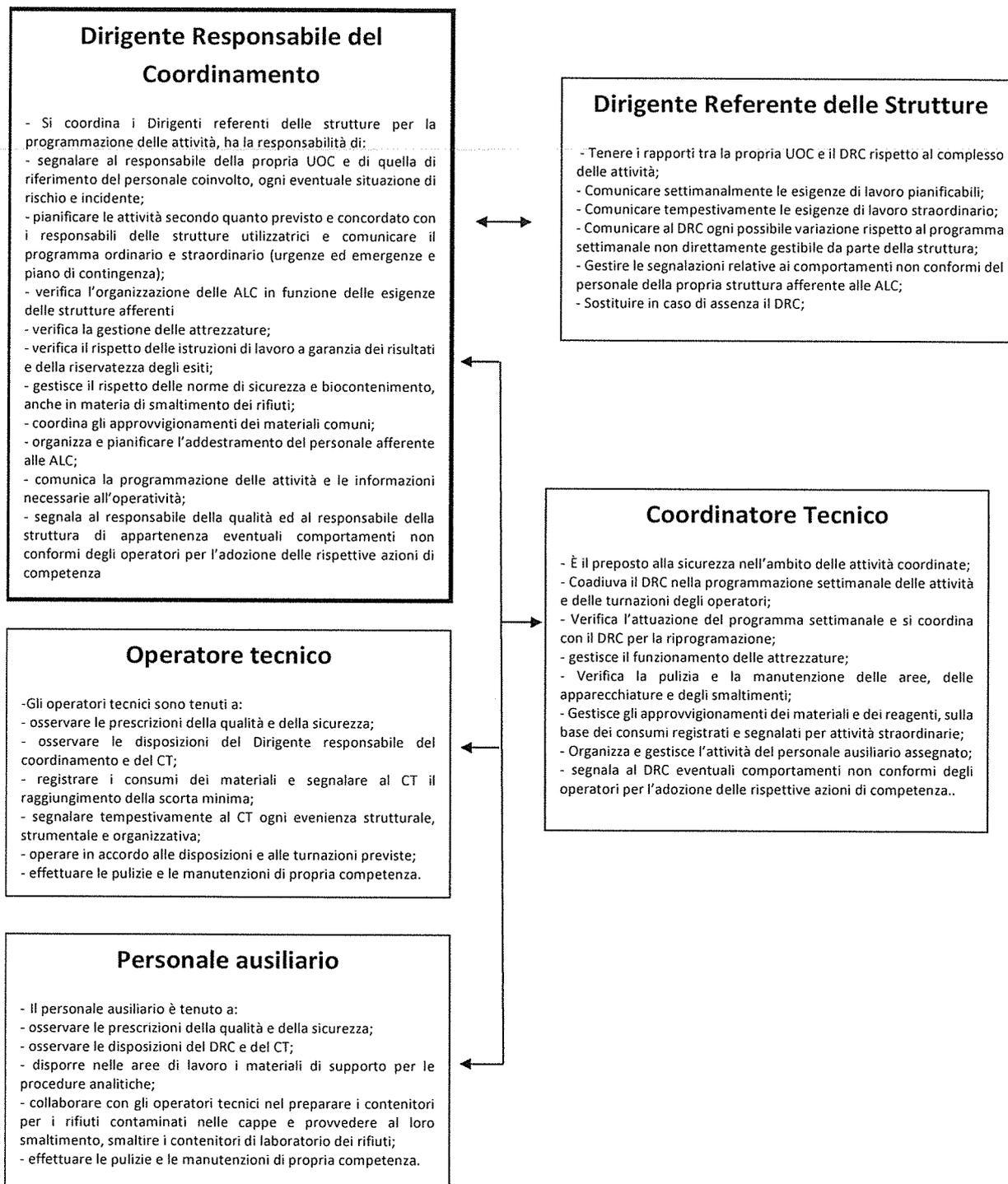
Si occupa di:

- tenere i rapporti tra la propria UOC e il DRC rispetto al complesso delle attività;
- comunicare settimanalmente le esigenze di lavoro pianificabili;
- comunicare tempestivamente le esigenze di lavoro straordinario;
- comunicare al DRC ogni possibile variazione rispetto al programma settimanale non direttamente gestibile da parte della struttura;
- gestire le segnalazioni relative ai comportamenti non conformi del personale della propria struttura afferente alle ALC;
- sostituire in caso di assenza il DRC.

La figura n. 1 descrive i flussi relativi alle responsabilità.

Figura n. 1. Diagramma di flusso relativo alle responsabilità.

Diagramma Responsabilità



4 Modalità operative

Può accedere alle ALC solo il personale tecnico assegnato dalle varie strutture, previo adeguato addestramento su attività, IL e disposizioni disciplinate all'interno delle aree di lavoro.

La preparazione dei campioni prima dell'estrazione degli acidi nucleici viene effettuata presso le strutture di origine. I materiali e campioni introdotti nelle ALC devono essere inattivati quando sussiste il rischio che siano contaminati da patogeni di classe superiore a 2.

Gli operatori, per le attività all'interno delle ALC, devono riferirsi unicamente al Responsabile del coordinamento ed al CT, seguendo il programma definito.

4.1 Approvvigionamenti

Ogni struttura provvede autonomamente all'acquisto dei materiali di consumo da impiegare per le proprie specifiche attività.

La gestione dei materiali di uso comune è a cura del coordinamento delle attività.

L'approvvigionamento di questi ultimi viene effettuato a seguito di una programmazione annuale concordata con i responsabili di budget delle strutture partecipanti al progetto, sulla base della stima delle rispettive previsioni di attività programmabili, delle possibili urgenze/emergenze, e dei consumi consolidati di materiali, indipendenti o scarsamente influenzati dai volumi di attività.

Per garantire la continuità del funzionamento, con cadenza periodica (in linea di massima mensile) sono condotte verifiche dei consumi e delle giacenze al fine di accertare possibili scostamenti (generali e/o delle strutture utilizzatrici del servizio) rispetto alle previsioni generali e delle strutture.

4.2 Programmazione delle attività del laboratorio

Le attività sono programmate sulla base delle necessità operative di ogni struttura e dei flussi di attività comunicati nel corso delle riunioni settimanali di coordinamento.

Per l'utilizzo condiviso delle apparecchiature ad alta processività, la turnazione degli operatori e dei sostituti è nominale e stabilita mensilmente su base settimanale.

La turnazione viene definita tenendo conto delle disponibilità orarie e delle fasce orarie assegnate.

Il personale utilizzatore degli strumenti deve registrarne l'uso e segnalare tempestivamente eventuali anomalie, impiegando la specifica modulistica. La pulizia delle apparecchiature è a carico degli utilizzatori, al termine dell'uso o, previo accordo con l'operatore subentrante, a fine giornata lavorativa.

Gli utilizzatori delle cappe sono tenuti ad allestire e rimuovere i rispettivi contenitori per i rifiuti collocati all'interno delle stesse a fine lavorazione e ad effettuarne la pulizia.

Gli utilizzatori sono tenuti a riportare i consumi dei materiali e dei reagenti comuni registrandone gli scarichi.

4.3 Flussi di comunicazione

Le comunicazioni in materia di sicurezza hanno carattere di immediatezza ed urgenza.

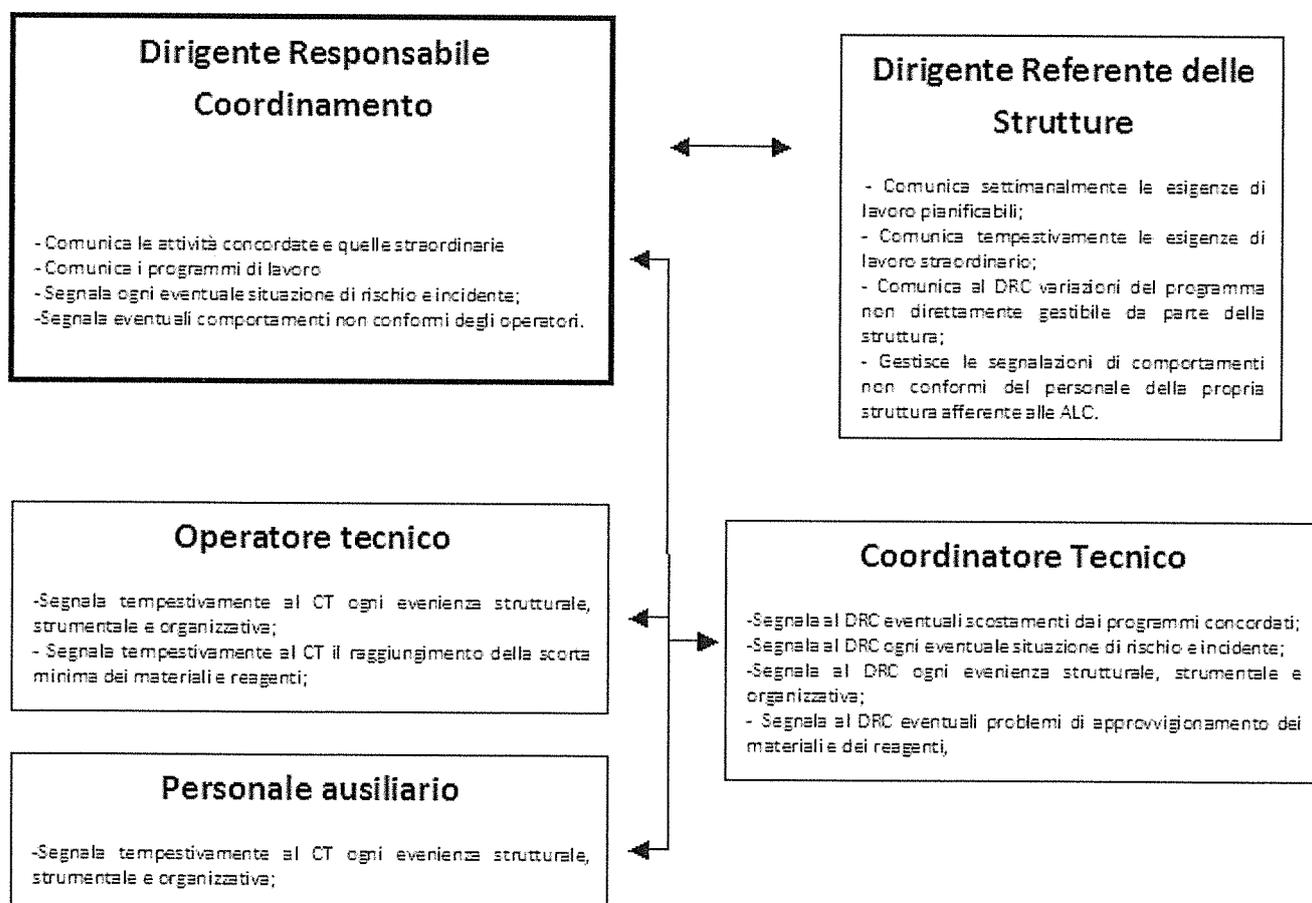
Le informazioni sulla gestione, sulla programmazione e quelle relative alle attività nelle ALC sono comunicate agli operatori, ai referenti e, se del caso, ai rispettivi responsabili di struttura i cui recapiti sono riportati nel modulo PG MVIR 001 – 1.

Per consentire la continuità del servizio, l'informazione reciproca sull'organizzazione del lavoro, sulle apparecchiature (utilizzo non programmato, malfunzionamento, etc.), assenze, etc., deve essere formalizzata tempestivamente.

La figura n. 2 descrive i flussi relativi alle informazioni.

Figura n. 2. Diagramma di flusso relativo alle informazioni.

Diagramma Flussi Informazione



4.4 Organizzazione delle aree di prova

Per garantire la continuità del servizio e l'affidabilità dei risultati, è indispensabile la prevenzione delle contaminazioni. Il controllo e la prevenzione possono risultare più critici nei laboratori in cui le limitazioni all'uso di ambienti e apparecchiature coinvolgono diverse strutture diagnostiche. Per tale motivo è inderogabile il rispetto dei flussi di attività e delle regole mirate ad operare secondo buone pratiche di laboratorio.

L'organizzazione delle aree di prova comporta la suddivisione delle operazioni in "attività pulite" che non prevedono la manipolazione di campioni e/o prodotti di PCR e in "attività sporche" secondo una gradualità che tiene conto dell'incremento delle concentrazioni di acidi nucleici presenti negli ambienti (crescente dalle fasi di estrazione all'elettroforesi).

L'organizzazione dell'attività lavorativa deve pertanto essere assolutamente unidirezionale "Pulito → Sporco", senza possibilità di inversione del percorso.

4.5 Attività nelle aree di prova

Di seguito (Figura n. 3) sono descritte le attività esclusive per area di prova secondo un flusso unidirezionale "Pulito → Sporco" secondo il quale è fatto assoluto divieto di introdurre indumenti, reagenti, materiali e piccola strumentazione dalle aree con gradiente pressione inferiore e livello di contaminazione ambientale superiore.

Figura n. 3. Destinazione delle aree di prova

AREA A - CLEAN LAB

Destinata esclusivamente alla preparazione di reagenti, primer, miscele di reazione per le PCR, miscele di restrizione enzimatica (RFLP), miscele di sequenziamento, conservazione dei reagenti.

Nell'area non può operare personale né essere introdotto alcunché proveniente dalle aree B, C, D.

AREA B - ESTRAZIONE ACIDI NUCLEICI, ALLESTIMENTO REAZIONI DI PCR, REAZIONI DI RESTRIZIONE ENZIMATICA E PURIFICAZIONE DEI PRODOTTI DI PCR

Area di "pre-PCR" dove si eseguono: a) protocolli di estrazione del DNA e dell'RNA; b) quantificazione del DNA e dell'RNA.

In questa area è possibile conservare i campioni di DNA, RNA, PCR1 (Nested-PCR1). Nell'area non può operare personale né essere introdotto alcunché proveniente dalle aree C, D, tranne i prodotti di PCR1 per le Nested-PCR.

AREA C - AMPLIFICAZIONE

Area in cui si eseguono: a) i protocolli di amplificazione PCR; b) trascrizione inversa (cDNA e RT-PCR);

c) purificazione dei prodotti di PCR; d) reazioni di restrizione enzimatica (RFLP).

DIREZIONE OPERATIVA VIROLOGIA

PG VIR 009 rev. 0

MANUALE OPERATIVO PER LA GESTIONE DELLE AREE DI PROVA COMUNI ED ATTIVITA' DI DIAGNOSTICA
MOLECOLARE

pag. 9 di 12

Nell'area non può operare personale né essere introdotto alcunché proveniente dall'area D, tranne i prodotti di PCR che devono essere purificati.

AREA D - ELETTROFORESI

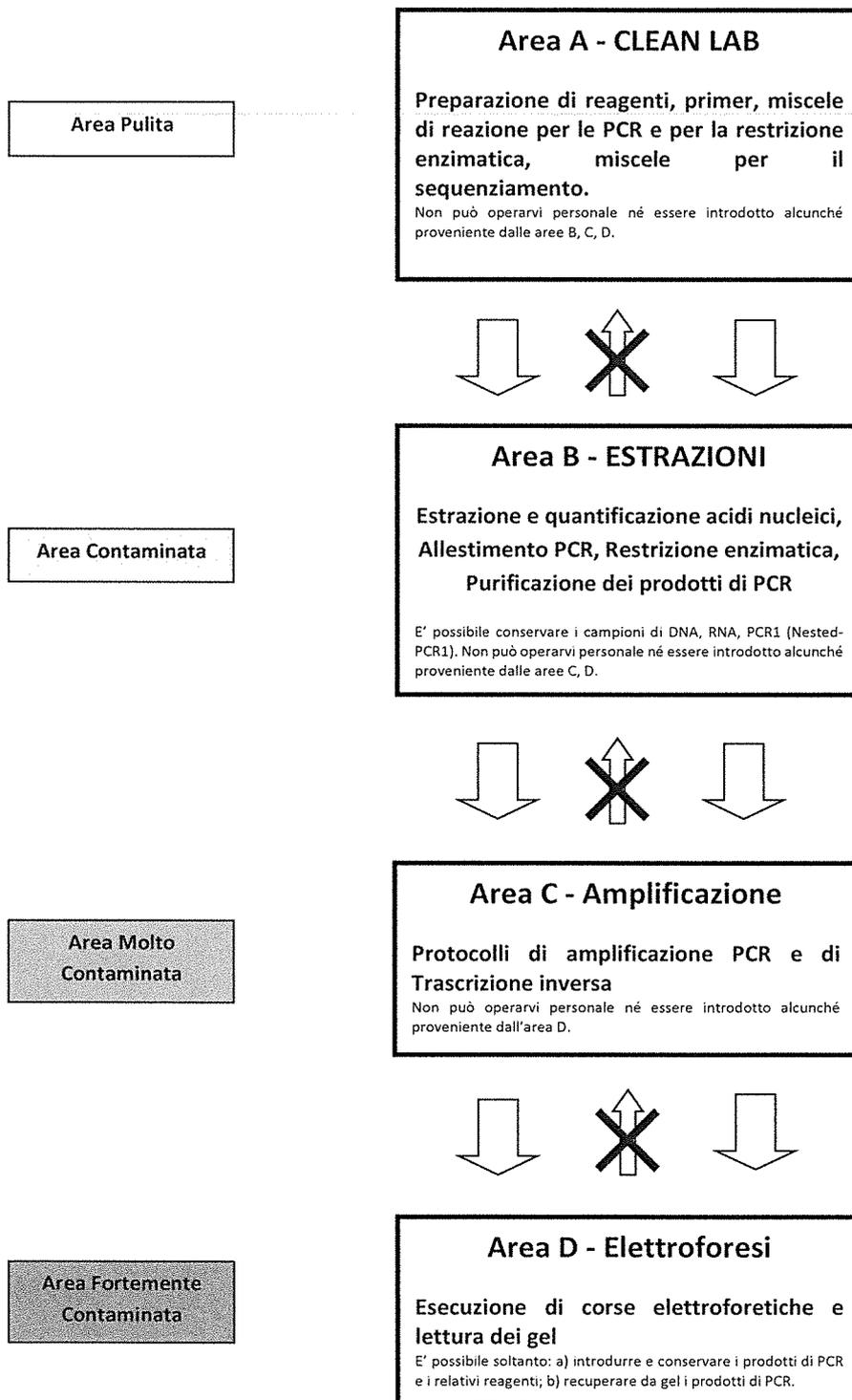
Area di prova "post-PCR", destinata all'esecuzione di corse elettroforetiche su supporto inerte.

In questa area di prova è possibile soltanto: a) introdurre i prodotti di PCR; b) recuperare i prodotti di PCR da gel per essere sottoposti a purificazione; c) conservare i prodotti di PCR non destinati ad ulteriori amplificazioni.

Nella figura n. 4 sono descritti i flussi operativi

Figura n. 4. Diagramma relativo ai flussi operativi

Diagramma Flussi Operativi



4.5 Norme di comportamento

L'adozione delle norme di comportamento e delle soluzioni tecniche di seguito descritte contribuisce alla prevenzione delle contaminazioni di tipo carry over (trascinamento), delle contaminazioni crociate tra campioni, in modo da ridurre i falsi positivi, e delle contaminazioni da nucleasi (DNAsi e RNAsi, enzimi di restrizione) in modo da ridurre falsi negativi da degradazione degli acidi nucleici.

In particolare:

- accesso alle aree. È limitato al personale formato, a conoscenza del manuale operativo e delle istruzioni di lavoro in relazione alle attività specifiche effettuate nelle differenti aree di lavoro. Il personale esterno può accedere alle aree solamente indossando camici puliti, e comunque dopo essere stati adeguatamente formati;
- camici. In ogni area di prova sono mantenuti camici per l'uso esclusivo all'interno della stessa da indossare all'ingresso e lasciare all'uscita;
- guanti. All'interno delle aree di prova il personale deve indossare guanti esclusivamente monouso. I guanti possono essere mantenuti passando da un'area di lavoro alla successiva, rispettando il flusso unidirezionale "Pulito → Sporco";
- calzari. In ogni area di prova sono mantenuti i calzari per l'uso esclusivo all'interno della stessa da calzare all'ingresso e lasciare all'uscita;
- cappe a flusso laminare verticale. Ogni cappa deve disporre di una propria dotazione di strumenti e materiali che comprende: a) un set di pipette monocanale a volume variabile; b) un set di scatole di puntali con filtro in uso. Durante il lavoro, all'interno della cappa, devono essere presenti solo il materiale ed i reagenti necessari allo svolgimento delle specifiche attività, da rimuovere al termine delle stesse;
- contenitori per rifiuti speciali. Ciascuna area di prova deve disporre di contenitori per lo smaltimento del materiale liquido e solido da smaltire al riempimento o in ogni caso al termine della settimana lavorativa;
- la pulizia delle superfici di lavoro (ad eccezione delle cappe che sono pulite al termine di ogni sessione di lavoro), deve essere effettuata di volta in volta dagli stessi operatori;
- ulteriori soluzioni tecniche per limitare le contaminazioni.
- materiale monouso con particolare riferimento ai puntali ed alle pipette con filtro.
- armadi per area di prova per il mantenimento delle scorte minime dei materiali;
- apparecchiature per il freddo dedicate per area di prova dove mantenere separatamente per struttura reagenti e campioni;
- magazzino generale;
- computer e stampante in dotazione presso l'area Clean Lab per i calcoli legati all'allestimento delle miscele e per il carico/scarico dei reagenti;
- cappe a flusso laminare verticale dedicate unicamente all'estrazione dell'RNA e altre cappe dedicate all'allestimento delle PCR2 nei protocolli di Nested PCR;
- sistema di back up informatico dedicato al salvataggio ed alla conservazione dei dati analitici;
- all'ingresso di ogni area è posto un tappetino con fogli adesivi con disinfettante per la pulizia delle calzature degli operatori. Ai fini del rispetto delle prescrizioni relative ai flussi,

DIREZIONE OPERATIVA VIROLOGIA

PG VIR 009 rev. 0

MANUALE OPERATIVO PER LA GESTIONE DELLE AREE DI PROVA COMUNI ED ATTIVITA' DI DIAGNOSTICA MOLECOLARE

pag. 12 di 12

sarebbe auspicabile individuare colori differenti associati ad indumenti ed alle aree di lavoro;

- il personale delle pulizie deve effettuare la propria attività con utensili dedicati per area seguendo lo stesso flusso unidirezionale descritto per le analisi molecolari, impiegando giornalmente calzari monouso;

Nella Figura n. 5 sono descritti i flussi operativi e le relative azioni preventive

Figura n. 5. Flussi operativi e azioni preventive

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

PG VIR 009/2 rev 0 schema di programmazione mensile delle attività

Mese	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Unità operativa	Giorno Settimana																														
	Attività (riportare identificativo)																														
	N° Operatori																														
	Tipo Apparecchiatura/N°																														
Ore Impegno																															

Identificativo attività

- 1 preparazione mix di lavoro
- 2 estrazione
- 3 allestimento PCR 1/non nested
- 4 allestimento PCR 2 nested
- 5 esecuzione PCR
- 6 purificazione prodotti PCR/RELP
- 7 elettroforesi

PUBBLICAZIONE

Copia della presente deliberazione è stata pubblicata ai sensi della L.69/2009 e successive modificazioni ed integrazioni in data *31/12/2018.*

IL FUNZIONARIO INCARICATO
Sig.ra Eleonora Quagliarella

