

POS 5. MODALITA' OPERATIVE PER L'UTILIZZO DEL LABORATORIO BSL2 (3/042), sede centrale

Scopo della presente POS 5 è quello di fornire le modalità operative utili a garantire un corretto utilizzo del laboratorio BSL2 in vivo (stanza 3/042) ovvero di un locale con un livello di biosicurezza 2 autorizzato dal Ministero della Salute. Per scopi di ricerca preclinica in tale stanza verranno inoculati animali immunocompetenti (topi o ratti) con microorganismi geneticamente modificati (MOGM) di classe I e/o II sotto cappa biologica sulla base di un progetto di ricerca autorizzato dal Ministero della Salute ai sensi dell'art. 31 del D.Lgs 26/2014. Tutte le operazioni di inoculo avverranno in animali SPF (specific pathogen free), acquistati da fornitori autorizzati ai sensi dell'art. 20 del D.Lgs 26/2014.

La sicurezza in Laboratorio BSL2 si associa al concetto di “buona pratica di laboratorio” ossia ad una serie di norme e di comportamenti e di regole atte ad assicurare il raggiungimento degli obiettivi in termini di Qualità e di Sicurezza per gli operatori. Pertanto, il laboratorio è accessibile durante l'attività solo alle persone autorizzate, addestrate e formate. Vi si accede solo tramite badge attivato dal Responsabile del Laboratorio, dopo aver verificato i requisiti autorizzativi ossia essere in possesso della formazione per lo svolgimento delle FUNZIONI A, C, D ai sensi del Decreto Formazione del 5 agosto 2021, ed avere un'autorizzazione ministeriale di un progetto di ricerca per l'utilizzo di animali sperimentali.

I ricercatori, che avranno necessità di utilizzare questa stanza, dovranno preventivamente fare una prenotazione della stanza tramite un link a loro inviato.

Procedura di Entrata:

- 1) Il locale BSL2 presenta una zona filtro (antistanza) delimitata da un nastro giallo/nero. In questa zona, DPI usa e getta dedicati verranno indossati prima dell'entrata nella stanza (2 paia di guanti, cuffia, mascherina, doppio camice, doppi calzari).
- 2) il personale autorizzato alle procedure trasporterà gli animali in stanza 3/042 in apposite gabbie di plexiglass con tappo dotato di filtro il giorno stesso dell'inoculo e registrerà sull'apposito registro tutte le operazioni effettuate.
- 3) all'interno della stanza BSL2 non possono essere trasportati carrelli, i quali dovranno rimanere fuori dalla porta.
- 4) sul registro deve essere indicato: la data dell'operazione, il n° di autorizzazione del progetto ministeriale, il responsabile del progetto, il nome dell'operatore, il numero di animali inoculati con indicato la specie e il ceppo, dati relativi al vettore inoculato.
- 5) Gli animali inoculati con MOGM di classe 1 o 2 rimarranno nella stanza in apposite gabbie usa e getta chiuse con filtro per 7 giorni. Il cambio lettiera, cibo e acqua, se necessari, avverranno dopo 4 giorni dall'inoculo e sarà gestito dal personale autorizzato presente nel progetto di ricerca.
- 6) Dopo 7 giorni, il personale autorizzato presente nel progetto di ricerca potrà riportare gli animali nella stanza di provenienza, dopo aver provveduto ad effettuare il cambio gabbia.

Procedura di cambio gabbia:

1. I topi inoculati vanno cambiati la prima volta almeno 4 giorni dopo l'inoculo per motivi

sanitari (prima dei 4 giorni è strettamente necessario non aprire la gabbia). Il cambio al 4° giorno non è obbligatorio farlo, ma solo nel caso in cui la lettiera sia sporca, altrimenti il cambio può avvenire direttamente al 7° giorno prima di riportare gli animali in stanza di stabulazione. Il giorno del primo cambio gabbia dopo l'inoculo, gli animali saranno trasferiti in gabbie standard (non usa e getta) con lettiera pulita. Le gabbie usa e getta, contenenti la lettiera sporca, saranno smaltite in appositi bidoni neri per i rifiuti speciali presenti all'interno della stanza.

2. Dopo 7 giorni dall'inoculo, se viene effettuato il secondo cambio gabbia, gli animali saranno trasferiti in altre gabbie standard pulite, mentre la gabbia con lettiera sporca verrà spruzzata con VIRKON e lasciata una notte in stanza sotto cappa chimica;
3. La mattina successiva, si rimuove la lettiera dalla gabbia sporca, smaltendola in appositi bidoni neri per i rifiuti speciali presenti all'interno della stanza;
4. Si spruzza la gabbia sporca (la griglia, il biberon, il tappo con filtro), con abbondante VIRKON e si lascia un'altra notte sotto cappa chimica, prima di portarla al lavaggio;
5. Le gabbie sporche, impilate e avvolte in sacchi di plastica ulteriormente spruzzati con VIRKON, possono uscire dalla stanza ed essere portate al lavaggio e autoclavate.

Pulizia e sanificazioni del laboratorio BSL2 in vivo

Nel laboratorio BSL2 in vivo la pulizia dei piani di lavoro e dei piani delle cappe viene effettuata dal personale ricercatore a fine di ogni ciclo lavorativo e dopo qualsiasi sversamento di materiale biologico potenzialmente pericoloso.

Per la disinfezione delle superfici ed attrezzature il laboratorio deve avere disponibilità di:

- Ipoclorito di Sodio (candeggina), preferibilmente o, in alternativa, solo in caso si maneggino Lentivirus, etanolo 70%
- Ipoclorito di Sodio soluzione 3-5% o “candeggina” commerciale, da usare su superfici in caso di sversamenti.
- Prodotti disinfettanti a base Ipoclorito di Sodio soluzione 0.1-0.5% o altra soluzione a base alcolica da usare per decontaminazione routinaria a fine lavorazione.

Procedura di uscita dal laboratorio BSL2

Prima di uscire dal laboratorio BSL2 gli operatori dovranno:

- 1) Togliersi il primo paio di guanti al termine delle attività, poi il camice in TNT, il copricapo e gettarli in appositi contenitori per rifiuti speciali presenti in prossimità della porta;
- 2) uscire dal locale BSL2 e chiudere la porta. Nella zona filtro togliersi il secondo paio di guanti, il primo paio di calzari e la mascherina e gettarli nel bidone per rifiuti speciali posto nella zona filtro;
- 3) prima di uscire definitivamente dai locali del CeSAL, lavarsi accuratamente le mani, e togliersi i DPI rimasti (un paio di calzari) che dovranno essere eliminati nei contenitori per rifiuti speciali presenti all'ingresso del CeSAL.

Misure di emergenza in caso di incidente a rischio biologico

In caso di contaminazione degli operatori con materiale biologico a seguito di esposizione, cutanea

e/o mucosa, in particolare della mucosa oculare, il personale dovrà:

1. Mettere in sicurezza l'attività intrapresa con l'aiuto dei colleghi presenti;
2. togliersi i guanti, lavarsi le mani ed attivare il trattamento della zona corporea seguendo le istruzioni riportate nel cartello "Misure di primo intervento nel laboratorio di biosicurezza 2".
3. Comunicare l'evento al proprio responsabile e seguire il percorso indicato dal RSPP di competenza.

All'interno della Zona Filtro è presente un Kit antisversamento, per la decontaminazione delle superfici in seguito a sversamento di materiale biologico, contenente tutto il materiale da utilizzare e da indossare per procedere alla decontaminazione. Il Kit dovrà essere collocato in un luogo noto a tutto il personale e mantenuto efficiente nel tempo. Le istruzioni per l'utilizzo sono collocate all'interno del kit.