



LINEE GUIDA

PER L'UTILIZZO DEGLI MOGM

ESTRATTO DAL:

“Manuale relativo alla sicurezza nei laboratori che fanno uso di microrganismi geneticamente modificati” è il risultato di attività di studio e di ricerca di un progetto del Centro Nazionale per la prevenzione e il controllo delle malattie (CCM) finanziato dal Ministero della Salute e realizzato da esperti ricercatori dell'ISPESL. Questa iniziativa si colloca nell'ambito di un programma di promozione della sicurezza nei laboratori che fanno uso di microrganismi geneticamente modificati e si propone di offrire un adeguato strumento di formazione sulle misure di contenimento e di tutela della salute dell'uomo e dell'ambiente, secondo la Direttiva 98/81/CE recepita in Italia con il Decreto Legislativo n. 206 del 12 aprile 2001. Il progetto scaturisce dall'esigenza di offrire a coloro che operano nel campo delle biotecnologie un'informazione intuitiva e dinamica, completa ed esauriente.

http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1850_allegato.pdf



LA NORMATIVA SULL'IMPIEGO CONFINATO DI MICROORGANISMI GENETICAMENTE MODIFICATI

Decreto Legislativo 12 aprile 2001 n.206

Il **Decreto Legislativo 206/2001**, attuazione della **Direttiva 98/81/CE** che modifica la **Direttiva 90/219/CE**, concernente l'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati, stabilisce le misure per l'impiego confinato dei microrganismi geneticamente modificati (MOGM), volte a tutelare la salute dell'uomo e dell'ambiente.

Definizioni

Per Microorganismo si intende *“ogni entità microbiologica cellulare o non cellulare (inclusi i virus, viroidi e le cellule animali o vegetali in coltura) capace di replicarsi o di trasferire geni.”*

Per MOGM si intende *“un microrganismo il cui materiale genetico è stato modificato in un modo che non avviene in natura per incrocio e/o ricombinazione naturale”* La modificazione genetica avviene almeno mediante l'impiego delle tecniche elencate nell'Allegato I parte A.

Per Impiego confinato si intende *“ogni attività nella quale i microrganismi vengono modificati geneticamente o nella quale tali MOGM vengono messi in coltura conservati, utilizzati, trasportati, distrutti, smaltiti o altrimenti utilizzati, e per la quale vengono usate misure specifiche di contenimento, al fine di limitare il contatto degli stessi con la popolazione o con l'ambiente”*.

Per Incidente si intende *“ogni evento imprevisto che comporti una diffusione non intenzionale di agenti biologici e di MOGM nel corso del loro impiego confinato che possa presentare un pericolo immediato o differito, per la salute dell'uomo o per l'ambiente”*.

Per Utilizzatore si intende *“il responsabile scientifico e gestionale dell'impiego confinato di MOGM”*.

Per Titolare dell'impianto si intende *“il datore di lavoro così come definito dall'art.2 del D. Lgs 626”*.

Per Notifica si intende *“la presentazione da parte dell'utilizzatore o del titolare dell'impianto al Ministero della Salute dei documenti contenenti le informazioni richieste a norma del presente decreto.”*

a) **NOTIFICA di IMPIANTO**; (b) **NOTIFICA di IMPIEGO**

Campo di applicazione

Ricadono nel campo di applicazione della normativa tutte le attività che implicano l'uso di MOGM, inclusa la semplice conservazione di ceppi o linee cellulari.



Il Decreto Legislativo 206/01 prevede un regime di notifica e autorizzazione per gli impieghi confinati

che ricadono nel suo campo di applicazione e per gli impianti ove si intende mettere in atto tali impieghi. Tutte le notifiche, sia di impiego che di impianto, devono essere presentate al Ministero della Salute, Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria.

VALUTAZIONE DELLA CLASSE DELL'IMPIEGO CONFINATO

Elemento essenziale per la preparazione di una notifica di impiego è la valutazione della classe dell'impiego confinato che si intende eseguire (art. 5 del D. Lgs 206/01). In analogia con i gruppi di rischio da 1 a 4 previsti dal D. Lgs 9 Aprile 2008, n. 81 in materia di tutela della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro, sono previste quattro classi di impiego, definite sulla base del livello di contenimento necessario a proteggere la salute umana e l'ambiente dai possibili rischi connessi con l'uso di un particolare MOGM.

Il livello di contenimento adeguato a garantire la sicurezza determina la classe dell'impiego confinato.

Il nuovo requisito introdotto dalla normativa sui MOGM sono le 4 classi di impiego confinato che sono correlate alle misure di contenimento identificate attraverso la valutazione del rischio in quanto necessarie a controllare il rischio.

CLASSE 1	impieghi confinati che presentano rischi nulli o trascurabili, ovvero operazioni per le quali un livello 1 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente
CLASSE 2	impieghi confinati a basso rischio, ovvero operazioni per le quali un livello 2 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente
CLASSE 3	impieghi confinati che presentano un rischio moderato, ovvero operazioni per le quali un livello 3 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente
CLASSE 4	impieghi confinati ad alto rischio, ovvero operazioni per le quali un livello 4 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente

Le tappe procedurali che consentono di assegnare la classe d'impiego sono:



- Valutazione del rischio
- Misure di contenimento necessarie a controllare il rischio
- Assegnazione della classe di impiego confinato
- Livello di contenimento che deve essere applicato

Obiettivo primario è quindi selezionare le misure fisiche di contenimento e le procedure di sicurezza associate in base al livello di rischio per la salute umana e per l'ambiente.

CONTROLLO DELL'ESPOSIZIONE

- disegnando il processo di lavoro e le misure di controllo ingegneristiche per evitare o minimizzare il rilascio di MOGM nei luoghi di lavoro come processi e sistemi di manipolazione totalmente chiusi, contenimento di aerosol, utilizzo di cappe di sicurezza biologica;
- corretta gestione delle attrezzature e monitoraggio delle misure di controllo;
- *fornendo un impianto di ventilazione, che può includere la pressione negativa;*
- tenendo un registro dei lavoratori esposti;
- effettuando operazioni di pulizia e disinfezione al termine di ogni attività di lavoro;
- riducendo il tempo di esposizione del lavoratore;
- dotando l'operatore dei dispositivi di protezione individuale;
- usando misure di igiene per la prevenzione o riduzione del rilascio accidentale di MOGM dal luogo di lavoro (vedi procedure generali).

PROCEDURE GENERALI

- disinfettare le superfici secondo procedure specifiche;
- prevedere adeguate strutture per lavaggio, cambio e conservazione di vestiti, incluse le modalità per lavare i vestiti contaminati;
- vietare di mangiare, fumare etc.;
- vietare di pipettare a bocca;
- fornire i mezzi per una raccolta sicura, conservazione, trattamento ed eliminazione dei rifiuti, incluso l'uso di contenitori sicuri ed identificabili **(anche il livello minimo di contenimento richiede l'inattivazione dei rifiuti solidi e liquidi)**;
- utilizzare sistemi sicuri per il trasporto di MOGM all'interno dei luoghi di lavoro;
- elaborare di piani di emergenza per eventuali incidenti con i MOGM;
- monitorare (se necessario e tecnicamente possibile) la presenza di MOGM fuori dal contenimento fisico primario;
- evitare l'uso di taglienti, eccetto se necessario, usare pipette in plastica o simili se indicato dalla valutazione del rischio;
- esporre il segnale di rischio biologico;
- se appropriato, effettuare le vaccinazioni necessarie.



LA NOTIFICA DI IMPIANTO

La prima notifica da presentare sarà quella relativa all'impianto che dovrà essere firmata e presentata al Ministero della Salute dal titolare dell'impianto, da identificarsi con il datore di lavoro ai sensi del D.Lgs 9 Aprile 2008, n. 81.

Essa contiene le informazioni relative all'impianto, come specificato nella parte A dell'Allegato V al D. Lgs 206/01.

Non contiene informazioni relative ai MOGM, che saranno contenute nelle notifiche di impiego, obbligatorie per impieghi di classe 2, 3 o 4.

Solo per impieghi di classe 1, per i quali non è prevista ulteriore notifica, la notifica di impianto conterrà un riepilogo della valutazione della classe d'impiego confinato, oltre ad informazioni sulla gestione dei rifiuti.

Per tutti gli impieghi, inclusi quelli di classe 1, i documenti di valutazione completi saranno conservati presso l'impianto.

È compito del notificante quello di valutare, seguendo le linee indicate nello **Allegato III** al D. Lgs 206/01, quali siano le misure di contenimento minime adeguate al caso, scegliendole tra i quattro progressivi livelli di contenimento specificati nell'**Allegato IV** allo stesso decreto.

È responsabilità del titolare dell'impianto informare il Ministero della Salute riguardo qualsiasi modifica delle informazioni contenute nella notifica di impianto, in modo che il relativo fascicolo esistente presso il Ministero risulti costantemente aggiornato.

Per impianti destinati esclusivamente ad impieghi di classe 1 vige un regime di silenzio/assenso con un termine di 45 giorni, trascorsi i quali, in assenza di indicazioni contrarie, gli impieghi di classe 1 possono iniziare.

Per gli impianti destinati ad impieghi di classi superiori è necessaria una esplicita autorizzazione scritta da parte del Ministero della Salute, con i termini indicati nell'art. 7. Tali termini decorrono dalla data di ricevimento, da parte del Ministero della Salute, della notifica di impianto completa di attestato di pagamento della relativa tariffa (cfr. paragrafo 5) e si intendono sospesi durante i periodi in cui il Ministero è in attesa di ulteriori informazioni eventualmente richieste.

LA NOTIFICA DI IMPIEGO

La notifica di impiego di un determinato MOGM (con indicazione del microrganismo ricevente o ospite, del tipo di inserto e dell'eventuale vettore utilizzato) **viene presentata dall'utilizzatore, figura da identificarsi con il responsabile scientifico e gestionale dell'impiego confinato.**

Si potrà trattare, ad esempio, del ricercatore che coordina l'attività di ricerca con il MOGM in questione (o analoga figura in campo industriale). È a lui che compete



la valutazione e la conseguente assegnazione dell'impiego confinato ad una delle 4 classi.

La notifica, per l'inoltro della quale al Ministero della Salute si potrà utilizzare uno dei moduli reperibili sul sito web (mod. notifica impiego MOGM classe 2, mod. notifica impiego MOGM classe 3 e 4) dovrà essere vistata dal titolare dell'impianto, cui essa viene consegnata in copia, unitamente al documento di valutazione di cui sopra.

Per quanto riguarda le autorizzazioni, solo per impieghi di classe 2 è previsto un regime di silenzio/assenso, con termine di 60 giorni.

Se però sono già stati autorizzati presso lo stesso impianto impieghi di classe più elevata, gli impieghi di classe 2 possono iniziare subito dopo la notifica.

Tutti i termini temporali decorrono dalla data di ricevimento, da parte del Ministero della Salute, della notifica di impiego completa di attestato di pagamento della relativa tariffa e si intendono sospesi durante i periodi in cui il Ministero è in attesa di ulteriori informazioni eventualmente richieste.

ULTERIORI OBBLIGHI DELL'UTILIZZATORE

Per tutta la durata dell'impiego confinato, è **responsabilità dell'utilizzatore** (art 6, comma 1, lettera a) **assicurarsi che siano pienamente applicate le misure di contenimento e le altre misure di protezione specificate** nell'Allegato IV per la classe assegnata all'impiego confinato, **nonché conservare i quaderni** (o i file) e il registro MOGM in cui vengono registrate le operazioni eseguite (art.6, comma 1, lettera b).

L'utilizzatore dovrà inoltre **riesaminare periodicamente** (annualmente per impieghi di classe 3 e 4 e **almeno ogni 3 anni per impieghi di classe 1 e 2**) la valutazione della classe di impiego e **redigere un documento di riesame che dovrà essere consegnato al titolare dell'impianto.**

Al verificarsi di un incidente, spetta all'utilizzatore, poiché è colui in grado di valutare le conseguenze di un eventuale rilascio accidentale di MOGM, informare immediatamente, per iscritto, il Ministero della Salute (art. 16, comma 1). La comunicazione va estesa alle altre Autorità indicate nel medesimo comma nel caso in cui, in conseguenza dell'incidente, si verifichi un rilascio di MOGM al di fuori della zona utilizzata per l'impiego confinato.

VALUTAZIONE DEL RISCHIO DELL'IMPIEGO CONFINATO

La valutazione del rischio biologico ha lo scopo di individuare le diverse tipologie di pericoli connessi alla manipolazione degli agenti biologici al fine di rimuovere, o ridurre, ad un livello accettabile, il rischio di contaminazione degli operatori, dei campioni, dell'ambiente e della comunità in genere.



Un agente biologico è definito, secondo la normativa vigente (Direttiva 2000/54/CE), come “*un qualsiasi microrganismo, anche se geneticamente modificato, coltura cellulare ed endoparassita umano, che potrebbe provocare infezioni, allergie o intossicazioni*” in lavoratori esposti.

Un MOGM quindi è costituito da un **organismo ospite**, nel quale l'informazione genica viene inserita, un **organismo donatore**, dal quale viene ottenuta l'informazione, da un **vettore** che trasferisce l'informazione tra questi organismi e da un **inserto** che contiene uno o più geni in grado di rivelare l'attività biologica. Ciascuna di queste parti, insieme al costrutto finale, deve essere presa in considerazione al fine di ottenere un'accurata e corretta valutazione del rischio. Ricadono sotto la nuova normativa tutte le attività che comportano l'uso di MOGM, inclusa la semplice conservazione (stoccaggio) di ceppi o linee cellulari. Il processo di valutazione del rischio indicato nel D. Lgs 206/01 si basa sull'attuazione di due procedure.

La prima procedura prevede l'identificazione delle caratteristiche potenzialmente nocive del MOGM (rischio), l'attribuzione al MOGM di una classe iniziale (classi da 1 a 4), sulla base degli effetti nocivi potenziali e la valutazione della probabilità con cui gli effetti nocivi possono verificarsi sia su soggetti umani sia sull'ambiente, tenendo conto della natura e della portata del lavoro svolto e delle misure di contenimento adottate sulla base della classificazione iniziale del MOGM.

La seconda procedura prevede la classificazione definitiva del MOGM, l'individuazione delle misure di contenimento concrete per garantire la sicurezza durante l'attività implicante l'uso di microrganismi geneticamente modificati.

Il livello di classificazione definito mediante la valutazione del rischio determina i requisiti relativi al contenimento per le attività connesse ai MOGM, conformemente all'Allegato IV della Direttiva.

Le due procedure da seguire per effettuare una corretta valutazione del rischio sono specificate nel Decreto Ministeriale 25 settembre 2001.

PROCEDURA 1

A) Individuazione di tutti gli effetti potenzialmente nocivi dell'MOGM

Organismo ricevente
Inserto
Vettore
Organismo donatore

Valutazione dell'incidenza del MOGM sulla salute umana e sull'ambiente

B) Caratteristiche dell'impiego confinato Classificazione iniziale del MOGM

C) Gravità degli effetti potenzialmente nocivi.



- D) Probabilità che gli effetti potenzialmente nocivi si verifichino.**
Natura delle attività da svolgere.
Concentrazione e portata.
Condizioni relative alle colture.
Ambiente potenzialmente esposto.
Presenza di specie suscettibili.
Ambiente favorevole alla sopravvivenza del MOGM.
Effetti sull'ambiente fisico.

PROCEDURA 2

- 1. Classificazione definitiva e determinazione delle misure di contenimento.**
- 2. Conferma dell'adeguatezza delle misure di contenimento definitive.**

Allegato 1

Esempio di Verbale di Valutazione del Rischio



Interventi di prevenzione e misure di sicurezza in caso di Rischio Biologico

a. Interventi di protezione dell'ambiente

- controllo dell'accesso (per i liv. di cont. 3-4);
- test periodici per verificare la corretta funzionalità delle aree di contenimento;
- disinfezione (es. UV, ossido di etilene, formaldeide ecc.);
- disinfestazione;
- corretto funzionamento del sistema di filtrazione dell'aria;
- corretto impiego dei sistemi di produzione.

b. Interventi di protezione personale

- maschere ed autorespiratori (se il contenimento da attuare lo richiede)
- guanti;
- cabine;
- indumenti monouso;
- cappe a flusso laminare;
- docce e altri sistemi di lavaggio e disinfezione;
- corretto impiego delle apparecchiature e strumentazioni di laboratorio;
- propipette;
- pipettatrici automatiche.

c. Misure di sicurezza

- organizzazione del lavoro
- segnaletica di sicurezza;
- formazione-informazione;
- trattamento dei reflui e dei rifiuti.

INFORMAZIONI SULLA GESTIONE DEI RIFIUTI

Per quanto riguarda il trattamento dei rifiuti alla luce della presente normativa e le linee guida dell'Ateneo si prevedono i seguenti trattamenti e modalità di smaltimento:

a) rifiuti solidi

metodo di trattamento: sterilizzazione in autoclave,



il materiale sterilizzato verrà smaltito in contenitori per rifiuti speciali, con il codice **CER:180103**

b) rifiuti liquidi

metodo di trattamento: è preferibile la sterilizzazione in autoclave, è previsto il trattamento con disinfettanti (solo se necessario!) secondo le modalità previste dalla scheda di utilizzo (concentrazione e durata)

I rifiuti liquidi autoclavati verranno smaltiti con il codice **CER: 160509**

Se si utilizzano disinfettanti valutare la modalità di smaltimento specifica.