



***Regolamento per il mantenimento e la manipolazione di
colture di microalghe e altri organismi marini produttori
di tossine o di fattori di rischio potenziale per la salute***

***Stazione Zoologica Anton Dohrn
Istituto Nazionale di Biologia, Ecologia e
Biotecnologie Marine***

***(Approvato con delibera del Consiglio di
Amministrazione n. 105 del 14/06/2021)***



Regolamento per il mantenimento e la manipolazione di colture di microalghe e altri organismi marini produttori di tossine o di fattori di rischio potenziale per la salute

Problematica

Alcune specie marine producono tossine dannose anche per la salute umana. È noto, ad esempio, che alcune microalghe (ad es. specie di dinoflagellati del genere *Ostreopsis* e *Karenia*) possono causare problemi alla salute umana in seguito a contatto o inalazione in quanto producono tossine che causano irritazioni e disturbi respiratori.

Al fine di stilare il presente regolamento e relativo protocollo è stato consultato il D.lgs. 9 aprile 2008, n. 81 (Testo coordinato con il D.Lgs. 3 agosto 2009, n. 106) nell'ultima versione aggiornata (2021).

L'elenco di microalghe potenziali produttrici di tossine (MAPPT) è consultabile sul sito 'IOC-UNESCO Moestrup, Ø., Akselmann-Cardella, R., Churro, C., Fraga, S., Hoppenrath, M., Iwataki, M., Larsen, J., Lundholm, N., Zingone, A. (Eds) (2009 onwards). IOC-UNESCO Taxonomic Reference List of Harmful Micro Algae. Accessed at <http://www.marinespecies.org/hab> on 2021-05-09. doi:10.14284/362. Su questo sito, periodicamente aggiornato, sono incluse anche referenze relative al tipo di tossine prodotte.

Al fine di tutelare la salute dei lavoratori, le microalghe tossiche o potenzialmente tossiche (ovvero le specie di microalghe marine riportate nella 'IOC-UNESCO *Taxonomic Reference List of Harmful Micro Algae*') sono classificate a livello internazionale generalmente come agenti biologici del gruppo 1 e dunque "un agente che presenta poche probabilità di causare malattie in soggetti umani". Tuttavia la loro coltivazione e concentrazione può esporre il personale dell'Ente e gli studenti frequentanti i laboratori a livelli di rischio non trascurabili.

Il presente regolamento definisce le procedure da adottare per il mantenimento e la manipolazione di colture di MAPPT e altre specie tossiche di microorganismi marini classificati come agenti biologici del gruppo 1.

Articolo 1 - Procedure generali

1.1 Le procedure ivi disciplinate si applicano sia a colture avviate su organismi campionati e isolati dal personale dell'Ente sia da colture acquistate e/o manipolazioni di organismi potenzialmente tossici o pericolosi per la salute umana.

1.2 Ogni dipartimento della Stazione Zoologica Anton Dohrn in cui sono mantenute colture di MAPPT deve predisporre un elenco, consultabile online sul sito dell'Ente in cui siano riportati il codice univoco della coltura, il genere e la specie (o comunque il livello tassonomico più accurato disponibile), la data di prelievo/raccolta o ricezione e la località di isolamento.

1.3 L'elenco delle specie tossiche presenti nel Dipartimento sarà gestito, in collaborazione con i ricercatori interessati, dal RAF designato dal Direttore di Dipartimento, dal responsabile di unità per il dipartimento RIMAR o dal responsabile specificamente individuato dal Direttore di Dipartimento.

1.4 I ricercatori/tecnologi responsabili di progetti in cui si utilizzano MAPPT devono illustrare al personale coinvolto nella ricerca il presente protocollo al momento della presa in servizio.



STAZIONE ZOOLOGICA ANTON DOHRN

Regolamento per il mantenimento e la manipolazione di colture di microalghe e altri organismi marini produttori di tossine o di fattori di rischio potenziale per la salute

1.5 Il personale non strutturato non può in alcun modo manipolare colture di MAPPT, salvo a seguito di corso abilitante e a con relativo rilascio di attestato da parte del RSPP.

1.6 I contenitori in cui sono mantenute le MAPPT (piastre e bottiglie di coltura) dovranno essere marcate con un'etichetta di colore GIALLO recante la scritta "MAPPT".

1.7 Il presente regolamento trova applicazione indipendentemente dalla quantità di organismi coltivati o dal loro livello di tossicità e si estende obbligatoriamente anche alle alghe potenzialmente tossiche.

1.8 Tutte le attività di ricerca effettuate con utilizzo di MAPPT devono essere soggette a autovalutazione di rischio (in accordo alla Guida Europea https://ec.europa.eu/research/participants/data/ref/h2020/grants_manual/hi/ethics/h2020_hi_ethics-self-assess_en.pdf) comunicate al RSPP e alla Commissione Etica dell'Ente.

1.9 Per tutte le procedure di laboratorio a rischio biologico è necessario indossare gli adeguati DPI.

1.10 Nelle aree in cui c'è rischio di esposizione a MAPPT è vietato assumere cibi e bevande, fumare, conservare cibi destinati al consumo umano, usare pipette a bocca e applicare cosmetici.

Articolo 2 - Coltivazione e manipolazione

2.1 La coltivazione e/o manipolazione di colture di MAPPT richiede il rispetto delle procedure standard di laboratorio che prevedono:

- l'utilizzo di terreni di coltura e di contenitori sterili per evitare la contaminazione delle microalghe con batteri e/o funghi;
- la conservazione delle colture in contenitori chiusi posti nei locali dotati di apposite scaffalature da dedicare esclusivamente a MAPPT o negli incubatori a temperatura e luce controllata;
- le operazioni di trasferimento delle colture vanno eseguite sotto cappa a flusso laminare per garantire il mantenimento della sterilità;
- la manipolazione di colture di specie che possono creare problemi alla salute umana in seguito a contatto o inalazione (specie del genere *Ostreopsis* e *Karenia*) deve essere effettuata sotto cappa aspirante di gruppo 2 e indossando guanti monouso da laboratorio.
- per prevenire la contaminazione da agenti esterni delle colture manipolate sotto cappa aspirante, è necessario flambare i colli dei contenitori al momento della loro apertura e chiusura.

Articolo 3 - Smaltimento del materiale utilizzato per il mantenimento/manipolazione delle colture

3.1 I contenitori di plastica utilizzati per la coltivazione delle colture MAPPT e le pipette vanno poste nei contenitori per la plastica;

3.2 I contenitori riutilizzabili che vengano a contatto con le colture di MAPPT dopo trattamento con Cloro attivo dovranno essere sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento.



Articolo 4 - Smaltimento delle colture e dei residui di coltura

4.1 Le procedure di smaltimento delle colture e di eventuali residui hanno il fine di evitare l'immissione nell'ambiente di cellule di microalghe potenzialmente tossiche e delle relative tossine.

4.2 Le colture ed i residui di coltura (es. sopranate nel caso di concentrazione delle colture) da eliminare vanno posti negli appositi contenitori di polycarbonato marcati con la dicitura 'rifiuti di colture di microalghe marine potenziali produttrici di tossine (MAPPT)'. Lo stesso procedimento dovrà essere esteso anche all'acqua di risciacquo che dovrà essere riposta nei contenitori di polycarbonato per rifiuti di colture MAPPT.

4.3 Tali contenitori devono essere posti sotto idonea cappa dei laboratori in cui si mantengono colture di MAPPT. Il contenuto essendo potenzialmente tossico e pericoloso dovrà essere trattato esclusivamente dal personale designato con cloro attivo (concentrazione iniziale del trattamento 10 mg/L per 24 ore).

4.4 Dopo 24 ore la concentrazione finale di Cloro attivo sarà naturalmente decaduta per effetto dell'esposizione alla luce e il contenuto potrà essere smaltito in sicurezza, nel rispetto dei limiti di legge vigenti (D. Lgs 152/2006, Parte terza, Allegato 5, Tabella 3).

Articolo 5 - Esposizione involontaria al rischio

5.1 In caso di incidente, infortunio o esposizione involontaria al rischio connesso all'uso di agenti biologici il personale è tenuto a darne tempestiva comunicazione al Direttore di Dipartimento, al RSPP, al RLS e al medico competente.

5.2 In caso di rischio di esposizione di personale per incidente in laboratorio il RSPP è tenuto ad attuare tutte le misure di urgenza necessarie a contenere il rischio e a bonificare l'area, impedendo al contempo l'accesso al personale non autorizzato ad intervenire.

Articolo 6 - Inadempienze

6.1 Il lavoratore che ometta di segnalare immediatamente qualsiasi infortunio o incidente relativo all'uso di agenti biologici è punito, ai sensi dell'art. 285, comma 1, lett. a) del d.lgs. 81/2008, con l'arresto fino a un mese o con l'ammenda da 300 a 800 euro.

6.2 Il lavoratore che violi il divieto di cui all'art. 1, comma 10 del presente regolamento è punito, ai sensi dell'art. 286 del d.lgs. 81/2008, con la sanzione amministrativa pecuniaria da 100 a 450 euro.

6.3 In caso di inadempienze, fatto salvo quanto previsto dalla legge per l'esposizione personale e altrui a rischio biologico, il personale responsabile potrà essere soggetto a sanzioni disciplinari.

Articolo 7 - Entrata in vigore

7.1 Il presente regolamento entra in vigore a partire dalla data di delibera del Consiglio di Amministrazione della Stazione Zoologica e viene pubblicato sul sito web dell'Ente, nell'area relativa ai regolamenti.