

---

# **CORSO DI FORMAZIONE PER GLI ISPETTORI REGIONALI AI FINI DELLO SVOLGIMENTO DELL'ATTIVITÀ DI VIGILANZA SULL'EMISSIONE DELIBERATA NELL'AMBIENTE DEGLI OGM**

## **Linea di attività V**

**Attività di vigilanza relativa ad OGM diversi dai  
microrganismi geneticamente modificati destinati ad  
impieghi in ambiente confinato**

**23 maggio – 8 giugno – 15 giugno  
2023**

**Matteo Lener  
Istituto superiore per la protezione e la ricerca  
ambientale (ISPRA)  
[matteo.lener@isprambiente.it](mailto:matteo.lener@isprambiente.it)**

---

D.lgs 224/2003,  
concernente  
l'emissione deliberata  
nell'ambiente di OGM

D.lgs 206/2001,  
concernente l'impiego  
confinato di MOGM

**l'impiego confinato di OGM, qualora siano applicati i principi di confinamento stabiliti dal D.lgs 206/2001, non costituisce un rilascio deliberato nell'ambiente Art.3 D.lgs 224/2003**

## D.lgs 224/2003

- Non è richiesta autorizzazione;
- Necessario applicare misure rigorose e specifiche di confinamento, basate sui principi stabiliti dal D.lgs 206/2001, atte a limitare il contatto con la popolazione e con l'ambiente e a garantire un livello elevato di sicurezza per questi ultimi;

## D.lgs 206/2001, qualora sia previsto l'impiego di MOGM

- MOGM classe di rischio 1:
  - Richiesta autorizzazione impianto
- MOGM classe di rischio >1:
  - Richiesta autorizzazione impianto
  - Richiesta autorizzazione impiego.

## Scenario 1. OGM prodotto presso altre strutture.

- Autorizzazione Impianto, non necessaria
- Autorizzazione Impiego, non necessaria

## Scenario 2. OGM prodotto presso altre strutture, impiego di MOGM di classe 1.

- Autorizzazione Impianto, necessaria
- Autorizzazione Impiego, non necessaria

## Scenario 3. OGM prodotto presso l'impianto.

- Autorizzazione Impianto, necessaria
- Autorizzazione Impiego, necessaria, per lo sviluppo di un OGM sono generalmente utilizzati MOGM di classe 2 (es. linee cellulari).

# La valutazione assegna l'impiego ad una specifica classe di rischio

### classe 1

- impieghi confinati a rischi nulli o trascurabili

### classe 2

- impieghi confinati a basso rischio

### classe 3

- impieghi confinati che presentano un rischio moderato

### classe 4

- impieghi confinati ad alto rischio

**L'allegato IV definisce i principi generali e le appropriate misure di contenimento e le altre misure di protezione corrispondenti alla classe dell'impiego confinato, tali da mantenere l'esposizione del luogo di lavoro e dell'ambiente al più basso livello ragionevolmente realizzabile, e assicurare un alto livello di sicurezza.**

- **Il contenimento si ottiene anche mediante il ricorso a:**
  - **buone pratiche di lavoro**
  - **Formazione**
  - **attrezzature di confinamento**
  - **speciale progettazione degli impianti.**
- **Per tutte le operazioni che prevedono l'impiego di MOGM e OGM si applicano i principi di buona prassi microbiologica, nonché i principi di buona sicurezza e igiene del lavoro.**

# Misure di contenimento e di protezione per le attività di laboratorio

Specifiche		Livelli di contenimento			
		1	2	3	4
1	Ambienti di laboratorio: isolamento <sup>(1)</sup>	non necessario	non necessario	necessario	necessario
2	Laboratorio: sigillabile in modo da consentire la fumigazione	non necessario	non necessario	necessario	necessario
Attrezzature					
3	Superfici resistenti ad acqua, acidi, alcali, solventi, disinfettanti e agenti decontaminanti e facili da pulire	necessario (bancone)	necessario (bancone)	necessario (bancone, pavimento)	necessario (bancone, pavimento, soffitto, pareti)
4	Accesso al laboratorio attraverso camera di compensazione <sup>(2)</sup>	non necessario	non necessario	facoltativo	necessario
5	Pressione negativa rispetto alla pressione nelle immediate circostanze	non necessario	non necessario	necessario ad eccezione di <sup>(3)</sup>	necessario
6	L'aria immessa nel ed emessa dal laboratorio deve essere sottoposta a ultrafiltro (HEPA) <sup>(4)</sup>	non necessario	non necessario	necessario (HEPA) — aria emessa ad eccezione di <sup>(3)</sup>	necessario (HEPA) — aria immessa ed emessa <sup>(5)</sup>
7	Posto di sicurezza microbiologica	non necessario	facoltativo	necessario	necessario
8	Autoclave	nel sito	nell'edificio	sul piano <sup>(6)</sup>	in laboratorio = a doppia entrata

# Misure di contenimento e di protezione per le attività di laboratorio

## Modalità di funzionamento

9	Accesso limitato	non necessario	necessario	necessario	necessario
10	Segnale di pericolo biologico sulla porta	non necessario	necessario	necessario	necessario
11	Misure specifiche per controllare la diffusione di aerosol	non necessario	necessario minimizzare	necessario prevenire	necessario prevenire
13	Doccia	non necessario	non necessario	facoltativo	necessario
14	Indumenti protettivi	indumenti di protezione adeguati	indumenti di protezione adeguati	indumenti di protezione e (facoltativo) calzature adeguate	cambio completo di indumenti e calzature all'entrata e all'uscita



# Misure di contenimento e di protezione per le attività di laboratorio

Specifiche		Livelli di contenimento			
		1	2	3	4
15	Guanti	non necessario	facoltativo	necessario	necessario
18	Controllo efficiente di possibili vettori (ad esempio per roditori ed insetti)	facoltativo	necessario	necessario	necessario

## Rifiuti

19	Inattivazione degli MGM negli effluenti dei lavandini, degli scarichi o delle docce, se presenti, o in effluenti analoghi	non necessario	non necessario	facoltativo	necessario
20	Inattivazione degli MGM nei materiali e nei rifiuti contaminati	facoltativo	necessario	necessario	necessario

## Altre misure

21	Il laboratorio deve contenere la propria attrezzatura	non necessario	non necessario	facoltativo	necessario
23	Deve essere presente una finestra di osservazione, o una soluzione alternativa, che consenta di vedere gli occupanti	facoltativo	facoltativo	facoltativo	necessario

# Serre e camere di crescita: misure di contenimento

Specifiche		Livelli di contenimento			
		1	2	3	4
<b>Edifici</b>					
1	Serra: struttura permanente <sup>(1)</sup>	non necessario	necessario	necessario	necessario
<b>Attrezzature</b>					
3	Accesso mediante compartimento separato dotato di due porte autobloccanti	non necessario	facoltativo	facoltativo	necessario
4	Controllo degli scarichi idrici contaminati	facoltativo	minimizzare gli scarichi <sup>(2)</sup>	evitare gli scarichi	evitare gli scarichi
<b>Modalità di funzionamento</b>					
6	Misure per il controllo delle specie indesiderate quali insetti, roditori, artropodi	necessario	necessario	necessario	necessario
7	Procedure per il trasferimento di materiale biologico tra la struttura protettiva della serra o camera di crescita e il laboratorio che frenino la diffusione di MGM	minimizzare la diffusione	minimizzare la diffusione	evitare la diffusione	evitare la diffusione

<sup>(1)</sup> La serra deve consistere in una struttura permanente dotata di una copertura completa impermeabile, ubicata in un sito sopraelevato in modo da evitare la penetrazione diicoli superficiali e dotata di porte autochiudenti e munite di serratura.

<sup>(2)</sup> Nel caso la trasmissione possa avvenire attraverso il terreno.

# Stabulari: misure di contenimento

Specifiche		Livelli di contenimento			
		1	2	3	4
Strutture					
1	Isolamento dello stabulario <sup>(1)</sup>	facoltativo	necessario	necessario	necessario
2	Strutture per animali <sup>(2)</sup> separate da porte munite di serratura	facoltativo	necessario	necessario	necessario
3	Strutture per animali previste in modo da agevolare la decontaminazione [materiale impermeabile e facilmente lavabile (gabbie, ecc.)]	facoltativo	facoltativo	necessario	necessario
4	Pavimento e/o pareti facilmente lavabili	facoltativo	necessario (pavimento)	necessario (pavimento e pareti)	necessario (pavimento e pareti)
5	Animali tenuti in installazioni di contenimento adeguate, quali gabbie, recinti o acquari	facoltativo	facoltativo	facoltativo	facoltativo
6	Filtri per gli isolatori o le camere isolate <sup>(3)</sup>	non necessario	facoltativo	necessario	necessario

<sup>(1)</sup> Stabulario: un edificio o un'area separata all'interno di un edificio che contiene strutture per animali e altre aree come spogliatoi, docce, autoclavi, magazzini per alimenti, ecc.

<sup>(2)</sup> Strutture per animali: una struttura impiegata normalmente per ospitare animali da stabulare, da allevare o da esperimento o che viene utilizzata per effettuare piccoli interventi chirurgici.

<sup>(3)</sup> Isolatori: contenitori trasparenti nei quali gli animali di piccole dimensioni vengono confinati all'interno o all'esterno di una gabbia; per gli animali di grandi dimensioni possono essere più appropriate camere isolate.

# Stabulari: misure di contenimento

Specifiche		Livelli di contenimento			
		1	2	3	4
Strutture					
1	Isolamento dello stabulario <sup>(1)</sup>	facoltativo	necessario	necessario	necessario
2	Strutture per animali <sup>(2)</sup> separate da porte munite di serratura	facoltativo	necessario	necessario	necessario
3	Strutture per animali previste in modo da agevolare la decontaminazione [materiale impermeabile e facilmente lavabile (gabbie, ecc.)]	facoltativo	facoltativo	necessario	necessario
4	Pavimento e/o pareti facilmente lavabili	facoltativo	necessario (pavimento)	necessario (pavimento e pareti)	necessario (pavimento e pareti)
5	Animali tenuti in installazioni di contenimento adeguate, quali gabbie, recinti o acquari	facoltativo	facoltativo	facoltativo	facoltativo
6	Filtri per gli isolatori o le camere isolate <sup>(3)</sup>	non necessario	facoltativo	necessario	necessario

<sup>(1)</sup> Stabulario: un edificio o un'area separata all'interno di un edificio che contiene strutture per animali e altre aree come spogliatoi, docce, autoclavi, magazzini per alimenti, ecc.

<sup>(2)</sup> Strutture per animali: una struttura impiegata normalmente per ospitare animali da stabulare, da allevare o da esperimento o che viene utilizzata per effettuare piccoli interventi chirurgici.

<sup>(3)</sup> Isolatori: contenitori trasparenti nei quali gli animali di piccole dimensioni vengono confinati all'interno o all'esterno di una gabbia; per gli animali di grandi dimensioni possono essere più appropriate camere isolate.

L' Art. 28 del D.lgs 224/2003, prevede che gli OGM destinati ad impieghi in ambiente confinato, siano etichettati secondo i requisiti specificati nell'allegato IV.

L'etichetta o il documento di accompagnamento deve contenere, qualora pertinente, almeno:

- la dicitura «Questo prodotto contiene organismi geneticamente modificati»;
- il nome dell'OGM;
- Descrizione delle modalità di uso previste per il prodotto e per l'OGM in quanto tale o contenuto nel prodotto. Devono essere evidenziate le diversità nell'uso e nella gestione dell'OGM rispetto a prodotti simili non geneticamente modificati;
- Misure di emergenza in caso di emissione accidentale o di uso improprio;
- Istruzioni o raccomandazioni particolari per immagazzinamento o manipolazione;

L' Art. 28 del D.lgs 224/2003, prevede che gli OGM destinati ad impieghi in ambiente confinato, siano etichettati secondo i requisiti specificati nell'allegato IV.

L'etichetta o il documento di accompagnamento deve contenere, qualora pertinente, almeno:

- la dicitura «Questo prodotto contiene organismi geneticamente modificati»;
- il nome dell'OGM;
- Descrizione delle modalità di uso previste per il prodotto e per l'OGM in quanto tale o contenuto nel prodotto. Devono essere evidenziate le diversità nell'uso e nella gestione dell'OGM rispetto a prodotti simili non geneticamente modificati;
- Misure di emergenza in caso di emissione accidentale o di uso improprio;
- Istruzioni o raccomandazioni particolari per immagazzinamento o manipolazione;





Sperimentazione finalizzata a sviluppare e testare tecnologie “auto-limitanti” per *Aedes aegypti* e *Drosophila suzukii*

Regione Umbria



Sperimentazione su materiale vegetale derivante da incroci con petunie geneticamente modificate

Regione Lazio



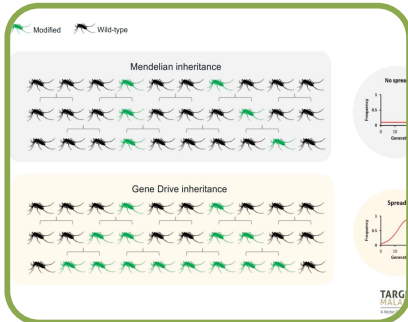
Sperimentazione di piante di vite geneticamente modificate per indurre resistenza *Botrytis cinerea*

Regione Emilia-Romagna



## Notificante

- Polo d'Innovazione di Genomica, di Genetica e Biologia SCaRL
- Impianto Terni



## Scopo

- Ridurre la popolazione di zanzare responsabili della malaria attraverso l'uso del gene drive in ambiente controllato



## OGM

- Zanzare della specie *Anopheles gambiae*,
- Plasmidi con CRISPR/Cas anti *Doublesex gene*, espresso nella linea germinale determina gene drive



# Sperimentazione con zanzare geneticamente modificate

## CLASSIFICAZIONE DEL RISCHIO

- L'impiego di zanzare GM valutando i potenziali fattori di rischio derivanti da insetti geneticamente modificati non infetti da un patogeno, è stato classificato di rischi 2 e pertanto il livello di contenimento richiesto è il 2.

## MISURE DI CONTENIMENTO

- Il laboratorio è suddiviso in due aree:
  - un'area di non contenimento
  - un'area di contenimento.
- previste misure di confinamento fisico garantite da:
  - struttura del laboratorio
  - implementazione delle procedure operative
  - organizzazione del laboratorio
  - gestione dei rifiuti.

## VERIFICA DELLE MISURE

- L'efficacia delle misure di contenimento è regolarmente controllata da trappole per zanzare. Specifici protocolli in uso all'interno del laboratorio includono esami molecolari da effettuare sugli insetti raccolti

# Sperimentazione con zanzare GM.

## Planimetria dell'impianto



Planimetria dell'impianto e ubicazione delle Light Traps per insetti (quadrati blu) e delle trappole specifiche per moscerini (in giallo)

# Sperimentazione con zanzare geneticamente modificate



- L'accesso all'area di contenimento BSL2 / ACL2 è consentito attraverso un locale filtro con doppia con funzione di interblocco
- il personale tecnico è obbligato a vestirsi o svestirsi in caso di ingresso o uscita dall'area di confinamento.
- In corrispondenza della porta di accesso al vestibolo è installato un dispositivo di ventilazione con scopo di barriera antizanzare.
- E' inoltre installato uno specchio in corrispondenza della porta di uscita dall'area di contenimento al fine di permettere allo stesso operatore un'ispezione visiva della superficie del vestiario.
- La facility di contenimento non è dotata di finestre, né di scarichi a pavimento.
- Ogni condotta elettrica è sigillata con resine di poliuretano per evitare l'entrata/uscita di artropodi.
- Sistema di riscaldamento, ventilazione e raffreddamento "a tutta aria", con ricambio totale (100%) senza ricircolo parziale, mantiene la pressione dell'area confinata minore rispetto alle aree esterne, a evitare la fuoriuscita di insetti adulti attraverso i dotti di circolazione. In aggiunta, filtri HEPA (tipo G4) sono installati a livello di ogni ventola con aria in entrata e in uscita.

# Sperimentazione con zanzare GM. Camera climatica per riproduzione



camera climatica con gabbie di piccole  
e medie dimensioni





# Sperimentazione con zanzare GM. Le grandi gabbie climatiche



L'accesso alle gabbie è autorizzato solo per personale esperto e addestrato, per evitare fughe di zanzare è severamente vietato entrare mentre gli esperimenti sono in corso. L'entrata è permessa per l'allestimento, alla fine degli esperimenti per la pulizia e per ragioni straordinarie quali la caduta del contenitore per il pasto di zucchero sul pavimento.

L'attività di vigilanza viene effettuata dal MASE

Le ispezioni presso gli impianti dove si svolgono le attività con OGM in ambiente confinato hanno lo scopo di verificare:

- il rispetto delle misure di contenimento necessarie per la classe di impiego specificata;
  - la conformità dell'etichettatura e dell'imballaggio.
-

## Presso l'impianto l'ispettore dovrà controllare:

- nominativi e recapiti dei responsabili del progetto e dei laboratori;
- localizzazione del sito/i di sperimentazione;
- titolo del progetto di ricerca;
- verifica della corrispondenza degli ambienti utilizzati per l'uso confinato alla descrizione fatta nella segnalazione, possibilmente corredata da fotografie, e delle misure di contenimento utilizzate;
- controllo documentale sulle autorizzazioni di impianto e impiego già ottenute o richieste ai sensi del decreto legislativo n. 206/2001;
- OGM oggetto della sperimentazione;
- informazioni sui metodi di trasfezione e/o trasformazione utilizzati;
- informazioni sull'organismo donatore e sul transgene utilizzato;
- schematizzazione dei costrutti genetici utilizzati per la trasfezione e/o trasformazione;
- verifica modalità di manipolazione dell'OGM;
- modalità di trasporto (imballaggi utilizzati e quantitativi trasportati);
- indicazioni sul trattamento dei rifiuti;
- misure di emergenza previste in caso di emissione accidentale nell'ambiente o di uso
- etichettatura, imballaggio e identificatore unico, solo per verificare la correttezza delle informazioni e compilare il verbale di ispezione.

Il Decreto Vigilanza, non prevede un modello verbale di ispezione da utilizzare per questa linea di attività.

L'ispettore, dovrà allegare al verbale di ispezione anche una documentazione fotografica, per testimoniare etichettatura e misure di contenimento adottate.

- È necessario attivare le opzioni data, orario e GPS sul mezzo che si utilizza per fare le foto, per confermare la corrispondenza delle foto con l'ispezione a cui sono riferite.

Il verbale va compilato in triplice copia, una copia deve essere consegnata al titolare del sito di ispezione (e da questi controfirmata). A tal fine ci sono tre opzioni:

- dotarsi di moduli appositi compilabili in triplice copia;
- compilare il verbale tre volte, in maniera identica;
- fotocopiare il verbale in loco
- tramite l'utilizzo di app di scansione disponibili per i cellulari o i tablet (in questo secondo caso la consegna avviene poi per mail o pec).



Nel caso di una mancata applicazione delle idonee misure di contenimento, l'impiego di OGM si prefigurerebbe come una emissione deliberata nell'ambiente.

In questo caso in assenza della necessaria autorizzazione da parte dell'Autorità competente, si applicano le sanzioni relative al Titolo II del D.lgs 224 Art. 34. comma 1:

- “Chiunque effettua un'emissione deliberata di un OGM per scopi diversi dall'immissione sul mercato senza averne dato preventiva notifica all'autorità nazionale competente è punito con l'arresto da sei mesi a tre anni o con l'ammenda sino ad euro 51.700.”

**CORSO DI FORMAZIONE PER GLI ISPETTORI REGIONALI  
AI FINI DELLO SVOLGIMENTO DELL'ATTIVITÀ DI  
VIGILANZA SULL'EMISSIONE DELIBERATA  
NELL'AMBIENTE DEGLI OGM**

**Grazie per l'attenzione**

**Matteo Lener**

**Istituto superiore per la protezione e la ricerca ambientale (ISPRA)**

**[matteo.lener@isprambiente.it](mailto:matteo.lener@isprambiente.it)**

---