	Specifica Operativa NORME PER L'UTILIZZO DELL'AZOTO LIQUIDO PRESSO LE SEZIONI DEL DIMES	SICUREZZA
02/09/2019		SOP

INDICE

1. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE
2. DOCUMENTI DI RIFERIMENTO
3. RESPONSABILITÀ
4. MODALITÀ OPERATIVE
5. ALLEGATO

1. **SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE**

La presente Specifica Operativa ha lo scopo di divulgare a tutti i componenti del laboratorio le norme utili per l'approvvigionamento, lo stoccaggio, la corretta gestione dell'azoto liquido e minimizzare il rischio per i lavoratori e per i terzi.

si adopera l'azoto liquido per la crioconservazione di linee cellulari e di tessuti umani e/o animali.

2. **DOCUMENTI DI RIFERIMENTO**


- D. Lgs. 81/08
- Scheda di sicurezza

3. **RESPONSABILITÀ**

Il responsabile dell'attività didattica e della ricerca in laboratorio è responsabile della formazione e della vigilanza. I singoli lavoratori sono responsabili dell'applicazione corretta delle procedure d'uso dei reagenti.

4. **MODALITÀ OPERATIVA**

Alle norme generali per l'utilizzo in sicurezza dell'azoto liquido allegate alla presente per ogni sezione del DIMES sono state individuate le seguenti procedure:

	Specifica Operativa NORME PER L'UTILIZZO DELL'AZOTO LIQUIDO PRESSO LE SEZIONI DEL DIMES	SICUREZZA
02/09/2019		SOP

Anatomia/Istologia

Presso le sezioni di anatomia e istologia, nel piazzale di Via Marsano, 14 è presente un serbatoio di Azoto liquido in comodato d'uso con la ditta SIAD di 3000 litri che viene riempito circa una volta al mese. La procedura di riempimento è effettuata da personale della ditta in presenza del tecnico di Istologia il Sig. Marco Arvigo. Orario 12-13 eccezionalmente 7-8. Il rifornimento avviene tramite autobotte che accede da passo carraio presso anatomia patologica. Ultimata la manovra il mezzo si posiziona vicino al serbatoio ed il personale addetto della ditta compie le operazioni necessarie al rifornimento.

Dal serbatoio di 3000 litri vengono prelevate in base alle necessità aliquote di prodotto destinate al riempimento dei contenitori delle sezioni di anatomia (II piano) e di istologia (III piano). Il riempimento avviene nel pianerottolo dell'uscita di via Marsano, 14 dove è situato il tubo flessibile d'erogazione del prodotto. Durante il travaso viene impedito il passaggio alle persone fino a conclusione della procedura.


Il riempimento dal serbatoio ai dewars da 25 litri è effettuato da personale formato per manipolare il gas refrigerante (Sig. Marco Arvigo per Istologia e Dott.ssa Cristina Gagliani per Anatomia), dotato di DPI (guanti resistenti al freddo, visiera/occhiali e calzature adeguate). Il dewar una volta riempito viene messo nel vano ascensore senza essere accompagnato da nessuno, e viene richiamato al piano da una seconda persona.

Anatomia: sono presenti 4 contenitore di stoccaggio cellule al piano II di litri 110, 130, 165, 165 situati in una zona adeguatamente arieggiata (presenti ventole alle finestre) e dotata di rilevatore della concentrazione di ossigeno.

Il travaso dell'azoto liquido dal dewar di 25 litri ai contenitori criogenici di stoccaggio delle cellule, è condotto da 2 unità di personale formato e dotato di DPI.

Istologia: sono presenti n. 2 contenitori di stoccaggio cellule al piano III di litri 100, situati in una zona adeguatamente arieggiata (presenti estrattori) e dotata di rilevatore della concentrazione di ossigeno.

Il travaso dell'azoto liquido dal dewar di 25 litri ai contenitori criogenici di stoccaggio delle cellule, è condotto da 2 unità di personale formato e dotato di DPI.

	Specifica Operativa NORME PER L'UTILIZZO DELL'AZOTO LIQUIDO PRESSO LE SEZIONI DEL DIMES	SICUREZZA
02/09/2019		SOP

Biochimica

L' approvvigionamento dell'azoto liquido avviene tramite ditta fornitrice.

Sono presenti 2 contenitori di stoccaggio cellule da 35 litri al piano II e 2 al piano III. I contenitori sono situati in zone adeguatamente arieggiate (presenti ventole alle finestre) e dotate di rilevatori della concentrazione di ossigeno.

I dewars da 25 litri vengono portati ogni 2 settimane dal personale della ditta fornitrice che lo movimentata fino al II o III piano. per il trasporto del dewar pieno di prodotto al piano è consentito l'uso dell'ascensore con grate di areazione (ascensore a sinistra dell'entrata).

Il travaso dell'azoto liquido dal dewar di 25 litri ai contenitori criogenici di stoccaggio delle cellule, è condotto da 2 unità di personale formato e dotato di DPI (Dott.ssa L. Guida, Dr. M. Pedrazzi).

Fisiologia

L' approvvigionamento dell'azoto liquido avviene tramite ditta fornitrice.

Sono presenti n.2 contenitori di stoccaggio cellule da 25 litri al piano fondi, situati in una zona adeguatamente arieggiata (finestra aperta) e dotata di rilevatore della concentrazione di ossigeno.

I dewars da 25 litri vengono portati ogni 2 settimane dal personale della ditta fornitrice che lo movimentata fino garage situato nel piano fondi, (evitare di movimentare i dewar attraverso la scala interna perché ripida è stretta).


Il travaso dell'azoto liquido dal dewar di 25 litri ai contenitori criogenici di stoccaggio delle cellule, è condotto da 2 unità di personale formato e dotato di DPI (Dott.ssa S. Casagrande, Sig. G. Papa).

Patologia

L' approvvigionamento dell'azoto liquido avviene tramite ditta fornitrice.

Sono presenti n. 2 contenitori di stoccaggio cellule da 25 litri al piano fondi, situati in una zona adeguatamente arieggiata (stanza con finestra sempre aperta) e dotata di rilevatore della concentrazione di ossigeno.

Il dewar da 25 litri viene portato ogni circa 4 settimane dal personale della ditta fornitrice che lo movimentata fino nel piano fondi con l'ascensore perché il vano è aperto e arieggiato.

	Specifica Operativa NORME PER L'UTILIZZO DELL'AZOTO LIQUIDO PRESSO LE SEZIONI DEL DIMES	SICUREZZA
02/09/2019		SOP

Il travaso dell'azoto liquido dal dewar di 25 litri ai contenitori criogenici di stoccaggio delle cellule, è condotto da 2 unità di personale formato e dotato di DPI (Dott.ssa L. Scarabelli, Sig. G. Catalano).

5. ALLEGATO



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA
AREA SVILUPPO EDILIZIO
 SERVIZIO PREVENZIONE AMBIENTE ED ADEGUAMENTO NORMATIVO
 Settore Servizio Prevenzione e Protezione. Protezione Ambiente


Norme per l'Utilizzo in sicurezza dell'AZOTO LIQUIDO

Lo scopo della seguente procedura è quello di definire ed uniformare i comportamenti degli operatori al fine di garantire **la manipolazione in sicurezza dell'azoto liquido (gas compresso, criogeno)** ovvero ridurre al minimo i rischi principali (contatto di parti del corpo con la sostanza criogenica, riduzione della quantità di ossigeno nell'aria ambiente) e collaterali (esposizione ad agenti fisici), derivanti dall'utilizzo. L'azoto criogeno (LIN=liquid nitrogen/azoto liquido) viene trasportato e depositato in contenitori criogenici mobili. Può trattarsi di contenitori chiusi che sopportano una sovrappressione interna (pressurizzati), oppure di contenitori aperti a pressione atmosferica, chiamati anche Dewars.

I Dewars possono essere aperti o muniti di tappo con tubo di sfianto o altro dispositivo che permetta lo scarico del vapore ed eviti il formarsi di pressioni troppo elevate. E' buona norma ispezionare frequentemente i dispositivi di scarico dei contenitori per accertarsi che non siano bloccati dal ghiaccio che può formarsi per effetto della condensazione dell'umidità atmosferica.

I rischi principali dell'azoto sono legati alla temperatura (-196°C), valore che garantisce alla sostanza di essere mantenuta allo stato liquefatto, pertanto **il contatto con il liquido può provocare gravi ustioni da freddo** e, se prolungato, può portare al congelamento della parte interessata.

Per quanto riguarda il rischio d'incendio, l'azoto non presenta particolari problemi essendo un gas non infiammabile e non comburente. Non sono quindi da adottare particolari misure antincendio.

	Specifica Operativa NORME PER L'UTILIZZO DELL'AZOTO LIQUIDO PRESSO LE SEZIONI DEL DIMES	SICUREZZA
02/09/2019		SOP

Se, poi, l'azoto risultasse presente nell'aria in quantità superiori alla sua normale concentrazione (circa il 78%), potrebbe provocare condizioni di asfissia. Questo può realizzarsi a seguito dell'evaporazione dell'azoto liquido in ambienti chiusi (fenomeno che non può essere evitato in alcun modo nei contenitori dedicati).

E' quindi necessario prevedere lo stoccaggio dei contenitori di azoto esclusivamente in locali ben areati e dotati di dispositivo di misurazione della concentrazione percentuale di ossigeno, o all'aperto.

L'utilizzo deve essere fatto in ambienti aerati. Nel caso di sversamento accidentale o di "perdita" dai contenitori, la **prima cosa** a cui si deve porre attenzione è evitare il contatto con il liquido e con il vapore che fuoriesce e si deve quindi provvedere ad isolare la zona interessata dalla fuoriuscita finché la perdita non è sotto controllo.


Per tutte le operazioni che possono comportare il contatto con il liquido o con il contenitore da cui si è verificata la perdita, utilizzare gli appositi Dispositivi di Protezione Individuale resistenti alle basse temperature.

ATTENZIONE: la nebbia che si forma quando si espone all'aria un gas liquefatto, è dovuta all'umidità che condensa e non al gas stesso che, invece, è trasparente ed incolore. Particolare attenzione va rivolta a tutte le operazioni che contemplano l'uso diretto del liquido. I rischi più frequenti si hanno nelle **operazioni di travaso** e nelle **operazioni di immersione ed estrazione di oggetti dal liquido** a causa della produzione di schizzi dovuti alla variazione della temperatura del liquido criogeno.

Queste sono quindi **operazioni da svolgere sempre lentamente, prevedendo l'uso dei Dispositivi di Protezione Individuale (DPI)** come: guanti di protezione da ustioni da freddo, occhiali muniti di protezioni laterali o visiere e protezioni degli arti inferiori per evitare, soprattutto nei travasi, sgocciolamenti all'interno delle calzature. I guanti devono essere larghi per poter essere facilmente sfilati nel caso in cui gocce o schizzi vi entrino.

Per estrarre oggetti immersi nel liquido usare sempre pinze o tenaglie, maneggiando con cautela sia queste che gli oggetti; oltre ai rischi da contatto già citati, bisogna infatti ricordare che molti materiali teneri o flessibili a temperatura ambiente, diventano duri e fragili a basse temperature. Il prelievo di piccole quantità di liquido criogenico direttamente dal Dewars, deve essere eseguito con mezzi appropriati, comunque di materiale resistente a basse temperature (metallo)

NORME DI SICUREZZA GENERALI

	Specifica Operativa NORME PER L'UTILIZZO DELL'AZOTO LIQUIDO PRESSO LE SEZIONI DEL DIMES	SICUREZZA
02/09/2019		SOP


Al fine di garantire la sicurezza del personale, devono essere rispettate e fatte rispettare le indicazioni di seguito descritte.

1. Evitare il contatto accidentale con il liquido criogeno o il gas evaporato che si trova ancora a temperature tali da causare ustioni da freddo che possono essere gravi quanto quelle causate da temperature elevate.
2. Stoccare ed utilizzare il liquido criogeno in sistemi chiusi con pressione positiva per prevenire l'infiltrazione e solidificazione dell'aria o di altri gas, la cui conseguenza potrebbe essere l'ostruzione di passaggi di sfogo e valvole di sicurezza.
3. Mantenere pulite le superfici su cui l'aria si condensa, in quanto l'aria condensata è arricchita di ossigeno (l'azoto evapora prima dell'ossigeno), soprattutto in prossimità delle valvole e degli sfiati, dove può essere presente del lubrificante. Un'elevata concentrazione di ossigeno può accrescere il rischio di incendio.
4. Controllare, secondo le indicazioni della ditta fornitrice, il corretto funzionamento delle valvole di sicurezza dei contenitori di liquido criogeno, in quanto il trasferimento di una piccola quantità di calore al liquido determina l'espansione del liquido stesso.

NORME PER LA DETENZIONE ED IL TRASPORTO

1. Il personale autorizzato al trasporto deve essere informato e formato riguardo i rischi e le misure di prevenzione e protezione. Le norme specifiche sul trasporto da conoscere sono quelle trascritte al punto 14 delle schede di sicurezza del prodotto. Di seguito vengono citate le **precauzioni speciali per gli utilizzatori**.

1. Prima di iniziare il trasporto:
 - Assicurarsi che il cappellotto (ove fornito) sia correttamente montato.
 - Assicurarsi che vi sia adeguata ventilazione.
2. Spostare i contenitori dell'azoto (siano essi pieni o vuoti) evitando urti che potrebbero provocare un'evaporazione incongrua e dar luogo ad un aumento di flusso di gas attraverso i dispositivi di sfogo.
3. Effettuare il trasporto dei contenitori del gas criogeno con appositi carrelli.
4. Fissare in modo sicuro ed indipendente ciascun contenitore.
5. Se la consegna comporta l'uso di un ascensore, essa deve avvenire senza accompagnamento o più precisamente: un operatore si posiziona al piano di arrivo, per il ritiro del contenitore, mentre un secondo operatore lo invia, senza salire.

	Specifica Operativa NORME PER L'UTILIZZO DELL'AZOTO LIQUIDO PRESSO LE SEZIONI DEL DIMES	SICUREZZA
02/09/2019		SOP

6. Non lubrificare valvole o riduttori con oli e grassi, in quanto si accentua il rischio di fuoriuscite indebite di gas dal contenitore. Inoltre la temperatura molto bassa del criogeno può provocare la condensazione dell'ossigeno presente nell'aria sulle valvole e sugli sfiati: se queste superfici sono rivestite di olio o altro lubrificante vi è potenzialmente il rischio di incendio.

7. Verificare che la ventilazione all'interno dell'eventuale locale dove sono stoccati i contenitori, sia pieni che vuoti, sia adeguata.

NORME PER IL TRAVASO

Le operazioni di travaso dell'azoto liquido devono essere effettuate da operatori opportunamente informati sui rischi potenziali associati alla manipolazione di gas compressi e/o criogeni e istruiti in merito alle misure di prevenzione e protezione e alle eventuali procedure interne definite dal Responsabile del Laboratorio.

Prima dell'inizio dell'operazione di travaso e per tutta la durata dell'operazione, è **obbligatorio indossare i Dispositivi di Protezione Individuale idonei** (guanti resistenti al freddo, visiera o occhiali, grembiule, scarpe).


Travaso tra dewars a pressione atmosferica

- Effettuare il sollevamento del dewar ed il travaso del liquido criogenico in due persone.
- Durante le operazioni di travaso bisogna controllare il livello raggiunto sul contenitore, evitando ogni contatto diretto con la sostanza criogena.
- Nel caso in cui una persona si sentisse intontita o perdesse i sensi, trasportarla immediatamente in un'area ben ventilata ed attivare le procedure di pronto soccorso.

Travaso da serbatoio a dewar a pressione atmosferica

- Posizionare il dewar in prossimità della zona di travaso in modo da potervi adagiare agevolmente il terminale del tubo flessibile sul fondo.
- Aprire lentamente la valvola di prelievo del serbatoio
- In prossimità del raggiungimento del livello voluto chiudere la valvola sulla fase liquida a metà corsa.
- Al livello voluto chiudere completamente la valvola sulla fase liquida del serbatoio.

DISPOSITIVI DI PROTEZIONE INDIVIDUALE (DPI)

	Specifica Operativa NORME PER L'UTILIZZO DELL'AZOTO LIQUIDO PRESSO LE SEZIONI DEL DIMES	SICUREZZA
02/09/2019		SOP

- guanti resistenti al freddo (marcatura CE EN 511)
- calzature idonee (non aperte)
- visiera o occhiali (marcatura CE EN 166)
- grembiule protettivo per criogenia