



AGENTI BIOLOGICI

Titolo X

D. Lgs 9 aprile 2008 n. 81 e s.m.i.

Campo di applicazione

*Il campo di applicazione comprende tutte le attività lavorative nelle quali vi è rischio di esposizione ad agenti biologici, sia quelle con **uso deliberato** di microrganismi che quelle con **rischio potenziale** di esposizione.*

La differente tipologia di rischio espositivo condiziona gli adempimenti che il datore di lavoro deve adottare!!

Restano ferme le disposizioni particolari di recepimento delle norme comunitarie (D.Lgs 3 marzo 1993 n. 91) sull'impiego confinato di **microrganismi geneticamente modificati** e sull'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati.

Definizioni

Agente biologico

- Un qualsiasi microrganismo, anche se geneticamente modificato*, coltura cellulare ed endoparassita umano che potrebbe provocare infezioni, allergie o intossicazioni.

Microrganismo

- Entità microbiologica, cellulare o meno, in grado di riprodursi o di trasferire materiale genetico.

Coltura cellulare

- Il risultato della crescita in vitro di cellule derivate da organismi pluricellulari.

* microrganismo geneticamente modificato (MOGM): *“un microrganismo (entità microbiologica, cellulare e non cellulare, capace di replicarsi o trasferire materiale genetico, compresi virus, viroidi, cellule animali e vegetali in coltura) il cui materiale genetico è stato modificato in modo non naturale”* (D.Lgs n. 91/1993).

Uso deliberato

Documento per il Coordinamento Tecnico degli assessorati alla Sanità delle Regioni e Province autonome di Trento e Bolzano: *“Linee guida per l'applicazione del D.Lgs 626/94, Titolo VIII Protezione da agenti biologici”*



“Si determina uso o impiego di agenti biologici quando microrganismi considerati agenti biologici vengono deliberatamente introdotti nel ciclo lavorativo, per essere trattati, manipolati o trasformati, per sfruttarne le proprietà biologiche a qualsiasi titolo”.

I laboratori diagnostici di tipo microbiologico sono rappresentativi delle attività lavorative che usano agenti biologici, poiché i microrganismi vengono volutamente isolati, coltivati o trattati per accertarne la presenza, il tipo e/o la quantità nei campioni in esame, divenendo conseguentemente materie prime, almeno intermedie, delle varie fasi operative in cui si articola il processo analitico.

Settori lavorativi con uso deliberato di agenti biologici

Centri di ricerca: sperimentazione, laboratori di microbiologia (diagnostica e saggio)

Sanità: ricerca e sperimentazione di nuovi metodi diagnostici, farmaci contenenti agenti biologici

Farmaceutica: ricerca e produzione di vaccini, ricerca e produzione di farmaci

Alimentare: produzione per biotrasformazione (vino, birra, formaggi), laboratori di microbiologia per prove di saggio (ricerca di patogeni)

Chimica: produzione per biotrasformazione di composti vari (es. detersivi, prodotti per la concia del cuoio)

Ambiente: trattamento rifiuti, uso di batteri con funzione degradativa aerobica e anaerobica

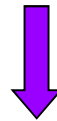
Miniere : recupero metalli

Agricoltura: uso di microrganismi azotofissatori; uso di antiparassitari microbici (batteri funghi, virus)

Industria bellica: produzione di armi biologiche

Rischio potenziale

Documento per il Coordinamento Tecnico degli assessorati alla Sanità delle Regioni e Province autonome di Trento e Bolzano: *“Linee guida per l'applicazione del D.Lgs 626/94, Titolo VIII Protezione da agenti biologici”*



“Attività che possono comportare la presenza di agenti biologici senza che venga fatto un vero e proprio uso: gli agenti infettivi non costituiscono la materia prima o il prodotto del processo lavorativo”

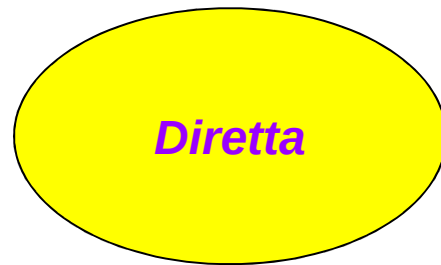
Nel caso di laboratori che non eseguono specificamente le prove di cui prima, come pure nelle strutture sanitarie ambulatoriali o ospedaliere, ancorché possa determinarsi la presenza, occasionale o concentrata, di agenti biologici anche di gruppo 4, non si concreta un vero e proprio uso di tali agenti, mancando il deliberato intento di farne oggetto dell'attività lavorativa.

La presenza di agenti biologici ha qui, piuttosto, carattere di epifenomeno indesiderato ma inevitabile: si configura in questo caso il **rischio potenziale**.

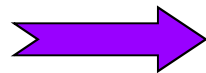
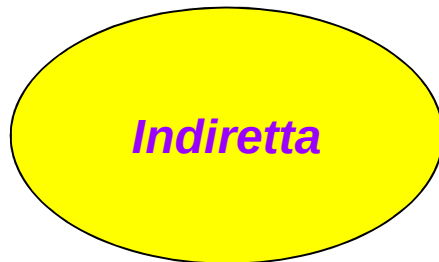
Elenco orientativo dei tipi di attività professionale con rischio potenziale di esposizione ad agenti biologici

- Attività nei servizi sanitari, comprese le unità di isolamento e post-mortem
- Attività nei laboratori clinici, veterinari e diagnostici
- Attività in industrie alimentari
- Attività nell'agricoltura
- Attività nelle quali vi è contatto con animali e/o con prodotti di origine animale
- Attività in impianti di smaltimento rifiuti
- Attività negli impianti per la depurazione delle acque di scarico
- Attività a contatto con animali o prodotti di animali (macellazione, piscicoltura, imbalsamatori)
- Servizi mortuari e cimiteriali
- VV.FF
- Servizi di disinfezione e disinfestazione ed impianti industriali di disinfezione e lavaggio di materiale infetto

Modalità di trasmissione delle infezioni



Contatto cutaneo e/o mucoso



Vettori: essere vivente che permette la trasmissione (insetti, artropodi, ecc.)

Veicoli: oggetti che possono trasmettere il contagio (*"flugge"*, aerosol, vomito, urine, sangue, attrezzature tipo aghi, oggetti taglienti, ecc.)

Definizione di pericolo biologico

I diversi agenti biologici sono stati classificati in base alla loro pericolosità, sia nei confronti della salute dei lavoratori che della popolazione generale. Tra le caratteristiche di pericolosità sono state considerate:

- a) l'infettività, intesa come capacità di un microrganismo di penetrare e moltiplicarsi nell'ospite;
- b) la patogenicità, riferibile alla capacità di produrre malattia a seguito di infezione;
- c) la trasmissibilità, intesa come la capacità di un microrganismo di essere trasmesso da un soggetto infetto ad un soggetto suscettibile;
- d) la neutralizzabilità, intesa come la disponibilità di efficaci misure profilattiche per prevenire la malattia o terapeutiche per la sua cura.

Sulla base delle suddette caratteristiche e, in alcuni casi, considerando anche le proprietà allergeniche e tossinogeniche, i microrganismi sono stati suddivisi in **4 classi di pericolosità**, con valori crescenti da uno a quattro e delle quali la quarta, la più pericolosa, è riferita ai microrganismi che assommano la presenza di tutte e quattro le caratteristiche negative considerate.

Classificazione degli agenti biologici

- ✓ **agente biologico del gruppo 1:** un agente che presenta poche probabilità di causare malattie in soggetti umani
- ✓ **agente biologico del gruppo 2:** un agente che può causare malattie in soggetti umani e costituire un rischio per i lavoratori; è poco probabile che si propaghi nella comunità; sono di norma disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche
- ✓ **agente biologico del gruppo 3:** un agente che può causare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori; l'agente biologico può propagarsi nella comunità, ma di norma sono disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche;
- ✓ **agente biologico del gruppo 4:** un agente biologico che può provocare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori e può presentare un elevato rischio di propagazione nella comunità; non sono disponibili, di norma, efficaci misure profilattiche o terapeutiche.

Nel caso in cui l'agente biologico oggetto di classificazione non può essere attribuito in modo inequivocabile ad uno fra i due gruppi sopraindicati, esso va **classificato nel gruppo di rischio** più elevato tra le due possibilità.

Obblighi di comunicazione ed autorizzazione

Devono dare comunicazione all'Organo di Vigilanza almeno trenta giorni prima dell'inizio della attività:

- i datori di lavoro che intendono esercitare attività che comportano l'uso di agenti biologici dei **gruppi 2 e 3**
- i datori di lavoro autorizzati dal Ministero della Sanità per attività che comportano l'uso di agenti del **gruppo 4**

La comunicazione deve contenere:

- nome ed indirizzo dell'azienda e del suo titolare
- il documento di valutazione dei rischi o in sostituzione del documento
- la documentazione prevista del D.Lgs 91/1993 se si tratta di MOGM

Registro degli esposti ed eventi accidentali

E' previsto l'obbligo di istituire un registro dei lavoratori addetti all'uso di agenti biologici del gruppo 3 e 4!!

- Nel registro sono riportati, per ciascuno di essi, l'attività svolta, l'agente utilizzato e gli eventuali casi di esposizione individuale;
- il datore di lavoro istituisce ed aggiorna il registro e ne cura la tenuta tramite il responsabile del servizio di prevenzione e protezione. Il medico competente e il rappresentante per la sicurezza hanno accesso a detto registro;
- consegna copia del registro all'INAIL (ex ISPESL) e all'organo di vigilanza competente per territorio, comunicando ad essi ogni tre anni e comunque ogni qualvolta questi ne facciano richiesta, le variazioni intervenute;
- comunica all'INAIL e all'organo di vigilanza competente per territorio la cessazione del rapporto di lavoro dei lavoratori, fornendo al contempo l'aggiornamento dei dati che li riguardano e consegna al medesimo Istituto per tramite del medico competente le relative cartelle sanitarie e di rischio;
- in caso di cessazione di attività dell'azienda, consegna all'Istituto superiore di sanità e all'organo di vigilanza competente per territorio copia del registro ed all'INAIL copia del medesimo registro nonché per il tramite del medico competente le cartelle sanitarie e di rischio;
- in caso di assunzione di lavoratori che hanno esercitato attività che comportano rischio di esposizione allo stesso agente richiede all'INAIL copia delle annotazioni individuali contenute nel registro, nonché copia della cartella sanitaria e di rischio;
- le annotazioni individuali contenute nel registro e le cartelle sanitarie e di rischio sono conservate dal datore di lavoro fino a risoluzione del rapporto di lavoro e dall' INAIL fino a dieci anni dalla cessazione di ogni attività che espone ad agenti biologici. Nel caso di agenti per i quali é noto che possono provocare infezioni consistenti o latenti o che danno luogo a malattie con recrudescenza periodica per lungo tempo o che possono avere gravi sequele a lungo termine tale periodo è di quaranta anni;
- l'INAIL trasmette annualmente al Ministero della salute i dati di sintesi relativi alle risultanze del registro.

ALLEGATO 2

Mod. B'626/1

AGENTI BIOLOGICI: REGISTRO DEGLI ESPOSTI E DEGLI EVENTI ACCIDENTALI - DATI GENERALI (Art. 87 - D.Lgs 626/94 come modificato da D.Lgs 242/96)

Nominativo Ditta Data
Ragione Sociale..... compilazione.....

Quadro A - Datore di lavoro

Sede Territoriale	Via	Comune	Cod. Com. ISTAT	CAP	Provincia
	N° telefono	N° Fax	ASL		
Sede Legale	Via	Comune	Cod. Com. ISTAT	CAP	Provincia
	N° telefono	N° Fax			
Legale Rappresentante	Nome	Cognome	Data Nascita	Luogo Nascita	Domicilio
					Qualifica
Codice fiscale Ditta		Partita IVA Ditta		Codice attività ISTAT	

Modello elaborato
dall'ISPESL

Lavorazione unica o prevalente: Voce tariffa INAIL

Quadro B - Tipo di esposizione e tipo di lavorazione

Breve descrizione dell'attività	
- Agente biologico:	☐ Gruppo 3 ☐ Gruppo 4
(indicare il codice *)	
	
	
- Altre lavorazioni correlate all'esposizione :	 Voce tariffa INAIL
	 Voce tariffa INAIL
	 Voce tariffa INAIL

Quadro C - Dipendenti

Totale Uomini	di cui esposti	Totale Donne	di cui esposte
Totale numero addetti attività produttive Totale numero addetti attività amministrative e/o assimilabili.....			

Per informazioni sul modello rivolgersi a : Nome Cognome..... Tel..... Fax.....

Timbro e Firma del Datore di lavoro.....

* Vedere Allegato 5 del presente regolamento. Per gli Agenti non codificati riportare la denominazione per esteso

ALLEGATO 2

Mod. B 626/2

AGENTI BIOLOGICI: REGISTRO DEGLI ESPOSTI E DEGLI EVENTI ACCIDENTALI - DATI INDIVIDUALI - (Art. 87 - D.Lgs 626/94 come modificato da D.Lgs 242/96)

Spazio da compilare solo nella fase della comunicazione di variazioni intervenute nei dati del lavoratore DATA

DITTA - RAGIONE SOCIALE COD. FISC. PIVA

SEDE LEGALE

SEDE TERRITORIALE

LAVORATORE ESPOSTO - uso deliberato agenti biologici gruppi 3, 4

Cod. Fisc.	Cognome	Nome	Sesso M ☐ F ☐
Data di nascita	Comune	DOMICILIO: Comune	Prov. Cambiato ☐

ATTIVITÀ LAVORATIVA

Num. Prog.	Cod. Class. Prof. ISTAT	Mansione	ATTIVITA' SVOLTA - Breve descrizione (1)	Gruppo 3*/4*	Riportare la denominazione degli Agenti Biologici solo per quelli non presenti nell'Allegato 5 del regolamento	Data inizio (2)	Data fine (3)

- (1) - Descrizione dell'effettiva attività lavorativa correlata con la mansione .
 * - Riportare il codice relativo all'agente dal quale dipende l'esposizione. Vedere Allegato 5 del presente regolamento
 (2); (3) - Indicare la data di inizio e fine dell'attività comportante l'esposizione.

ESPOSIZIONE DOVUTA AD EVENTI ACCIDENTALI

DATA	TIPO DI EVENTO ACCIDENTALE (1)	DESCRIZIONE DELLA CAUSA E DELLE CIRCOSTANZE DELL'ESPOSIZIONE	PROVVEDIMENTI ASSUNTI (2)

- (1) - Es: ferite da taglio e da punta, contatto accidentale con mucose, caduta in materiale infetto, graffi, morsi, ecc. Riportare, ove noto, codifica agente biologico.
 (2) - Indicare sia i provvedimenti di carattere individuali (profilassi, monitoraggio clinico, ecc.) che di carattere collettivo (formazione, procedure, mezzi di protezione, ecc.) motivati dallo specifico evento

DATA CESSAZIONE ATTIVITA' LAVORATIVA

Timbro e Firma del Datore di lavoro

Valutazione del Rischio

- Classificazione dell'agente biologico
- Informazione sulle malattie che possono essere contratte
- Informazioni rese note dall'autorità sanitaria competente
- Sinergismo degli agenti biologici
- Fasi del processo lavorativo che comportano il rischio di esposizione
- Numero dei lavoratori addetti alle fasi sopradette
- Metodi e procedure lavorative adottate, nonché le misure preventive e protettive adottate
- Generalità del Responsabile del Servizio di Prevenzione e Protezione
- Programma di emergenza per la protezione dei lavoratori contro i rischi di esposizione ad agenti biologici

La valutazione deve essere ripetuta ogni **tre anni** e comunque in occasione di modifiche significative per la salute e la sicurezza.

Sorveglianza Sanitaria

La sorveglianza sanitaria è prevista per tutte le attività lavorative in cui la valutazione dei rischi abbia evidenziato un rischio per la salute, sia che esse prevedano un uso deliberato di agenti biologici che un'esposizione potenziale.

Deve inoltre essere finalizzata alla impostazione di programmi di immunoprofilassi nei confronti delle malattie infettive più rilevanti e per le quali esiste la disponibilità di efficaci vaccini.

Attenzione:

Lo stato di gravidanza, pur non essendo uno stato di maggiore suscettibilità, presuppone una notevole gravità dell'esito della infezione.

Sorveglianza Sanitaria

Il datore di lavoro adotta misure protettive particolari per i lavoratori per i quali si richiedono misure speciali di protezione:

- vaccinazione
- allontanamento temporaneo del lavoratore

Il medico competente fornisce adeguate informazioni sul controllo sanitario:

- necessità di sottoporsi ad ulteriori controlli anche dopo la cessazione dell'attività lavorativa
- vantaggi ed inconvenienti della vaccinazione e della non vaccinazione



Controllo del rischio

- Adeguati livelli di contenimento
- Adeguate attrezzature
- Adeguate norme di comportamento
- Adeguate misure di protezione collettive ed individuale

Misure di Contenimento	Livelli di Contenimento		
	2°	3°	4°
La zona di lavoro deve essere separata da qualsiasi altra attività nello stesso edificio	No	Raccomandato	Si
L'aria immessa nella zona di lavoro e l'aria estratta devono essere filtrate attraverso un ultrafiltro (HEPA) o un filtro simile	No	Si, sull'aria estratta	Si, sull'aria immessa e su quella estratta
L'accesso deve essere limitato alle persone autorizzate	Raccomandato	Si	Si, attraverso una camera di compensazione
La zona di lavoro deve poter essere chiusa a tenuta per consentire la disinfezione	No	Raccomandato	Si
Specifiche procedure di disinfezione	Si	Si	Si
La zona di lavoro deve essere mantenuta ad una pressione negativa rispetto a quella atmosferica	No	Raccomandato	Si
Controllo efficace dei vettori, ad esempio, roditori ed insetti	Raccomandato	Si	Si
Superfici idrorepellenti e di facile pulitura	Si, per il banco di lavoro	Si, per il banco di lavoro, l'arredo e il pavimento	Si, per il banco di lavoro, l'arredo, i muri, il pavimento e il soffitto
Superfici resistenti agli acidi, agli alcali, ai solventi, ai disinfettanti	Raccomandato	Si	Si
Deposito sicuro per agenti biologici	Si	Si	Si, deposito sicuro
Finestra di ispezione o altro dispositivo che permetta di vederne gli occupanti	Raccomandato	Raccomandato	Si
I laboratori devono contenere l'attrezzatura a loro necessaria	No	Raccomandato	Si
I materiali infetti, compresi gli animali, devono essere manipolati in cabine di sicurezza, isolatori o altri adeguati contenitori	Ove opportuno	Si, quando l'infezione è veicolata dall'aria	Si
Inceneritori per l'eliminazione delle carcasse degli animali	Raccomandato	Si (disponibile)	Si, sul posto
Mezzi e procedure per il trattamento dei rifiuti	Si	Si	Si, con sterilizzazione
Trattamento delle acque reflue	No	Facoltativo	Si

Principali misure di tutela nella manipolazione di agenti biologici

- Evitare l'utilizzo di agenti biologici nocivi se il tipo di attività lo consente.
- Ridurre per quanto possibile il numero di addetti esposti, o potenzialmente esposti, al pericolo.
- Adottare le misure per prevenire o ridurre al minimo la propagazione accidentale all'esterno dell'area di lavoro (ad esempio misure collettive di protezione ovvero misure di protezione individuali qualora non sia possibile evitare altrimenti l'esposizione).
- Esporre in modo chiaro e visibile il segnale di rischio biologico.
- Mettere in atto le procedure idonee per il prelievo, la manipolazione e il trattamento dei campioni di origine animale ed umana.
- Definire le procedure di emergenza in caso di incidente.
- Evitare l'utilizzo di contenitori non idonei e/o sprovvisti di indicazione del contenuto.
- Adottare misure igieniche per prevenire e ridurre al minimo la propagazione accidentale di un agente biologico fuori dal luogo di lavoro.
- Verificare la presenza di agenti biologici sul luogo di lavoro al di fuori del contenimento fisico primario, se necessario o tecnicamente realizzabile.
- I servizi igienici dei lavoratori debbono essere dotati di doccia calda e fredda, di lavaggi oculari ed antisettici.
- I DPI debbono essere controllati, puliti e disinfettati al termine di ogni ciclo lavorativo.
- Deve essere tassativamente vietato fumare, assumere cibi e bevande nei luoghi di utilizzo degli agenti biologici.

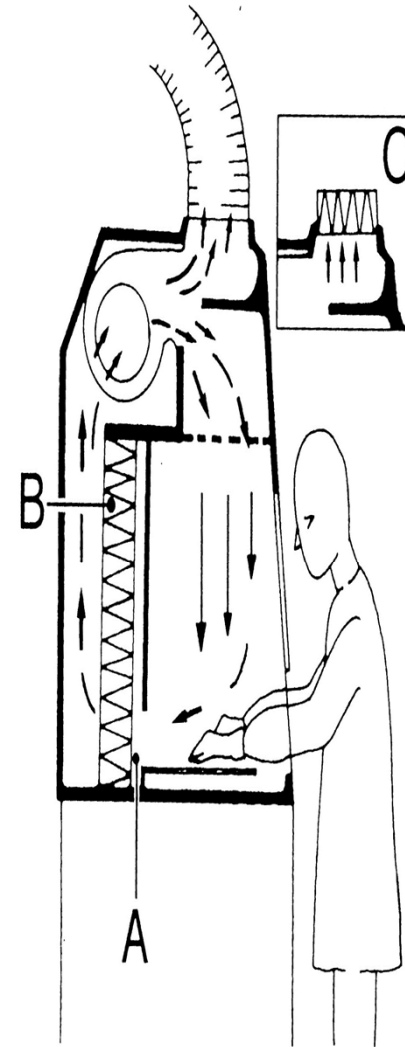
Cappe biologiche

- Le cappe a sicurezza biologica che garantiscono la protezione dell'operatore e dell'ambiente si utilizzano quando il campione da analizzare è formato da materiale biologico patogeno o potenzialmente tale.
- Le cappe di sicurezza biologica devono essere conformi alla norma **UNI EN 12469** (marcatura CE e dichiarazione di conformità) al momento dell'installazione.
- Le cappe a sicurezza biologica sono suddivise in tre categorie: I, II, III che corrispondono a livelli diversi di sicurezza.
- Al fine della loro efficienza le cappe di classe I e II devono essere collocate nel laboratorio in posizioni prive di correnti d'aria e lontano dalle aeree di transito del personale.



Cappe a sicurezza biologica di classe I

- Tali cappe sono provviste di apertura frontale, la protezione è possibile grazie al flusso dell'aria diretto dall'esterno all'interno della cappa attraverso l'apertura frontale.
- La protezione ambientale viene realizzata tramite un filtro HEPA nel sistema di scarico.
- **Non proteggono il campione da contaminazione e sono adatte per utilizzi con agenti biologici a basso e medio rischio.**
- Filtri HEPA = (High Efficiency Particulate Air) prevengono la contaminazione particellare e sono costituiti da fogli di microfibre di vetro ripiegati più volte; l'efficienza filtrante è la capacità di trattenere particelle di $0,3\ \mu$ di diametro con un'efficacia compresa tra il 99,97% e il 99,99%.
- I filtri HEPA sono raggruppati in 5 classi (da H10 a H14) con caratteristiche prestazionali crescenti



Schema di cappa biologica di classe I:

- A Zona di preparazione facilmente decontaminabile con pannelli rimuovibili
- B Filtro HEPA di espulsione e di parziale riciclo.
- C Filtro a carbone attivo in caso di riciclo nello stesso locale.

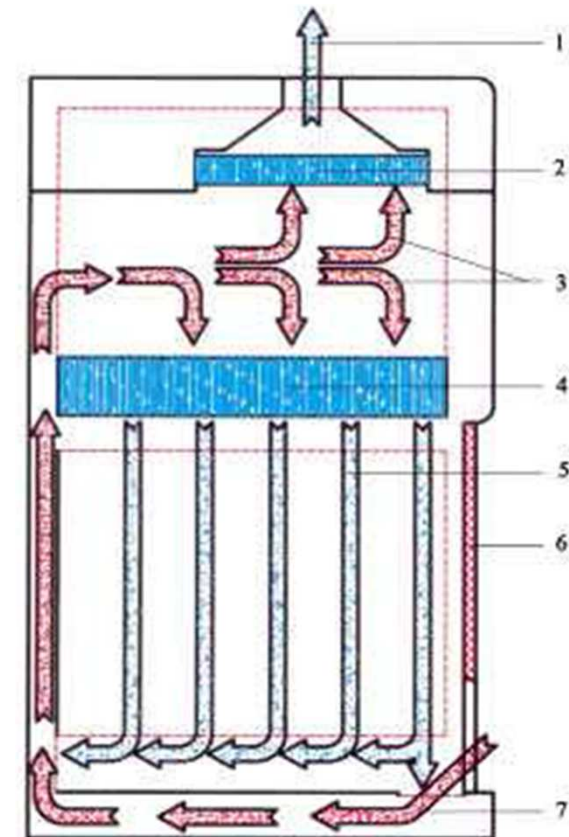
Cappe a sicurezza biologica di classe II

- Sono dotate di un'apertura frontale che permette l'ingresso dell'aria la quale presenta un flusso laminare verticale rispetto al piano di lavoro.
- L'aria in ingresso e in uscita è filtrata da un filtro **HEPA**.
- Quando la cappa viene accesa, l'aria dell'ambiente viene aspirata dalla griglia posta alla base dell'apertura frontale e dopo il passaggio attraverso il filtro **HEPA** viene immessa dall'alto nella camera di lavoro.
- Il flusso laminare è comune a tutte le cappe di classe II mentre in base alla percentuale di aria riciclata ed alla velocità dell'aria le cappe di classe II sono suddivise in diversi tipi:

A - il 70% dell'aria viene riciclata; il 30% viene espulsa

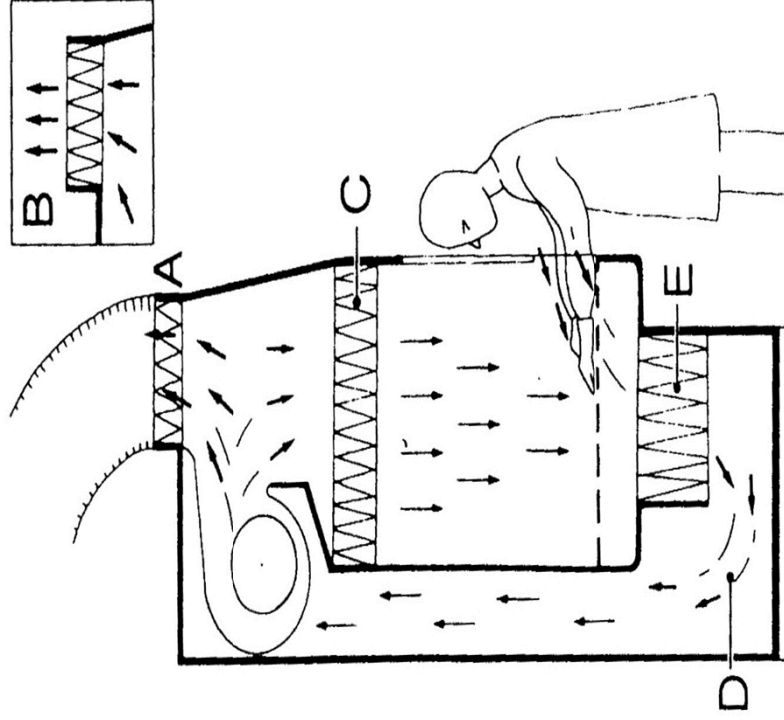
B1 - il 30% dell'aria viene riciclata; il 70% viene espulsa

B2 - non prevedono il ricircolo dell'aria in quanto viene continuamente espulsa dall'area di lavoro attraverso il filtro HEPA.



- 1) Aria espulsa
- 2) Filtro HEPA in espulsione
- 3) Aria contaminata
- 4) Filtro HEPA di lavoro
- 5) Flusso laminare
- 6) Pannello frontale
- 7) Aria aspirata

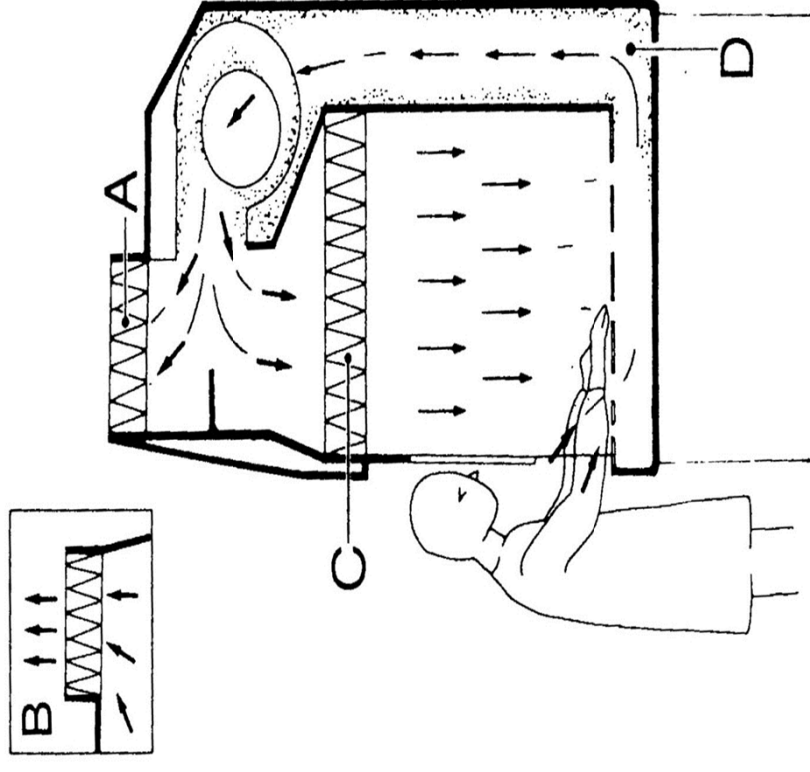
Cappa a flusso laminare verticale di classe II, 1°.



Cappa a flusso laminare verticale di classe II, 1°, che consente la rimozione del filtro HEPA posto sotto il piano di lavoro.

- A Filtro HEPA di espulsione.
- B Filtro a carbone attivo posizionato sopra il filtro HEPA quando il riciclo dell'aria avviene nello stesso locale.
- C Filtro Hepa dell'aria di ricircolo.
- D Zona a rischio facilmente raggiungibile per la decontaminazione.
- E Filtro Hepa sostituibile in bagout.

Cappa a flusso laminare verticale di classe II, 2°.



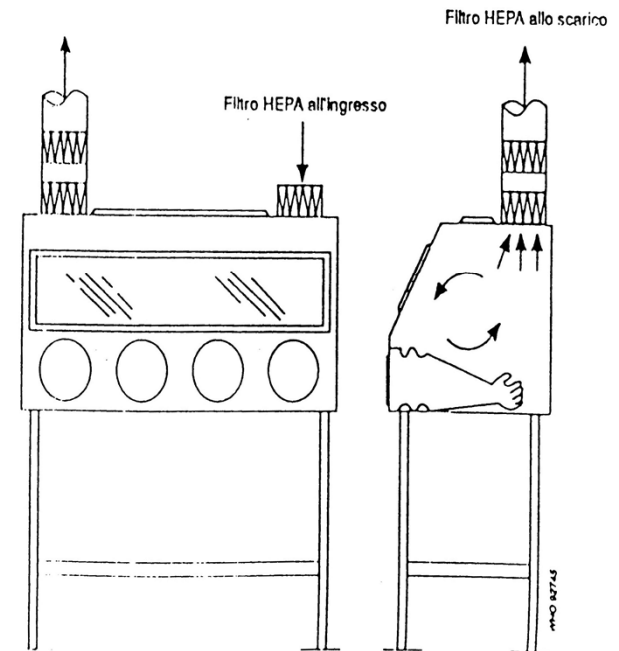
Cappa a flusso laminare verticale di classe II, 2°.

- A Filtro HEPA di espulsione dell'aria.
- B Filtro a carbone attivo posto sopra il filtro HEPA (A) quando il riciclo dell'aria avviene nello stesso locale, necessita della contemporanea sostituzione dei filtri perché contaminati.
- C Filtro Hepa di ricircolo dell'aria.
- D Zona contaminata, incluso il ventilatore difficilmente raggiungibile per la decontaminazione: è problematico garantire la sicurezza nella rimozione dei filtri.

Cappe a sicurezza biologica di classe III

- Queste cappe hanno una chiusura totale ed ermetica, funzionano a pressione negativa; le manipolazioni all'interno della cappa avvengono tramite dei guanti inseriti nella struttura stessa della cappa da qui la denominazione di "*glove box*".
- Hanno un filtro HEPA sull'aria in ingresso ed un doppio filtro HEPA sull'aria in uscita.
- Permettono una protezione totale dell'operatore e dell'ambiente sono perciò adatte per la manipolazione ad alto rischio biologico e sono utilizzate anche in caso di manipolazioni con agenti cancerogeni e antiblastici.

Diagramma schematico di una cappa di sicurezza biologica classe III.



L'uso in sicurezza delle uso cappe biologiche

- Accertarsi che la cappa sia idonea all'agente biologico utilizzato e che sia perfettamente funzionante.
- Spegner la lampada UV, se presente.
- Posizionare il vetro frontale, se del tipo a scorrimento, all'altezza fissata per la maggiore protezione dell'operatore (20 – 30 cm).
- Accendere il motore della cappa e lasciarlo in funzione almeno 10 minuti prima di iniziare il lavoro in modo da stabilizzare il flusso.
- Ridurre al minimo indispensabile il materiale sul piano di lavoro in quanto può diminuire notevolmente il passaggio di aria sotto il piano stesso.
- Eseguire tutte le operazioni nel mezzo o verso il fondo del piano di lavoro.
- Evitare di introdurre nuovo materiale all'interno della cappa dopo aver iniziato il lavoro.
- Evitare movimenti bruschi degli avambracci all'interno della cappa. Tali comportamenti possono causare alterazione al flusso laminare.
- Rimuovere immediatamente rovesciamenti o fuoriuscite di materiale biologico.
- Estrarre il materiale potenzialmente infetto o contaminato in contenitori chiusi ed a tenuta, perfettamente puliti all'esterno ed etichettati con il segnale di rischio biologico.
- Disinfettare le apparecchiature prima di estrarle dalla cappa.
- Lasciare la cappa in funzione per circa 10 min. dopo la fine del lavoro per “pulire” da un'eventuale contaminazione.
- Ogni volta che si termina il lavoro effettuare la pulizia e la disinfezione della cappa con prodotti idonei.
- Chiudere il vetro frontale quando la cappa biologica non è in uso, eventualmente accendere la lampada a raggi UV.

STABULARI

- Agli animali devono essere forniti alloggi confortevoli ed igienici, e cibi e acqua sani ed adeguati.
- Lo stabulario dovrebbe essere un'unità distaccata ed indipendente; se adiacente ad un laboratorio deve comunque essere possibile l'isolamento dalle altre parti del laboratorio ed eventualmente la sua decontaminazione e disinfestazione.
- Oltre ai livelli di biosicurezza 1, 2, 3 o 4, si devono considerare altri fattori riguardanti la natura degli animali quali: aggressività, tendenza a mordere e a graffiare, presenza di endo ed ectoparassiti naturali, zoonosi.
- Avvisi di biorischio vanno esposti sulle porte e nei luoghi appropriati.

**Sistemi di campionamento e principali
metodi di misura dei fattori di rischio
biologico**

Misure dei microrganismi aerodispersi

Le indagini ambientali per il monitoraggio degli agenti biologici aerodispersi possono essere di tipo qualitative e/o quantitative.

L'analisi qualitativa consiste nella raccolta di campioni d'aria contenenti le particelle biologiche e la determinazione della componente vitale in esse.

L'analisi qualitativa comporta la caratterizzazione degli agenti biologici rilevati.

Misure della contaminazione biologica di superficie

La valutazione del grado di contaminazione microbiologica delle superfici (piani di lavoro, di utensili e attrezzi) trova indicazioni per :

- verificare l'efficacia dei sistemi di decontaminazione in uso
- controllare la rispondenza del livello di asepsi esistente rispetto a quello previsto per una data lavorazione
- accertare l'assenza di dispersione di agenti biologici al di fuori delle aree di contenimento previste

Campionamento di biocontaminanti

Lo scopo di questo tipo di campionamento é essenzialmente quello di verificare e quantificare la presenza di microrganismi (spore fungine, batteri, muffe, lieviti, ecc.) al fine di poter effettuare una valutazione dell'esposizione o una identificazione della loro sorgente e poter così attuare appropriati interventi correttivi.

Le misure della diffusione dei microrganismi nell'ambiente di lavoro si basano principalmente sul controllo della contaminazione dell'aria e delle superfici.

I microrganismi presenti in aria non si riproducono ma solo sopravvivono!

Biocontaminanti aerodispersi

I prelievi di area possono essere effettuati esponendo direttamente delle piastre di Petri o utilizzando dei prelevatori di aria.

Nel primo caso prelevo i microrganismi per effetto della gravità, senza alcun stress durante il prelievo e campiono anche in punti poco accessibili agli apparecchi per il prelievo attivo. Il risultato è espresso come UFC per il tempo di esposizione e per l'area della piastra (non posso riferirmi ad un volume di aria prelevato).

Invece i prelevatori possono essere di varia natura:

1. prelevatori attivi per impatto ortogonale
2. prelevatori attivi per impatto centrifugo
3. prelevatori attivi per filtrazione (con membrane di gelatine o acetato di cellulosa)
4. prelevatori attivi per gorgogliamento



*i più
usati sono
i primi due!!*

Prelevatori per impatto



Campionatore d'aria
SAS IAQ (codice. n°
37565)



Piastre "Surfair Plate" per
conta totale (codice. 37140)
o vuote - da riempire con
terreno (codice 29489)

Prelevatori attivi per **impatto ortogonale**: l'apparecchio aspira forzatamente l'aria attraverso una testata dotata di fori conici convogliando l'aria su una piastra di terreno di coltura.

Prelevatori per impatto



Prelevatori attivi per **impatto centrifugo**: il flusso d'aria entra dalla parte frontale dello strumento e viene diretto verso l'indicatore agarizzato posto intorno al rotore; in questo modo i microrganismi vengono impattati sull'indicatore agarizzato grazie alla forza centrifuga.

Prelevatori per impatto

Il campionatore è abbinato ad indicatori agarizzati, ossia a terreni di coltura pronti all'uso su piastre di Petri o strip flessibili. Alcuni di questi sono adatti alla conta microbica totale, mentre altri sono specifici per la conta di determinati microrganismi, come stafilococchi, coliformi, lieviti e muffe (terreni selettivi).

I campionamenti vanno effettuati almeno in doppio per ogni punto, a circa 150 cm da terra.

Solitamente vengono campionati circa 100-150 litri per ambienti ritenuti “*sporchi*” e 200 litri per ambienti ritenuti “*puliti*” .

Prelevatori per impatto: vantaggi e svantaggi

Vantaggi

- Impiego facile ed economico
- Apparecchiatura maneggevole
- Possibilità di conteggio diretto dei microrganismi sul terreno
- Possibilità di impiego di terreni selettivi

Svantaggi

- Conservare adeguatamente i terreni prima e dopo il prelievo
- Possibilità che le particelle sfuggano all'impatto
- Necessità di lunga permanenza sul punto di prelievo se devo determinare più parametri microbiologici

Contaminazione delle superfici

Si basano sulla conta delle Unità Formanti Colonia (UFC).

I prelievi possono avvenire mediante:

1. tampone sterile
2. metodo delle spugna
3. piastre da contatto
4. slide da contatto

Prelievo con tampone sterile



Tamponi sterili inumiditi con fisiologica e poi strisciati su superfici di 10x10 cm (100 cm²) con movimento a zig-zag incrociato; i tamponi sono poi seminati per inclusione o spatolamento sui terreni; le piastre a loro volta sono incubate alla temperatura e per il tempo necessario.

Si ottengono le UFC e di conseguenza il numero di microrganismi per cm².

Metodo utile quando la contaminazione attesa è elevata (> 100 ufc/cm²).

Metodo delle spugne



Variante del tampone sterile: una spugna umettata con fisiologica e poi strisciata su superfici di 50x50 cm; le spugne vengono riposte in un sacchetto sterile contenente un terreno di trasporto o diluente; prima di inoculare sulla piastra di Petri una aliquota di campione devo però utilizzare un omogenizzatore.



Metodo meno utilizzato perché serve un omogenizzatore prima della risemina.

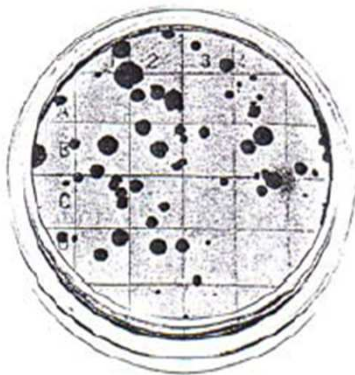


Metodo delle piastre e slide da contatto

Sia le piastre che le *slides* da contatto consentono di appoggiare un terreno di coltura direttamente sulla superficie da campionare (tempo di contatto circa 10 secondi).

Le piastre o le slides vengono poste direttamente in un incubatore senza ulteriori passaggi.

Metodo più rapido dei precedenti che non prevede ulteriori passaggi.



SURFAIR PLATE

Cosa cercare in un campionamento indoor

I parametri microbiologici base da ricercare sono:

- Carica batterica totale psicrofila: valido indicatore della contaminazione batterica ambientale, in quanto i batteri psicrofili hanno temperatura di accrescimento ottimale intorno ai 25°C (range 15°-30°C) e vivono a spese della sostanza organica in decomposizione presente nel suolo, sui vegetali e in genere negli ambienti umidi;
- Carica batterica totale mesofila: valido indicatore della contaminazione di origine umana e animale; infatti la flora mesofila ha temperatura ottimale di accrescimento intorno ai 37°C (range 25°-40°C) ed include anche i patogeni convenzionali;
- Carica fungina totale (muffe e lieviti): indicatore ambientale molto importante, in quanto è spesso correlato alla presenza di elevata umidità e polverosità, ridotta ventilazione e scarsa qualità dell'aria. Alcune muffe sono responsabili di patologie infettive sull'uomo, nonché di reazioni di ipersensibilità, forme allergiche o tossiche.

Cosa cercare in un ambiente industriale

Per altre attività industriali comportanti potenziale esposizione ad agenti biologici, ad esempio nei **depuratori**, nella **raccolta dei rifiuti**, negli **ospedali**, nell'**industria alimentare**, ecc., vengono ricercati anche altri specifici batteri (enterococchi, stafilococchi, salmonella, ecc.), virus, protozoi ed elminti.

Valori di riferimento

L'American Conference of Governmental Industrial Hygienist (ACGIH) definisce gli inquinanti dell'aria di origine biologica negli ambienti indoor ma non indica dei valori limiti di soglia (TLV) per interpretare le misure ambientali di diffusione.

Ciò in conseguenza di fattori quali l'indisponibilità di relazioni dose-risposta, di procedure standard di campionamento, della complessità dei bioaerosol e della variabilità della diversa risposta individuale all'esposizione.

Valori di riferimento

Nel 1993 la Commissione delle Comunità Europee ha indicato, nelle *Linee-guida per la valutazione delle concentrazioni aerodisperse in ambienti confinati non industriali* (Indoor Air Quality and Its Impact on Man, report n. 12 – EUR 14988 EN) dei valori di riferimento (UFC/m³):

Carica batterica			Carica micetica	
Livello	Case	Ambienti non industriali	Case	Ambienti non industriali
molto basso	< 100	< 50	< 50	< 25
basso	< 500	< 100	< 200	< 100
medio	< 2500	< 500	< 1000	< 500
alto	< 10000	< 2000	< 10000	< 2000
molto alto	> 10000	> 2000	> 10000	> 2000

Indici di contaminazione

In Italia, Dacarro e collaboratori, per la valutazione delle cariche batteriche e fungine ambientali da correlare ad un giudizio sulla qualità dell'aria, hanno proposto un approccio che si avvale dell'utilizzo di particolari "indici di contaminazione microbiologica". Poiché diverse sono le categorie microbiche che concorrono alla genesi dell'inquinamento microbiologico *indoor*, viene proposto l'Indice Globale di Contaminazione, *IGCM* per la misura complessiva dell'inquinamento microbico ambientale:

Batteri mesofili 37°C UFC/m³	+	Batteri psicrofili 20°C UFC/m³	+	Miceti 20°C UFC/m³	= IGCM/m³
--	----------	--	----------	--	-----------------------------

Valori di IGCM/m³ inferiori a 500 vengono associati alla categoria di contaminazione microbica "molto bassa", mentre valori di IGCM/m³ superiori a 1000 sono collegati ad una significativa contaminazione microbica ambientale.

Indici di contaminazione

L'indice di contaminazione da batteri mesofili *ICM* consente, invece, di valutare il contributo all'inquinamento da parte dei batteri di origine umana e animale, tra i quali possono essere presenti specie potenzialmente patogene. Negli ambienti confinati tale indice riveste fondamentale importanza ai fini della valutazione dell'efficienza dei ricambi d'aria:

$$\boxed{\begin{array}{c} \text{Batteri} \\ \text{mesofili} \end{array}} : \boxed{\begin{array}{c} \text{Batteri} \\ \text{psicrofili} \end{array}} = \text{ICM} = 1$$

L'indice di amplificazione *IA* permette di analizzare le differenze tra i livelli di contaminazione esterni ed interni, conseguenti alla attività lavorativa svolta (personale, macchine, materiali):

$$\boxed{\begin{array}{c} \text{IGCM/m}^3 \\ \text{interno} \end{array}} : \boxed{\begin{array}{c} \text{IGCM/m}^3 \\ \text{esterno} \end{array}} = \text{IA} = 1$$

In entrambi i casi, con valori maggiori di 1 sono in presenza di contaminazione!!

Legionelle

Famiglia di 35 batteri gram-negativi, aerobi, asporigeni e mobili per la presenza di flagelli; la specie principale è la *Legionella pneumophila*.

Habitat naturali: laghi, fiumi, falde idriche, sorgenti termali.

Possibile trovarli in impianti idrici, di condizionamento d'aria, piscine, fontane, docce di emergenza.

Temperatura (25-42°C), presenza di alghe, ristagni d'acqua, incrostazioni e depositi di calcare, usura e corrosione contribuiscono alla proliferazione.

Contagio solo per via aerea.

Legionella

Linee-guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi, pubblicate sulla G.U. n. 103 del 5 maggio 2000:

- ✓ fino a 10^2 UFC/l: nessun intervento da effettuare
- ✓ da 10^3 a 10^4 UFC/l: contaminazione con possibilità di casi sporadici; realizzare una bonifica ambientale
- ✓ oltre i 10^4 UFC/l: contaminazione importante; realizzare immediatamente misure di contaminazione

In prima istanza si effettuano sempre prelievi di acqua; qualora si abbia un risultato positivo si può pensare anche ad un campionamento di aria; in caso negativo sarà ancora meno probabile trovarli in aria.