

**RISCHIO BIOLOGICO**  
**D.lgs.81/08 e s.m.i.**  
**Titolo X**  
**«Esposizione ad agenti  
biologici»**



**SAPIENZA**  
UNIVERSITÀ DI ROMA

**Dott.ssa Marina Ortis**  
**Esperto “rischio biologico”**

# Argomenti trattati

1. Normativa di riferimento;
2. Definizioni/ classificazione/ pericolosità;
3. Valutazione del rischio;
4. Rischio biologico/definizione;
5. Esposizione potenziale/uso deliberato;
6. Misure tecniche organizzative, procedurali;
7. Livelli di biosicurezza/livelli di contenimento;
8. Contenimento /Le cappe /DPI;
9. Fattori di rischio:Aerosol, punture accidentali;
- 10.Prevenzione/misure igieniche/ misure di emergenza

## ***D.Lgs. 81/08***

### **art. 15 Misure generali di tutela**

1. Le misure generali di tutela della salute e della sicurezza dei lavoratori nei luoghi di lavoro sono:

**a) la valutazione di tutti i rischi per la salute e sicurezza;**

b) la programmazione della prevenzione, mirata ad un complesso che integri in modo coerente nella prevenzione le condizioni tecniche produttive dell'azienda nonché l'influenza dei fattori dell'ambiente e dell'organizzazione del lavoro;

c) l'eliminazione dei rischi e, ove ciò non sia possibile, la loro riduzione al minimo in relazione alle conoscenze acquisite in base al progresso tecnico;  
.....omissis.....

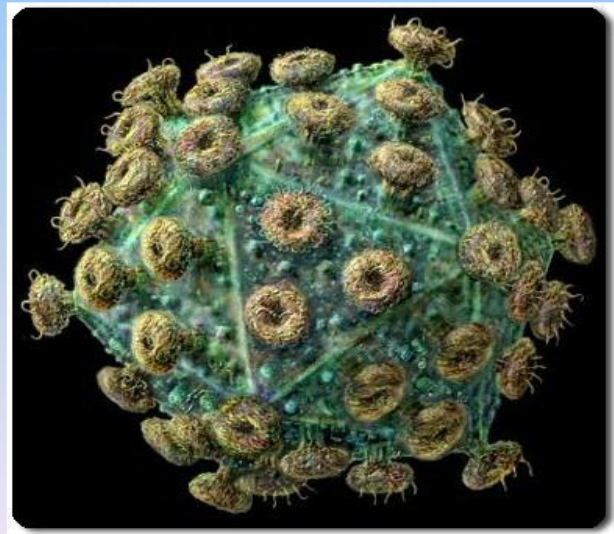
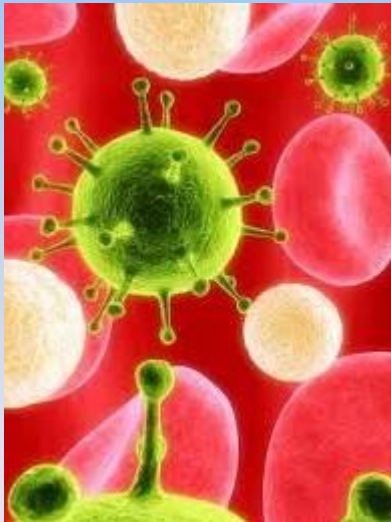
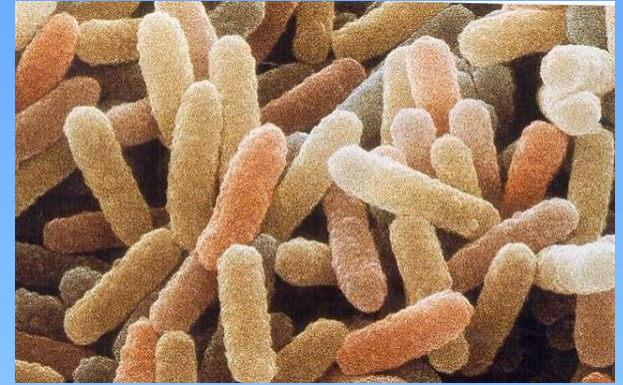
**Definizioni generali**  
**Normativa italiana di riferimento**  
**–Rischio biologico e sicurezza -**

**D.lgs 81/08 integrato con D.lgs 106/09**  
**TITOLO X**  
**ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI**  
**CAPO I**

(artt.266-286)



# AGENTI BIOLOGICI



**D.Lgs. 81/08 Titolo - X –  
art. 266 Campo di applicazione**

1. Le norme del presente titolo si applicano a tutte le attività lavorative nelle quali vi è un rischio di esposizione ad agenti biologici.

2. *Restano ferme le disposizioni particolari di recepimento delle norme comunitarie sull'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati (MOGM)...omissis....*



# Argomenti trattati

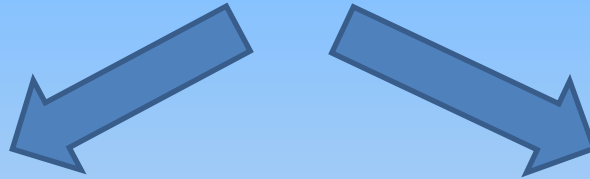
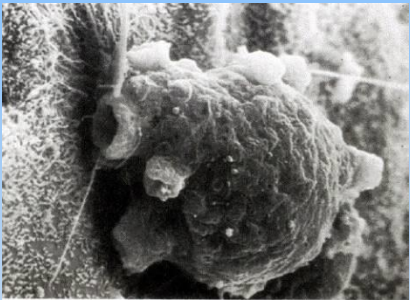
1. Normativa di riferimento;
2. Definizioni/ classificazione/ pericolosità;
3. Valutazione del rischio;
4. Rischio biologico/definizione;
5. Esposizione potenziale/uso deliberato;
6. Misure tecniche organizzative, procedurali;
7. Livelli di biosicurezza/livelli di contenimento;
8. Contenimento/Le cappe /DPI;
9. Fattori di rischio:Aerosol, punture accidentali;
10. Prevenzione/misure igieniche/ misure di emergenza



# **D.Lgs. 81/08 Titolo - X – art. 267 - DEFINIZIONI**

## **a) AGENTE BIOLOGICO :**

**qualsiasi microrganismo, anche se geneticamente modificato, coltura cellulare o endoparassita umano che potrebbe provocare infezioni, allergie o intossicazioni;**



## **b) MICRORGANISMO :**

**qualsiasi entità microbiologica,  
cellulare o meno, in grado di  
riprodursi o trasferire materiale  
genetico;**

## **c) COLTURA CELLULARE :**

**il risultato della crescita in vitro di  
cellule derivate da organismi  
pluricellulari.**



# agenti biologici

**Gli agenti biologici possono essere:**

- 1. Microrganismi** (*virus, batteri, parassiti, funghi.*);
- 2. Allergeni di origine biologica** (*ad esempio: pelo di animali da laboratorio, funghi aeroallergenici, ecc.*);
- 3. Prodotti della crescita microbica** (*ad esempio: le endotossine e le micotossine*).

# Classificazione

## *un po' di storia*

Nell'anno 1974 nel manuale: *“Classification of Etiologic Agents on the Basis of Hazard”* vengono classificati in 4 livelli di rischio gli agenti infettivi e le attività di laboratorio.

Venne quindi per la prima volta introdotto il concetto di classificazione dai Centers for Diseases Control and Prevention, USA,

*(CDC. Office of Biosafety, 1974)*

Tale suddivisione, è stata ripresa nelle varie edizioni del:

- *“Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories” (BMBL)* dei CDC;  
e nel

- *“Laboratory biosafety manual”* del WHO (ultima nel 2004)

rappresenta tuttora una linea guida fondamentale per la valutazione e la classificazione del potenziale rischio biologico connesso alle varie attività biomediche e microbiologiche svolte in laboratorio.

***D.Lgs. 81/08 Titolo - X –***  
**art. 268 CLASSIFICAZIONE DEGLI**  
**AGENTI BIOLOGICI**

**1. Gli agenti biologici sono ripartiti in quattro gruppi  
a seconda del rischio di infezione.  
....omissis.....**

**3. L'Allegato XLVI riporta l'elenco degli agenti  
biologici l'uomo classificati nei gruppi 2,3, e 4.**

# Classificazione del gruppo di rischio in base al rischio di infezione

## Agente biologico gruppo di rischio 1

Comprende microrganismi che presentano poche probabilità di causare malattie all'uomo (es. *E. coli*);

Basso rischio individuale e collettivo.

## Agente biologico gruppo di rischio 2

Comprende microrganismi patogeni che possono causare malattia nell'uomo, ma in genere non rappresenta un grosso rischio per gli operatori, poco probabile che si propaghino nelle comunità. Sono di norma disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche (es. *C. tetani*, *Enterovirus*, )

Rischio moderato a livello individuale e limitato a livello collettivo.

## Agente biologico gruppo di rischio 3

Comprende microrganismi patogeni che possono causare malattie all'uomo e costituire un serio rischio per i lavoratori; possono propagarsi nella comunità, ma di norma sono disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche. (*M. Tuberculosis*, *Y. Pestis*)

Rischio elevato a livello individuale e limitato a livello collettivo.

## Agente biologico gruppo di rischio 4

Comprende microrganismi patogeni che possono causare gravi malattie all'uomo e costituire un serio rischio per i lavoratori; possono presentare un elevato rischio di propagazione per la comunità, non sono disponibili di norma efficaci misure profilattiche o terapeutiche. (virus *Lassa*)

Rischio elevato a livello sia individuale che collettivo.

## ***Nell'Allegato XLVI del D.Lgs. 81/08***

*Il Legislatore ha fornito oltre all'elenco dei microrganismi, per alcuni di essi ha indicato:*

- **Se l'agente biologico ha effetti allergici: «A»**
- **Se l'agente biologico produce tossina: «T»**
- **Se esiste un vaccino disponibile: «V»**

***Per HIV, HBV, HCV il Datore di lavoro deve conservare la documentazione relativa ai lavoratori che hanno operato con tali agenti per almeno 10 anni dalla cessazione dell'ultima attività comportante esposizione al rischio «D» .***

***D.Lgs. 81/08 Titolo - X –  
art. 269 Comunicazione***

*1. Il Datore di lavoro che intende esercitare attività che comportino l'uso di agenti biologici di gruppo 2 o 3, comunica all'organo di vigilanza territorialmente competente almeno trenta giorni prima dell'inizio dei lavori fornendo il nome dell'azienda e del suo titolare e il DVR.  
.....omissis...*

*5. Ove le attività possono comportare la presenza di microrganismi geneticamente modificati il DVR è sostituito dalla documentazione riportata nella normativa specifica*

*(D.Lgs. 206 del 12 aprile 2001).*

# **Normativa sull'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati (MOGM) .**

Il Decreto Legislativo 12 aprile 2001, n. 206, attua in Italia la direttiva 98/81/CE, che modifica la precedente Direttiva 90/219/CE sull'impiego confinato di MOGM.

Queste disposizioni stabiliscono in particolare le misure e le norme procedurali da ottemperare per chiunque voglia manipolare, produrre in laboratorio, utilizzare o rilasciare nell'ambiente esterno microrganismi o organismi geneticamente modificati (MOGM).



# NOTIFICHE

**D. L.vo 12 Aprile 2001 n. 206**

- **NOTIFICA DI IMPIANTO**  
destinato ad impieghi  
confinati di  
microrganismi  
geneticamente  
modificati di classe/i.....  
secondo IL D. L.vo 12  
Aprile 2001 n. 206.
- **NOTIFICA DI IMPIEGO**  
confinato in applicazioni  
cliniche di terapia genica  
con microorganismi(\*)  
geneticamente modificati  
(MOGM) **IMPIEGHI DI**  
**CLASSE 2** secondo IL D.  
L.vo 12 Aprile 2001 n.  
206.

***D.Lgs. 81/08 Titolo - X -  
nell'Allegato XLVI  
Elenco degli agenti biologici classificati***

Gli agenti biologici riconosciuti patogeni per l'uomo, sono stati classificati in base alla **pericolosità del microrganismo**



**la pericolosità** è stata valutata sia nei confronti della salute dei lavoratori che della popolazione generale.

# Agenti biologici

## D.lgs 81/08 Allegato XLVI:

Le caratteristiche di pericolosità sono definite in base a:

- **INFETTIVITA'**  $\geq$  capacità di un microrganismo di penetrare e moltiplicarsi;
- **PATOGENICITA'**  $\geq$  capacità di procurare malattia a seguito di infezione;
- **TRASMISSIBILITA'**  $\geq$  capacità di un microrganismo di essere trasmesso da un soggetto infetto ad uno suscettibile;
- **NEUTRALIZZABILITA'**  $\geq$  disponibilità di effettuare misure profilattiche per prevenire la malattia o terapeutiche per la sua cura;
- **ALTRE CARATTERISTICHE**  $\geq$  capacità allergeniche, e/o tossicologiche.

# Trasmissibilità

Gli agenti biologici possono essere trasmessi all'uomo attraverso:

- La via respiratoria
- La via orale
- La via cutanea
- La via parenterale
- Tramite artropodi vettori

Nelle attività professionali assumono una certa importanza vie di trasmissione come:

- **Quella respiratoria** (*microbi aerodispersi possono essere presenti in molti ambienti di lavoro in concomitanza con nebbie, fumi e polveri*);
- **Quella orale** (*può avvenire tramite schizzi di materiale infetto*);
- **Quella parenterale** (*vi sono attività che comportano alta probabilità di essere punti con bisturi, aghi, forbici ed altri strumenti taglienti*).

## Rischio biologico non classificato dal D.Lgs.81/08

- Malattie trasmesse da animali: Zoonosi
- Zoonosi: qualsiasi malattia e/o infezione che possa essere trasmessa naturalmente, direttamente o indirettamente tra gli animali e l'uomo.



# Rischio biologico non classificato dal D.Lgs.81/08



Colture di cellule primarie (da biopsie umane, tessuti e/o lisati cellulari umani, ecc.).

AGENTE BIOLOGICO  
*art.267 -DEFINIZIONI*

*...omissis...*

*b) coltura cellulare* o  
endoparassita umano che  
potrebbe provocare infezioni,  
allergie o intossicazioni;  
*....omissis....*

# Argomenti trattati

1. Normativa di riferimento;
2. Definizioni/ classificazione/ pericolosità;
3. Valutazione del rischio;
4. Rischio biologico/definizione;
5. Esposizione potenziale/uso deliberato;
6. Misure tecniche organizzative, procedurali;
7. Livelli di biosicurezza/livelli di contenimento;
8. Contenimento/Le cappe /DPI;
9. Fattori di rischio:Aerosol, punture accidentali;
10. Prevenzione/misure igieniche/ misure di emergenza



**D.Lgs 81/08 -Capo II –  
Obblighi del datore di lavoro  
La valutazione del rischio (*Art. 271*)**

## **La valutazione del rischio (Art. 271) -1-**

**Insieme di tutte le operazioni conoscitive ed operative che devono essere effettuate per arrivare:**

- **Ad una stima del rischio di esposizione ;**
- **A valutare i fattori di pericolo per la sicurezza e la salute del personale;**

***in relazione allo svolgimento di determinate procedure***

**Permette quindi di valutare:**

- **Una situazione pericolosa in ambito lavorativo;**
- **La scelta di adeguate misure di sicurezza.**

## La valutazione del rischio (Art. 271) -2-

Il documento di valutazione dei rischi (DVR) deve contenere:

- ***Le fasi del procedimento lavorativo che comportano il rischio biologico;***
- ***I metodi di valutazione del rischio;***
- ***Le misure preventive e protettive messe in atto;***
- ***Le eventuali procedure di emergenza.***

*I risultati della suddetta valutazione devono essere riportati nell'apposito (DVR) i lavoratori interessati **devono** esserne adeguatamente informati.*

# Argomenti trattati

1. Normativa di riferimento;
2. Definizioni/ classificazione/ pericolosità;
3. Valutazione del rischio;
4. Rischio biologico/definizione;
5. Esposizione potenziale/uso deliberato;
6. Misure tecniche organizzative, procedurali;
7. Livelli di biosicurezza/livelli di contenimento;
8. Contenimento/Le cappe /DPI;
9. Fattori di rischio:Aerosol, punture accidentali;
10. Prevenzione/misure igieniche/ misure di emergenza

# DEFINIZIONE DI RISCHIO BIOLOGICO

Per rischio biologico si intende la probabilità che un individuo entri in contatto con un organismo patogeno, si infetti e contragga una malattia.

## **Esistono due livelli di valutazione:**

- Valutazione della pericolosità intrinseca dell'agente biologico;
- Valutazione del rischio di infezione in lavoratori esposti.

# In ambito occupazionale è possibile individuare 2 diverse tipologie di rischio biologico

- rischio biologico generico: presente in tutti gli ambienti di lavoro;
- rischio biologico:  
proprio della mansione svolta.

**Esposizione ad agenti biologici  
nell'ambito dell'attività lavorativa**

**Attività a rischio esposizione potenziale**

**Esposizione  
ad A/B**

**Uso o impiego di A/B**



# Tipologie di esposizione a Rischio biologico

È opportuna la distinzione tra: “esposizione potenziale” ed “uso deliberato”

## Allegato XLIV

### Esposizione potenziale:

la presenza di agenti biologici ha un  
carattere di  
epifenomeno indesiderato  
ma inevitabile,  
del lavoro.

## Allegato XLVI

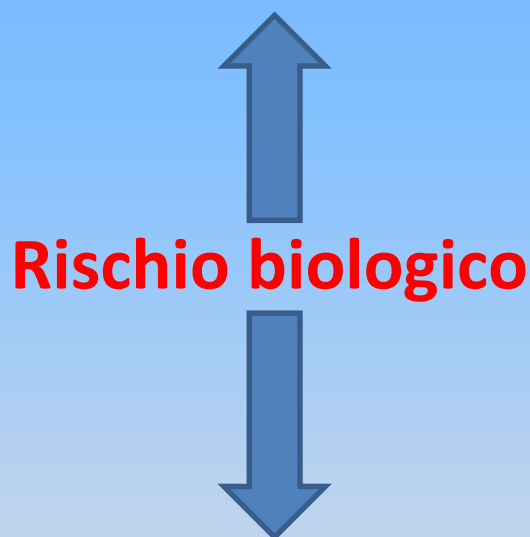
### Uso Deliberato :

uso intenzionale nel ciclo lavorativo  
di agenti biologici per sfruttarne  
le proprietà biologiche a  
qualsiasi titolo (materia prima,  
substrato, catalizzatore, reagente  
o prodotto in un processo  
lavorativo, ecc. ).

## **Rischio biologico NEI LABORATORI:**

**Esposizione potenziale** : scopi di diagnostica con utilizzo di «matrici» di natura clinica (sangue ed emoderivati, urine, biopsie, ecc.) ad esempio nella biochimica clinica; Prove biologiche su animali; ecc.

**Uso deliberato**: Università e centri di ricerca (laboratori di ricerca e sperimentazione biologica) utilizzo di agenti classificati nei quattro gruppi;



### **Altri Rischi di natura biologici:**

- Allergici, tossici e/o tossicologici;
- Esposizioni lavorative a muffe, funghi, endotossine batteriche ed enzimi;
- Sviluppo di sindromi irritative delle mucose e delle prime vie respiratorie.

## ***D.Lgs. 81/08 Titolo - X – Allegato XLIV***

***Attività lavorative che possono comportare la presenza di rischio biologico come «esposizione potenziale»***

- Attività in industrie alimentari;
- Attività nell'agricoltura;
- Attività dove c'è un contatto con animali e/o con prodotti di origine animale;
- Attività nei servizi sanitari, comprese le unità di isolamento e post mortem;
- **Attività nei laboratori clinici, diagnostici, veterinari ecc.;**
- Attività impianti di smaltimento rifiuti e di raccolta di rifiuti potenzialmente infetti;
- Attività negli impianti per la depurazione delle acque di scarico.

***D.Lgs. 81/08 e s.m.i.***

***Titolo X***

***ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI***

**ESPOSIZIONE POTENZIALE :** presenza di microrganismi, senza la deliberata intenzione di farne oggetto di attività lavorativa.

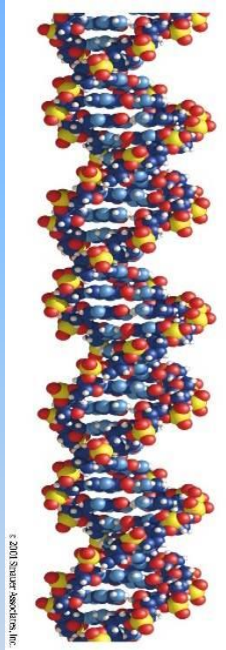
E' il caso di laboratori nei quali anche se può determinarsi la presenza, occasionale e/o concentrata, di agenti biologici (sangue, urine, ecc), non vengono eseguite ad esempio prove microbiologiche.



***D.Lgs. 81/08 e s.m.i.***

***Titolo X***

***ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI***



**USO DELIBERATO:**  
isolamento, concentrazione,  
coltura e/o trattamento di agenti  
biologici a scopi diagnostici o  
deliberatamente introdotti nel ciclo  
lavorativo, per essere trattati,  
manipolati o trasformati  
ovvero per sfruttarne le proprietà  
biologiche.



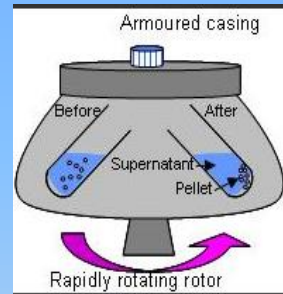
***D.Lgs. 81/08 e s.m.i.***

***Titolo X***

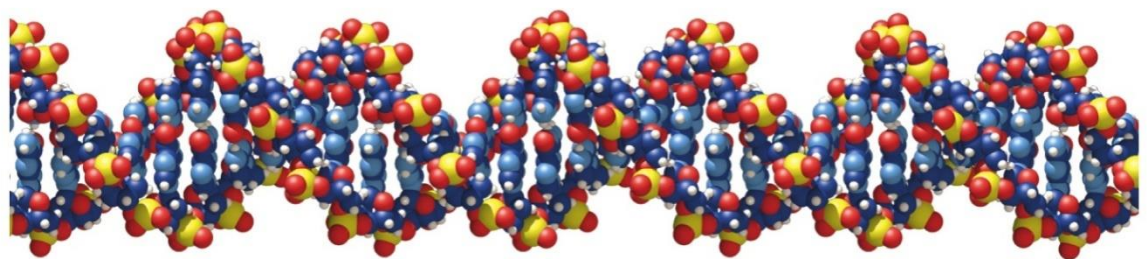
***ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI***

**Uso deliberato**

Il materiale biologico  
è manipolato,  
concentrato,  
trasformato,  
per sfruttarne le  
proprietà biologiche.



**CONCENTRAZIONE**



© 2001 Sinauer Associates, Inc.

# Fattori che influenzano la crescita dei microrganismi ed il rischio di infezione

- fattori propri del **microrganismo** (tipo di microrganismo, carica infettante, virulenza, patogenicità, contagiosità, ecc);
- fattori propri dell'**ambiente** (temperatura, umidità, pH, substrati nutritivi, tensione di ossigeno, radiazioni, ecc);
- fattori propri dell'**ospite** (es: età, difese immunitarie, patologie di base, tipo di lavoro-esposizione, concomitante esposizione ad altri fattori di rischio occupazionale, ecc).



➡ ***Il rischio è il risultato di una serie di condizioni che hanno reso possibile l'evento .***



# Argomenti trattati

1. Normativa di riferimento;
2. Definizioni/ classificazione/ pericolosità;
3. Valutazione del rischio;
4. Rischio biologico/definizione;
5. Esposizione potenziale/uso deliberato;
6. Misure tecniche organizzative, procedurali;
7. Livelli di biosicurezza/livelli di contenimento;
8. Contenimento/Le cappe /DPI;
9. Fattori di rischio:Aerosol, punture accidentali;
10. Prevenzione/misure igieniche/ misure di emergenza

***D.Lgs. 81/08***

***Titolo X***

***art. 272 Misure tecniche, organizzative, procedurali***

1. *In tutte le attività per le quali la valutazione del rischio di cui  
all'art. 271,  
evidenzia rischi per la salute dei lavoratori,  
il datore di lavoro (DDL)*

*attua misure tecniche, organizzative e procedurali,  
per evitare ogni esposizione degli stessi ad agenti biologici.*

## ***D.Lgs. 81/08 art. 278***

### ***Misure specifiche per i laboratori e stabulari***

1. Fatto salvo quanto previsto nell'Allegato XLVI nei laboratori che utilizzano A/B dei gruppi 2,3 e 4 a fini di ricerca, il DL adotta quanto stabilito per il livello di contenimento nell'Allegato XLVII.
  - Almeno il secondo livello di contenimento, se l'agente è di gruppo 2;
  - Almeno il terzo livello di contenimento, se l'agente è di gruppo 3;
  - Almeno il quarto livello di contenimento, se l'agente è di gruppo 4;

# **LABORATORI CON LIVELLO DI BIOSICUREZZA 1 E 2**

## **Caratteristiche di progettazione degli spazi**

1. Muri, soffitti e pavimenti devono essere lisci, facili da pulire, impermeabili ai liquidi e resistenti agli agenti chimici e ai disinfettanti.
2. Illuminazione adeguata, evitando riflessi e luce troppo forte.
3. Superfici dei banconi unite ai muri con sostanze sigillanti, resistenti agli agenti chimici e ai disinfettanti e impermeabili all'acqua.
4. Presenza di lavabi dotati di acqua corrente.
5. Le porte devono rispondere agli standard antincendio, devono chiudersi da sé e avere pannelli di ispezione.
6. Disponibilità di un'autoclave nel laboratorio o nello stesso edificio.
7. Aerazione possibilmente meccanica che assicuri un flusso d'aria entrante senza ricircolo. Se non esiste aerazione meccanica, le finestre devono essere apribili.

## D.Lgs. 81/08 Allegato XLVII

### Specifiche sui livelli di contenimento dei laboratori

	Misure di contenimento	Livello di contenimento <u>2</u>	Livello di Contenimento <u>3</u>
1	La zona di lavoro deve essere separata da qualsiasi altra attività nello stesso edificio	no	Raccomandato
2	L'aria immessa nella zona di lavoro e l'aria estratta devono essere filtrate attraverso un ultrafiltro (HEPA) o un filtro simile	no	Sì, sull'aria estratta
3	<b>L'accesso deve essere delimitato alle persone autorizzate</b>	<b>Raccomandato</b>	sì
4	La zona di lavoro deve poter essere chiusa tenuta per consentire la disinfezione	no	Raccomandato
5	<b>Specifiche procedure di disinfezione</b>	<b>sì</b>	sì
6	La zona di lavoro deve essere mantenuta ad una pressione negativa rispetto a quella atmosferica	no	Raccomandato
7	<b>Controllo efficace dei vettori, ad esempio, roditori e insetti</b>	<b>Raccomandato</b>	sì
8	Superfici di lavoro idrorepellenti o e di facile pulizia	sì	Bancone sì e pavimento
9	<b>Superfici resistenti agli acidi, agli alcali, ai solventi, ai disinfettanti</b>	<b>Raccomandato</b>	sì
10	Deposito sicuro A/B	sì	sì
11	<b>Finestra di ispezione o altro dispositivo che permetta di vederne gli occupanti</b>	<b>Raccomandato</b>	Raccomandato
12	I laboratori devono contenere l'attrezzatura a loro necessaria	no	Raccomandato
13	I materiali infetti, compresi gli animali, devono essere manipolati in cabine di sicurezza, isolatori o altri contenitori adeguati	Ove opportuno	Sì quando l'infezione è veicolata dall'aria
14	Inceneritori per l'eliminazione delle carcasse degli animali	raccomandato	Sì (disponibile)
15	<b>Mezzi e procedure per il trattamento dei rifiuti</b>	<b>sì</b>	sì
16	Trattamento delle acque reflue	no	facoltativo

## ***D.Lgs. 81/08 (Allegato XLVII)***

### ***MISURE DI CONTENIMENTO E ALTRE MISURE DI PROTEZIONE***

**Ove l'attività di cui al comma 1 dell'art.269 comportino la presenza di microrganismi geneticamente modificati (MOGM) si applicano i livelli di contenimento 2, 3, e 4 individuati nell'Allegato IV del Decreto Legislativo 12 aprile 2001, n. 206**

nelle tabelle I e II della legge sono elencate le misure del livello di contenimento nelle attività di laboratorio.

# BLS - 1

## Procedure standard

- accesso controllato;
- divieto di fumare, mangiare, bere;
- divieto di pipettare con la bocca ;
- minimizzare/annullare la possibilità di aerosol e schizzi di materiale;
- decontaminare i piani di lavoro durante e al termine della giornata;
- decontaminare strumenti/materiali/rifiuti prodotti.

## Equipaggiamento di sicurezza

- abbigliamento di protezione standard.

## Requisiti della struttura

- non caratteristiche specifiche.

# Linee cellulari note ATCC

(biosafety level 1 -BSL-1)

La classificazione si basa sulla valutazione del rischio potenziale in accordo con le linee guida : ***United States Public Health Service (PHS)***.

Ogni elemento è valutato singolarmente e in alcuni casi il livello di biosicurezza ATCC assegnato è più restrittivo per assicurare la maggiore sicurezza nella gestione; nella classificazione di biosafety level 1 (BSL-1) non sono noti elementi che possono causare malattie negli esseri umani adulti sani.

*Si consiglia di gestire il materiale a potenziale rischio biologico in laboratorio con misure di contenimento biosicurezza livello 1.*



# BSL - 2

## Procedure

- **Come BSL-1**, e aggiungere in più :
  - Accesso limitato alle persone autorizzate;
  - Segnali di rischio biologico ;
  - Porre molta attenzione nell'utilizzo di aghi e strumenti taglienti;
  - Preparare manuale di biosafety specifico per il laboratorio;

## Equipaggiamento di sicurezza

- **Come BSL-1**, aggiungere in più
  - cappa di sicurezza (BSC-1 o -2) per la lavorazione di tutti i campioni che possono causare aerosol/schizzi di materiale;
  - obbligatorio l'abbigliamento di protezione (camice di lavoro, guanti, e per alcune procedure maschera e occhiali).

## Requisiti strutturali

- Come BSL-1, più
  - valutare se è necessaria ventilazione meccanica.

# Laboratori di colture cellulari con campione proveniente da tessuti umani

	Tipologia di campione	matrice	Gruppo di pericolosità
1	Colture di cellule primarie (da biopsie umane, tessuti e/o lisati cellulari umani, ecc.).	Clinica	2,3
2	Rifiuti pericolosi a rischio infettivo (CER 180103).	Clinica	2,3

[www.isprambiente.gov.it](http://www.isprambiente.gov.it) (adattata)

*Si consiglia di gestire il materiale a potenziale rischio biologico in laboratorio con misure di contenimento almeno di biosicurezza livello 2.*

# Argomenti trattati

1. Normativa di riferimento;
2. Definizioni/ classificazione/ pericolosità;
3. Valutazione del rischio;
4. Rischio biologico/definizione;
5. Esposizione potenziale/uso deliberato;
6. Misure tecniche organizzative, procedurali;
7. Livelli di biosicurezza/livelli di contenimento;
8. Contenimento/Le cappe /DPI;
9. Fattori di rischio:Aerosol, punture accidentali;
10. Prevenzione/misure igieniche/ misure di emergenza

# CONTENIMENTO

**INSIEME DI PROCEDURE ED ACCORGIMENTI TECNICI ATTUABILI PER L'UTILIZZO IN SICUREZZA DI AGENTI BIOLOGICI O DI MATERIALE POTENZIALMENTE PATOGENO**

**La misura fondamentale del contenimento del rischio è rappresentata dalla buona pratica di laboratorio (BPL)**

***Le attrezzature ed i dispositivi di sicurezza sono COMPLEMENTARI  
e NON POSSONO SOSTITUIRE le misure di BPL***

# Le cappe biologiche

Le cappe di sicurezza biologica (Biohazard) sono impianti di contenimento, sono progettate per proteggere adeguatamente dall'esposizione :

- l'operatore;
- l'ambiente del laboratorio;
- il materiale di lavoro;

da aerosol e schizzi potenzialmente patogeni generati durante le diverse fasi di manipolazione di matrici biologiche.

# Le cappe di sicurezza biologica

Le cabine di sicurezza biologica sono suddivise secondo la norma europea EN 12469 in tre principali tipologie, denominate cappe:

- biohazard di classe I;
- classe II ;
- classe III.

ulteriori suddivisioni all'interno della categoria secondo altre norme tecniche di riferimento, come la NSF49 (USA) o la DIN 12980 (D).

Questi impianti se vengono utilizzati correttamente permettono di eliminare o ridurre il rischio per l'operatore e possono prevenire le contaminazioni del campione. Richiedono specifiche competenze per la scelta, l'installazione, il corretto utilizzo, le verifiche periodiche e per la manutenzione preventiva poichè se utilizzate o gestite in modo errato possono rappresentare **esse stesse un pericolo per l'operatore e per l'ambiente.**

*(D.Lgs. 81/08 e s.m.i. art. 71- Obblighi del DDL).*

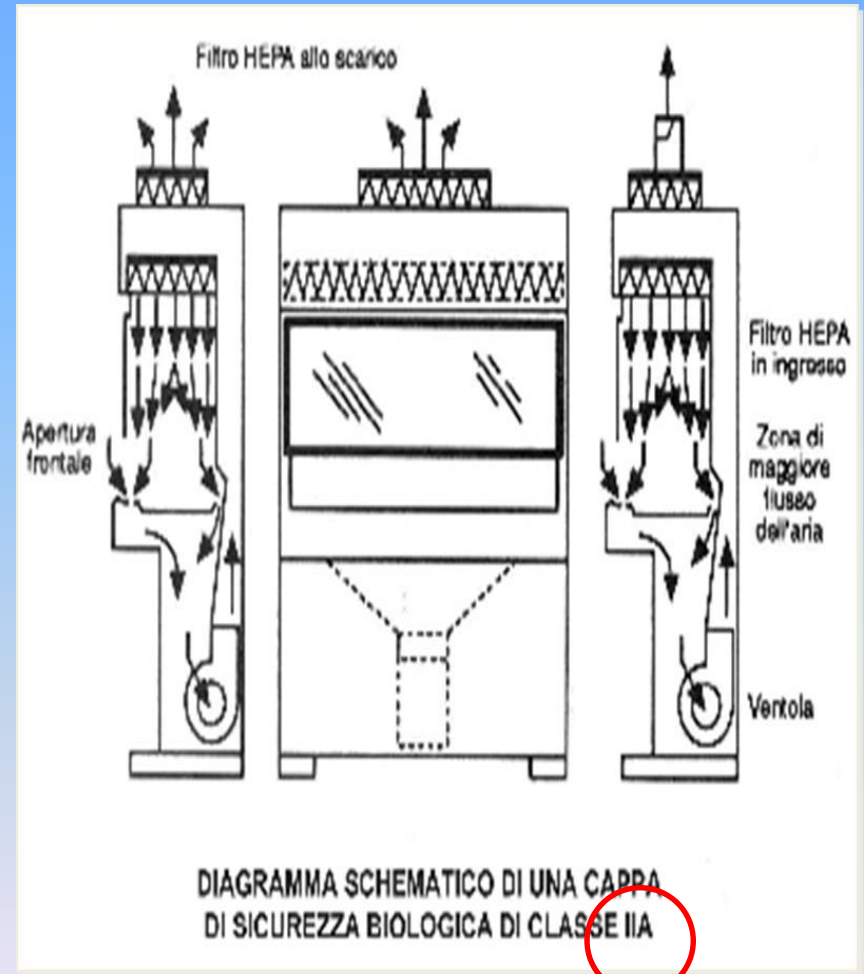
# Le cappe di sicurezza biologica

## Per agenti a rischio basso/moderato (classe II)

Camera con apertura frontale dalla quale viene immesso un flusso d'aria aspirato sotto il piano di lavoro, filtrato, messo in circolo dall'alto verso il basso (flusso laminare verticale di aria sterile, "barriera" tra l'interno della cabina e l'operatore), quindi, espulso all'esterno dopo filtrazione.

Si distinguono in:

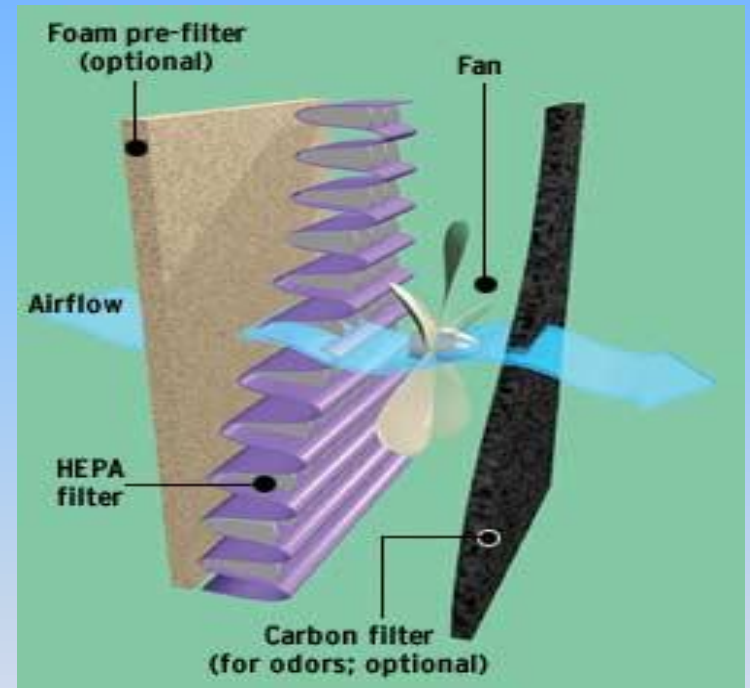
- IIA (70% di aria ricircolata, 30% espulsa),
  - IIB (30% di aria ricircolata, 70% espulsa, oppure 100% di aria espulsa).
- Buona protezione operatore
  - Ottima protezione ambiente



# Filtri HEPA (High Efficiency Particulate Air)

Prevengono la contaminazione particellare, trattengono almeno il 99,97% delle particelle di diametro  $0,3\ \mu\text{m}$  e il 99,99% di particelle di grandezza superiore o inferiore.

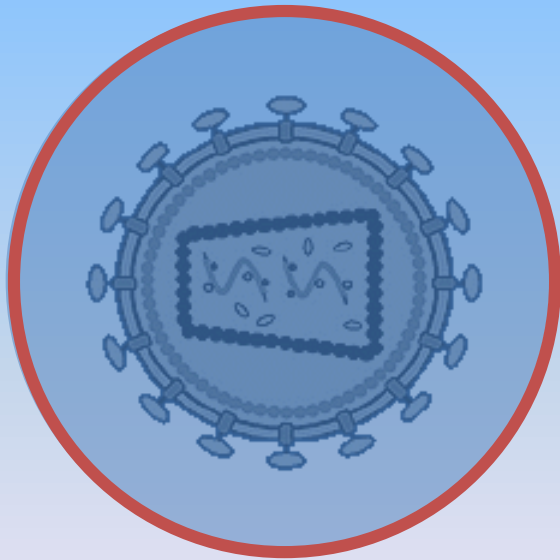
Questo meccanismo permette che il filtro HEPA **trattenga efficacemente gli agenti infettivi** ed assicuri che dalla cappa fuoriesca solo aria libera da microrganismi.





# Contenimento operatore

**Il corretto utilizzo costruisce una barriera tra l'agente infettivo e l'ambiente circostante**



flusso di aria  
laminare

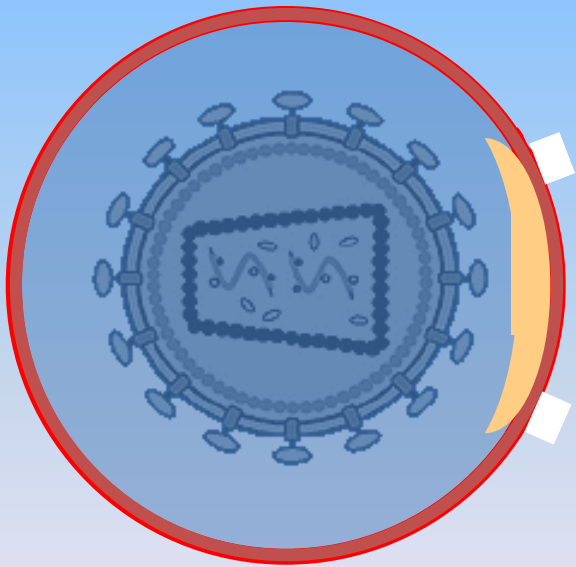


provetta  
chiusa

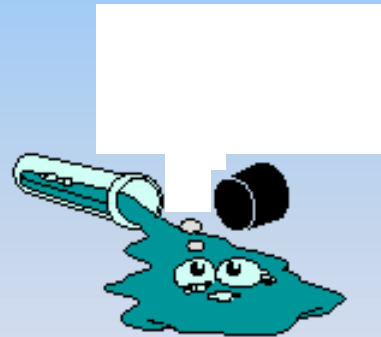


# Contenimento operatore

I rischi per la sicurezza compaiono quando l'integrità della barriera viene a mancare

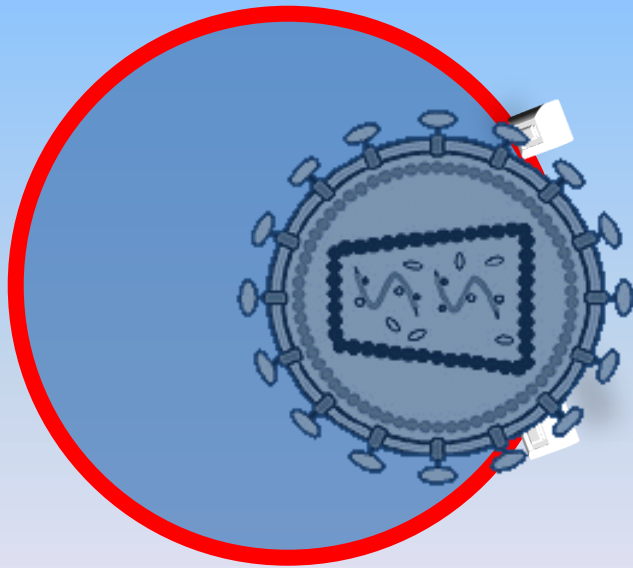


accidentalmente



# Contenimento operatore

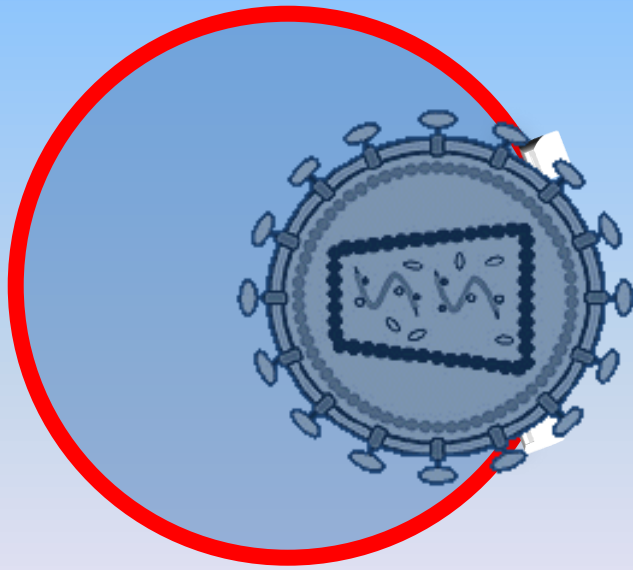
I rischi per la sicurezza compaiono quando l'integrità della barriera viene a mancare



Intenzionalmente quando si trasferisce l'agente infettivo da un sistema ad un altro

# Contenimento operatore

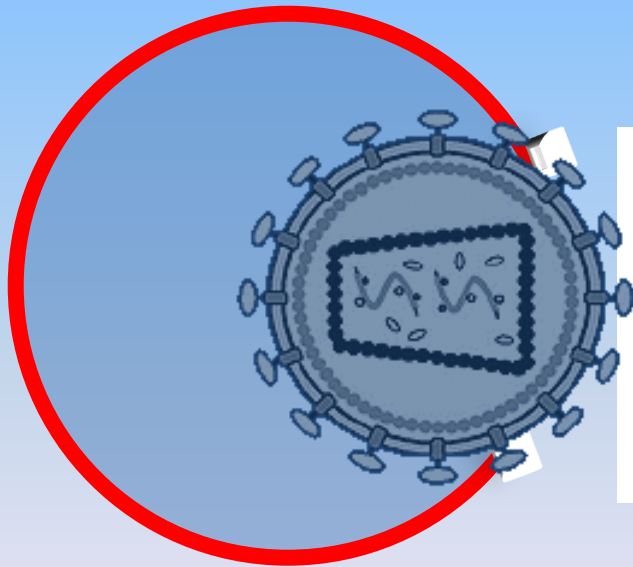
I rischi per la sicurezza compaiono quando l'integrità della barriera viene a mancare



rischio di esposizione per il personale e per l'ambiente circostante

# Contenimento operatore

I rischi per la sicurezza compaiono quando l'integrità della barriera viene a mancare



in tale situazione i dispositivi di protezione individuale diventano una importante linea di difesa.



## ***D.Lgs. 81/08***

### ***Capo II – uso dei dispositivi di protezione individuale (DPI) artt. 75, 76***

#### **art.75 Obbligo di uso**

1. I DPI devono essere impiegati quando i rischi non possono essere evitati o sufficientemente ridotti dalle misure tecniche di prevenzione...omissis...

#### **art. 76 Requisiti dei DPI**

1. I DPI devono essere conformi alle norme di cui al D.Lgs 475/92 e ss.mm.e ii.

## Quali DPI per il rischi biologico?

Occhiali a mascherina avvolgente o visiera



Apparati protettivi delle vie respiratorie



Guanti con resistenza ad agenti biologici  
(all'occorrenza anche ad agenti meccanici e chimici)



Indumenti di protezione



# Argomenti trattati

1. Normativa di riferimento;
2. Definizioni/ classificazione/ pericolosità;
3. Valutazione del rischio;
4. Rischio biologico/definizione;
5. Esposizione potenziale/uso deliberato;
6. Misure tecniche organizzative, procedurali;
7. Livelli di biosicurezza/contenimento;
8. Le cappe /DPI;
9. Fattori di rischio:Aerosol, punture accidentali;
10. Prevenzione/misure igieniche/ misure di emergenza



## L'aerosol

Diverse procedure di laboratorio producono **goccioline invisibili di aerosol contaminante**

L'aerosol può essere prodotto da qualsiasi operazione che comporta versamento o turbolenza di liquidi:

- pipettaggio (soprattutto se il liquido è espulso con forza)
- scuotimento
- omogeneizzazione
- centrifugazione
- trattamenti con ultrasuoni
- apertura di contenitori vari (provette piastre, flaconi),



**I microrganismi possono disperdersi nell'aria anche sotto forma di polvere (spore, e preparazioni liofilizzate).**

## Aerosol : Il destino della gocciolina

Dimensione della gocciolina	Destino della gocciolina	Modalità principale di trasmissione	Possibilità di contrarre la patologia	Commenti
<b><u>Maggiore di 150 micron</u></b>	Atterra sulla superficie evapora ed entra a far parte della polvere ambientale	Contatto con polvere e trasferimento della polvere alle membrane mucose	Le particelle infette possono causare infezione in fase di contatto iniziale e/o possono amplificarsi e disseminarsi	Il <b>virus respiratorio sinciziale</b> spesso si trasmette in questo modo.
<b><u>Minore di 150 micron</u></b>	Evapora in 2-3 sec e forma un <b>“nucleo della gocciolina secco”</b> (in genere rimane sospeso in aria)	Inalazione del nucleo della gocciolina	Se il nucleo della gocciolina è <b>&gt; di 5 micron</b> in genere non raggiunge gli alveoli ma può infettare le membrane mucose del tratto superiore delle vie respiratorie	

# **Rischio biologico**

## **modalità accidentale**

**Rischio di infezione a  
seguito di esposizione  
occupazionale a sangue di  
soggetto HBV +  
(5-30% SIROH, 2000)**



**QUINDI... (vaccinazione degli operatori esposti)**

# Argomenti trattati

1. Normativa di riferimento;
2. Definizioni/ classificazione/ pericolosità;
3. Valutazione del rischio;
4. Rischio biologico/definizione;
5. Esposizione potenziale/uso deliberato;
6. Misure tecniche organizzative, procedurali;
7. Livelli di biosicurezza/contenimento;
8. Le cappe /DPI;
9. Fattori di rischio:Aerosol, punture accidentali;
10. Prevenzione/misure igieniche/ misure di emergenza

## Capo III- Sorveglianza sanitaria

### art. 279. Prevenzione e controllo

*1. Qualora l'esito della valutazione del rischio ne rilevi la necessità i lavoratori esposti ad agenti biologici sono sottoposti alla sorveglianza sanitaria di cui all'art. 41.*

## Capo III- Sorveglianza sanitaria

### art. 279. Prevenzione e controllo

#### La Prevenzione

E' un insieme di attività, interventi ed opere attuate con il fine prioritario di promuovere e conservare lo stato di benessere ed evitare l'insorgenza delle malattie.

# PREVENZIONE

La prevenzione dalle esposizioni è la principale strategia per ridurre il rischio di infezioni occupazionali.

## Prevenzione primaria:

- Misure organizzative e procedurali;
- Prevenzione tecnica;
- Informazione – formazione.

## Prevenzione secondaria:

- Sorveglianza sanitaria.

# MISURE DI PROTEZIONE

Il complesso di disposizioni e/o misure che diminuiscono l'entità del danno.

Agiscono sulla magnitudo dell'incidente:

*Rischio = Pericolo x Danno*

barriere biologiche (vaccinazione delle persone esposte, quando è possibile );

barriere fisiche (isolamento, cappe biologiche, guanti, maschere, occhiali, sterilizzazione);

barriere chimiche (detersivi, disinfettanti, lavaggio delle mani ecc.).



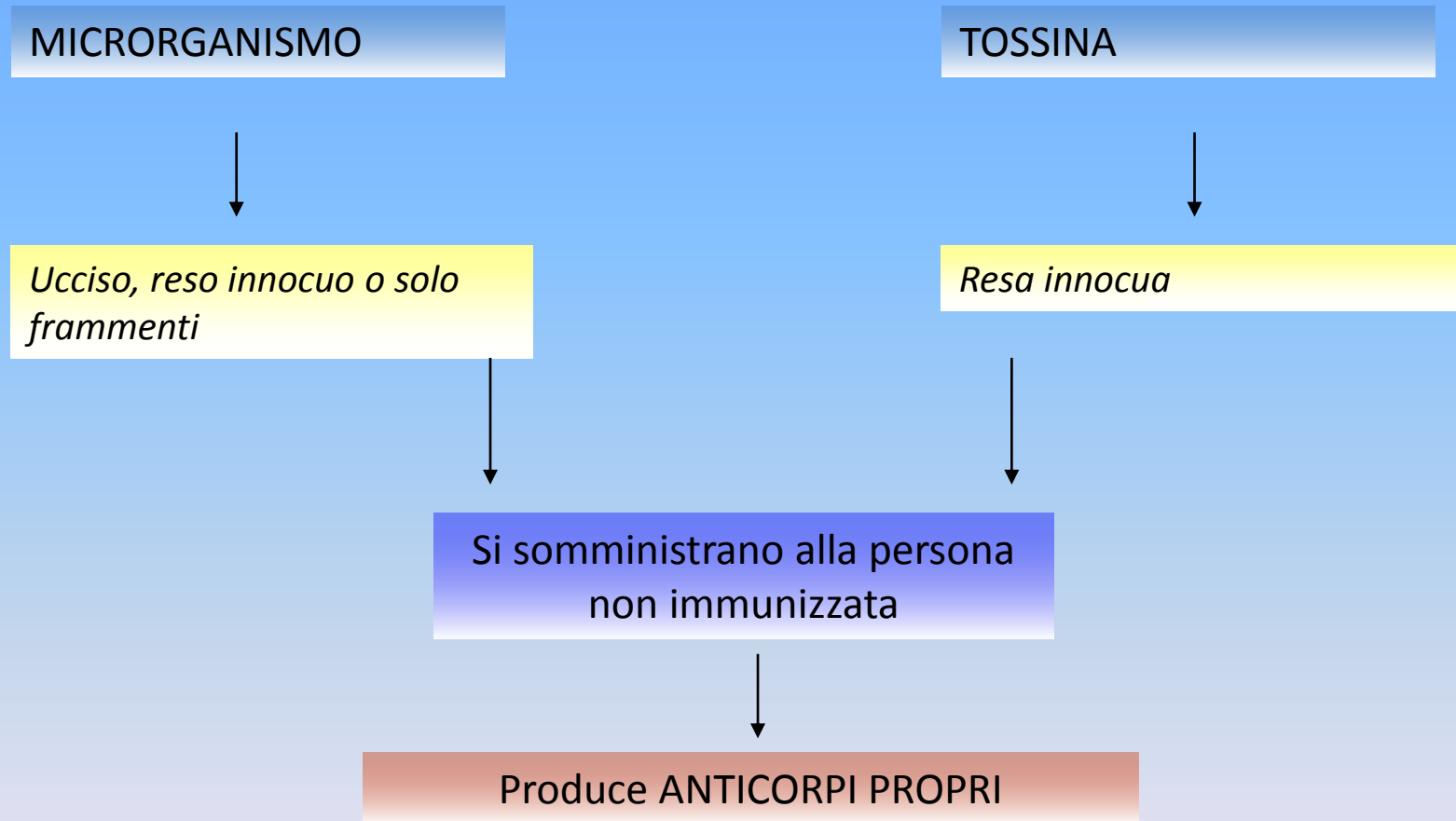
# BARRIERE BIOLOGICHE

**La vaccinazione delle persone esposte, risulta essere la misura di protezione migliore e la migliore barriera biologica .**



# VACCINI

(profilassi immunitaria attiva)



***Non funziona subito.***

# Immunoglobuline (umane) e sieri (animali) (profilassi immunitaria passiva)

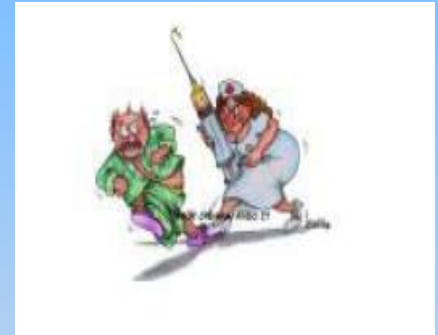
*Uomo o animale che ha subito l'infezione*



ANTICORPI GIA' PRONTI



Si somministrano alla persona  
non immunizzata



***Funzionano subito. Durano poco.***

***Possono però presentare qualche rischio in quanto derivati dal sangue.***

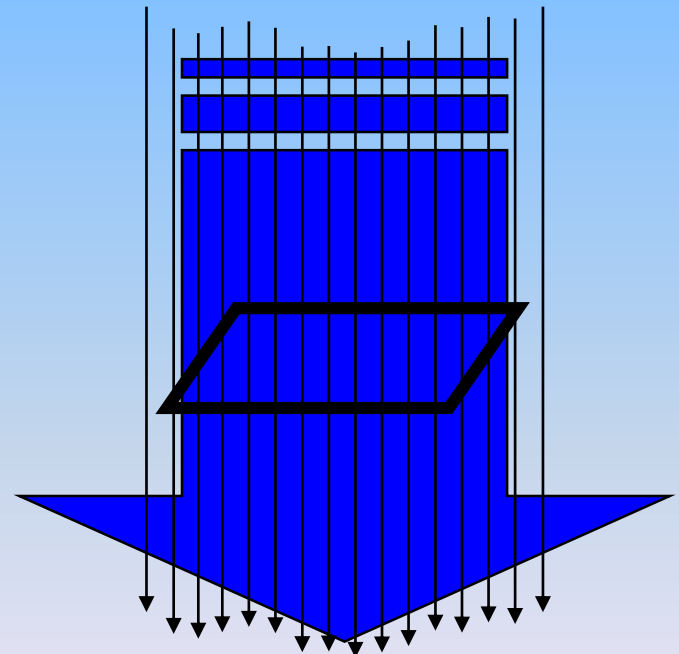
# Vaccinazioni obbligatorie e consigliate per categorie di lavoratori

<b>Operatori sanitari</b>	Epatite B, Influenza, morbillo, rosolia, parotite epidemica, varicella;
<b>Insegnanti</b>	Meningite, morbillo, rosolia, parotite epidemica, varicella;
<b>Polizia, vigili urbani, ecc.</b>	Epatite B;
<b>Laboratoristi</b>	Epatite B, Poliovirus, Rhabdovirus;
<b>Operatori ecologici</b>	Epatite A, tetano;
<b>Addetti ad animali</b>	Rabbia, brucellosi;
<b>Agricoltori, ecc</b>	Tetano;
<b>Attività all'estero</b>	Febbre gialla**, rabbia**, epatite A**.

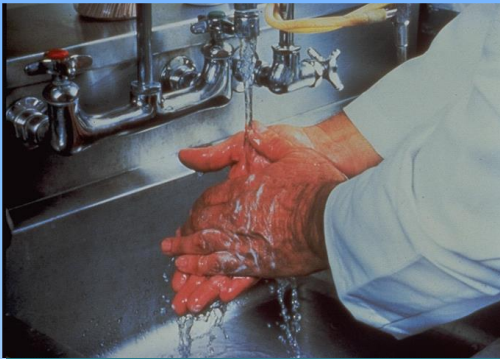
*\*\*dipende dalla destinazione*

# Barriere fisiche

isolamento, cappe biologiche, guanti, maschere, occhiali, sterilizzazione



# Barriere chimiche



## DISINFEZIONE



La disinfezione chimica viene eseguita per mezzo dei disinfettanti e/o antisettici (organici e inorganici), ad azione spiccatamente battericida, usati sia per la disinfezione dei tessuti tegumentari di persone e animali sia per quella di oggetti e ambienti.



## ***D.Lgs. 81/08***

### ***art. 273 – MISURE IGIENICHE***

1. Presenza di servizi sanitari con di docce e lavaggi oculari e antisettici per la pelle;
2. Indumenti protettivi od altri indumenti idonei, da riporre separati dagli abiti civili;
3. Gli indumenti di lavoro e protettivi che possono essere contaminati da agenti biologici devono essere disinfettati, puliti e, se necessario, distrutti;
4. I dispositivi di protezione individuale, ove non siano monouso, siano controllati, disinfettati e puliti dopo ogni utilizzazione, provvedendo a far riparare e/o sostituire quelli difettosi;
5. L'accesso nelle aree di lavoro è consentito solo al personale autorizzato.

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

# Lavaggio delle mani

- Prima del lavaggio delle mani occorre togliere gioielli (anelli, braccialetti, ecc.) e orologi.
- Poiché sotto le unghie si annidano e proliferano miceti e batteri, è importante che le unghie siano corte, arrotondate, limate. Vanno evitate unghie artificiali o estensioni.
- La valutazione dell'efficacia dei prodotti antisettici è regolata a livello europeo da un test standardizzato: i polpastrelli delle mani di volontari sono contaminati con *Escherichia coli*.



# Rigoroso accurato rispetto dell'igiene delle mani



La flora transitoria si rimuove più facilmente con il lavaggio corretto delle mani.

I batteri patogeni più spesso ritrovati sulle mani degli operatori sono: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*.

I detergenti antisettici più utilizzati sono: clorexidina gluconato, iodofori e triclosan. Il lavaggio antisettico deve durare dai 40 ai 60 secondi.

## **Alcune regole di base standard da seguire nei laboratori di colture cellulari (\*).**

<b>1</b>	<b>Usare sempre camice e guanti</b>
<b>2</b>	<b>Fortemente raccomandato l'utilizzo di materiale monouso</b>
<b>3</b>	<b>Pulire tutte le superfici prima di ogni procedura e tra procedure diverse con disinfettante</b>
<b>4</b>	<b>Identificare in maniera chiara tutti i contenitori che si usano</b>
<b>5</b>	<b>Lavorare tutti i campioni sotto cappa</b>
<b>6</b>	<b>Tenere sempre in ordine</b>
<b>7</b>	<b>Gestire adeguatamente gli scarti prodotti nelle attività</b>

\*G. Scafetta *et al.* 2013 - adattata da: Il rischio biologico nei laboratori di colture cellulari.

# NORME GENERALI DI PREVENZIONE

## Movimentazione e trasporto di materiale a rischio biologico potenzialmente patogeno.

- Le strutture che ricevono da altri presidi, campioni biologici rappresentati da «matrice clinica» potenzialmente patogena (campioni non fissati con mezzi chimici in precedenza), devono essere rispettate le regole di buona prassi microbiologica.
- Nel caso in cui per necessità diagnostiche gli stessi, debbono essere trasportati fuori del laboratorio e/o spediti per posta, debbono essere rispettate le regole di imballaggio indicate nella:

Circolare Ministeriale n.16 del 20 luglio 1994 .



**Etichetta rischio materiale potenzialmente infetto**

***D.Lgs. 81/08***

***art. 277 – PROCEDURE DI EMERGENZA***

In caso di **incidenti nel luogo di lavoro** che possono provocare la dispersione di agenti naturali di gruppo 2, 3, 4 e/o di MOGM, gli operatori devono informare il DDL che, a sua volta deve portare a conoscenza gli organi di vigilanza, i lavoratori e gli RLS, le modalità dell'incidente e le misure adottate. ..omissis.....

## ***D.Lgs. 81/08***

### ***art. 277 – PROCEDURE DI EMERGENZA IN LABORATORIO***

#### ***Misure da adottare in caso di spandimento accidentale di materiale biologico***

**In caso di caduta accidentale di provette, contenitori in genere con conseguente rottura e/o spandimento di liquidi biologici, è indispensabile un intervento di bonifica ambientale immediato.**

1. Indossare guanti in gomma (nel caso ci siano vetri rotti) e, se necessario, anche soprascarpe, mascherina, schermo protettivo;
2. Coprire lo spandimento con fogli assorbenti appositi/carta assorbente imbevuti di disinfettante a base di ipoclorito di sodio oppure, nel caso di superfici metalliche, utilizzare disinfettante a base di polifenoli;
3. Rimuovere il materiale utilizzando attrezzi adeguati (pinze, scopino e paletta); non usare le mani anche se protette da guanti;
4. I frammenti di vetro andranno smaltiti nel contenitore rigido apposito per taglienti: ago-box; l'altro materiale sarà considerato rifiuto pericoloso a rischio infettivo e smaltito come tale;
5. Successivamente detergere/disinfettare l'area che è stata contaminata;
6. Lasciare agire per il tempo indicato nella procedura.

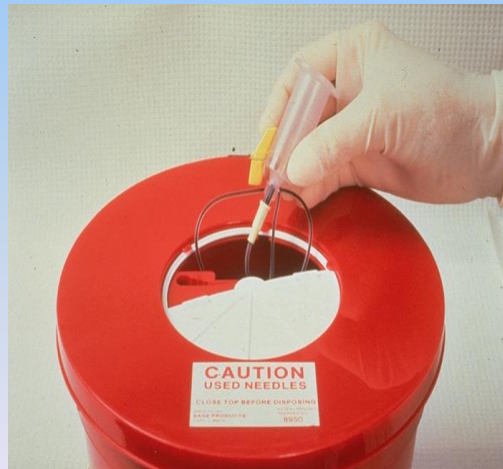
## ***Kit di decontaminazione***

1	Ipoclorito di sodio allo 0,1-0,5 % (battericida, virucida; <u>soluzione corrosiva su parti metalliche</u> deve essere preparata al momento dell'uso) o altra soluzione in commercio con le caratteristiche richieste;
2	Pinze per prelevare il materiale;
3	Carta assorbente;
4	Guanti monouso;
5	Camici monouso;
6	Dispositivi di protezione per il volto.

# Precauzioni per la gestione di oggetti acuminati e taglienti ed eliminazione dei rifiuti

## (D. Lgs. 81/2008-Titolo -X- e TITOLO X-bis)

- Non rincappucciare gli aghi;
- Utilizzare sempre contenitori resistenti alle punture per eliminare gli oggetti appuntiti e taglienti.
- I rifiuti prima della loro eliminazione devono essere correttamente caratterizzati con il codice (CER) ed allontanati dal luogo di lavoro in base alla loro tipologia.



## ***D.Lgs. 81/08***

### ***art. 18 – Obblighi del DL e del Dirigente***

#### ***b) ... omissis ... Misure di primo soccorso e gestione delle emergenze***

**In caso di esposizione di cute non integra:**

- Lavare la ferita con acqua corrente e sapone antisettico;
- Disinfettare la ferita con il kit di primo soccorso e rivolgersi al PS.

**In caso di esposizione mucosa:**

Lavare abbondantemente con acqua corrente e/o soluzione fisiologica sterile per 10/15 minuti e rivolgersi al PS.



# **D.Lgs. 81/08**

## **art. 278-Informazione formazione**

***D.Lgs. 81/08***

***art. 278 – Informazione e formazione (-1-)***

**1. Nelle attività per le quali la valutazione del rischio evidenzia rischi per la salute dei lavoratori, il datore di lavoro fornisce ai lavoratori, sulla base delle conoscenze disponibili, informazioni ed istruzioni, in particolare per quanto riguarda:**

*a)* Rischi per la salute dovuti agli agenti biologici utilizzati;

*b)* Le precauzioni da prendere per evitare l'esposizione;

*c)* Le misure igieniche da osservare;

*d)* la funzione degli indumenti di lavoro e protettivi e l'utilizzo di adeguati DPI in base al rischio da esposizione;

....omissis..

*f)* Il modo di prevenire il verificarsi di infortuni e le misure da adottare per ridurre al minimo le conseguenze.

***D.Lgs. 81/08***

***art. 278 – Informazione e formazione (-2-)***

2. Il Datore di Lavoro (DDL) assicura ai lavoratori una formazione adeguata....omissis....
3. L'informazione e la formazione **sono fornite prima che i lavoratori siano adibiti alle attività a rischio...omissis...**
4. Nel luogo di lavoro sono affissi **in posizione ben visibile cartelli su cui sono riportate le procedure** da seguire in caso di infortunio o incidente.

# Punti fondamentali

Va rigorosamente rispettata una  
**accurata igiene delle mani**;  
Scrupolosa igiene personale.



Accurata pulizia  
dell'ambiente.



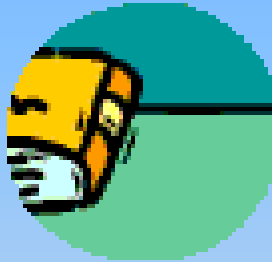
## **Divieto di consumo di alimenti e bevande**

- Divieto di fumo
- Idoneo abbigliamento
- Divieto di lavorare "da soli"



# Punti strategici

Le procedure: devono essere rispettate ed eseguite scrupolosamente



La conoscenza dei rischi va implementata  
attraverso una adeguata  
formazione/informazione.



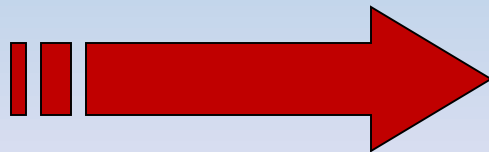
# Concludendo



# Per gli agenti biologici è difficile dimensionare il rischio in maniera numerica

ai fini preventivi occorre quindi:

- a) localizzare nel ciclo produttivo i punti o le fasi in cui può determinarsi, anche se solo per eventi accidentali, l'esposizione ad un possibile pericolo;
- b) adottare tutte le misure protettive e le procedure di buona pratica proporzionate alla pericolosità attribuita “a priori “ (conoscenze scientifiche, evidenze epidemiologiche, ecc.) per ridurre gli agenti biologici in gioco.



***RIDUZIONE  
DELL'ESPOSIZIONE***

# Riduzione della esposizione

Informazione e la Formazione del personale sui rischi lavorativi di natura infettiva e sulle modalità più opportune per ridurli al più basso livello possibile;

Adeguatezza strutturale degli ambienti di lavoro;

Dispositivi collettivi di protezione ambientale;

Adozione di procedure operative di sicurezza

durante l'attività lavorativa:

*Precauzioni Standard*

*Precauzioni basate sulle vie di trasmissione;*

Disponibilità di adeguati DPI;

Programmi di verifica dell'effettivo utilizzo delle Precauzioni Standard e dei DPI.



grazie per l'attenzione

