

Sicurezza in Laboratorio – La Gestione del Rischio in Laboratorio
Napoli, 9 Marzo 2011

Rischio Biologico

Raffaele Zarrilli

*Dipartimento di Scienze Mediche Preventive
Università di Napoli "Federico II"*

Titolo X – D. Lgs 81/2008

Definizione Rischio Biologico:
esposizione agli agenti biologici
negli ambienti di lavoro

Art.267 D.Lgs. 81/08

Agente biologico: qualsiasi microrganismo, anche se geneticamente modificato, coltura cellulare ed endoparassita umano, che potrebbe provocare:

- infezioni
- intossicazioni
- allergie
- tumori.

Art 268 - Classificazione degli agenti biologici in funzione della loro pericolosità (all. 46)

- **I Gruppo** : agente che presenta poche probabilità di causare malattia (*Saccharomyces cerevisiae*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*)
- **II Gruppo** : agente che può causare malattie e costituire un rischio per i lavoratori; è poco probabile che si propaghi nella comunità; sono disponibili efficaci misure profilattiche e terapeutiche.
(es. *B. pertussis*, *C. albicans*, *C. tetani*, *L. pneumophila*, *Salomonelle non tifoide*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Neisserie*, *V. cholerae*)

Art. 268 - Classificazione degli agenti biologici in funzione della loro pericolosità (all. 46)

- **III Gruppo** : agente che può causare malattie gravi e costituisce un serio rischio per i lavoratori; può presentare un elevato rischio di propagazione nella comunità. Di norma sono disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche. (es. Brucelle, *M. tuberculosis*, Rickettsie, *Salmonella typhi***, *Shigella dysenteriae* tipo I, *E. coli* 0157-H7**, *Y. pestis*, *P. falciparum***, HBV**, HCV**, HIV**)
- **IV Gruppo** : agente che può provocare malattie gravi e costituisce un serio rischio per i lavoratori e può presentare un elevato rischio di propagazione nella comunità. Di norma non sono disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche. (es. Virus Ebola, Virus Lassa, Virus della febbre emorragica di Crimea/Congo)

Caratteristiche di pericolosità degli agenti biologici (1)

Infettività: capacità di un microrganismo di resistere alle difese dell'ospite e di replicarsi in esso (DI₅₀: n° microrganismi necessario ad infettare il 50% di animali contagiati sperimentalmente)

Per la valutazione del rischio è importante conoscere la soglia di infettività, intesa come dose cui si può essere esposti senza contrarre infezione (dose minima infettante o DI₀)

Patogenicità: capacità di produrre malattia a seguito di infezione

Trasmissibilità: capacità di un microrganismo di essere trasmesso da un soggetto portatore ad un soggetto non infetto

Neutralizzabilità: disponibilità di efficaci misure profilattiche per prevenire la malattia o terapeutiche per la cura

Caratteristiche di pericolosità degli agenti biologici (2)

Indicazioni supplementari:

- A = possibili effetti allergici;
D = conservazione registro esposti per almeno 10 anni;
T = produzione tossine;
V = vaccino disponibile.

Campi di applicazione

Tutte le attività lavorative con rischio di esposizione ad agenti biologici.

1) Uso o impiego di agenti biologici:

microrganismi vengono deliberatamente introdotti nel ciclo lavorativo per esservi trattati, manipolati o trasformati, ovvero per sfruttarne le proprietà biologiche a qualsiasi titolo (materia prima)

2) Attività a rischio potenziale di esposizione:

la presenza di agenti biologici ha carattere di epifenomeno indesiderato ma inevitabile, più che di specifico oggetto di lavoro

Settori lavorativi con uso deliberato di agenti biologici

Università e Centri di ricerca
 Sanità /Zootecnia e Veterinaria
 Industria Farmaceutica
 Industria Alimentare
 Industria Chimica

Settore Agricolo: fertilizzazione colture (azoto-fissatori);
 uso di antiparassitari microbici

Settore Ambientale: bioconversione dei rifiuti

Attività con potenziale esposizione ad agenti biologici

Zootecnia
 Macellazione carni
 Piscicoltura
 Servizi veterinari
 Servizi sanitari
 Laboratori diagnostici (eccetto lab. microbiologia)
 Servizi mortuari e cimiteriali
 Servizi di raccolta, trattamento e smaltimento rifiuti
 Impianti depurazione acque di scarico
 Manutenzione impianti fognari
 Servizi di disinfezione e disinfestazione

Infezioni acquisite in laboratorio

Infection	Total no. (%) of cases reported for:			
	U.S. ^a	U.S. and world ^b	Great Britain ^{c,d}	NADC ^e
Brucellosis	274 (9.4)	423 (10.8)	2 (2.1)	18 (52.9)
Q fever	184 (6.3)	278 (7.1)	0	
Typhoid fever	292 (10.0)	256 (6.5)	3 (3.2)	
Hepatitis	126 (4.3)	234 (6.0)	19 (20.0)	
Tularemia	129 (4.4)	225 (5.7)	0	
Tuberculosis	174 (6.0)	176 (4.5)	24 (25.3)	4 (11.8)
Dermatomycosis	84 (2.9)	161 (4.1)	0	2 (5.9)
Venezuelan equine encephalitis	118 (4.1)	141 (3.6)	0	
Typhus	82 (2.8)	124 (3.2)	0	
Psittacosis	70 (2.4)	116 (3.0)	0	4 (11.8)
Coccidioidomycosis	108 (3.7)	93 (2.4)	0	
Streptococcal infections	67 (2.3)	78 (2.0)	3 (3.2)	
Histoplasmosis	81 (2.8)	71 (1.8)	0	
Leptospirosis	43 (1.5)	87 (2.2)	0	3 (8.8)
Salmonellosis	54 (1.9)	48 (1.2)	11 (11.6)	1 (2.9)
Shigellosis	54 (1.9)	58 (1.5)	26 (27.4)	
All reported infections	2,912	3,921	95	34

Sewell, Clin Microb Rev 8, 389, 1995

Trasmissione degli agenti biologici in laboratorio

- ✓ Le vie di trasmissione in laboratorio possono essere diverse da quelle normalmente seguite all'esterno
- ✓ Sono condizionate dalle grandi quantità di microrganismi che vengono manipolate
- ✓ Il rischio è più elevato che in altre situazioni lavorative o nella vita comune

Vie di trasmissione degli agenti biologici in laboratorio

- ✓ Ingestione
- ✓ Inalazione
- ✓ Inoculazione
- ✓ Contaminazione di cute e mucose (per schizzi, spargimenti, per contatto con superfici, oggetti)

Dose infettante per l'uomo dei diversi microrganismi

Agent or disease	Inoculation route	Dose ^a
Anthrax	Inhalation	$\geq 1,300$
<i>Campylobacter jejuni</i>	Ingestion	10^7 - 10^6
<i>Entamoeba histolytica</i>	Ingestion	10-100 cysts
<i>Escherichia coli</i>	Ingestion	10^8
<i>Giardia lamblia</i>	Ingestion	10-100 cysts
Measles	Intranasal spray	0.2^c
<i>Plasmodium vivax</i>	Intravenous	10
Q fever	Inhalation	10
Scrub typhus	Intradermal	3
<i>Shigella flexneri</i>	Ingestion	180
Shigellosis	Ingestion	10^9
Syphilis	Intradermal	57
Tuberculosis	Inhalation	<10
Tularemia	Inhalation	10
<i>Salmonella</i> spp.	Ingestion	10^5
Venezuelan equine encephalitis virus	Subcutaneous	1^d
<i>Vibrio cholerae</i>	Ingestion	10^8

Sewell, Clin Microb Rev 8, 389, 1995

Patogeni a trasmissione parenterale

blood-borne pathogens (BBP)
agenti biologici causa di malattie nell'uomo che possono essere presenti ed essere trasmessi con il sangue o altri liquidi biologici

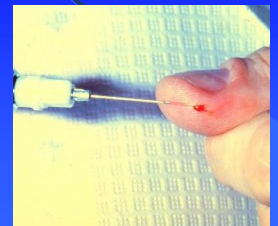


- virus dell'epatite B
- virus dell'epatite C (HCV)
- virus dell'immunodeficienza umana (HIV)



Modalità di esposizione

punture accidentali con aghi contaminati (modalità più frequente)
tagli con oggetti taglienti (bisturi, vetri rotti, etc.)
contatto con mucose integre (occhi, cavo orale, naso) o cute lesa (eczemi, lesioni)



IL BIOAEROSOL COME FATTORE DI RISCHIO

Il bioaerosol che si forma durante le comuni operazioni condotte in laboratorio rappresenta una delle cause più frequenti di contaminazione ambientale e di rischio per il personale, soprattutto laddove si lavora con agenti biologici che si diffondono facilmente attraverso la via aerea.

Procedure di laboratorio in grado di produrre bioaerosol:

- l'apertura di contenitori (provette, piastre Petri, fiale, beute, etc)
- nell'impiego di agitatori, centrifughe, liofilizzatori, sonicatori, pipette, siringhe
- durante la flambatura di anse o aghi con occasionale proiezione a distanza di germi ancora viventi



Capo II Obblighi del datore di lavoro

Art. 271 - Valutazione del rischio biologico

- **Misura della contaminazione ambientale:** elemento portante per la valutazione di esistenza del rischio, la definizione delle sorgenti di diffusione e l'efficacia delle misure preventive
- **Stima dell'entità di esposizione:** diversamente utile in funzione della pericolosità dei microrganismi
- **Sistema di sorveglianza e controllo**

Definizioni di "pericolo" e di "rischio"

Pericolo ("hazard") = proprietà intrinseca di una determinata entità (es. materiali o attrezzature di lavoro, metodi e pratiche di lavoro) avente il potenziale di causare danni

Rischio ("risk") = probabilità matematica che un evento (in teoria non necessariamente negativo) si verifichi, ovvero che sia raggiunto il livello potenziale di danno

Determinanti del rischio di infezione in lavoratori esposti ad agenti biologici

Il rischio di infezione può essere calcolato in base alla seguente formula:

$$R = p \times E \times t$$

p = prevalenza dell'agente infettante nel "materiale" oggetto della lavorazione

E = frequenza di esposizione efficace al rischio (probabilità di avere un incidente)

t = efficacia di trasmissione dell'agente a seguito di una singola esposizione a rischio

Non essendo possibile, in molte situazioni, ridurre la prevalenza dell'agente infettante, sarà fondamentale concentrare gli sforzi sulla riduzione del numero di esposizioni

Capo II Obblighi del datore di lavoro

Art. 272 – Misure tecniche, collettive, individuali per evitare ogni esposizione dei lavoratori ad agenti biologici

Art. 273 – Misure igieniche

Contenimento

obiettivo:

eliminare o ridurre l'esposizione ad agenti biologici o sostanze pericolose per

- lavoratori
- altre persone
- ambiente esterno

tipologie di contenimento

- primario
- secondario

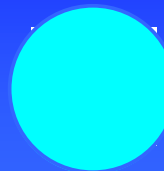


contenimento primario

- protezione del lavoratore o del personale situato nelle immediate vicinanze della possibile sorgente di esposizione
- prima linea di difesa quando si lavora con agenti infettivi o si è esposti al rischio di esposizione

contenimento primario

è necessario costruire una barriera tra l'agente infettivo e l'ambiente circostante

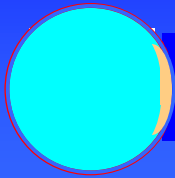


cabina ermetica
flusso di aria laminare
provetta chiusa



contenimento primario

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



contenimento primario

può essere raggiunto con:

- procedure tecniche ed operative
- attrezzature
- dispositivi di protezione
- altre misure: vaccinazioni



contenimento secondario

- protezione dell'ambiente esterno ad una possibile sorgente di esposizione
- rischio per:
 - aria in uscita
 - rifiuti liquidi e solidi



contenimento secondario

- può essere raggiunto con:
 - idonee misure costruttive
 - idonee procedure



procedure nei laboratori: le buone pratiche

- punti fondamentali
 - igiene personale
 - pulizia dell'ambiente
 - consumo di alimenti e bevande
 - fumo
 - abbigliamento
 - lavoro "da soli"



attrezzature e dispositivi

- attrezzature
 - cappa di sicurezza biologica
 - centrifughe con chiusure a tenuta
- dispositivi di protezione
 - guanti
 - camici
 - occhiali
 - calzari



principale metodo per ridurre il rischio di aerosol o di spargimenti di materiale infetto

misure da adottare

- precauzioni universali
- procedure operative
- accorgimenti tecnici
- dispositivi di protezione individuale
- decontaminazione degli ambienti ed eliminazione dei rifiuti

precauzioni universali

- rappresentano una strategia di prevenzione in cui il sangue umano e alcuni liquidi corporei/ tessuti / linee cellulari devono essere sempre manipolati come se fossero infettivi
- devono essere applicate in tutte quelle situazioni che possono comportare un potenziale contatto con sangue o altri fluidi corporei
- comprendono procedure operative ed accorgimenti tecnici

procedure operative

alcuni esempi

- frequente lavaggio delle mani
- appropriate manipolazione ed eliminazione degli strumenti acuminati
- divieto di pipettare con la bocca
- etichettatura idonea dei contenitori utilizzati per la conservazione ed il trasporto degli agenti patogeni a trasmissione parenterale
- idoneo utilizzo di guanti e di altri dispositivi di protezione individuale

dispositivi di protezione individuale

- in aggiunta alle procedure operative ed agli accorgimenti tecnici
- comprendono: guanti, camici, sistemi di protezione del viso e degli occhi, mascherine
- devono essere opportunamente puliti e decontaminati dopo l'uso o eliminati in modo appropriato
- devono essere rimossi quando si esce da un'area contaminata



uso dei guanti

i guanti possono contaminarsi durante il lavoro



l'uso dei guanti per altre attività può determinare una contaminazione crociata



non si devono indossare i guanti al di fuori del laboratorio

decontaminazione degli ambienti ed eliminazione dei rifiuti

l'ambiente di lavoro deve essere conservato pulito e decontaminato

le superfici di lavoro, gli arredi e le attrezzature devono essere regolarmente e opportunamente decontaminati

i rifiuti devono essere suddivisi ed eliminati in base alla tipologia



Capo II Obblighi del datore di lavoro
Art. 275 – Misure specifiche per laboratori e stabulari

- Uso degli agenti biologici in aree con livelli di contenimento rapportati alla classe di pericolosità
- Contenimento almeno di livello 2[^] nei laboratori con uso di materiali contaminati da agenti biologici patogeni
- Contenimento di almeno 3[^] livello o più elevato se l'agente biologico non è ancora classificato ma potenzialmente gravemente patogeno
- Adottare le misure di cui all'allegato XLVII

Laboratori e Livelli di Biosicurezza

- ✓ Laboratori di base - Livello Biosicurezza 1 per microrganismi di classe 1
- ✓ Laboratori di base - Livello Biosicurezza 2 per microrganismi di classe 2
- ✓ Laboratori di sicurezza - Livello Biosicurezza 3 per microrganismi di classe 3
- ✓ Laboratori di massima sicurezza - Livello Biosicurezza 4 per microrganismi di classe 4

ALLEGATO XLVII			
Specifiche sulle misure di contenimento e sui livelli di contenimento (1)			
A. Misure di contenimento	B. Livelli di contenimento		
	2	3	4
1. La zona di lavoro deve essere separata da qualsiasi altra attività nello stesso edificio	NO	Raccomandato	SI
2. 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 entrata
3. L'accesso deve essere limitato alle persone autorizzate	Raccomandato	SI	SI, attraverso camera di compensazione
4. La zona di lavoro deve poter essere chiusa a tenuta per consentire la disinfezione	NO	Raccomandato	SI
5. Specifiche procedure di disinfezione	SI	SI	SI
6. La zona di lavoro deve essere mantenuta ad una pressione negativa rispetto a quella atmosferica	NO	Raccomandato	SI
7. Controllo efficace dei vettori, ad esempio, roditori ed insetti	Raccomandato	SI	SI
8. Superfici idrorepellenti e di facile pulitura	SI, per il banco di lavoro	SI, per il banco di lavoro e il pavimento	SI, per banco di lavoro, arredo, mura, pavimento e soffitto

ALLEGATO XLVII D, L.gs. 81/08			
Specifiche sulle misure di contenimento e sui livelli di contenimento (2)			
A. Misure di contenimento	B. Livelli di contenimento		
	2	3	4
9. Superfici resistenti agli acidi, agli alcali, ai solventi, ai disinfettanti	Raccomandato	SI	SI
10. Deposito sicuro per agenti biologici	SI	SI	SI, deposito sicuro
11. Finestra d'ispezione o altro dispositivo che permetta di vederne gli occupanti	Raccomandato	Raccomandato	SI
12. I laboratori devono contenere l'attrezzatura a loro necessaria	NO	Raccomandato	SI
13. 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
14. Inceneritori per l'eliminazione delle carcasse degli animali	Raccomandato	SI (disponibile)	SI, sul posto
15. Mezzi e procedure per il trattamento dei rifiuti	SI	SI	SI, con sterilizzazione
16. Trattamento delle acque reflue	NO	Facoltativo	Facoltativo

