

Rischio biologico:

- L'OMS definisce la salute come : " stato di completo benessere fisico , psichico e sociale".
- Per sicurezza si intende la salvaguardia dell'integrità psicofisica e sociale di chi è coinvolto in una specifica attività. L'integrità sociale consiste in una serie di interventi pubblici , messi in atto dallo stato atti a erogare la previdenza , l'assistenza in caso di malattia , invalidità o in caso di infortunio del lavoratore sul lavoro.
- Legislazione: la salute e la sicurezza sono disciplinate dal decreto legislativo 81/2008 , dal cosiddetto Testo unico sicurezza lavoro e dalle relative disposizioni correttive 206/2009.
- Adozione misure atte a garantire la sicurezza : competono a tutti gli operatori coinvolti nel processo lavorativo ma in primis , al datore di lavoro , ai dirigenti , ai responsabili del laboratorio (un preposto , votato il cui compito consiste nell'assicurarsi che vengano mantenuti tutti gli standard e le linee di condotta per la sicurezza del lavoratori . Tali norme devono essere pubblicate e disponibili in forma scritta) e agli operatori (studenti , docenti , tecnici..) che sono tenuti a partecipare a corsi sulla sicurezza organizzati periodicamente e , appunto , il preposto deve assicurarsi che quest'ultimi li frequentino.

I principali **fattori di rischio** in un **laboratorio microbiologico**: sono fattori comuni a tutti i laboratori che presentano soprattutto fattori di rischio di tipo biologico dovuto alla manipolazione di campioni contenenti agenti patogeni viventi (microorganismi, parassiti e colture cellulari). // il laboratorio di microbiologia presenta tutti i fattori di rischio presenti negli altri laboratori , ma è peculiare del laboratorio microbiologico è il rischio biologico.

- Chimici
- Fisici

→ **Biologici**: la protezione da agenti biologici è sempre regolata dal decreto legislativo 81/2008; ai sensi di legge per "agente biologico" si intende qualsiasi microorganismo , anche geneticamente modificato , coltura cellulare o endoparassita umano che può provocare infezioni , allergie o intossicazioni .

Microorganismi : possono essere batteri , virus , funghi o prioni (formati da proteine , non hanno acidi nucleici . La proteina modificata viene in contatto con la proteina normale del sistema nervoso e , a sua volta , la modifica).

Colture cellulari: sono prodotto della crescita in vitro delle cellule prelevate da organismi pluricellulari.

Endoparassiti : possono essere protozoi , nematodi (vermi cilindri), trematodi (vermi con un corpo appiattito o cilindrico , lunghi pochi centimetri) e cestodi .

La **pericolosità** degli agenti biologici è stabilita in base a differenti parametri:

- Infettività : capacità del microorganismi di penetrare e riprodursi all'interno di una cellula ospite.
- Patogenicità: capacità di produrre una malattia , una volta penetrato e moltiplicatosi all'interno dell'ospite.
- Trasmissibilità: la capacità di trasferirsi da un soggetto infetto a un soggetto sano.
- Neutralizzabilità: se esistono misure profilattiche o terapeutiche.

IL RISCHIO BIOLOGICO IN LABORATORIO: consiste nella possibilità di :

- o Contrarre una malattia infettiva
- o Contrarre una intossicazione
- o Contrarre un'infezione = infezione da batteri e dalle loro tossine.
- o Contrarre un'infestazione

Gli **agenti biologici** sono classificati in 4 gruppi;

- 1°= rischio molto basso di provocare una malattia sia nell'individuo che nell'animale.
- 2°= rischio moderato individuale e collettivo. Può causare malattie nell'uomo e nell'animale , ma è poco probabili che rappresenti un pericolo per gli operatori di laboratorio e per la comunità.
- 3°= elevato rischio individuale e basso rischio collettivo . È un agente biologico che può causare gravi malattie nell'uomo e nell'animale (rappresenta un rischio serio per gli operatori del laboratorio) ma difficilmente si propaga nella collettività.
- 4°= elevato rischio individuale e collettivo. È un agente biologico che causa gravi patologie nell'uomo. Rappresenta un serio rischio per l'operatore ed è caratterizzato dal fatto di potersi propagare rapidamente nella comunità. Di solito non sono disponibili efficaci misure preventive e terapeutiche . Hanno esito potenzialmente fatale , generalmente sono agenti esotici.

Questi agenti biologici possono essere contenuti , manipolandoli in laboratori che abbiano livelli di bio sicurezza adeguati. Quindi , i laboratori hanno diversi livelli di sicurezza : il **1° laboratorio** ha livelli di sicurezza 1 e 2 (possono essere manipolati agenti biologici del gruppo 1° e 2°).

Tutti i laboratori di bio sicurezza hanno delle caratteristiche comuni :

- muri , soffitti e pavimenti lisci , facilmente pulibili , impermeabili ai liquidi e , siccome devono essere decontaminati , devono essere resistenti ad agenti chimici e ai disinfettanti.
- devono esserci lavabi , dotati di acqua corrente. Deve essere disponibile una autoclave , presente almeno nello stesso edificio.
- l'aria deve entrare all'interno ma non deve ri-circolare all'esterno.
- Devono essere dotati di tutti i sistemi di sicurezza = sistema antincendio , impianto elettrico , presidi di pronto soccorso.

Il **laboratorio 3** (a differenza del laboratorio 1 e 2) è progettato per il lavoro con microorganismi del gruppo di rischio 3 e con alte concentrazioni e volumi di microorganismi del gruppo di rischio 2 (quando sono in grandi quantità). Questi laboratori hanno le medesime caratteristiche citate sopra ma sono caratterizzate dal fatto che :

- devono essere separate dalle aree che sono accessibili ai visitatori .
- l'ingresso deve avvenire tramite un vestibolo.
- Tutta la stanza deve essere sigillabile per poter essere decontaminata mediante l'introduzione di gas.
- Deve essere disponibile una autoclave (dentro il laboratorio , non nell'area dove si trova lo stesso.)
- Se bisogna spostare dei rifiuti , bisogna usare dei contenitori a tenuta

(devono garantire la non fuoriuscita di eventuali liquidi , avere , quindi , il coperchio).

Il **laboratorio 4**: è il laboratorio di massima sicurezza ed è progettato per svolgere attività dove si manipolano agenti biologici appartenenti al gruppo 4° con materiali infetti o esperimenti microbiologici che presentano , o sono sospetti di presentare, un alto rischio sia per chi lavora in laboratorio , sia per la comunità.

Devono essere progettati , chiedendo una consulenza al servizio di Protezione e Prevenzione e sono sotto controllo delle autorità sanitarie nazionali.

- Devono avere pressione negativa
- l'aria deve essere filtrata in entrate e in uscita
- Il sistema di gestione dei rifiuti è autonomo ; sia i rifiuti liquidi che quelli solidi devono essere sterilizzati prima di uscire dai laboratori.

Cappe (presenti nei laboratori di biosicurezza):

Sia le cappe chimiche che le cappe a flusso orizzontale non sono cappe biologiche:

1. Cappe chimiche = usate per la manipolazione di sostanze tossiche e nocive. Devono essere efficaci --> l'efficace si ha quando l'aspirazione dell'aria frontale non è inferiore a 0,5 metri al secondo (per quanto riguarda le cappe con 40 cm di apertura frontale). Devono essere controllate annualmente. Possono avere dei filtri (consigliati in presenza di alte concentrazioni di agenti particolarmente tossici) ma generalmente la diluizione avviene per dispersione nell'aria
2. Cappe a flusso orizzontale: la cappa a flusso laminare orizzontale non è una cappa di sicurezza biologica. È usata per distribuzione dei terreni solidi nelle piastre. È una cappa che non protegge l'operatore perché l'aria passa tramite un filtro che la rende sterile , poi passa tramite un altro filtro e l'aria scorre orizzontalmente , facendo in modo che il materiale manipolato rimanga sterile --> però l'aria contaminata investe direttamente l'operatore.

Esistono tre tipi di cappe a flusso laminare , previste dal NFS:

1. Cappe biologiche di classe 1°= sono cappe progettate per tutelare l'ambiente e l'operatore , ma non garantiscono la sterilità del campione (perché sono ventilate e aperte frontalmente , la tutela dell'ambiente è garantita dalla presenza del filtro EPA , l'aria ricircolata dentro la cappa e non investe l'operatore.). Mentre per quanto riguarda il campione , l'aria in

Gruppo	Danni sull'uomo	Rischio per i lavoratori	Misure profilattiche e terapeutiche	Esempi di agenti biologici
1	Scarse probabilità di causare malattie	Molto basso		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
2	Possono causare malattie	Rischio basso; poche probabilità di propagarsi nelle comunità	Di norma disponibili	Virus influenzali, <i>Legionella pneumophila</i> , <i>Clostridium tetani</i> , <i>E. coli</i> (ceppi non patogeni), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i>
3	In grado di provocare malattie gravi	Serio rischio; riescono a propagarsi nelle comunità	Di norma disponibili	Virus epatite B e C, virus HIV, <i>Rickettsia conorii</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Brucella abortus</i> , <i>Escherichia coli</i> (ceppi patogeni)
4	Malattie gravi	Serio rischio; possono propagarsi molto facilmente nelle comunità	Normalmente non disponibili	Virus delle febbri emorragiche

entrata non passa dal filtro.

- II. Di 2° classe, protegge anche il prodotto al suo interno. Classe 2° di tipo A con il 70% di riciclo dell'aria e di tipo B con il 30% dentro e il 70% espulso all'esterno. Possono essere utilizzate per agenti di tipo 2 o 3 (A), maggior quantità di sostanze tossiche (B).
- III. Cappe biologiche di tipo 3°: sono sigillate, con pressione negativa, hanno quindi due filtri EPA. Accesso grazie dei guanti di gomma che permettono una protezione assoluta dell'operatore e dell'ambiente (non viene espulso fuori niente), manipolo agenti biologici di tipo 4 ma presenta scomodità. Non vanno manipolati gas infiammabili.
3. Cappe biologiche: le cappe di sicurezza biologica agiscono come barriere per minimizzare il rischio di infezioni per via aerea, impedendo la fuoriuscita di questi aerosol nell'ambiente di laboratorio e la loro inalazione da parte dell'operatore. --> (queste perché la maggior parte delle attività di laboratorio possono generare aerosol pericolosi che sono fonte di infezioni. A tale scopo le cappe sono utilizzate per svolgere queste attività e limitare la formazione e la dispersione di questi aerosol).

Buon utilizzo delle cappe:

- Lavoro con UV spenti (le cappe presentano delle lampade che possono essere accese per sterilizzare l'ambiente, ma vanno sempre spenti)
- Vanno accese 15 minuti prima dell'utilizzo
- Spente 5 minuti dopo, affinché si crei un ambiente sterile.
- Bisogna lavorare in fondo al piano di lavoro, non vicino all'operatore (ovvero all'uscita della cappa)
- Devo pulire e decontaminare = devo pulirne la superficie, con trattamenti con alcol al 70% e poi con l'accensione dei raggi UV oppure con ipoclorito di sodio seguito con lavaggio con acqua distillata sterile. Una pulizia più accurata deve avvenire non meno di una volta al mese.
- Nei laboratori con cappa, vanno limitate le altre attività.

PROCEDURE da attuare nel laboratorio di microbiologia considerando che tutti i campioni che arrivano sono potenzialmente patogeni (possono contenere microrganismi patogeni).

Quindi, uso provette con tappo anti spruzzo (nella fase di apertura non si deve avere fuoriuscita di materiale), uso pipettatori automatici e uso le centrifughe di sicurezza (ho l'accortezza di estrarre il materiale dopo che la centrifuga si è fermata. In caso una provetta si rompesse, devo aspettare almeno 30 minuti e poi procedere a una accurata pulizia dei rotatori). Evito il più possibile la vetreria, preferendo materiale monouso in poliestere.

In MICROBIOLOGIA (Altre norme):

- Lavorare mantenendo la sterilità
- Non contaminare
- Seguire le procedure in caso di sversamenti