

UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PAVIA



# agenti biologici

sicurezza  
nei laboratori

A.A. 2008/09 - II edizione

Area Ambiente e Sicurezza  
via S. Epifanio 12, Pavia - Italia  
fisanit@unipv.it

## DEFINIZIONI

**Agente biologico:** qualsiasi microrganismo anche se geneticamente modificato, coltura cellulare ed endoparassita umano capace di provocare infezioni, allergie o intossicazioni. Quindi batteri, funghi, parassiti e virus.

**Microrganismo:** qualsiasi entità microbiologica, cellulare o meno, in grado di riprodursi o trasferire materiale genetico.

**Coltura cellulare:** risultato della crescita in vitro di cellule derivate da organismi pluricellulari.

**Microrganismo geneticamente modificato (MOGM):** microrganismo il cui materiale genetico è stato modificato in modo che non avviene in natura mediante incrocio e/o ricombinazione naturale.

**Livelli di contenimento / biosicurezza:** insieme di caratteristiche strutturali, presenza di apparecchiature e procedure che consentono di manipolare gli agenti biologici in condizioni di sicurezza per l'operatore e per l'ambiente.

Gruppo di rischio	Caratteristiche	Livello di contenimento	Esempi
1	agente che <i>difficilmente</i> è causa di malattia nell'uomo	buona pratica di laboratorio microbiologico	
2	agente che <i>può causare</i> malattie nell'uomo e costituire <i>rischio</i> per i lavoratori; è <i>poco probabile</i> che si <i>propaghi</i> alla comunità; sono disponibili terapia e profilassi	secondo	<i>H. Pylori, Cytomegalovirus, Herpes simplex virus</i>
3	agente che <i>può causare gravi</i> malattie nell'uomo e costituire un <i>serio rischio</i> per i lavoratori; <i>può propagarsi</i> alla comunità; sono disponibili terapia e profilassi	terzo	<i>BSE, Salmonella typhi, Virus epatite B, Virus dell'AIDS, M. Tuberculosis</i>
4	agente che <i>può causare gravi</i> malattie nell'uomo e costituire un <i>serio rischio</i> per i lavoratori; <i>può presentare un elevato rischio di propagazione</i> alla comunità; <i>non sono disponibili</i> di norma efficaci misure di terapia e profilassi	quarto	<i>Virus Ebola, Virus della febbre emorragica di Crimea/Congo</i>

### Impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati (MOGM)

Classe di rischio	
1	Impieghi confinati che presentano rischi nulli o trascurabili, ovvero operazioni per le quali il livello 1 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente.
2	Impieghi confinati a basso rischio, ovvero operazioni per le quali un livello 2 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente.
3	Impieghi confinati che presentano un rischio moderato, ovvero operazioni per le quali un livello 3 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente.
4	Impieghi confinati ad alto rischio, ovvero operazioni per le quali un livello 4 di contenimento è adeguato a proteggere la salute umana e l'ambiente.

## LAVAGGIO DELLE MANI

È obbligatorio lavarsi le mani:

- ◆ in caso di contatto accidentale con liquidi o materiali biologici;
- ◆ dopo essersi tolti i guanti di lavoro;
- ◆ prima di portare qualcosa alla bocca, toccare oggetti personali, truccarsi, mettere lenti a contatto;
- ◆ dopo l'utilizzo dei servizi igienici;
- ◆ alla fine del lavoro;
- ◆ tra un paziente e l'altro.

Corretta procedura di lavaggio

- ◆ togliere se presenti bracciali, anelli, orologio ecc.;
- ◆ insaponare le mani accuratamente (dita, palme, dorso, polsi, unghie) per almeno 30 secondi;
- ◆ sciacquare in modo completo con acqua corrente;
- ◆ asciugare le mani con carta a perdere;
- ◆ chiudere i rubinetti con la carta a perdere se non sono presenti i dispositivi di azionamento a gomito, a pedale o a fotocellula.

Non usare saponi in pezzi

Non usare asciugamani in tessuto o comunque di uso promiscuo

Non portare durante il lavoro, anelli, braccialetti, orologi.

Per prevenire problemi irritativi, secchezza, screpolature:

- ◆ Usare quantità appropriate di saponi e antisettici.
- ◆ Aver cura di sciacquare completamente le mani.
- ◆ Alternare gli antisettici disponibili.
- ◆ A fine giornata lavorativa usare creme protettive (emollienti).

## RIFERIMENTI UTILI

- ◆ Soccorso pubblico di emergenza tel. 113
- ◆ Emergenza sanitaria tel. 118
- ◆ Vigili del fuoco tel. 115
- ◆ Centro antiveleni - Fondazione S. Maugeri, PV tel. 0382 24444

In caso di incidente/infortunio con possibile contaminazione personale avvisare immediatamente e sempre il responsabile di laboratorio per avviare la corretta protezione.

## PRECAUZIONI GENERALI

Per la manipolazione di campioni/materiale biologico infetto o potenzialmente infetto

- ◆ Trattare tutti i campioni biologici come potenzialmente pericolosi ed applicare le precauzioni universali.
- ◆ Mantenere pulito ed in ordine il laboratorio e non introdurre sostanze ed oggetti estranei alle attività di lavoro. Alla fine del lavoro decontaminare i piani dei banchi con un disinfettante di riconosciuta efficacia; è consigliabile effettuare la rotazione periodica dei disinfettanti (tabella 2).
- ◆ Nel laboratorio osservare il divieto di fumare, di conservare ed assumere cibi e bevande, non portare oggetti alla bocca. Non applicarsi cosmetici e lenti a contatto.
- ◆ Rispettare le elementari norme igieniche come lavarsi le mani dopo ogni procedura, sempre alla fine del lavoro e prima di lasciare il laboratorio. Le mani devono essere lavate immediatamente in caso di rottura dei guanti.
- ◆ Esporre il segnale di rischio biologico sulle porte dei laboratori dove si utilizzano agenti biologici di gruppo 2, 3 e 4. Segnalare in ugual modo termostati, frigoriferi, apparecchi, contenitori per rifiuti ecc. utilizzati per materiale biologico infetto o potenzialmente tale.
- ◆ È vietato l'uso di pipette a bocca: utilizzare sistemi di tipo meccanico (pipettatrici automatiche).
- ◆ Indossare sempre il camice, i guanti, e quando è ipotizzabile la formazione di schizzi o aerosol, indossare mascherine e occhiali di protezione. Togliere gli indumenti protettivi quando si lascia il laboratorio. Indossando i guanti non toccare oggetti di uso comune come telefoni, PC, fotocopiatrici ecc.
- ◆ Eseguire le manipolazioni di materiali potenzialmente infetti in modo da minimizzare la formazione di aerosol. Aprire con cautela le fiale di materiale liofilizzato o congelato.
- ◆ Ridurre l'uso di aghi e di oggetti taglienti ed evitare assolutamente di rimettere i cappucci degli aghi dopo l'uso; eliminare in contenitori resistenti alla puntura posti in prossimità dell'area di lavoro.
- ◆ Utilizzare appropriate cappe di sicurezza biologica per le manipolazioni di agenti biologici, sempre e per tutte le operazioni nel caso di agenti di gruppo 3 e 4.
- ◆ Conservare i campioni biologici in contenitori a tenuta stagna; dopo la chiusura ermetica non devono rimanere all'esterno tracce del contenuto; etichettare in modo che sia sempre possibile riconoscerne il contenuto.
- ◆ In caso di versamento di materiale biologico potenzialmente infetto coprire la superficie con un panno o carta assorbente imbevuto di disinfettante ed aspettare che eserciti la sua azione quindi, pulire usando le opportune precauzioni e riapplicare il disinfettante. Informare sempre il responsabile di laboratorio dell'incidente.
- ◆ Disinfettare gli apparecchi di laboratorio prima di qualsiasi intervento di manutenzione o riparazione.

- ◆ Disinfettare ed eliminare in modo corretto i rifiuti infetti, solidi e liquidi, e in modo che non possano presentare rischio per il personale addetto. Nessun tipo di rifiuto se non di accertata innocuità chimica, infettivologica e ambientale può essere eliminato nei rifiuti normali.
- ◆ Separare sempre i contenitori dei campioni da analizzare dalla documentazione di accompagnamento (richieste del tipo di esame, elenchi, ecc.).
- ◆ Considerare sempre i rischi collaterali dovuti alla presenza di sostanze chimiche, gas compressi, apparecchi, UV, radioattivi, ecc..

### ... nei prelievi di sangue

- ◆ Adibire al prelievo personale preparato; il personale in addestramento deve essere costantemente affiancato da personale esperto.
- ◆ Usare guanti monouso in lattice anallergico o simili da eliminare subito dopo il prelievo.
- ◆ Utilizzare dispositivi che consentano di effettuare prelievi sottovuoto, senza siringa; tendere il tubicino del "butterfly" per evitare l'arroccamento dopo l'uso.
- ◆ Rimosso l'ago dalla siringa, non manipolarlo, nè reincappuciarlo; eliminarlo nel contenitore per aghi e taglienti.
- ◆ Trasportare i campioni di sangue e di materiali biologici in contenitori ermetici opportunamente etichettati atti ad evitare rovesciamenti e perdite.

### ... utilizzo animali da esperimento

Gli animali da esperimento, anche se non trattati/inoculati con agenti biologici, possono essere portatori asintomatici di malattie trasmissibili all'uomo (zoonosi). Usare le seguenti precauzioni:

- ◆ Acquistare animali da allevatori o fornitori fidati che rilascino certificazioni sanitarie.
- ◆ Adibire alla cura, trattamento degli animali ed alle tecniche chirurgiche solo personale addestrato.
- ◆ Conoscere il comportamento animale e riconoscere segni di aggressività, stress, malattia è importante.
- ◆ Manipolare gli animali, a seconda della specie, con tecniche idonee, con sicurezza e decisione.
- ◆ Utilizzare i mezzi di costrizione (collari, pinze, musero) ed i dispositivi di protezione individuali (guanti, occhiali, guantoni, stivali).
- ◆ Effettuare la pulizia delle gabbie e la eliminazione delle lettiere evitando di sollevare polvere.

## PULIZIA, DISINFEZIONE E STERILIZZAZIONE

### Disinfezione:

drastica riduzione dei microrganismi da ambienti, oggetti, superfici e parti del corpo.

### Sterilizzazione:

distruzione completa, con agenti chimici o fisici, di tutti i microrganismi (patogeni e non patogeni) comprese le spore batteriche più resistenti, presenti su oggetti inanimati.

Verificare sempre l'avvenuta sterilizzazione del materiale impiegando indicatori chimici o biologici di sterilizzazione.

### Attenersi alle indicazioni del fabbricante, consultare sempre la scheda di sicurezza dei prodotti impiegati

Tabella 1 - Disinfettanti per la cute

COMPOSTO	IMPIEGHI e AVVERTENZE
Alcool etilico, etanolo 70%	Antisepsi della cute integra, mantenere sulle mani lavate per almeno 2 minuti, non usare sulle ferite. Causa secchezza ed irritazione della cute. Associato ad altri principi attivi (clorexidina, iodio e derivati, sali di ammonio quaternario) aumenta l'efficacia. Composto volatile ed infiammabile
Cloroderivati: clorossidante elettrolitico 5%	Ampio spettro d'azione, antisepsi di ferite superficiali, ustioni. Inattivato dalla presenza di sostanze organiche. Soluzioni concentrate possono essere irritanti e tossiche
Clorexidina al 4%	Può essere associata ad alcool etilico 70% e cetrimide. Antisepsi di ferite, ustioni, lavaggio antisettico delle mani. Evitare il contatto con gli occhi e le orecchie. Alle concentrazioni normalmente impiegate non presenta effetti indesiderati
Iodio e iodofori	Le soluzioni a base di iodio e gli iodofori sono potenzialmente irritanti per la cute. A basse concentrazioni in soluzione acquosa sono indicati per le piccole ferite, in base detergente per il lavaggio antisettico delle mani

Tabella 2 - Disinfettanti per apparecchi, oggetti e superfici inanimate

COMPOSIZIONE	IMPIEGHI e AVVERTENZE
Glutaraldeide 2% attivata	Presenta attività disinfettante di alto livello. È impiegata come agente chimico sterilizzante a freddo. Attiva in presenza di sostanze organiche, non corrode i metalli. Indicata per plastica, gomma, materiale da laboratorio, lenti e fibre ottiche. Non usare su superfici e piani di lavoro. Prodotto tossico, evitare l'esposizione della cute e delle mucose a vapori e soluzioni. Indossare guanti e occhiali protettivi
Derivati fenolici	Disinfezione di pavimenti, superfici, arredi, oggetti. Stabile in presenza di materiale organico. Sono assorbiti da plastica, gomma, silicone da cui si rimuove con difficoltà. Irritanti della cute e delle mucose, usare guanti e occhiali protettivi
Cloroderivati: clorammina T, ipoclorito di sodio (candeggina)	Disinfettanti di alto livello per oggetti, superfici contaminate, sporche di sangue o materiale organico; in questi casi, sono consigliate concentrazioni di 5000-10000 ppm. Danneggiano i metalli. Non usare in presenza di acidi. Prodotti tossici, usare guanti e occhiali protettivi

## CAPPE DI SICUREZZA BIOLOGICA (CBS)

### Corretto uso

- Accertarsi che sia idonea al campione da trattare, alle operazioni da effettuare e sia perfettamente funzionante.
- Accendere il flusso laminare e lasciarlo in funzione almeno 15' prima di iniziare a lavorare.
- Ridurre al minimo indispensabile il materiale sul piano di lavoro per evitare la diminuzione del passaggio di aria sotto il piano stesso.
- Evitare di introdurre nuovo materiale sotto cappa dopo aver iniziato il lavoro, perciò pianificare le operazioni; evitare movimenti bruschi degli avambracci all'interno della cappa; evitare l'utilizzo dei beccchi Bunsen. Sono tutte possibili cause di alterazione del flusso laminare.
- Eseguire tutte le operazioni nel mezzo o verso il fondo del piano di lavoro.
- Tutto il materiale potenzialmente infetto o contaminato deve essere estratto dalla cappa messo in contenitori chiusi, a tenuta e puliti all'esterno.
- Lasciare la cappa in funzione per circa 15' dopo la fine del lavoro.
- Effettuare la pulizia e disinfezione della cappa ogni volta che si termina il lavoro togliendo eventualmente anche il piano forellinato.

CLASSE	% aria in ricircolo	CARATTERISTICHE PRINCIPALI	IMPIEGHI	PROTEZIONE		
				operatore	ambiente	campione
I	=	Contenimento dato dall'aria esterna richiamata dall'apertura frontale. Filtro HEPA sull'aria in uscita nell'ambiente.	basso rischio; microrganismi di gruppo 1-2	buona	ottima	scarsa
II A	70	Flusso laminare verticale nell'area di lavoro. Apertura frontale che permette l'ingresso dell'aria. Filtri HEPA sull'aria in ingresso ed in uscita nell'ambiente. In base al tipo di campione biologico in presenza di sostanze mutagene o cancerogene o radioattive l'aria espulsa deve essere convogliata all'esterno dell'edificio.	medio rischio; microrganismi di gruppo 2-3	buona	ottima	ottima
II B1	30					
II B2	0					
III glove box	=	Chiusura a tenuta di gas, funzionano in pressione negativa, accesso consentito da guanti. Filtro HEPA in ingresso, doppio filtro HEPA in uscita.	alto rischio; microrganismi di gruppo 4	ottima	ottima	buona

## DISPOSITIVI DI PROTEZIONE INDIVIDUALI (DPI)

Qualsiasi attrezzatura destinata ad essere indossata e tenuta dal lavoratore allo scopo di proteggerlo contro uno o più rischi presenti nell'attività lavorativa, suscettibili di minacciarne la sicurezza o la salute durante il lavoro, nonché ogni complemento o accessorio destinato a tale scopo.

Devono essere prescritti solo quando non sia possibile attuare altre misure di prevenzione dei rischi (riduzione dei rischi alla fonte, sostituzione di agenti pericolosi con altri meno pericolosi, utilizzo limitato degli stessi), adottare mezzi di protezione collettiva, metodi o procedimenti di riorganizzazione del lavoro. Il lavoratore è obbligato a utilizzare correttamente tali dispositivi, ad averne cura e a non apportarvi modifiche, segnalando difetti o inconvenienti specifici.

Dotazione minima nei laboratori (da adottare a seconda delle esigenze specifiche):

1. camici a manica lunga meglio con polsino aderente;
2. occhiali: a stanghetta con ripari laterali, per protezione chimica, per raggi UV, per raggi laser;
3. visiera o schermo facciale per la protezione da schizzi e aerosol;
4. maschere protettive: per polveri, a carboni attivi, filtranti facciali;
5. guanti: monouso di materiale compatibile con le sostanze manipolate e di materiale anallergico.

## SEGNALETICA DI SICUREZZA

La segnaletica di sicurezza ha colore e codice specifici.

