

# Criteria ed indirizzi per la tutela della salute e sicurezza in tema di valutazione del Rischio Biologico nelle attività istituzionali delle Agenzie per la Protezione dell'Ambiente



# **Criteria ed indirizzi per la tutela della salute e sicurezza in tema di valutazione del Rischio Biologico nelle attività istituzionali delle Agenzie per la Protezione dell'Ambiente**

---

---

Il Consiglio Federale, istituito presso l'ISPRA con il compito di promuovere lo sviluppo coordinato del Sistema Agenziale (ISPRA/ARPA/APPA) nonché per garantire omogeneità nello svolgimento dei compiti istituzionali delle agenzie e di ISPRA stessa, ha deciso con la Delibera del 29 maggio 2012, di contraddistinguere i prodotti editoriali e le iniziative frutto delle attività congiunte a carattere nazionale dell'ISPRA e delle Agenzie ambientali, con la denominazione *Sistema Nazionale per la Protezione dell'Ambiente* e un nuovo logo rappresentativo.

L'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), le Agenzie Regionali per la Protezione dell'Ambiente (ARPA), le Agenzie Provinciali per la Protezione dell'Ambiente (APPA) e le persone che agiscono per loro conto non sono responsabili per l'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questo manuale.

**ISPRA** - Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale

Via Vitaliano Brancati, 48 – 00144 Roma

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

ISPRA, Manuali e Linee Guida 93/2013

ISBN 978-88-448-0624-8

Riproduzione autorizzata citando la fonte

### **Elaborazione grafica**

ISPRA

*Grafica di copertina: Franco Iozzoli*

### **Coordinamento editoriale:**

Daria Mazzella

**ISPRA** – Settore Editoria

Ornella Notargiacomo

**ISPRA** – Dipartimento AMB

1<sup>a</sup> Edizione

Luglio 2013

---

## **Autori**

### **ARPA FVG (Agenzia leader)**

Franco Spazzapan

### **ARPA Lazio**

Claudio Sciarrini

### **ARPA Liguria**

Massimiliano Albertazzi

Daniela Viglione

Elio Zunino

### **ARPA Marche**

Floriana Scuriatti

### **ARPA Piemonte**

Pino Acquafresca

Maura Fenoglietto

Maria Vittoria Stefanetti

### **ARPA Toscana**

Stefano Gini

### **INAIL (Direzione Regionale Liguria)**

Daniela Sarto

## **Ringraziamenti**

Per la concessione di utilizzare le immagini si ringraziano:

Il gruppo Erlab Francia <http://www.erlab.com/>

Rocco Mussat Sartor, PhD - Università degli Studi di Torino Dipartimento di Biologia Animale e dell'Uomo

- Laboratorio di Zoologia e Biologia Marina - <http://www.atlantezoolinv.unito.it/page.asp> -

rocco.mussat@unito.it

[www.pelagosphera.com](http://www.pelagosphera.com)

Il CDC di Atlanta Stati Uniti [http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Para\\_Health.htm](http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/Para_Health.htm)

---

## PREFAZIONE

Questa pubblicazione denominata “Criteri ed indirizzi per la tutela della salute e sicurezza in tema di valutazione del rischio biologico nelle attività istituzionali delle Agenzie per la Protezione dell’Ambiente”, rappresenta il risultato di una estesa fase di studio svolta dal Centro Interagenziale Igiene e Sicurezza e contribuisce a rendere ulteriormente attuale e performante l’obiettivo del Sistema Agenziale nell’affrontare le difficili sfide che gli addetti alla sicurezza si trovano ad affrontare nella loro attività.

E’ uno studio particolarmente complesso che, partendo dalla struttura, dall’esposizione e dalla classificazione degli agenti biologici, affronta la valutazione del rischio attraverso uno speciale algoritmo messo a punto dal tavolo tecnico.

Il lavoro è particolarmente apprezzabile per la completezza della trattazione, fornisce, infatti, una robusta base teorica utile a chi non conosce l’argomento, ma anche a chi desidera approfondirne la conoscenza. Non manca di esaminare nel dettaglio le situazioni di rischio che gli operatori delle agenzie incontrano durante l’attività lavorativa sul territorio e in laboratorio. Fornisce, infine, gli strumenti operativi necessari a chi deve esprimere un giudizio sull’entità del rischio e individuarne le relative contromisure per la tutela della salute umana e nel rispetto delle norme di sicurezza del lavoro.

Le indicazioni riportate, come tutti i prodotti del Centro Interagenziale, si inseriscono in un contesto normativo comunque in costante evoluzione e costituiscono solo un riferimento utile alle figure della sicurezza e di coloro che hanno una precisa responsabilità, ai sensi della normativa vigente. Esse devono essere adattate alla specifica realtà aziendale prescindendo, quindi, dal considerare la pubblicazione come insieme di indicazioni attuabili ad ogni fattispecie o vincolanti.

A tutti coloro che hanno collaborato a qualsiasi titolo alla realizzazione di questo prodotto editoriale va il nostro personale ringraziamento.

Maurizio Miccinilli<sup>1</sup>

Fabio Cianflone<sup>2</sup>

---

<sup>1</sup> ISPRA – già Responsabile del Centro Interagenziale Igiene e Sicurezza

<sup>2</sup> ISPRA – Responsabile del Centro Interagenziale Igiene e Sicurezza

---

## INDICE

|   |            |
|---|------------|
| <b>1. PREMESSA .....</b>  | <b>7</b>   |
| <b>2. ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI .....</b>   | <b>8</b>   |
| 2.1. Ambienti di lavoro.....  | 8          |
| 2.2. Definizione di agente biologico.....   | 9          |
| 2.3. Agenti Biologici interessati dalla valutazione dei rischi.....                               | 10         |
| 2.4. Trasmissioni degli agenti biologici.....   | 10         |
| 2.4.1. <i>Le sorgenti ed i serbatoi degli agenti biologici</i> .....                              | 12         |
| 2.4.2. <i>Caratteristiche biologiche dell'agente biologico</i> .....                              | 15         |
| 2.4.3. <i>Vie di eliminazione degli agenti biologici</i> .....                                    | 16         |
| 2.4.4. <i>Vie di contagio o di penetrazione degli agenti biologici</i> .....                      | 19         |
| 2.4.5. <i>Modalità di trasmissione degli agenti biologici</i> .....                               | 20         |
| 2.4.6. <i>Condizioni dell'ospite che favoriscono la penetrazione degli agenti biologici</i> ..... | 26         |
| 2.4.7. <i>Condizioni dell'ospite che peggiorano gli effetti degli AB</i> .....                    | 28         |
| <b>3. STRUTTURA DEGLI AGENTI BIOLOGICI .....</b>  | <b>30</b>  |
| 3.1. Agenti biologici costituiti da cellule eucariote .....                                       | 30         |
| 3.1.1. <i>Agenti biologici costituiti da cellule eucariote</i> .....                              | 34         |
| 3.2. Agenti costituiti da cellule procariote.....   | 50         |
| 3.2.1. <i>La struttura della cellula procariota</i> .....   | 50         |
| 3.2.2. <i>Gli agenti biologici costituiti da cellule procariote</i> .....                         | 58         |
| 3.2.3. <i>Processi patogeni esercitati dai batteri</i> .....                                      | 61         |
| 3.3. Agenti biologici non cellulari: i virus .....  | 64         |
| 3.3.1. <i>Classificazione dei virus</i> .....   | 70         |
| 3.3.2. <i>Processi patogeni esercitati dai virus</i> .....  | 70         |
| 3.3.3. <i>I Batteriofagi</i> .....  | 73         |
| 3.4. Allergeni .....  | 75         |
| <b>4. IL SISTEMA IMMUNITARIO .....</b>  | <b>76</b>  |
| 4.1. Anatomia del sistema immunitario .....   | 76         |
| 4.2. Meccanismi di difesa del sistema immunitario.....  | 89         |
| 4.2.1. <i>Immunità aspecifica naturale o congenita</i> .....                                      | 90         |
| 4.2.2. <i>Immunità specifica acquisita</i> .....  | 91         |
| 4.3. Reazioni immunitarie da ipersensibilità .....  | 92         |
| 4.3.1. <i>Reazioni d'ipersensibilità immediata e le allergie</i> .....                            | 93         |
| <b>5. LA CLASSIFICAZIONE DEGLI AGENTI BIOLOGICI.....</b>  | <b>95</b>  |
| <b>6. LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO NEL D.Lgs. 81/08.....</b>  | <b>96</b>  |
| 6.1. Concetto di rischio.....   | 96         |
| 6.2. Valutazione dei rischi: errori più frequenti.....  | 97         |
| <b>7. LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO DA ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI.....</b>                      | <b>99</b>  |
| 7.1. Elementi e difficoltà peculiari della valutazione del rischio biologico.....                 | 99         |
| 7.2. Attività in presenza ed attività con uso di agenti biologici .....                           | 100        |
| 7.2.1. <i>Condizioni di lavoro "in presenza" di AB</i> .....                                      | 100        |
| 7.2.2. <i>Condizioni di lavoro con "uso" di AB</i> .....  | 100        |
| <b>8. ALGORITMI PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO DA ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI.....</b>        | <b>101</b> |
| 8.1. L'algoritmo per la valutazione del rischio biologico .....                                   | 101        |
| 8.2. Danno (D).....   | 102        |
| 8.2.1. <i>Uso deliberato di AB</i> .....  | 102        |
| 8.2.2. <i>Esposizione potenziale</i> .....  | 103        |
| 8.3. Probabilità (P).....   | 104        |
| 8.3.1. <i>C: Grado di contaminazione presuntiva delle sostanze utilizzate.</i> .....              | 104        |

|   |            |
|---|------------|
| 8.3.2. Coefficienti <i>Fi</i> : quantità e frequenza delle manipolazioni dei campioni, caratteristiche ambientali procedure adottate (buone pratiche), utilizzo di DPI, formazione..... | 105        |
| 8.4. Algoritmo per la valutazione del rischio biologico in laboratorio.....   | 112        |
| 8.4.1. <i>Uso deliberato</i> .....  | 112        |
| 8.4.2. <i>Esposizione potenziale</i> .....  | 112        |
| 8.5. Algoritmo per la valutazione del rischio biologico per le attività sul territorio.....   | 113        |
| <b>9. DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ CON RISCHIO BIOLOGICO DELLE AGENZIE .....</b>  | <b>115</b> |
| 9.1. Attività di prelievo, monitoraggio e sopralluogo sul territorio.....   | 115        |
| 9.2. Laboratorio: attività in ambito chimico, fisico e microbiologico.....  | 118        |
| 9.2.1. <i>Presenza di AB</i> .....  | 118        |
| 9.2.2. <i>Uso deliberato di AB</i> .....  | 118        |
| <b>10. LA PREVENZIONE E PROTEZIONE DAGLI AGENTI BIOLOGICI.....</b>  | <b>121</b> |
| 10.1. Interventi preventivi e protettivi sulle sorgenti.....  | 122        |
| 10.2. Interventi preventivi e protettivi sui serbatoi.....  | 124        |
| 10.2.1. <i>Mezzi fisici</i> .....   | 125        |
| 10.2.2. <i>Mezzi chimici</i> .....  | 129        |
| 10.2.3. <i>Mezzi fisico-chimici</i> .....   | 131        |
| 10.3. Interventi preventivi e protettivi nei confronti dei vettori.....   | 131        |
| 10.3.1. <i>Vettori animati</i> .....  | 131        |
| 10.3.2. <i>Vettori inanimati</i> .....  | 135        |
| 10.4. Adozione di barriere collettive ed individuali.....   | 135        |
| 10.4.1. <i>Dispositivi di Protezione Collettiva (DPC)</i> .....   | 135        |
| 10.4.2. <i>Dispositivi di Protezione Individuale (DPI)</i> .....  | 137        |
| <b>11. AGENTI BIOLOGICI NEGLI AMBIENTI DI LAVORO: MONITORAGGIO MICROBIOLOGICO.....</b>  | <b>140</b> |
| 11.1. Piano di monitoraggio.....  | 140        |
| 11.2. Monitoraggio dell'aria indoor.....  | 140        |
| 11.2.1. <i>Modalità di campionamento e analisi</i> .....  | 141        |
| 11.2.2. <i>Metodi di prova</i> .....  | 142        |
| 11.2.3. <i>Espressione ed interpretazione dei risultati</i> .....   | 142        |
| 11.2.4. <i>Frequenza del monitoraggio</i> .....   | 145        |
| 11.3. Monitoraggio delle superfici.....   | 145        |
| 11.3.1. <i>Modalità di campionamento</i> .....  | 146        |
| 11.3.2. <i>Metodi di prova</i> .....  | 146        |
| 11.3.3. <i>Valori accettabili</i> .....   | 146        |
| 11.3.4. <i>Frequenza del monitoraggio delle superfici</i> .....   | 146        |
| 11.4. Monitoraggio impianti idrici e di condizionamento per Legionella.....   | 147        |
| 11.4.1. <i>Modalità di campionamento e valori accettabili</i> .....   | 147        |
| 11.4.2. <i>Metodi di prova nella matrice acqua e aria ambiente per la ricerca della Legionella</i> .....  | 147        |
| 11.4.3. <i>Frequenza del monitoraggio</i> .....   | 148        |
| 11.5. Monitoraggio ambientale per le attività territoriali svolte dalle Agenzie.....  | 148        |
| <b>12. GLOSSARIO DEI TERMINI.....</b>   | <b>149</b> |
| <b>13. FONTI BIBLIOGRAFICHE.....</b>  | <b>165</b> |

---

## 1. PREMESSA

La predisposizione del Documento di Valutazione dei Rischi (DVR), da parte del Datore di Lavoro, è uno degli elementi di grande rilevanza sin dalla pubblicazione del D.Lgs. 626/1994 e non ha perduto nel tempo questa valenza che puntualmente è stata riconfermata dal D.Lgs. 9 aprile 2008 n. 81 e dalle successive modifiche, intervenute con la pubblicazione del decreto correttivo del 3 agosto 2009 n. 106.

Esso costituisce l'inizio di quella strategia strutturata dell'analisi dei rischi a cui sono sottoposti gli operatori durante l'attività lavorativa e comprende tre elementi fondamentali:

- la valutazione,
- la gestione,
- la comunicazione del rischio.

La valutazione dei rischi connessi all'attività di lavoro è il primo e per questo anche il più importante dovere del Datore di Lavoro.

Gli esiti conseguiti condizionano lo svolgimento e la correttezza dei successivi compiti fra i quali gestire i rischi e comunicarli agli operatori esposti.

Questo impegno che il Datore di Lavoro è obbligato ad assolvere, supportato dal RSPP, deve essere condotto fino alla stesura finale del documento, con perizia che deriva principalmente dalla conoscenza e poi dall'esperienza.

Gli innumerevoli elementi e parametri fisici, chimici e psicologici che rappresentano i pericoli delle attività lavorative devono essere di volta in volta apprezzati e ponderati per redigere poi il DVR.

L'individuazione dei pericoli e la successiva quantificazione creano, spesso, dubbi ed incertezze in chi deve stendere il documento.

Lo scopo del documento sui criteri ed indirizzi, è sempre stato quello di fungere da ausilio necessario per indirizzare e condurre il valutatore ad un giusto percorso per indagare, riconoscere e pesare correttamente i rischi derivanti da un particolare pericolo collegato all'attività svolta.

Nella convinzione che valutare il rischio biologico rappresenti ancora un problema per i Servizi di Prevenzione e Protezione in generale e per quelli delle ARPA / APPA in particolare, è stato istituito, all'interno del Centro interagenziale Salute e Sicurezza, un Tavolo di Lavoro Interagenziale, al quale ha partecipato la Direzione Regionale della Liguria dell'INAIL, con lo scopo di definire criteri ed indirizzi per la valutazione del rischio biologico.

Per rischio biologico si intende: *“quella situazione che pone uno o più operatori nelle condizioni di poter contrarre un'infezione e/o un'infestazione e/o subire i sintomi provocati da tossine o molecole capaci di provocare una reazione allergica ovvero una risposta immunologica tale da provocare modificazioni fisiologiche nel soggetto sensibile.*

Considerate le attività delle Agenzie per la Protezione dell'Ambiente ove gli operatori sono o possono essere esposti ad agenti biologici (AB), appare immediatamente chiaro che determinare il livello del rischio biologico costituisce un impegno che presuppone una conoscenza sufficientemente approfondita dell'epidemiologia, delle vie di contagio, ecc; tale valutazione risulta essere complessa poiché:

- l'AB quasi sempre è costituito da organismi o elementi microscopici non misurabili o misurabili con molta difficoltà e solo in casi limitati;
- le numerose variabili insite negli organismi biologici rendono la valutazione ancora più difficoltosa;
- esiste una variabilità secondo l'ambiente d'esposizione, e dipende dal diverso soggetto esposto;
- esiste una variabilità evidente anche all'interno di un singolo agente per la presenza dei cosiddetti “ceppi”;
- dipende fortemente dall'area geografica considerata.

Inoltre molto spesso l'AB non è unico ed in questo caso si deve tenere conto che:

- manifesta meccanismi di azione patogena differenti;
- procura danni diffusi e di entità molto differenti;
- la trasmissione si svolge in modi diffusi.

Non si deve dimenticare che il bersaglio degli AB è un organismo biologico che possiede una sua variabilità all'interno della propria specie che lo rende più o meno recettivo.

Per tutti questi motivi, la determinazione del livello di rischio prodotto dagli AB non può prescindere dalla conoscenza delle caratteristiche fisiche e fisiologiche sia dell'agente sia dell'ospite; vengono quindi riportate in questo testo informazioni, di tipo normativo e biologico, che permettono di conoscere in maniera sufficiente le proprietà degli AB.

Nel documento è stato seguito un percorso d'introduzione alla valutazione del rischio biologico considerando che gli argomenti trattati si rivolgono anche ai non esperti della materia.

Nei capitoli iniziali degli indirizzi e dei criteri di valutazione, si dà ampio spazio a tutti quegli aspetti che permettono al lettore di accostarsi alla conoscenza delle definizioni e delle caratterizzazioni che il D.Lgs. 81/08 al Titolo X attribuisce agli AB e cosa significhi esserne esposti.

---

Successivamente il lettore è introdotto alla conoscenza delle vie e dei meccanismi attraverso i quali gli AB sono trasmessi dalla fonte o dal serbatoio al soggetto recettivo.

La conoscenza, poi, delle caratteristiche biologiche degli agenti e la loro sensibilità ai fattori chimici e fisici permette di giudicare i limiti che possono essere imposti alla trasmissione di specifici agenti, dalle fonti e dai serbatoi ai soggetti recettivi.

La capacità di capire la struttura e l'organizzazione biologica degli agenti è di rilevante importanza per elaborare un documento che valuti il rischio per la salute degli operatori esposti, sia nel caso della "presenza" nel luogo di lavoro, sia durante il loro "utilizzo".

Analizzando la normativa emerge che gli agenti da considerarsi non sono solo gli organismi viventi ma anche quelli, come i virus, capaci di riprodursi dentro una cellula vivente, che non possono definirsi viventi, e quelli, sicuramente non viventi, come le molecole degli allergeni o le proteine dei prioni.

Il presente lavoro si propone di spiegare non solo la struttura ma anche i meccanismi con cui questi agenti provocano i danni all'organismo colonizzato. La descrizione dei meccanismi e delle patologie conseguenti evidenziano come non tutte le colonizzazioni, infezioni e infestazioni producono un danno equivalente, ma i danni e le conseguenze possono essere molto diverse per gravità secondo il tipo d'esposizione che subisce l'operatore.

Al capitolo 6 sono riportate le considerazioni generali per la valutazione del rischio biologico, soprattutto è espressa la necessità di adottare una modalità operativa che permetta di ottenere valutazioni più oggettive possibile.

Con questo preciso intento è stato ideato un algoritmo, riportato nel capitolo 8, in grado di assolvere il difficile compito di stabilire i livelli di rischio a cui sono esposti gli operatori attraverso l'uso di elementi che risultano facilmente reperibili dal valutatore conoscendo, l'attività svolta dagli operatori, le matrici dei campioni raccolti e analizzati, i ceppi batterici utilizzati, gli accertamenti microbiologici svolti, ecc..

Infine, il lavoro è completato con un glossario dei termini scientifici utilizzati nel testo con lo scopo di facilitare la lettura anche ai non esperti della materia che potranno trovare qui la definizione e la spiegazione dei termini tecnici propri.

## **2. ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI**

Il Titolo X del D.Lgs. 81/08 definisce il campo di applicazione: *"Le norme del presente titolo si applicano a tutte le attività lavorative nelle quali vi è rischio d'esposizione ad AB"*.

Il lavoratore che può venire a contatto con gli AB, consapevolmente o inconsapevolmente, è definito un lavoratore esposto ed il suo lavoro è un'attività con rischio d'esposizione ad AB.

La normativa distingue due situazioni nelle quali una mansione lavorativa può esporre l'operatore ad AB:

- la presenza di AB;
- l'utilizzo deliberato di AB.

Le matrici e gli ambienti di lavoro di nostro interesse con potere intrinseco di esporre gli operatori agli AB senza distinguere le due situazioni, sono riportate di seguito:

- a) Organismi biologici o parte di essi provenienti da umani o animali vivi o deceduti;
- b) Materiali vegetali o materiali non biologici, imbrattati con liquidi o altri materiali biologici;
- c) Alimenti contaminati;
- d) Ambienti contaminati con materiali biologici;
- e) Materiali di laboratorio per la ricerca microscopica e colturale di AB;
- f) Molecole e prodotti tossici ed allergenici;
- g) Acque nel territorio;
- h) Suoli.

### **2.1. Ambienti di lavoro**

Gli ambienti di lavoro ove è presente il rischio biologico potenziale sono quelli in cui i materiali utilizzati possono essere contaminati; in questo caso gli operatori possono essere esposti ad AB.

Fra gli ambienti di lavoro con maggior probabilità di un rischio biologico significativo se ne citano di seguito alcuni:

- laboratori analisi biomediche e analisi ambientali;
- industria farmaceutica e cosmetica;
- università e centri di ricerca;
- industria chimica;
- impianti industriali di sterilizzazione, disinfezione e lavaggio di materiali potenzialmente infetti;
- attività commerciali per trattamenti igienici, cosmetici e di bellezza;
- case di cura;

- scuole della prima infanzia;
- servizi mortuari e cimiteriali;
- servizi di disinfezione e disinfestazione;
- uffici pubblici con accesso e contatto con il pubblico;
- uffici e biblioteche;
- lavori negli allevamenti di animali;
- lavori agricoli;
- trattamento delle pelli animali;
- conduzione e manutenzione d'impianti di depurazione delle acque luride;
- impianti di raccolta e trattamento rifiuti urbani;
- industrie alimentari;
- industria mineraria;
- attività sul territorio non urbanizzato.

Gli AB sono presenti normalmente anche nei substrati vegetali ma non costituiscono, generalmente, un rischio per le persone; infatti AB in simbiosi o dannosi per i vegetali difficilmente sono trasmessi agli animali. Solo i vegetali raccolti e manipolati dall'essere umano o contaminati da animali possono costituire un rischio biologico, per esempio con la contaminazione da miceti, muffe, capaci di elaborare nei prodotti vegetali micotossine con effetti allergenici o anche cancerogeni (es. ceppi di *Aspergillus flavus*).

## 2.2. Definizione di agente biologico

Il comma 1 dell'articolo 267 del D.Lgs. 81/08 definisce che cosa s'intende, nel campo della prevenzione e protezione della salute nell'ambiente di lavoro, per agente biologico:

- *un microrganismo, anche modificato geneticamente;*
- *una coltura cellulare;*
- *un endoparassita (parassita interno all'ospite);*

segue poi l'elencazione dei tipi di patologie che gli AB possono provocare all'organismo umano:

- *infezioni:* invasione di un organismo da parte di AB che successivamente si moltiplicano;
- *allergie:* reazioni immunologiche eccessive, in un organismo umano, in seguito alla penetrazione di un AB, sostenute da risposte complesse per le quali sono determinanti gli anticorpi Ig E;
- *intossicazioni:* gli AB possono elaborare molecole tossiche che provocano nell'individuo alterazioni fisiologiche e/o danni cellulari;

Figura 2.1



Nello stesso articolo è precisato che per “microrganismo” si deve intendere “[...] qualsiasi entità microbiologica ...”, vale a dire soggetto biologico di microscopiche dimensioni;

“...cellulare o meno...”, in altre parole il microrganismo non deve essere necessariamente un'entità cellulare, cioè con un architettura costituita da nucleo, citoplasma eventualmente altri annessi, racchiusi da una membrana citoplasmatica, ma può avere una struttura diversa come ad esempio i virus;

“...in grado di riprodursi ...”, la moltiplicazione dell'entità microbiologica, sia essa cellulare o meno, è una condizione vincolante per definirsi un AB;

“... o trasferire materiale genetico ...”, nella riproduzione dell'entità microbiologica avviene anche la riproduzione del materiale genetico (DNA e/o RNA). La normativa ritiene sufficiente il semplice trasferimento del materiale genetico tra un organismo o entità ed un altro, come avviene tra protozoi e batteri, per soddisfare la definizione di AB.

È poi definita la coltura cellulare come “... risultato della crescita in vitro...”: il termine crescita in vitro si riferisce alla crescita di cellule in laboratorio, generalmente mono stratificate in specifici contenitori, in condizioni fisico chimiche controllate e non in organismi viventi;

“[...] di cellule derivate da organismi pluricellulari”: la norma recita in maniera precisa che le cellule che danno origine alla coltura devono provenire da organismi pluricellulari; per questo non si possono definire colture cellulari quelle provenienti da organismi unicellulari come protozoi e batteri.

Infine alcuni AB sono detti *geneticamente modificati* perché sono il risultato di azioni “artificiali” condotte in laboratorio con il fine di creare organismi con un corredo genetico modificato e quindi con caratteristiche biologiche diverse da quelle che possedevano gli organismi inizialmente.

I mutamenti che sono stati indotti nei nuovi esseri viventi sono la conseguenza delle azioni fisiche e/o chimiche applicate sulle catene polimeriche degli acidi nucleici (RNA o DNA) capaci di modificare il corredo dei geni: inserendone dei nuovi provenienti da altri acidi nucleici anche d’esseri viventi zoologicamente o botanicamente molto distanti oppure spostando (crossing over) parti o sequenze nucleotidiche dell’acido nucleico su un altro tratto della stessa catena polimerica.

Il mutamento genetico induce ad ottenere AB capaci di avviare un metabolismo differente dall’originale acquisendo la capacità di:

- utilizzare per la nutrizione e l’accrescimento principi nutritivi nuovi;
- metabolizzare sostanze inconsuete o resistere agli elementi ambientali fisici o chimici;
- produrre nuove sostanze (molecole) come risultato del cambiamento del metabolismo.

### 2.3. Agenti Biologici interessati dalla valutazione dei rischi

In seguito alle definizioni di AB contenute nel D.Lgs. 81/08, quelli che si devono considerare nella valutazione dei rischi, sono:

**Tabella 2.1 - Agenti biologici**

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| <b>Endoparassiti</b>           | mono e   |
|                                | pluricellulari   |
| <b>Funghi o miceti</b>         | Lieviti  |
|                                | Dermatofiti  |
|                                | Muffe  |
| <b>Batteri</b>                 | Gram positivi (G +)  |
|                                | Gram negativi (G -)  |
|                                | Micobatteri (alcol - acido resistenti)                                   |
| <b>Virus</b>                   | Con DNA  |
|                                | Con RNA  |
| <b>Culture linee cellulari</b> | Linee cellulari eucariote provenienti da organi e tessuti pluricellulari |
| <b>Allergeni</b>               | Molecole e prodotti naturali   |
|                                | Prodotti di sintesi  |
|                                | Singole molecole complesse   |

#### **Precisazione**

*Il decreto legislativo n. 81/08 definisce l’invasione di un organismo da parte di un AB con il termine **“Infezione”**. Oggi, effettivamente, questo termine è utilizzato per definire il contagio con qualsiasi AB; dobbiamo però osservare che la definizione più corretta è quella di riservare quest’indicazione per tutti gli agenti, ad eccezione dei parassiti sia endo che eso - parassiti (quest’ultimi non compresi in questi criteri d’indirizzo).*

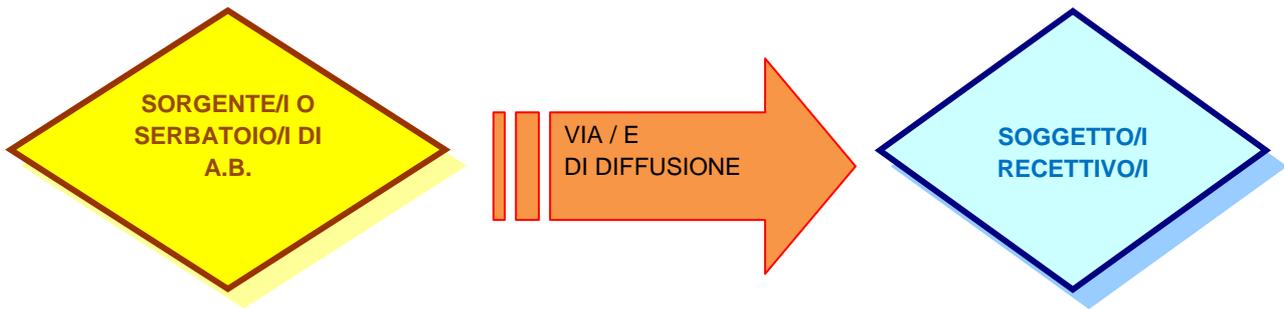
*Il contagio di un organismo da parte dei parassiti è più correttamente definito con il termine **“infestazione”**. Questa voce sarà utilizzata per distinguere le trasmissioni e le malattie da parassiti, ciò per una maggior chiarezza nella descrizione degli aspetti biologici delle trasmissioni e delle patologie.*

### 2.4. Trasmissioni degli agenti biologici

Un’infestazione o un’infezione è trasmessa e può diffondere tra gli organismi viventi se gli AB possono essere trasmessi vitali da un organismo ad un altro, conservando intatto il potere di replicazione nel soggetto recettivo. Queste sono delle condizioni imprescindibili per la diffusione degli AB.

Lo schema di base di questa diffusione è rappresentato dalla sorgente, dal serbatoio degli AB e il/i soggetto/i recettivi.

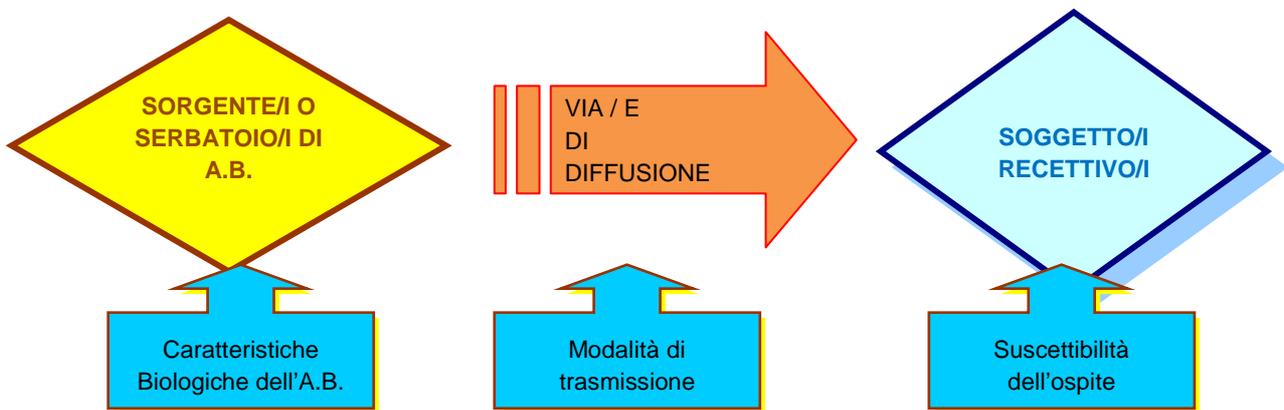
Figura 2.2 - Schema di base della trasmissione degli AB nei soggetti recettivi



In realtà la trasmissione degli AB non è un processo così lineare e semplice; esso è il risultato di una complessa interazione fra diversi fattori di cui questi sono i punti principali su cui poggia la trasmissione. La trasmissione è condizionata dalle caratteristiche di tre elementi fondamentali:

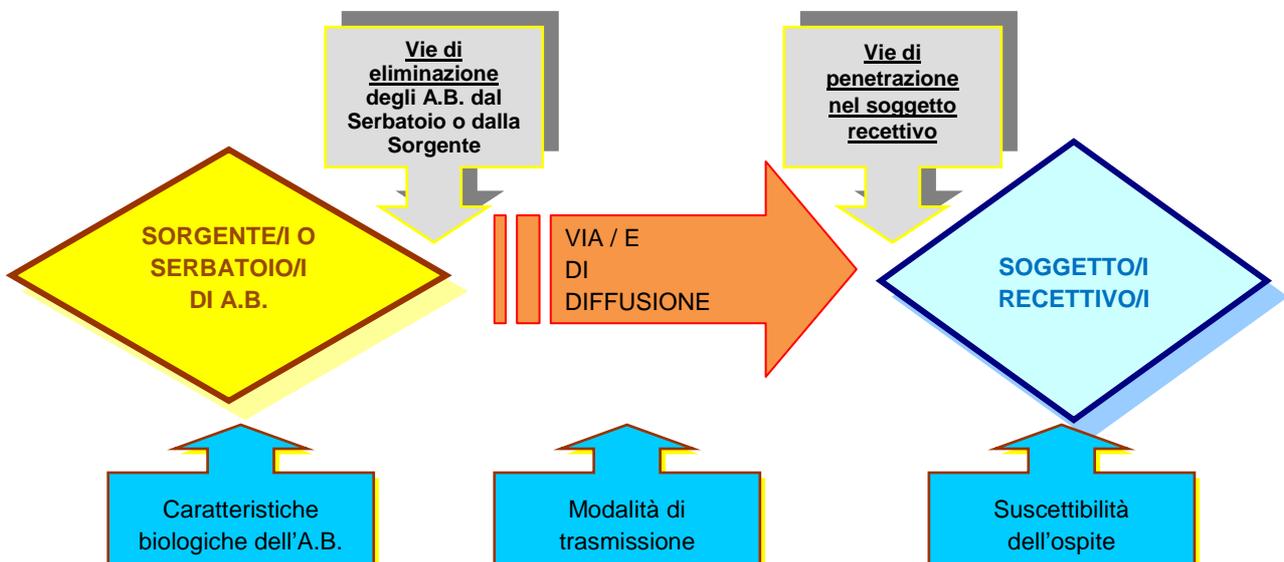
- le caratteristiche biologiche dell'agente infettante;
- la modalità di trasmissione ovvero la via di diffusione;
- la suscettibilità o meno del soggetto esposto.

Figura 2.3 - Condizionamenti nella trasmissione degli AB nei soggetti recettivi.



Un'ulteriore complicazione dello schema della rappresentazione di trasmissione delle infezioni ed infestazioni deriva senza dubbio dalle **vie di eliminazione** degli AB e dalle **vie di penetrazione** che gli agenti possono utilizzare per infiltrarsi nell'organismo del soggetto recettivo: queste sono molte e molto diverse fra loro.

Fig. 2.4 - Vie d'eliminazione e penetrazione nella trasmissione degli AB nei soggetti recettivi.



---

### 2.4.1. *Le sorgenti ed i serbatoi degli agenti biologici*

L'esistenza di sorgenti e di serbatoi d'agenti infettanti o infestanti consente e determina l'esposizione ad AB dei soggetti esposti i quali, attraverso le vie di diffusione, sono raggiunti e colonizzati; nei soggetti suscettibili, poi si manifestano i sintomi dell'infezione o dell'infestazione. Le fonti da cui inizia il percorso della trasmissione sono riconducibili a due tipologie:

- le sorgenti di AB;
- i serbatoi di AB.

I serbatoi o le sorgenti consentono all'agente biologico di vivere e/o moltiplicarsi e resistere agli insulti fisici, chimici, biologici provenienti dall'ambiente naturale o artificiale ove è ospitato, in maniera da poter essere trasmesso ancora vitale ed in numero sufficiente ad un altro ospite recettivo, che può essere infettato o infestato.

#### *Le sorgenti di agenti biologici*

Sono definite sorgenti di AB gli ospiti umani o animali da cui gli agenti sono trasmessi ad altri soggetti recettivi appartenenti alla stessa specie o a specie diverse.

Le sorgenti sono rappresentate da **malati, convalescenti e portatori**.

Il soggetto è un malato nel quale vive e si riproduce uno (o più) specifico AB e attraverso la/e sua/e azione/i patogena/e (danni tessutali, cellulari, alterazioni della funzionalità di organi e tessuti) determina lo stato di malattia nell'individuo colonizzato.

Un organismo recettivo, quando subisce un'esposizione ad AB, è vincolato a subire una sequenza di eventi o di fasi progressive che lo conducono ad ammalarsi.

Alla malattia seguono poi altre fasi che possono portarlo al decesso, alla guarigione completa e definitiva o ad una guarigione non completa.

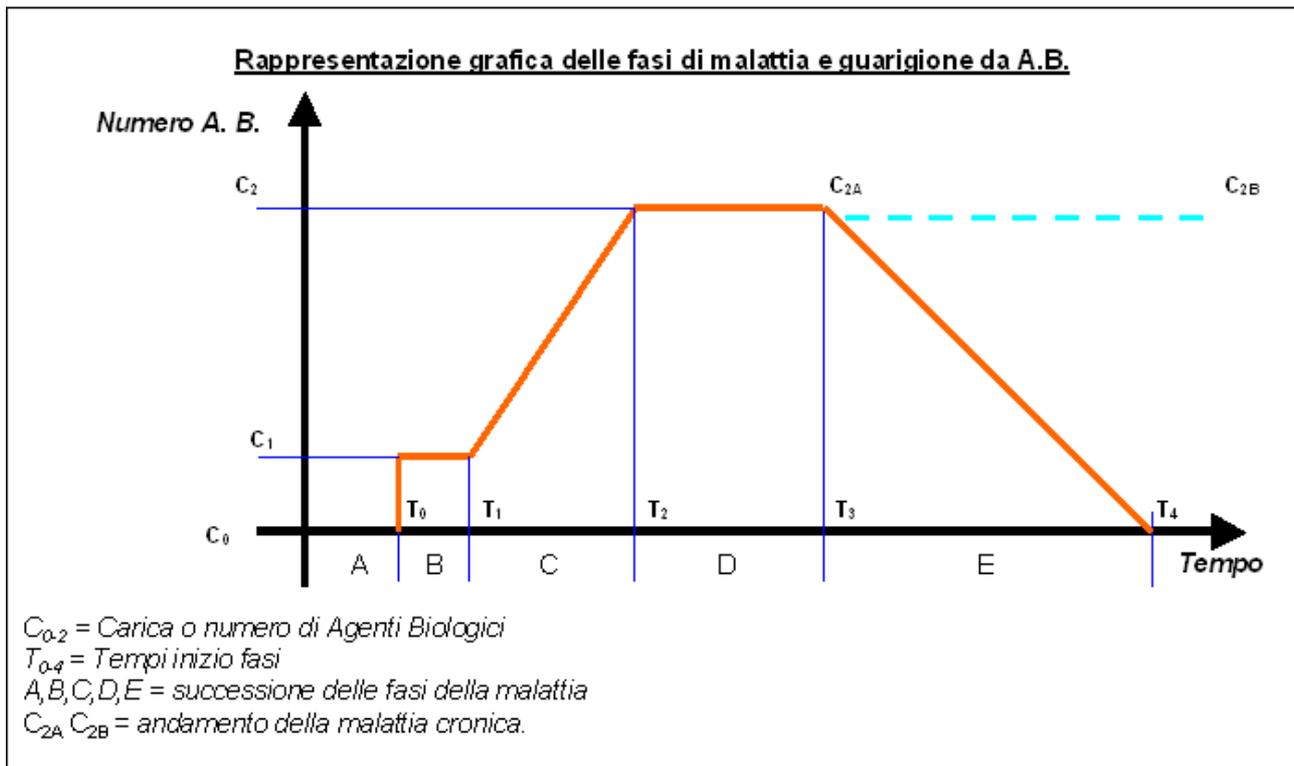
Il superamento della malattia induce nell'esposto un'immunità specifica verso l'agente responsabile della patologia; la condizione d'immunità ha una durata molto variabile e dipende dall'agente coinvolto.

Le fasi della malattia che interessano il soggetto esposto possono essere così schematizzate:

- **esposizione:** gli AB in questa fase penetrano nell'organismo ospite;
- **incubazione:** l'agente invade organi, tessuti o penetra entro specifiche cellule e si riproduce;
- **malattia:** gli AB attraverso vari meccanismi (produzione di tossine, compressioni meccaniche degli organi, stimolazione antigenica, morte delle cellule dell'ospite, ecc.), determinano quei sintomi che formano il quadro di quella condizione chiamata malattia. In questa fase abbiamo il massimo sviluppo d'AB e la loro massima diffusione.
- **convalescenza:** questa fase segna il superamento della malattia con la remissione della sintomatologia, la diminuzione numerica degli AB coinvolti e il proseguimento della loro diffusione anche se in numero inferiore.
- **guarigione:** normalmente corrisponde a quella fase nella quale l'organismo, in precedenza colonizzato dagli AB è bonificato; in questo caso il soggetto non manifesta più quei sintomi presenti invece nella fase della malattia; come conseguenza importante, termina la diffusione degli AB. Non sempre però la guarigione è accompagnata dalla scomparsa dall'organismo degli AB responsabili della patologia; in certe situazioni, pur conseguendo la guarigione e l'assenza d'ogni sintomatologia, un certo numero d'AB patogeni resta e si moltiplica all'interno dell'organismo ospite, per un tempo più o meno lungo, che può giungere a durare per tutta la vita dell'ospite. La persona in questa situazione è definita portatore. La presenza dei portatori ha per conseguenza l'aumento del rischio della diffusione d'AB non essendo evidente la malattia in questi soggetti.

Su un grafico cartesiano, ove sono riportate in ordinate il numero di agenti biologici infettanti o infestanti coinvolti nella malattia e in ascisse il tempo, è possibile rappresentare schematicamente la variazione del numero di AB durante le fasi della malattia, dall'inizio alla guarigione, di un soggetto recettivo.

**Figura. 2.5** - Rappresentazione grafica delle fasi di malattia e guarigione da AB



Eseguendo, brevemente, l'analisi del grafico rappresentato, rileviamo le seguenti fasi:

**Fase A:** in questo periodo il soggetto è sano e la carica  $C_0$  è uguale a 0 o sotto il potenziale di creare malattia.

**Fase B:** al tempo  $T_0$  il soggetto recettivo è esposto ad una carica infettante o infestante  $C_1$  che lo colonizza.

Nel primo periodo ( $T_0 - T_1$ ), di durata variabile secondo il tipo di agente interessato, gli AB colonizzano l'organismo mantenendo la carica  $C_1$  pressoché uguale a quella del momento dell'esposizione.

**Fase C:** al tempo  $T_1$  inizia la fase di moltiplicazione dell'AB e la contemporanea e progressiva invasione dell'organismo ospite; la carica iniziale  $C_1$  progressivamente aumenta fino a raggiungere nel tempo  $T_2$  la carica  $C_2$ . La durata del tempo  $T_1 - T_2$  può essere molto differente da caso a caso. Le differenze sono il risultato dell'azione contemporanea di molteplici elementi che entrano in relazione e dipendono sia dall'AB sia dal soggetto ospite. Le considerazioni precedenti ci consentono di dedurre che la pendenza può essere diversa in relazione alla differente lunghezza del tempo  $T_1 - T_2$  che è direttamente proporzionale alla rapidità di moltiplicazione ed invasione degli AB

**Fase D:** gli agenti una volta raggiunta la carica  $C_2$  la mantengono per tutta la durata della malattia. Essi conseguono il massimo sviluppo riproduttivo e l'acme della malattia. Per molteplici fattori derivanti soprattutto dalle condizioni biologiche all'organismo ospite, il periodo ha una durata variabile. La malattia, se non provoca il decesso del malato, entra nella fase E.

**Fase E:** questa fase può avere una durata variabile legata oltre ai due principali protagonisti (AB ed ospite) anche alle terapie diversamente efficaci.

In questo caso è variabile anche la pendenza della linea, si può affermare con certezza che questo tratto non è sempre rappresentato da una retta.

Nell'eventualità che la malattia diventi cronica, la linea non segue l'andamento sopra descritto, non mostra la diminuzione progressiva del numero degli AB, ma essi continuano a replicarsi mantenendo costante o più ridotto il numero, ma in ogni caso duraturo nel tempo fino al decesso naturale del soggetto infetto o almeno per lungo o lunghissimo tempo.

**Malati:** il **soggetto ammalato**, è la principale causa della proliferazione ed emissione d'AB negli ambienti confinati ed esterni e causa d'esposizione prima, e malattia poi, per gli individui recettivi o sorgente d'esposizione più sicura. Il soggetto ammalato, per moltissime patologie infettive e parassitarie, trasmette gli AB anche prima di manifestare i segni della malattia contratta.

L'individuo ammalato può essere un essere umano o un animale (domestico, selvatico, di piccola o di grande taglia, vertebrato o invertebrato). La malattia si manifesta con diversi sintomi ed aspetti fisiologici; alcuni di questi possono essere simili in malattie differenti, altre hanno manifestazioni caratteristiche e tipiche di quella patologia infettiva o parassitaria. La febbre è una caratteristica che si manifesta in tantissime patologie

---

soprattutto infettive, ma analizzando più specificatamente l'aumento della temperatura corporea dei soggetti colpiti da malattie infettive o parassitarie e l'andamento nel tempo, si possono scoprire delle evidenti differenze che caratterizzano questa sintomatologia che differisce in certe circostanze per il livello raggiunto e/o per l'andamento durante la giornata o nelle giornate successive. Il livello e l'andamento nel tempo della febbre costituiscono assieme o singolarmente, in molti casi, un segno caratteristico di patologie sia infettive sia parassitarie (es. febbre ondulante circadiana nella Brucellosi, puntate febbrili ad intervalli regolari nella malaria, ecc.)

**Convalescenti:** Il periodo che segue la malattia ed avvia il malato verso la guarigione è definito *periodo di convalescenza*, ed il soggetto è il *convalescente*. In questo lasso di tempo intermedio fra la fine della malattia e la completa guarigione l'individuo, che ha superato la fase acuta della malattia, non è ancora tornato in perfetta salute.

Durante questa fase gli AB continuano a persistere nell'organismo, e possono essere ai vettori o nell'ambiente ove vive e/o soggiorna l'individuo convalescente.

**Portatori:** *soggetti che eliminano uno o più specifici AB in assenza di segni clinici*. Spesso l'organismo che costituisce la fonte d'infezione non mostra alcun segno di malattia o di sintomatologie che possono indurre, in un osservatore, il dubbio che il soggetto osservato è assoggettato da AB con possibilità di trasmetterli ad altri individui. Tra i portatori è possibile fare delle distinzioni più precise in base alla situazione biologica o patologica in cui il portatore si trova in quel momento; distinguiamo perciò:

- *Portatori precoci:* il tempo che trascorre dall'esposizione alla comparsa dei sintomi della malattia, detto periodo d'incubazione, differisce da patologia a patologia; in quest'intervallo, in molte infezioni ed infestazioni, è possibile che il portatore sia in grado di diffondere gli agenti infettanti o infestanti.
- *Portatori convalescenti:* i soggetti, guariti da una patologia infettiva, possono continuare ad eliminare AB anche dopo la guarigione clinica.
- *Portatori cronici:* i soggetti che hanno avuto un'infezione o infestazione possono restare colonizzati dall'AB in maniera continuativa (cronica) nonostante la cessazione dei sintomi e la guarigione clinica.
- *Portatori sani:* i soggetti esposti e colonizzati dagli AB, che non hanno mai manifestato segni clinici dell'infezione e quindi non sono stati mai classificati come ammalati, possono diffondere gli agenti infettanti.

#### *I serbatoi di agenti biologici*

Sono definiti serbatoi d'AB le specie animali o vegetali che costituiscono substrati nei quale gli agenti hanno il loro habitat naturale e da cui possono essere trasmessi ad ospiti recettivi.

I serbatoi sono ad esempio gli insetti vettori, in particolare quelli in cui l'AB svolge un ciclo di sviluppo e maturazione (es.: plasmodi della malaria, leishmaniosi).

In altri casi l'AB nel vettore vive e si moltiplica e da questo è trasmesso in diversi modi senza la necessità d'intraprendere, prima, particolari cicli biologici necessari alla trasmissione nell'ospite; è il caso per esempio della rabbia nei pipistrelli vampiri, la leptospirosi nei ratti, le brucelle nel latte, la listeria nei formaggi o la legionella nelle acque di condensa dei condizionatori ambientali.

L'uomo, le specie animali e quelle vegetali, i substrati inanimati (terreno, materiali) o i luoghi naturali e di lavoro sono le fonti ove si conservano e si moltiplicano gli AB

Da questi siti l'agente, è capace di provocare un'infezione o un'infestazione se è in grado:

- di tollerare il trasporto dal serbatoio al soggetto recettivo;
- di invadere e colonizzare un soggetto recettivo.

**Acqua:** come serbatoio è rappresentata soprattutto dall'acqua dolce presente in fiumi, laghi, canali, pozzi, invasi, serbatoi aperti o chiusi.

L'acqua marina, sia per la sua concentrazione di sali, sia perché non è utilizzata come alimento o per l'irrigazione, raramente può essere un serbatoio per gli AB. È vero tuttavia che i prodotti ittici provenienti dal mare possono essere molte volte il serbatoio di specifici AB (epatite A, con mitili, ostriche ed altri lamellibranchi).

La micronizzazione dell'acqua (aerosol) facilita la respirabilità delle goccioline; infatti la ridotta dimensione delle particelle aerodisperse impedisce ai filtri naturali presenti nelle vie respiratorie degli organismi esposti (ciglia vibratili della mucosa respiratoria e dai filtri delle coane nasali) di trattenere le particelle respirate. Superando tali filtri i corpuscoli dell'aerosol possono raggiungere le vie aeree profonde fino agli alveoli polmonari. Goccioline più grosse, invece, possono essere ingerite.

Le acque utilizzate per l'alimentazione possono essere contaminate da AB e divenire un serbatoio per la loro diffusione, facendo parte della catena alimentare sia d'esseri umani sia d'animali domestici e d'allevamento i quali possono così divenire malati e portatori. Le acque contaminate da AB se utilizzate per l'irrigazione di specie botaniche utilizzate crude nella dieta, possono trasmettere infezioni ed infestazioni.

---

In questi casi gli agenti hanno un ciclo biologico con periodi di vita vegetativa o latente, particolarmente resistente agli agenti ambientali, quindi con una potenzialità invasiva dell'organismo esposto.

**Alimenti:** possono facilmente diventare sia luogo d'accrescimento e moltiplicazione d'AB sia un perfetto veicolo per la loro introduzione nel canale alimentare con grandi possibilità di distribuzione negli organi interni.

L'inquinamento può essere presente negli alimenti sia all'origine sia a causa di cattive condizioni di conservazione.

Alimenti provenienti da animali infetti possono essere a rischio se sono:  
consumati crudi;

- cotti in maniera insufficiente, cioè il tempo di cottura e la temperatura hanno raggiunto valori tali da non produrre danni rilevanti agli agenti presenti.

Nel caso d'alimenti provenienti da animali sani, sia crudi, sia cotti, il rischio è legato:

- al successivo inquinamento;
- alla conservazione non idonea.

**Animali:** costituiscono da sempre un serbatoio per gli AB che, in essi, si moltiplicano senza provocare apparenti danni e senza dare una sintomatologia significativa. L'ospite animale e l'AB vivono in uno stato di simbiosi, dalla quale pare trarre vantaggio decisamente l'AB che è ospitato, trasportato ed alimentato dall'*animale serbatoio* il quale riceve poco danno nell'ospitare l'AB. Molti AB trasmessi dagli animali sono nocivi per l'uomo.

#### 2.4.2. *Caratteristiche biologiche dell'agente biologico*

Gli elementi che determinano le "caratteristiche biologiche" di un AB sono molti e complessi:

- trasmissibilità;
- infettività;
- resistenza ai farmaci;
- resistenza agli agenti fisici e chimici;
- resistenza all'ambiente;
- facilità di mutazione;
- perdita di patogenicità;
- facilità della perdita di infettività;
- ecc.

Lo scopo di questo lavoro d'indirizzo nella valutazione del rischio specifico è considerare gli AB come elementi di rischio per coloro che ad essi possono essere o sono esposti, quindi l'attenzione per le loro caratteristiche è diretta solo agli aspetti che ne favoriscono la diffusione, l'invasione di altri organismi e la persistenza nei serbatoi e nelle sorgenti. Questi possono essere riassunti in:

- alta concentrazione nelle fonti (serbatoi, sorgenti);
- resistenza nell'ambiente;
- resistenza agli agenti chimici e fisici;
- possibile trasmissione diretta senza obbligo di vettori o ospiti intermedi;
- penetrazione negli organismi attraverso vie naturali;
- tempo d'incubazione ridotto.

**Alta concentrazione nelle fonti (serbatoi, sorgenti):** è noto che la carica infettante, vale a dire la quantità d'AB presenti in un certo volume, è direttamente proporzionale al rischio d'infezione. Per molti AB la condizione indispensabile per provocare la malattia infettiva è quella di essere introdotti in un organismo in un numero non inferiore a quello che va sotto il nome di "*dose minima infettante*".

**Resistenza nell'ambiente:** gli AB provenienti da un serbatoio o da una sorgente, per essere trasferiti in un altro individuo spesso devono transitare o permanere, per tempi più o meno lunghi, nell'ambiente naturale ove le condizioni fisiche e chimiche presenti possono limitarne la sopravvivenza.

*Condizioni termiche per la sopravvivenza:* le basse temperature sono letali per taluni agenti come la *Neisseria meningitidis*, che si autolisa dopo pochi minuti quando la temperatura è scesa sotto il valore fisiologico di 35 - 37°C. Altri batteri (salmonelle) sono inattivati a soli 45°C. La maggior parte degli AB non sopravvive alla bollitura (100°C). Alcune forme biologiche di resistenza (cisti o spore), invece, devono essere esposte a temperature più elevate (121°C per 20 minuti) per essere inattivate.

*Disidratazione:* alcuni AB subiscono danni irreversibili nelle condizioni di disidratazione, ad esempio le leptospire in ambiente umido sopravvivono anche 3 mesi ma poche ore in ambiente disidratato. Le caratteristiche biologiche di un AB che lo rendono resistente agli insulti naturali ed artificiali, quindi in grado di sopravvivere a lungo nell'ambiente naturale ed artificiale, sono prerogative che aumentano le probabilità

---

che l'agente trovi un individuo recettivo e lo colonizzi, facendolo diventare una sorgente per nuove infezioni o infestazioni.

**Resistenza agli agenti chimici e fisici:** gli AB sono suscettibili ed inattivati alla presenza di agenti chimici e fisici in modo assai diverso, sia per quantità sia per qualità dell'agente chimico e fisico.

### **Agenti Chimici**

**pH:** gli agenti chimici che determinano danni agli AB sono essenzialmente gli acidi forti e le basi forti. Tutti tollerano piccole variazioni attorno al pH 7; i funghi si sviluppano anche a pH 5 mentre attorno ai punti estremi della scala del pH la sopravvivenza è pressoché nulla.

**Agenti ossidanti:** le sostanze ossidanti (perossidi, ipocloriti) sono fatalmente lesive alla maggior parte degli AB, sia eucarioti che procarioti, assieme alla maggior parte dei virus.

**Alcoli:** gli alcoli in genere sono poco attivi sugli AB; sui virus tali composti chimici non hanno attività univoche, ciò dipende dalla presenza o meno, attorno al virus, del pericapside.

**Ammoni quaternari:** sono tensioattivi che manifestano una relativa attività in particolare sulle cellule procariote, meno sulle eucariote, scarse sui virus.

### **Agenti Fisici**

**Radiazioni UV:** La permanenza in ambienti esterni sottopone l'AB all'irradiazione ultravioletta proveniente dal sole. Le radiazioni UV non sono molto efficaci perché il loro potere biocida può facilmente essere ridotto da interferenze provocate da un intenso aerosol, da schermature naturali ecc.

**Radiazioni ionizzanti:** sono agenti fisici dotati d'alta energia che consente di attraversare facilmente possibili schermature naturali o artificiali; tali emissioni sono sempre efficaci sugli AB inattivandoli in modo definitivo. Le radiazioni ionizzanti naturali hanno invece scarsi effetti sugli agenti infettanti.

**Trasmissibilità diretta senza obbligo di vettori o ospiti intermedi:** gli AB possono essere trasmessi dalla fonte (serbatoio o sorgente):

- direttamente al soggetto recettivo: contagio diretto (questo sottrae l'agente ai possibili insulti dell'ambiente)
- attraverso un vettore: contagio indiretto.

È evidente che la trasmissione diretta ha maggiori probabilità di successo rispetto alla trasmissione non diretta, nella quale interviene un vettore per il trasporto dell'AB

Le difficoltà insite nella trasmissione tramite vettore sono ancora più evidenti se l'intervento del vettore è un'azione obbligata, cioè se il vettore è un trasportatore specifico: l'infestazione patologica della malaria (parassitosi) non si trasmette da malato a malato, ma è necessario che sia una zanzara di un preciso genere o addirittura specie a caricarsi dei plasmodi di un soggetto ammalato (sorgente), trasportarli e trasmetterli con l'inoculo ad un individuo sano e recettivo.

**Penetrazione negli organismi attraverso vie naturali:** le vie naturali sono aperture fisiologiche utilizzate dall'organismo vivente per i processi d'alimentazione, respirazione e riproduzione.

Poiché ogni organismo ha bisogno di nutrirsi e respirare per vivere e di riprodursi per non estinguersi, le vie respiratorie, quella alimentare e gli organi di riproduzione possono facilmente dare accesso agli AB che non hanno così l'obbligo di creare una via d'accesso (puntura) o di penetrazione (trauma).

**Tempo d'incubazione ridotto:** una malattia che si sviluppa precocemente, entro un breve tempo dall'esposizione, indica che l'agente è in grado di moltiplicarsi rapidamente nell'organismo colonizzato, che rapidamente diventa fonte di possibili trasmissioni ad altri soggetti.

### **2.4.3. Vie di eliminazione degli agenti biologici**

L'eliminazione degli AB avviene dal malato che continua a svolgere tutte le funzioni fisiologiche necessarie per vivere. Inoltre, in conseguenza della patologia di cui è affetto, produce ed elimina altre sostanze e materiali in forma: *liquida, solida ed aerosol* attraverso *escreti, secreti, essudati, trasudati e piccoli frammenti o annessi tessutali*.

Questi materiali sono prodotti dalle mucose poste a contatto dell'ambiente esterno, ad esempio quella orale, respiratoria, genitale, anale e congiuntivale, oppure mucose interne all'organismo quali intestino, utero, vescica, prostata.

Le strategie evolutive degli AB hanno preferito sfruttare le vie naturali anche per l'eliminazione degli AB poiché ogni organismo deve *alimentarsi* (cibo ed acqua), *eliminare* i prodotti di rifiuto, *sostituire* parti tessutali ed annessi (peli ed unghie) e *riprodursi*.

Le parti dell'organismo periodicamente sostituite ed eliminate nell'ambiente possono diventare veicoli di trasmissione d'AB. Ad esempio squame e peli diventano spesso veicoli per la trasmissione di micosi cutanee (dermatofiti); nel sudore del soggetto ammalato sono presenti specifici AB trasmissibili.

Figura 2.6 - Trasmissione degli agenti dalle sorgenti

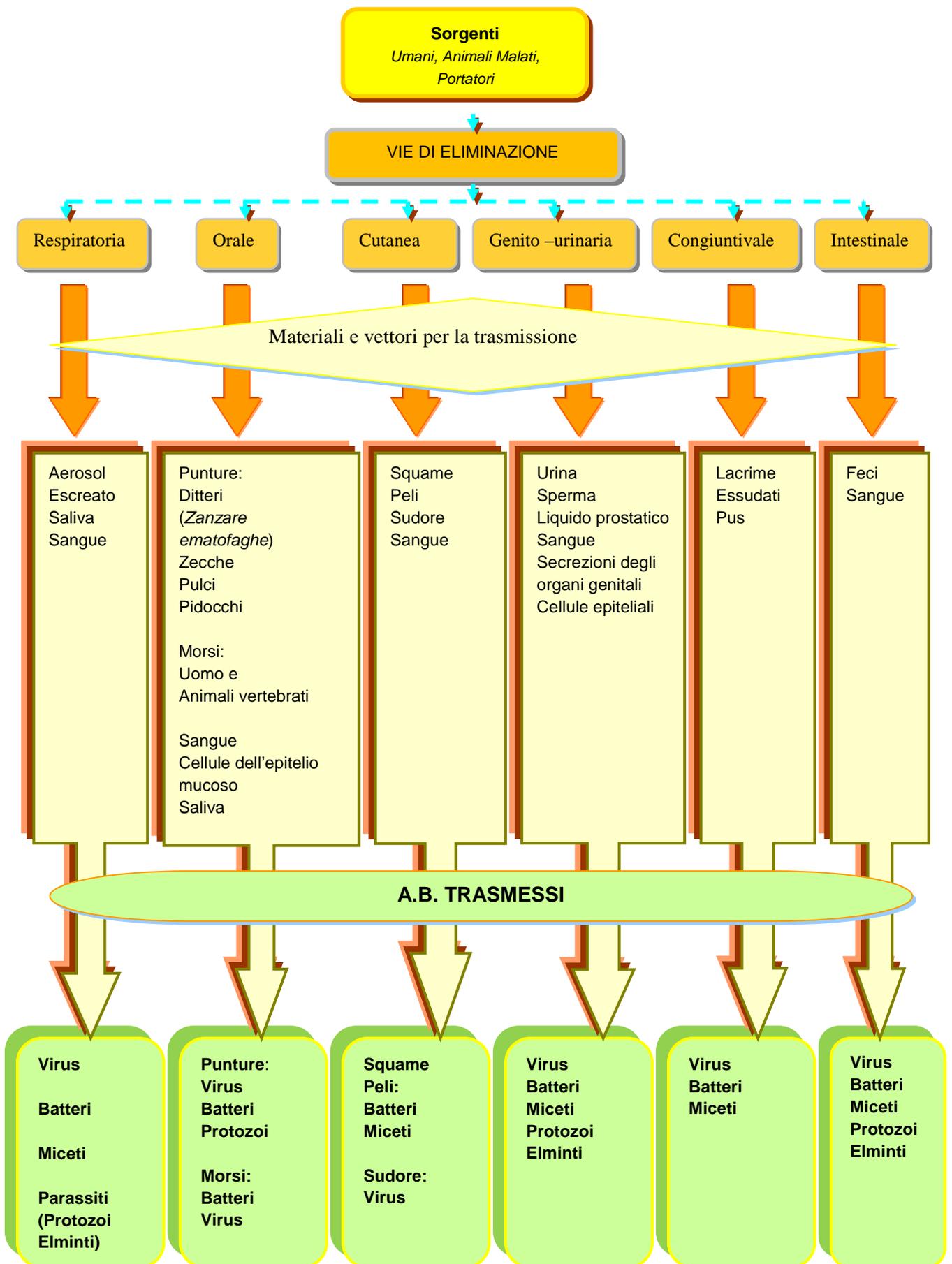
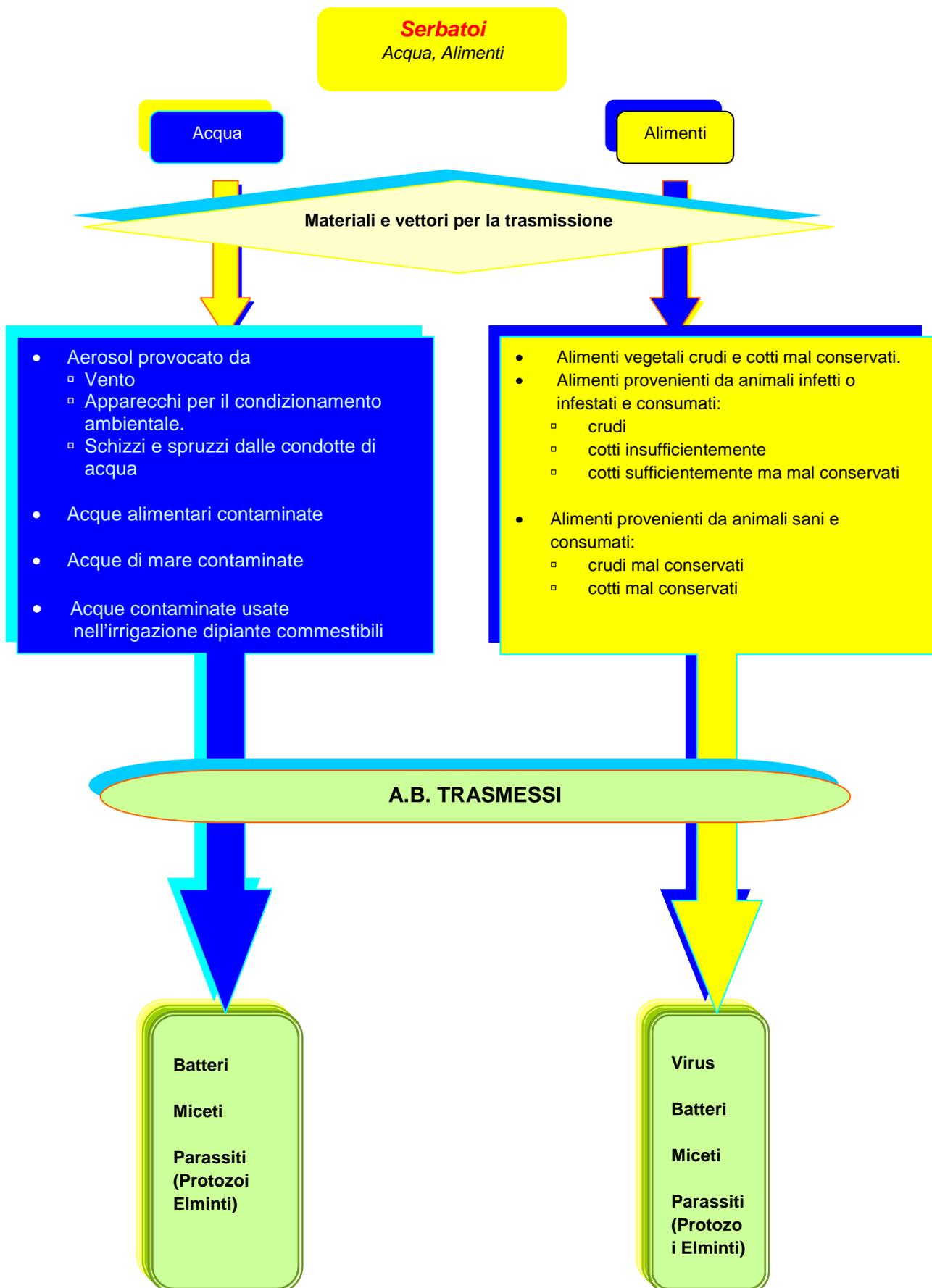


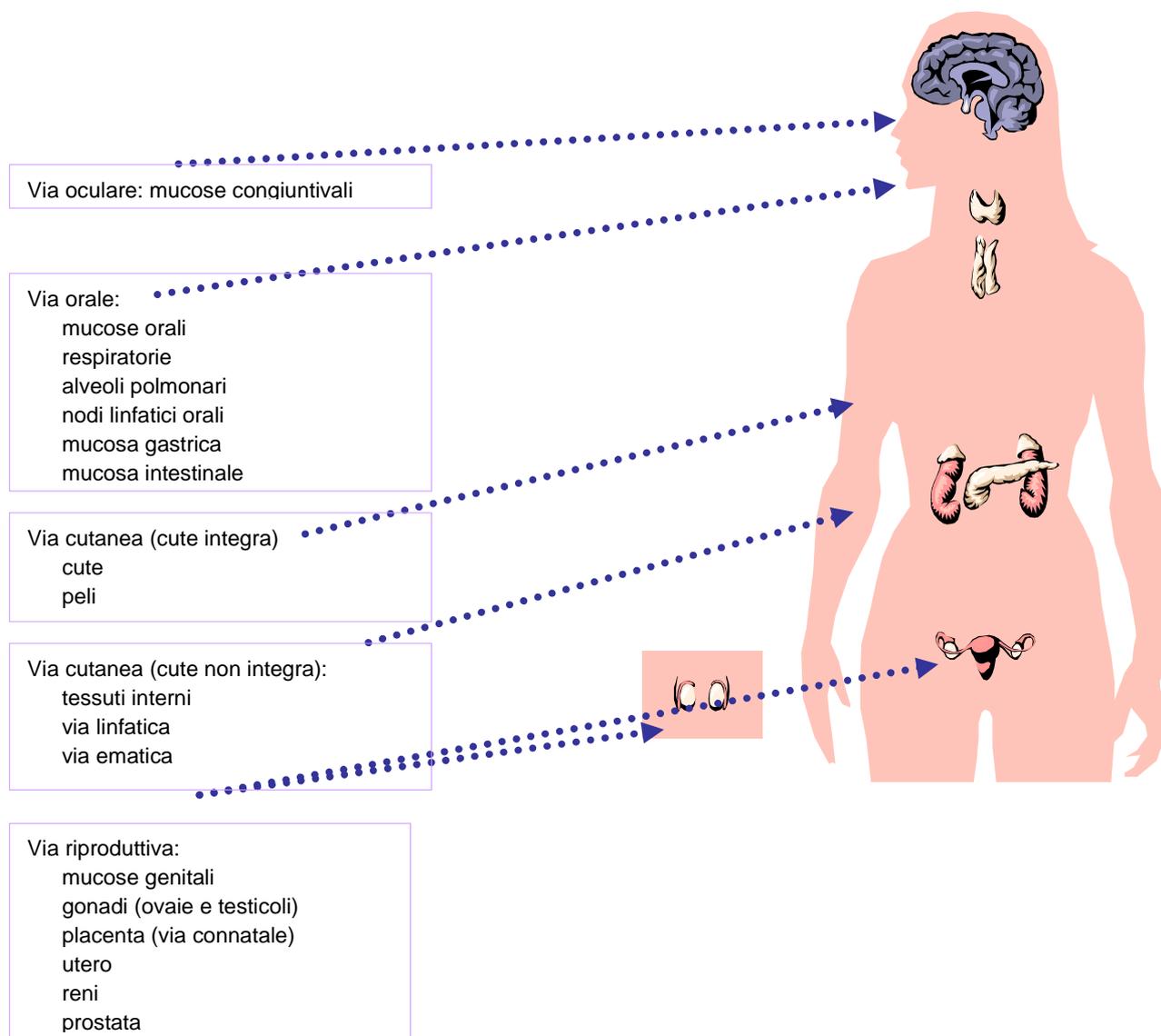
Figura 2.7 - Trasmissione degli agenti dai serbatoi



#### 2.4.4. Vie di contagio o di penetrazione degli agenti biologici

Le sorgenti ed i serbatoi sono le fonti dalle quali, attraverso le vie di contagio, gli agenti penetrano in un organismo e possono distribuirsi negli organi interni o in quelli più superficiali.

Figura 2.8 - Vie di contagio o di penetrazione degli AB



**Via oculare:** le mucose congiuntivali sono le porte d'accesso più utili all'ingresso degli AB. L'occhio, oltre ad essere esposto all'ambiente esterno, è dotato del canale lacrimale direttamente comunicante con la mucosa nasale, con quella orale e con le vie respiratorie più profonde. Le mucose congiuntivali, per la peculiarità del tessuto, offrono una scarsa protezione alla penetrazione degli AB ed essendo molto irrorate possono favorirne il trasferimento in altri distretti.

Il bulbo oculare, soprattutto per l'azione continua di detersione compiuta congiuntamente da lacrime e palpebre, è difficilmente colonizzabile e tanto meno penetrabile. Questo è possibile però in occasioni di lesioni o traumi superficiali con interessamento della sola cornea o lesioni più profonde che coinvolgono anche il bulbo oculare.

Gli AB giungono alla mucosa attraverso aerosol (goccioline proiettate da starnuti, tosse o durante il semplice colloquio con un malato o portatore) oppure attraverso le mani contaminate che toccano direttamente la mucosa, oppure altri oggetti inanimati imbrattati che sono posti a contatto della congiuntiva.

**Via orale:** la bocca, per le sue molteplici funzioni (respirazione, comunicazione, alimentazione) è una porta aperta sull'ambiente esterno da dove trae aria ed alimenti solidi e liquidi. Con l'aspirazione dell'aria è aspirato anche l'eventuale aerosol che potrebbe contenere AB responsabili di patologie infettive; in tal caso

gli AB aderiscono alle mucose del cavo orale venendo convogliati nei bronchi e polmoni (solo se il loro diametro è uguale o inferiore al micron) e / o ingeriti.

La penetrazione avviene a livello della mucosa ma anche attraverso i linfonodi posti lungo le pareti della gola (molto importante nelle infezioni da *Salmonella typhi* è l'anello del Waldeyer).

Le mucose orali e quelle gastriche sono esposte agli AB quando sono ingeriti alimenti contaminati. Molti AB arrivati nello stomaco non sono in grado di resistere al grado di acidità lì presente e non possono quindi indurre alcuna patologia; solo quelli che, per propria conformazione biologica o per altre cause legate alla situazione biologica dell'organismo ospite, riescono a superare la barriera gastrica, giungono all'intestino e provocano il danno tessutale della mucosa intestinale.

**Via cutanea (cute integra):** la pelle integra costituisce un'ottima e preziosa barriera di protezione contro la penetrazione degli AB. Solo le parti esposte generalmente possono incorrere alla penetrazione di AB, che possono introdursi nello strato corneo della pelle, nei peli o più profondamente nel derma.

**Via cutanea (cute non integra):** i traumi e le lesioni, che interrompono la continuità della barriera cutanea, espongono i tessuti sottostanti all'ambiente esterno ed alla penetrazione d'AB

Questi possono penetrare anche direttamente nei vasi sanguigni lesi e nelle cellule dei tessuti anatomici che hanno perso continuità tessutale ed ematica e sono perciò destinati a perdere le prerogative della normale funzionalità biologica fino alla completa cessazione delle funzioni, a causa soprattutto dell'interruzione dell'irrorazione sanguigna e della conseguente necrosi tessutale.

Spesso sono proprio questi tessuti degenerati, non funzionali, che rappresentano il substrato d'avvio ed il sostegno della moltiplicazione degli AB penetrati. Oltre alla via ematica, gli agenti, possono raggiungere anche il sistema linfatico.

**Via riproduttiva:** la trasmissione tramite questa via avviene nel corso dei rapporti sessuali durante i quali la trasmissione è mediata dal sangue, dai liquidi o secrezioni degli organi sessuali e dallo sperma, a contatto con la mucosa dell'ospite recettivo.

Gli AB penetrano attraverso la mucosa e con il ciclo ematico e linfatico raggiungono altri distretti (gonadi - testicoli ed ovaie - utero, placenta, reni, prostata, ecc.).

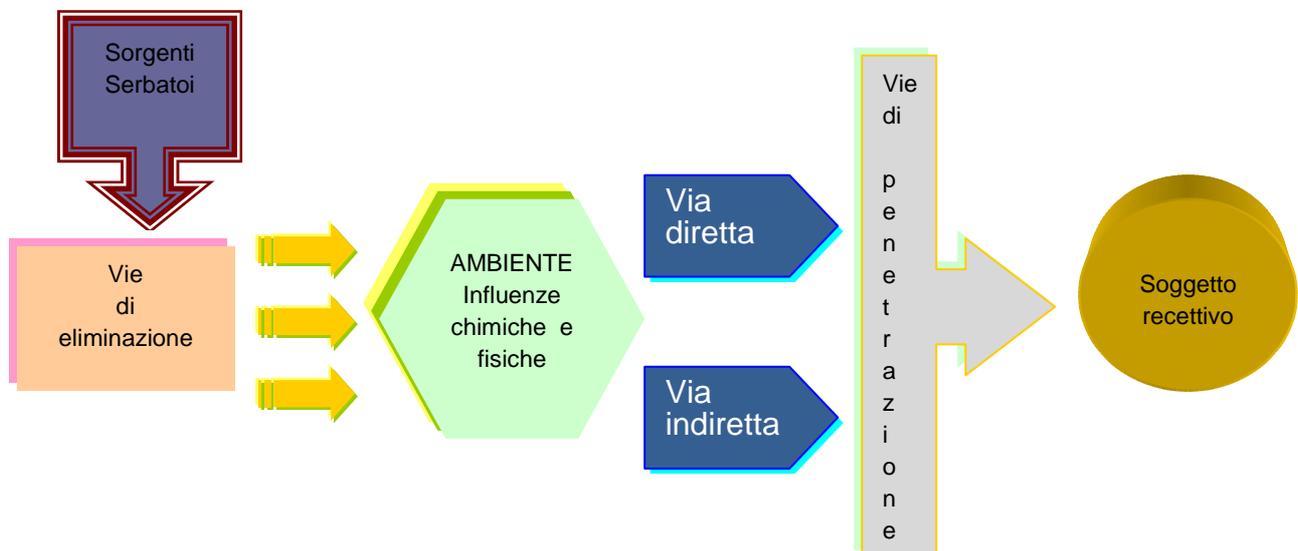
Una particolare trasmissione è quella che coinvolge la madre ed il feto (via *connatale*); la madre può trasmettere alcune specifiche malattie al feto durante la gestazione; si tratta di malattie sostenute sia da agenti infettanti sia da infestanti. Il feto inoltre può essere infettato durante il transito nel canale del parto e poi con anche con l'allattamento.

#### 2.4.5. Modalità di trasmissione degli agenti biologici

La trasmissione inizia dai serbatoi e dalle sorgenti per terminare nel soggetto recettivo dopo aver percorso una delle vie utili disponibili per poi eventualmente distribuirsi nei vari distretti anatomici. È indispensabile conoscere le strategie adottate dagli agenti biologici per trasferirsi dai serbatoi e dalle sorgenti alle vie di penetrazione e comprendere la sequenza degli eventi a cominciare dal modo con cui sono trasportati dalle fonti alle vie di penetrazione, qual è la distanza massima alla quale serbatoi e sorgenti possono trovarsi rispetto alle vie di penetrazione perché si possa verificare ancora la trasmissione, ecc.

Schematicamente le modalità principali di trasmissione possono essere rappresentate come segue:

Figura 2.9 - Modalità di trasmissione degli AB



Dal serbatoio e dalle sorgenti, attraverso le vie d'eliminazione, gli AB giungono al soggetto recettivo e lo invadono attraverso le vie di penetrazione utilizzando la:

via diretta

via indiretta

**Trasmissione diretta:** gli AB sono trasferiti direttamente dalle sorgenti e dai serbatoi alle vie di penetrazione del soggetto recettivo; le condizioni che caratterizzano questa modalità di contagio sono:

**Il tempo:** l'uscita dalla fonte e l'entrata nel soggetto recettivo è immediata o comunque il tempo che intercorre fra i due eventi è molto breve.

**Lo spazio:** la distanza tra la fonte d'emissione degli AB e il soggetto recettivo è breve (fino a pochi metri) o nulla (tra le due parti c'è un contatto fisico).

**Tabella 2.2 - Metodi di trasmissione diretta**

| Via di trasmissione  | Materiali di contagio                                  | AB trasmessi                                      |
|--|--|---|
| Contatto con la cute   | Squame, peli, sangue, secrezioni purulente.            | Miceti, batteri, virus                            |
| Contatto con le mucose orali   | Sangue, saliva, espettorato, epitelio                  | Batteri, virus, meno frequente miceti e protozoi. |
| Diffusione attraverso goccioline o droplet (> 5 micron) con lo starnuto, colpi di tosse, sputo, o tramite il canto e la conversazione. | Sangue, saliva, espettorato, epitelio                  | Batteri, virus, meno frequente miceti             |
| Contatto sessuale  | Sangue, sperma, secrezioni vaginali, secreto purulento | Batteri, virus, miceti, protozoi                  |
| Via trasplacentare o connatale   | sangue   | Batteri, virus                                    |
| Passaggio attraverso il canale del parto   | Sangue, secrezioni vaginali e purulente.               | Batteri, virus, miceti, protozoi                  |
| Allattamento materno   | Latte, squame cutanee                                  | Batteri, virus                                    |

**Starnuto:** ogni qualvolta capita uno starnuto sono eliminate mediamente non meno di 20.000 goccioline di diametro inferiore a 100 µm (micron). Con lo starnuto le particelle sono proiettate fino a 9 metri di distanza. Le goccioline prodotte sono dette goccioline di Flügge.

**Tosse:** con i colpi di tosse, invece, si producono nell'ambiente da 10 a 100 goccioline bronchiali, di diametro decisamente inferiore alle precedenti cioè minore di 100 µm (micron).

**Parlato:** durante il normale colloquio sono liberate dal soggetto che parla particelle di diametro > a 100 µm (micron).

Con queste tre modalità il soggetto proietta nell'ambiente circostante l'aerosol misto di materiale mucoso e saliva con particelle solide, leucociti, residui epiteliali, cellule di sfaldamento, batteri, virus e miceti.

I microrganismi che possono essere eliminati con gli aerosol così prodotti possono essere:

- flora saprofitica dell'individuo, presente sia nelle mucose orali, sia nelle vie respiratorie
- AB patogeni, se il soggetto è ammalato o portatore di malattie dell'apparato orale o delle vie respiratorie.

La diffusione immediata, tramite goccioline / aerosol dalla sorgente ad uno o più individui recettivi, è da considerarsi come una trasmissione da contatto diretto.

In tutte queste situazioni sono garantite le due condizioni in premessa:

- breve tempo tra emissione ed esposizione;
- spazio ridotto tra fonte e soggetto esposto.

Tale spazio spesso non esiste perché le due entità sono a stretto contatto.

Nell'ipotesi invece, che la diffusione avvenga a distanza notevole ed il suo effetto duri per un tempo prolungato, anche in assenza della sorgente, la via di contagio è considerata indiretta, così come nel caso della risospensione delle particelle aeree sedimentate.

**Trasmissione indiretta degli AB:** si stabilisce allorché un vettore funge da trasportatore tra serbatoio o sorgente e l'individuo recettivo; la sua rappresentazione schematica, sotto riportata, mostra come tale fenomeno possa essere complesso.

Figura 2.10 - Trasmissione diretta

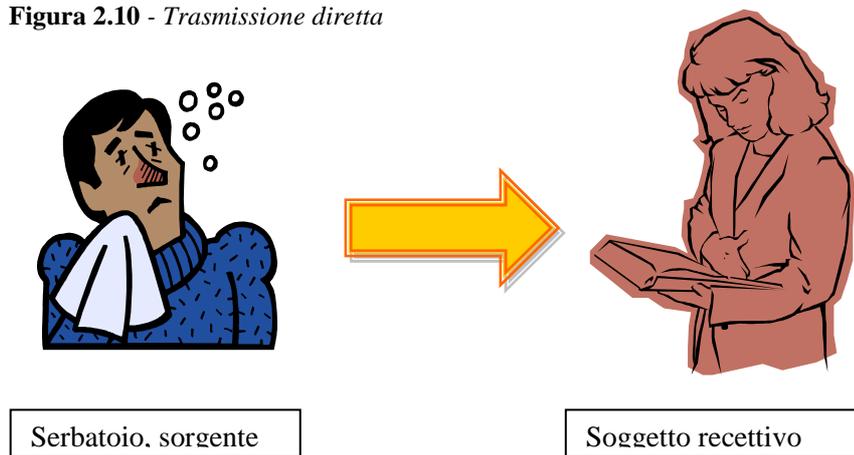
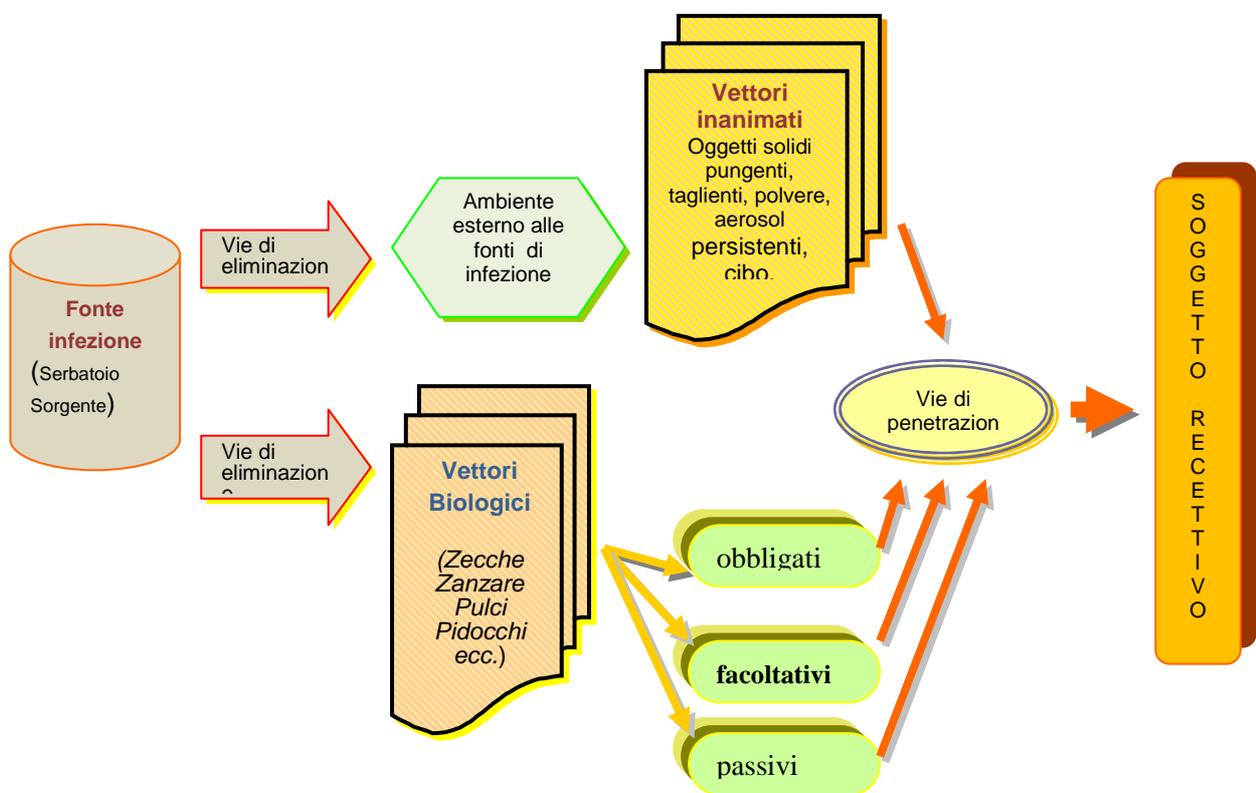
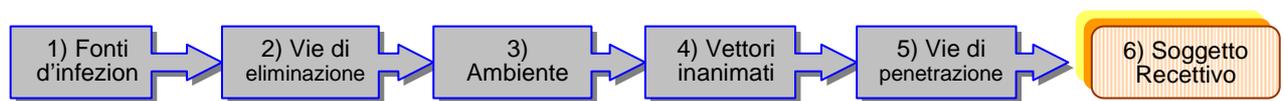


Figura 2.11 - Schema di trasmissione indiretta di AB



La trasmissione indiretta degli AB dalle fonti ai soggetti recettivi è caratterizzata dalle seguenti condizioni: esiste un vettore (trasportatore biologico) o veicolo che funge da trasportatore attivo o passivo degli AB il tempo che intercorre tra l'uscita dalla fonte e l'entrata nel soggetto recettivo può essere brevissimo ma anche molto lungo. la distanza fra la fonte d'emissione degli AB ed il soggetto recettivo non è piccola, anzi può essere molto grande. Consideriamo più attentamente le possibili trasmissioni d'AB attraverso i trasferimenti per via indiretta. La prima possibilità di trasferimento è quella che avviene attraverso vettori inanimati e procede dalle sorgenti e serbatoi al soggetto recettivo attraverso i 6 momenti sotto schematizzati:



1) Fonti d'infezione: sono i serbatoi e le sorgenti costituite da malati, portatori, convalescenti sia umani sia animali, l'acqua, il cibo ed i substrati inanimati ove gli AB vivono e si moltiplicano.

2) Vie di eliminazione: i serbatoi e le sorgenti eliminano gli AB tramite materiali biologici come:

|        |        |             |
|--------|--------|-------------|
| sangue | sudore | espettorato |
| saliva | urina  | feci        |
| squame | peli   |             |

oppure tramite materiali inanimati ambientali:

|      |          |       |
|------|----------|-------|
| cibo | vegetali | acqua |
|------|----------|-------|

3) Ambiente esterno: i materiali biologici e gli allergeni, sono disseminati nell'ambiente dove devono subire tutti gli insulti determinati dai fattori fisici e chimici in grado, spesso, di danneggiare o pregiudicare in maniera sostanziale l'integrità degli AB

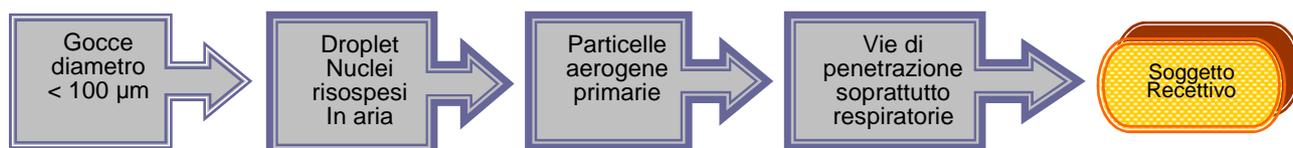
La denaturazione dei materiali che costituiscono il substrato per gli AB determina, di solito, la loro inattivazione.

4) Vettori inanimati: i materiali infetti, attraverso veicoli inanimati raggiungono le vie di penetrazione dell'ospite recettivo. I veicoli o vettori inanimati sono:

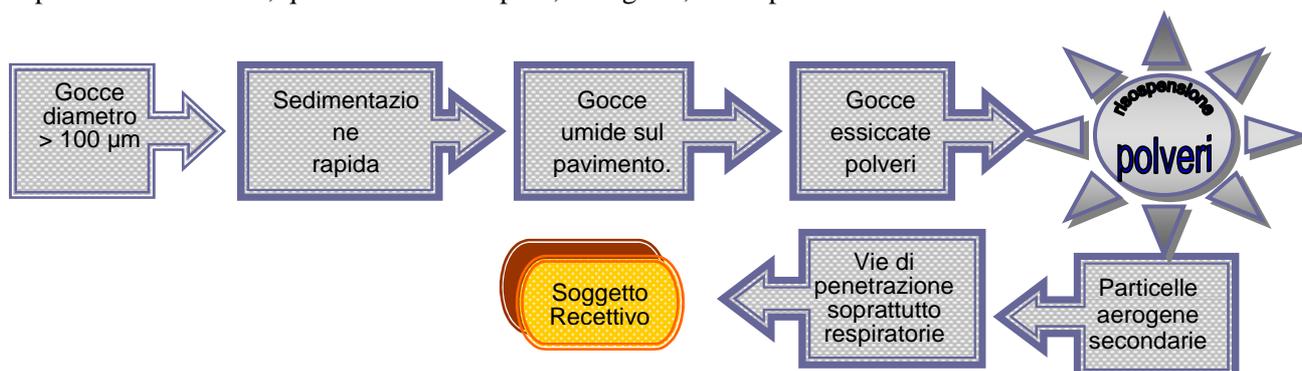
|         |                     |                                       |
|---------|---------------------|---------------------------------------|
| Acqua   | Cibo                | Oggetti solidi pungenti e/o taglienti |
| Polvere | Aerosol persistenti | Feci                                  |
| Sangue  | Espettorato         | Saliva                                |
| Urina   | Squame              | Peli                                  |

Una particolare attenzione deve essere rivolta alla trasmissione tramite aerosol e/o polvere in particolare negli ambienti confinati essendo particolarmente rilevante per la diffusione di AB attraverso:

**Particelle Aerogene Primarie (droplet nuclei)**: del diametro inferiore a 100 µm (micron), si uniscono attorno ad un nucleo e formano quelli aggregati noti come "droplet-nuclei". Questi sono risospesi, facilmente diffondono a notevole distanza e restano fluttuanti nell'aria anche per molto tempo (molte ore o giorni) divenendo potenziali vie indirette di contaminazione anche in assenza della sorgente d'infezione.



**Particelle Aerogene Secondarie (polveri risospese)**: questo tipo di diffusione consente un allungamento del tempo d'esposizione, mantenendo la possibilità di veicolare anche a molta distanza le gocce infettanti. Le gocce di dimensioni superiori a 100 µm possono essere inalate o sedimentare e depositarsi su diverse superfici essiccandosi, quindi essere risospese, in seguito, come polveri contaminate.



Le gocce sospese e inalate in tempi successivi all'emissione sono da considerarsi come particelle aerogene primarie.

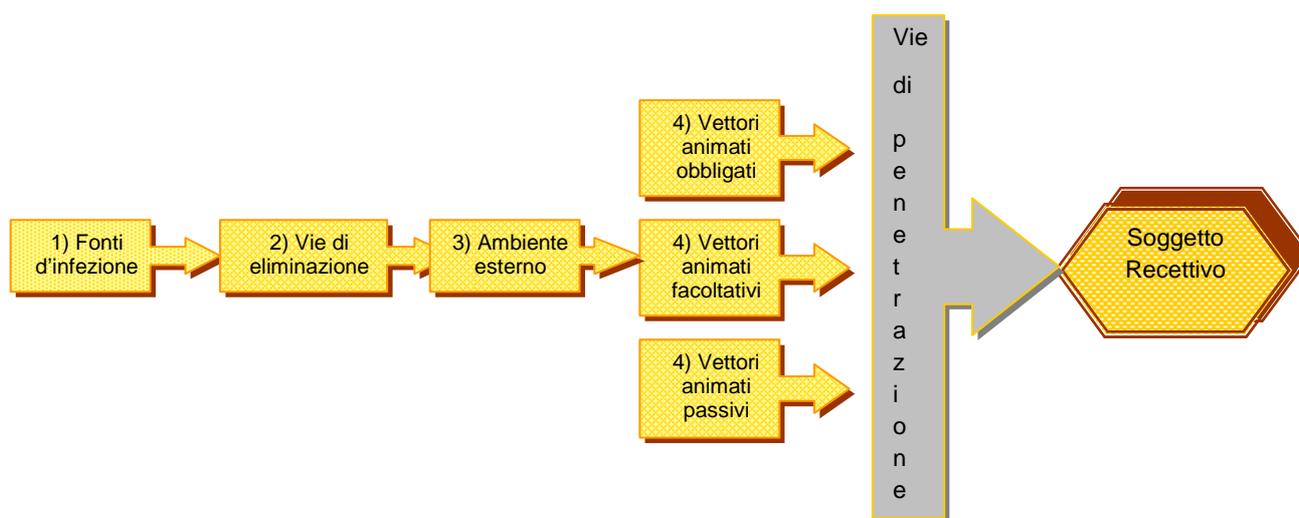
5) Vie di penetrazione: possono essere numerose e fisicamente molto diverse in dipendenza del veicolo inanimato che trasmette l'infezione.

|            |   |
|------------|---|
| Inalazione | Ingestione                                      |
| Contatto   | Inoculo percutaneo a causa di puntura o taglio. |

6) Soggetto recettivo: il soggetto recettivo esposto può essere umano o animale.

Più complessa è la linea di trasmissione degli AB nella cui propagazione intervengono come vettori animati o biologici organismi delle classi zoologiche appartenenti agli insetti (zanzare) ed agli artropodi (zecche).

Figura 2.12 - Trasmissione degli Agenti tramite vettori.



I vettori intervengono nella parte centrale della via di trasmissione e la loro presenza testimonia una modalità molto peculiare di trasferimento di agenti. I vettori animati possono essere distinti in tre tipologie principali, in attinenza alla loro caratteristica, circostanza e specificità d'intervento; per distinguerli sono stati denominati nella maniera seguente:

**Vettori biologici obbligati:** sono così definiti perché la trasmissione degli agenti è condizionata dalla presenza di **vettori esclusivi**. Questi sono principalmente di due tipi:

vettori nei quali l'AB vive e/o si replica senza trasformazioni

vettori nei quali l'AB subisce una trasformazione, cioè compie un ciclo biologico o di sviluppo o di maturazione prima di essere trasmesso.

Il vettore è esclusivo perché consente a specifici AB, e solo a questi, di vivere, moltiplicarsi e maturare nei suoi organi, inoltre è dotato di adatti strumenti anatomici per trasmettere gli AB agli individui recettivi.

La specificità tra vettore e AB talvolta è così alta che l'agente biologico si dice "specie – specifico" vale a dire ogni specie o ceppo di agente biologico ha bisogno di una specie precisa di vettore. Questa condizione è particolarmente vera nei casi in cui una parte del ciclo biologico dell'AB deve svolgersi nel vettore animato.

Il ciclo biologico che l'AB compie nel vettore è un processo di maturazione e trasformazione che lo rende fisicamente e biologicamente adatto ad essere trasmesso all'ospite.

Le trasformazioni subite dall'AB durante il ciclo di maturazione e moltiplicazione nel vettore aumentano le possibilità di successo della successiva invasione, perché permettono all'agente di:

adattarsi facilmente al nuovo ambiente costituito dagli organi dell'individuo colonizzato;

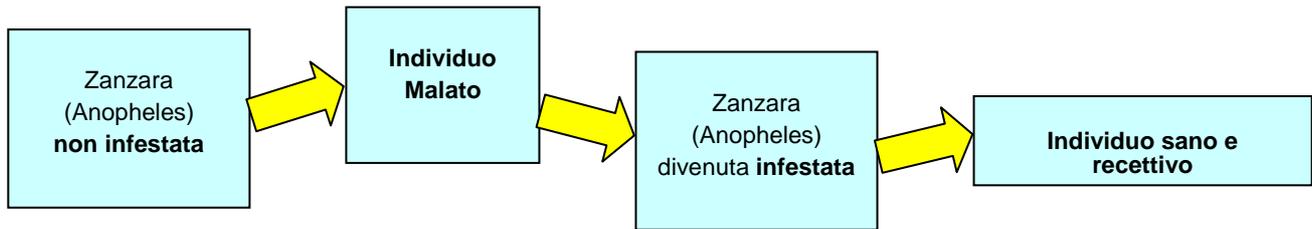
sfruttare le fonti nutritive disponibili per crescere e riprodursi;

godere di strategie utili alla difesa dalle reazioni organiche dell'ospite;

andare incontro a quelle trasformazioni e maturazioni che lo rendono idoneo ad essere assunto ed introdotto in un altro vettore.

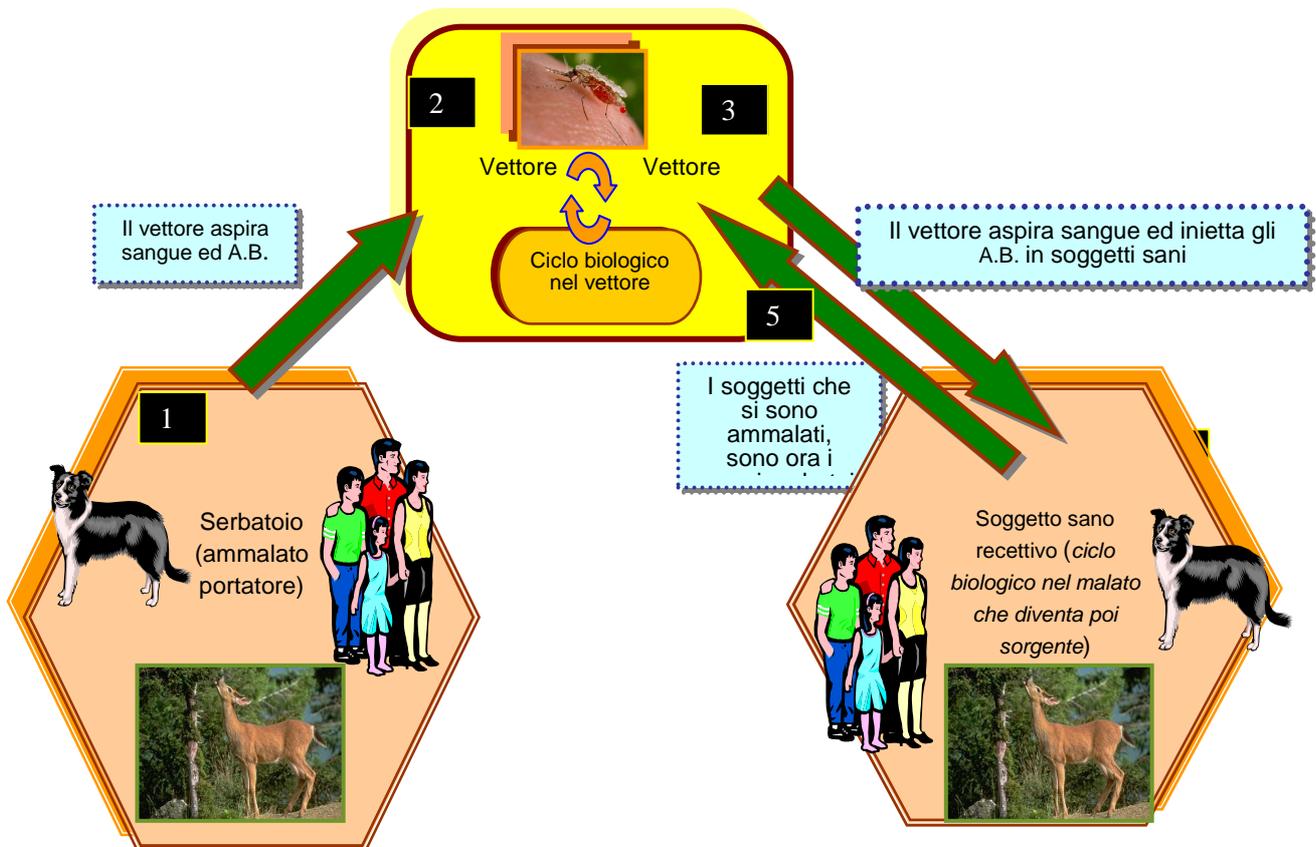
Un facile esempio è quello rappresentato dai plasmodi (protozoi parassiti dei globuli rossi) responsabili della patologia febbrile conosciuta come malaria.

Figura 2.13 -Vettori biologici obbligati – la malaria



Sotto è rappresentato un ciclo di trasmissione tramite un vettore obbligato; lo schema ha un carattere generale, ma si presta anche a rappresentare la trasmissione dei plasmodi della malaria (nel caso della malaria umana sia il serbatoio sia il soggetto recettivo è l'essere umano).

Figura 2.14 - Schematizzazione di un ciclo di trasmissione per AB tramite un vettore obbligato



Questi plasmodi sono trasferiti dalle zanzare del genere *Anopheles* all'individuo attraverso la puntura che precede il pasto di sangue. Alimentarsi con il sangue di vertebrati è una caratteristica del sesso femminile di questi insetti per portare allo sviluppo le uova.

Lo schema può essere letto nel seguente modo:

1. L'insetto specifico punge e succhia il sangue e gli AB contenuti.
2. All'interno dell'insetto si svolge il ciclo di maturazione degli AB
3. Gli AB sono trasmessi con la puntura in un ospite recettivo.
4. Nell'ospite colonizzato si manifesta la malattia. Contemporaneamente procede anche la maturazione dell'AB che diventa idoneo ad essere ripreso da un altro insetto, sempre della stessa specie.

È stato accertato che per condurre a compimento il ciclo nell'intestino dell'insetto i plasmodi hanno bisogno di una zanzara del genere *Anopheles*: possono riprodursi e svilupparsi solo in questo genere; i Plasmodi provenienti dalle zone tropicali non sono in grado di compiere il ciclo nelle *Anopheles* presenti in Europa.

Gli AB trasmessi attraverso questa via non sono esposti all'ambiente esterno: essi sono raccolti direttamente dalla sorgente tramite puntura e successiva aspirazione di piccole quantità di sangue, e direttamente inoculati nell'ospite.

**Vettori biologici facoltativi:** tra questi vettori non c'è una dipendenza specifica come avviene per i vettori obbligati; certi AB possono essere albergati e moltiplicarsi in più organismi biologici dotati d'apparati

---

anatomici atti a trasferire gli AB; il vettore può anche essere diverso per uno specifico AB; per esempio le rickettsie (batteri) possono essere trasmesse sia da zecche, che da pulci o pidocchi.

**Vettori biologici passivi:** il trasporto passivo di AB da parte di un vettore biologico è la conseguenza di una contaminazione esterna del vettore che nel transito su materiali contaminati o nell'atto di alimentarsi con prodotti contaminati, resta lui stesso imbrattato esternamente dagli AB e nei successivi spostamenti trasferisce l'imbrattamento e la contaminazioni di AB ad un ospite recettivo per contatto diretto delle mucose o su ferite o su alimenti assunti poi dall'ospite.

Un dittero come la mosca potrebbe imbrattarsi posandosi su feci contenenti cisti d'*Entamoeba histolytica*; successivamente fermandosi sul cibo rilascia le cisti che, ingerite dall'ospite, provocheranno in seguito i sintomi tipici della malattia parassitaria. Alla stessa maniera, ratti o topi possono essere vettori biologici passivi, inquinando con feci e urine derrate alimentari che diventano un veicolo di infezioni ed infestazioni.

#### **2.4.6. Condizioni dell'ospite che favoriscono la penetrazione degli agenti biologici**

Molte sono le cause che intervengono nell'influenzare la trasmissione, alcune delle quali favoriscono, altre rallentano o impediscono che l'AB raggiunga e penetri nell'organismo ospite.

Ci sono anche fattori intrinseci all'organismo recettivo che possono esercitare tale influenza, e questo costituisce una costante preoccupazione per chi deve proteggere un operatore dall'esposizione ad AB.

Bisogna precisare che le situazioni facilitanti possono essere permanenti ed intimamente connesse alla natura ed alla tipicità dell'ospite, come gli aspetti legati alla genetica del soggetto e quindi solidamente strutturati con il tessuto e la fisiologia di un organo o di un insieme di organi del soggetto recettivo.

Altre condizioni agevolanti possono invece essere legate a circostanze temporanee.

All'instaurarsi di una condizione infettiva o infestante in un organismo possono così contribuire:

|   |
|---|
| <b>Fattori caratteristici dell'ospite</b>     |
| Intrinseci                                    |
| Contingenti                                   |
| <b>Fattori presenti nell'ambiente esterno</b> |
| Climatici                                     |
| Sociali                                       |

#### **Fattori caratteristici dell'ospite**

**Fattori Intrinseci:** sono fattori legati alla natura stessa dell'ospite, dal corredo genetico tipico (origine etnica, sesso). Per alcune popolazioni è stata confermata la maggior suscettibilità verso specifici AB. Inoltre esiste una grande differenza di recettività fra le specie animali diverse per uno stesso AB ad esempio classi o specie animali sono molto recettive per certi AB verso i quali l'essere umano manifesta scarsa o nulla recettività.

Il genere dell'ospite, le differenze morfologiche e fisiologiche tra maschi e femmine sono motivi importanti per giustificare una suscettibilità difforme fra i due sessi.

**Fattori Contingenti:** sono condizioni presenti in un dato momento, e possono essere transitorie, variabili nel tempo, riscontrabili una volta o più volte nella vita di un organismo, oppure possono permanere tutta la vita. Di seguito si riporta un elenco, non completo, dei fattori contingenti corredati di una sintetica giustificazione sul perché essi sono o possono contribuire nella trasmissione degli AB:

- età
  - i soggetti molto giovani sono meno immunizzati di quelli adulti.
  - i soggetti anziani perdono molte delle capacità immunologiche prima possedute.
- alimentazione
  - le carenze alimentari riducono la resistenza alle infezioni negli organismi.
  - spesso dove ci sono carenze alimentari mancano anche le elementari strutture igieniche.
  - anche la qualità del cibo, il giusto apporto di proteine, carboidrati e vitamine è fondamentale per sviluppare in un organismo un giusto metabolismo e le adeguate capacità immunologiche.
- stato di salute
  - malattie in corso possono favorire delle super infezioni o infezioni sovrapposte.
  - malattie che abbassano le difese immunitarie dell'ospite (immunologiche, metaboliche, neoplastiche) in particolare:
    - le malattie immunologiche evidentemente riducono le difese dell'ospite
    - le malattie metaboliche (diabete, ecc.) creano, di solito, le condizioni ottimali per la colonizzazione e la replicazione degli AB
    - le malattie neoplastiche rappresentano di per sé la spia di un evento riduttivo pregresso della funzionalità del sistema immunologico. In particolare in alcune neoplasie (linfomi,

- 
- leucemie) esiste una riduzione sensibile delle risposte immunitarie da parte dell'ospite verso moltissimi gli AB, compresi quelli considerati non patogeni
- sofferenze fisiche diminuiscono le difese dell'ospite.
  - danni organici in seguito a patologie (fegato, reni, apparato respiratorio, gastrico, ecc) riducono o annullano la risposta umorale dell'ospite, ciò facilita la colonizzazione e permette anche la replicazione. dei microrganismi patogeni
  - gravidanza
  - rappresenta per l'ospite un periodo molto particolare, durante il quale in parte il metabolismo è parzialmente modificato e si assiste ad una variazione dei livelli di alcuni parametri ematici. trattamenti terapeutici che abbassano le difese organiche dell'ospite.
    - specifici trattamenti farmacologici, come in caso di trapianti d'organo, si propongono di ridurre le risposte immunologiche, proprio per evitare un rigetto dell'organo trapiantato; è ovvio che questo trattamento comporta per l'ospite un maggior rischio di essere colonizzato.
    - trattamenti antitumorali somministrati all'organismo ospite.
  - attività lavorativa usurante e/o in ambienti inquinati
    - nelle attività lavorative nelle quali il soggetto è sottoposto a condizioni fisiche dannose, come l'eccessivo sforzo fisico, lo stress, l'esposizione ad agenti atmosferici, gli sbalzi repentini d'umidità e di temperatura, si stabiliscono nel tempo situazioni organiche atte a favorire la trasmissione e la colonizzazione dell'ospite da parte degli AB
    - lo stesso risultato è evidenziabile in soggetti che lavorano in presenza di agenti inquinanti, capaci di lesioni a specifici organi oppure al sistema organico dell'ospite. Gli elementi considerati inquinanti sono quelli chimici dotati di tossicità e quelli fisici: radiazioni non ionizzanti, vibrazioni, rumore, ecc.
  - radiazioni ionizzanti
    - l'esposizione a radiazioni ionizzanti è particolarmente lesiva per il sistema immunologico dell'organismo esposto. Inoltre l'irradiazione provoca danni irreversibili a tutte le cellule dell'organismo. Il danno conseguente all'irradiazione è direttamente proporzionale sia all'intensità dell'energia irradiata, sia alla durata del tempo d'esposizione.
  - alcool
    - l'abuso di alcool produce danni in organi molto diversi inibendone nel tempo la funzionalità, in particolare del fegato. Le modifiche organiche predispongono il soggetto a divenire ancor più facilmente colonizzabile da parte dell'AB
  - fumo di tabacco
    - l'aspirazione di fumo di tabacco, sia attiva sia passiva, induce danni all'organismo esposto in maniera generale ed in particolare alle vie aeree e polmoni, predisponendo l'ospite alla colonizzazione da parte di quegli AB che penetrano attraverso le vie aeree e esplicano qui e nei polmoni i loro effetti patogeni.
  - droghe
    - tutte le droghe, in maniera ed a livelli diversi, provocano danni sistemici che vanno a discapito della corretta risposta organica ed umorale dell'ospite colonizzato.

**Fattori caratteristici dell'ambiente esterno:** la possibilità che un organismo possa essere più facilmente oggetto di colonizzazione da parte d'AB è attribuibile anche a situazioni e motivi esterni al soggetto ; ragioni legate alle condizioni ambientali, stagionali e non, influiscono direttamente sull'esito della trasmissione di AB

#### Fattori climatici

- clima atmosferico
  - il cambiamento climatico nei stagionale dei climi temperati svolge un ruolo importante nella trasmissione delle infezioni ed infestazioni, soprattutto per la presenza di numerosi vettori biologici presenti in certi periodi dell'anno e assenti invece nei mesi con basse temperature. Tuttavia i vettori in questi ultimi anni a causa del "riscaldamento globale" non solo restano attivi per molti mesi in più rispetto agli anni passati, ma accanto alle specie tipiche delle zone geografiche temperate, si sono aggiunte altre specie provenienti da zone climatiche poste a sud del pianeta, tipiche di aree tropicali, capaci di trasmettere AB e quindi malattie infettive e parassitose assenti fino ad ora, o reintrodurre patologie da tempo eradicato.
  - Il clima poi può svolgere un ruolo molto importante nella conservazione nell'ambiente degli AB permettendo un tempo più lungo di sopravvivenza nell'ambiente e quindi un aumento delle possibilità di trasmissione.
  - Il clima stagionale inoltre favorisce gli spostamenti e quindi le possibilità d'esposizione.
- area geografica

- la posizione geografica agisce in maniera determinante nella trasmissione di patologie ad eziologia infettiva e parassitaria, anche per la presenza in quei territori dei tipici serbatoi e sorgenti.
- inquinamento atmosferico
  - l'inquinamento delle aree urbane o extra urbane, provocato dall'antropizzazione e dall'industria, può da un lato favorire lo sviluppo e la diffusione di vettori biologici e quindi la trasmissione di AB, e contemporaneamente
  - può agire negativamente sugli organismi bersaglio della trasmissione, riducendo anche notevolmente la capacità della risposta dell'individuo.

**Fattori sociali:** intesi come abitudini e condizioni di vita, sono rilevanti nella trasmissione di malattie infettive e parassitarie.

- abitazioni
  - le abitazioni hanno un'importanza considerevole nella trasmissione degli AB, sia per la funzione di protezione dell'organismo ospite dagli agenti atmosferici, sia per la funzione di protezione e segregazione dai vettori biologici.
- condizioni economiche
  - buone economiche rendono possibile all'ospite di usufruire di sistemazioni abitative più idonee alla prevenzione dalle trasmissioni degli AB
- affollamento
  - l'affollamento è, senza dubbio, una condizione importante per la diffusione delle malattie infettive, che si concretizza tramite contagio diretto ed indiretto.
- tradizioni e riti
  - i riti e le tradizioni di un gruppo di persone determina spesso una trasmissione infettiva o parassitaria, in maniera particolare ove l'ospite, durante i riti, è sottoposto a traumi o lesioni (atti eroici, versamento di sangue, incisioni sul corpo o mutilazioni) o deve per rituale ingerire alimenti liquidi o solidi non sicuri igienicamente o sicuramente contaminati. Nella Guinea era d'uso che i parenti si cibassero del cervello dei congiunti morti per acquisire le "virtù" dei defunti. Questo rito è stato responsabile per molto tempo della trasmissione di una malattia denominata "Kuru", una forma d'atassia che in breve portava alla morte l'individuo colpito. Una caratteristica di questa patologia, che colpiva gli osservatori era quella che la malattia aveva una lunga incubazione, almeno 10 anni.
  - La causa per molti anni è stata attribuita ad un cosiddetto "virus lento", solo più tardi si comprese che verosimilmente, con il tessuto cerebrale era assunto un prione, resistente anche alla cottura e come ormai siamo edotti dalla trasmissione d'altri prioni, proprio il tessuto cerebrale è il serbatoio più noto.

#### 2.4.7. Condizioni dell'ospite che peggiorano gli effetti degli AB

Gli elementi presi in considerazione per rendere evidente aspetti che possono aiutare in maniera sostanziale la diffusione, la penetrazione e la colonizzazione di un organismo da parte degli AB, sono gli stessi da considerare nella valutazione del peggioramento degli effetti della colonizzazione dell'ospite.

La gravità della sintomatologia che si manifesta nel corso di un'infezione o di un'infestazione è dunque legata anche ai fattori sopra considerati come cooperatori nella trasmissione degli AB. Il decorso della malattia è subordinato all'esistenza o meno di quegli aspetti sopra trattati che incidono sull'evoluzione e sull'esito della malattia.

Nelle tabelle che seguono vengono illustrate le principali zoonosi presenti in Italia.

**Tabella 2.3 - Zoonosi trasmesse in Italia da vettori biologici (non esaustivo)**

| Vettore                      | Malattia   | Tipo di agente biologico | Sorgenti e serbatoi | Modalità di trasmissione    | Agente biologico                                |
|------------------------------|------------|--------------------------|---------------------|-----------------------------|---|
| Zanzare del genere Anopheles | Malaria    | Protozoo                 | Individuo           | Inoculazione con la puntura | Plasmodium - vivax, malarie, falciparum, ovale. |
| Zanzare del genere Culex     | Encefalite | Virus                    | Individuo           | Inoculazione con la puntura | Virus Chikungunya West Nile.                    |
| Zanzare del genere Aedes     | Encefalite | Virus                    | Individuo           | Inoculazione con la puntura | Virus Chikungunya West Nile. Dengue             |

| <b>Vettore</b>                                      | <b>Malattia</b>                   | <b>Tipo di agente biologico</b> | <b>Sorgenti e serbatoi</b>              | <b>Modalità di trasmissione</b>                                  | <b>Agente biologico</b> |
|---|-----------------------------------|---------------------------------|---|--|-------------------------|
| Zanzara del genere Phlebotomus                      | Leishmaniosi Viscerale Zoonotica  | Protozoo                        | Cani Gatti Roditori                     | Inoculazione con la puntura                                      | Leishmania infantum     |
| Ditteri   | Amebiasi                          | Protozoo                        | Malati e portatori                      | Imbrattamento cibo/acqua   | Entamoeba histolytica   |
| Zecche Genere Ixodes                                | TBE                               | Virus                           | Mammiferi Domestici e Selvatici Uccelli | I inoculazione con la puntura                                    | Arbovirus               |
| Zecche Genere Ixodes                                | Morbo di Lime                     | Batterio                        | Mammiferi Domestici e selvatici         | Inoculazione con la puntura                                      | Borrelia burdorferi     |
| Zecche Genere Ornithodoros                          | Febbre ricorrente                 | Batterio                        | Roditori Topi Scoiattoli                | Inoculazione con la puntura                                      | Borrelia recurrentis    |
| Zecche Amblyomma Ixodes Dermatocenter               | Erlichiosi                        | Batterio                        | Canidi                                  | Inoculazione con la puntura                                      | Erlichia spp            |
| Zecche Genere Rhipicephalus Haemaphysalis Amblyomma | Febbre bottonosa del mediterraneo | Batterio                        |   | Inoculazione con la puntura                                      | Rickettsia conori       |
| Zecche Dermatocenter                                | Febbre Q                          | Batterio                        | Bovini Ovini Caprini                    | Inoculazione con la puntura                                      | Rickettsia burnetii     |
| Zecche Genere Dermatocenter                         | Tularemia                         | Batterio                        | Conigli                                 | Inoculazione con la puntura                                      | Francisella tularensis  |
| Zecche Genere Ixodes                                | Malattia da Babesie               | Protozoo                        | Roditori Bovini                         | Inoculazione con la puntura                                      | Babesia spp             |
| Pulci Xenopsylla cheopsis                           | Peste                             | Batterio                        | Topi Ratti Marmotte Scoiattoli          | Agente penetra nella cute abrasa dalle feci infette del vettore  | Yersinia pestis         |
| Pidocchio Genere Pediculus                          | Febbre ricorrente                 | Batterio                        | Roditori Topi Scoiattoli                | Agente penetra nella cute abrasa dalle feci infette del vettore  | Borrelia recurrentis    |
| Pidocchio Genere Pediculus                          | Tifo esantematico                 | Batterio                        | Individui                               | Agente penetra nella cute abrasa dalle feci infette del vettore. | Rickettsia prowazekii   |
| Cimici Cimex lectularius                            | Reazioni allergiche               | Allergeni                       |   | Morso della cute   | Allergeni nella saliva  |
| Cani, volpi, gatti                                  | Rabbia                            | Virus                           | Volpi                                   | Inoculazione con il morso  | Rabdo virus             |

**Tabella 2.4 - Zoonosi trasmesse in Italia senza vettori biologici**

| Malattia                            | Vie di emissione     | Matrice                              | Tipo di agente biologico   | Sorgenti                                    | Via di penetrazione        | Agente biologico               |
|-------------------------------------|----------------------|--------------------------------------|----------------------------|---|----------------------------|--------------------------------|
| Leptospirosi                        | Urina                | Acqua Urina                          | Batterio                   | Urine<br>Roditori<br>Cani                   | Cute lesa e mucose         | Leptospira icterohaemorrhagiae |
| Gastroenteriti                      | Feci                 | Cibo ed acqua                        | Batterio                   | Uccelli, mammiferi, rettili                 | Ingestione                 | Salmonelle spp.                |
| Malattie dell'apparato respiratorio | Goccioline di Flugge | Via aerea                            | Batteri<br>Virus<br>miceti | Malati e portatori                          | Vie aeree superiori        |                                |
| Tetano                              | Feci                 | Materiali contenenti spore tetaniche | Batterio                   | Feci di mammiferi i particolare del cavallo | Punture e Lesioni profonde | Clostridium tetani             |
| Epatite A                           | Feci                 | Acqua Cibo                           | Virus                      | Malati e portatori                          | Ingestione                 | Virus dell'epatite A           |

### 3. STRUTTURA DEGLI AGENTI BIOLOGICI

Per poter esercitare un'azione preventiva e protettiva sugli operatori, e ridurre il valore del rischio al quale sono esposti è sempre indispensabile conoscere bene ciò che rappresenta il pericolo nella situazione di lavoro considerata.

Per meglio comprendere come avviene l'esposizione agli AB, come essi agiscono sull'organismo e quindi sui modi di prevenire l'esposizione, è importante conoscere la loro intima struttura e i meccanismi di riproduzione e di trasmissione messi in atto. Tali informazioni diventano indispensabili per pianificare e definire gli strumenti di prevenzione e protezione efficaci a proteggere il soggetto esposto o potenzialmente esposto.

Gli AB definiti dal D.Lgs. 81/08 possono essere organismi viventi e come tali costituiti da una o più cellule biologiche che rappresentano l'unità fondamentale di un organismo. La cellula (dal latino "cella" "piccola camera") è la più piccola struttura che può essere definita vivente ed è l'unità fondamentale di tutti gli esseri viventi; nell'ambito degli organismi e nella costituzione degli organi, le cellule si differenziano, nella struttura e nella fisiologia, in base delle funzioni chiamate a svolgere.

La cellula degli AB, considerata nei suoi elementi fondamentali della loro struttura ed organizzazione, si distingue in due tipologie caratteristiche che sono state denominate *eucariote* e *procariote*; consideriamo ora gli AB costituiti da queste cellule distinguendo quali sono gli elementi strutturali di base che le caratterizzano.

#### 3.1. Agenti biologici costituiti da cellule eucariote

Il termine eukaryota (o eucariote, eucariota, eukarya) deriva dalla fusione dei due termini greci: "Eu", "bene" e "Carion", "nucleo"; questa rappresenta il perfezionamento evolutivo della cellula; in essa si raggiungono i livelli massimi di specializzazione e di adattamento.

La struttura eucariota è quindi la forma cellulare presente negli esseri viventi (animali e vegetali) i quali rappresentano il massimo dell'evoluzione e il dominio Eukaryota comprende organismi, sia "mono" che "pluri" cellulari;

Gli organismi dotati di cellule eucariote sono: piante, funghi animali.

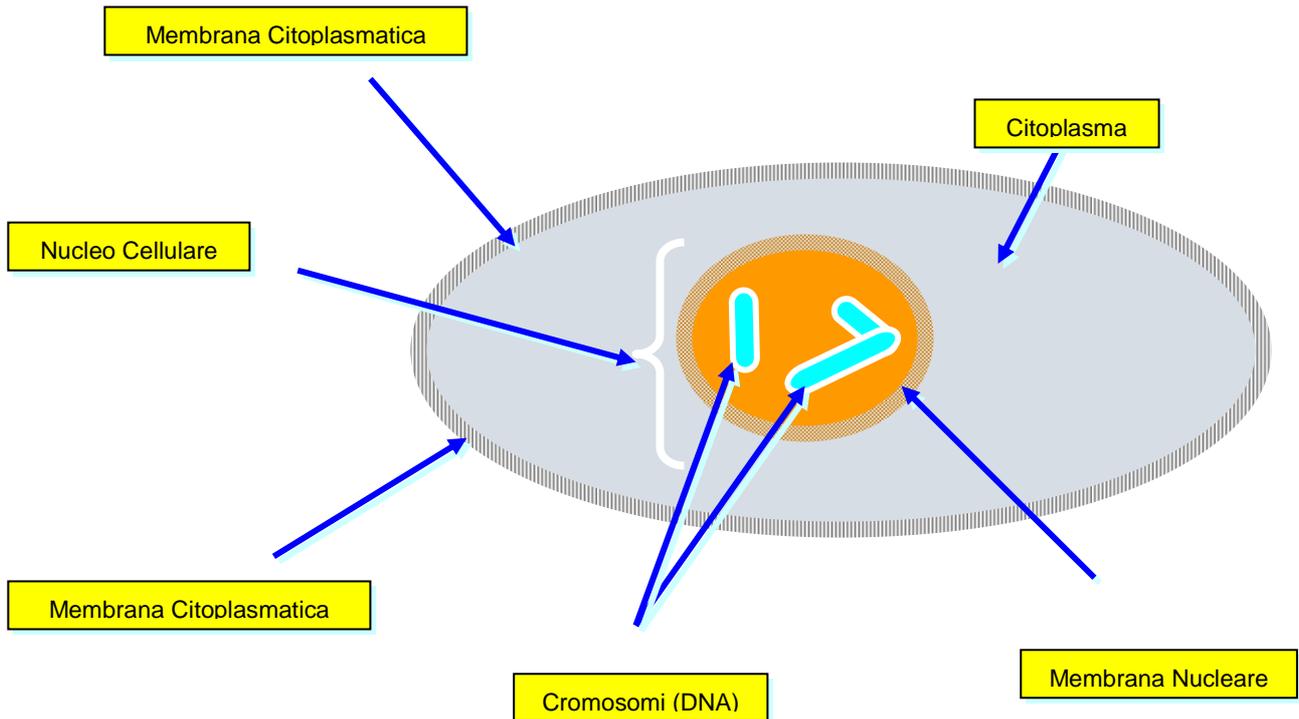
Gli elementi fondamentali che caratterizzano una cellula eucariota sono tre:

- nucleo
- citoplasma
- membrana

La cellula esternamente è delimitata da una membrana plasmatica (membrana biologica detta citoplasmatica o cellulare o plasmalemma) che racchiude il citoplasma; all'interno fluttua il nucleo racchiuso dalla seconda membrana detta nucleare (membrana biologica). Nel nucleo è contenuto il DNA.

Le cellule eucariote hanno una dimensione compresa tra i 10 ed i 30 - 50 µm.

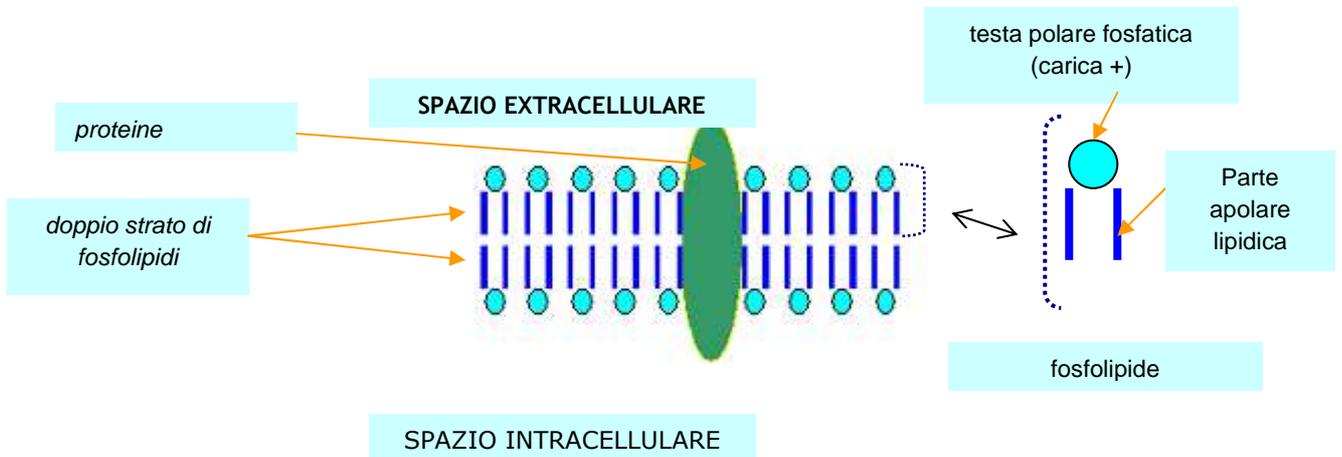
Figura 3.1 - Struttura base di una cellula eucariota



### Membrana biologica

Le membrane cellulari hanno uno spessore di 90 Å; sono costituite da un doppio strato di fosfolipidi e da proteine, immerse nei fosfolipidi.

Figura 3.2 - Schema di membrana biologica



Le molecole dei fosfolipidi hanno una parte polare ed un'altra apolare; le parti apolari dei singoli strati sono affacciate tra loro. Gli strati polari della membrana si trovano rivolti uno verso l'esterno della cellula (spazio extracellulare) ed uno verso l'interno (spazio intracellulare).

La molecola fosfolipidica ha la parte fosfatica (testa) polare, idrofila (solubile in acqua) e di conseguenza lipofoba; esse è a contatto da entrambi i lati con i liquidi: da un versante con quelli extracellulari (esternamente alla cellula) dall'altro con i liquidi intracellulari della cellula.

La parte apolare è lipidica idrofoba e lipofila, essa è quella che si contrappone allo strato polare del secondo strato; entrambe le parti lipidiche apolari compongono lo strato interno della membrana, in questa zona le molecole di lipidi sono associate anche a un ridotto numero di molecole di colesterolo.

Nella membrana, perpendicolarmente, sono affondate delle proteine complesse aventi contatto contemporaneamente nella parte intra ed extra cellulare (proteine transmembranali). Le membrane cellulari oltre al compito di separare l'ambiente intracellulare da quello extra cellulare, assumono le funzioni di filtro

e di trasportatore rappresentando il mezzo per lo scambio con l'ambiente esterno attraverso tre modi principali.

**A) Diffusione semplice:** è il trasporto passivo attraverso il doppio strato lipidico; attraverso la membrana cellulare penetrano dentro la cellula acqua ed altri soluti (ioni) di basso peso molecolare, mentre la stessa membrana si oppone al passaggio di ioni aventi un alto peso molecolare.

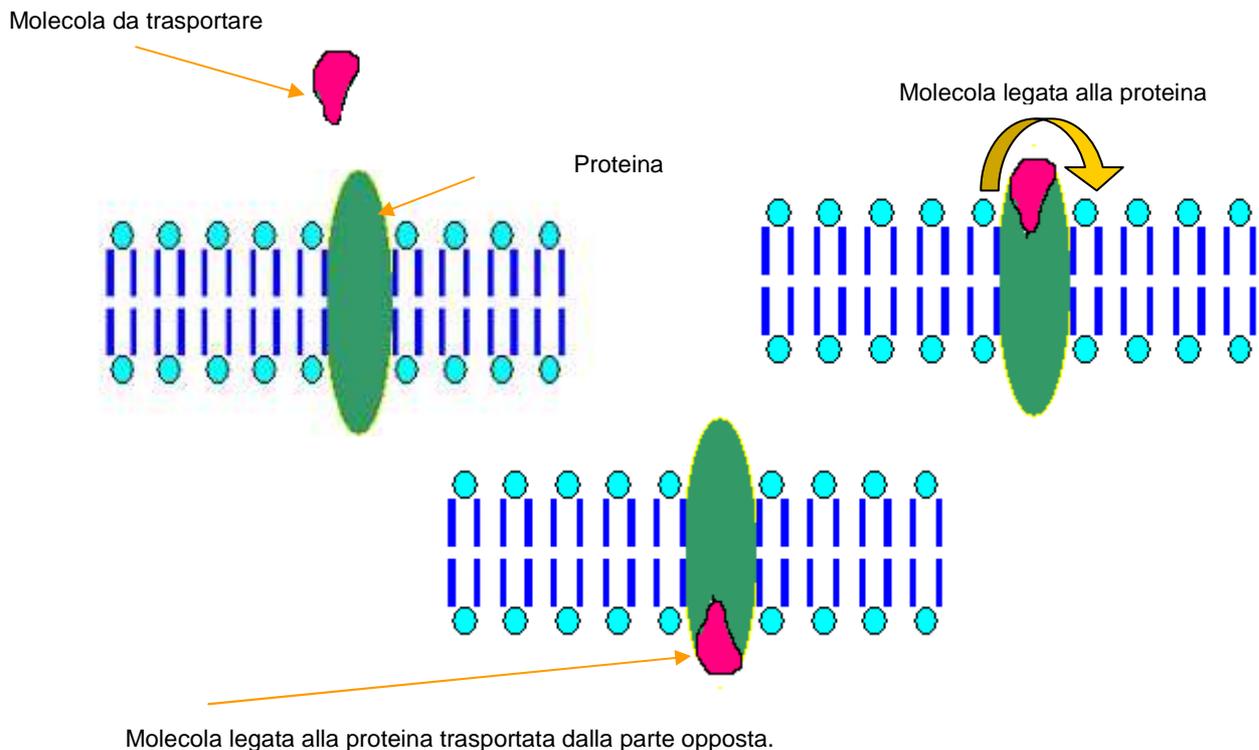
Il flusso dell'acqua avviene spontaneamente, per osmosi (dalla soluzione meno concentrata alla più concentrata); il processo osmotico tende ad equilibrare le due concentrazioni e cessa quando si è raggiunto l'equilibrio. La pressione necessaria a fermare il flusso è detta pressione osmotica ed è tanto più elevata quanto più alta è la differenza di concentrazione fra le due soluzioni.

In questo tipo di diffusione la permeabilità della membrana è determinata da più fattori:

1. liposolubilità della sostanza che diffonde,
2. dimensione e forma della molecola che penetra,
3. temperatura alla quale avviene la diffusione,
4. spessore della membrana attraversata.

**B) Diffusione facilitata:** il trasporto passivo avviene attraverso le proteine di membrana; le proteine presenti nel doppio strato fosfolipidico agiscono come trasportatori (carrier); legano le molecole da trasportare presenti da un lato della membrana e le trasportano nella parte opposta ruotando all'interno della membrana e modificando struttura e conformazione spaziale.

**Figura 3.3 - Schema di diffusione facilitata**



**C) Trasporto attivo:** avviene mediante l'utilizzo d'energia proveniente dalla cellula, da reazioni chimiche o da potenziali elettrici.

### Citoplasma cellulare

Il citoplasma è delimitato dalla membrana plasmatica ed occupa la metà del volume delle cellule.

È una matrice acquosa colloidale, che si presenta fisicamente gelatinosa, detta più propriamente citosol che contiene gli organuli e alcuni sistemi di membrane; è presente sia nelle cellule eucariote sia in quelle procariote.

La consistenza gelatinosa è determinata dalla gran quantità di proteine disperse. Contiene inoltre molecole a basso peso molecolare (amminoacidi, zuccheri semplici, nucleotidi).

Nel citoplasma sono contenuti altri organuli specializzati aventi precisi compiti per il funzionamento e riproduzione cellulare:

|   |  |                                      |
|---|--|--------------------------------------|
| nucleo  | mitocondri (di diversi tipi)                       | cisterne del Reticolo Endoplasmatico |
| apparato di Golgi                             | vacuoli (vescicole temporanee tra cui i lisosomi), | aggregati complessi come i Ribosomi  |
| fibre proteiche costituenti il Citoscheletro. | DNA  | RNA                                  |

La funzione del citoplasma è quella di svolgere tutte le principali attività della vita cellulare:

|   |                        |                         |
|---|------------------------|-------------------------|
| metabolismo                             | respirazione cellulare | movimenti della cellula |
| assorbimento                            | glicolisi              | processi di sintesi     |
| modificazioni della forma della cellula | fagocitosi             | Apoptosi                |

### **Nucleo cellulare**

È un organulo presente in quasi la totalità delle cellule eucariote (è assente negli eritrociti umani detti anche emazie o globuli rossi); può avere forme e posizioni molto differenti all'interno del citoplasma ed una grandezza generalmente in proporzione a quella della cellula.

La forma del nucleo segue la geometria della cellula (le cellule cilindriche avranno nuclei oblungi, mentre cellule cubiche avranno nuclei sferici).

La sua posizione spaziale all'interno della cellula è subordinata alle caratteristiche ed alla funzionalità della stessa.

Il nucleo cellulare è isolato dal citoplasma da una membrana formata da un doppio strato fosfolipoproteico come quella che delimita il citoplasma. Dentro il nucleo si trovano:

- la cromatina (DNA) , materiale filamentoso costituito da proteine ed acidi nucleici
- i nucleoli, immersi nella sostanza nucleare.

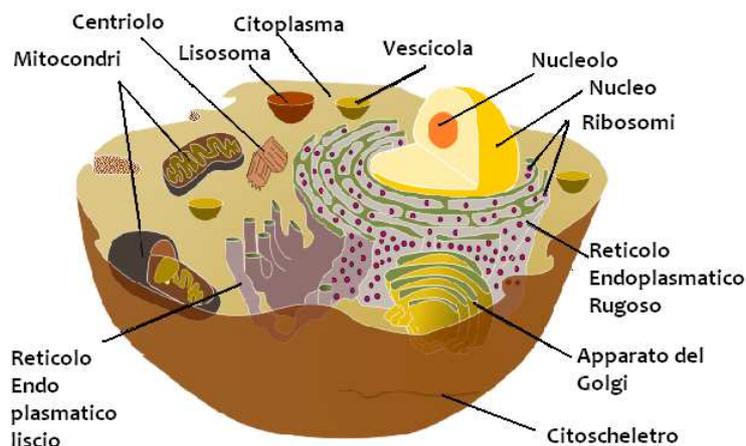
Lo scopo principale del nucleo cellulare è quello di:

- contenere gli acidi nucleici,
- provvedere alla duplicazione del DNA,
- provvedere alla trascrizione e alla maturazione dell'RNA.

Il nucleo è sede d'importanti reazioni; esso è il centro di controllo di tutta la cellula e da qui partono le informazioni che regolano la duplicazione cellulare e tutte le reazioni connesse alla funzionalità e vita cellulare.

Il DNA è costituito normalmente da lunghi e sottili filamenti; in specifiche fasi della vita della cellula, in prossimità della divisione esso è organizzato e visibile al microscopio sotto forma di bastoncelli di varia lunghezza e forma detti *cromosomi*.

**Figura 3.4 - Schema generale di una cellula**



Alcune caratteristiche comuni a tutte le cellule sono:

- la riproduzione attraverso divisione cellulare (scissione binaria, mitosi, meiosi).
- l'utilizzo di enzimi ed altre proteine (o acidi nucleici) prodotti a partire dai geni presenti sul DNA, utilizzando come intermedio DNA/proteine un trascritto di RNA (dogma centrale della biologia molecolare);
- il metabolismo, che permette alle cellule di incorporare materiali grezzi e di costruirvi componenti cellulari, di ricavarvi energia e di rilasciare i prodotti di scarto; il funzionamento di una cellula

dipende dalla sua capacità di estrarre ed utilizzare l'energia chimica contenuta nelle molecole organiche;

- la risposta a stimoli interni ed esterni, come variazioni di temperatura, pH o nei livelli di nutrienti od ormoni;
- il contenuto cellulare racchiuso in una membrana cellulare, composta da un doppio foglietto fosfolipidico.

### 3.1.1. Agenti biologici costituiti da cellule eucariote

Fra gli AB interessati dalla valutazione dei rischi quelli costituiti da cellule eucariote sono:

| Endoparassiti  | Funghi o miceti |
|----------------|-----------------|
| mono e         | lieviti         |
| Pluricellulari | dermatofiti     |
|                | muffe           |

#### Endoparassiti

Sono chiamati anche *parassiti endofagi* (letteralmente *mangio dentro*); con questo termine sono indicati i parassiti che manifestano la loro simbiosi all'interno dell'ospite parassitato, al contrario degli ectoparassiti (non considerati AB nel titolo X del D.Lgs. 81/08) che si "fissano" al soggetto parassitato sulle parti anatomiche esterne (cute, peli).

Il parassitismo è una forma di simbiosi fra due organismi, in altre parole fra due esseri viventi c'è un'interazione biologica, generalmente di natura trofica: uno è il parassita e l'altro è l'ospite. Il parassita con il tempo ha perfezionato le sue caratteristiche anatomiche e fisiologiche tanto da consentirgli la miglior vitalità ed esprimere il massimo adattamento anche in ambienti poco ospitali.

L'adattamento evolutivo conseguito gli permette di utilizzare la materia organica disponibile come fonte d'energia per vivere (a scapito di solito dell'ospite), moltiplicarsi e trasferire le nuove generazioni di parassiti in altri organismi ospiti simili o diversi secondo il ciclo biologico adottato: anche tutte le espressioni e le fasi del ciclo biologico del parassita sono il risultato di un percorso di adattamento ed evoluzione che si è perfezionato nel corso del tempo.

Gli effetti dannosi immediati del parassita sull'organismo che lo ospita possono essere molteplici; talvolta l'azione negativa è singola, ma più frequentemente si manifesta più di una azione sfavorevole. Le principali azioni patogene, provocate dai parassiti sugli organismi parassitati sono:

Azione meccanica: è una manifestazione tipica di competizione spaziale fra il parassita e l'organo, gli organi o la cellula dell'ospite. In taluni casi la moltiplicazione all'interno di spazi anatomici comporta la loro occlusione come negli:

- alveoli polmonari la *Pneumocystis carinii*, determina la morte per soffocamento dell'ospite;
- nelle forme malariche i plasmodi si moltiplicano nei globuli rossi, questo, assieme a fattori tossici associati alla patologia e alla diminuzione della plasticità della membrana cellulare degli eritrociti, provocata sempre dalla malaria, può indurre la formazione di agglomerati di plasmodi ed eritrociti nei capillari ematici che possono causare la parziale o totale occlusione dei vasi con la possibile interruzione della circolazione ematica in quel distretto anatomico.

Considerando le azioni meccaniche prodotte da parassiti pluricellulari, prevale quella di compressione di organi contro altre parti anatomiche, riducendo, modificando o provocando l'interruzione della funzionalità. Cisti epatiche di *Echinococcus granulosus* (Platelminta, Cestode) provocano una dilatazione del fegato e compressione degli organi adiacenti. Le cisti dello stesso agente sviluppate nell'encefalo possono portare a compressioni cerebrali fatali. I cisticerchi possono svilupparsi anche in altri distretti producendo compressioni in vari organi; allo stesso modo i cisticerchi di *Taenia solium* (Platelminta, Cestode).

L'occlusione di spazi più ampi quali canali digestivi, circoli ematici ecc. rappresentano azioni meno frequenti; gli effetti meccanici prodotti da AB pluricellulari dipendono dalla grandezza e dal numero dei parassiti (gli Ascaridi sono in grado di occludere l'intestino tenue, altri possono ostruire il coledoco, altri occupare l'interno dell'appendice cecale come spesso fanno gli ossiuri (*Enterobius vermicularis*)).

Azione spogliatrice o sottrattiva: è l'azione dei parassiti che più di altre contraddistingue queste patologie comunemente associate con l'aspetto biologico rappresentato da un individuo che "si nutre alle spalle dell'ospite". Le parassitosi da elminti sono quelle più rappresentative per la descrizione di queste azioni spogliatrici e attraenti dell'organismo parassitato.

In alcuni casi gli elminti parassiti provocano anemie nell'ospite, attraverso la sottrazione di sangue (emorragie intestinali), come *Ancylostoma duodenale*, o per sottrazione di vitamina B12 compiuta dal

---

Diphyllobothrium latum Lo Schistosoma mansoni in poche ore riesce a sottrarre all'ospite glucosio in quantità pari al peso secco del parassita. Tenie ed ascaridi, parassiti dell'intestino, sottraggono direttamente il cibo digerito dall'ospite.

Azione traumatica: si manifesta soprattutto in seguito alle migrazioni all'interno dell'organismo ospite ed alla moltiplicazione intracellulare dell'AB I parassiti che albergano dentro le cellule dell'ospite (parassiti monocellulari, protozoi) provocano la rottura cellulare in seguito alla loro moltiplicazione. E' questo il caso di:

plasmodi della malaria nei globuli rossi (durante la fase eritrocitaria) o negli epatociti (durante la fase esoeitrocitaria)

Giardia intestinalis danneggia meccanicamente la mucosa intestinale attraverso il disco adesivo ,

Ascaris lumbricoides può perforare l'intestino

alcuni parassiti producono ferite nell'intestino (tricocefali, Anchilostoma) o in altri organi

le filarie migrano attraverso gli organi provocando lesioni ai tessuti

Le azioni lesive sugli organi possono produrre necrosi locali oppure più estese.

Azione batterica: i parassiti monocellulari e pluricellulari non sono portatori d'altri AB ma responsabili d'infezioni locali o sistemiche da virus, batteri e miceti in seguito alle lesioni che loro provocano nei tessuti del soggetto parassitato.

Quando nella lesione prodotta dal parassita s'impantano altri AB (batteri) presenti nell'intestino (sono centinaia di milioni per grammo di feci) si creano infezioni alla parete intestinale (enterite, gastroenterite etc.).

Azione tossica: si manifesta soprattutto attraverso la produzione di sostanze che interferiscono sui meccanismi fisiologici dell'ospite. Le sostanze spesso sono enzimi liberati dai parassiti (Entamoeba histolytica produce enzimi proteolitici per lisare la mucosa intestinale) o cataboliti provenienti dagli endoparassiti.

Azione irritativa: la presenza dei parassiti in un altro organismo vivente produce lo stesso effetto della penetrazione di un corpo estraneo, esso inevitabilmente produce delle irritazioni che stimolano l'organismo o l'organo invaso a reagire all'aggressione o invasione. Le reazioni dell'ospite sono diverse:

- isolamento del corpo estraneo con reazioni tissutali,
- reazioni del sistema reticolo-endoteliale con attivazione dei macrofagi,
- fibrosi cicatriziali nei punti delle lesioni.

Azione immunoallergenica: la risposta immunologica è una logica e naturale conseguenza comune a tutte le infezioni ed è una manifestazione di protezione che l'ospite attua contro l'invasione del/dei parassita/i. La presenza dei parassiti produce una reazione immunoallergenica in seguito alla secrezione di sostanze antigeniche prodotte dal parassita o in seguito alla rottura di cisti con effetti anche gravi (esempio shock anafilattico nel caso della rottura di cisti di Echinococco (Echinococcus granulosus).

Le risposte possono essere molto diverse, complesse e dipendenti dal tipo di parassita coinvolto.

Nella malaria da Plasmodium falciparum la massiccia emoglobinuria è una conseguenza dell'emolisi da risposte immunologiche. Anche le miocarditi, componenti il quadro patologico della malattia di Chagas (Trypanosoma cruzi), sono dovute a una reazione autoimmune.

Azione cancerogena: l'insorgenza di talune forme neoplastiche è una diretta conseguenza di pregresse infestazioni parassitarie. Nei limitati casi di parassitosi che provocano nel tempo neoplasie, l'azione più spesso imputata è l'irritazione continua provocata dal parassita o da prodotti tossici sul tessuto parassitato.

L'irritazione cronica prodotta dall'agente sui tessuti invasi è probabilmente la causa prima della degenerazione neoplastica dei tessuti parassitati da Trichomonas vaginalis (parassita degli organi genitali) che si riconosce come responsabile degli stati precancerosi e cancerosi dell'utero.

Altri parassiti sono riconosciuti in grado di provocare tumori all'organo parassitato: Fasciola epatica, Schistosomi provocano rispettivamente cancro al fegato, intestino e vescica.

I criteri per distinguere e classificare i parassiti sono diversi e sempre più specifici man mano che si procede nella fine distinzione fra loro.

La prima e più evidente suddivisione fra i parassiti è quella che considera il numero delle cellule costituenti l'organismo parassita; è possibile così distinguere due gruppi di parassiti:

*Organismi monocellulari o unicellulari*: rappresentati da una sola cellula che costituisce l'intero organismo parassitario, essa è in grado di svolgere tutte le funzioni che le consentono non solo di sopravvivere entro l'organismo ospite e a spese di questo, ma anche di moltiplicarsi e diffondere l'infestazione.

Illustriamo i principali aspetti e funzioni degli organismi parassiti monocellulari. Queste funzioni sono comuni a tutti gli esseri viventi.

- *Aspetto e dimensione*: l'aspetto di queste cellule parassite è molto variabile anche nello stesso individuo, la morfologia del parassita varia durante il suo stadio di sviluppo e durante le fasi del suo ciclo biologico.

Alcuni possiedono una morfologia mutevole nel corso del loro movimento apparendo privi di una struttura che consente loro di mantenere un aspetto costante.

Cerchiamo nonostante la grande variabilità di fornire una panoramica delle forme che gli organismi monocellulari possono rappresentare.

**Figura 3.5 - Forma rotondeggiante oppure ovale**

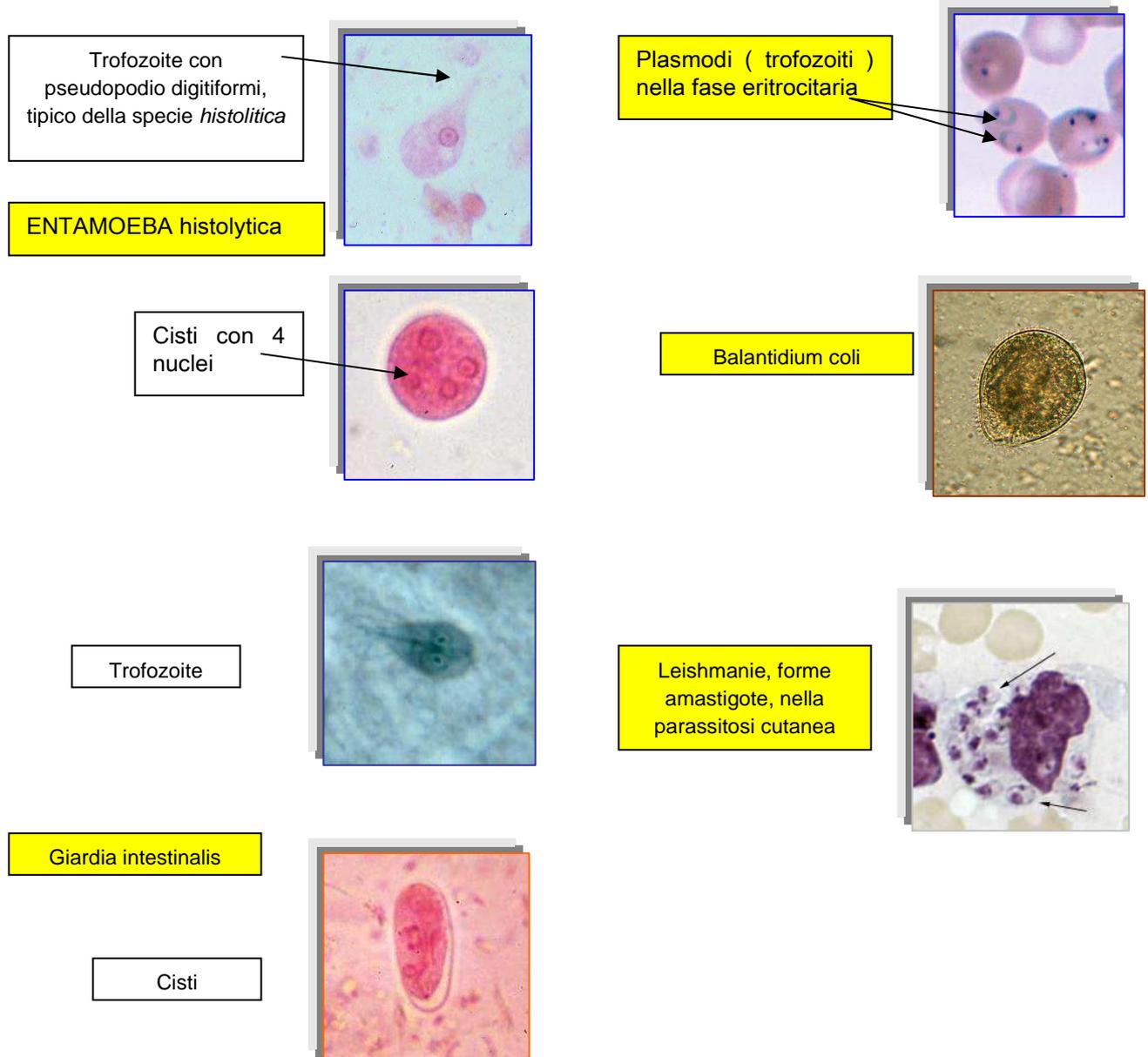
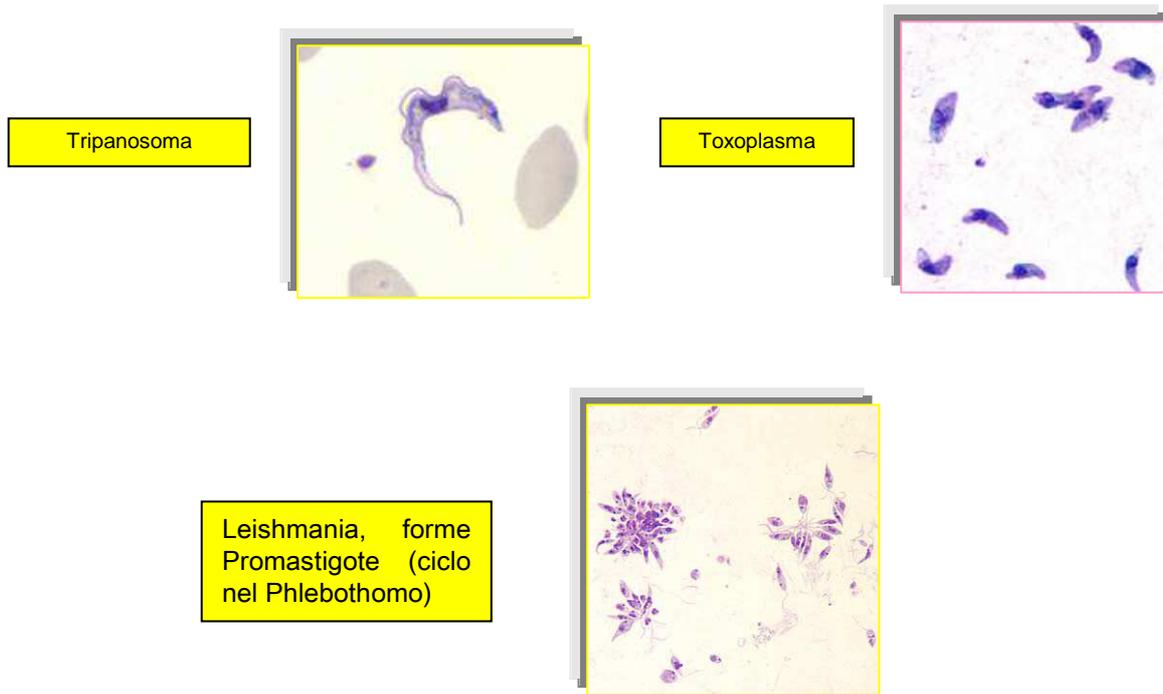


Figura 3.6 - Forme allungate



- *Funzione locomotoria*: gli endoparassiti sono soggetti a movimenti propri attraverso estroflessioni di parte della cellula o con organelli formatisi nel citoplasma e strettamente associati alla superficie cellulare.

I loro spostamenti inoltre possono essere passivi, cioè possono essere trasportati dal mezzo liquido o semiliquido in movimento entro cui sono contenuti, come nel caso di parassiti ematici trasportati dalla circolazione del sangue o trasportati dal contenuto digestivo lungo tutto il tratto gastrico e quello intestinale come nel caso dei parassiti intestinali.

I movimenti autonomi sono esercitati utilizzando caratteristici piccoli elementi della struttura cellulare; queste parti incaricate di consentire alla cellula il movimento possono essere presenti e ben distinte nella struttura cellulare oppure non distinguibili dal resto della struttura risultando estemporanee, vale a dire si notano solo al momento dell'effettivo movimento.

- Ciglia: filamenti corti e sottili, in genere sono numerose e circondano completamente l'intera cellula (ciglia peritriche). Il singolo filamento ha origine nel citoplasma e precisamente nel blefaroplasto. Il Balantidium ad esempio è un organismo dotato di molte ciglia peritriche.
- Flagelli: sono filamenti più lunghi e grossi delle ciglia ed in numero più ridotto. Spesso i flagelli sono associati a delle membrane che possono essere disposte anche su tutto il corpo cellulare, dette membrane ondulanti. Esse assumono questo nome perché tramite il moto ondulatorio da loro prodotto si ottiene lo spostamento che è sostenuto contemporaneamente anche dal flagello. Giardie e Leishmanie (forma promastigote) sono caratterizzate nell'avere solo flagelli, mentre i Trypanosomi posseggono sia ciglia che membrana.
- Pseudopodi: sono estroflessioni (digitiformi o più ampie) della membrana cellulare, assieme a parte del citoplasma contenuto nell'estroflessioni, che s'indirizza nella direzione dello spostamento della cellula. Queste estroflessioni variano continuamente in forma e dimensione e si presentano estemporaneamente nel momento dello spostamento. Questo particolare modo di spostarsi è utilizzato dai quei parassiti che hanno la cellula dotata di una grande plasticità. Le Amebe, sia quelle patogene che non, comprese quelle a vita libera (cioè che vivono nell'ambiente esterno), sfruttano questo meccanismo durante il movimento, per questo motivo è detto anche movimento ameboide.
- Movimento per scorrimento: nessuna struttura o organo cellulare è responsabile di questo moto che è prodotto dalla deformazione della forma corporea dell'intero parassita. Il Toxoplasma agisce in questo modo per i possibili spostamenti nel corpo degli ospiti parassitati, uomini ed animali.
- Inarcamento(scatto e contrazione del corpo): l'intera cellula del parassita è coinvolta nel provocare lo spostamento, entro l'ospite parassitato, attraverso una sequenza d'azioni susseguenti, che ne comportano modifiche strutturali.

- *Nutrizione*: la nutrizione dei protozoi è di natura eterotrofa; il nutrimento deve essere assimilato dall'esterno e deve essere costituito da elementi preformati (proteine, vitamine, glucidi, ecc.) liquidi o particolati, presenti negli organismi parassitari: nel sangue, cibo in digestione nel canale digerente, nei tessuti.

Le principali e più rappresentative strutture o processi adattati a compiere l'assimilazione del nutrimento sono:

- **Citostoma:** è una apertura "orale" capace di catturare le particelle nutritive, generalmente in una sospensione liquida o semiliquida;
- **Fagocitosi:** è un processo durante il quale la cellula avvolge la particella da assimilare e la trasporta all'interno nel citoplasma;
- **Pinocitosi:** la cellula assimila particelle liquide dopo averle delimitate entro un'estemporanea invaginazione della membrana cellulare. Le particelle liquide sono trasferite dentro la cellula nel citoplasma, raccolte in vescicole e digerite.
- **Osmosi:** è un meccanismo svolto grazie alla membrana cellulare, tramite il quale la cellula assimila acqua dall'esterno oppure la espelle verso l'esterno. Lo scambio, penetrazione o espulsione, avviene per gradiente osmotico, in altre parole quando esiste tra l'ambiente esterno e quello interno, una diversa pressione osmotica.

- **Riproduzione:** è una fase molto importante del ciclo biologico del parassita che garantisce la sopravvivenza della specie e quindi la diffusione nell'ambiente.

Le modalità di riproduzione, derivate dalle strategie dei parassiti, che l'evoluzione ha selezionato nel tempo, sono di due tipi: sessuale ed asessuale.

Nella **riproduzione sessuale** si ha la fusione dei gameti con la formazione dello zigote, nel quale è ripristinato il numero dei cromosomi dei genitori. La fusione si svolge tra 2 gameti con un corredo cromosomico ridotto esattamente della metà di quello posseduto dalle cellule di quell'organismo.

Nella riproduzione sessuale avviene un apporto dei geni dei due genitori in maniera casuale.

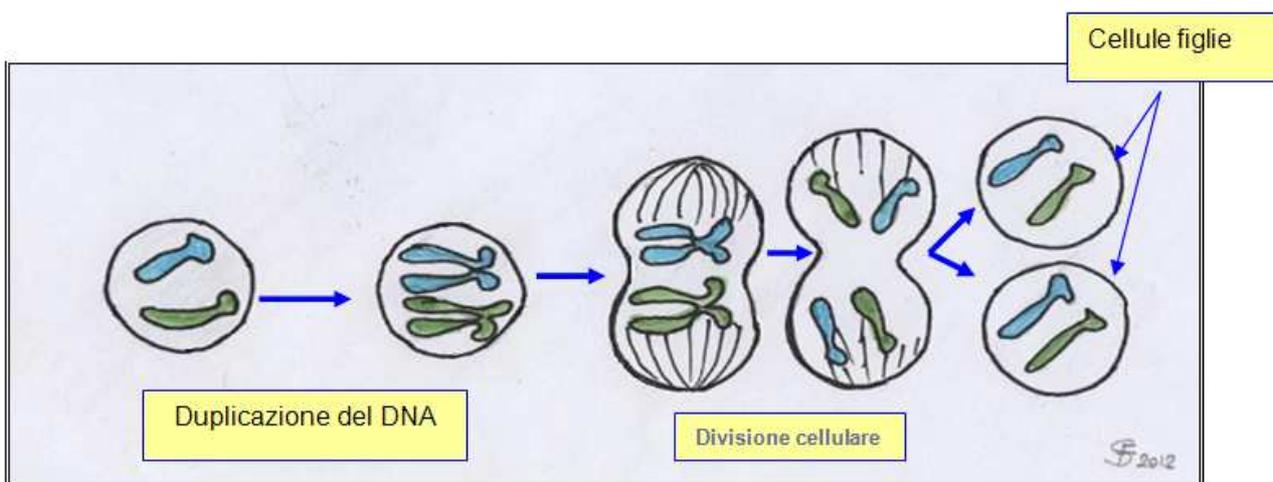
La **riproduzione asessuale** rappresenta la strategia per la riproduzione più facile e biologicamente economica per conseguire il risultato di un veloce aumento del numero degli individui di una popolazione di parassiti; riproducendosi per via asessuale l'organismo è anche facilitato dalla completa autosufficienza, non essendoci bisogno di attendere un altro individuo simile.

Nella riproduzione asessuale avviene la divisione della cellula detta cellula madre.

Esistono differenti tipologie di divisione che gli organismi possono mettere in atto. Generalmente ogni gruppo di parassiti si affida ad una sola di queste forme di divisione, raramente succede che un parassita si affidi a più di una di queste soluzioni per la sua riproduzione asessuale.

**Scissione binaria:** la divisione della cellula dell'individuo è preceduta o seguita dalla divisione del nucleo cellulare, che, con la mitosi, permette la distribuzione omogenea del corredo cromosomico ai figli.

**Figura. 3.7** -Scissione binaria



---

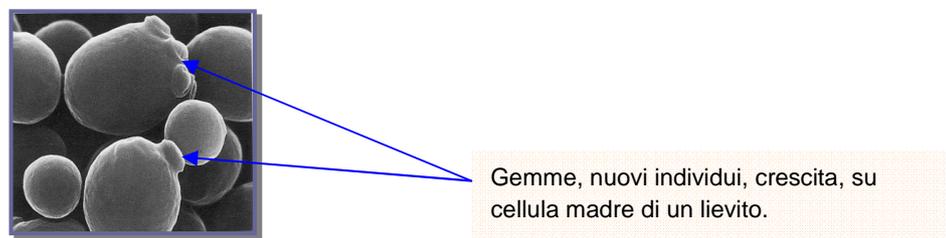
Scissione multipla o schizogonia: il nucleo, prima della divisione del citoplasma, si divide mitoticamente più volte, quindi con conservazione dello stesso numero di cromosomi ed informazioni genetiche. La cellula in divisione è detta schizonte le cellule figlie merozoiti.

**Figura 3.8** - Scissione multipla o schizogonia



Gemmazione: riproduzione asessuata, ove la cellula madre produce, in un punto della sua superficie cellulare, delle protuberanze o gemme che assumono progressivamente ed abbastanza rapidamente la struttura, l'organizzazione e la grandezza della cellula madre.

**Figura 3.9** - Gemmazione



*Parassiti pluricellulari*: sono costituiti da molte cellule, in genere differenziate per morfologia e funzionalità, deputate a formare organi anatomici specializzati in compiti differenti; essi hanno dimensioni visibili ad "occhio nudo" o con l'ausilio di deboli ingrandimenti. I principali elementi, gli aspetti particolari della vita biologica e dei comportamenti degli organismi parassiti pluricellulari sono di seguito illustrati.

Aspetto e dimensione: i diversi generi e specie che rappresentano gli agenti pluricellulari hanno dimensioni molto disparate ma sempre macroscopicamente evidenti nello stadio adulto.

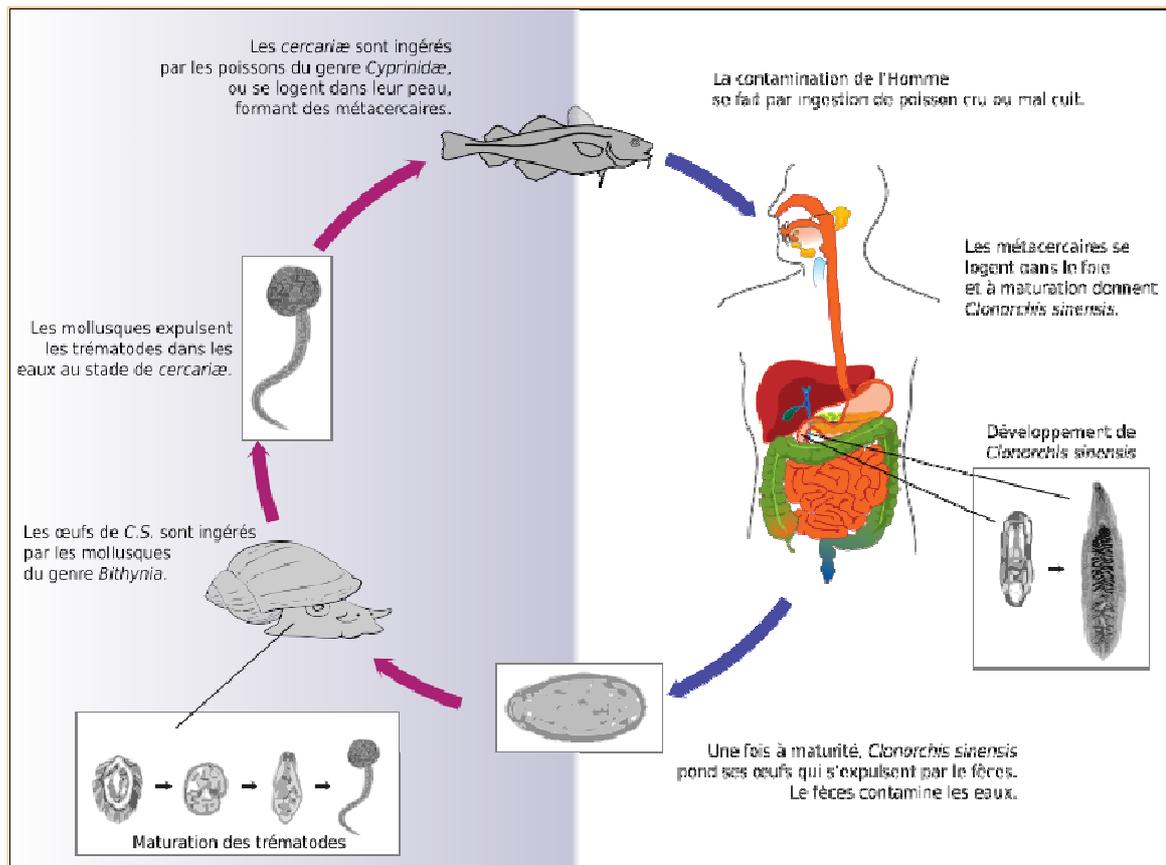
Le dimensioni in lunghezza degli individui adulti possono essere di alcuni millimetri (ossiuri, filarie) fino a vari metri (tenie) e presentano anche una larghezza superiore al centimetro. Nelle fasi che precedono la maturità invece mostrano dimensioni molto ridotte anche di decimi di millimetro.

La struttura dei corpi di questi parassiti ha una forma prevalentemente allungata, vermiforme.

Questo gruppo di parassiti, per raggiungere la maturità, passa attraverso una serie di stadi di sviluppo, mutando di dimensioni e forme, che possono essere molto diverse da quelle che assumeranno poi nello stadio adulto. Tre classi zoologiche importanti differenziano questo gruppo di parassiti:

*Trematodi*: gruppo di parassiti Platelmini (vermi dal corpo appiattito), misurano da meno di un millimetro a pochi centimetri, sono dotati di due ventose capaci di aderire agli organi dell'ospite; nella ventosa anteriore si trova l'apertura orale attraverso cui l'organismo si nutre, a cui seguono tutti gli altri organi della digestione. L'altra ventosa si trova più sotto ad 1/3 del corpo.

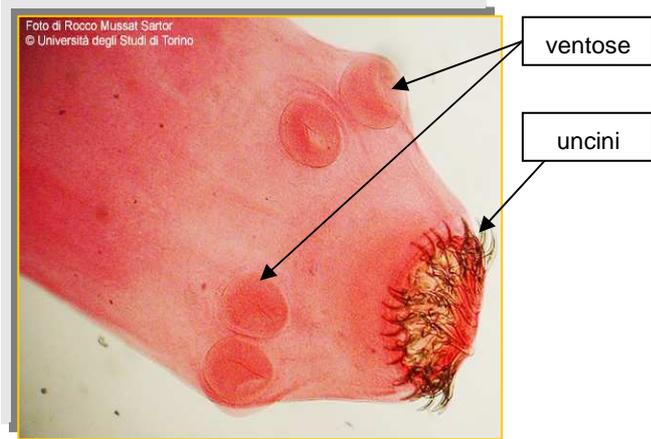
**Figura 3.10 Trematodi**



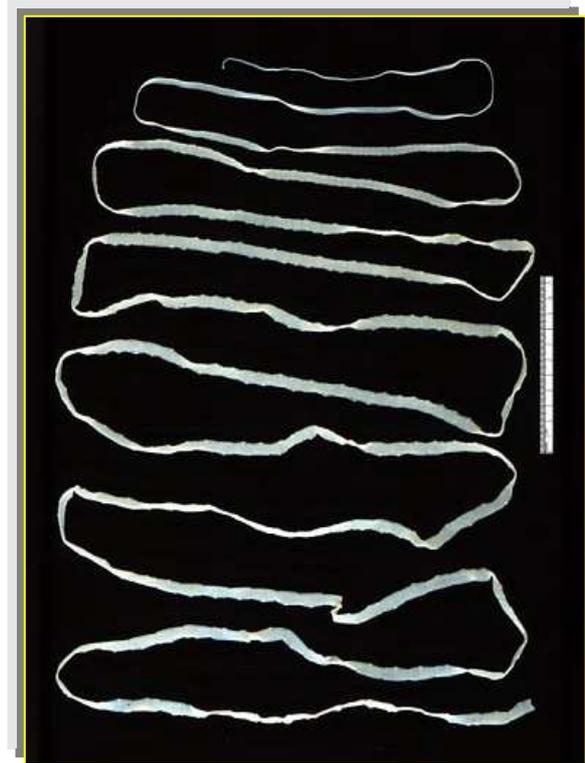
*Cestodi*: anche questo gruppo di AB ha un corpo appiattito (Platelminti) che è distinto dalla parte cefalica costituita da una specie di testa (*scolice*) di piccole dimensioni (dell'ordine di millimetri di diametro e di una decina di millimetri di lunghezza) fornita di ventose e uncini, che talvolta possono mancare, utilizzati per adesione alla mucosa intestinale dell'ospite.

Il corpo può raggiungere la lunghezza di 8 metri con una larghezza di 1-2 cm; da ciò si deduce che l'aspetto è quello di un nastro che inizia sottile e si allarga man mano. Il corpo, ad eccezione dello scolice, è suddiviso in tante porzioni simili divise o no da una strozzatura, le singole parti sono dette *Proglottidi*.

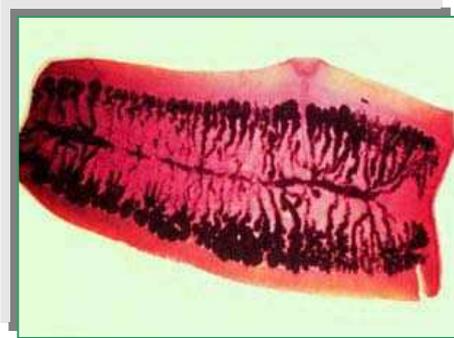
**Figura3.11 Cestodi**



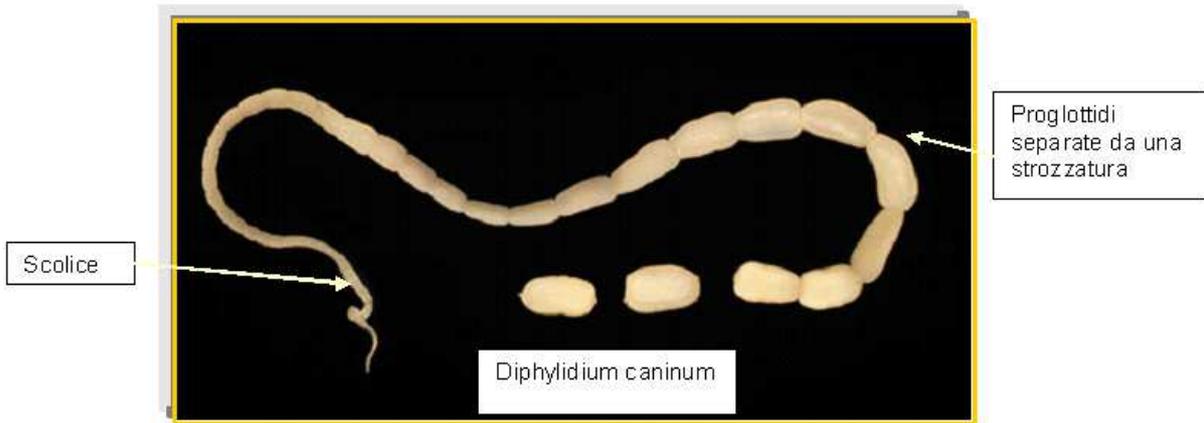
Scolice di *Taenia* "armata" dotato di uncini



*Taenia saginata*

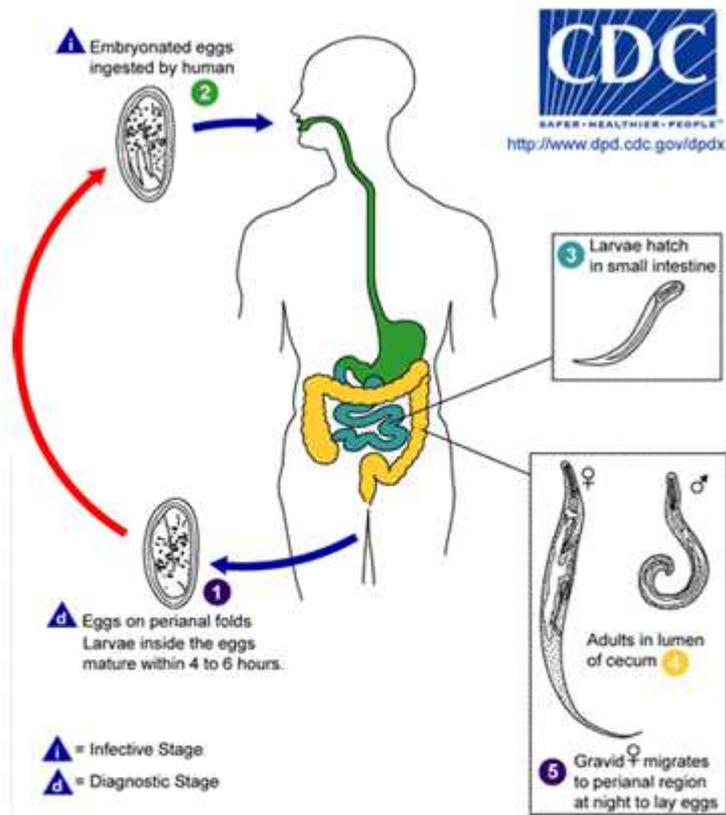


Proglottide di *Taenia saginata*



*Nematodi*: sono agenti aventi il corpo cilindrico senza segmentazione metamerica con estremità assottigliate. È distinguibile una parte cefalica ed una caudale. Spesso esiste qualche differenza morfologica che permette di distinguere i soggetti femminili da quelli maschili, normalmente questi sono anche di grandezza minore. Le loro dimensioni possono andare da qualche millimetro (*Trichinella spiralis*), ad alcune decine di centimetri (*Ascaris lumbricoides*) fino a superare il metro di lunghezza (*Dracunculus medinensis*, o verme di Medina).

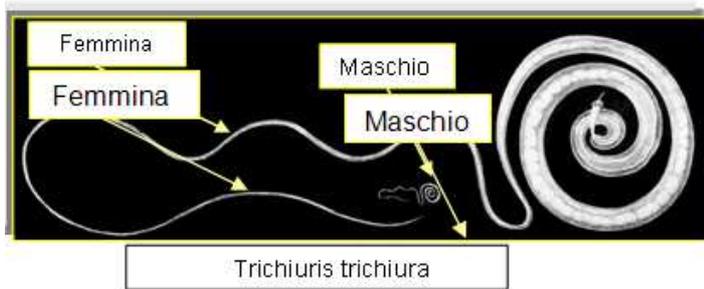
Figura 3.12 *Nematodi*



Ciclo biologico di *Enterobius vermicularis*



*Ascaris lumbricoides*



Movimento funzione locomotoria: tutti questi organismi sono dotati di muscolatura che consente loro movimenti autonomi fuori e dentro l'ospite.



Fig. 3.13 Muscolatura di un nematode nella sezione trasversale

Nutrizione e riproduzione: nella fase di maturità questi AB vivono prevalentemente:

- nel tubo digerente a contatto con i liquidi di digestione (Taenia, Ascaris, Enterobius, Ancilostoma)
- nei plessi mesenterici dell'intestino (Schistosoma mansoni, S. japonicum)
- nel plesso vescicale (Schistosoma haematobium)
- nei dotti biliari (Fasciola epatica)
- nei muscoli (Trichinella spiralis).

Nelle fasi larvali dentro l'ospite transitano attraverso più organi prima di giungere nel distretto ove siinsediano per compiere in genere la parte fondamentale del loro ciclo: la riproduzione.

Attraverso l'accoppiamento fra due individui sessualmente differenti, producono un numero considerevole di uova dalle quali emergeranno le larve per riprendere il ciclo biologico.

La nutrizione quindi è a spese dell'ospite che fornisce attraverso i liquidi organici e tessuti, compresi quelli circolanti, il giusto apporto per lo sviluppo e la riproduzione degli AB

Ciclo biologico: con questa terminologia si deve intendere il seguente percorso:

- la nascita del parassita
- lo sviluppo del parassita
- il trasferimento/i entro gli organismi degli ospiti
- il passaggio e lo sviluppo negli ospiti intermedi
- la riproduzione.

Ogni parassita ha un suo caratteristico ciclo biologico che lo contraddistingue. Durante il ciclo biologico dell'agente è possibile il transito in uno o più ospiti .

---

Si distinguono perciò i parassiti:

- monosseni, quelli che hanno un solo ospite;
- eterosseni, invece, quelli che compiono il ciclo colonizzando più ospiti.

Il ciclo biologico è espressione di un processo evolutivo che permette all'AB di sfruttare le risorse biologiche disponibili in quell'area, adattandosi alle condizioni fisiche e chimiche dell'ambiente, in particolare alle variazioni di temperatura ed umidità.

I parassiti superano le situazioni negative dell'ambiente penetrando in ospiti intermedi che ricoprono il ruolo anche di trasportatori. Altre volte il parassita, per la maturazione e lo sviluppo s'integra nelle strutture anatomiche di un ospite intermedio, adattandole al meglio per essere poi trasferito più efficacemente all'ospite definitivo.

### *Funghi o miceti*

I funghi o miceti sono organismi molto variabili in forma e dimensione, molto diffusi su tutto il pianeta, sono presenti in tutte le latitudini ed in ogni ambiente, aperto o confinato, in pratica sono organismi ubiquitari. La struttura dei miceti può essere unicellulare o pluricellulare e le cellule hanno un'organizzazione di tipo eucariote, la cui struttura però è in parte diversa dalle cellule eucariote degli endoparassiti.

La maggior parte dei funghi presenti in natura partecipano a quelle funzioni che si svolgono nel ciclo dell'azoto e del carbonio intervenendo alla degradazione del materiale organico essendo caratterizzati da una assoluta eterotrofia.

Sono organismi che si adeguano a crescere entro ampi limiti di adattabilità disponendo della facoltà di utilizzare molteplici fonti di carbonio ed azoto.

I funghi sono **eterotrofi**, privi di clorofilla, generalmente saprofiti; nel terreno possono in molti casi diventare parassiti di piante erbacee ed alberi.

Molti funghi sono stati utilizzati nell'ambito agricolo ed industriale per la produzione di alimenti, sostanze chimiche e farmaci (antibiotici).

Questi funghi non appartengono al gruppo di miceti d'interesse per la salute umana, ad eccezione di quelli produttori di tossine che possono contaminare i cibi con gravi danni per il consumatore.

Le tossine prodotte e consumate con il cibo possono provocare danni molto seri ad alcuni organi o addirittura la morte a causa dei profondi danni organici.

Ad esempio le farine, i semi, la frutta secca ecc. possono essere contaminati da alcuni specifici funghi; in certe condizioni di temperatura ed umidità i miceti, utilizzando la sostanza organica dell'alimento, si sviluppano producendo molecole tossiche (*micotossine cancerogene: aflatossine, ocratossina A, zearalenone, fumonisine, ecc.*) che diffondono nell'alimento contaminato.

I miceti o funghi considerati AB dal titolo X del D.Lgs. 81/08 sono quelli che possono costituire un rischio per la salute del lavoratore che è o può essere esposto a tali AB o ai prodotti tossici da loro elaborati.

L'individuo esposto ai miceti può inoltre subire la penetrazione degli stessi che possono insediarsi in qualche organo anatomico o può addirittura subire una colonizzazione sistemica, in pratica dell'intera struttura anatomica. Le manifestazioni patologiche conseguenti all'infezione da miceti sono dette *micosi*, mentre l'ingestione di funghi velenosi è *dettamicetismo*, e *micotossicosi* l'assunzione delle tossine micotiche. Inoltre i miceti e le loro tossine possono provocare reazioni allergiche.

**Tabella 3.1**

| AGENTE          | PATOLOGIA     | CAUSA  |
|-----------------|---------------|--|
| Miceti o funghi | Micosi        | colonizzazione di tessuti ed organi              |
|                 | Micetismo     | ingestione di funghi tossici                     |
|                 | Micotossicosi | ingestione di alimenti inquinati con micotossine |

È stato valutato che solamente un centinaio di miceti è da considerare agente biologico, cioè in grado di provocare infezioni o danni da tossine negli organismi umani. Nell'elenco dell'allegato XLVI al D.Lgs. 81/08 che riporta gli agenti biologici di 2°, 3° e 4° gruppo, sono solo 30 i miceti menzionati come genere e specie o solo come genere.

Nella patologia umana essi rappresentano una parte meno rilevante rispetto alle patologie ricondotte all'azione di batteri, virus ed endoparassiti.

Poche, inoltre, sono le micosi che provocano infezioni sistemiche con rischio elevato per la vita del paziente. Generalmente le micosi sono localizzate e l'andamento è prolungato, cronico e sub-acuto.

Le micosi sistemiche e quelle causate da funghi opportunisti appaiono in aumento a causa della diffusione di malattie che provocano un abbassamento delle difese immunologiche ed in genere organiche come le neoplasie, le malattie immunosoppressive e le terapie immunosoppressive somministrate in caso di trapianti d'organo.

Le malattie fungine possono essere distinte, con riferimento alla localizzazione dell'infezione, in tre categorie:

| Micosi       | Organi e parti coinvolte |
|--------------|--------------------------|
| superficiali | cute                     |
|              | Peli                     |
|              | capelli                  |
|              | unghie                   |
| profonde     | nodula sottocute         |
|              | Polmoni                  |
| sistemiche   | più organi sono colpiti  |

La penetrazione di un agente micotico, o di un suo prodotto, in un organismo provoca dei danni che possono avere i seguenti effetti o azioni:

- Azione meccaniche: sono manifestazioni rare che determinano l'occlusione di dotti, vasi o di cavità di transito degli alimenti. In alcune micosi si possono formare dei noduli sottocutanei anche di evidenti dimensioni con alterazioni degli spazi anatomici circostanti, compressione e stiramento del tessuto istologico. In particolari situazioni d'immunodeficienza del soggetto i funghi anche di funghi non patogeni, possono invadere tessuti provocando alterazioni delle dimensioni del tessuto colpito sia con un aumento sia con una diminuzione per "erosione". La stessa situazione si può manifestare anche in tessuti anatomici non irrorati adeguatamente, in degenerazione, nel corso di un processo necrotico di soggetti non immunodepressi.
- Azione spogliatrice o sottrattiva: l'azione di depauperare l'organismo o l'organo invaso e colonizzato non risulta evidente o prevalente nelle micosi essendo queste localizzate prevalentemente in superficie e non riuscendo quindi ad intercettare le risorse alimentari.
- Azione batterica: una conseguenza delle micosi superficiali (fra cui quelle cutanee) è favorire una super-infezione, cioè una sovrapposizione nella stessa sede di altri AB che possono colonizzare la superficie lesa dall'azione micotica. Gli AB che più spesso sono coinvolti in questa sovrapposizione sono i batteri.
- Azione tossica: è tipica di taluni funghi e si esplica nel caso d'ingestione del fungo ritenuto edule o delle micotossine prodotte dai miceti che hanno contaminato generi alimentari o parte di essi.
- Azione traumatica: questo tipo di azione è difficilmente riscontrabile nelle micosi che colpiscono l'organismo umano.
- Azione irritativa: la proliferazione del microrganismo nel tessuto istologico dell'organismo infettato è sicuramente associata ad una reazione irritativa talvolta accompagnata alla formazione di granulomi.
- Azione immunoallergenica: l'esposizione ad elementi fungini può provocare reazioni immunologiche intense, localizzate o sistemiche, come risposta dell'ospite infettato.
- Azione cancerogena: si sviluppa tramite le aflatoxine prodotte da alcuni ceppi di muffe nel corso del loro sviluppo sui prodotti alimentari.

### **Aspetto, dimensioni e struttura**

L'aspetto dei funghi è quanto mai variabile sia nella forma sia nella dimensione. La grandezza può essere tale da essere visibile ad occhio nudo fino ad arrivare a misure dell'ordine di micron.

### **Strutture particolari della cellula eucariota dei miceti.**

La struttura cellulare dei miceti, che è eucariota, possiede però due elementi strutturali presenti anche nelle cellule procariote dei batteri:

La **parete cellulare**, ha una composizione diversa da quelle dei batteri. Nei funghi la parete è formata da polisaccaridi, complessati da proteine e peptidi. Una simile composizione dà origine ad una parete rigida che nella sua primaria funzione dà forma alla cellula similmente a quanto succede per le cellule batteriche.

Rigidità e forma sono le principali funzioni a cui è deputata la parete cellulare assieme alla protezione dalle fluttuazioni osmotiche dell'ambiente.

---

La **capsula**, posta all'esterno della parete cellulare, composta da elementi simili a quelli della parete cellulare, ha la funzione di mezzo di adesione efficace sui tessuti dell'ospite, un'azione antifagocitaria e una immunosoppressiva.

Nelle azioni antifagocitaria ed immunosoppressive partecipa in parte anche la struttura della parete cellulare. I lieviti *Cryptococcoides neoformans*, *Paracoccoides brasiliensis*, e *Candida ssp.*, sono i funghi che più frequentemente elaborano queste strutture cellulari stabilendo linee cellulari con particolari prerogative di virulenza.

#### *Forme di crescita*

La coltivazione "in vitro" dei miceti su terreni sintetici consente di osservare nuove forme di sviluppo degli stessi che si differenziano anche secondo la composizione del terreno usato per la coltura. La coltura "in vitro" comporta la formazione di strutture con specifiche competenze, nelle quali sono evidenziabili i processi sia di crescita sia di riproduzione, consentendo di distinguere le differenti cellule deputate a quest'ultimo scopo.

La crescita su terreni solidi artificiali può manifestarsi in colonie simili a quelle batteriche circolari convesse, semisferiche. Possono assumere forme più rigogliose e complesse tanto da poter essere definite un organismo per la complessità e differenziazione delle sue strutture cellulari.

Nello sviluppo e crescita dei funghi, è possibile distinguere due tipologie differenti per forma, dimensione e talvolta colore, di seguito definite.

- Lieviti o blastomiceti: (diametro cellulare compreso fra i 4 e 6 micron) sono microrganismi costituiti da singole cellule sferiche o ovali, con protuberanze dovute alla formazione di gemme (gemmazione) sulla superficie esterna; questa è la maniera più frequentemente sfruttata da questi miceti per riprodursi. In alcuni lieviti, in particolare del genere *Candida*, durante la gemmazione le gemme mantengono il contatto con la cellula che le ha generate; in questa maniera dopo un certo periodo d'accrescimento è possibile osservare un "micelio" formato da un concatenamento di gemme simile ad una collana di perle ovali. Questo aspetto, osservato al microscopio, non rappresenta un vero micelio, ma uno pseudomicelio e la particolare conformazione dello pseudomicelio contribuì a classificare questi lieviti nel genere *Monilia* da "monile", oggi invece raggruppati nel genere *Candida*. Su terreni solidi le colonie assumono, dopo una notte d'incubazione, l'aspetto di una lente convessa del diametro di 3-4 mm.
- Muffe o ifomiceti: sono funghi nei quali l'ifa costituisce l'elemento principale e la sua crescita, del diametro di 2 - 5 micron e talvolta maggiore, avviene per allungamento apicale con crescite laterali che formano diramazioni secondarie. L'ifa è suddivisa internamente da setti trasversali che possono mancare in alcuni specifici funghi inferiori del genere *Mucorales*. La struttura tubolare dell'ifa presenta delle diramazioni laterali e forma un complesso d'elementi filamentosi detti micelio. Le dimensioni delle muffe sono molto diverse dipendendo dal genere e dalla specie. Generalmente crescono rapidamente raggiungendo dimensioni di centimetri dopo una notte d'incubazione; alcune hanno una crescita tanto veloce da poter apprezzarne l'aumento di diametro in poche ore. Nella colonia di una muffa possiamo distinguere due parti principali:
  - Micelio vegetativo: è quello che resta alla base della colonia, penetra nel terreno ed è delegato ad assorbire e distribuire all'intera colonia gli elementi nutritivi.
  - Micelio riproduttivo: è quello che si eleva dal terreno, forma la parte aerea e per questo detto anche micelio aereo; su questa parte di micelio sono prodotte le spore, che sono elementi differenziati dalla ifa, destinati al processo replicativo del fungo.

Funghi dimorfi: alcuni funghi patogeni (*Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*), possono assumere due morfologie in relazione alle diverse condizioni di sviluppo divenendo:

- simili ai lieviti con cellule contenenti le spore interne, quando si sviluppano nell'organismo nel quale producono la patologia fungina.
- in forma filamentosa, quando coltivati a 25°C su terreni.

#### *Movimento e funzione locomotoria*

I miceti non sono dotati di organi di movimento; il loro trasporto (limitato a porzioni piccole di ife e spore) avviene passivamente con i movimenti e le correnti d'aria.

È possibile considerare un movimento anche lo sviluppo apicale dell'ifa che cresce e si espande, lungo una o più direzioni, invadendo e colonizzando gli spazi circostanti, accrescendo di volume se le condizioni fisiche, chimiche e nutrizionali lo consentono.

### Nutrizione

I funghi sono eterotrofi ed esclusivamente aerobi. Per il nutrimento risultano essere molto adattabili, riuscendo ad utilizzare molte fonti per ricavare il necessario apporto di carbonio ed azoto. Il metabolismo dell'ifa è prevalente nella parte apicale, zona in cui confluiscono i gradienti nutrizionali e biosintetici che provocano la neosintesi della parete cellulare e quindi l'allungamento apicale. Questo comportamento che favorisce questa parte nella neo sintesi, riduce l'apporto nutritivo alle altre porzioni dell'ifa che possono, per questo, divenire ametaboliche per giungere, così, alla morte cellulare di quella parte o di quel tratto di micelio.

### Riproduzione

La riproduzione dei funghi può essere asessuata o sessuata ed ha luogo attraverso l'intervento di cellule specifiche dette spore che sono gli elementi più importanti nella diffusione dei funghi nell'ambiente ed assumono il nome che ne identifica il metodo replicativo:

- spore sessuate (o spora)
- spore asessuate (o conidio)

Tuttavia sulla denominazione delle spore non esiste ancora una totale univocità .. Più spesso sono usati indifferentemente entrambi i termini, modificati secondo le caratteristiche morfologiche della spora o del conidio.

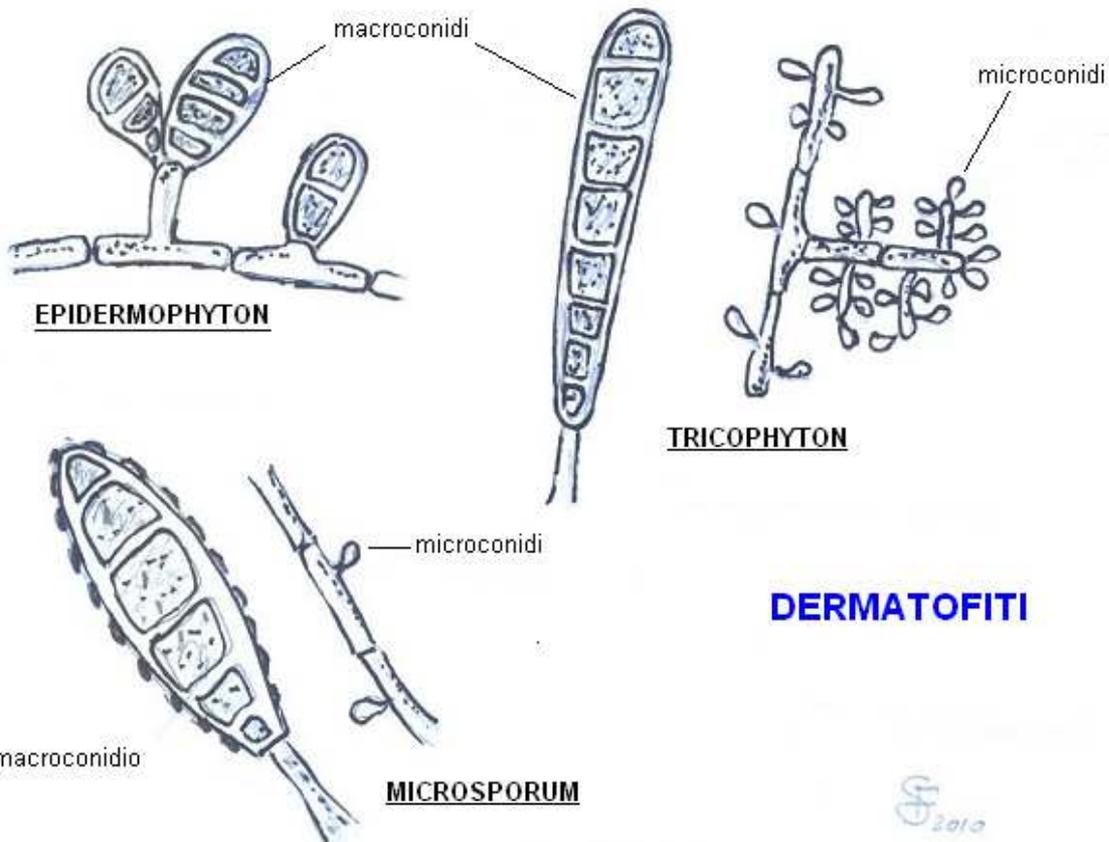
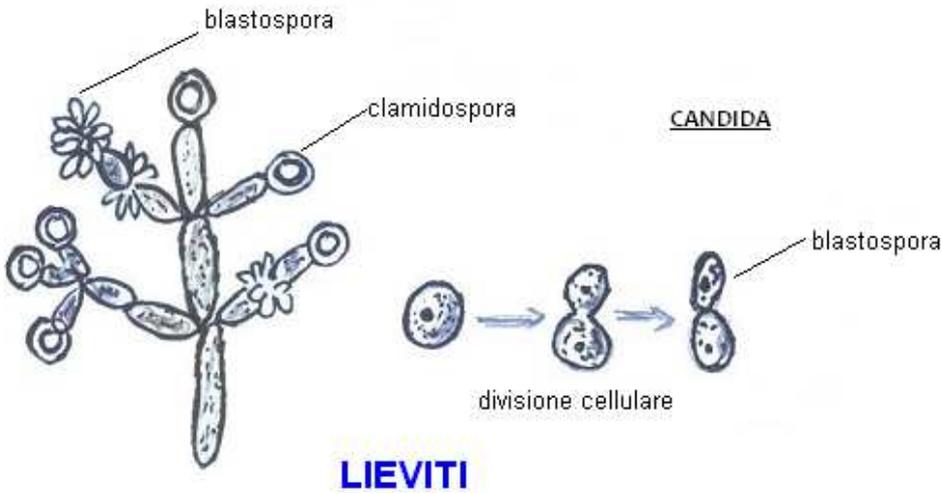
Nei funghi patogeni la riproduzione sessuata incide per una minima parte.

*Riproduzione asessuata nei funghi:* la riproduzione asessuata è la prassi riproduttiva più frequente nella propagazione dei miceti; essa avviene tramite un'unica spora con corredo cromosomico diploide, dalla quale si sviluppa un nuovo organismo. I funghi o miceti che si riproducono in maniera asessuata sono detti funghi imperfetti.

Le spore asessuate assumono morfologie differenti tipiche, spesso legate al genere o alla specie di micete da cui provengono; riguardo alla morfologia è possibile distinguerle con nomi specifici.

**Tabella 3.2** Tipi di spore asessuate

| Nome della spora | Descrizione  | Esempi  |
|------------------|--|---|
| Blastospore      | Cellule singole o gruppi di cellule che si originano per gemmazione da lieviti o da ife per un processo blastico di nuova crescita.                                      | Lieviti patogeni del genere Candida, Cryptococco, Histoplasma capsulatum, ecc.            |
| Clamidospore     | Di forma rotonda con parete ispessita. Si generano dai lieviti o ife per processo tallico.   | Candida albicans, dermatofiti.  |
| Microconidi      | Può essere un insieme di cellule disposte in catenelle o singole cellule, che si sviluppano su un organo differenziatosi dall'ifa.                                       | Presente in tutti i funghi con micelio, dermatofiti, nel genere Aspergillus, e Geotricum. |
| Macroconidi      | Sono formazioni pluricellulari con setti, pareti ed assumono forme particolari. Prendono origine dal micelio. Comunemente sono di dimensioni rilevanti rispetto all'ifa. | Dermatofiti del genere Tricophyton, Epidermiphyton, Microsporum.                          |
| Artrospore       | Le spore sono presenti all'interno dell'ifa; sono liberate dalla frammentazione dell'ifa.  | Coccidioides immitis.   |



*Riproduzione sessuata nei funghi:* rappresenta una modalità importante nella riproduzione dei miceti anche se è meno diffusa di quella asessuata. In questo processo riproduttivo le due cellule aploidi si fondono in uno zigote diploide che, in seguito, darà luogo a cellule aploidi per continuare il ciclo combinandosi poi in altri zigoti.

Molti funghi, ritenuti “imperfetti” per la mancanza di una riproduzione sessuale, sono stati poi rivalutati quando è stata accertata l’esistenza di una replicazione sessuale; quindi i miceti sono stati classificati come funghi “perfetti”.

**Tabella 3.3** Micosi nell'individuo ed agenti responsabili

| Tipo di micosi                  | Denominazione della micosi  | Agenti biologici implicati nella micosi  | Note  |
|---------------------------------|---|--|---|
| Micosi cutanee superficiali     | Dermatofiti o dermatofizie o Tigne<br>Pitiriasi<br>Ecc.   | Dermatofiti dei generi:<br>Tricophyton<br>Microsporum<br>Epidermophyton  | Micosi che interessano organi esposti all'ambiente esterno ove la temperatura è inferiore a 37°C come cute e peli   |
| Micosi superficiali mucocutanee | Candidosi   | Candida albicans   | Sono micosi sostenute da lieviti, interessano le mucose o zone esterne come le pieghe degli arti ove è mantenuta una certa umidità insieme ad una temperatura prossima ai 37°C  |
| Micosi sottocutanee             | Micetoma fungino<br>Dermatite verrucosa<br>Sporotricosi   | Madurella<br>Cladosporium<br>Sporotricum schenckii   | Micosi che interessano prevalentemente gli arti.<br>L'infezione si acquisisce in seguito a piccole ferite e traumi. Madurella e Cladosporium sono tropicali, Sporotricum delle zone temperate.  |
| Micosi profonde e sistemiche    | Criptococcosi<br>Geotricosi<br>Candidosi sistemiche<br>Istoplasmosi<br>Coccidioidomicosi<br>Blastomicosi<br>Aspergillosi<br>Mucormicosi | Criptococco neoformans<br>Geotricum candidum<br>Varie specie di Candida<br>Histoplasma capsulatum<br>Coccidioides immitis<br>Blastomyces dermatidis<br>Varie specie di Aspergillus<br>Diversi generi di muffe<br>Rhizopus ecc. | Le micosi sistemiche generalmente colpiscono soggetti con deficit immunologico (Candida, Criptococcus, Aspergilli, Rhizopus). Altre sono acquisite per inalazione di polveri o da contaminazione in laboratorio microbiologico nel corso della ricerca e coltura di miceti. L'organo bersaglio è il polmone, dal quale è possibile una disseminazione negli organi vicini. Alcuni miceti sono ubiquitari altri provengono da zone temperate altri dalle zone tropicali. |

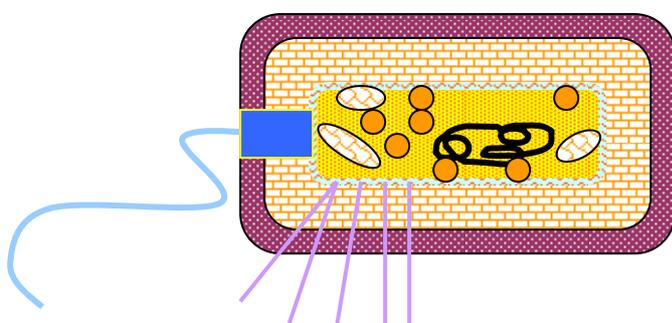
## 3.2. Agenti costituiti da cellule procariote

La cellula procariota è un'organizzazione cellulare ancestrale (primitiva) da cui è poi derivata la cellula eucariota; essa è strutturalmente più semplice e di dimensioni più piccole della cellula eucariota. Inoltre nell'organismo sono assenti parti specializzate, le quali esigerebbero condizioni ambientali specifiche che ne limiterebbero l'adattabilità e quindi ne permetterebbero la sopravvivenza solo in nicchie ecologiche ristrette; tali peculiarità hanno consentito a queste cellule di essere particolarmente adattabili agli ambienti più diversi; le rapide trasformazioni ambientali non costituiscono una barriera invalicabile per queste cellule che rapidamente riescono ad adattarsi ai mutamenti grazie alla versatilità del patrimonio genetico e biochimico divenendo così l'esempio più evidente della facilità e rapidità di adattamento biologico alle trasformazioni dell'habitat.

Gli AB procarioti di nostro interesse sono i microrganismi denominati *batteri*.

I batteri costituiscono di gran lunga gli organismi viventi più rappresentati sul pianeta, poiché colonizzano o parassitano organismi superiori ed ambienti in ogni latitudine.

**Figura 3.15** Struttura generale della cellula procariota



|                         |  |                           |  |
|-------------------------|--|---------------------------|--|
| Filamento DNA           |  | Corpo basale del flagello |  |
| Membrana citoplasmatica |  | Granuli di riserva        |  |
| Capsula                 |  | Ribosomi                  |  |
| Parete cellulare        |  | Pili                      |  |
| Spazio                  |  | Flagello                  |  |
| Citoplasma              |  | Mesosoma                  |  |

### 3.2.1. La struttura della cellula procariota

La cellula procariota, come quella eucariota, presenta il citoplasma, entro cui sono dispersi altri elementi, racchiuso da una membrana.

Consideriamo di seguito le parti della cellula procariota nel dettaglio:

**Nucleo (sostanza nucleare):** non esiste un vero e proprio nucleo cellulare ma è presente solamente un unico filamento di DNA, che si chiude ad anello senza un inizio e una fine, disperso nel citoplasma. Per questo motivo si utilizza il termine *sostanza nucleare* che rappresenta il centro dell'informazione genetica della cellula. Il filamento di DNA nel citoplasma rappresenta anche l'unico cromosoma presente.

E' nella semplicità del suo genoma che risiede la grande attitudine di questi organismi ad adeguarsi e resistere alle diverse situazioni fisico chimiche dell'ambiente facilmente mutevoli. Questa, senza dubbio, è la principale e più rilevante differenza tra la cellula eucariota e quella procariota.

**Citoplasma:** come nelle cellule eucariote, è racchiuso ed è delimitato dalla membrana cellulare. Si presenta come un gel colloidale contenente, in quantità e qualità inferiori rispetto alla cellula Eucariota, organuli costituiti da:

|          |   |
|----------|---|
| Ribosomi | Granuli di riserva                            |
| Proteine | Componenti metabolici intermedi della cellula |
| Enzimi   | sostanza nucleare DNA                         |
| RNA      |   |

---

Il citoplasma è il laboratorio metabolico, ove si svolgono tutti i processi per la nutrizione sviluppo e riproduzione cellulare. In particolare è rilevante il ruolo dei ribosomi deputati alla sintesi delle proteine. I granuli di riserva, detti anche granuli metacromatici, contengono sostanze di riserva nutrizionale ed energetica.

Membrana cellulare o citoplasmatica: è pressoché morfologicamente simile a quella delle cellule eucariote; differenti sono invece la composizione e le proprietà.

Strutturalmente le membrane dei batteri e delle cellule eucariote sono simili: si tratta di un doppio strato di fosfolipidi contenenti proteine e carboidrati nella percentuale di 40 e 60 rispettivamente. Le funzioni della membrana sono in parte simili a quelle delle cellule eucariote, ovvero contenere il citoplasma e separarlo dall'ambiente esterno, presiedere allo scambio di ioni ed altre particelle tra l'esterno e l'interno; la membrana procariota, inoltre, deve supplire alla mancanza di alcune strutture citoplasmatiche. Nello specifico le funzioni sono:

- Regolazione del flusso dei nutrienti
  - Diffusione passiva
  - Diffusione facilitata
  - Trasporto attivo
- Sede di processi biosintetici
- Produzione d'energia
- Ancoraggio per strutture accessorie
- Funzione secretoria

Una particolare e tipica struttura annessa alla membrana cellulare è il mesosoma.

Si tratta di un'invaginazione della membrana citoplasmatica contenente enzimi diversi da quelli normalmente presenti nelle membrane. Ciò si spiega con le funzioni che questa parte della membrana esplica.

Nella membrana batterica risiedono proprietà che in altre cellule sono prerogativa di specifiche strutture citoplasmatiche:

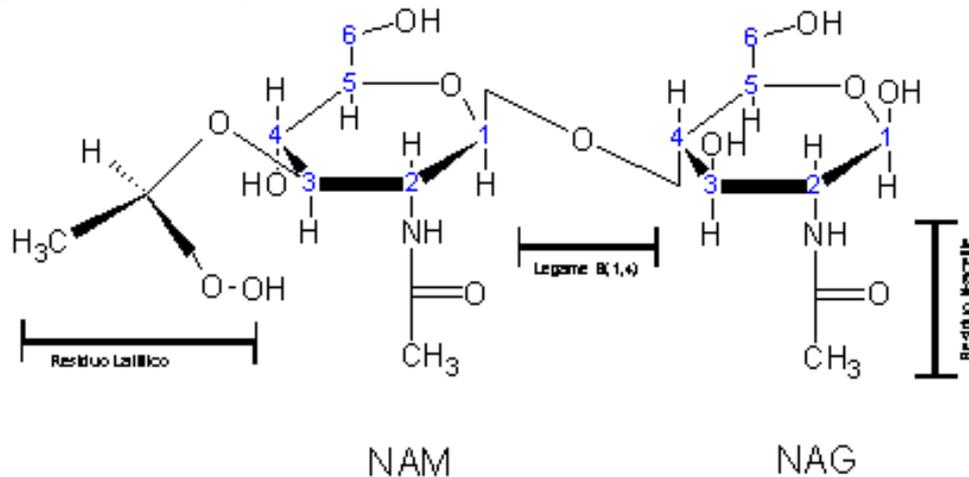
- *Funzioni respiratorie*: mancando i mitocondri, questi compiti sono svolti dalla membrana. Si pensa che i mitocondri delle cellule eucariote possano essere l'evoluzione di batteri intracellulari di queste ultime.
- *Sintesi della Cell Wall*: la membrana partecipa alla costruzione della parete cellulare dei batteri.
- *Divisione cellulare*: la membrana, in mancanza del fuso acromatico presente nelle cellule superiori, partecipa alla separazione dei cromosomi e delle cellule.

Parete batterica o Cell Wall: è una struttura di primaria importanza per gli organismi procarioti, la sua presenza consente loro di acquisire proprietà e capacità particolari: per la presenza di questa struttura, che può variare in composizione e spessore, è stato possibile fare la prima e grande classificazione dei batteri in *Gram positivi (Gram +)* e *Gram negativi (Gram -)*.

La struttura fondamentale della parete è il *peptidoglicano* o *mucopolisaccaride* oppure *mureina*, tipica dei procarioti (non è presente in alcun altro essere vivente); al peptidoglicano sono associate altre molecole polimeriche che consentono di caratterizzare e distinguere le cellule procariote in diversi gruppi immunologicamente distinti.

Il peptidoglicano è rappresentato da una sorta di reticolo in cui linee di polimeri costituiti da 2 zuccheri presenti alternativamente, sono legati fra loro da ponti di peptidi in un intreccio che somiglia alla trama di un tessuto. Questa struttura chimica reticolare si ripete più volte disponendosi sovrapposta una sull'altra fino a raggiungere uno specifico spessore che varia da una classe all'altra di batteri.

**Figura 3.16** *N*-acetil glucosamina (NAG) e l'acido *N*-acetil muramico (NAM)



Gli zuccheri polimerizzati sono il *N*-acetil glucosamina (NAG) e l'acido *N*-acetil muramico (NAM); le file di questi zuccheri sono unite fra loro da particolari legami tramite piccole catene di polipeptidi.

La struttura di base della parete batterica è diversa se la parete è quella di un Gram- o di un Gram +.

Risulta indispensabile spiegare il significato di Gram + e Gram -. Nel 1884 il medico danese H. C. J. Gram mise a punto una colorazione la quale ancor oggi è utilizzata per distinguere al microscopio i batteri che si colorano in blu, detti Gram +, da quelli che si colorano in rosso, Gram -.

Gram utilizzò coloranti basici della serie del trifenilmetano (coloranti di anilina, come il violetto di genziana) che sono poi complessati e fissati dallo iodio in soluzione, aggiunto dopo il colorante. Il successivo trattamento con un solvente organico (alcol etilico, acetone o una miscela dei due) non decolora i batteri Gram + che restano colorati in blu, mentre decolora i Gram - i quali, trattati con fucsina fenicata, sono visibili al microscopio di colore rosso.

La mureina dei Gram + risulta essere molto più spessa rispetto a quella dei Gram -; gli strati formati dai polimeri degli zuccheri sono numerosi (fino a 40); essa rappresenta il 90-95% di tutta la parete, mentre la parete rappresenta il 40-50 % dell'intera cellula, in peso secco.

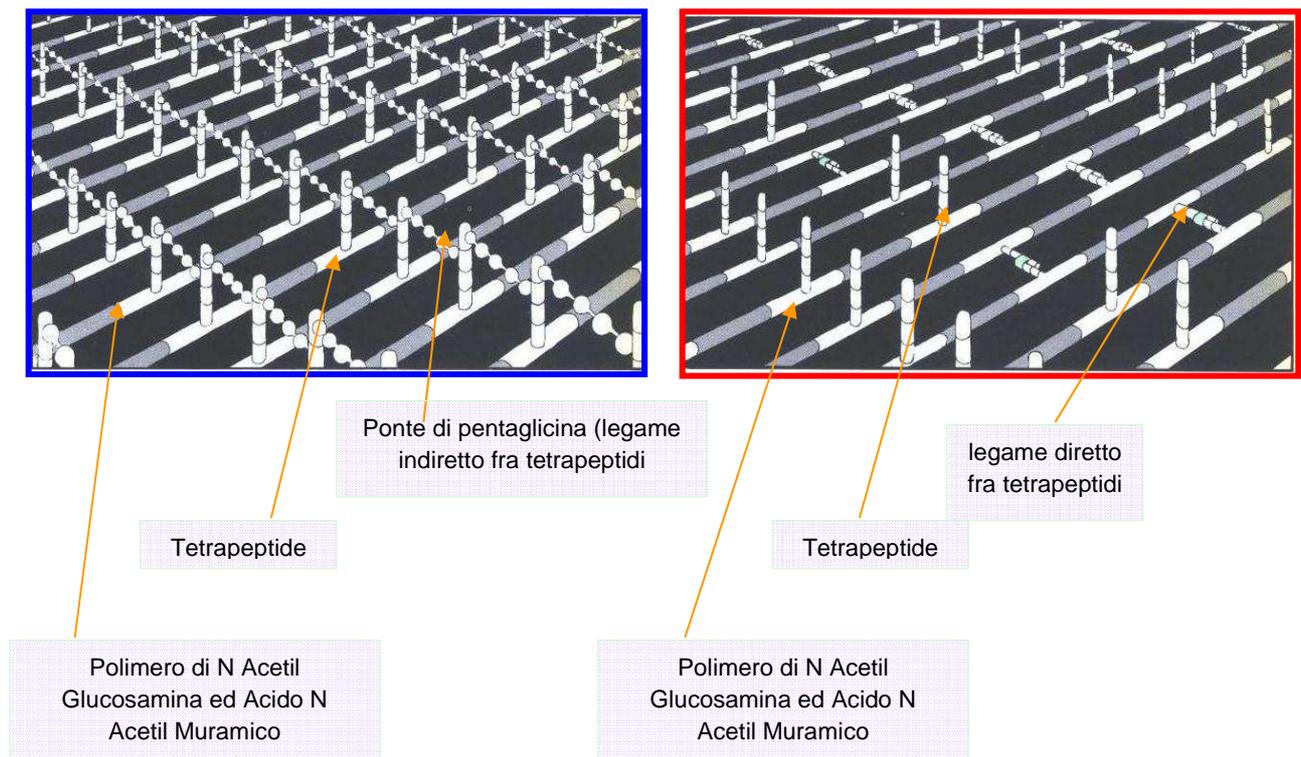
Le catene polimeriche nei Gram + sono legate fra loro da legami crociati composti di tetrapeptidi collegati da ponti di pentaglicina.

Nella parete dei Gram + si trovano anche altri componenti quali gli acidi teicoici ed il polisaccaride C.

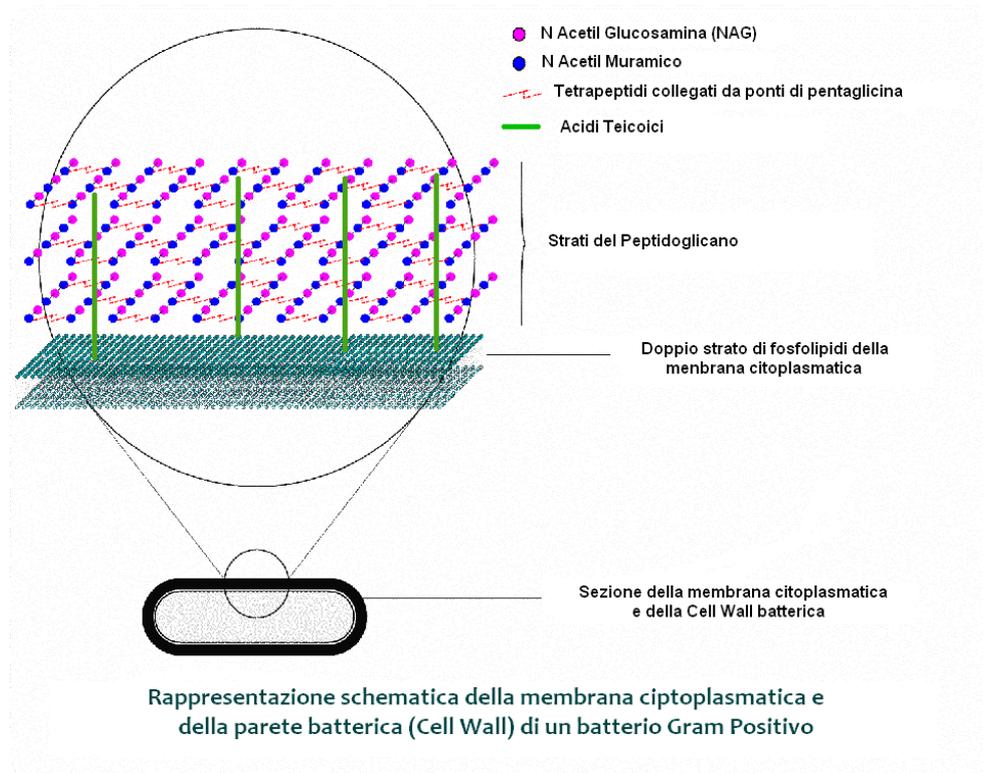
Nei Gram - la composizione della Mureina è simile a quella dei Gram +, ma la struttura differisce per alcune parti:

- lo spessore è ridotto, c'è solo uno strato di zuccheri polimerizzati e la percentuale nella parete è del 15 - 20%;
- vi è un ridotto numero di legami crociati;
- i tetrapeptidi sono legati direttamente fra loro senza il ponte di pentaglicina.

**Figura 3.17** Rappresentazione dei legami nella struttura di uno strato di peptidoglicano nei Gram positivi e nei Gram negativi



**Figura 3.18** Rappresentazione della struttura della Cell Wall nei Gram positivi



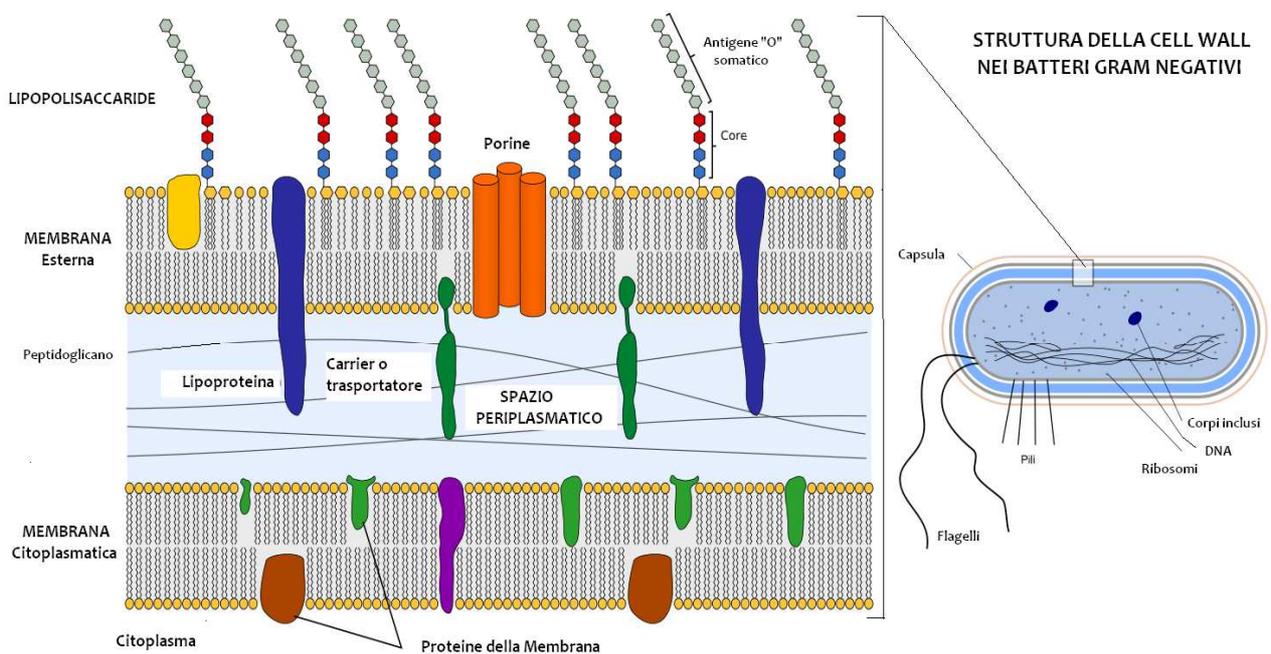
Dunque la mureina nei Gram – rappresenta una parte ridotta di tutta la parete, in compenso una parte rilevante è costituita dalla *membrana esterna*. Questa struttura citologica ha una composizione simile alle altre membrane ed è composta da una parte basale costituita da un doppio strato di fosfolipidi nei quali sono inseriti altri componenti: proteine, lipoproteine, lipopolisaccaridi. questi ultimi sono detti anche endotossine e rappresentano la parte maggiore della parete; essi possono essere distinti in tre regioni:

- Lipide A: è la regione lipidica esterna della membrana; è la parte tossica dell'endotossina ed è costituita da acidi grassi (code idrofobiche del lipide) unite a disaccaridi (testa idrofilica del lipide).
- Core: è la parte centrale, composta da polisaccaridi, uguale e costante in tutti i batteri appartenenti allo stesso genere specifico.
- Antigene O: è la regione più esterna del lipopolisaccaride, costituito da unità ripetute di 3 - 5 zuccheri. Questa parte è specie-specifica e rappresenta l'antigene somatico del batterio.

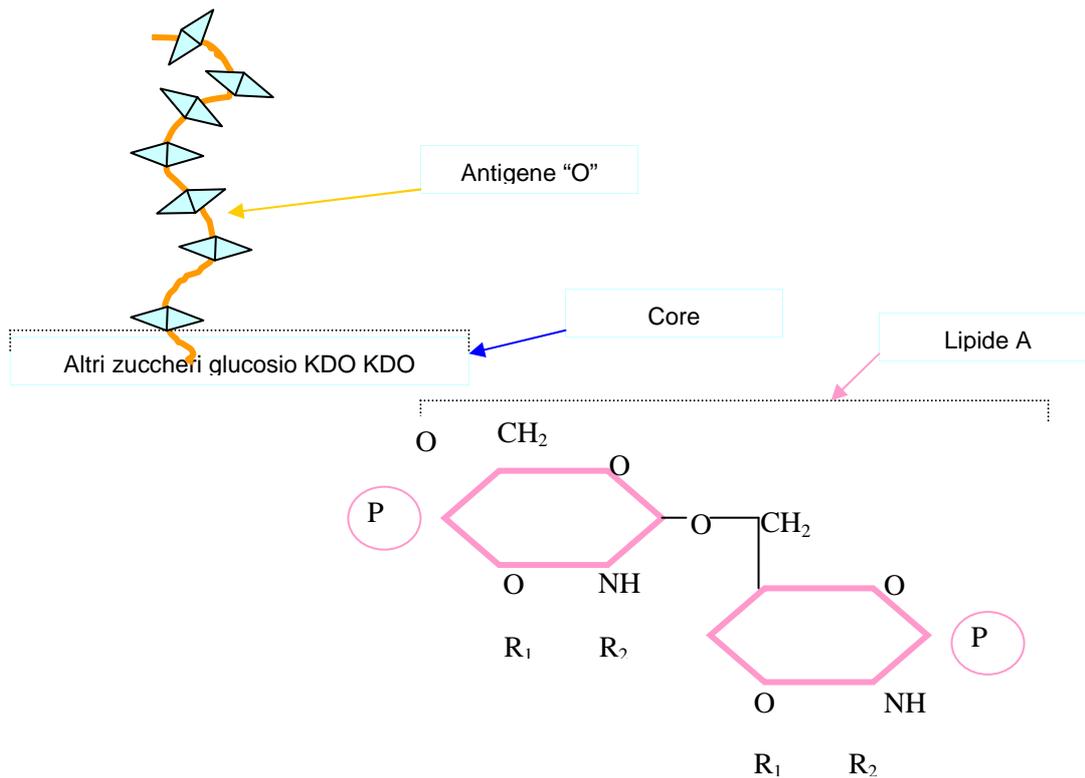
La presenza della membrana parietale contribuisce ad arricchire la cellula di peculiari proprietà che permettono ai procarioti di adattarsi a particolari ambienti, conservare vitalità e riproduzione anche in presenza di molecole chimiche potenzialmente lesive per la cellula.

La membrana parietale si comporta in maniera molto diversa da qualsiasi altra membrana biologica; essa sembra adattarsi in maniera speciale alle esigenze nutritive e riproduttive del microrganismo Gram -. Rispetto alla membrana citoplasmatica essa si comporta in maniera opposta: impedisce il transito ai composti idrofobi mentre è permeabile a quelli idrofili.

**Figura3.19** Rappresentazione schematica della membrana cellulare e parete batterica nei Gram negativi



**Figura 3.20** Parete batterica Gram -, l'antigene somatico "O"



La principale funzione della parete batterica è quella di conferire una forma alla cellula assieme ad una notevole rigidità; ciò succede, in particolare, nei batteri Gram + dove lo spessore rilevante permette alla cellula di raggiungere un'elevata resistenza meccanica rispetto a quella dei Gram - considerato il ridotto spessore della mureina ed i diversi legami fra le molecole polimerizzate.

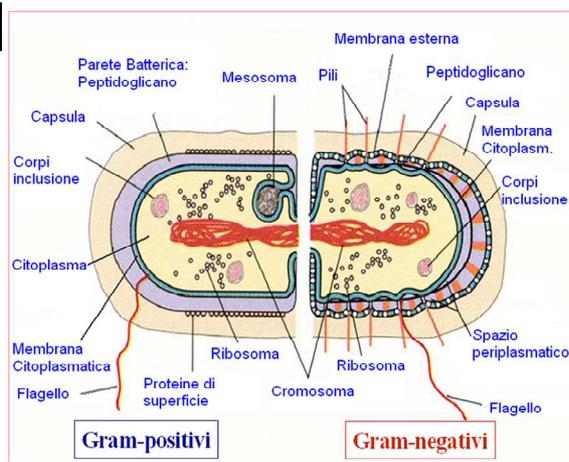
Riassumendo le funzioni della parete batterica sono:

1. protezione meccanica
2. protezione chimica
3. protezione osmotica
4. conferimento della forma
5. permeazione non specifica
6. funzione immunologica, grazie all'antigene somatico "O" o di superficie
7. funzione di virulenza, soprattutto per merito del lipopolisaccaride
8. ulteriore mezzo di ancoraggio per le strutture accessorie e per l'adesione alle superfici
9. colorazione di Gram.

**Tabella 3.4** Riassunto delle differenze fra Gram + e Gram -

|                   | Gram positivi  | Gram negativi  |
|-------------------|--|--|
| Struttura chimica | Ricco di ponti (glicina) fra i tetrapeptidi<br>Presenti acidi teicoici<br>Assenti: lipide A e Lipopolisaccaride (endotossina)      | Pochi ponti diretti fra i tetrapeptidi<br>Presenti: Liposaccaride A e Lipopolisaccaride (endotossina).<br>Assenti gli Acidi Teicoici:        |
| Struttura fisica  | Struttura tridimensionale<br>Con molti ponti, spesso lo strato della mureina.<br>Elevata resistenza fisica della parete batterica. | Strato mureinico ridotto, (un solo Strato).<br>Prevale la struttura di membrana biologica.<br>Bassa resistenza fisica, aumentata plasticità. |
| Funzioni          | Resistenza meccanica ed osmotica.<br>Funzione immunogena.  | Resistenza chimica e di permeazione.<br>Elevata funzione aggressiva per la presenza dell' endotossina.<br>Funzione immunogena.               |

**Figura 3.21** Riproduzione grafica della struttura batterica Gram + e Gram -



#### Particolari strutture nella cellula procariota

**Glicocalice o capsula:** la capsula o più correttamente glicocalice, detto anche strato mucilagginoso, è un elemento non costante dei batteri che può essere acquisito e perso secondo le circostanze ambientali e nutritive non essendo fondamentale per la vita del microrganismo. Esso conferisce ai batteri particolari caratteristiche di resistenza e virulenza come risultato di un adattamento al parassitismo.

Il glicocalice è posto esternamente ed avvolge il corpo batterico appoggiandosi su uno strato detto "S" composto da proteine e glicoproteine. .

La parte sopra lo strato "S" è composta da polimeri polisaccaridici fortemente idratati o, più raramente, da polipeptidi come nel *Bacillus anthracis* (bacillo del carbonchio).

Lo strato "S" ha la funzione di "filtro molecolare" verso molecole lesive per la cellula, cioè quelle che superano una certa dimensione (2-3 nm), in particolare risulta efficace contro gli enzimi litici.

La capsula nel suo insieme ha le seguenti funzioni:

- Resistenza alla disidratazione: gli zuccheri che formano la capsula sono molto idrofili, assorbono e trattengono l'acqua acquisita.
- Adesione al substrato o alla cellula: particolari legami derivati dalla costituzione chimica della capsula permettono l'adesione cellula – cellula e cellula – substrato.
- Riserva energetica: i polisaccaridici del glicocalice possono essere ridotti in zuccheri monomeri ed essere utilizzati come fonte di carbonio per la cellula procariota.
- Virulenza: la presenza della capsula o glicocalice nei batteri è un elemento che aumenta la virulenza del microrganismo per il fatto che la capsula inibisce la fagocitosi da parte di cellule dell'ospite, quindi al microrganismo è permessa una maggior invasività. La superficie idrofila del glicocalice impedisce l'adesione dei macrofagi al procariota; i macrofagi, infatti aderiscono a superfici idrofobe.

**Flagelli:** sono filamenti posti alla periferia del corpo batterico, possono essere assenti o in numero variabile e la loro disposizione non è costante. Le differenze d'inserimento permettono di distinguerli in quattro gruppi morfologici. Il flagello è strutturato in tre parti:

- Filamento in materiale proteico di flagellina.
- Uncino: struttura proteica che piega ad arco il filamento.
- Corpo basale: struttura complessa, differente fra Gram + e Gram -, che fissa il flagello al disco basale alla membrana citoplasmatica.

I flagelli permettono ai procarioti il movimento; in particolare negli ambienti acquosi, in seguito ad uno stimolo regolato dai chemiorecettori. La possibilità di spostarsi permette loro di raggiungere le fonti energetiche o di allontanarsi da altri elementi dannosi per la sopravvivenza.

Il movimento del filamento che porta allo spostamento della cellula è simile a quello dell'elica di un aeromobile.

*Pili*: dal corpo batterico sporgono come appendici filiformi di varia lunghezza e diametro, formati da una proteina detta pilina. Essi partecipano poco alla motilità del batterio, insieme alla capsula contribuiscono alla adesione su superfici cellulari anche di altri batteri (*coniugazione batterica*), e in quel caso sono il tramite per il fenomeno di scambio del DNA.

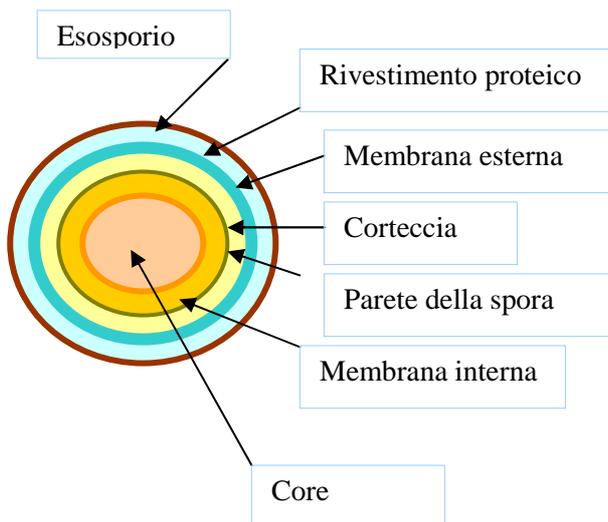
*Spora batterica*: è una cellula particolare, peculiare di determinati batteri detti sporigeni che hanno adattato la cellula batterica a trasformarsi ed entrare in una forma latente (spora) per sopravvivere quando le condizioni ambientali sono sfavorevoli o non adatte alla sopravvivenza della cellula in forma vegetativa.

La forma latente è fortemente disidratata ed il suo metabolismo in questo stato è ridotto quasi a zero; l'accrescimento e la divisione cellulare si fermano. La spora si forma all'interno del corpo batterico e, dopo la lisi della parete cellulare, viene espulsa.

Al ritorno delle condizioni favorevoli la spora si attiva, s'idrata nuovamente, ed inizia una nuova fase di crescita e divisione cellulare.

I generi batterici sporigeni sono Gram + (*Bacillus*, *Clostridium*).

Fig. 3.22 Struttura schematica della spora batterica



La spora è costituita da più tuniche, membrane e cortecce sovrapposte che derivano dalle strutture preesistenti. Le sue prerogative dipendono dalla forte disidratazione della cellula e dalla presenza di particolari molecole (ac. dipicolinico).

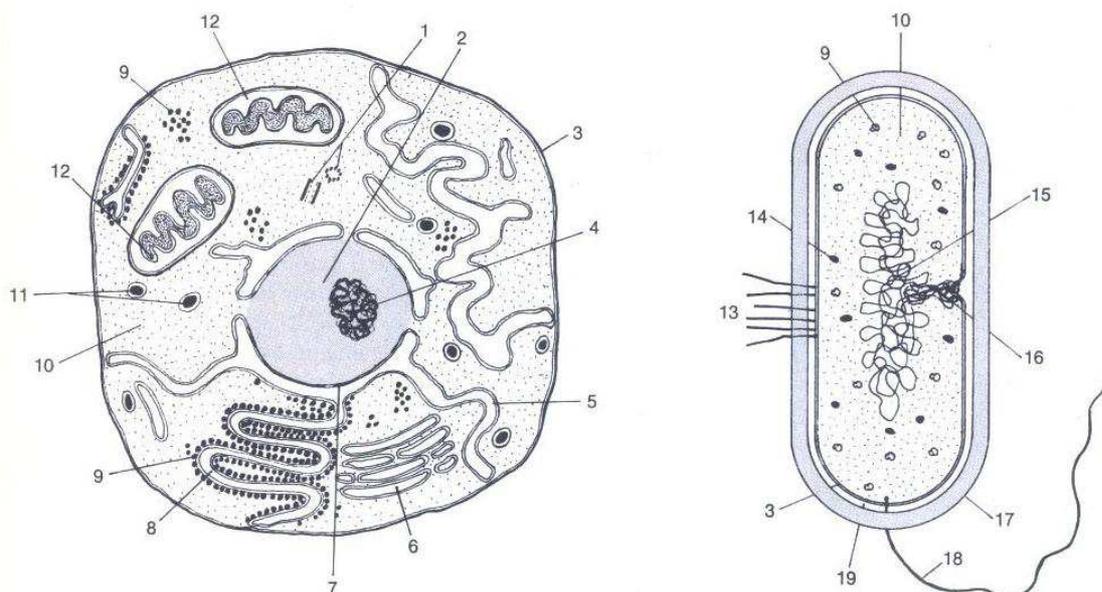
La fondamentale funzione e scopo della spora è consentire alla cellula procariota di resistere e di sopravvivere alle condizioni ambientali sfavorevoli, riducendo il metabolismo e modificando le proprie strutture in modo che la cellula sia resistente a:

- a) Temperatura
- b) Agenti chimici
- c) Agenti fisici
- d) Antibiotici
- e) Disinfettanti
- f) Enzimi litici
- g) Solventi
- h) Radiazioni ionizzanti
- i) Raggi UV.

**Tabella 3.5** Confronto fra cellule eucariote e procariote

| Struttura e componenti chimici | Cellula eucariota                  | Cellula procariote batterica    |
|--------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| Membrana nucleare              | Presente                           | Assente                         |
| Cromosomi                      | Più di una coppia di forma lineare | Singolo circolare               |
| Mitocondri                     | Presenti                           | Assenti                         |
| Apparato del Golgi             | Presente                           | Assente                         |
| Reticolo endoplasmatico        | Presente                           | Assente                         |
| Ribosomi                       | Presenti                           | Presenti                        |
| Flagelli                       | Presenti                           | Presenti                        |
| Steroli nelle membrane         | Presenti                           | Assenti/ presenti in Micoplasmi |
| Peptidoglicano                 | Assente                            | Presente                        |
| Ac. dipicolinico               | Assente                            | Presente                        |

Fig. 3.23 Rappresentazione schematica della cellula eucariota e procariota



|                                  |                                     |                         |
|----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------|
| 1 centrioli                      | 7 membrana nucleare                 | 13 pili                 |
| 2 nucleo                         | 8 reticolo endoplasmatico granulare | 14 inclusione granulare |
| 3 membrana                       | 9 ribosomi                          | 15 cromosoma            |
| 4 nucleolo                       | 10 citoplasma                       | 16 mesosoma             |
| 5 reticolo endoplasmatico liscio | 11 lisosomi                         | 17 capsula              |
| 6 apparato del Golgi             | 12 mitocondrio                      | 18 flagello             |
|                                  |                                     | 19 parete               |

### 3.2.2. Gli agenti biologici costituiti da cellule procariote

#### I Batteri: aspetto e dimensioni

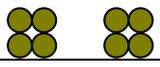
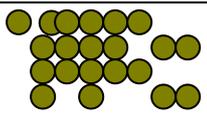
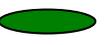
I batteri hanno una forma caratteristica, stabilita dalla conformazione della parete batterica; essa varia all'interno di 3 forme principali che contraddistinguono altrettanti gruppi batterici. All'interno di questi gruppi, essi mantengono una relativa similitudine nell'aspetto; le piccole o grandi difformità all'interno del gruppo riuniscono i batteri in sottogruppi omogenei. Le tre morfologie base sono:

- cocchi
- bacilli
- forme spirali.

Queste tre forme tipiche della cellula procariota possono subire delle lievi o più pronunciate modifiche all'interno delle diverse specie batteriche dove la lieve difformità diventa una caratteristica di quel gruppo batterico, oppure la maniera peculiare di aggregarsi delle cellule di un gruppo batterico diviene un elemento di distinzione e classificazione batterica.

Per quanto riguarda invece le dimensioni non si osservano decise differenze: i batteri sono i più piccoli rappresentanti degli organismi viventi, raggiungono solo le dimensioni di un millesimo di millimetro ( $10^{-3}$  mm, *micron*).

**Tabella 3.6** Principali forme batteriche

| Nome                            | Aspetto   | Altri possibili aspetti morfologici  | Nomi           |
|---------------------------------|---|--|----------------|
| Cocchi<br>(forme sferiche)      |  |   | Singoli cocchi |
|                                 |   |   | Diplococchi    |
|                                 |   |   | Tetrodi        |
|                                 |   |   | Streptococchi  |
|                                 |   |  | Stafilococchi  |
| Bacilli<br>(forme a bastoncino) |  |   | Bacillo        |
|                                 |   |   | Coccobacillo   |
| Spirilli<br>(forme spirali)     |  |  | Spirochete     |
|                                 |   |  | Spirilli       |
|                                 |   |  | Vibrioni       |

### Sistematica batterica

Per sistematica batterica si intende:

- *tassonomia*: un insieme di regole, morfologiche o geniche, che disciplinano il metodo di classificazione.
- *classificazione*: suddivisione dei batteri in gruppi omogenei per uno o più criteri di somiglianza.
- *nomenclatura*: denominazione attribuita ai gruppi di batteri omogenei *identificazione*: riconoscimento di un particolare ceppo batterico attraverso le regole espresse dalla tassonomia e dalla classificazione.

La morfologia che essi assumono è stato il primo elemento utilizzato per la classificazione dei batteri. I progressi tecnici e culturali hanno permesso di conoscere altri elementi utili alla classificazione tassonomica, come ad esempio la microscopia elettronica o la chimica biologica. procariota. Nelle tabelle di seguito sono riportate le principali suddivisioni tassonomiche.

**Tabella 3.7** Batteri aerobi stretti, microaerofili e aero/anaerobi facoltativi

| Cocchi e diplococchi Gram positivi | Nomi   | Sede di elezione e vie di trasmissione                                       | Malattie provocate  |
|------------------------------------|--|--|---|
| Staphylococcus                     | S. aureus                                    | Ubiquitario, trasmesso per via aerea e con oggetti.                          | Infezioni superficiali e profonde in seguito a traumi, sepsi. |
| Streptococcus                      | Streptococcus gruppo A,B,C,G<br>S.pneumoniae | Ubiquitari, mucose orali e genitali. Trasmessi per via aerea e per contatto. | Faringiti, tonsilliti, sepsi, polmoniti, infezioni genitali.  |

| <i>Cocchi e diplococchi<br/>Gram negativi</i> | <b>Nomi</b>     | <b>Sede di elezione e<br/>vie di trasmissione</b>   | <b>Malattie provocate</b>  |
|---|-----------------|---|--|
| Neisseria                                     | N. meningitidis | Presente nella mucosa orale e nasale.<br>Trasmesso per via aerea e per contatto diretto delle mucose. | Faringiti che possono evolvere in meningiti se sono superate le barriere ematoencefaliche. |
|   | N. gonorrhoeae  | Presente nelle mucose genitali, ghiandole del Bardolino, sperma.                                      | Uretrite gonococcica.  |

| <i>A bastoncino o bacillo<br/>Gram negativi</i> | <b>Nomi</b>                          | <b>Sede di elezione e<br/>vie di trasmissione</b>  | <b>Malattie provocate</b>            |
|---|--------------------------------------|--|--------------------------------------|
| Escherichia                                     | E. coli                              | Intestino,<br>Contaminazione fecale dell'acqua e del cibo.<br>Per via endogena in altri distretti (vescica). | Enteriti, infezioni urinarie, sepsi. |
| Salmonella                                      | S. typhi<br>S. enteritidis<br>S. spp | Intestino<br>Contaminazione fecale dell'acqua e del cibo.  | Gastroenteriti, sepsi.               |

| <i>A bastoncino o bacillo<br/>Gram positivi</i> | <b>Nomi</b>    | <b>Sede di elezione e<br/>vie di trasmissione</b>   | <b>Malattie provocate</b>                       |
|---|----------------|---|---|
| Corynebacterium                                 | C. diphtheriae | Presente nella mucosa orale e nasale e trasmesso per via aerea.   | Difterite.                                      |
| Bacillus (sporigeni)                            | B. anthracis   | Presente nel tessuto, nel latte di animali ammalati o morti di carbonchio. Trasmesso con le spore. Esse possono essere distribuite nel terreno o in residui animali. Le spore penetrano attraverso le ferite, inalate o ingerite. | Carbonchio cutaneo polmonare e gastro-enterico. |

**Tabella 3.8** Batteri anaerobi obbligati

| <i>Bastoncino o bacillo<br/>Gram positivo</i> | <b>Nomi</b>              | <b>Sede di elezione e<br/>vie di trasmissione</b>  | <b>Malattie provocate</b> |
|---|--------------------------|--|---------------------------|
| Clostridium                                   | C. tetani (sporigeno)    | Presenti nell'intestino umano e degli animali.<br>Le spore sono ubiquitarie e penetrano attraverso le lesioni della cute.  | Tetano.                   |
|   | C. botulinum (sporigeno) | Spore ubiquitarie nel terreno. Le spore che contaminano i cibi, conservati in stretta anaerobiosi, allo stato vegetativo producono tossine che sono poi assunte con il cibo. | Botulismo.                |

**Tabella 3.9** Batteri a bastoncino alcool- acido resistenti

| <b>Bacilli alcol – acido resistenti</b> | <b>Nomi</b>     | <b>Sede di elezione e vie di trasmissione</b>   | <b>Malattie provocate</b>                                    |
|---|-----------------|---|--|
| Mycobacterium                           | M. tuberculosis | Polmoni, latte, altri liquidi biologici anche in animali. I bacilli sono trasmessi con l'espettorato ed inalati. Ingeriti con il latte infetto. | Tubercolosi polmonare o qualsiasi altro distretto anatomico. |
|   | M. leprae       | Secrezioni nasali e tessuti cutanei. Per via aerea e per contatto continuativo.   | Lebbra.  |

**Tabella 3.10** Batteri spiraliformi

| <b>Forma allungata a spirale</b> | <b>Nomi</b>            | <b>Sede di elezione e vie di trasmissione</b>  | <b>Malattie provocate</b> |
|----------------------------------|------------------------|--|---------------------------|
| Treponema                        | T. pallidum            | Varie sedi dell'individuo malato secondo lo stadio di malattia. Prevalentemente per contatto sessuale attraverso le mucose o lesioni della cute.                   | Sifilide.                 |
| Leptospira                       | L. icterohaemorrhagiae | Nella parte prossimale dei tubuli renali di animali domestici e selvatici ed eliminata con l'urina. Penetra nell'ospite attraverso le mucose e le lesioni cutanee. | Leptospirosi.             |
| Borrellia                        | B. burgdorferi         | Mammiferi selvatici e domestici. Artropodi. Per via cutanea con la puntura di zecche.  | Malattia di Lyme.         |

**Tabella 3.11** Batteri senza parete

| <b>Batteri diritti o incurvati Gram negativi</b> | <b>Nomi</b> | <b>Sede di elezione e vie di trasmissione</b>  | <b>Malattie provocate</b> |
|--|-------------|--|---------------------------|
| Vibrio   | V. cholerae | Uomini malati, portatori sani, frutti mare. Ingestione di acqua e alimenti contaminati | Colera.                   |

| <b>Batteri senza morfologia costante</b> | <b>Nomi</b>   | <b>Sede di elezione e vie di trasmissione</b>          | <b>Malattie provocate</b> |
|--|---------------|--|---------------------------|
| Mycoplasma                               | M. hominis    | Mucose genitali. Rapporti sessuali.                    | Uretriti.                 |
|  | M. pneumoniae | Mucose respiratorie. Tramite la via aerea con aerosol. | Polmoniti atipiche.       |

### 3.2.3. Processi patogeni esercitati dai batteri

Non tutti i batteri sono patogeni o sono associati ad un danno per la salute. La maggior parte dei batteri presenti sul pianeta non è associato con le malattie infettive umane anzi, spesso le loro esigenze ed il loro metabolismo non sono compatibili con le condizioni offerte dall'organismo umano o animale. Limitando l'osservazione ai batteri endogeni ed esogeni dell'essere umano è possibile discriminare fra i batteri che

---

normalmente sono presenti nell'organismo umano ed in altri animali e che non sono dannosi per l'ospite, e quelli propriamente patogeni.

Alcuni batteri possono insediarsi, superficialmente o internamente ad un organismo, senza avere una particolare funzione o cagionare alterazioni metaboliche o funzionali, anzi talvolta la loro presenza risulta importante per la salute dell'individuo ospite e per la prevenzione di infezioni da parte di specie o ceppi di AB patogeni.

I batteri presenti sulle mucose (orali, nasali, genitali, oculari, intestinali, ecc) vivono in simbiosi con l'organismo colonizzato e sono definiti più propriamente batteri saprofiti o batteri commensali. Solamente in specifiche condizioni, normalmente coincidenti con alterazioni funzionali, metaboliche o più spesso immunologiche dell'individuo umano o in concomitanza di particolari infezioni sistemiche o di un solo organo, i batteri cosiddetti saprofiti possono diventare, per quell'individuo, causa di una patologia infettiva.

Altri batteri, normalmente non patogeni, talvolta possono essere fonte d'infezione (in questo caso sono definiti opportunisti); tali batteri possono anche essere il risultato di ceppi mutati per cause diverse, non ultima la terapia antibiotica.

Comunemente, i batteri opportunisti possono raggiungere distretti organici normalmente sterili dove non devono competere con altri microrganismi per la colonizzazione del sito; questo, assieme ad altre possibili condizioni dell'organo occupato, favorisce lo stato patologico infettivo.

In tutte le manifestazioni infettive sostenute da batteri opportunisti, per il successo dell'infezione sono sempre molto importanti le condizioni di salute e quelle fisiologiche generali dell'organismo invaso.

Nell'organismo umano, i distretti occupati da una flora commensale o saprofita sono:

- la cute
- i peli ed i capelli
- le mucose orali
- le mucose nasali
- le mucose oculari
- l'intestino
- le mucose genitali sia maschili che femminili (nel sesso femminile la flora presente nel periodo fertile è diversa da quella presente in pubertà e nella menopausa).

Gli altri distretti ed organi sono ritenuti sterili.

In considerazione di quanto su espresso, possiamo affermare che la patogenicità di un microrganismo è un concetto relativo ed è la conseguenza di un bilancio fra lo stato immunitario del soggetto e la patogenicità o virulenza intesa come capacità di un organismo di moltiplicarsi all'interno di un organismo vivente.

La relatività di un agente infettivo è evidente quando si constata che un batterio innocuo per la maggior parte della popolazione è patogeno per alcuni soggetti sottoposti a trattamenti fisici (radiazioni ionizzanti), chimici (antiblastici) o colpito da malattie debilitanti o che deprimono il sistema immunologico.

I batteri patogeni, come abbiamo visto nel cap. 2, attraverso diverse vie riescono a colonizzare un organismo. Altri provocano il danno e la patologia con la produzione di tossine nel cibo che poi sono ingerite con il cibo contaminato.

I meccanismi di azione patogena dei batteri possono essere ricondotti a due forme principali:

*Colonizzazione di tessuti e cellule:* questo fenomeno passa attraverso l'interazione del microrganismo e la superficie dell'organo in fase di colonizzazione. Questa fase si svolge in tre tappe che avvengono sulle mucose per i  $\frac{3}{4}$  del totale delle infezioni:

- *Associazione:* in questa fase al batterio è permesso di stabilirsi molto vicino al tessuto da colonizzare, dalla grazie alla presenza sulla superficie della cellula eucariota di proteine che sono associate a quelle espresse dalla cellula procariota.
- *Aderenza:* la cellula procariota aderisce a quella eucariota attraverso un "ligando" chiamato "adesina". L'adesina si mette in stretta relazione con il recettore della cellula eucariota; questa interazione è molto specifica e ciò può spiegare la specificità di specie e d'organo di molti batteri.
- *Invasione:* i batteri dopo le due prime fasi sono adesi alla superficie cellulare ed in quella sede si moltiplicano. La successiva fase è quella della penetrazione, cioè dell'invasione. I batteri in grado di invadere i tessuti dell'ospite sono detti invasivi. La fase di invasione è molto complessa e prevede che il batterio abbia delle particolari capacità come quella di sopravvivere nel vacuolo dell'endocitosi durante la penetrazione.

*Elaborazione di tossine, con danno sui tessuti o mediatori chimici per la modificazione della funzionalità degli organi:* le tossine batteriche hanno una struttura chimica proteica (proteine semplici o complesse, a volte associate con glucidi e lipidi) o lipopolisaccaridica. Esse hanno un ruolo spesso decisivo nella patologia infettiva: la loro attività influisce sul metabolismo cellulare provocando alterazioni che modificano il modo di funzionare della cellula, del tessuto o provocano variazioni che causano in un tempo più o meno lungo la

morte cellulare. Una prima classificazione delle tossine batteriche porta a dividerle, in considerazione alla struttura e alla posizione nella cellula batterica, in due gruppi:

- *Tossine endo cellulari o endotossine*: derivano dalla struttura chimica del microrganismo, in particolare esse sono rappresentate dal lipopolisaccaride che costituisce la porzione più esterna della membrana esterna dei batteri Gram negativi. La parte più importante di questa tossina corrisponde alla parte lipidica cioè al Lipide A (vedi parete batterica Gram -). Le endotossine formano un gruppo omogeneo dal punto di vista della struttura molecolare e biologica e manifestano la loro azione con la lisi della parete cellulare. Nell'organismo umano la lisi di grandi quantità di batteri Gram - produce una serie di sintomi a cominciare dal rialzo termico a cui seguono altri fenomeni più o meno importanti che possono anche arrivare al decesso del colpito.
- *Tossine extra cellulari o esotossine*: non derivano dalla struttura cellulare, sono sintetizzate all'interno della cellula batterica o dentro la spora e sono escrete totalmente dalla cellula batterica, vengono poi diffuse nell'ambiente circostante senza apparente lisi cellulare. Esse sono prodotte sia dai batteri Gram + sia dai batteri Gram -, hanno una conformazione chimica proteica<sup>3</sup> ma non sono fra loro omogenee per struttura, grandezza e qualità tossiche. Esse mostrano una tipicità specifica correlata al batterio che le produce, ed anche l'effetto prodotto è tipico di quel quadro infettivo. Altre volte la tossina è intracitoplasmatica e liberata solo con la lisi cellulare. La tossina prodotta da un batterio penetrato in un organismo, diffonde nei tessuti circostanti dell'ospite e raggiunge gli organi "bersaglio", destinati a subire modificazioni funzionali e danni localizzati o estesi. In molti casi, nelle infezioni da batteri produttori di esotossine, non è determinante il livello della carica batterica né la diffusione dei batteri nell'organismo per l'evoluzione patologica; ad esempio nel caso del tetano, il batterio (*Clostridium tetani*), penetrato nei tessuti nella forma di spora, rimane confinato nella sede di penetrazione e da questa posizione elabora e diffonde le tossine che attraverso il circolo ematico raggiungono il sistema nervoso. In altre tossinfezioni non c'è la penetrazione nell'organismo del batterio, ma solo della tossina; questo è il caso del botulismo (*Clostridium botulinum*): la spora presente in un alimento conservato in stretta anaerobiosi si sviluppa ed elabora la tossina che diffonde nel cibo conservato; la tossina è assunta poi da un soggetto durante la consumazione del nutrimento contaminato. Una volta ingerita è assorbita dall'intestino entra in circolo e raggiunge le giunzioni neuro muscolari. Altri batteri (*Stafilococchi*) possono elaborare e diffondere nei cibi tossine che sono poi assunte provocando alterazioni funzionali della mucosa intestinale e alcuni stimoli del sistema nervoso.

| Tossina               | Endotossina  | Esotossina      |
|-----------------------|--------------|-----------------|
| Composizione chimica  | Lipide       | Proteica        |
| Resistenza al calore  | Termostabili | Termolabili     |
| Resistenza agli acidi | Si           | No              |
| Sintetizzate da       | Gram -       | Gram + e Gram - |
| Proprietà Antigenica  | Scarsa       | Elevata         |

Nella Difterite (*Corynebacterium diphtheriae*) la tossina agisce sulle cellule della mucosa faringea bloccandone la sintesi proteica e quindi provocando la morte cellulare.

**Movimento e funzione locomotoria:** il movimento dei batteri è dai possibile grazie ai flagelli che ruotando similmente ad un'elica trasportano la cellula in moti che si sviluppano nelle tre direzioni spaziali in maniera casuale; il movimento, prerogativa dei batteri dotati di flagelli, serve oltre allo spostamento per la colonizzazione di spazi, anche per sottrarre la cellula a situazioni sfavorevoli o certamente dannose. Esistono alcune condizioni, specialmente chimiche, che conferiscono al batterio un'andatura più regolare e finalizzata. Tali meccanismi rientrano in quel fenomeno detto "chemiotassi".

Il fine di questo processo è quello di indirizzare il movimento del batterio a raggiungere una precisa sostanza percepita dal procariota grazie alla capacità di valutare la differenza o la variazione di concentrazione di una specifica molecola in un intervallo di tempo.

<sup>3</sup> Possono essere monomeriche, dimeriche o multimeriche; la maggior parte sono di tipo dimerico e come tali costituite da un peptide A, che è la parte tossica, ed un peptide B, che funge da recettore per la cellula bersaglio. Queste due subunità sono legate da un ponte di solfuro, che si spezza non appena la subunità B si lega al recettore cellulare, permettendo, così, l'ingresso nella cellula della subunità A.

---

**Metabolismo:** le reazioni metaboliche delle cellule procariote non differiscono da quelle eucariote tranne che per alcuni aspetti tipici. Per la crescita, la sopravvivenza e la riproduzione dei batteri sono utilizzate fonti nutritive costituite da:

*Macroelementi:* C, N, H,S,P prevalentemente; Ca, Fe, Mg, in maniera minore.

*Microelementi:* Zn, Cu, Co, Mn, Mo.

Alcuni procarioti sono in grado di svolgere la reazione di fotosintesi: trasformare l'energia luminosa in energia chimica per la formazione di glucosio, grazie all'esistenza entro la cellula di clorofilla libera.

Un altro fattore importante nel metabolismo è la temperatura: i batteri vivono e si moltiplicano in ambienti naturali molto diversi dove esistono ampie escursioni termiche. I batteri patogeni colonizzando organismi viventi omeotermi.

**Riproduzione:** la divisione cellulare è la forma di riproduzione delle cellule procariote.

**Ciclo biologico:** i batteri non hanno un ciclo biologico, vale a dire non hanno l'obbligo di transitare entro uno o più esseri viventi in cui si trasformano o maturano per essere poi trasferiti all'ospite definitivo e sviluppare la malattia. I batteri spesso possono raggiungere l'essere umano attraverso vettori animati, spesso di precise specie come nel caso delle pulci dei ratti che partecipano alla trasmissione della peste (*Yersinia pestis*).

Le pulci prima contraggono l'infezione aspirando il sangue di roditori selvatici infetti, poi con il morso possono provocare sull'uomo lesioni attraverso le quali penetrano le *Yersinie*; questa quindi è una zoonosi, non si tratta di un ciclo biologico ma solo di un trasferimento di microrganismi da una specie vivente ad un'altra.

### 3.3. Agenti biologici non cellulari: i virus

Le malattie causate dai virus sono conosciute fin dai tempi antichi, mentre solo in tempi relativamente recenti sono stati scoperti e riconosciuti gli AB che le provocavano. Uno dei motivi che ha impedito di evidenziare questi agenti durante i secoli passati, è dato dalle loro ridottissime dimensioni, inferiori agli 0,2  $\mu\text{m}$ , limite del potere di risoluzione per il microscopio ottico.

Il virus, che in latino significa "veleno", "tossina", è considerato un'entità biologica. Dal tempo della loro scoperta, molte sono state le discussioni se questo fosse o meno un essere vivente; oggi ragionevolmente si può sostenere che esso *non sia un essere vivente*, bensì un'entità biologica con caratteristiche di parassita obbligato. Per la sua semplicità organizzativa manca di tutte le strutture biochimiche e biosintetiche necessarie ad immagazzinare energia e replicare le sue unità costruttive, quindi è obbligato ad utilizzare quelle di una cellula vivente che obbligatoriamente deve parassitare.

La particella virale matura, nella fase extra cellulare si presenta sotto forme diverse dette virioni e visibili al microscopio elettronico: sferiche, ovoidali, allungate, ecc.

Il virus è una struttura molto semplice: racchiusa in un involucro proteico contiene l'informazione genetica (acido nucleico) destinata ad integrarsi con il DNA dell'ospite della cellula ospite, per dirigerla alla sintesi di nuovi acidi nucleici virali ed i loro contenitori proteici.

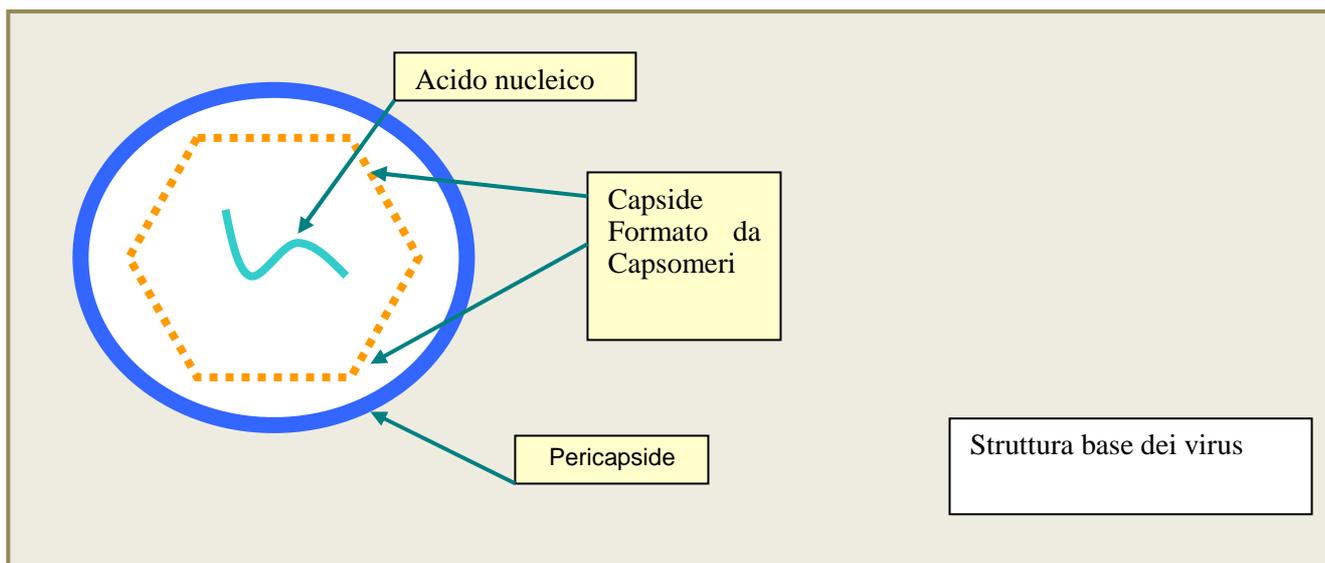
La replicazione del virus entro la cellula ospite prosegue fino a determinarne la morte; la successiva lisi cellulare libera i nuovi "virioni" generati entro la cellula, i quali diffondono per parassitare altre cellule dell'individuo ospite infettato.

I virus hanno una struttura molto semplice composta da:

- a) un acido nucleico (DNA o RNA) che porta l'informazione genetica;
- b) un involucro proteico che racchiude l'acido nucleico, protezione detto capside;
- c) alcuni virus possiedono ulteriori involucri e strutture, sopra quello proteico, detto pericapside;
- d) taluni virus (Batteriofagi) godono di strutture atte ad iniettare il genoma entro la cellula da parassitare.

Prendiamo ora in esame ogni singola parte per definire meglio la struttura, le variazioni e le differenze che si possono riscontrare nei virus.

**Figura 3.24** *Struttura schematica dei virus*



**L'acido nucleico:** i virus, a differenza delle altre cellule ed AB dotati di DNA e RNA, sono corredati solo da uno degli acidi nucleici, DNA oppure RNA, i quali non differiscono in composizione chimica da quelli presenti nelle cellule eucariote o procariote. Molto diversa è invece la conformazione spaziale del genoma virale, formato da una o più molecole di DNA o RNA, lineari o circolari, a singola o doppia elica. L'acido nucleico non fluttua nello spazio del contenitore proteico, ma contrae dei legami specifici con le proteine dell'involucro e con proteine interne con le quali forma il "core".

In certi virus, in particolare virus a RNA, associati agli acidi nucleici possiamo trovare enzimi necessari per la trascrizione (transcriptasi inversa) da RNA a DNA, altrimenti non sarebbe possibile inserire l'RNA virale nel DNA della cellula ospite.

L'acido nucleico rappresenta il genoma del virus, il corredo cioè di tutte le informazioni genetiche che definiscono le caratteristiche morfologiche e biologiche dell'agente virale. Queste informazioni se inserite nel codice genetico (DNA) della cellula parassitata, sono in grado di indirizzarla a sintetizzare tutte le parti necessarie per assemblare nuovi virus (DNA o RNA ed involucri per contenerli).

**Il capsidato** (*dal latino capsa = scatola*): è l'involucro proteico che racchiude e protegge l'acido nucleico e rappresenta la massa più consistente di tutto il complesso virale.

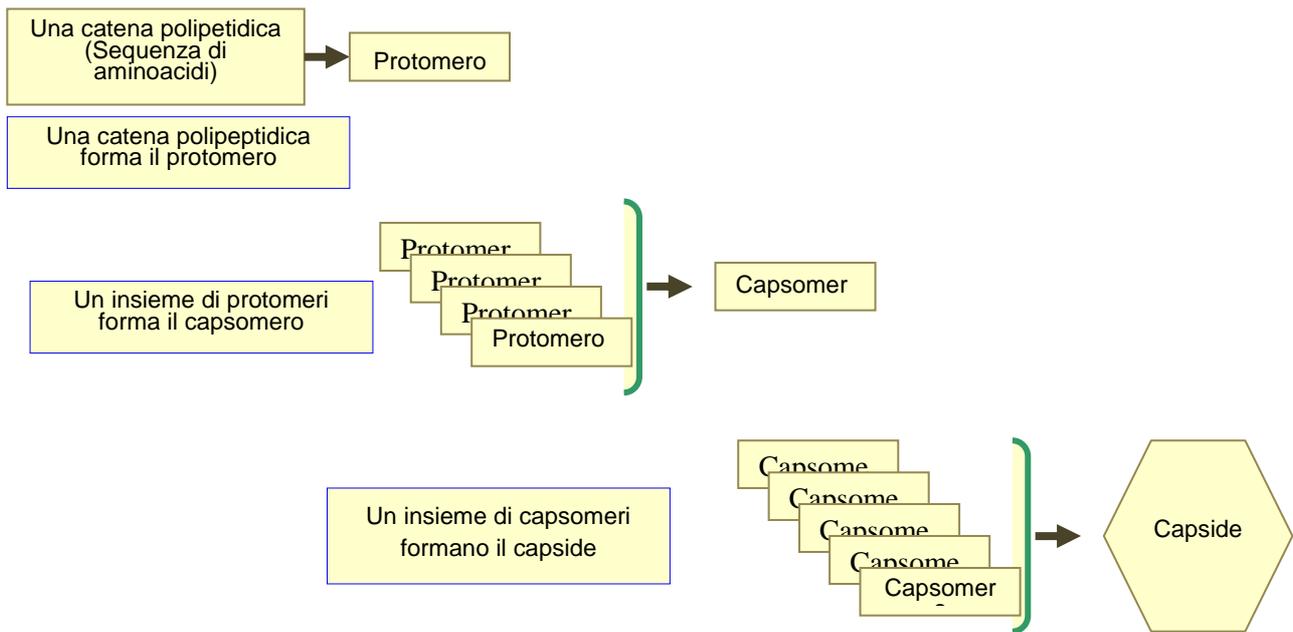
È definito invece *nucleocapsidato* l'insieme del capsidato più l'acido nucleico contenuto.

Il capsidato può assumere forme molto diverse, irregolari o regolari; la forma è stata oggetto di studi approfonditi con metodiche diverse ritenendo la conformazione del capsidato un elemento utile per la distinzione e classificazione dei gruppi di virus.

Il capsidato è formato da sub-unità tutte uguali dette capsomeri; questi a loro volta sono formati da più unità uguali dette protomeri rappresentati ognuno da una sola catena polipeptidica. I protomeri hanno una disposizione spaziale regolare, paragonabile a quella molecolare dentro ad un cristallo; per esempio molti virus possiedono un capsidato a forma icosaedrica (solido geometrico dotato di 12 vertici, 20 facce a forma di triangolo equilatero e 30 spigoli), elicoidale, ecc...

L'assemblaggio delle parti del capsidato porta alla formazione di uno strato uniforme continuo e stabile dal quale si può constatare il conseguimento, da parte dei virus, di un'efficace economia strutturale.

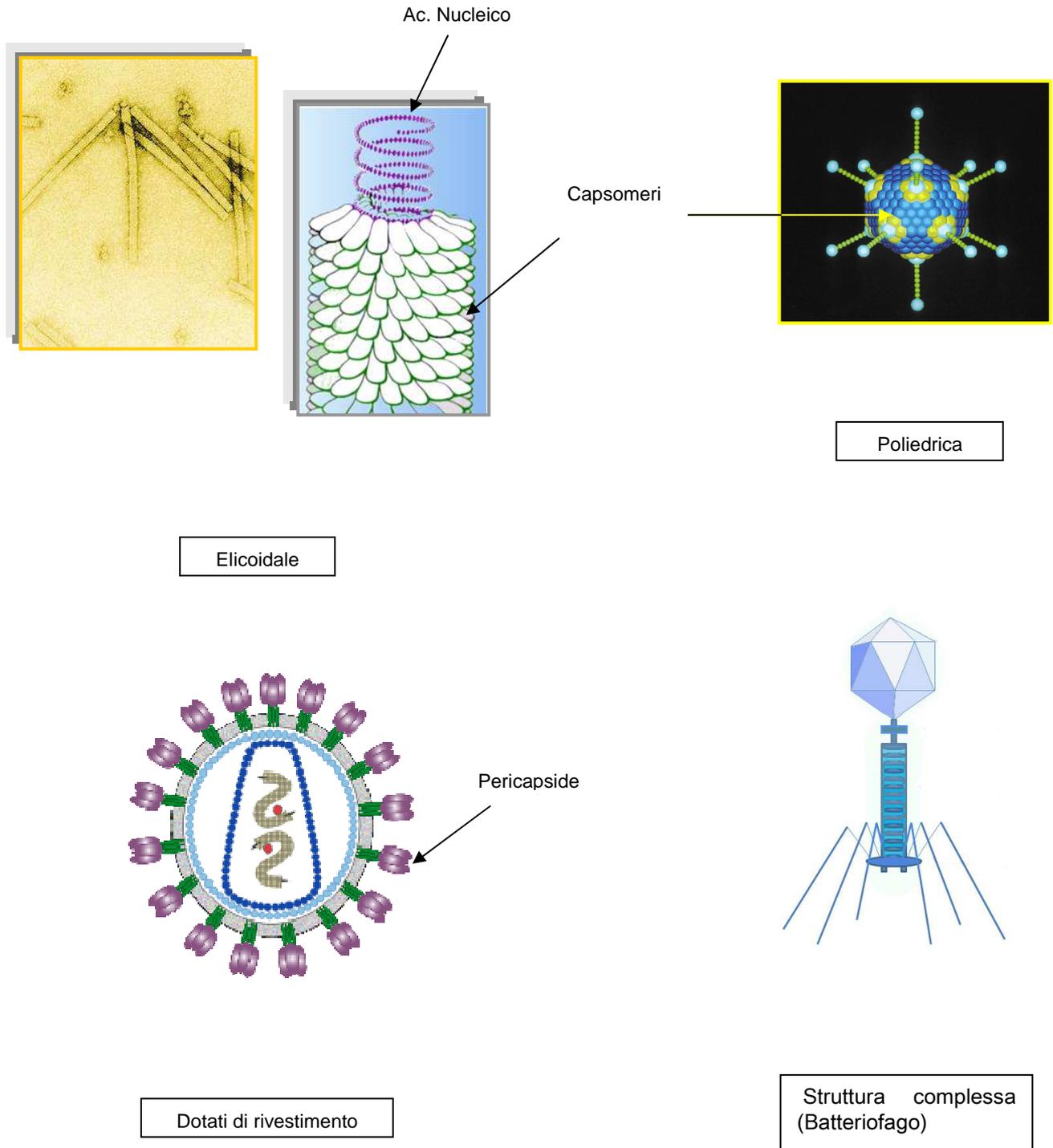
**Figura 3.25** Schema rappresentante i componenti strutturali del capside



Dal punto di vista morfologico possiamo distinguere i virus in 4 tipologie fondamentali:

- elicoidali.
- poliedrici.
- dotati di rivestimento.
- a struttura complessa.

Fig. 3.26 Tipologie strutturali dei virus



Il capsid ha la funzione di racchiudere il genoma ma soprattutto di rappresentare per lui una barriera di protezione.

Nel momento dell'esposizione di una cellula all'infezione virale, i virus privi di pericapside aderiscono alla membrana cellulare tramite il capsid, che in quella circostanza è anche provvisto di particolari elementi per l'adesione.

**Il pericapside:** è una struttura accessoria dei virus (non è presente in tutti) che rappresenta uno strato esterno al capsid; esso è sempre presente nei virus animali che possiedono il capsid a simmetria elicoidale, in parte anche in quei virus appartenenti a famiglie con capsid a simmetria isometrica.

Il pericapside è acquisito dai virus in una fase tardiva del loro assemblaggio, precisamente in seguito alla formazione del nucleocapsid, dopo che il genoma virale è stato racchiuso dal capsid.

L'acquisizione del pericapside si realizza allorché il nucleocapside (acido nucleico + capsid) è protruso nella membrana cellulare della cellula parassitata: con la successiva gemmazione verso l'esterno la membrana avvolge il nucleocapside ed in quel momento è acquisito il pericapside.

Questo processo permette l'uscita della particella virale, ma evita la lisi cellulare a differenza dei casi in cui i virioni si accumulano nel citoplasma fino alla lisi cellulare.

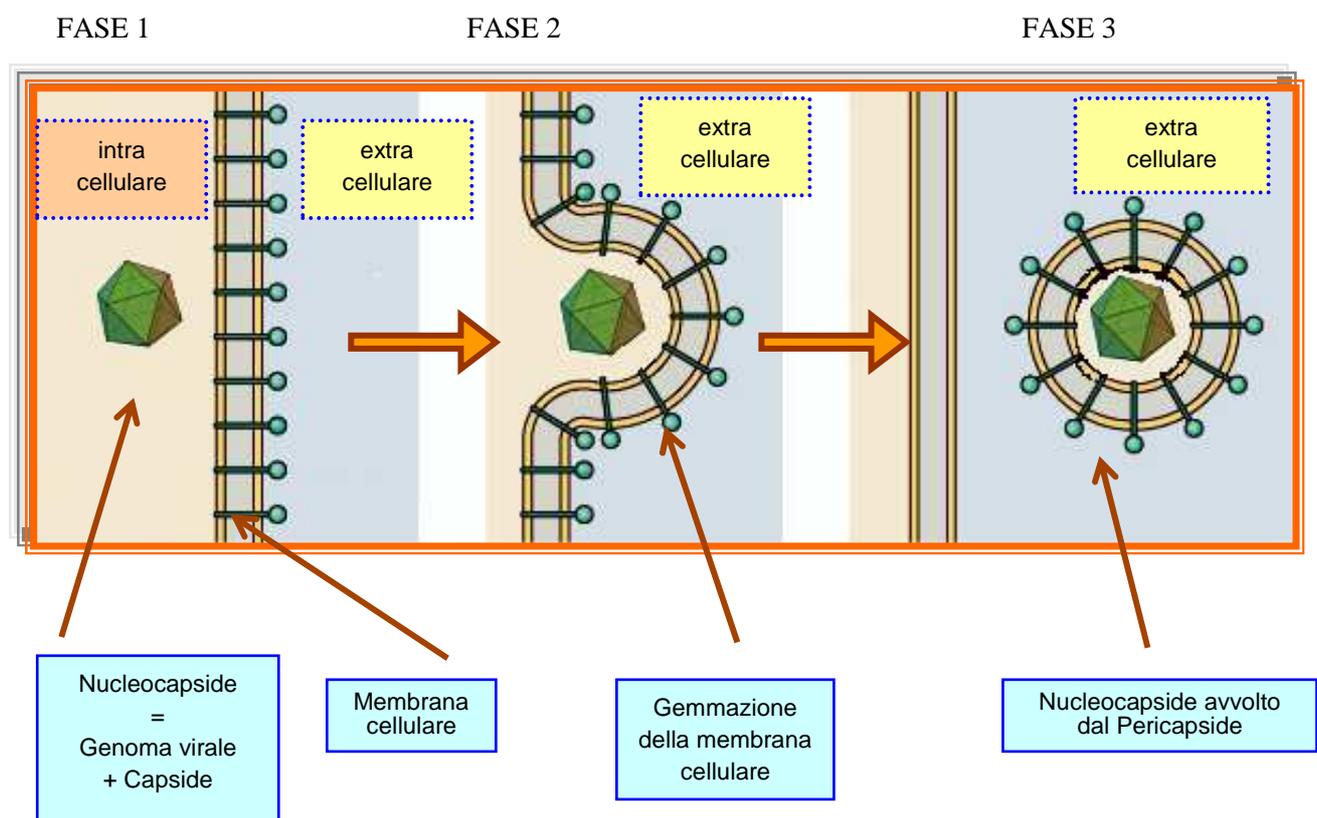
L'analisi della composizione del pericapside rivela la presenza di proteine (glicoproteine) qualitativamente poco numerose, sotto forma di polipeptidi, legati a lipidi (fosfolipidi), derivati dalla membrana della cellula, e carboidrati. La presenza di lipidi permette al pericapside una certa plasticità.

Su questo secondo rivestimento spuntano delle glicoproteine (proteine di membrana) sotto forma di protuberanze utili nell'adesione alla cellula da parassitare. La funzione di questo secondo involucro è ancora quello di strumento di protezione del virus durante l'infezione, soprattutto come mezzo per eludere il sistema immunologico dell'ospite: gli antigeni di superficie, quelli costituiti dalle proteine del capsid, rimangono coperti dal pericapside e ciò è sufficiente per non essere riconosciuti dagli anticorpi dell'ospite.

La struttura chimica di questo rivestimento, simile a quella delle membrane cellulari, permette più facilmente la fusione tra virus e la membrana cellulare dell'ospite, creando quindi un'apertura nel doppio strato di fosfolipidi della membrana della cellula parassitata e facilitando la penetrazione del virione e l'infezione cellulare.

Se da un lato la presenza di questo strato, grazie alla parte lipidica, protegge il virus dall'azione di certi enzimi, in particolare dalle nucleasi, dall'altra, proprio per la presenza di lipidi, il virus diventa suscettibile di essere inattivato se posto a contatto con solventi.

**Figura 3.27** Le fasi di uscita del virus da una cellula



**Dimensioni dei virus:** una delle prime definizioni usate per i virus era quella di “*organismi filtrabili*”, infatti non erano trattenuti dai filtri di porcellana utilizzati per decontaminare sostanze liquide dai batteri.

Le dimensioni dei virus possono variare da un massimo di 200-300 nm (nanometri, ovvero  $10^{-9}$  metri) ad un minimo di 20 nm. Le dimensioni dei virus più grandi si avvicinano a quelle dei batteri più piccoli come i generi Rickettsia, Chlamydia, Mycoplasma, i quali proprio per questo, in tempi passati, sono stati confusi con grossi virus.

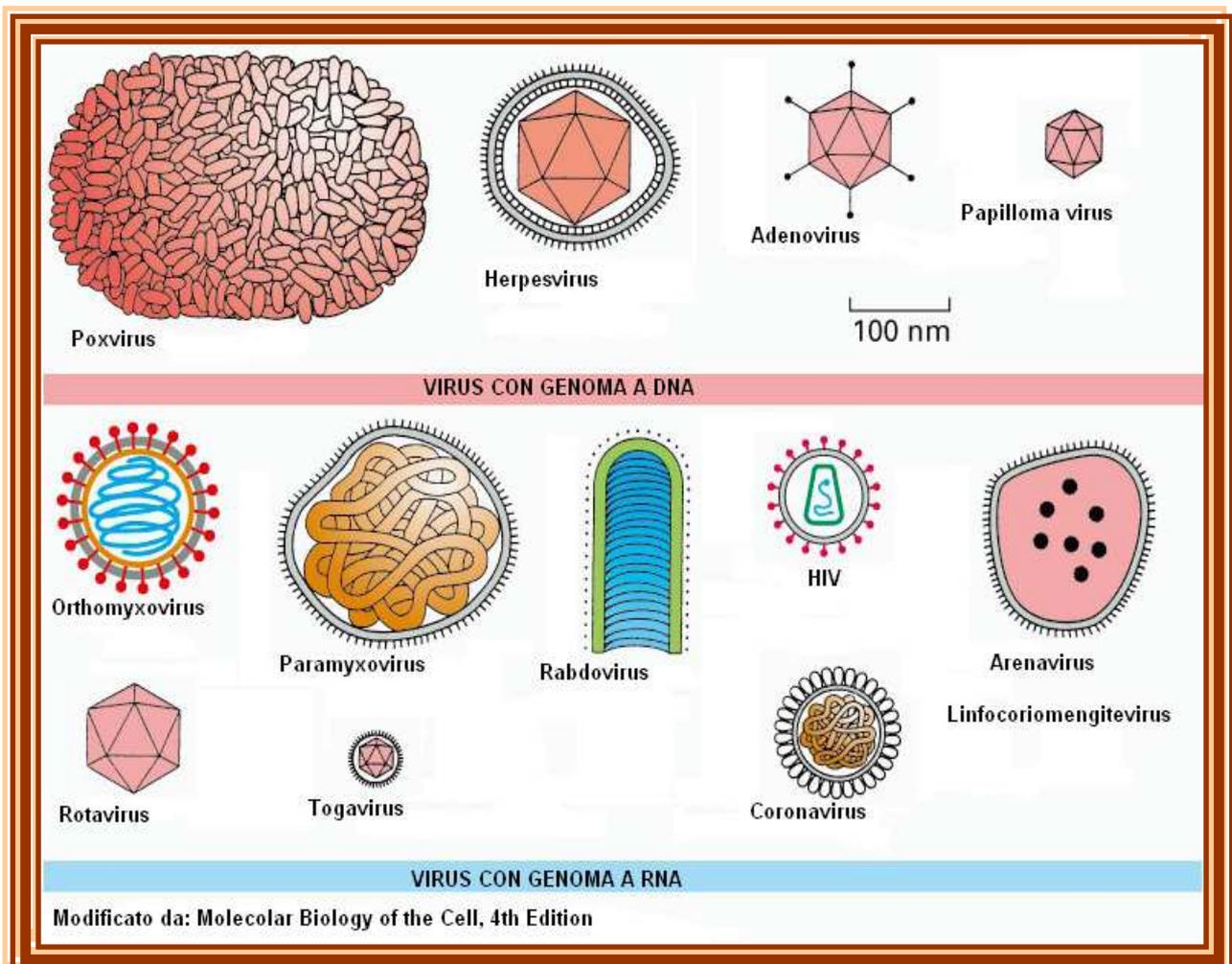
I virus con le maggiori dimensioni sono rappresentati dalla famiglia dei *Pox virus*, agenti implicati nella patologia conosciuta come vaiolo<sup>4</sup>; essi possiedono dimensioni pressoché adeguate al potere di risoluzione del microscopio ottico e quindi sono distinguibili alla risoluzione massima permessa dalle radiazioni di luce visibile.

Le minime dimensioni riscontrate nei virus riguardano le famiglie dei *Parvovirus* e dei *Picornavirus*; in quest'ultima famiglia sono rappresentati i virus della poliomielite e dell'epatite A.

**Principali morfologie virali:** la struttura spaziale rotondeggiante è quella maggiormente rappresentata nei virus; tuttavia ci sono agenti aventi:

- forma sferica non regolare (*Poxvirus*, i *Paramixovirus*, *Orthomixovirus*);
- forme rotondeggianti più o meno regolari, in conseguenza della presenza del pericapside, anche se il capside ha una forma geometrica regolare (*HIV*, *Herpesvirus*);
- forma rotondeggiante ma con una geometrica regolare a icosaedro (*Adenovirus*);
- forma elicoidale e molto allungata (virus del Mosaico del Tabacco);
- forma allungata cilindrica, simile a quella di un proiettile (*Rabdovirus*);
- forma complessa (*Batteriofagi*, virus parassiti delle sole cellule procariote batteriche, spesso con dipendenza parassitica specie specifica).

**Figura 3.28** Rappresentazione di alcuni virus a DNA ed a RNA



<sup>4</sup> il vaiolo come patologia infettiva non esiste più sul pianeta, esistono ceppi di riferimento in due laboratori, in Russia e negli Stati Uniti

---

### 3.3.1. *Classificazione dei virus*

Uno degli aspetti più complessi e controversi che hanno caratterizzato lo studio dei virus è stato quello di individuare un corretto e razionale metodo per classificarli.

I primi virus sono stati riconosciuti in seguito alle patologie che provocavano nell'individuo oppure specificatamente in piante o animali. La casistica ridotta permetteva, a suo tempo, di indicare questi agenti accostandoli e riconoscendoli con il nome della malattia da loro provocata. Così inizialmente si chiamò il *virus del mosaico del tabacco* l'agente virale che provoca una malattia in diversi vegetali tra cui le piante del tabacco, le barbabietole da zucchero, mais, patata, pomodoro, ecc (la malattia virale provoca la distruzione dei cloroplasti e l'alterazione dell'attività degli enzimi che regolano la fotosintesi). Questa malattia, scoperta alla fine dell'800, fu la prima associata ad un agente infettivo diverso da quelli fino allora conosciuti; il suo riconoscimento seguì l'identificazione di altre patologie caratterizzate da infezioni virali (influenza, poliomielite, ecc...).

La scoperta di molte nuove malattie virali rese insufficiente ed inadatta questa classificazione, perciò furono cercate regole alternative in grado di soddisfare l'esigenza di un razionale ed omogeneo raggruppamento dei virus, come quello di indicare i virus in base agli effetti da loro provocati o dagli organi colpiti: virus epatici, neurotropi, dermatropi, ecc. Una simile classificazione aveva la grande ambiguità di raggruppare sotto una unica dizione virus anche molto diversi fra loro.

Alcune classificazioni, seppur datate, tuttavia possono ancora oggi avere una loro validità:

- virus degli animali
- virus dei vegetali
- virus delle cellule procariote o dei batteri

Ha inoltre un significato molto importante classificare i virus in analogia al genoma posseduto (RNA o DNA), e alla sua conformazione. Infatti con la maggior conoscenza morfologica acquisita attraverso le immagini al microscopio elettronico, le classificazioni presero in considerazione anche le unità strutturali dell'agente virale (diametro dell'elica del genoma, simmetria del capsido, numero dei capsomeri, ecc).

Oggi la classificazione prevede di riportare i virus in una catalogazione che vuole adattarsi a quella prevista da Linneo ed utilizzata per la classificazione degli altri esseri viventi che prevede:

- ordine
- famiglia (con suffisso viridae)
- sottofamiglia
- genere (con suffisso virus)
- specie
- ceppo /tipo

Il concetto di specie in questa tassonomia si allontana dai termini Linneiani: spesso sono riuniti nella stessa specie virus con proprietà differenti, appartenenti allo stesso genere ed isolati dal medesimo soggetto.

I virus sono classificati principalmente in base a caratteristiche fenotipiche, quali morfologia, tipo di acido nucleico, modo di replicazione, organismo ospite e patologia.

### 3.3.2. *Processi patogeni esercitati dai virus*

Tutte le patologie virali sono inscindibilmente legate al perfezionamento di tre eventi che devono avvenire in successione:

- l'infezione cellulare;
- la generazione di lesioni cellulari e tissutali;
- la manifestazione delle lesioni con alterazioni della funzionalità.

I risultati di queste fasi della patologia virale sono subordinati:

- alle caratteristiche dei virus
- alle modalità di risposta dell'ospite in particolare quella immunologica.

In tutto il processo d'infezione è possibile distinguere alcuni stadi rilevanti che sono stati così distinti:

- adsorbimento;
- penetrazione;
- denudazione;
- replicazione del genoma e delle proteine virali;
- maturazione;
- liberazione dei virioni.

Durante ogni fase dell'infezione virale i processi che si svolgono a carico della cellula infettata e del virus sono molto complessi; essi comprendono non solo aspetti biologici ma anche aspetti di tipo fisico – chimico decisivi, in mancanza dei quali non è possibile il processo infettivo.

---

Queste tappe, che caratterizzano e determinano il processo infettivo, sono così importanti che vale la pena descriverle soprattutto perché la conoscenza più precisa può avere ricadute pratiche nella prevenzione delle esposizioni agli AB virali, potendo intervenire in una o più di queste fasi del processo.

**Adsorbimento:** è il contatto fisico tra il virus e la cellula da infettare o cellula bersaglio; questo è un evento fortuito provocato da molti fattori tra loro indipendenti; esso non è determinato da azioni specifiche prodotte dalla cellula o dall'agente. L'unione, se avviene, non è irreversibile: il contatto iniziale può essere interrotto dagli anticorpi neutralizzanti e da mutamenti ambientali che influiscono su temperatura e pH dell'ambiente. Il virus, adsorbito sulla membrana cellulare, produce un legame stabile; a questa fase segue la penetrazione del virus nel citoplasma. Il contatto fra le due entità è accidentale, provocato soprattutto da fenomeni fisici:

- meccanici
- elettromagnetici
- correnti circolatorie di fluidi (liquidi o aerei)
- movimenti Browniani
- temperatura
- ecc.

e da fenomeni chimici:

- pH
- forze ioniche ambientali
- ecc.

L'incontro può avvenire:

- in modo passivo attraverso la via transcutanea, con un trauma (il virus può essere immesso nel circolo ematico o linfatico): puntura con un corpo infetto inanimato, un morso, una puntura da artropodi, traumi e lesioni cutanee comprese le ustioni, ecc.
- per ingestione di alimenti contaminati (spesso da escrementi) o di materiali infetti.
- per inalazione (il virus deve essere in grado di superare le barriere mucose).

Solo se c'è correlazione fra i recettori posti sulla membrana cellulare ed i recettori espressi dal virus può avvenire l'adsorbimento sulla membrana cellulare.

Il virus per essere adsorbito deve trovare le cellule bersaglio, cellule specifiche verso le quali possiede uno specifico tropismo.

Non tutti i virus penetrati nella cellula ospite sono in grado di riprodursi, ciò avviene solo nelle cellule dette permissive.

**Penetrazione:** quasi immediatamente all'adesione del virus alla cellula segue la penetrazione entro il citoplasma con uno di questi tre meccanismi:

- pinocitosi: penetrano nel citoplasma in vacuoli;
- traslocazione: attraverso la membrana cellulare;
- fusione: il pericapside si fonde con la membrana cellulare.

**Denudazione:** con questa dizione sono indicati gli eventi che seguono la penetrazione del virus nella cellula. Una serie di enzimi litici idrolizzano il capsido, liberando l'acido nucleico che come sappiamo può essere DNA o RNA.

**Replicazione del genoma e delle proteine virali:** è forse la fase più complessa di tutto il processo infettivo, essa rappresenta una serie di eventi complicati e variabili, in dipendenza del virus coinvolto nella replicazione: l'intero processo è caratterizzato da tappe che accomunano tutte le replicazioni virali, ma in rapporto al tipo di struttura e composizione chimica del virus, in particolare al tipo di genoma, le singole fasi possono mostrare aspetti difformi. La replicazione virale consiste in:

- sintesi di nuovo DNA ed RNA virale, a seconda dell'acido nucleico posseduto dal virus che si replica;
- sintesi alle proteine virali costituenti il capsido entro cui sarà racchiuso l'acido nucleico del virus maturo.

Ogni virus applica le proprie strategie replicative sfruttando gli enzimi e le strutture citoplasmatiche della cellula parassitata. Le fasi centrali della replicazione sono:

- trascrizione del genoma virale;
- traduzione dei messaggi in proteine;
- replicazione del genoma virale;

Durante la replicazione, in generale, i virus producono due tipi di proteine:

- precoci, di natura enzimatica e di regolazione, come le polimerasi;

- 
- tardive, strutturali, che andranno a formare capsidi.

**Maturazione:** le ultime fasi dell'infezione riguardano l'assemblaggio delle diverse parti sintetizzate per la costruzione dei nuovi virioni. In questa fase è possibile distinguere l'assemblaggio e la maturazione dei virus provvisti di pericapside da quelli sprovvisti. Nella cellula parassitata sono assemblati tutti i nuovi virus. I capsomeri, aventi forma e struttura diversa secondo il virus, sono assemblati attorno all'acido nucleico ed insieme costituiscono quello che è definito il nucleocapside.

Il montaggio dei virus può avvenire sia nel citoplasma sia nel nucleo della cellula, questo dipende dal tipo di virus implicato nel processo d'assemblaggio.

**Liberazione dei virioni:** il virione maturo è liberato dalla cellula parassitata con modalità diversa per le due forme di virus:

- *Virus non dotati di pericapside:* dopo il loro assemblaggio provocano la lisi cellulare seguita dalla liberazione contemporanea di tutta la progenie virale, che diffonde negli spazi circostanti.
- *Virus dotati di pericapside:* durante la replicazione alcune proteine virali deputate alla formazione dell'involucro (pericapside) vanno ad inserirsi su una delle membrane della cellula ospite (per esempio la membrana citoplasmatica, quella nucleare, quella del Golgi o del reticolo endoplasmatico); in questo modo il nucleocapside si avvicina alla membrana modificata, inizia il processo di gemmazione ed il virus fuoriesce avvolgendosi in parte nella membrana modificata ed acquisendo così il pericapside. Il nuovo virione acquisisce questo mantello di natura fosfolipidica e, dopo l'uscita, può andare ad infettare nuove cellule.

Tutti i virus liberati in qualsiasi maniera dalla cellula ospite potranno interagire con i recettori di altre cellule, diffondendo l'infezione.

### **Patogenesi delle infezioni virali**

Il virus penetrato può instaurare nell'organismo ospite rapporti molto diversi, e differenti possono essere le espressioni dell'infezione; tutti questi aspetti sono condizionati dalle qualità e particolarità dall'agente infettante e dalle condizioni fisiche ed immunologiche dell'ospite.

Con la penetrazione del virus nelle cellule permissive, come abbiamo visto, avviene la replicazione essa può estendersi, tanto da divenire causa della malattia oppure il processo infettivo può rimanere limitato e localizzato ai tessuti o all'organo infettato. In talune circostanze la riproduzione del genoma virale è limitata ed asintomatica consentendo al virione di diffondersi dopo più cicli di replicazione.

Nella situazione nella quale accade una disseminazione del virus nell'ospite, la diffusione è facilmente conseguita attraverso:

- la circolazione linfatica;
- la circolazione ematica;
- i fasci nervosi;
- la continuità cellulare;

la diffusione si può estendere a distanza, coinvolgendo gli organi ed i tessuti bersaglio e produrre, in questi ultimi, lesioni talora molto caratteristiche.

### **Organi bersaglio**

Un organo anatomico o un tessuto specifico è eletto da determinati agenti virali ad organo bersaglio:

- per la modalità di penetrazione;
- per le capacità diffusive del virus;
- dal tropismo cellulare e tissutale che dipende dalla presenza di strutture complementari tra gli agenti coinvolti;
- dalla permissività del tessuto che compone l'organo alla replicazione virale.

### **Lesioni provocate dai virus**

Le conseguenze dell'infezione virale si manifestano con lesioni anatomo-funzionali dell'organo contaminato. Le lesioni derivano direttamente dall'azione citopatogena provocata dal virus, indirettamente per le reazioni immunologiche dell'ospite, o dalla depressione della risposta immunitaria che l'infezione ha provocato.

In questo caso l'ospite immunologicamente depresso è soggetto all'infezione di innumerevoli AB che in circostanze normali non sarebbero in grado di costituire un rischio e invece in questa situazione rappresentano un rischio molto alto.

L'infezione virale dà inizio ad un evento che è suscettibile di sviluppi eterogenei con esiti, per il soggetto esposto, altrettanto diversi. È opportuno, perciò, elencare le possibili evoluzioni delle patologie correlate alla contaminazione virale.

---

**Infezione produttiva:** dopo l'entrata del virus in una cellula sensibile o bersaglio si svolgono, in successione, gli eventi ed i processi prima analizzati che conducono alla produzione di nuovi virus.

Questa rappresenta la normale evoluzione di un'infezione virale, con le conseguenti lesioni e le manifestazioni patologiche correlate all'agente infettante.

**Infezione restrittiva:** talune cellule sensibili o bersaglio mostrano caratteristiche di permissività variabili durante la loro esistenza. Il virus penetrato nella cellula non è in grado di procedere alla sua replicazione se la cellula parassitata non si trova in specificate e determinate condizioni biologiche.

**Infezione abortiva:** talvolta la cellula sensibile o cellula bersaglio non è interamente permissiva all'espressione del genoma virale. In queste circostanze il virus non si replica, ma esprime soltanto alcune proteine senza riuscire a dare origine a nuovi virioni.

**Infezione latente:** l'acido nucleico dell'agente virale si integra in quello della cellula, ma rimane silente fino al verificarsi delle condizioni che permettono al virus di riattivarsi e di completare il ciclo di replicazione per dare un'infezione produttiva (ad esempio herpes simplex o zoster).

**Infezione persistente o cronica:** il virus è presente entro una cellula permissiva, si replica molto lentamente e la cellula libera la progenie virale per lunghi periodi (mesi o addirittura anni), come nel caso dell'HIV e dell'epatite cronica. Dal punto di vista clinico questo tipo di manifestazione infettiva possiede degli aspetti sicuramente importanti, perché l'organismo parassitato, non manifestando la sintomatologia, è una fonte persistente d'infezione.

L'infezione persistente o cronica rappresenta una condizione di parassitismo virale "controllato" che, a differenza dell'infezione latente, continua a produrre notevoli quantità di antigeni virali e di virus infettanti.

L'infezione virale non provoca in questo caso danni letali alle cellule infettate che vanno incontro invece a danni provocati dalla risposta immunitaria dell'organismo infettato.

Oltre alla persistente infettività nell'organismo parassitato, si può verificare un'evoluzione nel tempo della malattia infettiva (epatite cronica attiva da virus dell'epatite, B o C, ecc.) oppure il procedere della malattia a lento o lentissimo decorso con lunghi periodi d'incubazione asintomatica (HIV, virus morbillo, ecc.).

Le modificazioni indotte dalla infezione persistente possono indurre a mutamenti irreversibili di alcune funzioni specifiche della cellula, evidenziate da successivi quadri clinici.

**Infezione trasformante:** si indicano con questo termine le modificazioni indotte nelle cellule infettate da virus detti oncogeni, che non portano alla morte cellulare ma procurano alterazioni non immediatamente degenerative che influenzano la produzione anomala e incontrollata delle cellule infette.

Le cellule trasformate non possiedono il controllo dei loro processi replicativi, proliferano in maniera incontrollata, acquisendo caratteristiche anomale rispetto alle cellule originali sia dal punto di vista morfologico che genetico:

- morfologia irregolare;
- volume cellulare alterato;
- anomalie cromosomiche.

Le alterazioni sono frutto di lesioni provocate dal sistema immunitario dell'ospite stimolato in maniera persistente dagli antigeni virali.

**Infezione autolimitante:** è inquadrata nelle infezioni produttive; può essere una malattia acuta con decorso generalmente molto breve a cui segue una guarigione senza complicanze. Una malattia molto frequente che presenta questa caratteristica è il raffreddore: clinicamente è una rinite acuta, provocata dai Rhinovirus (famiglia Picornavirus).

### 3.3.3. *I Batteriofagi*

I batteriofagi sono dei virus che generalmente non sono implicati nelle infezioni umane, perché non hanno affinità con le cellule eucariote, ma solo con quelle procariote dei batteri, nei quali penetrano per utilizzare la cellula per la produzione di altri batteriofagi.

Pur avendo scarsa importanza nella valutazione del rischio biologico, è bene dare qualche informazione su questi agenti per evidenziare alcune differenze esistenti con i virus. I batteriofagi si differenziano dai virus per:

- struttura, che è definita complessa;
- modalità di inserimento dell'acido nucleico nella cellula procariota.

Nei restanti aspetti i batteriofagi sono simili agli altri virus:

- possiedono un solo acido nucleico, DNA o RNA;
- l'acido nucleico è racchiuso da un capsido proteico;
- devono parassitare una cellula vivente per replicarsi.

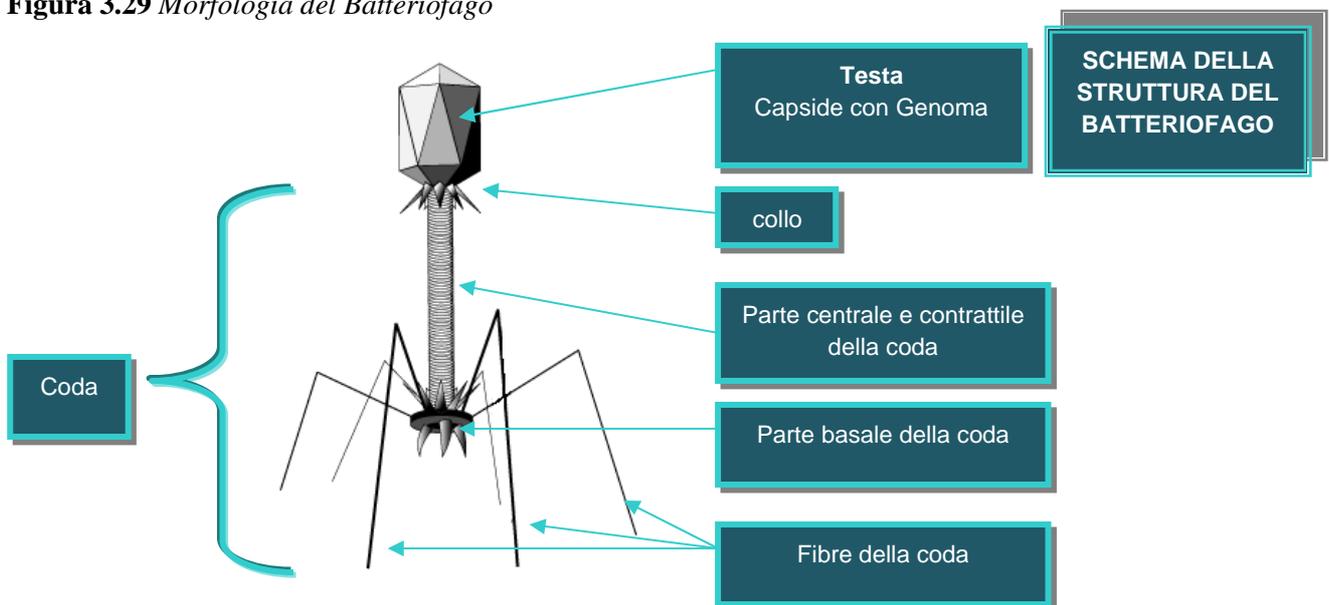
### La struttura dei batteriofagi

I batteriofagi mostrano una struttura alquanto più complessa di quella degli altri virus. In particolare alcuni tipi presentano forme caratteristiche, articolate in parti ben distinte ed aventi una definita funzionalità soprattutto nella trasmissione dell'acido nucleico. In questi virus possiamo distinguere:

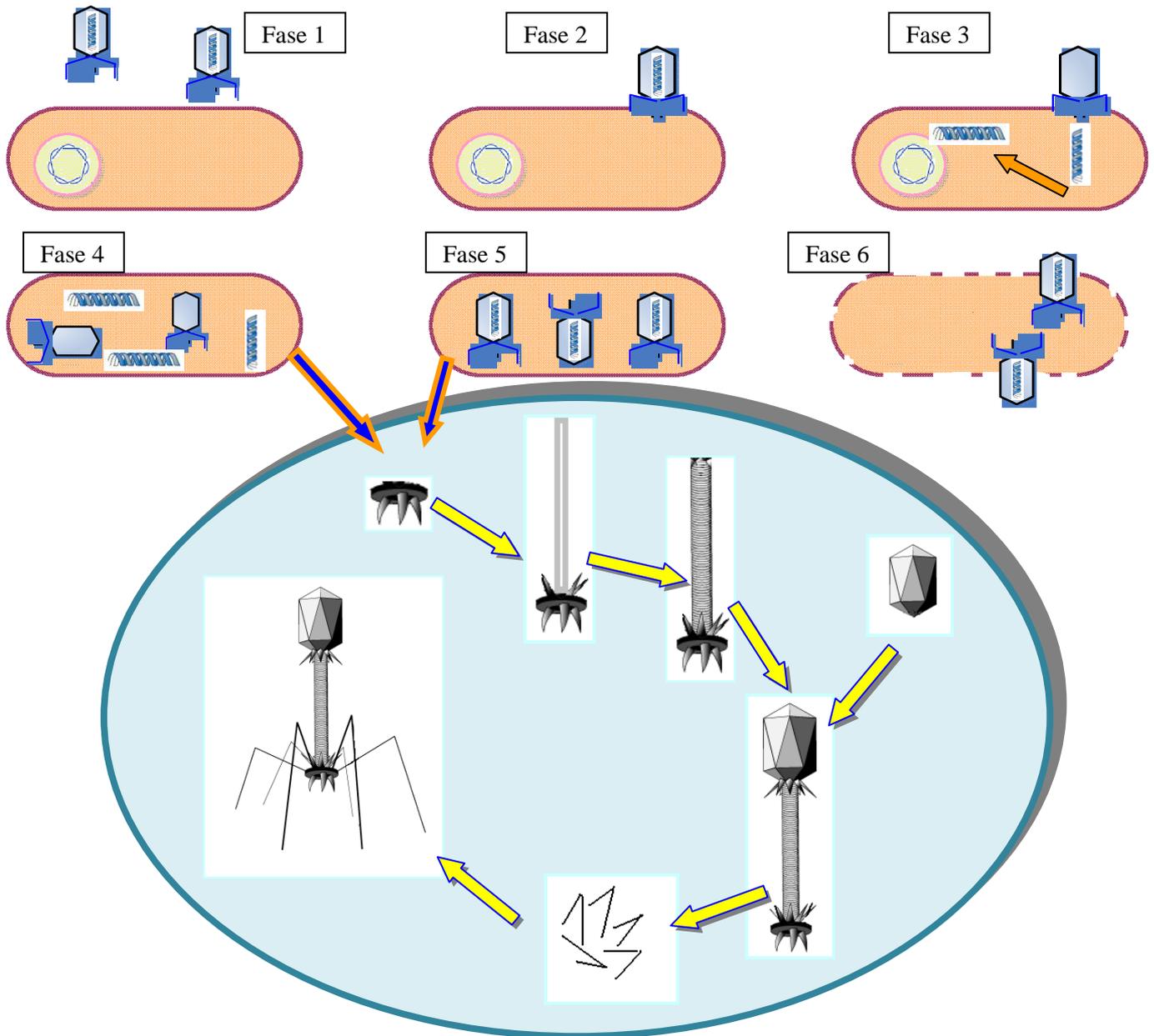
- a) **Testa:** rappresentata dal capsido proteico, contiene e protegge il genoma virale.
- b) **Coda:** struttura cava a forma allungata che supporta la testa e le fibre, queste ultime atte a prendere contatto e fissarsi sulla cellula procariota.
  - b1 **collo:** collegamento fra la coda e la testa;
  - b2 **parte centrale:** è la parte che si contrae quando è inoculato il genoma;
  - b3 **piastra basale:** supporto per le fibre della coda;
  - b4 **fibre della coda** (in numero di 5 - 6): mezzi per aderire alla cellula da parassitare.

Attraverso la parte centrale cava della coda transita l'acido nucleico nel momento dell'iniezione nella cellula procariota. Questa è la parte più evidente della differenza morfologica e funzionale fra virus e batteriofagi: i virus penetrano completamente con l'intero capsido nella cellula parassitata mentre i batteriofagi prendono contatto e aderiscono saldamente alla cellula ed iniettano al suo interno l'acido nucleico che poi s'integra nel DNA della cellula, mentre il capsido e le altre parti restano all'esterno. Dopo l'integrazione del genoma del batteriofagi nel DNA cellulare, la cellula procariota è indotta alla sintesi dell'acido nucleico e delle proteine virali che, una volta assemblate con il genoma, costituiranno altri batteriofagi che usciranno per secrezione o per lisi della cellula.

Figura 3.29 Morfologia del Batteriofago



**Figura 3.30** *Le fasi della replicazione dei Batteriofagi*



### 3.4. Allergeni

Il D.Lgs. 81/08 inserisce fra gli AB, accanto a quelli cosiddetti infettivi (virus e batteri) ed a quelli infestanti (elminti, protozoi), anche quei composti (molecole, sostanze e cellule) in grado di provocare negli individui esposti reazioni allergiche.

Gli allergeni possono avere una struttura cellulare o meno, essere costituiti da una molecola unica o da un insieme di molecole di provenienza organica, da cellule eucariote che procariote, o di origine inorganica. Essi possiedono configurazioni strutturali e chimiche molto differenti fra loro, ma le azioni fisiologiche indotte sull'organismo umano sono invece molto simili.

Per conoscere il significato della reazione allergica, che rappresenta un aspetto non fisiologico per l'organismo, è indispensabile conoscere il meccanismo organico da cui scaturisce il riconoscimento dell'AB chiamato allergene e soprattutto perché avviene la reazione allergica quando un organismo "sensibile" ne è esposto.

Nell'esperienza si constata che non tutti incorrono in una risposta allergica, ma solo quelli che presentano una "sensibilità specifica" verso l'allergene.

---

Ci si riferisce a quel complesso apparato anatomico detto *sistema immunitario*, del quale è utile conoscere i meccanismi di azione e la sua evoluzione nel regno animale. Capire, dunque, come il sistema svolge la sua funzione nelle condizioni normali, fisiologiche, è il primo passo per comprendere le reazioni che avvengono allorché un organismo esposto e sensibile è sottoposto alle stimolazioni degli allergeni.

## 4. IL SISTEMA IMMUNITARIO

Qualsiasi organismo vivente è continuamente a contatto con moltissimi agenti potenzialmente lesivi della sua salute ed integrità. In particolare è molto evidente e frequente l'esposizione ad agenti infettivi e parassitari che, in numero molto consistente, sono presenti negli ambienti di vita di tutti gli organismi viventi. Inoltre, nell'attività metabolica dell'individuo vivente, si generano continuamente nuove cellule di cui, una parte, presenta delle differenze somatiche e cromosomiche capaci di dar luogo a linee cellulari aberranti dotate di alcune temibili caratteristiche (cellule neoplastiche):

- rapida crescita e riproduzione;
- predisposizione all'invasività nei tessuti d'altri organi anatomici.

In assenza di una specifica protezione intrinseca dell'organismo vivente verso le aggressioni esogene e quelle endogene l'organismo rapidamente sarebbe sopraffatto per malattie infettive o neoplastiche.

La sopravvivenza degli organismi esposti ad agenti lesivi sia endogeni sia esogeni è subordinata all'esistenza di precisi strumenti biologici in grado di riconoscere prima, e di neutralizzare poi, gli agenti che possono essere dannosi che sono detti antigeni.

È evidente che la sopravvivenza degli esseri viventi esposti agli antigeni deve essere garantita da un sicuro e preciso sistema di controllo, riconoscimento e rimozione di tutti quegli elementi potenzialmente capaci di mettere a rischio la salute e la vita degli organismi viventi; questo è il *sistema immunitario*<sup>5</sup>.

Il sistema immunitario dei vertebrati è un complesso sistema costituito da una rete integrata di mediatori chimici e cellulari sviluppatasi nel corso del lungo cammino evolutivo, per operare in difesa dell'organismo vivente da qualsiasi forma di insulto chimico, traumatico o infettivo indirizzato a danneggiare la sua integrità.

L'azione di questo sistema porta all'immunità dell'organismo, condizione che può essere definita "*stato di resistenza specifica, congenita o indotta di un organismo vivente, contro agenti infettanti, sostanze tossiche o cellule atipiche in seguito alla formazione di anticorpi, e lo sviluppo di una immunità cellulare*". Esso è in grado di riconoscere tutti gli agenti potenzialmente dannosi ed elaborare specifiche molecole o cellule per eliminarli.

Le informazioni scambiate fra i distretti di questo complesso apparato, devono essere rapide e precise, al fine di distinguere senza errore le parti *endogene* (proprie dell'organismo) da quelle *esogene* (d'origine diversa / estranea dall'organismo).

Più propriamente si definiscono:

- *Self*: elementi propri e compatibili con l'organismo.
- *Non self*: elementi non appartenenti o non compatibili con l'organismo.

### 4.1. Anatomia del sistema immunitario

Il sistema immunitario, dal punto di vista anatomico, non ha una sede unica e non è costituito da un solo organo; la sua organizzazione è articolata su più organi topograficamente distanti ma connessi e funzionanti attraverso la comunicazione fornita da mediatori chimici che rapidamente trasportano l'informazione ad uno o più organi o tessuti coinvolti. Gli organi che compongono il sistema immunitario lo sono distinti in:

organi primari o centrali

organi secondari o periferici

Organi primari sono il *midollo osseo* ed il *timo*, dove hanno origine le cellule del sistema immunitario. Sono organi ove maturano e si differenziano particolari cellule circolanti: i linfociti (appartenenti al gruppo multiforme di cellule detti leucociti o globuli bianchi presenti nella parte corpuscolata del sangue). In essi si trovano i precursori delle cellule T (linfociti T) e delle cellule B (linfociti B); i precursori sono cellule immature il cui DNA si trova in una forma "nascente": i geni che codificano le immunoglobuline e i geni per i recettori dei linfociti T non sono espressi.

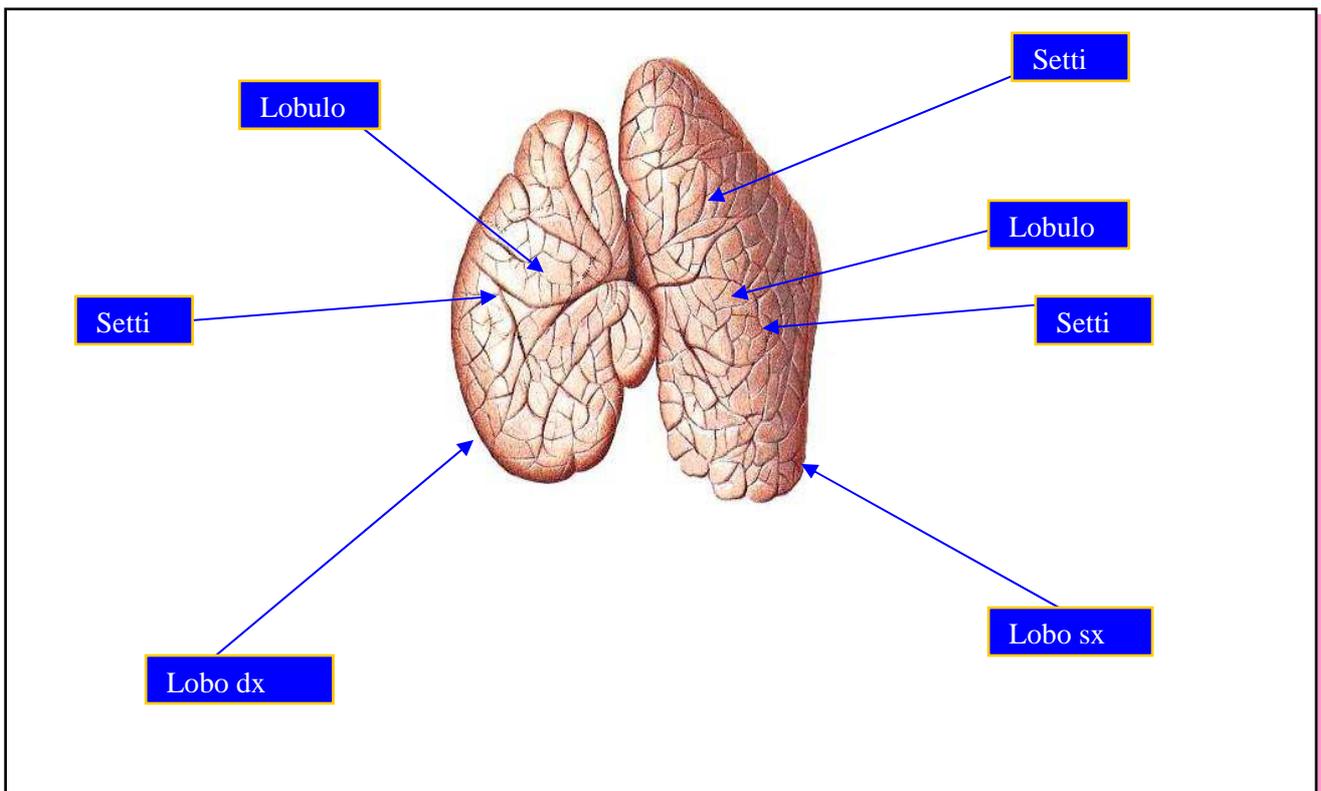
---

<sup>5</sup> Esiste un sistema immunitario anche negli organismi vegetali.

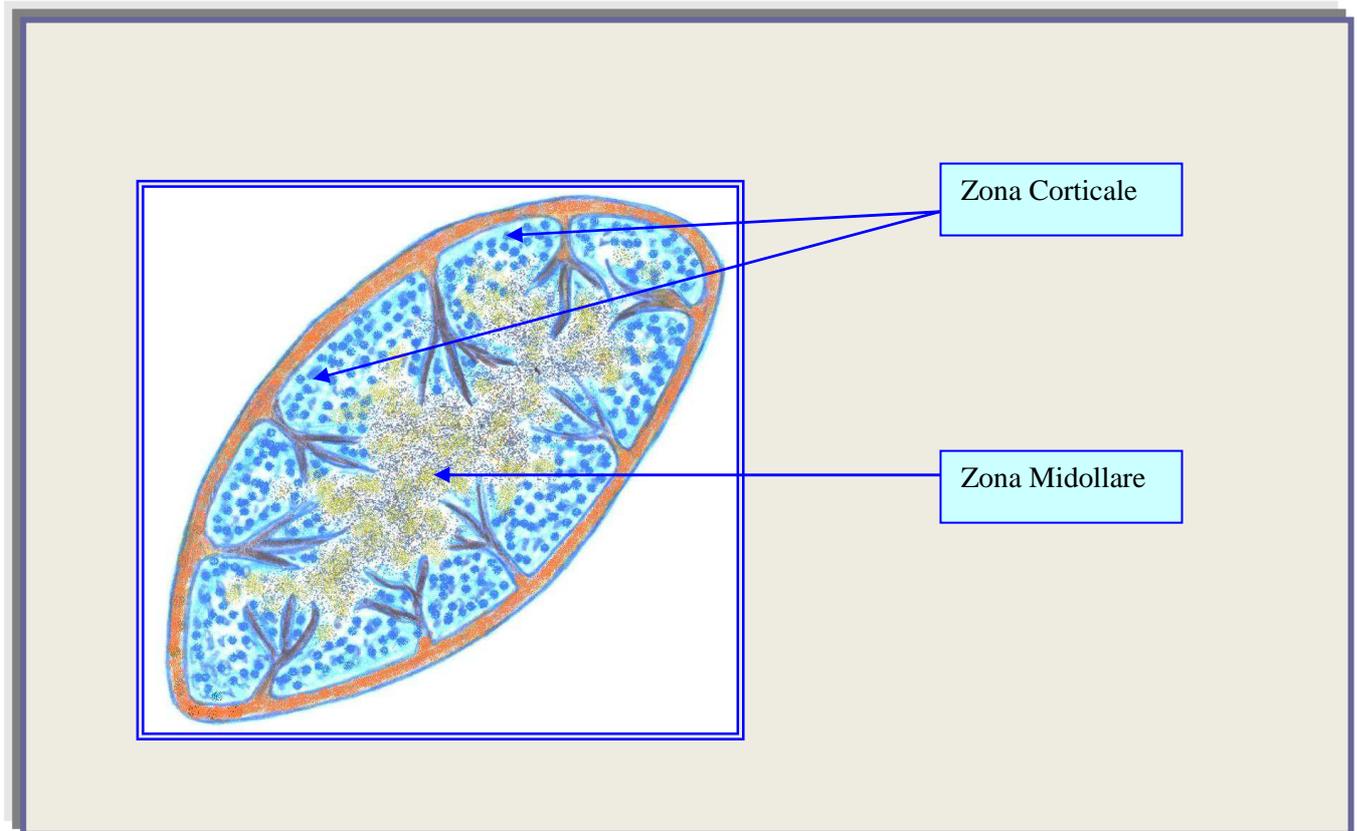
- *Midollo Osseo*: si trova nella parte centrale delle ossa ed è particolarmente rappresentato in quelle lunghe. È una parte anatomica di considerevole importanza, dove dalle cellule staminali si generano quelle che daranno origine alle diverse morfologie cellulari presenti nella parte corpuscolata del tessuto sanguigno. Dal midollo osseo si accrescono le popolazioni di:
  - Globuli rossi o emazie
  - Leucociti
    - Monociti che diventano Cellule Fagocitarie o Fagociti.
    - Linfociti
    - Granulociti
  - Piastrine

*Timo*: è un organo linfoide voluminoso, formato da due lobi, situato nella parte centrale e superiore del torace dietro lo sterno all'altezza della divaricazione della trachea, che con altre diramazioni compone l'albero bronchiale. Ogni lobo ha una struttura linfo-epiteliale ed è diviso da setti connettivali che lo ripartiscono in formazioni più ridotte dette lobuli in cui si distingue una parte interna detta midollare più povera di cellule ed una periferica, detta corticale, più ricca di cellule in cui sono distribuiti i linfociti T. La sigla "T" è espressione del luogo di maturazione che corrisponde appunto all'organo *timo*. Il numero di linfociti messi in circolo rappresenta solo il 5 - 10% di tutti i linfociti maturati nel *timo*: la maggior parte è eliminata perché non in grado di riconoscere i marcatori d'istocompatibilità, detti MHC (complesso maggiore di istocompatibilità). La sicura distinzione delle cellule atipiche da parte dei linfociti T è indispensabile per la sopravvivenza dell'individuo, quindi tutte le cellule "T" non in grado di discriminare con sicurezza i marcatori d'istocompatibilità devono essere eliminate per evitare che possano dar luogo a linee cellulari "T" incapaci di riconoscere le cellule atipiche prodotte dall'individuo, come ad esempio le cellule tumorali.

**Figura 4.1** *Il timo*

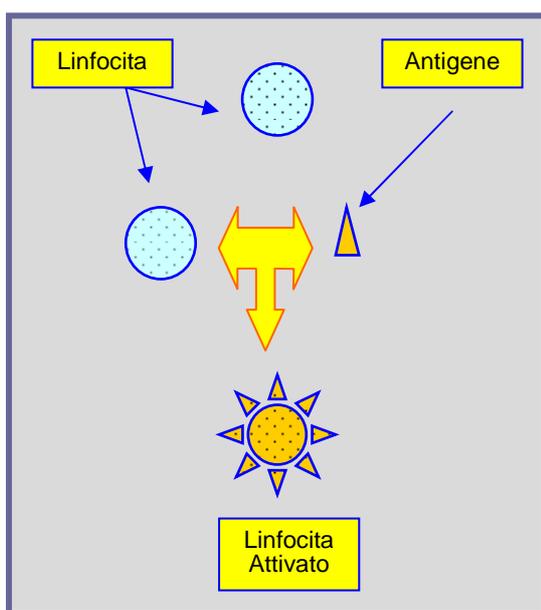


**Figura 4.2** Sezione trasversale di un lobulo del timo

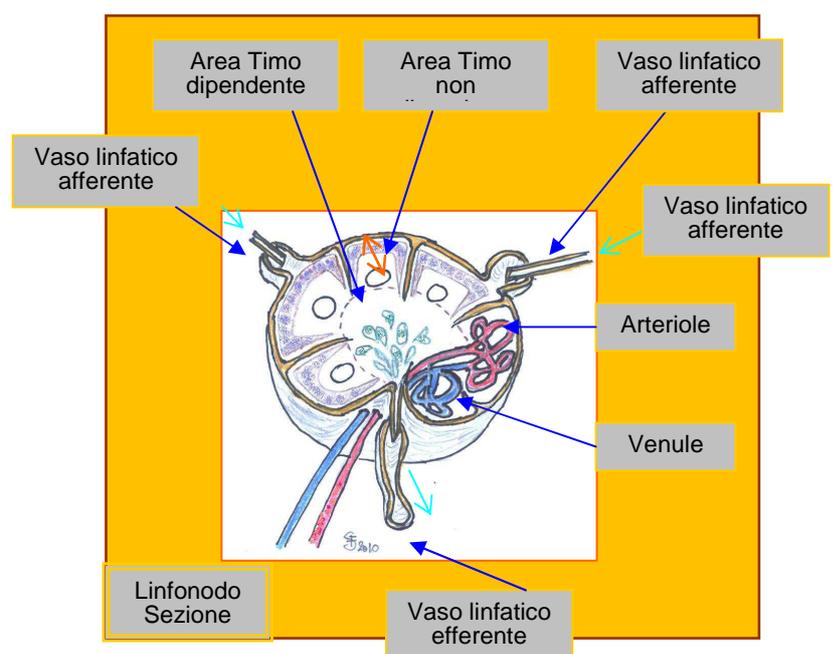


Organi secondari o periferici: la loro dislocazione topografica è nella “periferia dell’organismo”. Sono costituiti principalmente da *linfonodi*, *mlza*, *Ppacche del Peyer*, *anello di Waldeyer* (tonsille, adenoidi, tessuto linfatico e palatino) i quali sono di dimensioni variabili, in quanto il loro sviluppo dipende dalla stimolazione antigenica esterna; hanno in comune la caratteristica di contenere nei loro tessuti contemporaneamente linfociti T, linfociti B (così definiti perché riscontrati nella *borsa di Fabrizio*, organo linfoide degli uccelli, posto vicino e dorsalmente alla cloaca), e macrofagi.

**Figura 4.3** Attivazione del linfocita



**Figura 4.4** Sezione di un linfonodo



**Linfonodi:** sono organi di forma arrotondata o reniforme, della grandezza di pochi mm, presenti in maniera diffusa in tutto il corpo umano. In alcune zone (ascelle, inguine, ecc.) sono particolarmente numerosi. Il *linfonodo* è il luogo dove nuovi linfociti sono esposti agli antigeni, vale a dire dove le cellule linfoidi prendono contatto con gli antigeni. È possibile in ogni linfonodo distinguere 2 zone.

1. *Corteccia o zona corticale timo indipendente*, in questa parte sono presenti *linfociti B* concentrati in noduli o follicoli.
2. *Zona midollare timo dipendente*, posta nella parte centrale del linfonodo, contiene linfociti T attivati, e plasmacellule.

I *linfociti T e B* giungono al linfonodo attraverso i *vasi afferenti*: i *linfociti T* si avviano nella zona midollare, quelli B nei *follicoli* della zona corticale. In questo sito essi riconoscono il proprio antigene, qui trasportato con la *linfa* da altre cellule sempre attraverso il *vaso afferente*; l'esposizione dei linfociti all'antigene consente la loro attivazione dando l'avvio ad un processo proliferativo al quale segue l'abbandono del linfonodo da parte dei linfociti prodotti, attraverso i *vasi efferenti*. I *linfociti*, che sono riversati nel circolo linfatico e da questo in quello ematico, dopo l'attivazione sono *cellule effettrici* in grado di svolgere le attività immunologiche:

- produrre anticorpi,
- produrre mediatori chimici, ecc.

I linfociti *non* attivati dall'antigene ritornano al circolo linfatico.

**Milza:** localizzata nell'ipocondrio sinistro subito sotto il diaframma (corrisponde alla parte sx del quadrante superiore dell'addome) è paragonabile ad un grosso linfonodo con il quale ha analogie funzionali; infatti la funzione della milza è una sorta di filtrazione biologica. In una sezione della milza possiamo distinguere dall'esterno verso l'interno:

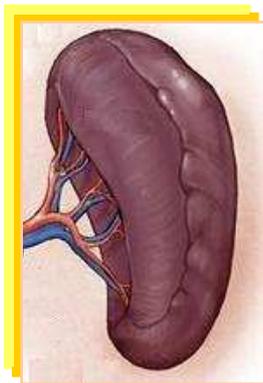
una *capsula di tessuto connettivo* da cui si dipartono trabecole (fibre di supporto all'interno del tessuto) che suddividono il tessuto interno della milza (*parenchima*) in:

**Sostanza rossa:** formata da ammassi di globuli rossi giunti alla fine della vita biologica o danneggiate (la vita media del globulo rosso è di 120 gg) che qui vengono eliminati da parte di macrofagi splenici.

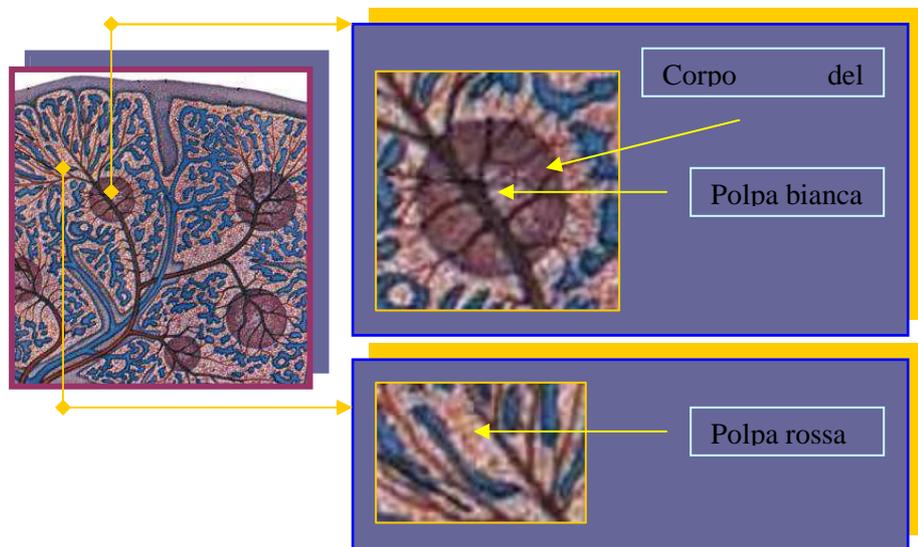
**Sostanza bianca:** sede di riconoscimento dell'antigene, che contiene linfociti T e B.

Esiste una sostanziale differenza fra milza e linfonodo: gli antigeni giungono alla milza tramite il circolo sanguigno, mentre nei linfonodi gli antigeni arrivano con la linfa portata dai *vasi linfatici afferenti*.

**Figura 4.5** La milza



**Figura 4.6** Sezione della milza

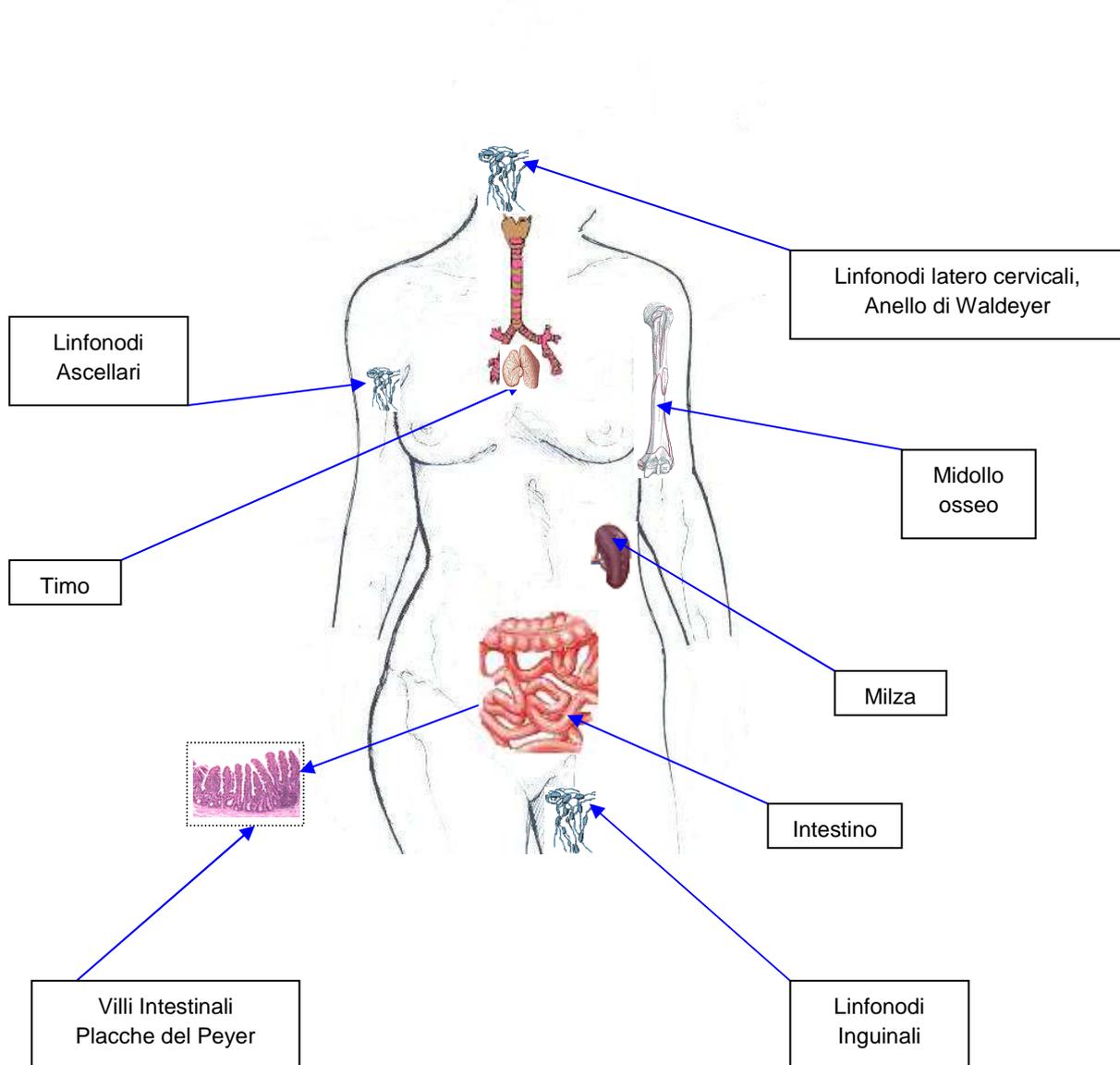


**Placche del Peyer** sono annidate tra i villi dell'intestino tenue. La placca è formata da un centro germinativo (zona midollare) di linfociti B di deposito, circondato da linfociti T (zona corticale), che si trovano nella sottomucosa dell'intestino tenue. Inoltre esse sono ricoperte da cellule epiteliali chiamate *cellule M*, specializzate nel consentire il passaggio selettivo solo d'alcuni tipi di cellule e molecole. Le *cellule M* intercettano gli antigeni del lume intestinale che poi sono trasportati intatti ai linfociti intra-epiteliali (all'interno della propria cellula) o passano attraverso lo spazio intercellulare verso il liquido tissutale ed espongono l'antigene ai macrofagi, alle cellule dendritiche e ai linfociti B presenti nello spazio sub-epiteliale.

Le cellule M trasportano solo gli antigeni senza intraprendere nessuna azione enzimatica e senza svolgere nessun processo preventivo sugli antigeni. Questa è considerata una peculiarità di tale tessuto.

*Anello del Waldeyer* (tonsille adenoidi e tessuto linfatico palatino): è un tessuto linfoide associato alle mucose del primo tratto respiratorio, palato e gola. È costituito da molti *gangli linfatici* provvisti di *follicoli linfoidei* dotati di *centri germinativi*. La loro funzione non differisce dagli altri centri di *gangli linfatici*. Per la diversa disposizione topografica, questi possono differire per l'intercettazione dell'antigene (ad esempio nell'infezione da *Salmonella typhi* che avviene per via alimentare, il microorganismo dopo l'ingestione penetra nel circolo dell'individuo attraverso i linfonodi del *nodo del Waldeyer*).

**Figura 4.7** *Principali organi anatomici del sistema immunitario*



Nel sistema immunitario, oltre agli organi anatomici, altri elementi intervengono in maniera importante.

Gli Antigeni: antigene è una qualunque sostanza, riconosciuta come geneticamente estranea che, se presente in un organismo, è in grado di stimolare il sistema immunitario per la produzione di anticorpi specifici, capaci di un legame peculiare per quell'antigene, o di sensibilizzare cellule specifiche (risposta cellulo mediata dei linfociti T).

La produzione di *anticorpi* è stimolata dalla presenza d'antigeni *esogeni* (batteri, virus, ecc.). Per gli antigeni *endogeni*, provenienti dall'interno dell'organismo (produzione di cellule atipiche), lo stimolo provoca una risposta cellulo mediata. Il presupposto fondamentale per un *antigene* è quello di essere classificato come estraneo all'organismo stesso e possedere anche le seguenti caratteristiche:

- peso molecolare: non inferiore a 10.000 Da (dalton). Le molecole di peso inferiore diventano antigeni se si legano a proteine ad alto peso molecolare; in questo caso sono detti *apteni*, considerati antigeni incompleti.
- solubilità: la molecola antigenica deve essere un composto solubile; questa proprietà contribuisce all'immunogenicità della sostanza.
- diffusione: affinché l'organismo invaso abbia il tempo per stimolare le cellule immunocompetenti la molecola deve diffondere lentamente.
- conformazione spaziale: non è una caratteristica che influisce sulla immunogenicità. Ogni variazione della disposizione spaziale degli atomi in una molecola antigenica equivale a definire un altro antigene.

I leucociti o globuli bianchi: sono cellule appartenenti al tessuto circolante che, assieme alle emazie o globuli rossi e alle piastrine, costituiscono la parte corpuscolata del sangue.

La funzione principale dei leucociti è intervenire nelle situazioni in cui nell'organismo esiste un'infiltrazione di agenti estranei, in grado di alterarne l'integrità biologica. L'attuazione dei meccanismi di difesa è una conseguenza, dunque, del superamento delle barriere organiche costituite dalle mucose e dalla cute da parte di batteri, virus, miceti, parassiti e corpi estranei inanimati.

I leucociti sono generati da una cellula staminale emopoietica pluripotente, residente nel midollo osseo, che si trasforma in una cellula staminale mieloide, dalla quale hanno origine i mieloblasti e monoblasti e da questi rispettivamente i granulociti (neutrofili, eosinofili, basofili) e gli agranulociti (monociti, linfociti).

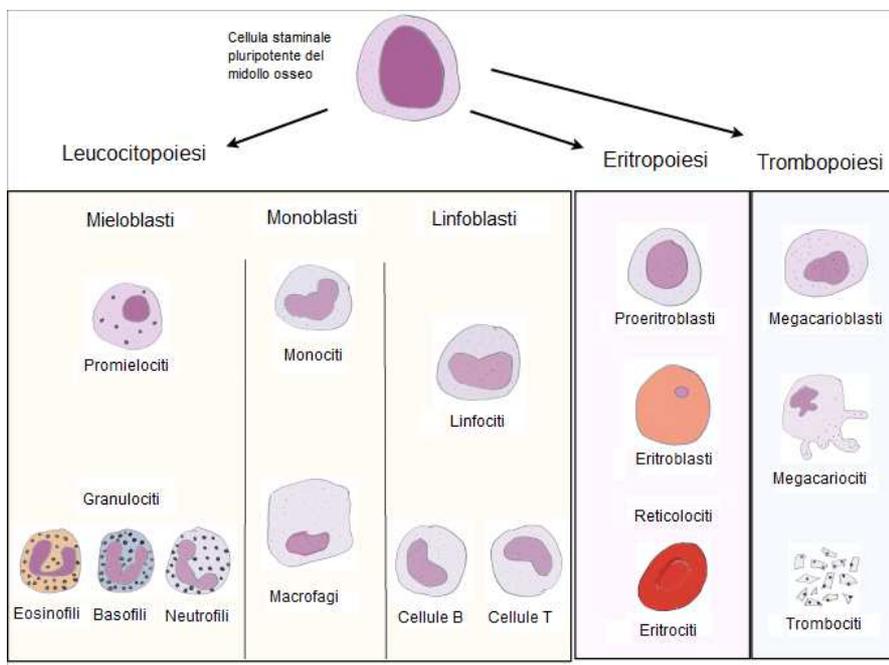
La quantità di leucociti mediamente presente nel sangue periferico di una persona sana varia dai 4.000 ai 10.000 per  $\text{mm}^3$ . Le variazioni del numero di cellule sono legate alle varie fasi della crescita, all'invecchiamento e alle condizioni di salute della persona.

I leucociti sono classificati in *granulociti* ed *agranulociti* in base alla presenza o meno di granulazioni nel citoplasma. I granulociti si distinguono in: neutrofili, eosinofili, basofili e hanno un nucleo *polimorfico o plurilobato*; da ciò sono detti anche *polimorfonucleati*.

Il leucociti *agranulociti* invece possiedono un nucleo rotondeggiante o al massimo con un'insenatura che gli dona una forma falciforme o semilunare, mancano le granulazioni nel citoplasma e sono classificati in: monociti, dai quali derivano i macrofagi tissutali.

linfociti, i quali si distinguono in: linfociti B e linfociti T

**Figura 4.8** Le cellule del sangue

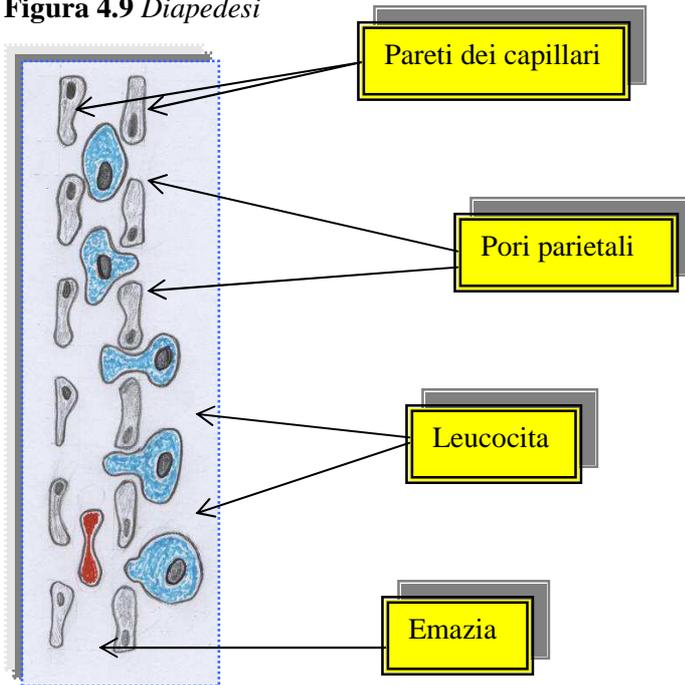


Tutte le forme leucocitarie hanno delle caratteristiche che le trattengono come molto simili per le funzioni svolte, fondamentali per la sopravvivenza dell'individuo per i compiti di protezione a cui sono preposti.

La motilità: è il primo importante aspetto funzionale di queste cellule. I leucociti oltre ad essere trasportati con il sangue passivamente, possono utilizzare una mobilità attiva propria tramite alcune proteine del citoscheletro e spostarsi verso il bersaglio.

*La deformabilità della cellula:* le cellule leucocitarie hanno la capacità di subire rilevanti deformazioni; ciò consente ai leucociti di uscire dai vasi ematici con un processo mediato da stimoli chimici detto *diapedesi*.

**Figura 4.9** *Diapedesi*



I Neutrofili: sono le cellule percentualmente più numerose fra quelle della serie bianca (leucociti). I granulociti neutrofili rappresentano una parte rilevante nell'infiammazione acuta e svolgono altresì quattro funzioni fondamentali nella reazione immunitaria:

fagocitosi, potenziata da recettori per il complemento;

digestione di agenti biologici patogeni attraverso il rilascio di radicali liberi e sostanze ossidanti contenute nei granuli primari;

rilascio di mediatori chimici e di mediatori infiammatori contenuti nei cosiddetti granuli secondari;

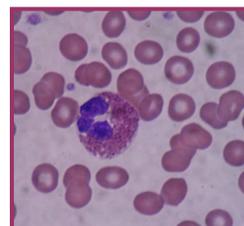
rimozione delle parti danneggiate dei tessuti; talvolta l'azione porta l'insulto anche ai tessuti sani, mediante l'azione dell'enzima gelatinasi (contenuta nei granuli terziari).

Gli Eosinofili: sono granulociti caratterizzati da granulazioni citoplasmatiche che assorbono il colorante eosina che le fa apparire di colore rosso-rosa; i granuli contengono l'enzima che idrolizza l'istamina, l'istaminasi, che quindi agisce come antinfiammatorio. Gli eosinofili possiedono sulla membrana un recettore per gli anticorpi *IgE* e sono deputati alle reazioni immunologiche mediate dalle immunoglobuline *IgE*, che comprendono le reazioni alle parassitosi ed alle allergie.

**Figura 4.10** *Neutrofilo (May Grunwald Giemsa. Tommaso Leonardi)*



**Figura 4.11** *Eosinofilo*



I **Basofili**: sono i granulociti percentualmente meno rappresentati nella serie bianca della parte corpuscolata del sangue (0,5 – 1%). Possiedono una granulazione basofila (nero-blu) che contiene *Eparina*, *Istamina Perossidasi*, *Fosfatasi Acida* ed altri mediatori chimici dell'infiammazione; sulla superficie cellulare hanno recettori per la porzione Fc delle IgE. (Vedi *Immunoglobuline*).

Essi svolgono funzioni simili ai mastociti e con le medesime modalità di attivazione; partecipano alle reazioni allergiche ed a tutti i fenomeni d'ipersensibilità. Sono inoltre responsabili dei fenomeni di spasmo della muscolatura liscia, durante le allergie, come nel caso dell'asma allergica; lo spasmo è provocato dalla liberazione di leucotrieni da parte dei Basofili.

**Figura 4.12** *Basofilo*



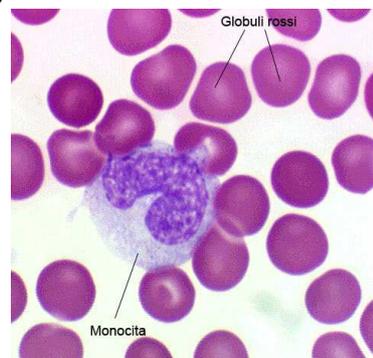
I **mastociti** (*mastzellen in tedesco cioè "cellula infarcita"*): probabilmente devono il loro nome alla presenza di grosse inclusioni o granulazioni citoplasmatiche (colore rosso porpora) che assumono i coloranti basici come il blu di toluidina; i granuli citoplasmatici contengono istamina, eparina e numerosi altri fattori infiammatori che sono rilasciati in gran quantità come risposta a stimoli immunogeni. Il mastocita è una cellula di forma variabile (da rotondeggiante fino ad arrivare a quella fusata) grazie al comportamento ameboide di cui essa è dotata. I *mastociti* intervengono nella genesi delle reazioni allergiche, di ipersensibilità e anafilattiche (shock anafilattico); sono oggi considerati gli attivatori della flogosi acuta. Sono cellule presenti in particolare nei *tessuti connettivi*, tendono a concentrarsi lungo i vasi sanguigni e sono abbondanti nel peritoneo.

La membrana cellulare possiede i recettori per la porzione Fc delle IgE, formati dalla prima esposizione delle cellule all'antigene. Ad una seconda esposizione allo stesso antigene avviene l'immediato riconoscimento dello stesso con conseguente degranulazione del citoplasma e liberazione delle sostanze contenute (istamina ed eparina) che attivano altre reazioni (per esempio: sui vasi sanguigni si ha la dilatazione e quindi la caduta della pressione; sui bronchi si genera una bronco costrizione per azione dei leucotrieni che intervengono sulla muscolatura liscia ).

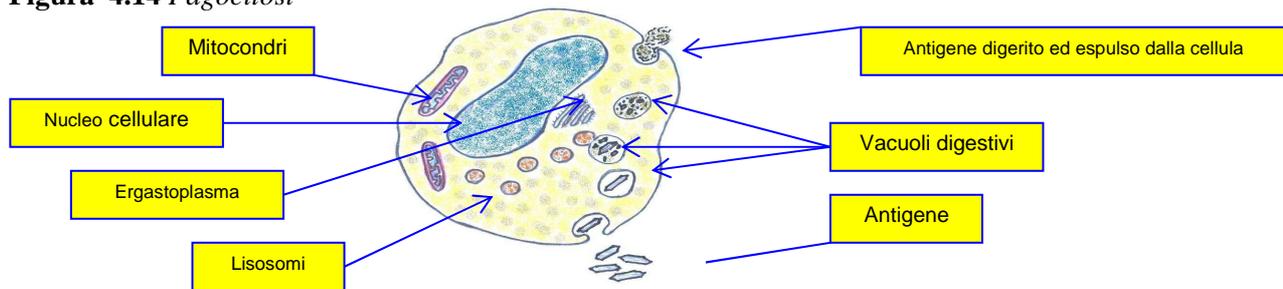
I **Monociti**: nel sangue rappresentano il 2 – 8% di tutta la popolazione leucocitaria. Essi sono di grandezza maggiore rispetto agli altri leucociti e possiedono un nucleo ovale o reniforme. Sono cellule deputate a trasformarsi in efficienti macrofagi e, per il loro volume, in grado di fagocitare e digerire anche particelle grandi e pesanti, compiendo un'efficace azione di depurazione e filtrazione di sostanze estranee (parti carboniose, asbesto) o cellule (microrganismi ed emazie).

I monociti, per mezzo della diapedesi, migrano dal torrente circolatorio ai tessuti sotto gli stimoli chemio - tattici; giunti ai tessuti, maturano in macrofagi. I macrofagi non sono in grado di riconoscere immediatamente tutte le sostanze estranee; dopo la digestione degli elementi estranei (inglobati per *fagocitosi*) elaborano dei frammenti molecolari inserendoli sulla membrana cellulare. Tali complessi proteici posti sulla superficie cellulare sono riconosciuti da particolari globuli bianchi, detti linfociti *T helper*, che rispondono con un aumento della risposta immunitaria.

**Figura 4.13** *Monocita*

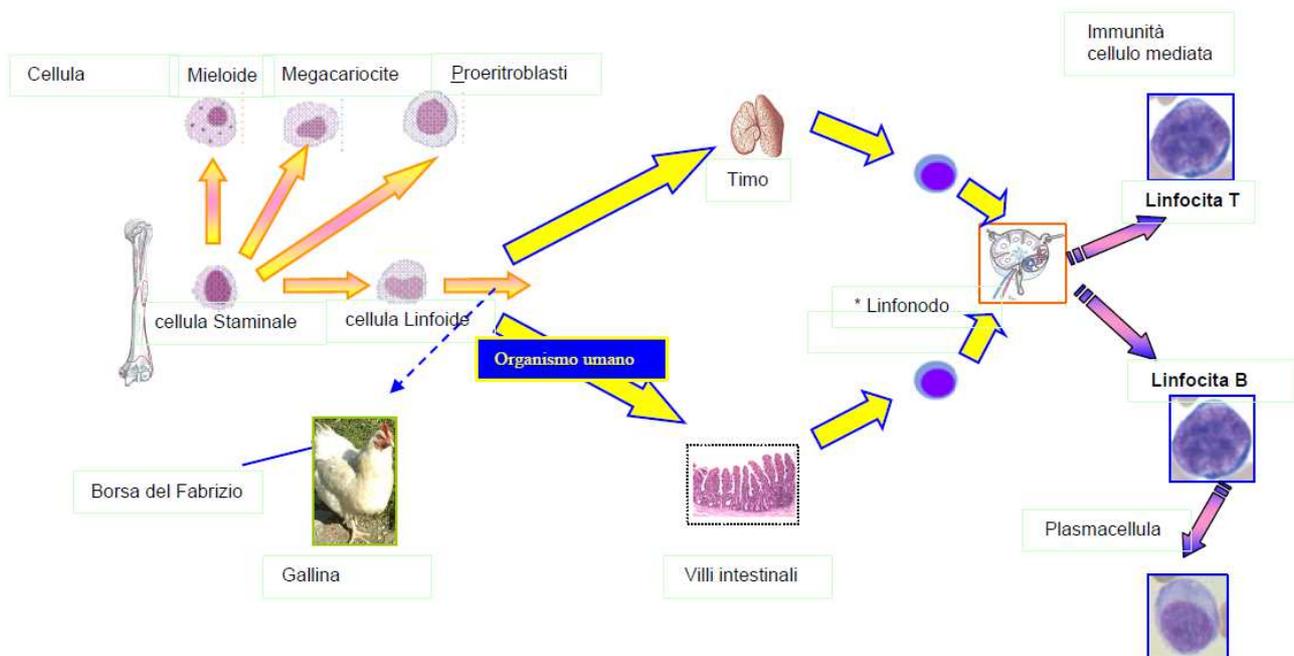


**Figura 4.14 Fagocitosi**



*I linfociti*: particolare attenzione va posta alla conoscenza di un gruppo di cellule, della serie bianca, che riveste un'importanza notevole nei meccanismi immunologici di protezione contro gli antigeni. I linfociti sono cellule circolanti presenti nel tessuto ematico, essi rappresentano una quota della parte corpuscolata del 20– 40% e costituiscono la struttura fondamentale per la risposta immunitaria dell'organismo. Queste cellule si originano da un'unità cellulare "precursore" multipotente, cellula staminale, presente nel midollo osseo.

**Figura 4.15 Genesi dei linfociti**



Da questa cellula (*cellula linfoide*) maturano tre linee linfocitarie:

- **Linfociti B** ("B" da borsa del Fabrizio presente negli uccelli trovata da Girolamo Fabrici d'Acquapendente, entro cui si sviluppano linfociti B, negli uccelli). Sono responsabili dell'immunità umorale, rappresentano il 10-15% di tutti linfociti circolanti; oltre che nel sangue i linfociti B sono presenti negli organi linfoidi periferici (linfonodi, milza, tessuto linfatico annesso alle mucose). Queste cellule differenziano e maturano nel midollo osseo e diventano adulte attraverso diversi passaggi di maturazione. Alla fine del ciclo, ogni linfocita esprime sulla sua superficie alcuni anticorpi generici, non specifici per l'antigene presente nell'organismo al momento dell'infezione; successivamente ricombinano i loro anticorpi fino a trovare quello "adatto" per l'antigene a cui sono stati esposti. Al riconoscimento dell'antigene da parte dell'anticorpo molti dei linfociti B si trasformano in cellule effettrici, le *plasmacellule*, che producono gli anticorpi, detti anche immunoglobuline, specifici per l'antigene con cui è avvenuto il contatto. Una parte di linfociti resta in circolo dopo l'esposizione all'antigene conservando un ridotto numero di anticorpi specifici; in caso di una nuova esposizione viene avviata una nuova, massiccia e più rapida risposta al medesimo antigene; queste *cellule della memoria* costituiscono il patrimonio immunologico di quella parte del sistema detta *immunità acquisita*.

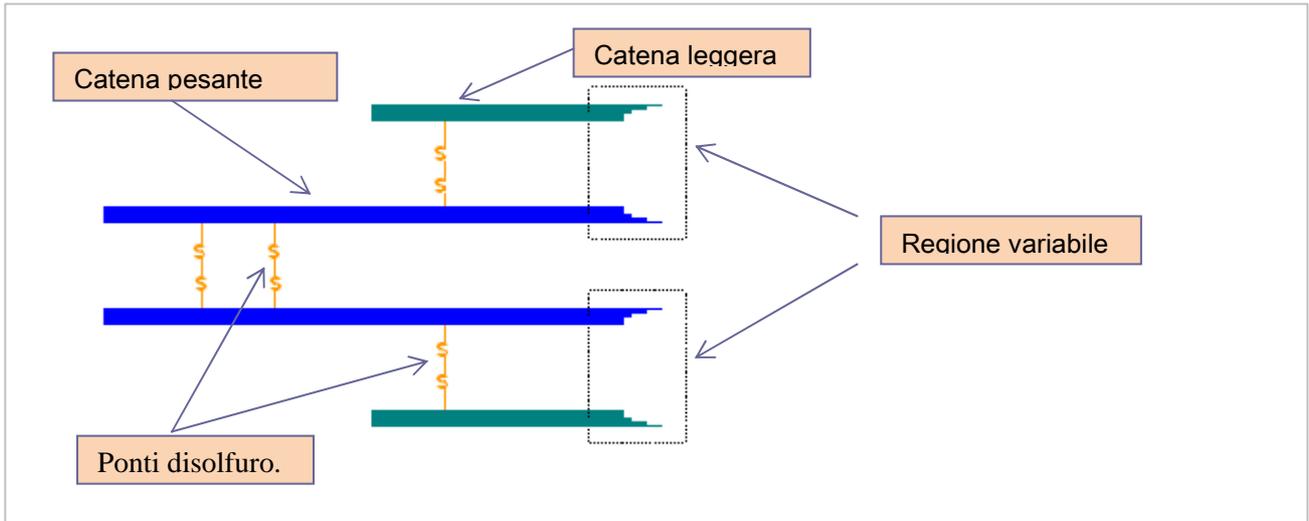
- 
- **Linfociti T** (da “timo dipendenti”, il timo è il luogo di maturazione). Svolgono la funzione di riconoscimento dell’antigene, non producono anticorpi ma attivano la risposta umorale, mentre per la risposta cellulo mediata mettono in atto azioni citotossiche verso le cellule bersaglio. Essi possiedono sulla superficie della membrana cellulare strutture molecolari simili a quelle delle immunoglobuline presenti sui linfociti B, capaci di riconoscere gli antigeni estranei. Questi recettori sono improntati a riconoscere le cellule proprie dell’organismo già in fase embrionale; ciò è possibile perché le cellule dell’organismo sono “marcate” con i cosiddetti “antigeni d’istocompatibilità”. Le cellule progenitrici dei linfociti T provengono dal midollo osseo e maturano nel timo. Qui acquistano particolari marcatori sulla membrana cellulare. I marcatori di membrana sono contrassegnati dalle lettere *CD* seguite da un numero arabo. Si conoscono almeno un centinaio di queste molecole, ma non tutte sono presenti sullo stesso tipo di cellula. I principali marcatori sono:

- CD3 presente in tutti i linfociti;
- CD4 presente solo nei linfociti T helper;
- CD8 presente sulla membrana dei linfociti T citotossici.

I linfociti T sono differenziati in sottopopolazioni che colonizzano gli organi linfatici:

- Linfociti T helper (Th), tramite la secrezione di mediatori chimici (*interleuchine* fra cui le *linfocine*) inviano segnali che inducono i linfociti B ad avviare la sintesi di immunoglobuline e i linfociti T a maturare in linfociti Tk (citotossici o killer). Le *interleuchine* possono agire anche direttamente contro cellule estranee o infettate provocando delle parziali lisi della membrana (fori) e attraendo poi i macrofagi per la fagocitosi delle cellule lesionate.
  - Linfociti T citotossici o killer(Tk): agiscono direttamente sulle cellule infettate da virus o sulle cellule neoplastiche (cancerogene o tumorali) con un’azione distruttiva. La cellula infettata presenta l’antigene di superficie d’istocompatibilità modificato e quindi non è più riconosciuta come propria dell’organismo, assume invece il carattere di “diversa”, da eliminare come potenzialmente dannosa.
  - Linfociti T soppressori (Ts): sono una sottoclasse dei linfociti citotossici o killer, agiscono sui linfociti T e B non per indurre una risposta immunitaria ma per limitarla; lo scopo è quello di regolare la risposta del sistema immunitario in maniera che non diventi sproporzionata rispetto alle necessità. Una risposta eccessiva potrebbe rivolgersi non solo contro le strutture estranee ma anche verso quelle proprie e contro parti dell’organismo stesso.
- **Cellule NK (Natural Killer):** sono dei linfociti di dimensioni maggiori delle cellule B e T, sono mononucleate, alcuni autori le individuano come linfociti T immaturi. Non sono prodotte nel corso della vita, ma durante la fase embrionale in dodicesima settimana. Esse divergono dai linfociti B e T per la mancanza, sulla superficie cellulare, dei marcatori di membrana presenti invece sulle cellule B e T. Sono cellule con attività citotossica verso una vasta gamma di cellule bersaglio, sulle quali riconoscono particolari recettori di superficie e si legano ad essi. La successiva secrezione di sostanze attive (*citochine*) contro la membrana permette la lisi cellulare e l’attivazione dei macrofagi. Un’alterata capacità di riconoscere i recettori rende le cellule NK le principali responsabili delle cosiddette malattie autoimmuni. Queste cellule, nel sistema immunologico, sono quelle meno specializzate, distruggono ogni elemento cellulare riconosciuto come estraneo, senza una particolare attivazione; sono infatti indipendenti dal sistema immunitario specifico ed esplicano un’importante azione come prima difesa, tipica dell’immunità innata. Sono particolarmente attive e distruttive verso le cellule tumorali o neoplastiche e contro quelle infettate da virus.
  - **Plasmacellule:** sono linfociti di grandi dimensioni, hanno un citoplasma basofilo con un nucleo caratteristico eccentrico, dotate di annessi cellulari che le rendono idonee a secernere grandi quantità d’immunoglobuline, la loro specifica funzione. La plasmacellula è una cellula del sistema immune che si differenzia dal Linfocita B dopo l’esposizione ad uno o più antigeni. Trasformata da linfocita B in *plasmacellula* questa attiva la produzione intensa di immunoglobuline o anticorpi specifici contro l’antigene che ha dato inizio alla stimolazione del sistema immune.
  - **Anticorpi o immunoglobuline:** dal punto di vista chimico sono delle proteine, la loro struttura è formata da quattro catene proteiche (due leggere e due pesanti). L’anticorpo presenta due regioni caratteristiche: una variabile ed una costante.

**Figura 4.16** Rappresentazione schematica di un anticorpo



La *parte variabile*, che comprende una parte della catena leggera ed una parte di quella pesante, ha la funzione di riconoscimento dell'antigene; essa è caratterizzata da un certo numero di aminoacidi in grado di legarsi all'antigene specifico e di riconoscere un numero illimitato di antigeni.

La *parte costante*, poco diversificata, è deputata alla fissazione del complemento, alla opsonizzazione ecc.

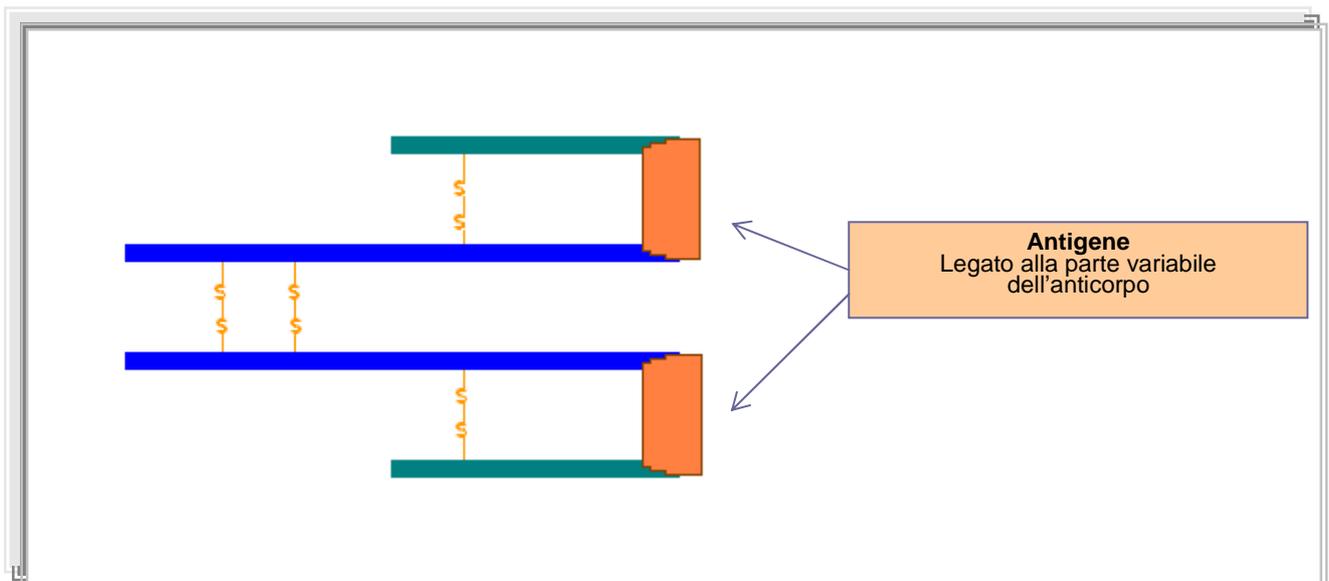
Nella reazione immunologica possiamo distinguere due comportamenti diversi nella risposta anticorpale se questa è indirizzata verso cellule estranee all'organismo o verso antigeni liberi.

Nel primo caso, verso le cellule estranee, gli anticorpi catalizzano l'azione delle proteine del complemento causando la lisi della cellula. In questo modo l'azione del complemento è concentrata su un solo tipo di cellula e la risposta è quindi più rapida e massiccia.

Nel secondo caso il meccanismo d'azione degli anticorpi è diretto contro gli antigeni liberi disciolti nel sangue: l'anticorpo si lega a loro precipitando; in questo modo gli antigeni dannosi (tossine) sono inattivati e potranno essere espulsi. Sono conosciute 5 classi d'immunoglobuline:

|             |             |             |
|-------------|-------------|-------------|
| <b>IG A</b> | <b>IG D</b> | <b>IG E</b> |
| <b>IG G</b> | <b>IG M</b> |             |

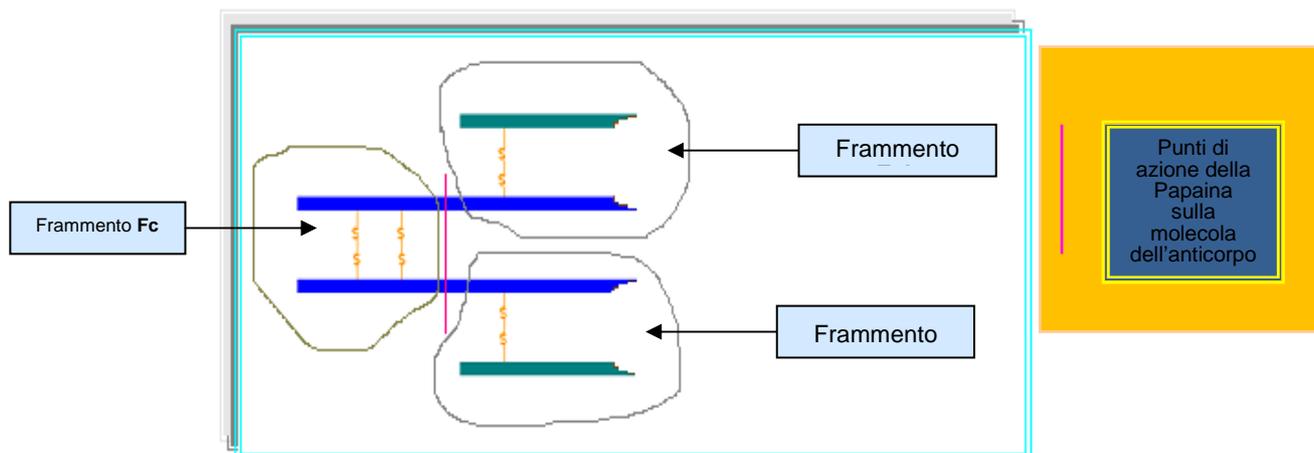
**Figura 4.17** Il legame antigene anticorpo



Nel corso dello studio per la conoscenza della struttura delle immunoglobuline è stato accertato che trattando la molecola con enzimi proteolitici come la papaina, si ottengono tre sotto unità o frammenti. La papaina

agisce sulla molecola nei punti dove passa la linea rossa (Figura 4.17, 4.18) e divide la molecola in tre frammenti, due detti *Fab* e uno detto *Fc*.

**Figura 4.18** Frazionamento della molecola dell'anticorpo, per azione della papaina, in tre frammenti



**Il Complemento:** rappresenta, insieme agli anticorpi, la parte indispensabile del sistema umorale per la difesa di un organismo esposto ad AB. È costituito da una ventina di proteine enzimatiche, circolanti e di membrana, capaci di interagire reciprocamente e con le membrane cellulari, provocandone la lisi. L'attivazione del complemento è un evento che si svolge con una modalità cosiddetta a cascata, nella quale la reazione delle proteine solubili, che convenzionalmente sono chiamate componenti, avviene in successione coinvolgendole tutte una dopo l'altra. La reazione immunologica di cooperazione fra anticorpi e complemento è alla base di molte delle attività biologiche che hanno come conseguenza la lisi cellulare, batterica o virale. Le proteine del complemento s'introducono nelle membrane degli agenti patogeni causando la formazione di pori che producono poi la lisi della cellula stessa.

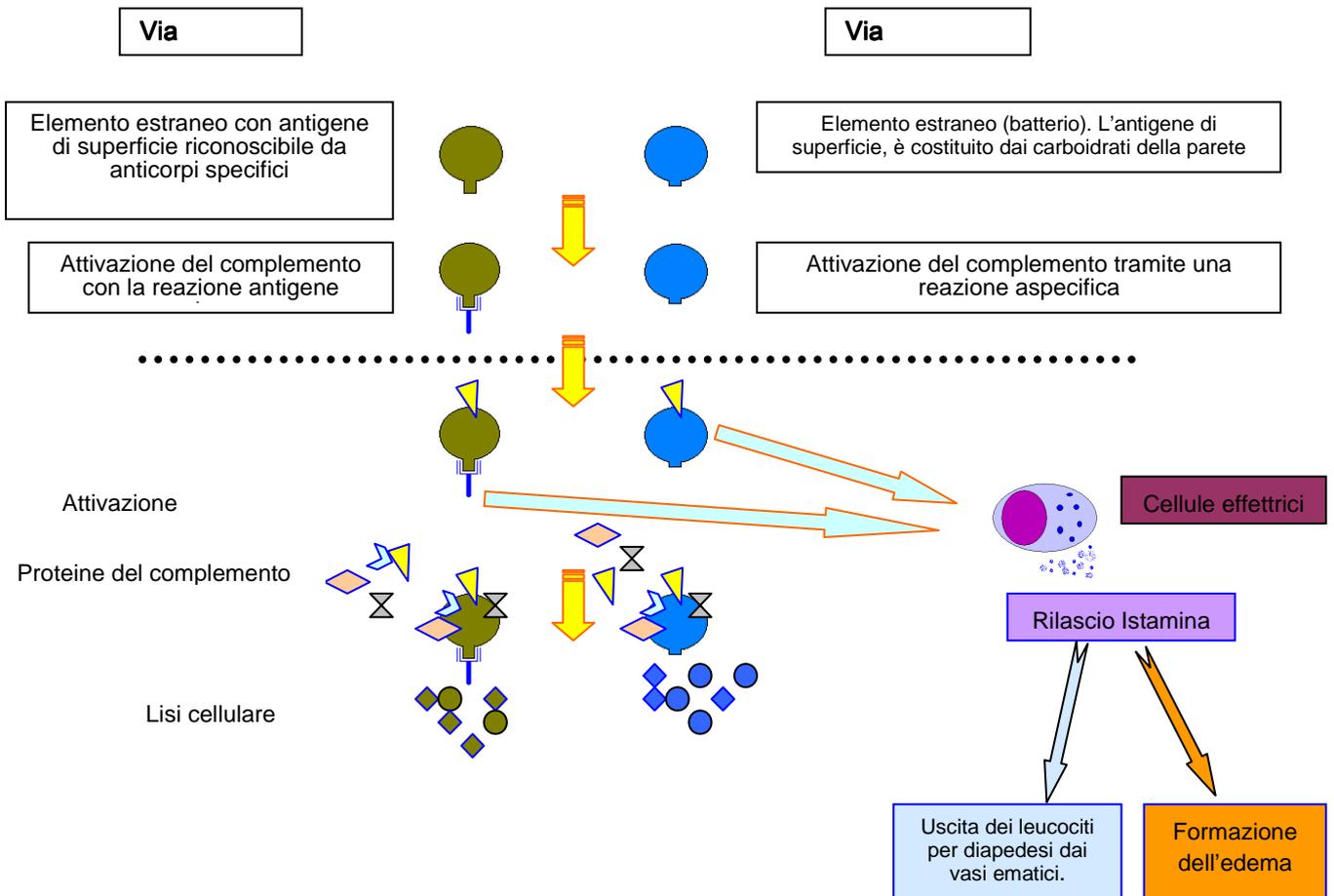
Il complemento per agire deve essere attivato, altrimenti tutti i suoi elementi circolano nell'organismo in maniera inattiva. Sotto la spinta della attivazione, il primo composto con attività proteolitica idrolizza in maniera specifica il secondo composto in due frammenti uno dei quali esplica la sua azione proteolitica sul terzo composto e così via fino alla formazione di un complesso detto *complesso di attacco della membrana*, il quale, legandosi alle membrane cellulari dei microorganismi, ne determina la lisi osmotica.

La reazione "a cascata" che accompagna l'attivazione del complemento segue un andamento ed una successione sempre identica, quello che può differire è la modalità di attivazione del complemento, cioè l'evento che determina l'inizio della reazione che porta alla lisi cellulare. L'attivazione del complemento può avvenire infatti attraverso due percorsi :

Via classica: attivata indirettamente, quando si stabilisce il legame tra l'antigene e alcune corrispondenti classi di anticorpi.

Via alternativa: attraverso questa via il complemento è attivato in modo diretto dal contatto delle proteine del complemento stesso con le pareti dell'antigene.

**Figura 4.19** Vie di attivazione del complemento



**Le Interleuchine:** sono mediatori chimici in grado di attivare alcuni tipi di Linfociti T e far avviare la riproduzione sia dei linfociti T sia dei linfociti B. (Vedi anche linfociti helper)

**Gli interferoni** sono una classe di glicoproteine, meglio note come citochine, prodotte dalle cellule del sistema immunitario (leucociti, fibroblasti) in risposta all'attacco di agenti esterni come virus, batteri, parassiti e cellule neoplastiche. La loro funzione specifica è quella di:

- inibire la replicazione di virus all'interno delle cellule infettate;
- impedire la diffusione virale ad altre cellule;
- rafforzare l'attività delle cellule preposte alle difese immunitarie, come i linfociti T, macrofagi;
- inibire la crescita di alcune cellule neoplastiche.

Gli interferoni si legano alla membrana della cellula e ne stimolano la produzione di enzimi antivirali; nel momento in cui un virus attacca una cellula attivata dall'interferone non riesce a moltiplicarsi a causa degli enzimi antivirali e si verifica quindi un arresto o un'attenuazione dell'infezione.

Alla fine della reazione immunitaria intervengono i *granulociti acidofili (leucociti eosinofili)* che inibiscono la produzione di istamina diminuendo l'infiammazione, e i linfociti T soppressori che inibiscono l'attività della difesa specifica eliminando le plasmacellule e i linfociti T in eccesso.

**Lisozima:** è un enzima battericida (proteina) presente in diversi tessuti animali, in grado di lisare la parete di alcuni batteri Gram +, catalizzando l'idrolisi del legame beta 1,4 tra l'acido N-acetilmuramico e la N-acetilglucosamina, del peptidoglicano. È presente in numerose secrezioni animali e umane:

- lacrime (fanno eccezione quelle dei bovini)
- saliva
- albume d'uovo

Il lisozima, legandosi alla superficie batterica, ne riduce la carica elettrica negativa superficiale, rendendo più facile la fagocitosi del batterio prima dell'intervento delle *opsonine* del sistema immunitario.

## 4.2. Meccanismi di difesa del sistema immunitario

L'immunità di qualsiasi soggetto animale è legata a due sistemi diversi ma interdipendenti:

- immunità aspecifica naturale o congenita;
- immunità specifica o a
- acquisita.

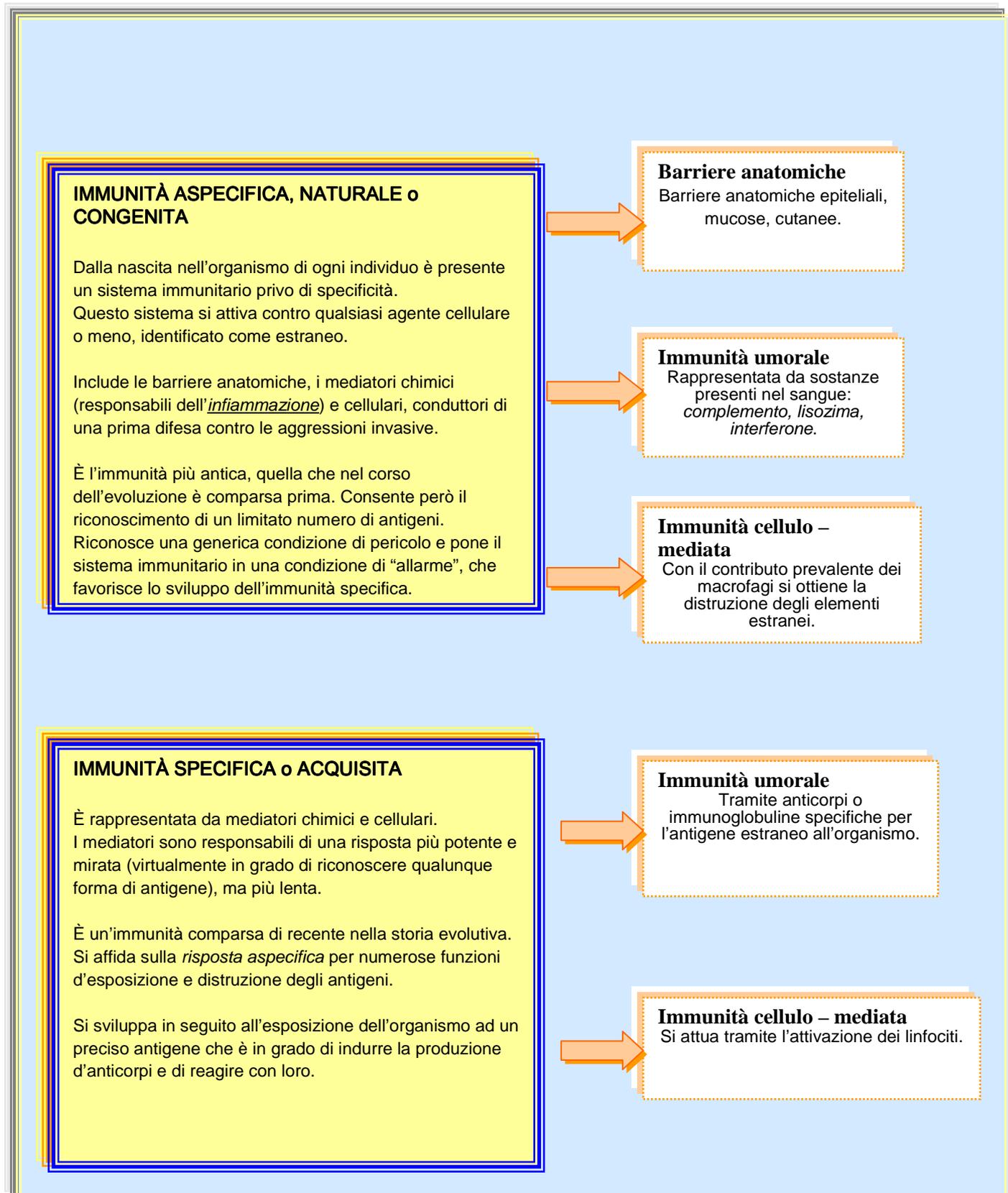


Figura 4.20 Fisiologia del sistema immunitario

### 4.2.1. Immunità aspecifica naturale o congenita

Si configura come prima difesa dell'organismo contro gli elementi estranei e stimolo della risposta specifica da parte del sistema immunitario; a questo tipo d'immunità compete l'importante funzione di rimozione delle strutture danneggiate o consumate appartenenti all'organismo, come eritrociti o emazie alla fine della loro vita.

La peculiarità dell'*immunità aspecifica* è la capacità riconoscere un numero limitato di molecole non appartenenti all'organismo e molto diffuse nell'ambiente (lipopolisaccaridi, glicani ricchi di mannosio, acidi nucleici come RNA a doppia elica), quindi di rispondere immediatamente alla comparsa di queste sostanze, che in definitiva sono elementi della struttura di diversi AB

Alla semplicità ed alla velocità d'intervento di questo sistema, non corrisponde un'eguale efficacia e precisione nelle risposte. È possibile così riassumere le caratteristiche di questo sistema che ha:

- un'efficacia non sempre ottimale nell'eliminazione di numerosi agenti patogeni dotati di profili molecolari leggermente diversi.
- l'incapacità di adattarsi alle contromisure sviluppate dai microrganismi patogeni.
- la scarsa capacità di discriminazione tra ciò che appartiene o non appartiene all'organismo, che determina lo sviluppo di danni tissutali spesso sproporzionati rispetto all'entità dello stimolo immunogeno.

L'*immunità congenita* comprende meccanismi di barriera non specifici per un particolare patogeno.

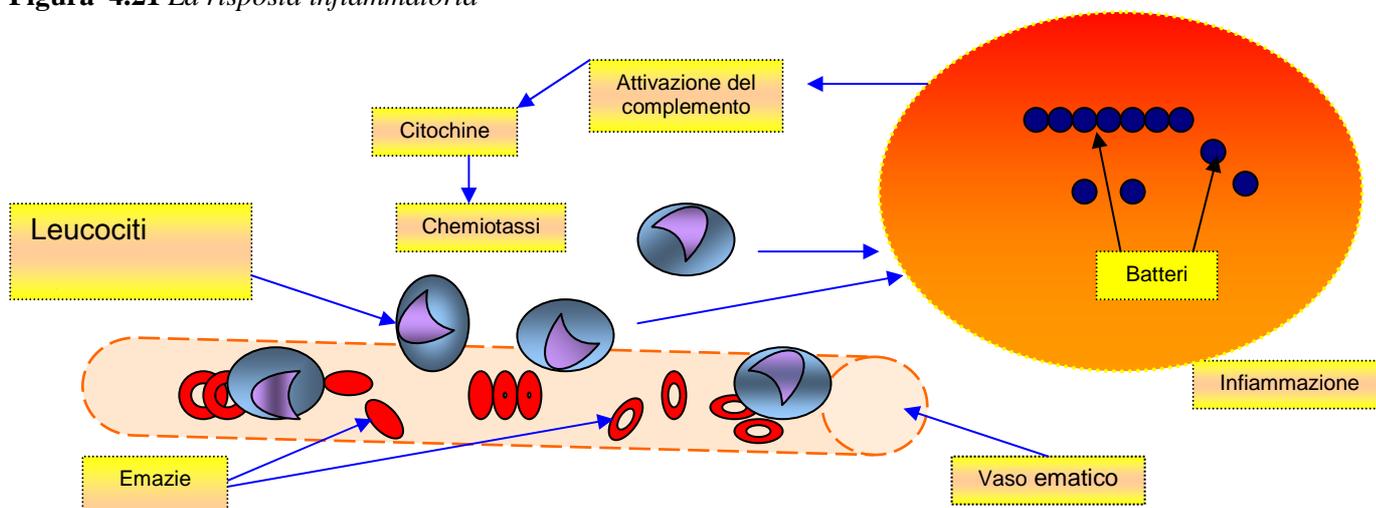
La **barriera anatomica** rappresenta la prima linea di difesa nei confronti degli agenti infettanti attraverso la cute e la superficie delle mucose. La cute intatta previene l'ingresso della maggior parte dei patogeni. I follicoli piliferi e le ghiandole sebacee del derma producono il sebo che, mantenendo il pH cutaneo tra 3 e 5, inibisce la crescita dei microrganismi. Le mucose attraverso la produzione di saliva, lacrime, secrezioni, lavano via potenziali agenti infettanti, con la produzione del muco intrappolano i microrganismi estranei, attraverso le ciglia li espellono.

La **barriera fisiologica** comprende il pH, la temperatura corporea, alcuni fattori solubili. Il basso pH dello stomaco è una barriera innata contro le infezioni, in quanto sono pochi i microrganismi ingeriti in grado di sopravvivere a questo elevato grado di acidità. La temperatura corporea inibisce lo sviluppo di alcuni germi. I fattori solubili quali lisozima, complemento, interferone, contribuiscono all'immunità aspecifica.

La **barriera cellulo-mediata** attraverso la fagocitosi, operata da cellule specializzate quali macrofagi, monociti, granulociti, cellule NK, è un altro importante meccanismo innato di difesa grazie alla capacità di riconoscere, ingerire e distruggere particelle o cellule estranee all'organismo. Per primi intervengono i polimorfonucleati, poi i macrofagi ed i monociti; questi ultimi provocano la reazione infiammatoria.

La **reazione infiammatoria** è una conseguenza della liberazione delle citochine, mediatori chimici che inducono a richiamare nei tessuti interessati le cellule della serie bianca (leucociti).

**Figura 4.21** La risposta infiammatoria



---

#### 4.2.2. Immunità specifica acquisita

Questa immunità è quella che l'individuo acquisisce nel corso della sua esistenza allorché un elemento o composto estraneo (antigene) penetra o viene a contatto con l'organismo. L'esposizione dell'individuo ad uno o più antigeni provoca la stimolazione delle cellule del sistema immunitario, con la conseguente produzione di specifici anticorpi idonei alla neutralizzazione degli antigeni stessi.

Il sistema immunitario dell'*immunità specifica o acquisita*, si manifesta attraverso l'azione e la cooperazione di cellule dette *immunocompetenti*, che sono differenti tipi di cellule linfocitarie e cellule accessorie (monociti / macrofagi, neutrofili, eosinofili, ecc.). Assieme ed in sintonia con queste cellule, intervengono diverse molecole di mediatori chimici:

- citochine;
- adesine (molecole di adesione) ecc.

A differenza dell'immunità aspecifica o innata l'immunità specifica o acquisita è stata selezionata dall'evoluzione per la sua capacità di adattarsi dinamicamente alla variabilità di agenti ambientali riconosciuti come un pericolo per l'organismo.

È conosciuta da tempo la caratteristica degli organismi, molto diffusa fra i microorganismi, di modificare la struttura in maniera sufficientemente da mutare l'aspetto antigenico e quindi il riconoscimento da parte dei sistemi immunitari.

Da quanto esposto, è evidente che il sistema immunitario di un organismo deve poter rispondere ad un numero elevato di combinazioni antigeniche, perché innumerevoli sono le combinazioni molecolari presenti nell'ambiente quindi deve essere in grado di adattare, in maniera specifica, le sue strutture alle variazioni degli antigeni degli AB

Per poter assolvere concretamente e in maniera efficace alle sue complesse funzioni il sistema immunitario deve:

- mantenere memoria delle strutture di riconoscimento antigenico;
- poter essere "istruito" a riconoscere con sicurezza le strutture ed i composti propri da quelli estranei. La mancanza di quest'istruzione comporta il rischio di un'aggressione alle strutture proprie dell'individuo, (autoimmunità), che è una forma lesiva patologica del sistema immune.

Gli elementi che partecipano all'immunità acquisita sono:

- Antigeni
- Anticorpi o immunoglobuline
- Linfociti T e B
- Plasmacellule
- Cellule della "memoria"

Il sistema immune acquisito si esprime secondo due modalità:

*Immunità umorale*: grazie alla produzione di anticorpi o immunoglobuline da parte dei linfociti B come risposta allo stimolo antigenico determinato dai prodotti estranei all'organismo. Più dettagliatamente il processo di risposta anticorpale è il seguente:

1. **rilevamento o riconoscimento dell'antigene**: il linfocita B, tramite i recettori specifici posti sulla sua membrana, rileva la presenza di uno o più antigeni che sono fagocitati e ridotti in peptidi "antigenici", in grado quindi di stimolare una risposta antigenica.
2. **trasformazione del linfocita B in plasmacellula**: sotto lo stimolo prodotto dai peptidi "antigenici" le cellule linfociti Th (helper) attivano il linfocita B a differenziarsi in una plasmacellula.
3. **formazione dei cloni di plasmacellule**: alla trasformazione in plasmacellula si associa anche lo stimolo alla rapida replicazione di successioni di cloni cellulari. I cloni si differenziano in due gruppi: cellule del plasma o plasmacellule e cellule della memoria immunologica.
4. **produzione di anticorpi**: le plasmacellule producono anticorpi specifici contro l'antigene o gli antigeni. Le classi d'immunoglobuline prodotte sono: *IgG*, *IgA*, *IgM*, *IgD* e *IgE*. Sono i mediatori chimici ad indurre le plasmacellule a produrre una o un'altra classe d'anticorpi.

Le cellule della memoria restano nell'attesa di nuove esposizioni agli antigeni; esse hanno una vita molto lunga e possono reagire per molto tempo ad esposizioni successive degli stessi antigeni.

*L'immunità cellulo mediata*: si svolge tramite l'attivazione dei linfociti T che aggrediscono le cellule infette dopo essersi legate ai recettori cellulari e aver rilasciato un enzima, la *perforina*, che provoca dei fori nella membrana cellulare con conseguente lisi della cellula.

Il meccanismo di difesa immunologico è un sistema complesso e coordinato di più elementi e strutture che agiscono al fine di precludere l'invasione e la colonizzazione d'elementi e cellule estranee all'organismo.

Cronologicamente è possibile sintetizzare i processi nel seguente modo:

A) **Penetrazione o diffusione dell'antigene**: l'antigene costituito da agenti biologici o tossine penetra nell'organismo parassitando costituendo il "*focolaio*" dell'evento infettivo.

---

**B) Reazione dei tessuti alla presenza del focolaio; infiammazione o flogosi acuta:** gli elementi del focolaio provocano una forte reazione nei tessuti invasi o lesi. La flogosi si svolge in 3 fasi successive:

B1) modificazioni vascolari

- o vasodilatazione
- o aumento della permeabilità vascolare.

A questo punto parte della frazione liquida del sangue passa nei tessuti offesi, si ha quindi un tentativo di diluire l'antigene.

B2) diapedesi e migrazione dei fagociti

I mediatori chimici inducono i *monociti* circolanti nel torrente ematico ad attraversare le pareti delle *venule*<sup>6</sup> con il processo biologico detto "*diapedesi*" che consente alle cellule di attraversare la parete del vaso ematico e raggiungere il focolaio infiammatorio divenendo *macrofagi*, cellule adatte alla fagocitosi del o degli antigeni penetrati. Attraverso la *diapedesi* anche i granulociti migrano verso il punto d'infiammazione tissutale.

B3) modificazioni dei tessuti coinvolti nella reazione flogistica o infiammatoria.

I principali segni che si possono facilmente osservare sono:

- o arrossamento (a causa della vasodilatazione e dell'aumentata circolazione in loco);
- o calore (dispersione del calore per vasodilatazione ed aumento del metabolismo cellulare);
- o edema (per il travaso del plasma nei tessuti);
- o tumefazione (effetto dell'edema e dell'infiltrazione dei leucociti);
- o dolore (per la tensione a cui sono sottoposti i tessuti, che stimola i recettori del dolore);
- o alterazione della funzionalità del tessuto interessato all'infiammazione.

### **C) Difesa immunologica aspecifica**

In seguito all'infiammazione i tessuti rilasciano una proteina la *properdina* che attiva il *complemento* le cui proteine si legano alle pareti batteriche o alle membrane cellulari delle cellule infette provocando dei punti di lisi in diverse parti nella struttura cellulare. L'attacco del complemento rende la cellula suscettibile ad essere facilmente fagocitata dai macrofagi (monociti, granulociti prevalentemente neutrofili).

### **D) Difesa immunologica specifica**

L'attività di difesa del sistema immune aspecifico talvolta può essere insufficiente a bloccare gli antigeni e quindi a proteggere l'intero organismo. Nel momento in cui la barriera aspecifica è superata intervengono le cellule linfocitarie, capaci di mettere in azione l'aspetto specifico del sistema immune, attraverso l'azione umorale delle immunoglobuline, dette anche anticorpi specifici e / o dell'immunità cellulo mediata.

## **4.3. Reazioni immunitarie da ipersensibilità**

Il fine ultimo del sistema immunitario è quello di preservare nell'individuo l'identità biologica, che significa riconoscere con precisione le proprie cellule i propri antigeni (*self*) cioè quelle parti che hanno la struttura genetica compatibile con quella dell'individuo. Per contro il sistema immunologico deve riconoscere ed eliminare tutto ciò che è estraneo (*non self*). Queste funzioni perfezionate, rese complesse e sofisticate nel corso dell'evoluzione dei vertebrati, richiedono una precisa discriminazione tra *self* e *non self*.

Il concetto strategico fondante la strategia del sistema immunitario è quella di generare un gran numero di potenziali recettori contro specifici antigeni, distribuirlo dopo clonazione in linfociti diversi eliminando quelle cellule linfocitarie capaci di riconoscere gli antigeni *self* come *non self*, maturando e replicando invece i linfociti capaci di riconoscere gli antigeni *non self*.

Nonostante nel corso dell'evoluzione si sia affermato un sistema complesso e raffinato per la conservazione dell'integrità genetica dell'individuo, dobbiamo constatare anche l'esistenza di aspetti funzionali aberranti del sistema immunologico, che lo rendono inefficace o addirittura dannoso per l'individuo che lo possiede. Per motivi genetici, a causa di mutazioni durante la vita dell'individuo o sotto l'azione d'infezioni virali, il sistema immunologico può incorrere in danni che modificano la sua normale attività, diminuendone la reazione o esaltandola.

Il primo caso comprende le patologie che provocano una depressione del sistema immunitario dette immunodepressive (ad esempio: infezione da HIV e conseguente malattia AIDS).

Il secondo caso è rappresentato da tutte quelle forme nelle quali il sistema immunitario manifesta un'attività sproporzionata, reagendo contro molecole non dannose per l'organismo, come quelle dei prodotti alimentari o innocue sostanze ambientali, pollini, o contro gli autoantigeni, cioè verso gli antigeni delle proprie strutture biologiche, provocando quelle che sono definite le malattie autoimmuni.

---

<sup>6</sup> Generalmente sono coinvolte le venule, piccoli vasi ove circola sangue venoso, solo nel polmone partecipano vasi arteriosi, i capillari

---

Una reazione immunologica d'ipersensibilità è definibile come una risposta immunitaria dannosa, conseguente all'interazione di un antigene, endogeno o esogeno, con anticorpi umorali o da reazioni immunitarie cellulo mediate, che provocano alterazioni tessutali e causare gravi patologie.

In questa trattazione sono prese in considerazione solo le reazioni iperimmuni, classificate da alcuni autori in 4 tipi:

**Tipo I – Reazioni d'ipersensibilità immediata o anafilassi:** l'antigene si lega agli anticorpi (classe *IgE*) legati a loro volta alle membrane dei mastociti e dei basofili. La reazione antigene anticorpo ha come risposta la liberazione di mediatori chimici che provoca modificazioni nei tessuti degli organi coinvolti, in particolare sulla muscolatura liscia, coinvolgendo i vasi sanguigni e anche i diversi rami dell'albero bronchiale. Le modificazioni indotte alterano in maniera grave la funzionalità degli organi. Esempi di questo tipo di reazione sono:

- lo shock anafilattico
- l'asma.

**Tipo II – Reazioni di citotossicità e di neutralizzazione:** questo tipo di reazione è mediata dall'anticorpo che si lega agli antigeni presenti su molecole o sulle membrane cellulari. La reazione tra antigene ed anticorpo attiva il complemento o i linfociti NK (natural killer); come conseguenze si possono avere la citolisi o la fagocitosi delle cellule che portano gli antigeni. Le reazioni immunologiche del tipo II sono:

- emolisi dei globuli rossi provocata da anticorpi anti eritrociti (trasfusioni);
- reazioni d'ipersensibilità ai farmaci;
- rigetto iperacuto nei trapianti d'organo.

**Tipo III - Reazioni da immunocomplessi:** questo tipo di reazione è caratterizzata dalla formazione di "complessi" costituiti da aggregati d'antigene – anticorpo che si depositano su tessuti ed organi (pareti vascolari, articolazioni, reni, cute, cuore). Alla presenza di un accesso d'antigeni, il complesso provoca una reazione infiammatoria locale o generalizzata con attivazione del complemento. Una reazione immunologica del tipo III è:

- malattia da siero

**Tipo IV – Reazioni di tipo ritardato o cellulo mediate:** in assenza di anticorpi la reazione è condotta dai linfociti T sensibilizzati che possono agire in maniera autonoma. È la reazione più rappresentativa che l'organismo attua per la protezione dai microrganismi intracellulari e comprende tutte le reazioni d'ipersensibilità provocate dai linfociti CD4+ e dalla citotossicità cellulare diretta mediata dai linfociti CD8+. A questo tipo di reazione possiamo associare gli eventi come:

- la risposta ipersensibile cutanea ritardata nei confronti della tubercolina,
- il rigetto acuto dei trapianti dei soggetti riceventi non preimmunizzati.

#### **4.3.1. Reazioni d'ipersensibilità immediata e le allergie**

Tra le reazioni sopra analizzate solo quelle anafilattiche (Tipo I) sono d'interesse per il rischio da esposizione ad AB (le allergie).

Il concetto di allergia non è recente, risale all'inizio del secolo scorso quando pediatri della capitale dell'Impero Austro-Ungarico osservarono risposte alterate del sistema immunitario alla somministrazione di siero eterologo o vaccino del vaiolo.

Sotto la dicitura allergia, per molto tempo, furono associate tutte le reazioni d'ipersensibilità finché fu chiarito che queste reazioni avevano meccanismi diversi e quindi andavano classificate in maniera diversa, appunto con le classificazioni Tipo I – IV definite sopra.

Caratteristiche della reazione d'ipersensibilità immediata di Tipo I

Le reazioni di questo tipo sono caratterizzate da:

Specificità verso l'antigene o l'allergene: la reazione iperimmune accade esclusivamente alla presenza dell'allergene specifico verso il quale è diretto l'anticorpo. L'allergene deve avere la stessa struttura antigenica che ha indotto la prima produzione d'anticorpi *IgE*.

Rapidità della risposta: la reazione allergica è per definizione immediata. Il tempo che intercorre fra il contatto con l'allergene ed il momento della manifestazione dei sintomi conseguenti alla risposta immune oscilla da 5 a 30 minuti (mediamente 15 minuti).

Manifestazioni sintomatiche: le manifestazioni sintomatiche delle reazioni agli allergeni possono interessare un numero limitato di tessuti o organi e quindi sono definiti di carattere locale. In altre e più gravi circostanze la reazione riguarda tutto il sistema organico del soggetto, quindi è definita di carattere sistemico.

Tutte le reazioni si possono manifestare con un'intensità che varia in funzione della quantità di allergene a cui è esposto l'individuo, oppure della reattività del sistema immunitario dell'individuo.

Ciò che accomuna tutte queste reazioni è senza dubbio la costante presenza dell'infiammazione come reazione del sistema immunitario. Anche l'infiammazione si presenta con molteplici aspetti d'intensità.

Tra le *sintomatologie locali* possiamo trovare interessamento:

- *degli occhi*: la reazione porta all'arrossamento della congiuntiva con prurito, associato a rinite (infiammazione della mucosa nasale) e scolo nasale, non purulento. Questa sintomatologia è detta raffreddore da fieno.
- *del naso*: infiammazione delle mucose nasali, con scolo liquido e starnuti. Questa sintomatologia è spesso associata al raffreddore da fieno.
- *della pelle*: la pelle, organo e tessuto di contatto e protezione dagli agenti esterni, può essere interessata a reazioni iperimmuni che si manifestano con la cosiddetta dermatite allergica sotto la cui dizione è riconosciuta sia l'eczema sia l'orticaria allergica. Tutte le reazioni iperimmuni della cute manifestano infiammazione per l'iperattività dei mastociti. Si mostrano con arrossamento della cute, desquamazione, bolle, pomfi (orticaria), foruncoli (eczema) che possono trasformarsi in lesioni crostose. Generalmente tutte le manifestazioni cutanee sono accompagnate da prurito.
- *della mucosa intestinale*: la risposta iperimmune non manca di coinvolgere anche gli organi intestinali, raggiunti dagli allergeni attraverso l'assunzione degli alimenti. La reazione provoca una contrazione della muscolatura liscia e quindi l'aumento della peristalsi intestinale.
- *delle vie aeree inferiori o profonde*: la reazione porta all'irritazione dei bronchi con broncospasmo o broncocostrizione (riduzione della sezione di transito dell'aria inspirata ed espirata) quindi riduzione dell'aria inspirata o addirittura impossibilità ad inspirare l'aria e rischio d'asfissia.
- *dell'intero organismo* (anafilassi): la risposta immunologica che porta al coinvolgimento dell'intero organismo, cioè che ha un carattere sistemico, è la reazione più temuta per le gravi ed irreversibili conseguenze, dovute soprattutto alla rapidità dell'instaurarsi della sintomatologia. L'anafilassi, secondo il livello di severità, può causare reazioni cutanee, broncocostrizione, edema, ipotensione fino allo shock anafilattico con possibile insorgenza di coma, a volte letale.

#### **Predisposizione alle reazioni allergiche**

Ci sono sia cause genetiche che ambientali che predispongono l'individuo alle reazioni allergiche.

- *Fattori ereditari o genetici*: è accertato che la presenza di particolari geni presenti nel corredo genetico determina la predisposizione alla sensibilità verso specifici antigeni (allergeni) determinando l'iperproduzione d'anticorpi *IgE* e altre modificazioni come l'iperattività bronchiale.
- *Fattori ambientali*: l'ambiente di vita soprattutto nei primi anni dopo la nascita è importante nell'aumentare le probabilità dell'individuo di essere soggetto ad una reazione allergica.

**Tabella 4.1** Meccanismo di azione del sistema immunitario nelle allergie

|   |   |
|---|---|
| 1 | Prima esposizione all'allergene   |
| 2 | Le linfocine prodotte dai linfociti Th stimolano i linfociti B a trasformarsi in plasmacellule  |
| 3 | Le plasmacellule producono anticorpi <i>IgE</i>   |
| 4 | <i>IgE</i> si legano ai recettori espressi dai mastociti  |
| 5 | Seconda esposizione allo stesso allergene   |
| 6 | L'allergene stimola il mastocita  |
| 7 | Il mastocita libera i mediatori chimici:<br>-amine vaso – attive manifestano le loro attività in maniera precoce, entro pochi minuti dal secondo contatto con lo stesso allergene.<br>-citochine: producono una reazione tardiva, a distanza di 6-24 ore dal secondo contatto con lo stesso allergene |

---

## 5. LA CLASSIFICAZIONE DEGLI AGENTI BIOLOGICI

Per effettuare la valutazione del rischio da esposizione ad AB si deve partire dalla definizione della pericolosità degli AB coinvolti. Per questo nel D.Lgs. 81/08, all'articolo 268, è definita una classificazione degli stessi basata su 4 gruppi, distinti in base alle caratteristiche seguenti:

- gravità del danno (virulenza e patogenicità) prodotto dall'eventuale azione dell'AB;
- facilità con cui l'AB è trasmissibile da una fonte o serbatoio ad un soggetto recettivo;
- esistenza o meno di vaccini per la prevenzione dalle malattie o terapie da effettuare dopo l'esposizione o in caso di malattia.

Gli agenti biologici sono suddivisi in gruppi così definiti:

**Agente biologico del gruppo 1:** presenta poche probabilità di causare malattie in soggetti umani.

**Agente biologico del gruppo 2:** può causare malattie in soggetti umani e costituire un rischio per i lavoratori. La sua propagazione nella comunità è poco probabile. Sono di norma disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche.

**Agente biologico del gruppo 3:** 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:** può provocare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori. Può presentare un elevato rischio di propagazione nella comunità; non sono disponibili, di norma, efficaci misure profilattiche o terapeutiche.

In caso di dubbio, nella classificazione di un AB, questo deve essere catalogato sempre nel gruppo di rischio più elevato (art. 268 comma 2).

Dalla descrizione appare chiaro che gli agenti del gruppo 1 sono quelli che rappresentano il minor rischio di trasmissione e soprattutto gli effetti patogeni sono meno gravi; gli agenti del gruppo 4 sono i più temibili in caso d'esposizione sia per la maggior facilità di contrarre l'infezione sia per la gravità del danno sia per le difficoltà di instaurare una pratica terapeutica, poiché per questi agenti, di solito, mancano presidi farmacologici efficaci.

L'allegato XLVI del D.Lgs. 81/08 riporta l'elenco degli AB classificati, suddivisi come segue:

- batteri ed organismi simili
- virus
- parassiti
- funghi

All'inizio dell'allegato sono riportate alcune considerazioni, a cui si rimanda, utili e necessarie ad interpretare correttamente le tabelle definite. Fra le varie indicazioni è importante evidenziare che la classificazione riportata comprende esclusivamente "agenti di cui è noto che possono provocare malattie infettive in soggetti umani" sani; è inoltre evidenziato che gli AB "che non sono stati inclusi nei gruppi 2, 3, 4 dell'elenco, non sono implicitamente inseriti nel gruppo 1".

Il raggruppamento degli AB secondo il livello di pericolosità, non solo ha valore per l'apprezzamento del rischio, ma pesa anche come conseguenze per le attività svolte con potenziale esposizione ad AB.

Per la protezione degli operatori dall'esposizione ad AB al datore di lavoro è imposto di accertarsi, con il medico competente, se è possibile immunizzare preventivamente l'operatore potenzialmente esposto o trattarlo farmacologicamente in maniera preventiva o proteggerlo con altri presidi farmacologici.

Nell'allegato XLVI è possibile verificare quali AB possono provocare anche manifestazioni allergiche, quindi il datore di lavoro deve applicare, con il medico competente, le precauzioni ed i protocolli opportuni per i soggetti sensibili, eventualmente esposti.

In mancanza di presidi farmacologici, la protezione dell'operatore deve essere affidata ad altri mezzi come i DPI per la scelta dei quali il datore di lavoro deve tener conto del gruppo d'appartenenza degli AB implicati nell'esposizione, ma soprattutto considerare quali sono le vie di diffusione e quelle di penetrazione nel soggetto recettivo.

Nel considerare le vie di diffusione è di grande rilevanza valutare se la diffusione è supportata da vettori animati, i quali facilmente possono sfuggire ai protocolli della comune prassi di prevenzione. Per queste circostanze è opportuno agire con sistemi che impediscano il contatto con l'operatore: sistemi meccanici con funzione di barriera o sistemi chimici con funzione repellente o dannosa per il vettore animato.

Nella scelta delle protezioni e nell'applicazione dei protocolli le dimensioni fisiche dell'AB nella fase di trasmissione sono molto importanti per condizionare la scelta della barriera, del filtro o della protezione da quella che è considerata la via di trasmissione dell'AB in causa.

Inoltre la classificazione in gruppi permette di applicare correttamente quanto previsto dall'allegato XLVII sulle "specifiche misure e sui livelli di contenimento", quando si opera facendo "uso" di AB

## 6. LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO NEL D.Lgs. 81/08

La valutazione dei rischi per la salute e la sicurezza dei lavoratori (VDR) è la valutazione globale e documentata di tutti i rischi a cui i lavoratori possono essere esposti nell'ambito dell'organizzazione in cui essi prestano la propria attività; tale valutazione è finalizzata ad individuare le adeguate misure di prevenzione e di protezione collettive ed individuali e ad elaborare il programma delle misure atte a garantire il miglioramento nel tempo dei livelli di salute e sicurezza; essa è lo strumento in possesso del Datore di Lavoro per verificare in maniera analitica il processo produttivo individuando le situazioni che devono essere migliorate ed assumere i provvedimenti necessari per salvaguardare la sicurezza e la salute dei lavoratori.

La definizione dei criteri necessari per realizzare la VDR è, per quelle tipologie di rischio per le quali non esiste una regolamentazione di legge (quali per esempio il rischio rumore, vibrazioni, ATEX ecc) una responsabilità del D.L..

Nel D.Lgs. 81/08, all'art. 28 – "Oggetto della valutazione dei rischi", il comma 1, recita:

La valutazione di cui all'articolo 17, comma 1, lettera a) (documento di valutazione dei rischi definito anche dall'acronimo DVR), anche nella scelta delle attrezzature di lavoro e delle sostanze o dei preparati chimici impiegati, nonché nella sistemazione dei luoghi di lavoro, deve riguardare tutti i rischi per la sicurezza e la salute dei lavoratori, ivi compresi quelli riguardanti gruppi di lavoratori esposti a rischi particolari, tra cui anche quelli collegati allo stress lavoro-correlato [...] e quelli riguardanti le lavoratrici in stato di gravidanza [...] nonché quelli connessi alle differenze di genere, all'età, alla provenienza da altri Paesi. [...]

ed in particolare alla lettera "a" del comma 1 si indica che nella valutazione devono essere specificati i criteri adottati "a) una relazione sulla valutazione di tutti i rischi per la sicurezza e la salute durante l'attività lavorativa, nella quale siano specificati i criteri adottati per la valutazione stessa".

### 6.1. Concetto di rischio

Il concetto di rischio si basa su tre variabili fra loro indipendenti e di seguito esplicate:

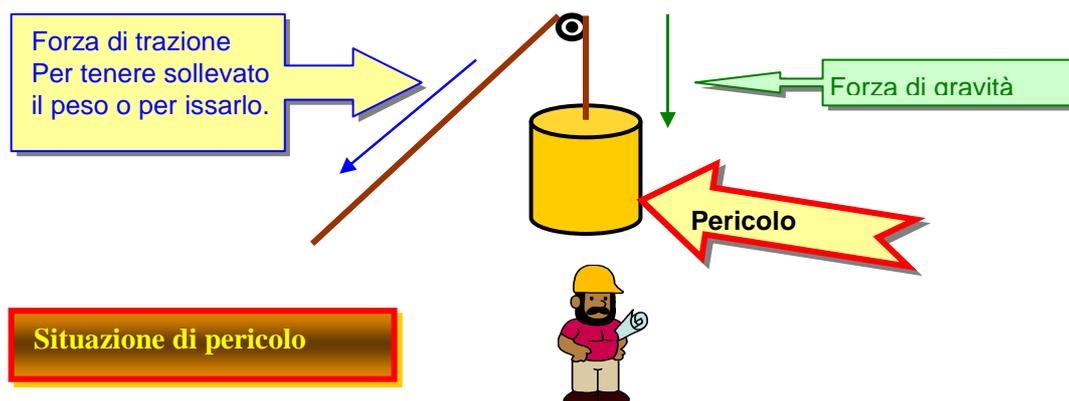
- **pericolo**: definito come:
  - "fonte di possibili lesioni o danni per la salute" (UNI EN 292 parte 1/91);
  - "proprietà o qualità intrinseca, di un determinato fattore, avente il potenziale di causare danni" (D.Lgs. 81/08, all'art. 2 comma 1 lettera "r");
- **probabilità**: che è la possibilità che un evento negativo accada;
- **danno o magnitudo**: la gravità del danno provocato se uno specifico evento negativo accade.

Quindi il **rischio** è una funzione della probabilità e del danno e viene definito come:

- "combinazione di probabilità e di gravità di possibili lesioni o danni alla salute in una situazione pericolosa" (norma UNI EN 292 parte 1/91)
- "la probabilità di raggiungimento del livello potenziale di danno, nelle condizioni d'impiego o d'esposizione ad un determinato fattore o agente oppure alla loro combinazione" (D.Lgs. 81/08, all'art. 2 comma 1 lettera s).

Il *pericolo* è dunque una caratteristica concreta, reale e definita mentre il *rischio* è una variabile e rappresenta la probabilità che il pericolo estrinsechi i suoi potenziali effetti negativi, producendo dei danni quantificabili. Per esemplificare il concetto di rischio prendiamo in considerazione un grave sospeso e trattenuto da una corda così come rappresentato in Figura 6.1.

Figura 6.1 Rappresentazione di situazione pericolosa.



Nella figura 6.1, il peso sospeso costituisce un pericolo, esso è sottoposto costantemente alla forza di gravità che tende a farlo precipitare a terra, se ciò succede potrebbe investire una o più persone sottostanti. Questo avviene solo se la forza che lo solleva o lo tiene sospeso cessa o è minore di quella necessaria per trattenerlo o alzarlo oppure per rottura della corda o d'altri sostegni. Il grave finché resta sollevato rappresenta solamente un pericolo. Valutare il rischio significa stabilire con quale probabilità può accadere che il grave cada e nel caso che esso precipiti, decidere qual è l'entità del danno conseguente. Quindi calcolare con quale probabilità può avvenire la caduta del grave e quale danno eventualmente arrechi, è l'essenza della valutazione di un rischio.

Per trasferire i concetti di rischio in termini matematici è necessario adottare delle formule nelle quali sono rappresentate tutte le variabili funzionali ed indispensabili a stabilire il valore ricercato. La stima del rischio può essere definita dal risultato del prodotto tra la probabilità che un evento si manifesti ed il danno che ne consegue.

$$R \text{ (rischio)} = P \text{ (probabilità)} \times D \text{ (danno)}$$

La funzione riportata sopra può essere ulteriormente perfezionata inserendo ulteriori coefficienti i quali possono essere sia *peggiorativi* come *migliorativi* di una situazione di lavoro.

Dalle considerazioni su esposte diventa evidente la necessità e l'utilità di elaborare un algoritmo<sup>7</sup> capace di legare queste variabili in forma algebrica ed in maniera coerente con la loro partecipazione negativa o positiva alla variazione del livello di rischio. Questo se da un lato consente di valutare il rischio con una maggior precisione, dall'altro richiede un impegno maggiore.

Sviluppare un algoritmo per uno specifico rischio può essere un'operazione delicata in special modo per la scelta degli elementi variabili i quali devono essere:

- significativi per la determinazione del rischio;
- misurabili o quantificabili;
- graduati correttamente.

## 6.2. Valutazione dei rischi: errori più frequenti

Come tutte le azioni umane anche la valutazione dei rischi è passibile d'errore; la maggiore criticità nel processo di VDR è la soggettività del risultato legata al fatto che molto spesso si deve dare un peso ai vari indici necessari alla definizione del rischio. La mancanza d'obiettività può quindi influenzare la stima del rischio che si potrà ripercuotere sulle azioni di prevenzione e protezione che potrebbero risultare non adeguate (sotto o sopra - stimate) ed inefficaci.

La generazione di errori nel processo di VDR dipende da molti e complessi motivi correlati al tipo di attività valutata, all'organizzazione ed alla soggettività del valutatore. Gli errori possono avvenire:

- nella fase di pianificazione della valutazione dei rischi;
- nell'individuazione dei pericoli e delle mansioni soggette a rischio;
- nella valutazione della gravità e dell'importanza dei rischi;

<sup>7</sup> un **algoritmo** si può definire come un procedimento che consente di ottenere un risultato atteso eseguendo, in un determinato ordine, un insieme di passi semplici corrispondenti ad azioni scelte solitamente da un insieme finito

- 
- nella definizione delle azioni preventive;
  - nella registrazione della valutazione.

Errori nella fase di pianificazione della valutazione dei rischi: è la fase nella quale si programma lo svolgimento della valutazione e che prende in considerazione:

- il personale incaricato di svolgere la valutazione;
- le modalità d'esecuzione della valutazione;
- il flusso delle informazioni;
- tempi d'esecuzione.

Gli errori possibili in questa fase sono:

1. personale non sufficientemente competente;
2. carenza o non adeguatezza di informazioni e documenti in merito alla reale situazione di lavoro;
3. mancanza o carenza di risorse e supporto al valutatore;
4. mancato coinvolgimento dei lavoratori.

Errori nell'individuazione dei pericoli e delle mansioni soggette a rischio:

1. trascurare fattori esistenti ma non direttamente appartenenti alla specifica attività considerata e quindi non esaminare quelli derivanti da aspetti d'interazione di lavori in ambienti specifici o promiscui;
2. sottovalutare o non considerare la componente legata alla organizzazione dell'attività lavorativa (carico di lavoro, turni, lavoro notturno, ecc.) che può variare l'apprezzamento di un rischio;
3. ignorare gli effetti a lungo termine sulla salute del lavoratore (l'esposizione continuativa o saltuaria ad un agente di rischio, anche a piccole dosi, può manifestare dei danni alla salute osservabili solo dopo molto tempo, anche dopo la cessata attività);
4. non coinvolgere i lavoratori;
5. sottovalutare i pericoli insiti nelle attività di lavoro definite come secondarie o accessorie alle attività principali (manutenzione, pulizia ecc.);
6. trascurare l'interazione dei lavoratori dell'azienda con i lavoratori di altre aziende stabilmente presenti nello stesso luogo di lavoro;
7. non considerare la modificazione del rischio connesso alle differenze di genere, all'età, alla provenienza da altri paesi, allo stato di gravidanza, neo assunti, ecc.
8. non considerare nella valutazione del rischio le apparecchiature, soprattutto se complesse, utilizzate solo saltuariamente;
9. non consultare il registro degli infortuni e delle malattie professionali oltre che le registrazioni dei quasi incidenti e delle situazioni pericolose; il datore di lavoro che per consuetudine prende nota di questi eventi è in grado di aiutare in maniera sostanziale il valutatore nel giudicare pericoli e rischi.

Errori nella valutazione della gravità e dell'importanza dei rischi:

1. valutare un rischio ad un livello inferiore rispetto alla realtà;
2. definire una priorità degli interventi di mitigazione dei rischi non allineata con la gravità degli stessi.

Errori nella definizione delle azioni preventive:

1. non tenere conto della gerarchia di prevenzione dei rischi: eliminare il rischio, sostituire il rischio, ridurre e controllare il rischio;
2. non indicare, nel piano delle misure per il miglioramento nel tempo dei livelli di sicurezza, le figure responsabili dell'attuazione, i tempi di realizzazione ed il termine finale per l'applicazione e l'implementazione delle azioni.

Errori nella redazione del DVR così come definito nel D.lgs. 81/08: gli

1. assenza della specifica documentazione relativa a misure e rilevazioni per la valutazione dei rischi;
2. assenza dell'elenco dei pericoli e dei relativi rischi e delle mansioni soggette a tali rischi;
3. mancanza della formalizzazione del piano delle misure per il miglioramento nel tempo dei livelli di sicurezza, le figure responsabili dell'attuazione.

---

## 7. LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO DA ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI

Nel descrivere in generale i principi e le regole che guidano il percorso di valutazione di un rischio lavorativo è stato precisato anche l'iter da perseguire per aderire ad una strategia efficace di prevenzione e protezione degli operatori. Essa consta di tre fasi fondamentali che hanno questa sequenza temporale:

- la valutazione del rischio
- la gestione del rischio
- la comunicazione del rischio

La valutazione del rischio specifico è il punto di partenza di tutto il processo per la prevenzione su cui s'incardinano le ponderazioni del Datore di Lavoro per individuare le misure necessarie a garantire la sicurezza sul lavoro.

Nello specifico, il titolo X del D.Lgs. 81/08 precisa che in una situazione di lavoro ove esiste la potenzialità di una esposizione ad AB il Datore di Lavoro ha l'obbligo di effettuare una valutazione del livello del rischio derivato.

Il rischio lavorativo va valutato, sia da un punto di vista *qualitativo* sia *quantitativo*; se il primo aspetto è di più facile soluzione, non lo è invece quello di quantificare il valore che si deve attribuire al rischio in determinate circostanze di lavoro.

Ogni valutazione quantitativa è complessa da attuare specie quando mancano riferimenti a misurazioni o quando gli elementi da considerare sono molto variabili. Riferirsi a corretti risultati di valutazione, è fondamentale per attuare una corretta gestione della sicurezza nelle attività di lavoro che si attua nelle decisioni politiche di prevenzione e protezione da adottare.

Considerando le molteplici attività svolte nell'esercizio delle mansioni istituzionali delle Agenzie non risulta difficile individuare le mansioni che potenzialmente espongono i lavoratori ad AB; operazione molto più complessa è invece la quantificazione di tale rischio. Risulta quindi necessario definire ad un *algoritmo* che permetta di giungere ad ottenere il livello di rischio sotto forma di numero. Per raggiungere questo risultato si devono individuare gli aspetti importanti che hanno influenza sul rischio biologico e che sono rappresentati dai diversi fattori intrinseci alle attività di lavoro.

### 7.1. Elementi e difficoltà peculiari della valutazione del rischio biologico

Il rischio da esposizione ad AB è definita come “quella situazione che pone uno o più operatori nelle condizioni di poter contrarre un'infezione e/o un'infestazione e/o subire i sintomi provocati da tossine o sstanzza allegogene tali da creare rischi per la sua salute”. Tale definizione se da una parte chiarisce quali siano le situazioni che devono essere considerate a rischio d'esposizione agli agenti specifici, dall'altra evidenzia come il calcolo del livello di questo specifico rischio non sia di semplice approccio e di facile soluzione.

Il Titolo X (art. 271) inoltre definisce il significato di VDR biologico:

*1. Il datore di lavoro, nella valutazione del rischio [...], tiene conto di tutte le informazioni disponibili relative alle caratteristiche dell'agente biologico e delle modalità lavorative, ed in particolare:*

- a) della classificazione degli AB che presentano o possono presentare un pericolo per la salute umana quale risultante dall' ALLEGATO XLVI o, in assenza, di quella effettuata dal datore di lavoro stesso sulla base delle conoscenze disponibili e seguendo i criteri di classificazione degli AB;*
- b) dell'informazione sulle malattie che possono essere contratte;*
- c) dei potenziali effetti allergici e tossici.*

Il calcolo di tale rischio non può prescindere dai due “protagonisti” principali, la cui variabilità in precedenza descritta è ampia e condiziona pesantemente il livello della valutazione:

- l'agente biologico (carica, patogenicità, virulenza)
- l'ospite recettivo (età, sesso, stato di salute, presenza o assenza d'anticorpi specifici verso uno o più AB, efficienza del sistema immunologico, ecc)

A queste caratteristiche è necessario accostare inoltre le dinamiche correlate alle vie di trasmissione degli agenti, alle fonti ed alle sorgenti che agiscono assieme all'ambiente naturale ed a quello socio comportamentale. Un AB non manifesta un unico comportamento, ma è suscettibile di avere sull'esposto conseguenze notevolmente diverse da una circostanza altra, a causa di tutti i fattori associati alla sua natura biologica, alla sua concentrazione e alle condizioni dell'ambiente ove questo si trova (temperatura, umidità, qualità dell'atmosfera, presenza d'inibitori), al fatto che in uno stesso ambiente possono coesistere più specie o tipi di AB.

---

Inoltre l'area geografica è importante per valutare la possibile esposizione a particolari AB presenti in alcuni distretti geografici e assenti in altri.

L'organismo umano esposto agli AB è subordinato ad essere considerato per diversi aspetti variabile, in quanto è un organismo biologico che presenta aspetti insiti nella sua natura acquisiti sia geneticamente, che ottenuti in seguito cioè dopo la nascita. Gli aspetti più significativi da considerare possono essere:

- l'età dell'individuo esposto: il soggetto adulto ha più probabilità di essere stato naturalmente immunizzato;
- il fattore "genere" dell'esposto: decisivo per la valutazione del danno provocato da alcuni agenti nel caso di un'esposizione (per esempio si pensi al soggetto in gravidanza allorché venga a contatto con un AB che provoca danni fetali);
- lo stato di salute del lavoratore;
- la presenza o meno di anticorpi specifici verso uno o più AB;

Altre variabili da tenere in considerazione sono di seguito riportate.

### **Tempo d'esposizione agli AB**

Costituisce un elemento che incide sulla probabilità che un soggetto esposto ad AB ne sia colonizzato; il rischio biologico è proporzionale al tempo di durata dell'esposizione.

In ogni caso bisogna considerare che chiunque sia posto in una situazione potenziale di contatto con AB, indipendentemente dal tempo di durata, è da considerare esposto al rischio biologico.

### **Quantità di materiale potenzialmente infetto**

La quantità di materiale potenzialmente infetto o contaminato da AB manipolato dal lavoratore incide in modo proporzionale sul livello di esposizione al rischio biologico; infatti è ragionevole pensare che un maggior volume del materiale contiene una carica di AB proporzionalmente più elevata con la probabilità quindi di raggiungere facilmente la dose minima infettiva.

## **7.2. Attività in presenza ed attività con uso di agenti biologici**

Nel considerare la valutazione del rischio biologico non si può prescindere da distinguere due modalità che il D.Lgs. 81/08 identifica in maniera precisa:

- condizioni di lavoro in presenza di AB;
- condizioni di lavoro con uso di AB

### ***7.2.1. Condizioni di lavoro "in presenza" di AB***

Per il fatto che gli AB sono diffusamente presenti nel suolo, nell'acqua, nell'aria e negli organismi viventi, tutto il genere umano vive costantemente "in presenza" di AB, a maggior ragione i lavoratori che intervengono ed operano in particolari luoghi e a contatto con specifici materiali che con molta probabilità contengono AB anche potenzialmente pericolosi, cioè suscettibili di provocare malattie infettive o parassitarie o allergie. In queste circostanze di lavoro gli AB, che sono o che possono essere presenti, *non costituiscono* l'oggetto dell'intervento.

### **Definizione d'attività "in presenza" d'AB**

Possiamo allora definire lavoro "in presenza" di AB tutte quelle situazioni in cui l'operatore è esposto o può essere esposto ad AB perché potenzialmente presenti nell'ambiente di lavoro o nei materiali di lavoro, ma gli AB non sono utilizzati deliberatamente e non sono oggetto dell'attività. Gli agenti biologici sono quindi indesiderati ma ineliminabili.

Alcuni esempi di attività, svolte nelle Agenzie di Protezione Ambientale, "in presenza" d'AB sono la raccolta di campioni ambientali per analisi chimiche e microbiologiche (acqua di mare, acqua di fiume, terra, aria, alimenti, rifiuti, acque di scolo e di scarico, macroinvertebrati e plancton, animali selvatici deceduti), sopralluoghi sul territorio (presso discariche, impianti di depurazione, ambienti frequentati da animali domestici e/o selvatici).

### ***7.2.2. Condizioni di lavoro con "uso" di AB***

Diversa è la situazione lavorativa in cui l'operatore "fa un uso deliberato di AB"; in questo caso gli AB sono oggetto di un'attività nella quale gli stessi partecipano attivamente ad una trasformazione di un substrato mediante un'azione metabolica.

È chiaro che "*usare*" un AB vuol dire introdurlo in un processo lavorativo e trattarlo, manipolarlo, trasformarlo, utilizzandone le proprietà biologiche.

### **Definizione d'attività con "uso" d'AB**

Utilizzare un AB in una attività lavorativa significa quindi adoperare l'agente come: materia prima, substrato, catalizzatore, reagente, prodotto in un processo lavorativo, anche se parziale.

---

Alcuni esempi di attività, per le Agenzie di Protezione Ambientale, con “uso” d’AB si hanno presso i laboratori microbiologici (ricerche microbiologiche su matrici ambientali, colture microbiologiche in genere, isolamenti, arricchimenti, colture selettive) identificazione dei microrganismi per via metabolica, identificazione dei microrganismi per via sierologia.

## 8. ALGORITMI PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO DA ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI

L’algoritmo è un procedimento in grado di risolvere un problema dato utilizzando i dati e le informazioni acquisite; esso esegue, in un certo ordine predeterminato, un insieme di operazioni (non necessariamente numeriche) che conducono alla soluzione del quesito iniziale.

Un algoritmo deve essere:

- **Deterministico:** ad ogni progressione deve essere univocamente determinato il passo successivo.
- **Non ambiguo:** le istruzioni non devono presentare ambiguità o possibilità di scelte casuali.
- **Finito:** composto di un numero finito di istruzioni, deve richiedere un numero finito di dati e deve avere sempre termine.
- Composto d’istruzioni effettivamente eseguibili.
- **Generale:** deve poter affrontare e risolvere il problema, non solo in casi particolari, ma compatibilmente al problema stesso, in qualunque caso in cui ci sono i dati d’ingresso.



Nella valutazione del rischio da esposizione ad AB entrano in gioco molti fattori alcuni dei quali possono avere una loro variabilità intrinseca, come la virulenza o la trasmissibilità, ecc. mentre altri fattori hanno un’incertezza determinata dalla soggettività del valutatore che cagiona la maggior parte degli errori nella VDR stessa. Questa variabilità si può eliminare o ridurre attraverso la schematizzazione dei passaggi e le scelte delle informazioni da inserire nell’algoritmo. Agendo in questa maniera è possibile garantire l’uniformità e la ripetibilità del calcolo per la quantificazione del rischio biologico nelle situazioni di lavoro con esposizione agli AB

### 8.1. L’algoritmo per la valutazione del rischio biologico

L’algoritmo è stato concepito riferendosi al metodo “a matrice”, ampiamente utilizzato in igiene industriale per la valutazione semi quantitativa dei rischi occupazionali. Nella matrice, per il calcolo del rischio sono inseriti due elementi:

**P** = la probabilità d’accadimento di un evento dannoso.

**D** = il danno conseguente all’evento, qualora accada.

Dalla relazione  $P \times D$  scaturisce un valore **R** che esprime il livello di rischio presente in quell’attività stante le condizioni che hanno portato a determinare **P** e **D**.

$$R = P \times D$$

Per la valutazione del rischio biologico gli elementi **P** e **D** sono calcolati come di seguito illustrato.

Il fattore probabilità **P** è determinato dalla seguente formula,

$$P = C \times \left[ \sum F_i + 1 \right] / 7$$

dove:

**C:** indica la *contaminazione presuntiva delle sostanze utilizzate* (rischio intrinseco).

**F:** è il coefficiente derivante dall'analisi delle modalità operative, delle caratteristiche ambientali e della formazione degli operatori.

Il fattore danno D invece ha una diretta relazione con la classificazione di pericolosità degli AB, secondo l'allegato XLVI del D.Lgs. 81/08.

D è dato dal gruppo di pericolosità degli AB

## 8.2. Danno (D)

Questo elemento importante della matrice del rischio indispensabile per risolvere l'algoritmo è individuato riferendosi al gruppo d'appartenenza secondo la classificazione dell'allegato XLVI dell'Agente Biologico utilizzato o potenzialmente presente. Nei casi in cui l'operatore è esposto contemporaneamente a più AB, il valore del *danno* deve essere individuato considerando il gruppo d'appartenenza dell'AB potenzialmente presente/utilizzato, classificato con maggiore pericolosità.

Per gli operatori delle Agenzie per la Protezione dell'Ambiente, l'esposizione ad AB è una conseguenza delle attività in cui gli AB sono:

- ricercati; utilizzati come ceppi di riferimento;
- eventualmente presenti nei campioni;
- presenti o veicolati dall'ambiente esterno.

Nella tabella 8.1. sono evidenziate le diverse sorgenti di pericolo in relazione ai processi delle Agenzie.

**Tabella 8.1** Le sorgenti di pericolo relative ai processi sviluppati dalle Agenzie.

|                           | Uso deliberato |                   | Esposizione Potenziale            |                  |                          |
|---------------------------|----------------|-------------------|-----------------------------------|------------------|--------------------------|
|                           | AB ricercati   | Ceppi riferimento | Matrici campionate/<br>in analisi | Ambiente esterno | Impianto condizionamento |
| Laboratorio microbiologia | X              | X                 | X                                 |                  | X                        |
| Laboratorio chimica       |                |                   | X                                 |                  | X                        |
| Territorio                |                |                   | X                                 | X                | X                        |
| Uffici                    |                |                   |                                   |                  | X                        |

### 8.2.1. Uso deliberato di AB

I pericoli, durante quest'attività, sono rappresentati dai ceppi microbici di riferimento e dagli AB oggetto dei saggi analitici di microbiologia. I saggi analitici prevedono la selezione mediante l'isolamento microbiologico, l'accrescimento e l'identificazione tramite le reazioni metaboliche e/o la caratterizzazione sierologica di alcuni di loro.

La valutazione del rischio biologico inizia con la compilazione della tabella 8.2, dove devono essere iscritti gli agenti che sono utilizzati in "maniera deliberata" nei laboratori oggetto della stima.

**Tabella 8.2** Danno in caso d'uso deliberato di microrganismi

| CEPPI           | GRUPPO DI PERICOLOSITA' |
|-----------------|-------------------------|
|                 |                         |
|                 |                         |
|                 |                         |
| SAGGI ANALITICI | GRUPPO DI PERICOLOSITA' |
|                 |                         |
|                 |                         |
|                 |                         |

### 8.2.2. Esposizione potenziale

Il valore che è attribuito a D in caso di esposizione potenziale dipende essenzialmente dalla pericolosità degli AB (quantificabile attraverso il gruppo d'appartenenza) che potrebbero contaminare i campioni. Per stabilire quale valore di D potrebbe essere più appropriato per i vari processi lavorativi svolti nelle Agenzie, le tipologie di sostanze con cui gli operatori possono venire a contatto sono state organizzate in macrogruppi, caratterizzati ognuno da una certa omogeneità per la capacità potenziale di esporre gli operatori alla contaminazione.

In fase di VDR devono essere individuate le *categorie*, chiamate **matrici** cui i lavoratori possono venire in contatto; un esempio delle quali è riportato in tabella 8.3.

Tabella 8.3 Tipologia di campioni e raggruppamento per “matrici”

|   | Tipologia di campione                        | Matrice                         |
|---|--|---------------------------------|
| 1 | Alimenti di origine animale                  | Alimenti animali                |
|   | Animali (carcasse)                           |                                 |
| 2 | Alimenti di origine vegetale                 | Alimenti                        |
|   | Acque minerali                               |                                 |
| 3 | Acque di mare (balneazione, difesa del mare) | Acque a bassa contaminazione    |
|   | Acque di piscina                             |                                 |
|   | Acque destinate al consumo umano             |                                 |
|   | Acque superficiali                           |                                 |
|   | Acque sotterranee                            |                                 |
| 4 | Acque di scarico                             | Acque ad elevata contaminazione |
|   | Acque superficiali contaminate               |                                 |
|   | Liquido d'infiltrazione e percolato          |                                 |
|   | Acque portuali                               |                                 |
| 5 | Aria ambienti confinati                      | Aria confinata                  |
|   | Controllo qualità                            |                                 |
| 6 | Superfici                                    | Superfici                       |
|   | Tamponi ambientali                           |                                 |
| 7 | Sangue ed emoderivati                        | Clinica                         |
|   | Urina  |                                 |
|   | Liquido dialisi                              |                                 |
|   | Rifiuti sanitari                             |                                 |
| 8 | Cosmetici                                    | Varie                           |
|   | Piume  |                                 |
|   | Pollini                                      |                                 |
| 9 | Rifiuti indifferenziati da discarica         | Rifiuti                         |
|   | Compost                                      |                                 |
|   | Sedimenti dei porti                          |                                 |
|   | Sedimenti di fiume                           |                                 |

Per ciascuna categoria è stata eseguita un'approfondita ricerca bibliografica che ha portato ad individuare i microrganismi patogeni che potrebbero essere veicolati da ciascuna di esse insieme al riconoscimento della via di trasmissione attraverso la quale gli AB possono essere trasferiti al soggetto recettivo. Da tale ricerca sono stati individuati più di 200 AB con caratteristiche di patogenicità per l'individuo; di questi almeno una quarantina è trasmissibile per via aerea, tramite gli aerosol che si possono produrre durante l'attività.

Lo studio evidenzia inoltre come la gran quantità di dati che possono essere raccolti, quando si utilizzano queste matrici, siano difficili da impiegare e gestire per valutare il rischio biologico.

Inoltre, dopo una più approfondita considerazione sulla tipologia e sulle modalità d'esecuzione delle attività lavorative, oggetto della valutazione, si constata oggettivamente che sono anche poco utili ai fini della conoscenza della reale situazione a rischio.

Per quanto sopra risulta più utile e pratico tenere in evidenza ai fini della VDR solo il dato relativo al gruppo d'appartenenza degli agenti potenzialmente presenti di ciascuna macrocategoria; un esempio di risultati ottenuti dalla valutazione del danno potenziale in riferimento alle matrici sono schematizzati nella tabella 8.4.

**Tabella 8.4** *Danno in caso d'esposizione potenziale a microrganismi.*

|    | <b>MATRICE</b>                  | <b>GRUPPO DI PERICOLOSITA'</b> |
|----|---------------------------------|--------------------------------|
| 1  | Alimenti di origine animale     | 2, 3                           |
| 2  | Alimenti di origine vegetale    | 2                              |
| 3  | Acque a bassa contaminazione    | 2, 3                           |
| 4  | Acque ad elevata contaminazione | 2, 3                           |
| 5  | Aria ambienti confinati         | 2, 3**                         |
| 6  | Superfici                       | 2, 3**                         |
| 7  | Clinica/rifiuti ospedalieri     | 2, 3 (4)                       |
| 8  | Varie                           | 2, 3                           |
| 9  | Rifiuti indifferenziati         | 2, 3 (4)                       |
| 10 | Compost                         | 2,3                            |
| 11 | Sedimenti porti                 | 2,3                            |
| 12 | Sedimenti fiume                 | 2,3                            |

In talune matrici possono teoricamente essere contenuti anche agenti del gruppo 4: in questi casi è indicato il numero 4 tra parentesi poiché si tratta di AB che scientificamente è possibile trovare tali matrici e quindi diventa doveroso considerare questa eventualità, ma bisogna pure tenere conto che questa evenienza, è estremamente remota. Sarà cura del valutatore, in considerazione della tipologia di campioni e della loro provenienza, considerare l'opportunità di inserire nell'algoritmo il valore di danno più opportuno desumendolo dalla tabella 8.4, secondo le matrici manipolate nel processo di cui si vuole valutare il rischio biologico.

Quando, all'interno delle matrici, sono individuati più AB appartenenti a differenti gruppi di pericolosità, di norma, si deve inserire nell'algoritmo il valore più elevato a titolo cautelativo. È da tener presente, tuttavia, a questo proposito che i microrganismi appartenenti al **gruppo 2** sono molto più numerosi e diffusi nell'ambiente rispetto a quelli di **gruppo 3** e ancora di più rispetto a quelli di **gruppo 4**, quindi è ancora demandato al valutatore che applica il metodo inserire il valore più opportuno a seconda del caso.

### 8.3. Probabilità (P)

La probabilità è l'altro elemento della matrice che consente di valutare il rischio. Nella valutazione del rischio biologico per probabilità intendiamo la possibilità che un individuo esposto ad AB sia contaminato da questi.

A determinare questa probabilità concorrono numerosi coefficienti, che sono stati analizzati singolarmente ed inseriti nell'algoritmo.

$$P = C \times \left[ \sum_1^6 F_i + 1 \right] / 7$$

Dove:

**C:** grado di contaminazione presuntiva delle sostanze utilizzate (rischio intrinseco).

**F<sub>i</sub>:** sono 6 coefficienti dipendenti da quantità e frequenza delle manipolazioni di campioni, caratteristiche ambientali, procedure adottate (Buone Pratiche o Prassi), utilizzo di DPI e informazione e formazione.

#### 8.3.1. **C: Grado di contaminazione presuntiva delle sostanze utilizzate.**

Pur non essendo note le caratteristiche microbiologiche quali-quantitative delle sostanze processate, l'esperienza e la letteratura a riguardo aiutano a classificare, seppure indicativamente, le matrici in base ad una contaminazione presuntiva.

La classificazione proposta si basa su 4 gradi di contaminazione, come illustrato in tabella 8.5, che concettualmente riprendono quelli che potrebbero essere i valori di carica batterica totale delle matrici.

**Tabella 8.5** *Classificazione della contaminazione presuntiva*

| Fasce di contaminazione presuntiva | Grado di contaminazione presuntiva delle sostanze utilizzate "C" |
|------------------------------------|--|
| molto bassa                        | 1  |
| bassa                              | 2  |
| media                              | 3  |
| massima                            | 4  |

### **Durante l'uso deliberato**

Nelle attività lavorative degli operatori delle Agenzie condotte nei laboratori analitici di microbiologia, i terreni di coltura solidi o liquidi seminati contenenti gli AB (prevalentemente batteri e miceti) costituiscono l'origine del rischio biologico per gli operatori addetti alle attività microbiologiche.

Operando con questi sistemi di coltura è evidente che la contaminazione delle sostanze con cui si opera (i terreni di coltura, appunto) non è più presuntiva ma certa, e anche di grado elevato, in quanto una colonia batterica è costituita al 100% da batteri; il grado di contaminazione da attribuire per questa tipologia di attività è massimo (C=4).

### **Esposizione potenziale**

Il giudizio sulla contaminazione presuntiva delle matrici è desunto dai valori espressi nella tabella 8.5.

In conformità con questa classificazione diviene possibile assegnare a ciascuna matrice un valore del Grado di contaminazione delle sostanze utilizzate "C", come illustrato in tabella 8.6.

**Tabella 8.6** *Grado di contaminazione presuntiva delle sostanze utilizzate (C) – esposizione potenziale*

| Matrice                           | Grado di contaminazione presuntiva delle sostanze utilizzate "C" |
|-----------------------------------|--|
| 1 Alimenti di origine animale     | 2  |
| 2 Alimenti di origine vegetale    | 1  |
| 3 Acque a bassa contaminazione    | 1  |
| 4 Acque ad elevata contaminazione | 3  |
| 5 Aria ambienti confinati         | 1  |
| 6 Superfici                       | 1  |
| 7 Clinica/rifiuti ospedalieri     | 3  |
| 8 Varie                           | 2  |
| 9 Rifiuti indifferenziati         | 2  |
| 10 Compost                        | 2  |
| 11 Sedimenti porti                | 3  |
| 12 Sedimenti fiume                | 2  |

### ***8.3.2. Coefficienti Fi: quantità e frequenza delle manipolazioni dei campioni, caratteristiche ambientali procedure adottate (buone pratiche), utilizzo di DPI, formazione***

I coefficienti, indicati con la **lettera F** e con un **numero identificativo** da **1 a 6**, individuano le caratteristiche che condizionano il rischio biologico; ad ognuno di loro è assegnato un valore numerico:

- 0 = la caratteristica è adeguata alla corretta gestione del Rischio Biologico,
- 1 = la caratteristica non è adeguata alla corretta gestione del Rischio Biologico,
- 0,5 = la caratteristica è giudicata parzialmente adeguata alla corretta gestione del Rischio Biologico.

La valutazione dell'adeguatezza è effettuata con i criteri specificati nelle tabelle seguenti, che sono state differenziate per processo.

### **COEFFICIENTE F1 - Quantità di sostanza manipolata.**

Dipende essenzialmente dal tipo d'analisi a cui deve essere sottoposta la sostanza. Si raccomanda naturalmente di utilizzare le quantità minime previste dagli specifici metodi d'analisi di riferimento, anche al fine di contenere il rischio biologico.

Nell'utilizzo deliberato di AB i quantitativi di ceppi microbici manipolati sono sempre modesti, per cui in questo caso è possibile prevedere di inserire solo il valore corrispondente alla voce "bassa".

**Tabella 8.7** *Coefficiente F1 - Quantità manipolata*

| Quantità manipolata |                        |       | F1  |
|---------------------|------------------------|-------|-----|
| Uso deliberato      | Esposizione potenziale |       |     |
| pochi grammi        | pochi grammi           | Bassa | 0   |
|                     | 500 gr/ ml             | Media | 0.5 |
|                     | > 500 gr/ml            | Alta  | 1   |

### **COEFFICIENTE F2 - Frequenza di manipolazione**

Il coefficiente che valuta la frequenza di manipolazione delle sostanze che espongono l'operatore agli AB è stato distinto in tre possibili valori o possibilità di manipolazione come mostra la **tabella 8.8**. I valori dei coefficienti della frequenza di manipolazione sono applicabili sia per la valutazione con l'utilizzo deliberato sia nella stima per l'esposizione potenziale.

**Tabella 8.8** *Coefficiente F2 - Frequenza di manipolazione*

| Frequenza di manipolazione  |       | F2  |
|-----------------------------|-------|-----|
| Almeno mensile              | Bassa | 0   |
| 1 o poche volte a settimana | Media | 0.5 |
| Almeno giornaliera          | Alta  | 1   |

### **COEFFICIENTE F3 - Caratteristiche strutturali / DPC**

Laboratorio - Utilizzo deliberato.

I laboratori microbiologici ove si utilizzano in maniera deliberata gli AB devono possedere alcuni requisiti strutturali e tecnici, previsti dall'allegato XLVII del D.Lgs. 81/08. Le caratteristiche prescritte variano in misura del gruppo d'appartenenza degli AB utilizzati, di conseguenza i locali adibiti a laboratorio devono avere il previsto "livello di contenimento".

Nell'allegato sopra citato sono stati distinti tre livelli di contenimento e, per ciascuno, sono descritte le caratteristiche, prevedendo l'obbligatorietà per alcune e solo la raccomandazione per le altre.

Nella tabella 8.9 sono indicati i coefficienti da inserire nell'algoritmo secondo il livello di adeguamento dei locali nel rispetto delle prescrizioni dell'allegato XLVII.

**Tabella 8.9** *Coefficiente F3 Laboratorio uso deliberato - caratteristiche strutturali / DPC*

| Caratteristiche strutturali/DPC                               |                       | F3  |
|---|-----------------------|-----|
| 100% voci obbligatorie e raccomandate rispettate              | adeguate              | 0   |
| 100% voci obbligatorie rispettate ma voci raccomandate < 100% | parzialmente adeguate | 0.5 |
| Non è rispettata anche 1 sola delle voci obbligatorie         | non adeguate          | 1   |

Le "voci" trovano riferimento nelle tabelle specifiche delle singole sezioni:

tabella 8.9.1 Coefficiente F3 Caratteristiche strutturali/DPC laboratorio durante l'uso deliberato gruppo 2

tabella 8.9.2 Coefficiente F3 Caratteristiche strutturali/DPC laboratorio durante l'uso deliberato gruppo 3

tabella 8.9.3 Coefficiente F3 Caratteristiche strutturali/DPC laboratorio esposizione potenziale

tabella 8.9.4 Coefficiente F3 Caratteristiche strutturali/DPC territorio

Nella valutazione del rischio biologico nel laboratorio microbiologico, per assolvere alle prescrizioni sui livelli di contenimento, si possono utilizzare le check list riportate di seguito. Esse consentono di controllare

le caratteristiche strutturali che la norma prevede per il livello di contenimento previsto per le attività lì svolte.

**Tabella 8.9.1** Coefficiente F3 Caratteristiche strutturali/DPC laboratorio durante l'uso deliberato gruppo 2

|    | <b>Caratteristica strutturale</b>   | <b>Livello di contenimento 2</b> | <b>Applicabile (si/no)</b> | <b>Presente (si/no)</b> |
|----|---|----------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| 1  | L'accesso deve essere limitato alle persone autorizzate   | Raccomandato                     |                            |                         |
| 2  | Specifiche procedure di disinfezione  | Si                               |                            |                         |
| 3  | Controllo efficace dei vettori, ad esempio, roditori ed insetti   | Raccomandato                     |                            |                         |
| 4  | Superfici idrorepellenti e di facile pulitura.  | Si, per il banco di lavoro       |                            |                         |
| 5  | Superfici resistenti agli acidi, agli alcali, ai solventi, ai disinfettanti.  | Raccomandato                     |                            |                         |
| 6  | Deposito sicuro per AB  | Si                               |                            |                         |
| 7  | Finestra d'ispezione o altro dispositivo che permetta di vederne gli occupanti.   | Raccomandato                     |                            |                         |
| 8  | I materiali infetti, compresi gli animali, devono essere manipolati in cabine di sicurezza, isolatori o altri adeguati contenitori. | Ove opportuno                    |                            |                         |
| 9  | Inceneritori per l'eliminazione delle carcasse degli animali.   | Raccomandato                     |                            |                         |
| 10 | Mezzi e procedure per il trattamento dei rifiuti  | Si                               |                            |                         |
|    | % caratteristiche obbligatorie rispettate   |                                  |                            |                         |
|    | % caratteristiche raccomandate rispettate   |                                  |                            |                         |

**Tabella 8.9.2** Coefficiente F3 Caratteristiche strutturali/DPC laboratorio durante l'uso deliberato gruppo 3

|    | <b>Caratteristica strutturale</b>  | <b>Livello di contenimento 3</b>          | <b>Applicabile (si/no)</b> | <b>Presente (si/no)</b> |
|----|--|---|----------------------------|-------------------------|
| 1  | La zona di lavoro deve essere separata da qualsiasi altra attività nello stesso edificio.  | Raccomandato                              |                            |                         |
| 2  | L'aria immessa nella zona di lavoro e l'aria estratta devono essere filtrate attraverso un ultrafiltro (HEPA) o un filtro simile | SI, sull'aria estratta                    |                            |                         |
| 3  | L'accesso deve essere limitato alle persone autorizzate.   | Si  |                            |                         |
| 4  | La zona di lavoro deve poter essere chiusa a tenuta per consentire la disinfezione.  | Raccomandato                              |                            |                         |
| 5  | Specifiche procedure di disinfezione   | Si  |                            |                         |
| 6  | La zona di lavoro deve essere mantenuta ad una pressione negativa rispetto a quell'atmosfera.                                    | Raccomandato                              |                            |                         |
| 7  | Controllo efficace dei vettori, ad esempio, roditori ed insetti  | Si  |                            |                         |
| 8  | Superfici idrorepellenti e di facile pulitura  | Si, per il banco di lavoro e il pavimento |                            |                         |
| 9  | Superfici resistenti agli acidi, agli alcali, ai solventi, ai disinfettanti.   | Si  |                            |                         |
| 10 | Deposito sicuro per AB   | Si  |                            |                         |
| 11 | Finestra d'ispezione o altro dispositivo che permetta di vederne gli occupanti.  | Raccomandato                              |                            |                         |
| 12 | I laboratori devono contenere l'attrezzatura loro necessaria.  | Raccomandato                              |                            |                         |
| 13 | I materiali infetti, compresi gli animali, devono essere manipolati in cabine di sicurezza, isolatori o altri                    | Si, quando l'infezione è                  |                            |                         |

|    | Caratteristica strutturale                                    | Livello di contenimento<br>3 | Applicabile (si/no) | Presente (si/no) |
|----|---|------------------------------|---------------------|------------------|
|    | adeguati contenitori.   | veicolata dall'aria          |                     |                  |
| 14 | Inceneritori per l'eliminazione delle carcasse degli animali. | Si(disponibile)              |                     |                  |
| 15 | Mezzi e procedure per il trattamento dei rifiuti.             | Si                           |                     |                  |
| 16 | Trattamento delle acque reflue.                               | Facoltativo                  |                     |                  |
|    | % caratteristiche obbligatorie rispettate                     |                              |                     |                  |
|    | % caratteristiche raccomandate rispettate                     |                              |                     |                  |

### Laboratorio - Esposizione potenziale

Nei locali del laboratorio dove ci può essere anche esposizione potenziale agli AB è auspicabile la presenza di alcune caratteristiche strutturali che possono aiutare a contenere il possibile rischio biologico.

**Tabella 8.9.3** Coefficiente F3 Laboratorio esposizione potenziale- caratteristiche strutturali / DPC

| caratteristiche strutturali/DPC                      |                       | F3  |
|--|-----------------------|-----|
| 100% voci applicabili presenti                       | adeguate              | 0   |
| Almeno 2/3 voci applicabili presenti ( $\geq 66\%$ ) | parzialmente adeguate | 0.5 |
| < 2/3 voci applicabili presenti (<66%)               | non adeguate          | 1   |

**Tabella 8.9.3.1** Coefficiente F3 Caratteristiche strutturali / DPC laboratorio esposizione potenziale

|   | Caratteristica strutturale   | Applicabile (si/no) | Presente (si/no) |
|---|--|---------------------|------------------|
| 1 | Pavimenti e pareti lisce e lavabili  |                     |                  |
| 2 | Superfici di lavoro lavabili e impermeabili.                                     |                     |                  |
| 3 | Presenza di lavandini in ogni stanza   |                     |                  |
| 4 | Presenza di lavaocchi  |                     |                  |
| 5 | Adeguate ricambio di aria naturale o artificiale                                 |                     |                  |
| 6 | Illuminazione adeguata   |                     |                  |
| 7 | Presenza di cappe biohazard funzionanti e correttamente mantenute.               |                     |                  |
| 8 | Armadietti con compartimenti separati  |                     |                  |
| 9 | Presenza di tutte le attrezzature necessarie all'interno della stanza di lavoro. |                     |                  |
|   | % caratteristiche applicabili presenti   |                     |                  |

### Attività sul territorio

Per le attività svolte sul territorio le caratteristiche strutturali e la presenza di eventuali DPC devono essere ricercate nell'ambiente di lavoro nel quale si opera o nell'ambiente esterno nel caso dei campionamenti in campo aperto.

**Tabella 8.9.4** Coefficiente F3 Caratteristiche strutturali/DPC territorio

| Caratteristiche strutturali/DPC                      |                       | F3  |
|--|-----------------------|-----|
| 100% voci applicabili presenti                       | adeguate              | 0   |
| Almeno 2/3 voci applicabili presenti ( $\geq 66\%$ ) | parzialmente adeguate | 0.5 |
| < 2/3 voci applicabili presenti (<66%)               | non adeguate          | 1   |

**Tabella 8.9.4.1** Coefficiente F3 Caratteristiche strutturali/DPC territorio

|   | Caratteristica ambientale                 | Applicabile (si/no) | Presente (si/no) |
|---|---|---------------------|------------------|
| 1 | Zona controllata (LdL con DL individuato) |                     |                  |

|     |   |  |  |
|-----|---|--|--|
| 2   | - Livello di rischio biologico conosciuto (da DVR)                  |  |  |
| 2.1 | - Livello di rischio biologico non conosciuto                       |  |  |
| 2.2 | Zona non controllata (ambiente naturale)                            |  |  |
| 3   | Presenza di vettori (zanzare, zecche,...)                           |  |  |
| 4   | Zona ad elevata umidità   |  |  |
| 5   | Formazione di aerosol connesso con l'attività principale            |  |  |
| 6   | Formazione di aerosol connesso solo con l'attività di campionamento |  |  |
|     | Totale  |  |  |
|     | % caratteristiche applicabili presenti                              |  |  |

#### **COEFFICIENTE F4 – Norme di Buona Prassi**

Adottare e seguire le norme di “buona prassi” è unanimemente riconosciuto utile nella prevenzione e protezione dal rischio biologico, sia per i lavoratori che operano con uso deliberato di AB sia per tutte mansioni in cui ci può essere esposizione potenziale ad AB

**Tabella 8.10** Coefficiente F4 – Norme di Buona Prassi, norme igieniche, istruzioni operative

| <b>Buone prassi, norme igieniche, istruzioni operative</b> |                       | <b>F4</b> |
|--|-----------------------|-----------|
| Esistenti e diffuse a tutto il personale esposto.          | adeguata              | 0         |
| Esistenti ma formazione non effettuata                     | parzialmente adeguata | 0.5       |
| Non esistenti  | non adeguata          | 1         |

A titolo esemplificativo si indicano alcuni argomenti che non dovrebbero mancare di essere presi in considerazione nelle “buone prassi” per la corretta gestione del rischio biologico:

**Tabella 8.10.1** Coefficiente F4 – esempi d'argomenti di Buona prassi, norme igieniche e istruzioni operative in laboratorio

|   | <b>Attività in laboratorio</b>                          | <b>Presente (si/no)</b> | <b>Formazione (si/no)</b> |
|---|---|-------------------------|---------------------------|
| 1 | Manipolazione di AB                                     |                         |                           |
| 2 | Uso DPI   |                         |                           |
| 3 | Gestione delle Emergenze                                |                         |                           |
| 4 | Sanificazione periodica delle superfici e degli oggetti |                         |                           |

**Tabella 8.10.2** Coefficiente F4 – esempi d'argomenti di Buona prassi, norme igieniche e istruzioni operative per attività sul territorio

|   | <b>Attività sul territorio</b>  | <b>Presente (si/no)</b> | <b>Formazione (si/no)</b> |
|---|---|-------------------------|---------------------------|
| 1 | Procedure operative di sicurezza (anche all'interno delle procedure operative generali) |                         |                           |
| 2 | Igiene delle mani   |                         |                           |
| 3 | Uso DPI e/o indumenti da lavoro   |                         |                           |
| 4 | Gestione delle Emergenze  |                         |                           |

|                        |  |  |
|------------------------|--|--|
| Totale (per tipologia) |  |  |
|------------------------|--|--|

#### **COEFFICIENTE F5 – DPI SPECIFICI PER IL RISCHIO BIOLOGICO**

**Tabella 8.11** Coefficiente F5 - DPI per il rischio biologico

| <b>DPI</b>   |          | <b>F5</b> |
|--|----------|-----------|
| Tutto il personale è dotato e utilizza correttamente tutti i DPI necessari (=100%) | adeguata | 0         |

|  |                       |     |
|--|-----------------------|-----|
| Non tutto il personale è dotato, oppure non li utilizza ( $100% < n \leq 50%$ ), oppure non è stato fornito anche uno solo dei DPI | parzialmente adeguata | 0.5 |
| Il personale dotato dei DPI idonei è $< 50%$ oppure non sono stati forniti DPI   | non adeguata          | 1   |

Con la tabella 8.11.1 è possibile ricavare le % dei DPI disponibili ed utilizzati, cominciando da quelli necessari per le singole mansioni (dato desumibile dalla valutazione del rischio).

**Tab 8.11.1** DPI per il rischio biologico

| DPI per il rischio biologico |  | Necessari (si/no) | Disponibili (si/no) | Correttamente utilizzati e mantenuti (si/no) |
|------------------------------|--|-------------------|---------------------|--|
| 1                            | Guanti monouso                           |                   |                     |  |
| 2                            | Facciali filtranti                       |                   |                     |  |
| 3                            | Occhiali - visiere -maschere per schizzi |                   |                     |  |
| 4                            | Camici                                   |                   |                     |  |
| 5                            | Tute                                     |                   |                     |  |
| 6                            | Calzature                                |                   |                     |  |

|   |  |
|---|--|
| % DPI disponibili e correttamente utilizzati. |  |
|---|--|

### **COEFFICIENTE F6 - FORMAZIONE**

La formazione degli operatori sul rischio biologico deve essere compiuta nei confronti di tutte le persone esposte agli AB, sia per un uso deliberato, sia per un'esposizione solo potenziale.

Il programma di formazione degli operatori deve riguardare le procedure ed i sistemi di prevenzione e protezione, il loro corretto utilizzo dei DPC e dei DPI, la corretta gestione dei rifiuti a rischio biologico; infine le procedure da applicare in caso d'emergenza in particolare di quella con esposizione al rischio biologico.

La formazione è ritenuta adeguata se offerta in fase iniziale (assunzione, cambio mansione, introduzione nuovi rischi) e per aggiornamento periodico almeno ogni 5 anni, come previsto dal D.Lgs. 81/08.

**Tabella 8.12** Coefficiente F6 - formazione informazione addestramento

| Formazione   |                       | F6  |
|--|-----------------------|-----|
| Tutto il personale esposto a rischio biologico ha ricevuto la formazione e informazione specifica.           | adeguata              | 0   |
| Solo parte del personale ha ricevuto la formazione e informazione specifica ( $< 100%$ esposti $\geq 50%$ ). | parzialmente adeguata | 0.5 |
| Tra il personale esposto a rischio biologico $\leq 50%$ ha ricevuto la formazione e informazione specifica.  | non adeguata          | 1   |

### **MATRICE DEI RISCHI**

Il modello di matrice matematica utilizzato è quello con 4 valori di Probabilità e 4 di Danno. In considerazione delle peculiarità proprie del rischio biologico di fatto in molte situazioni con esposizione ad AB le probabilità di contaminazione sono davvero basse. Per risolvere al meglio la valutazione del rischio nei casi con bassissima probabilità di contaminazione, nella scala delle probabilità, il valore "1" è stato suddiviso in due livelli : 0,5 (probabilità estremamente bassa) e 1 (probabilità molto bassa).

Graficamente il modello si visualizza come riportato in figura 8.1

**Figura 8.1** Matrice dei rischi

|                    |                        |               |         |         |        |
|--------------------|------------------------|---------------|---------|---------|--------|
| <b>probabilità</b> | 4 alta                 | 4             | 8       | 12      | 16     |
|                    | 3 media                | 3             | 6       | 9       | 12     |
|                    | 2 bassa                | 2             | 4       | 6       | 8      |
|                    | 1 molto bassa          | 1             | 2       | 3       | 4      |
|                    | 0,5 estremamente bassa | 0.5           | 1       | 1.5     | 2      |
|                    |                        | 1 molto basso | 2 basso | 3 medio | 4 alto |
|                    |                        | <b>danno</b>  |         |         |        |

L'assegnazione di un valore di **P (probabilità)** di 0.5, invece che 1, determina una valutazione del rischio in una categoria inferiore.

Al termine della valutazione è possibile esprimere un giudizio sul valore del rischio biologico secondo la scala evidenziata in Tabella 8.13, in accordo con le “Linee guida rischio biologico in ambienti non sanitari” SIMLII 2007.

**Tabella 8.13** Misure di Prevenzione e Protezione in relazione all'entità del rischio

| Colore | Valore numerico  | Livello di rischio | Misure di Prevenzione e Protezione da attuare   |
|--------|------------------|--------------------|---|
|        | $0.5 < R \leq 1$ | Accettabile        | Norme igieniche generali  |
|        | $1 < R \leq 2$   | Basso              | Norme igieniche generali  |
|        | $2 < R \leq 8$   | Medio              | Norme igieniche generali + Misure specifiche di prevenzione e protezione                  |
|        | $8 < R \leq 10$  | Alto               | Misure specifiche di prevenzione e protezione urgenti                                     |
|        | $10 < R \leq 16$ | Inaccettabile      | Sospensione temporanea dell'attività a rischio e realizzazione immediata degli interventi |

Per quanto riguarda le misure di prevenzione e protezione da attuare si può far riferimento al seguente elenco:

Norme igieniche generali

- Misure tecniche organizzative e procedurali di cui all'art. 272 del D.Lgs. 81/08
- Buona igiene personale, lavaggio delle mani dopo aver starnutito o tossito o pulito il naso, aver usato il bagno
- Ventilazione adeguata degli spazi chiusi.
- Utilizzo salviette monouso.
- Utilizzo appositi contenitori per le salviette usate.
- Formazione e informazione

Misure specifiche di prevenzione e protezione

- Misure specifiche per i laboratori con uso deliberato (del livello di contenimento adeguato)
- Servizi sanitari per il personale dotati di docce con acqua calda e fredda
- Lavaggi oculari
- Rubinetti con pedale o fotocellula elettrica
- Disinfezione periodica delle superfici di lavoro

- Tempestivo allontanamento dei rifiuti, in particolare materiale organico
- Utilizzo di DPI correttamente mantenuti (per quanto riguarda pulizia e controllo di funzionalità)
- Indumenti protettivi riposti separatamente dagli abiti civili
- Utilizzo preferibile di materiale usa e getta
- Divieto di mangiare bere fumare nelle aree di lavoro
- Formazione e informazione
- Sorveglianza sanitaria

#### Misure igieniche specifiche urgenti

Quando la valutazione del rischio individua un livello di rischio biologico “alto le misure specifiche, individuate in precedenza, devono essere attuate nel più breve tempo possibile.

### **8.4. Algoritmo per la valutazione del rischio biologico in laboratorio**

#### **8.4.1. Uso deliberato**

Identificazione delle sorgenti di rischio (pericoli) presenti nel ciclo lavorativo o connesse con le modalità di lavorazione.

I pericoli sono rappresentati dai ceppi microbici di riferimento e dagli AB oggetto dei saggi analitici di microbiologia. Essi prevedono la selezione, l'accrescimento e la caratterizzazione di alcuni di loro. Nella tabella seguente sono elencati i ceppi in uso.

#### **DANNO → riferimento Tabella 8.2**

*Individuazione dei rischi d'esposizione*

#### **PROBABILITA' →**

*C per l'utilizzo deliberato inserire nell'algoritmo il valore 4*

*F riferimento Tabelle di seguito riportate*

*Coefficienti F1 e F2*

| F - Coefficienti influenti sul rischio biologico |                            | Tabelle di riferimento | Giudizio |       |      |
|--|----------------------------|------------------------|----------|-------|------|
|  |                            |                        | bassa    | media | alta |
| F1   | Quantità manipolata        | TAB 8.7                | 0        | 0,5   | 1    |
| F2   | Frequenza di manipolazione | TAB 8.8                | 0        | 0,5   | 1    |

*Coefficienti F3, F4, F5 e F6*

| F - Coefficienti Influenti sul rischio biologico |   | Tabelle di riferimento | Giudizio |                    |              |
|--|---|------------------------|----------|--------------------|--------------|
|  |   |                        | adeguata | parzialm. adeguata | non adeguata |
| F3   | Caratteristiche strutturali             | TAB 8.9.1 o 8.9.2      | 0        | 0,5                | 1            |
| F4   | Buone pratiche, norme igieniche         | TAB 8.10               | 0        | 0,5                | 1            |
| F5   | DPI                                     | TAB 8.11               | 0        | 0,5                | 1            |
| F6   | Formazione, informazione, addestramento | TAB 8.12               | 0        | 0,5                | 1            |

Stima dei rischi d'esposizione e programmazione delle misure di sicurezza.

Come dalla matrice in figura 7.1 e della tabella 8 di giudizio finale.

#### **8.4.2. Esposizione potenziale**

Identificazione delle sorgenti di rischio (pericoli) presenti nel ciclo lavorativo o connesse con le modalità di lavorazione(DANNO).

#### **DANNO → riferimento Tabella 8.4**

*Individuazione dei rischi d'esposizione.*

#### **PROBABILITA' →**

**C riferimento Tabella 8.6**

**F riferimento Tabelle di seguito riportate**

*Coefficienti F1 e F2*

| F - Coefficienti influenti sul rischio biologico |                            | Tabelle di riferimento | Giudizio |       |      |
|--|----------------------------|------------------------|----------|-------|------|
|  |                            |                        | bassa    | media | alta |
| F1   | Quantità manipolata        | TAB 8.7                | 0        | 0,5   | 1    |
| F2   | Frequenza di manipolazione | TAB 8.8                | 0        | 0,5   | 1    |

*Coefficienti F3, F4, F5 e F6.*

| F - Coefficienti Influenti sul rischio biologico |   | Tabelle di riferimento | Giudizio |                    |              |
|--|---|------------------------|----------|--------------------|--------------|
|  |   |                        | adeguata | parzialm. adeguata | non adeguata |
| F3   | Caratteristiche strutturali             | TAB 8.9.3              | 0        | 0,5                | 1            |
| F4   | Buone pratiche, norme igieniche         | TAB 8.10.1             | 0        | 0,5                | 1            |
| F5   | DPI                                     | TAB 8.11               | 0        | 0,5                | 1            |
| F6   | Formazione, informazione, addestramento | TAB 8.12               | 0        | 0,5                | 1            |

*Stima dei rischi d'esposizione e programmazione delle misure di sicurezza*

Come dalla matrice in figura 8.1 e della tabella 8.13 di giudizio finale.

### 8.5. Algoritmo per la valutazione del rischio biologico per le attività sul territorio

Nel caso in cui l'attività sia svolta **IN PRESENZA DI AB**

Identificazione delle sorgenti di rischio (pericoli) presenti nel ciclo lavorativo o connesse con le modalità di lavorazione.

**DANNO** → riferimento Tabella 8.4

*Individuazione dei rischi d'esposizione*

**PROBABILITA'** →

**C** riferimento Tabella 8.6

**F** riferimento Tabelle di seguito riportate

*Coefficienti F1 e F2*

| F - Coefficienti influenti sul rischio biologico |                            | Tabelle di riferimento | Giudizio |       |      |
|--|----------------------------|------------------------|----------|-------|------|
|  |                            |                        | bassa    | media | alta |
| F1   | Quantità manipolata        | TAB 8.7                | 0        | 0,5   | 1    |
| F2   | Frequenza di manipolazione | TAB 8.8                | 0        | 0,5   | 1    |

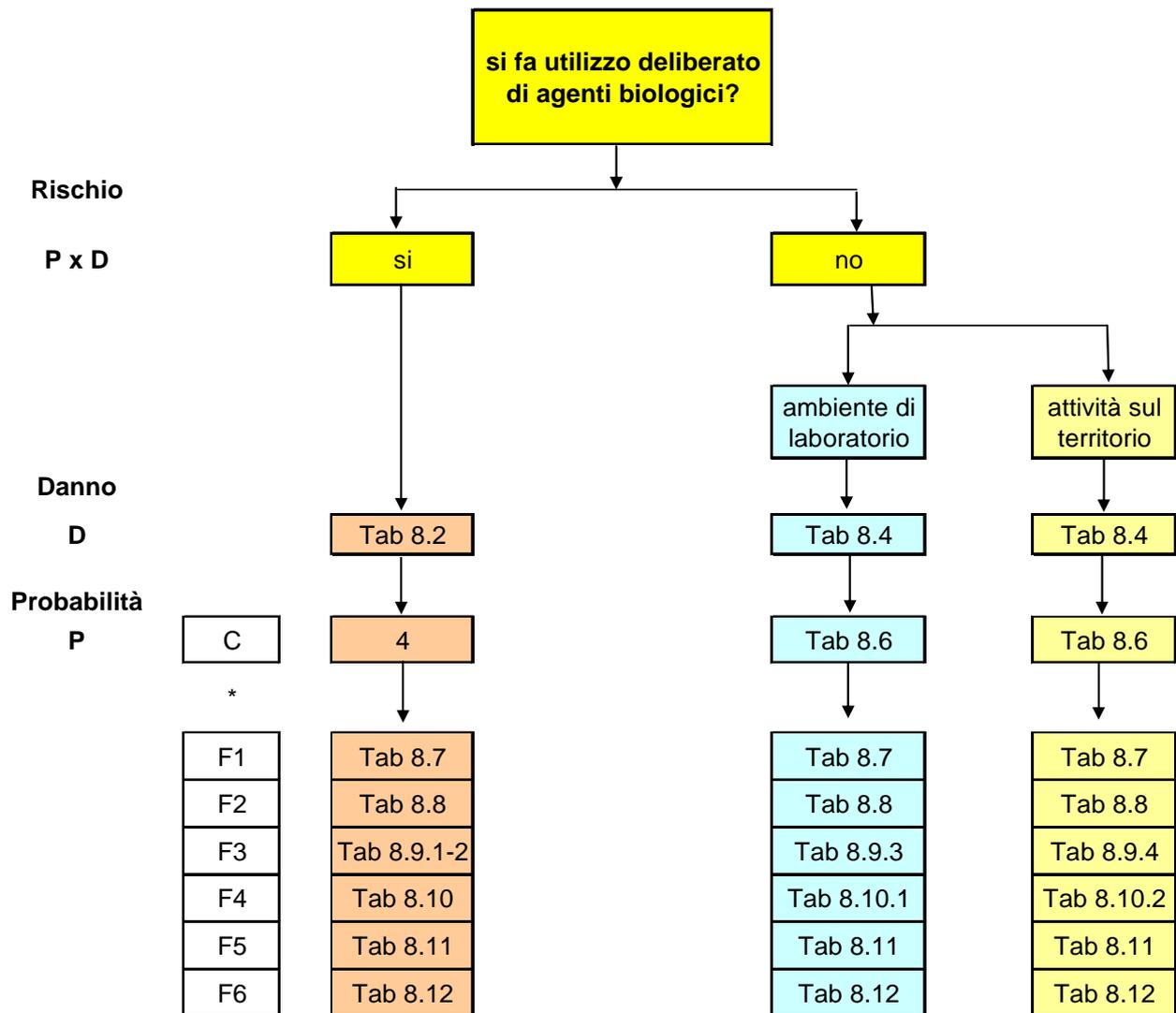
*Coefficienti F3, F4, F5 e F6*

| F - Coefficienti Influenti sul rischio biologico |   | Tabelle di riferimento | Giudizio |                    |              |
|--|---|------------------------|----------|--------------------|--------------|
|  |   |                        | adeguata | parzialm. adeguata | non adeguata |
| F3   | Caratteristiche strutturali             | TAB 8.9.4              | 0        | 0,5                | 1            |
| F4   | Buone pratiche, norme igieniche         | TAB 8.10.2             | 0        | 0,5                | 1            |
| F5   | DPI                                     | TAB 8.11               | 0        | 0,5                | 1            |
| F6   | Formazione, informazione, addestramento | TAB 8.12               | 0        | 0,5                | 1            |

*Stima dei rischi d'esposizione e programmazione delle misure di sicurezza.*

Come dalla matrice in figura 8.1 e della tabella 8.13 di giudizio finale.

Figura 8.2 Diagramma di flusso per la valutazione del rischio biologico attraverso l'algoritmo.



## 9. DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ CON RISCHIO BIOLOGICO DELLE AGENZIE

I serbatoi che espongono al rischio biologico gli operatori delle Agenzie per la protezione dell'ambiente, sono costituiti da AB:

- a) ricercati;
- b) utilizzati come ceppo di riferimento;
- c) eventualmente presenti nei campioni;
- d) presenti nell'ambiente esterno;
- e) veicolati dall'impianto di condizionamento.

Nella seguente tabella è riassunto il tipo di esposizione rispetto agli ambiti d'attività.

**Tabella 9.1** *Utilizzo deliberato o presenza di AB*

| Ambiti di attività  | Uso deliberato | Presenza di A.B: |
|---|----------------|------------------|
| Attività laboratoristiche in ambito microbiologico              | a, b           | c, e             |
| Attività laboratoristiche in ambito chimico e fisico            |                | c, e             |
| Attività di prelievo, monitoraggio e sopralluogo sul territorio |                | c, d, e          |

### 9.1. Attività di prelievo, monitoraggio e sopralluogo sul territorio

Tra gli ambiti d'attività che le Agenzie svolgono quelle che possono comportare la presenza d'AB e quindi rappresentare un rischio, così come riportato nell' ALLEGATO XLIV del D.Lgs. 81/2008, sono:

- Attività in industrie alimentari.
- Attività nell'agricoltura.
- Attività nelle quali vi è contatto con gli animali e/o con prodotti d'origine animale.
- Attività nei servizi sanitari, comprese le unità d'isolamento e post mortem.
- Attività impianti di smaltimento rifiuti e di raccolta di rifiuti speciali potenzialmente infetti.
- Attività negli impianti per la depurazione delle acque di scarico.

Le matrici che possono costituire fonti di rischio sono:

- aria indoor,
- aria outdoor,
- bioaerosol,
- superfici,
- matrici campionate (acqua, terra, sedimenti, fanghi, ecc).

I microrganismi che possono essere coinvolti, oltre a quelli naturalmente presenti in ogni ambiente, sono quelli direttamente correlati alle varie tipologie d'attività in una specifica situazione ambientale.

Tuttavia tra gli ambiti sopra riportati, quelli che rappresentano un maggior rischio biologico per gli operatori delle Agenzie, possono essere ricondotti a:

- impianti di depurazione,
- impianti di smaltimento rifiuti (inceneritore, discarica), o stoccaggio rifiuti,
- impianti di recupero frazioni per la raccolta differenziata dei rifiuti,
- strutture sanitarie: ospedali (sale operatorie, stanze di degenza, locali di preparazioni particolari es. citostatici), case di riposo e lungo degenza.

Ogni attività svolta sul territorio si compone di una successione di fasi che possono essere così schematizzate:

1. programmazione dell'attività (raccolta documenti ed informazioni, definizione del materiale necessario ecc).
2. preparazione della strumentazione, dei materiali necessari all'attività e del veicolo per il trasporto;
3. trasferimento sul luogo dove sarà svolta l'attività;
4. esecuzione dell'attività programmata (verifica, campionamento, ecc);
5. rientro in sede;
6. scarico e trasferimento del materiale e degli eventuali campioni dal mezzo di trasporto ai magazzini / laboratori.

La programmazione delle uscite per le attività di controllo e monitoraggio (punto 1 - programmazione attività), è svolto in ufficio durante la quale gli operatori incaricati, stabiliscono la documentazione necessaria, individuano la strumentazione, il materiale occorrente ed i dispositivi di protezione necessari. Particolare attenzione deve essere posta alla programmazione ed alla progettazione dell'attività da svolgere poiché già da questa fase è possibile la gestione dei rischi prevedendo l'organizzazione e la predisposizione di protocolli per la prevenzione e protezione per l'attività da svolgere.

Il punto 2 (preparazione della strumentazione, del materiale e del veicolo) e il punto 6 (trasbordo del materiale e dei campioni eventuali dal mezzo ai magazzini / laboratori), sono attività maggiormente influenzate dal tipo d'attività svolta, poiché la strumentazione utilizzata nel corso del lavoro è a contatto di una o più matrici ambientali. Sono queste strumentazioni ed altri materiali impiegati durante il lavoro a determinare dei rischi.

Per la descrizione dettagliata dei rischi introdotti dal materiale si fa riferimento alla valutazione di rischio associata all'attività specifica.

I punti 3 (trasferimento sul posto) e 5 (rientro in sede) comportano l'utilizzo dell'automezzo, ciò poiché l'esecuzione dell'attività di monitoraggio ambientale e di controllo impiantistico comporta lo spostamento dei tecnici e delle necessarie attrezzature di campionamento e/o misura dalla sede di lavoro alla località in cui è l'oggetto dell'attività. Tali fasi si possono considerare analoghe indifferentemente dal tipo di processo analizzato.

Il punto 4 (esecuzione dell'attività programmata) è la fase che maggiormente caratterizza l'attività, da questo dipendono tempi d'intervento, materiali e attrezzature utilizzate, insediamenti ed ambienti frequentati.

Di seguito sono riportati, in poche righe, le specificità legate al punto 4 (esecuzione dell'attività programmata) per ogni attività:

**Tabella 9.2** Descrizione attività svolte sul territorio (non esaustivo)

| <b>Attività</b>   | <b>Descrizione</b>   | <b>Ambienti "tipicamente visitati"</b>          |
|---|--|---|
| Attività relative alla sicurezza impiantistica: <i>impianti di sollevamento</i>                   | Esecuzione delle verifiche impiantistiche (mediante prove definite dalla normativa vigente), su gru, piattaforme ed altri sistemi di sollevamento, presso aziende, cantieri aree portuali.   | Ambienti industriali e cantieri edili           |
| Attività relative alla sicurezza impiantistica: <i>ascensori</i>                                  | Esecuzione di verifiche impiantistiche (mediante prove definite dalla normativa vigente) su ascensori montacarichi sia ad uso civile che in ambienti di lavoro anche attraverso l'accesso ai vani ascensori e alla sala macchine   | Ambienti industriali, di vita e cantieri edili. |
| Attività relative alla sicurezza impiantistica: <i>impianti elettrici</i>                         | Esecuzione di verifiche impiantistiche su impianti elettrici in ambienti di lavoro anche in zone classificate come ATEX; l'attività prevede inoltre l'accesso alle cabine elettriche, ai quadri e a parti d'impianto elettrico oltre che l'utilizzo di apparecchi di misura. | Ambienti industriali e cantieri edili           |
| Attività riguardante la sicurezza impiantistica: <i>impianti a pressione.</i>                     | Esecuzione delle verifiche impiantistiche sui componenti degli impianti industriali (vessel, apparecchiature ecc) e civili (bomboloni di GPL) che operano a pressione anche mediante l'accesso all'interno delle apparecchiature stesse.                                     | Ambienti industriali e cantieri edili           |
| Attività riguardante la sicurezza impiantistica: <i>impianti termici.</i>                         | Esecuzione delle verifiche impiantistiche, sulle apparecchiature industriali (caldaie ecc) che sono utilizzate per la generazione di vapore ed il riscaldamento d'olio diatermico ecc anche mediante l'accesso all'interno delle apparecchiature stesse.                     | Ambienti industriali e cantieri edili           |
| Attività riguardante la sicurezza impiantistica: <i>impianti a rischio d'incidente rilevante.</i> | Verifica e controllo di quelle aziende che rientrano nell'abito delle attività a rischio d'incidente rilevante; può essere previsto l'accesso agli impianti produttivi.  | Ambienti industriali                            |

| <b>Attività</b>   | <b>Descrizione</b>  | <b>Ambienti “tipicamente visitati”</b>                  |
|---|---|---|
| Controllo e vigilanza: scarichi industriali, urbani, civili.  | Controlli e campionamenti delle acque di scarico industriali, urbane (dei depuratori comunali) e civili (fosse Imoff). L’attività si svolge sia attraverso una verifica del ciclo produttivo che mediante il campionamento manuale o automatico delle acque di scarico prodotte. Possono esservi rischi dovuti al contatto con le acque sporche e all’utilizzo delle attrezzature.                        | Ambienti industriali e di vita.                         |
| Controllo e vigilanza: acque interne superficiali, profonde, sotterranee.   | Controlli monitoraggi e campionamenti delle acque superficiali (laghi, corpi idrici in genere) profonde e sotterranee (sorgenti ecc), acque minerali.   | Ambiente naturale                                       |
| Controllo monitoraggio e vigilanza: ambiente marino costiero.   | Attività di monitoraggio e campionamento in ambiente marino (d’acqua, M.O., ecc) (CARLIT, Controlli acque di balneazione ecc,) sia da terra che mediante l’utilizzo di natanti.   | Ambiente marino   |
| Controllo e vigilanza: emissioni in atmosfera.  | Campionamenti delle emissioni in atmosfera presso camini d’attività produttive.   | Ambienti industriali                                    |
| Controllo e vigilanza - monitoraggi: rumore.  | Controllo delle sorgenti di rumore negli ambiente di vita e di lavoro.  | Ambienti di lavoro e di vita                            |
| Controllo e vigilanza: Suolo, indagini geomorfologiche.   | Controlli, monitoraggi e campionamenti dei suoli a seguito e/o preventivamente ad attività di bonifica o per verifica della geomorfologia del sito ecc. Può essere necessario l’accesso a siti con pericoli dovuti all’orografia del luogo, a volte è richiesto lo spostamento a piedi su sentieri e strade sterrate con il trasporto d’apparecchiature ingombranti e pesanti (laser scanner, sonde ecc). | Ambiente naturale, cave, discariche                     |
| Controllo e vigilanza: Rifiuti presso produttori, gestori e abbandoni   | Controlli, monitoraggi e campionamenti presso quelle attività di lavoro ove si producono, detengono e si gestiscono i rifiuti. Può essere necessario l’accesso a siti con pericoli dovuti alla conformazione del luogo (discariche ecc). Possono inoltre essere effettuati interventi presso siti ove sono stati rinvenuti rifiuti abbandonati.   | Ambienti industriali, discariche, ambienti naturali     |
| Controllo, vigilanza e monitoraggio delle radiazioni ionizzanti: matrici ambientali, detenzione di sorgenti radioattive | Controllo e verifica della radioattività ambientale ed in specifiche attività antropiche: ambito sanitario, discariche, ambienti di lavoro specifici (rottamazione auto, fonderie, ecc) ambito portuale.  | ambienti di vita, ambienti di lavoro, ambienti sanitari |
| Controllo e vigilanza – monitoraggi dei campi elettromagnetici  | Rilevazioni di CEM generati dagli impianti di diffusione radiotelevisiva e per telecomunicazioni in genere oltre che le rilevazioni del campo elettrico e magnetico a frequenza industriale prodotto agli impianti di distribuzione dell’energia elettrica (tralicci ecc).  | Ambienti naturali                                       |
| Controllo e vigilanza: inquinamento da fibre di amianto   | Campionamenti dell’aria ambiente in ambienti di lavoro e/o di vita per la ricerca di fibre d’amianto aerodisperse.  | Ambienti di vita e di lavoro                            |
| Controllo e vigilanza: mense  | Campionamento d’alimenti presso le mense per la successiva fase d’analisi realizzata in laboratorio.  |   |
| Controllo e vigilanza: molluschicoltura   | Attività di campionamento di mitili presso gli allevamenti. È previsto l’uso di natanti.  | Ambiente marino   |

| <b>Attività</b>  | <b>Descrizione</b>  | <b>Ambienti “tipicamente visitati”</b> |
|--|---|--|
| Controllo e vigilanza: finalizzato alla profilassi ed epidemiologia. | Campionamento per la ricerca di legionella e tamponi in ambienti sanitari, alberghi ecc.  | Ambienti di vita e di lavoro           |
| Monitoraggi: pollinico   | Monitoraggio dei pollini presenti nell'aria attraverso stazioni di campionamento fisse.   |  |
| Monitoraggi: aria  | Monitoraggio della qualità dell'aria attraverso stazioni di campionamento fisse sul territorio.   |  |
| Controllo e vigilanza: Sedimenti (dragaggio aree portuali)           | Attività di monitoraggio delle attività di dragaggio nelle aree portuali. Sono previsti campionamenti (di acqua e sedimenti), monitoraggi strumentali (con boe ecc) sopralluoghi durante le attività di dragaggio. È previsto l'uso di natanti. | Ambiente marino                        |
| Controllo e vigilanza: biodiversità.                                 | Monitoraggio delle specie presenti sul territorio in ambiente boschivo.   | Ambienti naturali                      |
| Centro meteo   | Gestione della rete di osservazione meteorologica regionale dei corpi idrici che consta di stazioni di rilevazione fisse posizionate sul territorio.  | Ambienti naturali                      |

## **9.2. Laboratorio: attività in ambito chimico, fisico e microbiologico**

Il campione da sottoporre ad analisi quando entra in laboratorio segue un percorso predeterminato di cui di seguito si riportano le tappe principali nelle quali gli operatori e gli ambienti possono essere diversi.

1. Accettazione del campione.
2. Preparazione dei campioni e delle aliquote relative.
3. Preparazione dei reagenti necessari per le prove di laboratorio.
4. Esecuzione delle prove di laboratorio.
5. Gestione e smaltimento dei rifiuti.
6. Refertazione dei risultati.

Inoltre una serie di servizi di laboratorio quali gestione dei gas tecnici, gestione dei reattivi e materiali di riferimento e lavaggio vetreria sono svolti dal personale del laboratorio quali fasi integranti per lo svolgimento delle attività proprie d'analisi.

### **9.2.1. Presenza di AB**

Nel laboratorio gli operatori quando manipolano campioni infetti o potenzialmente sono in presenza di AB; la loro esposizione non è molto diversa da quella di coloro che lavorando sul territorio sono esposti ad AB

### **9.2.2. Uso deliberato di AB**

Diversa è la situazione per gli operatori del laboratorio microbiologico quando eseguono colture microbiologiche e identificazioni degli agenti mediante prove biochimiche e metaboliche, in quelle circostanze ci troviamo nelle condizioni in cui si fa uso di AB; le attività che espongono gli operatori al rischio biologico derivante dall'utilizzo deliberato di AB sono

| <b>Processo</b> | <b>Sottoprocesso e attività</b>                                  |
|-----------------|--|
| LABORATORIO     | Microbiologia - Esecuzione saggi microbiologici                  |
|                 | Microbiologia - Allestimento/mantenimento colture di riferimento |

Gli AB implicati nel rischio per gli operatori sono quelli oggetto dei saggi e delle colture allestite dal laboratorio.

La successiva tabella elenca le attività di laboratorio e quelle svolte sul territorio nelle quali gli operatori sono in presenza o potenzialmente in presenza di AB.

**Tabella 9.3 Laboratorio**

| Processo                          | Sottoprocesso               | Matrici                      |                            |                              |                              |       |                |           |         |                  |
|-----------------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|-------|----------------|-----------|---------|------------------|
|                                   |                             | Alimenti di origine vegetale | Alimenti d'origine animale | Acque a bassa contaminazione | Acque ad alta contaminazione | suolo | Aria confinata | superfici | Rifiuti | Rifiuti sanitari |
| Esecuzione analisi di laboratorio | Microbiologia               | X                            | X                          | X                            | X                            | X     | X              | X         | X       | X                |
|                                   | Biotossicologia             |                              |                            | X                            |                              |       |                |           |         |                  |
|                                   | Chimica analitica (acqua)   |                              |                            | X                            | X                            |       |                |           |         |                  |
|                                   | Chimica analitica (aria)    |                              |                            |                              |                              |       | X              |           |         |                  |
|                                   | Chimica analitica (suolo)   |                              |                            |                              |                              | X     |                |           |         |                  |
|                                   | Rifiuti                     |                              |                            |                              |                              |       |                |           | X       |                  |
|                                   | Alimenti                    | X                            | X                          |                              |                              |       |                |           |         |                  |
| Servizi ausiliari di laboratorio  | Accettazione campioni       | X                            | X                          |                              |                              |       |                |           |         | X                |
|                                   | Lavavetreria microbiologia  | X                            | X                          | X                            | X                            | X     |                |           |         |                  |
|                                   | Lavavetreria chimica        | X                            | X                          | X                            | X                            | X     |                |           |         | X                |
|                                   | Gestione magazzino campioni | X                            | X                          |                              | X                            | X     |                |           |         | X                |
|                                   | Gestione rifiuti chimici    | X                            | X                          | X                            | X                            | X     |                |           |         | X                |
|                                   | Gestione rifiuti biologici  | X                            | X                          | X                            | X                            | X     | X              | X         | X       | X                |

**Tabella 9.4 Territorio**

| Processo                                       | Sottoprocesso                             | Matrici                      |                            |                              |                              |       |                |           |         |                  |
|--|---|------------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|-------|----------------|-----------|---------|------------------|
|  |   | Alimenti di origine vegetale | Alimenti d'origine animale | Acque a bassa contaminazione | Acque ad alta contaminazione | suolo | Aria confinata | superfici | Rifiuti | Rifiuti sanitari |
| Attività relativa alla sicurezza impiantistica | Impianti di sollevamento                  |                              |                            |                              |                              |       | X              | X         |         |                  |
|  | Ascensori                                 |                              |                            |                              |                              |       | X              | X         |         |                  |
|  | Impianti elettrici                        |                              |                            |                              |                              |       | X              | X         |         |                  |
|  | Impianti a pressione                      |                              |                            |                              |                              |       | X              | X         |         |                  |
|  | Impianti termici                          |                              |                            |                              |                              |       | X              | X         |         |                  |
|  | Impianti a rischio di incidente rilevante |                              |                            |                              |                              |       | X              | X         | X       |                  |
| Controllo e vigilanza                          | Distributori di carburante                |                              |                            |                              |                              | X     | X              | X         |         |                  |
|  | Scarichi industriali                      |                              |                            |                              |                              |       |                |           | X       |                  |
|  | Scarichi urbani                           |                              |                            |                              |                              |       |                |           | X       |                  |
|  | Scarichi civili                           |                              |                            |                              | X                            |       |                |           | X       |                  |
|  | Acque interne superficiali                |                              |                            | X                            |                              |       |                |           |         |                  |
|  | Acque interne profonde                    |                              |                            | X                            |                              |       |                |           |         |                  |
|  | Acque interne                             |                              |                            | X                            |                              |       |                |           |         |                  |
| Ambiente marino costiero                       |   |                              | X                          |                              |                              |       |                |           |         |                  |

| Processo              | Sottoprocesso                     | Matrici                      |                            |                              |                              |       |                |           |         |                  |
|-----------------------|-----------------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|-------|----------------|-----------|---------|------------------|
|                       |                                   | Alimenti di origine vegetale | Alimenti d'origine animale | Acque a bassa contaminazione | Acque ad alta contaminazione | suolo | Aria confinata | superfici | Rifiuti | Rifiuti sanitari |
|                       | Emissioni in atmosfera            |                              |                            |                              |                              |       | X              |           |         |                  |
|                       | Rumore                            |                              |                            |                              |                              |       | X              | X         |         |                  |
|                       | Suolo                             |                              |                            |                              |                              | X     |                |           |         |                  |
|                       | Geomorfologiche                   |                              |                            |                              |                              |       |                |           |         |                  |
|                       | Produttori di rifiuti, gestori di |                              |                            |                              | X                            |       |                |           |         |                  |
|                       | Ambientali                        |                              |                            | X                            | X                            | X     |                |           | X       |                  |
|                       | Sorgenti radiazioni ionizzanti    |                              |                            |                              |                              |       |                |           |         |                  |
|                       | Vita, ambiente di lavoro          |                              |                            |                              |                              |       | X              | X         |         |                  |
|                       | Sanitari                          |                              |                            |                              |                              |       | X              | X         |         | X                |
|                       | Campi elettromagnetici            |                              |                            |                              |                              |       |                |           |         |                  |
|                       | Inquinamento fibre amianto        |                              |                            |                              |                              | X     | X              |           |         |                  |
|                       | Acque destinate al consumo umano  |                              |                            | X                            |                              | X     |                |           |         |                  |
|                       | Acque minerali naturali           |                              |                            | X                            |                              |       | X              | X         |         |                  |
|                       | Mense                             |                              |                            |                              |                              |       | X              | X         |         |                  |
|                       | Molluschicoltura                  |                              |                            | X                            |                              |       |                |           |         |                  |
| Prodotti fitosanitari |                                   |                              |                            |                              | X                            |       |                |           |         |                  |
| Epidemiologia         |                                   |                              |                            |                              |                              |       |                |           |         |                  |
| Monitoraggi           | Pollinico                         |                              |                            |                              |                              | X     |                |           |         |                  |
| Controllo e vigilanza | Ambienti di lavoro                |                              |                            |                              |                              |       | X              | X         |         |                  |
| Monitoraggi           | Agricoltura biologica             |                              |                            |                              |                              | X     |                |           |         |                  |
|                       | Qualità aria                      |                              |                            |                              |                              |       | X              |           |         |                  |
|                       | Aria                              |                              |                            |                              |                              |       | X              |           |         |                  |
|                       | Previsione meteo idrogeologica    |                              |                            |                              |                              |       |                |           |         |                  |
|                       | idrici                            |                              |                            |                              |                              |       |                |           |         |                  |
| Controlli e vigilanza | Dragaggi aree portuali            |                              |                            |                              | X                            |       |                |           | X       |                  |

---

## 10.LA PREVENZIONE E PROTEZIONE DAGLI AGENTI BIOLOGICI

Nel D.Lgs. 81/08 al Capo III “Gestione della prevenzione nei luoghi di lavoro sono definiti i principi “filosofici” della prevenzione e protezione dei lavoratori negli ambienti di lavoro, che perfezionano la definizione di prevenzione fornita nell’art. 2 che recita:

*”«prevenzione»: il complesso delle disposizioni o misure necessarie anche secondo la particolarità del lavoro, l’esperienza e la tecnica, per evitare o diminuire i rischi professionali nel rispetto della salute della popolazione e dell’integrità dell’ambiente esterno”.*

Con riferimento sempre al citato articolo capo III è possibile leggere le misure alle quali il Datore di Lavoro deve attenersi per seguire un percorso virtuoso nella ricerca continua della prevenzione e della riduzione dei rischi connessi alle attività lavorative.

Anche Codice Civile, all’art. 2087, stabilisce che:

*“L’imprenditore è tenuto ad adottare nell’esercizio dell’impresa le misure che, secondo la particolarità del lavoro, l’esperienza e la tecnica, sono necessarie a tutelare l’integrità fisica e la personalità morale dei prestatori di lavoro”.*

Il datore di lavoro deve, quindi, preoccuparsi non solamente di rispettare le leggi specifiche emanate per la prevenzione dei rischi per la salute degli operatori, ma deve anche ottemperare a tutte le altre misure che in maniera più o meno evidente sono necessarie e devono essere adottate per eliminare o ridurre le conseguenze determinate dal rischio lavorativo specifico, compresa quella di adottare una organizzazione del lavoro implicitamente sicura.

L’organizzazione comprende anche l’uso o l’adozione di misure tecniche e l’utilizzo d’apparecchiature destinate a proteggere da rischi specifici gli operatori impegnati nel lavoro al quale è associato uno specifico rischio.

Le misure di prevenzione e protezione devono sempre essere affiancate da periodiche verifiche che i criteri adottati sono idonei ed efficaci per le finalità prefissate e che siano ancora adeguate ed utili anche nel corso di adozioni di altre iniziative di prevenzione e protezione.

Sempre nel D.Lgs. 81/08 è riscontrabile l’elenco di 21 misure generali di tutela della salute dei lavoratori nei luoghi di lavoro; tra queste è possibile individuarne alcune che si prestano specificatamente per intervenire nelle parti più importanti ed essenziali delle situazioni d’esposizione al rischio biologico:

*“[...]*

*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;*

*[...]*

*e) la riduzione dei rischi alla fonte;*

*f) la sostituzione di ciò che è pericoloso con ciò che non lo è, o è meno pericoloso;*

*g) la limitazione al minimo del numero dei lavoratori che sono, o che possono essere, esposti al rischio;*

*h) l’utilizzo limitato degli agenti chimici, fisici e biologici sui luoghi di lavoro; [...]*”

Tutte le disposizioni sopra elencate mirano alla riduzione del rischio, nel nostro caso quello biologico, ma devono essere calate nelle reali condizioni di lavoro, quindi non sempre sono integralmente applicabili: ci sono attività lavorative nelle quali non è possibile scegliere una qualche limitazione nella presenza o nell’uso di AB, poiché essi fanno parte integrante dell’obiettivo analitico o di ricerca.

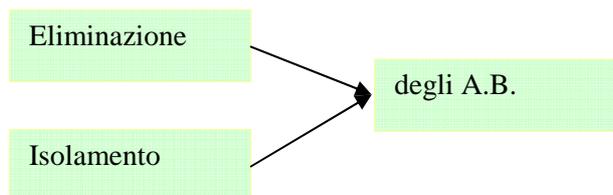
Per le stesse considerazioni sopra scritte non è possibile ridurre gli operatori esposti, poiché il loro numero è spesso in partenza sottodimensionato rispetto alle esigenze di lavoro, oppure gli operatori sono numericamente non riducibili ulteriormente.

Quando l’attività lavorativa o analitica prevede l’uso di specifici agenti è impensabile ipotizzare la loro sostituzione con altri meno pericolosi.

I punti “c” ed “e” se adeguatamente considerati e collocati nella realtà dell’esposizione al rischio biologico costituiscono le indicazioni più idonee e risolutive nella prevenzione di questo rischio, perché la loro azione si concentra sull’esistenza dell’AB e sulle capacità di trasmissione ai soggetti recettivi esposti.

---

Le prescrizioni citate devono essere interpretate come:



Con il termine di “eliminazione” riferito agli AB devono essere incluse diverse decisioni pratiche :

- “soppressione” fisica degli agenti;
- inattivazione degli AB;
- eliminazione dei serbatoi;
- eliminazione delle fonti;
- eliminazione dei materiali contenenti AB;
- rinuncia all’utilizzo di AB.

Alla stessa stregua con l’indicazione “isolamento” si circoscrivono diverse modalità di attuazione della separazione degli AB dal soggetto recettivo:

- isolamento degli AB in contenitori a tenuta;
- adozione di barriere collettive (cappe a flusso laminare);
- adozione di barriere individuali (DPI);
- interruzione delle vie di trasmissione;
- eliminazione dei vettori.

Da una riflessione sulle strategie realizzabili è possibile individuare tre linee di condotta per la prevenzione e protezione dagli AB, capaci di interrompere le diverse modalità di trasmissione degli agenti biologici.

Le tre possibili linee d’azione operative sono:

- Eliminazione degli agenti.
- Interruzione delle vie di trasmissione.
- Adozione di barriere collettive ed individuali.

Il percorso attuativo d’ogni singola azione preventiva e protettiva si articola in diverse possibilità secondo le circostanze ambientali dell’esposizione dagli agenti presenti o trattati.

Eliminare gli AB da un ambiente di lavoro non può che significare la loro completa soppressione, inattivazione, perlomeno di quelli che sono considerati AB pericolosi, oppure l’eliminazione delle sorgenti e dei serbatoi da quali gli AB provengono.

### **10.1. Interventi preventivi e protettivi sulle sorgenti**

Le sorgenti di A.B sono identificate negli individui malati, convalescenti e portatori; esse possono essere costituite sia da persone umane sia da soggetti animali ed entrambi possono essere malati convalescenti o portatori sani, adatti a trasmettere gli AB

- **Soppressione della sorgente.**

Eliminare la sorgente vuol dire eliminare l’individuo umano o animale che alberga e diffonde gli AB.

Una tale modalità certamente è improponibile e in nessuna maniera applicabile qualora la sorgente sia l’individuo umano, diversa è la situazione se la sorgente è un soggetto animale verso il quale si può ipotizzare l’abbattimento, dopo aver fatto le opportune considerazioni in merito ai benefici ed ai danni non solo economici.

In caso di epidemie trasmesse dagli animali ad altri animali da reddito o all’individuo è frequente,, l’adozione dell’abbattimento selettivo (in caso di animali selvatici) o dell’eliminazione di tutti gli animali dell’ allevamento, come si è verificato nei casi di epidemia influenzale, quando è stato soppresso un numero enorme di polli degli allevamenti asiatici.

- **Bonifica della sorgente**

Eliminare la sorgente spesso diventa improponibile anche quando essa è un animale.

Sopprimere un animale selvatico non solo potrebbe essere difficile per le difficoltà oggettive di cattura in ambiente selvatico, ma anche per l'esistenza di specie protette e/o rare.

Per gli animali da reddito o da competizione in molte circostanze alla soppressione si opporrebbero motivi economici.

La scelta di bonificare le sorgenti, quindi, è l'unica soluzione possibile.

Le procedure di bonifica devono essere indirizzate a nuocere agli AB senza ledere l'integrità o danneggiare il soggetto vivente, o perlomeno il danno deve essere sufficientemente limitato e possibilmente transitorio.

La procedura di bonifica si avvale di farmaci che mostrano attività verso gli AB.

**Tab. 10.1** *Classificazione farmaci per la bonifica*

| Farmaco        | Agenti bersaglio e malattie  | Commenti   |
|----------------|--|--|
| Antibiotici    | Malattie sostenute dai batteri (Salmonellosi, Tubercolosi, malattia di Lime, ecc.)   | Disponibile un numero relativamente numeroso di farmaci che mostrano attività antibatterica; vi sono però ceppi che presentano resistenze a numerosi antibiotici. Oggi, per cause diverse ed in particolare per l'uso sconsiderato di questi farmaci, esiste un allerta mondiale sull'aumento di questi ceppi. |
| Antimicotici   | Malattie sostenute da miceti: micosi superficiali e interne (candidosi, tigna, ecc.) | Non sono molto numerosi i farmaci disponibili, ma tutti mostrano attività soprattutto verso le micosi superficiali, mentre meno efficace è la terapia verso le micosi sistemiche o d'organo singolo, anche perché spesso associate ad altre patologie deprimenti il sistema immunologico.                      |
| Antivirali     | Malattie sostenute da virus (herpes, influenza, HIV, epatite A, ecc.)                | Sono pochi i farmaci disponibili, spesso molto tossici se usati nelle forme sistemiche. Generalmente le forme virali sono autolimitanti con eccezione di talune che portano al decesso una percentuale rilevante dei colpiti.  |
| Antielmintici  | Infestazioni da vermi parassiti (teniasi, infestazione da ossiuri, ecc.)             | Pochi farmaci disponibili e generalmente efficaci.   |
| Antiprotozoari | Infezioni sostenute da protozoi (Amebiasi, Malaria, Toxoplasmosi, Giardiasi ecc.)    | Pochi farmaci disponibili e generalmente efficaci.   |

- **Isolamento della sorgente**

Questa soluzione è stata da sempre utilizzata durante le grandi epidemie verso le quali l'essere umano non solo non possedeva gli strumenti per combattere, ma neppure aveva le conoscenze scientifiche per comprendere la causa e l'origine. L'unica certezza era che gli individui sani si ammalavano quando avvicinavano un malato oppure i suoi oggetti.

Queste osservazioni, ovviamente, facevano trarre le conclusioni che il malato doveva essere allontanato e segregato in ambienti dove vivevano solo i malati.

Solo in caso di guarigione gli individui isolati potevano uscire.

In tempi più recenti l'isolamento dei malati è stato praticato per i casi di tubercolosi, con segregazione della durata di anni nelle dimore-ospedale, dette sanatori antitubercolari.

Oggi l'isolamento si pratica in maniera meno rilevante, ed è utilizzato solo per le malattie che effettivamente possono essere facilmente trasmesse ai soggetti sani o che possono coinvolgere grandi masse di individui e provocare quindi le cosiddette pandemie.

Particolare attenzione è posta all'isolamento di chi proviene da luoghi in cui è in corso un'epidemia infettiva sostenuta da un AB facilmente trasmissibile e potenzialmente capace di provocare danni gravi alla popolazione: lesioni permanenti o elevata mortalità.

L'isolamento degli individui infetti, oggi, è effettuato in settori di ospedali ad alta specializzazione per le malattie infettive, attrezzati con idonee tecnologie.

- **Immunizzazione dei soggetti recettivi, potenziali sorgenti**

---

La maniera per scongiurare la trasformazione di un soggetto sano recettivo agli AB in un serbatoio è quella di dotarlo di anticorpi specifici atti ad eliminare i corrispondenti antigeni .

Si possono adottare due modalità:

- **La somministrazione di vaccini**

La somministrazione di vaccini è una pratica definita di immunizzazione attiva: l'antigene specifico somministrato al soggetto stimola la produzione di anticorpi specifici capaci di neutralizzare quell'antigene in caso di una futura penetrazione nell'organismo ospite.

Sulle reazioni immunologiche stimulate dagli antigeni in un organismo si rimanda al capitolo 3.

- **La somministrazione di anticorpi preformati**

Si può perseguire l'immunizzazione dei soggetti a rischio anche inoculando loro anticorpi preformati (immunizzazione passiva) prelevati da soggetti immunizzati in precedenza. Gli organismi utilizzati per la produzione di anticorpi generalmente sono animali vertebrati, in modo particolare se si somministrano antigeni tossici come le tossine batteriche.

In altre circostanze gli anticorpi preformati possono essere estratti dal sangue di soggetti umani guariti da una malattia provocata da agenti batterici, virali ecc.

Il trattamento di immunizzazione passiva, in genere, si pratica in seguito ad un'esposizione certa o potenziale ad AB responsabili di provocare seri danni alla salute dell'esposto (un esempio è la somministrazione di anticorpi - gamma globuline - contro il tetano a seguito di una ferita).

## 10.2. Interventi preventivi e protettivi sui serbatoi

I serbatoi di AB sono costituiti da acqua, alimenti ed animali che albergano gli agenti; spesso gli animali infetti non manifestando segni di malattia.

L'acqua e gli alimenti diventano serbatoi in seguito alla contaminazione che subiscono a causa dell'immissione volontaria o involontaria di materiali infetti o prodotti biologici provenienti da soggetti malati.

Altre volte l'inquinamento proviene dall'aria sotto forma di batteri o funghi che negli alimenti trovano il substrato idoneo alla loro moltiplicazione ed alla produzione di tossine.

Gli agenti batterici si moltiplicano attivamente raggiungendo il numero sufficiente per costituire la "dose infettante" per chi in seguito inghiottirà il cibo o le tossine prodotte, producendo gli effetti patologici. Sin dal momento in cui l'essere umano riuscì a comprendere che la causa delle malattie infettive risiede negli AB l'obiettivo perseguito nei secoli è stato quello di neutralizzarli, sopprimerli e rimuoverli da tutti quei siti in cui ci possono essere individui esposti al rischio biologico.

Nel corso del tempo molti sono stati i tentativi per escogitare metodi, sistemi e prodotti capaci di intervenire nell'ambiente per sopprimere, neutralizzare o ridurre gli effetti degli AB sugli esseri viventi.

I metodi fino ad oggi conosciuti possono essere raggruppati in 3 categorie principali:

- **Mezzi fisici**
- **Mezzi chimici**
- **Mezzi chimico - fisici**

Per ciascun metodo è possibile distinguere differenti modalità di applicazione; prima di passare ad analizzare le singole modalità applicative necessarie per la neutralizzazione degli AB, è doveroso premettere alcune considerazioni più specifiche sui limiti fisiologici o biologici degli AB proprio in relazione ai mezzi utilizzati per la loro distruzione.

Gli AB in generale possiedono caratteristiche fisiche e chimiche acquisite nel corso dell'evoluzione sotto la pressione degli eventi ambientali ai quali si sono adattati grazie alla semplicità e plasticità del loro corredo genetico. Tale facilità di adattamento ha permesso loro di mutare il metabolismo e le strutture in maniera compatibile con le condizioni presenti nell'ambiente.

La microbiologia ambientale ha evidenziato, infatti, l'esistenza di microrganismi vitali ed in attività riproduttiva in luoghi nei quali esistono condizioni estreme di temperatura: alcuni possono sopravvivere al congelamento altri vivere e moltiplicarsi nelle acque termali a +80°C.

Questa condizione sorprende alquanto in considerazione del fatto che le proteine enzimatiche di norma subiscono una degenerazione già alla temperatura di 45°C.

Un esempio è quello dei batteri cosiddetti sporigeni, capaci di generare una "corteccia" spessa attorno al DNA immerso in un ridotto volume di citoplasma: nel momento in cui l'ambiente diventa ostile per la sopravvivenza si forma una struttura detta spora.

La spora permette al microrganismo di condurre una vita latente per lungo tempo in attesa di condizioni ambientali favorevoli, resistendo alle condizioni avverse.

La ridotta concentrazione d'acqua nella spora la rende particolarmente resistente al calore tanto che la bollitura (100°C) di un materiale contaminato anche per molto tempo, non è sufficiente a danneggiare la vitalità del microrganismo sporigeno e non può essere considerata una procedura di sterilizzazione. Per ottenere gli effetti biocidi la temperatura deve raggiungere i 121°C con un'esposizione di almeno 15 minuti.

Altri agenti pur non possedendo particolari strutture accessorie o capacità di elaborarle in seguito ad insulti ambientali, hanno ugualmente la capacità di resistere alle alte temperature ed alle variazioni rilevanti del pH. Appartengono a questa categoria i cosiddetti Prioni, agenti con struttura proteica con dimensioni più ridotte di quelle di un virus, ma con una resistenza elevata agli agenti inattivanti. Sono sensibili al calore umido se esposti per un'ora a 132°C, all'idrossido di sodio ed all'ipoclorito ad alte concentrazioni.

La vita alle alte temperature è una specificità che interessa un ristretto numero di microrganismi, mentre più diffusa fra gli AB è la resistenza e la sopravvivenza alle basse temperature ed al congelamento. Infatti la maggior parte delle spore e di alcune cellule vegetative sopravvive virtualmente indenne alle basse temperature.

Altri AB, invece, mostrano un'elevata sensibilità alle variazioni fisiche e chimiche dell'ambiente, anche minime, sufficienti per provocare l'inattivazione di una o più proprietà biologiche o addirittura la morte. Ricordiamo per esempio:

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| <i>Neisseria meningitidis</i> | Sono microrganismi che si autolisano se esposti a pochi gradi inferiori a 37°C. |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i>  |   |
| <i>Salmonelle</i>             | Sono inattivate dall'esposizione a 45°C, ma sopravvivono al congelamento.       |
| <i>Vibrio colera</i>          | È inibito da un pH anche modestamente acido.                                    |

### 10.2.1. Mezzi fisici

Per mezzi fisici intendiamo tutte le fonti energetiche che possono inattivare o danneggiare la struttura di uno o più AB. Le fonti energetiche che sono utilizzate nel trattamento dei serbatoi o parte di loro con lo scopo di eliminare o rendere inefficaci gli AB sono:

|                                    |                       |
|------------------------------------|-----------------------|
| Calore Secco                       | Filtrazione meccanica |
| Calore Umido                       | Radiazioni Ionizzanti |
| Pastorizzazione / Trattamento UTST | Radiazioni UV         |
| Trattamento UHT                    | Microonde             |
| Incenerimento                      |                       |
| Tindalizzazione                    |                       |

#### • Calore

Il calore è stato il primo mezzo utilizzato per rendere inefficaci e neutralizzare gli AB presenti in un mezzo o su una superficie. L'azione biocida del calore è quella di provocare:

- ossidazione dei costituenti cellulari
- denaturazione irreversibile per idrolisi: delle proteine e degli enzimi e/o degli acidi nucleici (DNA e RNA).

Il calore è considerato il mezzo più sicuro, rapido ed economico per qualsiasi materiale che non sia termolabile; a parità di effetto il tempo di esposizione diminuisce all'aumentare della temperatura.

La sensibilità di un AB verso il calore dipende in maniera diretta dalla quantità di acqua che contiene nelle sue strutture o che è presente nel serbatoio.

L'effetto biocida del calore è favorito dalla presenza d'acqua nel mezzo in cui sono presenti gli AB o dalla presenza d'acqua nelle strutture biologiche degli stessi. L'energia calorica, oltre a poter essere utilizzata a diversi livelli di temperatura e per tempi diversi, può essere applicata sotto due differenti forme fisiche con effetti biocidi differenti: calore secco e calore umido.

#### ○ Il calore secco

Per calore secco si intende l'irraggiamento di un determinato substrato su cui si trasferisce l'energia calorica tramite i movimenti d'aria riscaldata presente nell'ambiente.

Quando si usa il calore secco, di norma, il substrato non è ricco d'acqua e quindi l'umidità è ridotta al minimo.

L'effetto biocida del calore secco è l'ossidazione del materiale esposto all'irraggiamento.

Il più frequente uso del calore secco è fatto mediante il riscaldamento in stufe ed il materiale è riscaldato per convezione o irraggiamento dalle pareti dell'apparecchio di riscaldamento.

La seguente tabella illustra la variazione del tempo d'esposizione al variare della temperatura, per ottenere l'effetto biocida.

| Effetto biocida con calore secco |                  |
|----------------------------------|------------------|
| Tempo (minuti)                   | Temperatura (°C) |
| 30'                              | 180°C            |
| 50'                              | 170°C            |
| 120'                             | 160°C            |
| 150'                             | 150°C            |

Con le temperature ed i tempi previsti si possono ottenere gli effetti di una completa distruzione degli AB, realizzando le condizioni di sterilità.

○ *Il calore umido*

Il trattamento con calore umido si ottiene ogni qual volta si fa evaporare un liquido attraverso il riscaldamento; la temperatura del liquido o del vapore ottenuto danneggia la struttura degli AB, i quali perdono la vitalità o altre funzioni necessarie alla trasmissione dell'infezione o dell'infestazione.

Di solito il liquido portato ad ebollizione è l'acqua: la bollitura è il più semplice metodo di inattivazione degli AB infettivi ed infestanti, che devono essere immersi nell'acqua bollente per almeno per 20 minuti.

Il calore umido del liquido in ebollizione trasmette molto più efficacemente il calore agli AB rispetto a quello secco.

Utilizzando il vapore acqueo si possono raggiungere temperature superiori a 100°C operando in particolari situazioni che impediscano al vapore di disperdersi, in un contenitore sigillato a tenuta di vapore e di calore (autoclave); in questo modo è possibile esporre gli agenti a temperature capaci d'inattivare strutture resistenti alla bollitura come le spore batteriche.

Nelle autoclavi per la normale sterilizzazione si opera con la temperatura di 121°C ad 1 atmosfera di pressione per 15 minuti.

A pressioni superiori si ottengono temperature superiori: quindi la scelta di un giusto ciclo di sterilizzazione prevede un corretto rapporto tempo/temperatura adatto al volume ed al grado di contaminazione del materiale da sterilizzare.

L'azione del vapore può essere così riassunta:

- il vapore a contatto con oggetti più freddi si condensa su loro cedendo il suo calore latente e li riscalda;
- la condensazione del vapore provoca un'elevata diminuzione del volume e causa una pressione negativa che richiama altro vapore;
- la condensazione prosegue finché sussiste una differenza di temperatura fra vapore ed oggetti posti a contatto del vapore;
- il vapore riesce a penetrare nella cellula (eucariota o procariota) per osmosi attraverso la membrana citoplasmatica che è semipermeabile; la penetrazione opera un rigonfiamento cellulare che porta alla lisi oltre alla denaturazione delle proteine.

L'autoclave è largamente utilizzata nei laboratori delle Agenzie e per la sterilizzazione dei rifiuti infetti e per la sterilizzazione della vetreria.

○ *Pastorizzazione* viene anche chiamata con l'acronimo HTST (*High Temperature/Short Time*):

La pastorizzazione utilizza il calore quando si deve ottenere:

- Considerevole riduzione degli AB
- Conservazione del substrato in cui sono presenti gli AB

Per queste particolari circostanze, che si presentano ad esempio nei trattamenti delle sostanze alimentari, si usano tecniche di applicazione del calore relativamente elevato su piccoli volumi e per tempi molto limitati.

Utilizzando specifiche apparecchiature si somministra il calore al materiale da decontaminare; al riscaldamento segue un rapido raffreddamento. In questa maniera non si alterano le caratteristiche organolettiche dell'alimento trattato.

Le temperature utilizzate sono: 60 - 65°C per 30 minuti o 75 - 85°C per 10 - 15 secondi. In taluni casi per l'eliminazione di microrganismi come Enterobatteri e Micobatteri si innalzano le temperature fino a 87 - 110 °C.

○ *Tindalizzazione*

Questo è un altro metodo che utilizza il calore per eliminare gli AB da un substrato.

Questa particolare forma di trattamento termico, pensato dal fisico britannico John Tyndall, è un metodo di riscaldamento frazionato che consiste nell'aumentare la temperatura del materiale da bonificare a 60 – 80°C per un'ora; dopo il riscaldamento, il materiale è incubato a 30 - 35°C per 24 ore, questo ciclo è ripetuto per 3 - 5 volte. Questo procedimento basa sul principio che:

- a) gli AB sono sensibili e inattivabili alle temperature utilizzate.
- b) l'incubazione successiva produce la trasformazione delle spore nelle forme vegetative, che vengono inattivate dal successivo ciclo.

Il metodo si applica per substrati sensibili al calore e che si ritengono contenenti una bassa carica microbica.

○ *Trattamento UHT*

Il trattamento UHT acronimo di *Ultra High Temperature* impiega temperature di 140 – 145 °C applicate al materiale da bonificare per pochi secondi.

○ *Incenerimento*

L'uso delle fiamme libere o intense fonti di calore fa parte della strategia che prevede l'uso dell'energia calorica. L'incenerimento è il mezzo più efficace per distruggere i serbatoi; spesso ci si avvale di questa tecnica per la distruzione dei prodotti infetti durante le epidemie. L'incenerimento non permette il riciclaggio del materiale o del substrato e si esegue con una temperatura compresa fra i 900°C ed i 1300°C. Ad esempio è pratica diffusa nei laboratori di microbiologia utilizzare il becco bunsen.

Per ottenere la bonifica senza distruggere o rovinare il materiale è possibile utilizzare ancora il calore, ma in condizioni diverse nelle quali la temperatura non è così elevata da provocare l'incenerimento.

L'uso del calore a temperature più basse ma efficaci deriva dalla conoscenza acquisita della fisiologia degli AB e dei limiti fisiologici che essi hanno rispetto ad agenti fisici e chimici. In generale si considera che:

|  |
|--|
| I batteri in fase vegetativa non sopravvivono se esposti per 10 minuti alla temperatura di 80°C generata da una fonte di calore secco oppure per 15 minuti alla temperatura di 75°C generata da una fonte di calore umido; |
| Le spore batteriche resistono a temperature pari a 110 – 120°C ed il tempo della loro morte varia secondo la saturazione in vapore acqueo dell'ambiente in cui sono esposte;   |
| Protozoi e miceti si comportano come batteri allo stato vegetativo;  |
| I virus sono molto sensibili al calore.  |

● **Filtrazione meccanica**

Filtrare il substrato trattenendo gli AB nel o sul filtro è un altro modo di bonificare i serbatoi dagli AB

È intuitivo che questo procedimento si applica solamente ai substrati liquidi. I metodi di filtrazione possono essere diversi come differente è la natura dei filtri utilizzati. La scelta del filtro da utilizzare è condizionata principalmente da due elementi: il volume da sottoporre a filtrazione e gli AB da filtrare.

I filtri che possono essere utilizzati sono:

|   |
|---|
| <i>Ghiaie o sabbie (diversa pezzatura, monostrato, pluristrato):</i> i liquidi sono fatti scorrere attraverso gli strati di ghiaia e di sabbia sempre più fine e sono bonificati dagli AB in essi contenuti.  |
| <i>Membrane porose di materiali diversi con porosità di diametro opportuno:</i> le membrane dei filtri sono delle sottili pellicole aventi una porosità standard; frequentemente sono usate quelle da 0,22 µm e quelle da 0,45 µm. I materiali costitutivi delle membrane possono essere esteri della cellulosa (acetato di cellulosa), Nylon, Teflon, Polisolfoni. |
| <i>Filtri in porcellana:</i> i filtri in porcellana sono stati usati già anticamente nei laboratori di microbiologia, ma ancora oggi trovano applicazione in campi diversi per lo stesso scopo.   |

I filtri sopra elencati agiscono sotto l'effetto di una pressione che spinge o aspira il liquido attraverso il filtro. Una criticità di questi filtri è l'inefficacia nel filtrare AB di dimensioni molto ridotte come i virus.

*Filtri HEPA (High Efficiency Particulate Air) e ULPA (Ultra Low Particulate Air):* sono detti "filtri assoluti" poichè sono in grado di trattenere rispettivamente il 99.9997 % di particelle di 0,3 µm ed il 99.99996 % di particelle di 0.12 µm.

L'efficienza di questi filtri è ottenuta da fogli di microfibra di vetro (frequentemente borosilicato) idrorepellenti, ripiegati per aumentare la superficie filtrante, disposti in più strati e separati da setti in alluminio.

Questi particolari filtri sono associati ad attrezzature specifiche destinate alla filtrazione dell'aria, meno frequentemente di liquidi.

La filtrazione con questi mezzi è conseguita attraverso una combinazione di 3 effetti fisici.

- 1) *impatto inerziale*: le particelle si scontrano direttamente con la fibra di vetro; tale effetto è maggiore per le particelle che viaggiano ad alta velocità ed hanno un diametro superiore ad 1 µm.
- 2) *attrazione e ritenzione elettrostatica*: le particelle caricate elettricamente sono trattenute dalle fibre per un effetto elettrostatico; in questo caso le particelle coinvolte sono quelle di diametro compreso fra 0,5 - 1 µm.
- 3) *ritenzione diffusiva*: questa ritenzione fa riferimento a uno dei moti a bassa velocità a cui sono soggette le particelle sospese in atmosfera calma: l'effetto gravitazionale (in particolare per le particelle di diametro > 0,5 µm) oppure l'effetto diffusivo (che caratterizza le particelle di diametro < di 0,5 µm).

- **Radiazioni**

Il trasporto di energia nello spazio fisico è genericamente identificato dal termine *radiazione*.

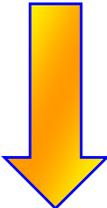
La denominazione indica un insieme di fenomeni fisici molto diversi, per energia ed effetti, ma tutti hanno in comune la proprietà di cedere energia alla materia con cui vengono in contatto.

Tutte le radiazioni sono composte di particelle che possiedono un'energia cinetica che è ceduta alla materia nel momento del contatto fisico sotto forma di calore, luce, ecc.

Le radiazioni sono caratterizzate dai due parametri fisici che definiscono un'onda: la frequenza e la lunghezza d'onda

Esistono molti tipi di radiazioni che hanno diverse frequenze, lunghezza d'onda e possiedono un livello differente di energia.

Nello schema successivo sono riportate le principali tipologie di radiazioni e le rispettive caratteristiche fisiche.

| Aumento della frequenza  | Aumento della energia  | Tipo radiazione             | di | Aumento della lunghezza d'onda  | Lunghezza d'onda compresa tra |
|--|--|-----------------------------|----|---|-------------------------------|
|  |  | Onde elettriche             |    |  | $10^6 - 10^4$ m               |
|  |  | Onde radio                  |    |   | $10^4 - 10^{-2}$ m            |
|  |  | Microonde                   |    |   | $10 - 10^{-3}$ m              |
|  |  | Raggi Infrarossi            |    |   | $10^{-4} - 10^{-6}$ cm        |
|  |  | Luce visibile               |    |   | 760 – 380 nm                  |
|  |  | Raggi Ultravioletti         |    |   | 380 nm - $10^{-10}$ m         |
|  |  | Raggi X                     |    |   | $10^{-8} - 10^{-10}$ m        |
|  |  | Raggi gamma e raggi cosmici |    |   | $< 10^{-10}$ m                |

Fra queste radiazioni alcune posseggono caratteristiche che possono inattivare e distruggere gli AB. Per la bonifica dei serbatoi prendiamo in considerazione tre tipi di radiazioni: radiazioni Ultra Violette (UV), radiazioni Ionizzanti e Microonde.

- **Radiazioni Ultra Violette (UV)**

La radiazione ultravioletta rappresenta una parte dello spettro elettromagnetico della luce proveniente dal sole (tra le radiazioni non visibili dall'occhio umano). La radiazione UV ha una lunghezza d'onda compresa tra i 380 nm e  $10^{-10}$  m, e è suddivisa in **UVA** (tra i 400 ed i 315 nm) **UVB** (tra i 315 ed i 280 nm) e **UVC** (tra i 280 ed i 100 nm), con differenti effetti sulle cellule.

Le radiazioni UV prodotte artificialmente con lampade fluorescenti in particolari ambiti di lunghezza d'onda sono lesive sia per i batteri sia per i virus a causa del danneggiando dei legami chimici, soprattutto di quelli della molecola di DNA.

Le UV hanno un bassissimo potere di penetrazione e non passano attraverso vetro, plastica o soluzioni dense, sono inoltre deviate dal pulviscolo presente nell'aria: questo limita il loro uso alla sola sanitizzazione dell'aria e all'abbattimento della carica microbica dell'acqua. Nell'aria agiscono insieme all'ozono che si forma alla presenza dell'ossigeno atmosferico.

- **Radiazioni Ionizzanti**

La dizione radiazioni ionizzanti comprende l'insieme di più radiazioni ad alta energia e bassa lunghezza d'onda in grado di ionizzare gli atomi o le molecole della materia con la quale giungono in contatto. Convenzionalmente si considerano radiazioni ionizzanti quelle che hanno una frequenza superiore a  $3 \times 10^{15}$  Hertz.

Una radiazione ionizzante deriva sempre da un materiale che presenta un'instabilità atomica e/o nucleare.

L'instabilità porta al decadimento della materia che si trasforma con emissione di radiazioni denominate radiazioni alfa ( $\alpha$ ), radiazioni beta ( $\beta$ ), radiazione gamma ( $\gamma$ ).

---

Questo decadimento della materia è detto *decadimento radioattivo* ed è posseduto dalle sostanze o elementi radioattivi.

L'intensità d'energia di cui è dotata una radiazione è direttamente proporzionale alla sua capacità di penetrazione dentro la materia, e di conseguenza alla capacità di provocare una ionizzazione degli atomi o delle molecole impattate dalla radiazione.

Le radiazioni principalmente possono essere distinte fra due categorie a seconda della modalità di ionizzazione: ionizzazione diretta (radiazioni  $\alpha$  (alfa) e radiazioni  $\beta$  (beta)) o ionizzazione indiretta (neutroni, raggi  $\gamma$ , raggi X).

Inoltre le radiazioni possono essere distinte in: corpuscolate (radiazioni  $\alpha$  (alfa), radiazioni  $\beta$  (beta), neutroni e protoni) o elettromagnetiche (raggi  $\gamma$ , raggi X).

Tra quelle che ionizzano direttamente la materia le radiazioni  $\alpha$  (alfa) sono quelle meno penetranti, quelle più penetranti sono le  $\gamma$ . Una dose di 2,5 megarad corrisponde ad una sterilizzazione in vapore saturo a 121° C per due ore o in una stufa a secco a 160° C per due Le radiazioni  $\gamma$  e  $\beta$  sono le più utilizzate per bonificare un serbatoio. Le radiazioni provocano danni diretti agli agenti biologici mediante due tipi di effetti:

*Effetto diretto*: è l'azione diretta sulle molecole sensibili, con denaturazione delle proteine e rottura dei filamenti degli acidi nucleici.

*Effetto indiretto*: è l'effetto derivante dai radicali prodotti dalla ionizzazione dell'acqua cellulare (radiolisi). La radiolisi può portare alla formazione di radicali fortemente ossidativi come il *radicale ossidrilico*.

Questi possono interagire fra loro e formare un altro forte ossidante il *perossido di idrogeno* o acqua ossigenata.

L'uso di radiazioni ionizzanti ha un limite nel fatto che esse sono dannose anche per gli altri soggetti viventi, che quindi non devono essere esposti durante la bonifica. I materiali esposti alle radiazioni  $\gamma$  e  $\beta$  non diventano radioattivi dopo le bonifiche.

#### o **Microonde**

Questo tipo di radiazione ha una lunghezza d'onda compresa fra la radiofrequenza e la radiazione infrarossa. L'azione prodotta dalle microonde quando attraversano un materiale è quella di mettere in oscillazione le molecole, in particolare quelle dell'acqua, generando il calore che esplica l'azione biocida.

Le microonde insieme all'"*effetto termico*", provocano nella materia esposta anche un "*effetto non termico*": l'energia trasportata dalle onde elettromagnetiche è trasferita alla materia impattata; le molecole biologiche presenti (aminoacidi) sono alterate dall'energia con ripercussioni sul metabolismo.

Inoltre l'energia interviene nella modificazione dei segnali elettrici all'interno delle cellule, con alterazione della sintesi degli acidi nucleici e conseguenti anomalie cromosomiche.

### **10.2.2. Mezzi chimici**

Le sostanze chimiche agiscono sui microrganismi con meccanismi diversi e con efficacia variabile dipendente dal tipo d'agente, dal substrato e dalla presenza d'altre sostanze chimiche inorganiche o biologiche.

Per questi motivi si cercano molecole sempre più efficaci, capaci di mantenere la loro efficacia per uno spettro di AB più ampio possibile.

La ricerca continua di nuovi prodotti è dettata dalla necessità di sopperire alle mutazioni genetiche degli agenti che riescono a superare il trattamento chimico generando strutture o modificando il metabolismo per resistere all'aggressione chimica.

Alcuni prodotti sono sicuramente attivi su tutti gli agenti sia in forma vegetativa sia in quella latente. Normalmente si tratta di sostanze chimiche molto tossiche, di difficile manipolazione e pericolose anche per l'ambiente, poiché, assieme agli AB distruggono o danneggiano seriamente il substrato.

Altri presidi chimici hanno la capacità di agire prevalentemente sugli AB lasciando inalterato o quasi il substrato.

Questa ultima categoria di prodotti è raggruppata sotto la denominazione di disinfettanti se la loro azione è diretta contro agenti infettivi (batteri, virus, miceti), o disinfestanti quando il processo di bonifica è indirizzato verso parassiti.

#### • **Meccanismi d'azione dei prodotti chimici**

Le attività dei prodotti chimici e i loro meccanismi d'azione sono condizionati da più fattori dipendenti dalle situazioni contingenti che possono influire, positivamente o negativamente, sull'attività del prodotto utilizzato.

Principalmente l'azione chimica sugli AB è soggetta a tre fattori:

|   |   |
|---|---|
| 1. Fattori dipendenti dalla molecola utilizzata                 | Concentrazione del prodotto usato                                     |
|   | Stabilità della molecola del prodotto utilizzato                      |
|   | Tempo di contatto del prodotto con gli A.B                            |
| 2. Fattori dipendenti dall'ambiente o dal substrato da trattare | Temperatura ambientale o del substrato                                |
|   | pH del substrato  |
|   | Caratteristiche chimiche e fisiche del substrato                      |
|   | Tipo di contatto tra il prodotto chimico ed il serbatoio              |
| 3. Fattori dipendenti dalla popolazione di AB da inattivare     | Caratteristiche delle singole specie di AB da inattivare              |
|   | Carica microbica degli AB presenti nel serbatoio                      |
|   | Resistenza naturale o acquisita dagli AB verso le molecole utilizzate |

Nella trattazione dei meccanismi d'azione non sono comprese quelli che agiscono in maniera distruttiva su tutto il complesso del serbatoio.

Per queste azioni energiche sui serbatoi sono utilizzate soluzioni concentrate di acidi e basi "forti" che determinano la rapida distruzione degli AB. Le stesse sostanze opportunamente diluite hanno un'attività ancora efficace contro gli AB, senza danneggiare o distruggere il substrato.

- **Classificazione dei disinfettanti e delle azioni esercitate**

I prodotti utilizzati per l'azione di bonifica dei serbatoi possono essere classificati in due gruppi:

|                               |                           |
|-------------------------------|---------------------------|
| Sostanze di natura inorganica | • Acidi                   |
|                               | • Basi                    |
|                               | • Sali di metalli pesanti |
|                               | • Ossidanti               |
|                               | • Alogeni                 |
| Sostanze da natura organica   | • Alcoli                  |
|                               | • Aldeidi                 |
|                               | • Derivati dal fenolo     |
|                               | • Composti tensioattivi   |
|                               | • Essenze                 |

I meccanismi d'azione di questi prodotti possono essere raggruppati in tipologie:

|  |   |
|--|---|
| <b>denaturazione delle proteine</b>      | attraverso la combinazione con i gruppi SH della sostanza chimica (metalli pesanti come l'argento ed il mercurio)   |
|  | la alchilazione di diversi gruppi radicali presenti nelle proteine (l'alchilazione è prodotta dalle aldeidi e dall'ossido di etilene)                             |
|  | altri meccanismi (alcol, fenoli, acidi, basi)   |
| <b>ossidazione dei gruppi SH</b>         | l'ossidazione è compiuta dai perossidi (acqua ossigenata), dai permanganati (permanganato di potassio), dagli ipocloriti (ipoclorito di Na) e dai composti iodati |
| <b>attività sulle membrane cellulari</b> | solubilizzante (azione condotte dagli alcoli)   |
|  | tramite tensioattivi, -detergenti e composti dell'ammonio quaternario-  |
|  | altri meccanismi (clorexidina)  |

- **Classificazione dei disinfestanti e delle azioni esercitate**

La disinfestazione è una metodica che si applica solo per l'abbattimento dei parassiti presenti nei diversi ambienti che costituiscono i serbatoi.

La disinfestazione può essere integrale, vale a dire rivolta contro ogni parassita presente in un ambiente e può coinvolgere nell'azione letale anche i non parassiti, oppure selettiva, quando l'intento è quello di annientare solo uno specifico parassita presente nel serbatoio.

|                         |  |
|-------------------------|--|
| Disinfestanti integrali | Anidride solforosa   |
|                         | Acido cianidrico   |
|                         | Cloropicrina   |
|                         | Bromuro di metile  |
| Insetticidi             | Piretrine naturali e di sintesi: sono estratte da fiori del genere <i>Crysanthemum</i> , il loro meccanismo d'azione è determinato dalla modificazione del potenziale d'azione della membrana citoplasmatica delle cellule nervose. Questo effetto si ha solamente nelle cellule degli insetti e non nelle cellule degli animali superiori.  |
|                         | Composti organici clorurati: sono molecole stabili difficilmente degradabili quindi la loro azione e la loro presenza è persistente nell'ambiente. Sono composti generalmente liposolubili che possono quindi essere assorbiti sia per via orale sia per cutanea. Negli insetti, assorbiti dalle strutture chitinee dell'animale, raggiungono il sistema nervoso provocando la morte per paralisi motoria. |
|                         | Composti organici fosforati: sono composti liposolubili assorbibili sia per via orale sia cutanea; sono relativamente di facile degradabilità soprattutto in ambiente basico. La loro azione è quella di inibire la <i>colinesterasi</i> , alterando quindi il corretto comportamento della trasmissione neuromuscolare.   |
|                         | Carbammati: derivano dall'acido carbammico, per sostituzione con radicali metilici di tre atomi di H. Anche questi composti agiscono sulla trasmissione neuromuscolare (colinergica). In particolare i carbammati interferiscono e competono a livello dei recettori postsinaptici con il mediatore acetilcolina.  |
| Rodenticidi             | <i>con effetto acuto</i> : (Fosforo di zinco, Ossido arsenioso, Solfato di stricnina, Fluoroacetato di sodio, Solfato di tallio). Sono sostanze molto tossiche anche per i vertebrati superiori.   |
|                         | <i>ad azione cumulativa</i> : derivati cumarinici (warfarin, cumarolo, cumaforil). Sono prodotti chimici che interferiscono con la coagulazione del sangue, inibiscono la produzione di <i>protrombina</i> nel fegato. L'effetto letale si ottiene con successive dosi che hanno un effetto di accumulo, portando facilmente all'emorragia interna.  |

Queste sostanze chimiche sono somministrate sotto forma di gas, agiscono sia sugli insetti sia sui micro mammiferi ed hanno un'azione molto tossica anche sui grossi mammiferi, compreso l'essere umano.

### 10.2.3. Mezzi fisico-chimici

Tra i metodi di eliminazione degli AB possiamo trovare delle tecniche ibride che applicano più di un sistema contemporaneamente sul serbatoio. Uno di questi mezzi ibridi è il cosiddetto metodo del gas plasma.

- o **Gas Plasma**: è uno dei mezzi tecnici più avanzati per la totale bonifica dei serbatoi e permette la sua applicazione su tutti i substrati. Si avvale dell'uso del perossido d'idrogeno (acqua ossigenata) allo stato di gas, immerso in un intenso campo magnetico. Il gas del perossido è trasformato dal campo magnetico in plasma, cioè in un gas ionizzato, costituito da un'insieme di elettroni e ioni. La sottrazione di elettroni genera radicali liberi, molto reattivi, che possiedono un'alta capacità lesiva sulle membrane cellulari pur agendo a temperature relativamente basse (40 - 45°C).

## 10.3. Interventi preventivi e protettivi nei confronti dei vettori

Nel caso di patologie trasmesse attraverso vettori l'interruzione delle vie di trasmissione rappresenta una strategia efficace nella prevenzione della salute per gli operatori esposti al rischio biologico. Definiti i vettori verso i quali dirigere il nostro interesse, verifichiamo quali sono le vie percorribili ed efficaci per interrompere la trasmissione degli AB

### 10.3.1. Vettori animati

I vettori animati sono esseri viventi generalmente dotati di organi atti a ferire o pungere, che attaccano l'uomo a scopo alimentare, riproduttivo o difesa. L'animale pungendo l'uomo inocula gli A. B assieme ai liquidi biologici (la saliva). Talvolta un animale può fungere da vettore anche in maniera passiva: il corpo imbrattato trasferisce gli AB senza bisogno di punture o ferite.

Ricordiamo che esistono vettori "obbligati" ovvero per i quali esiste un legame molto stretto fra agente biologico e specie vettore; in altri casi il vettore è "facoltativo" ovvero la trasmissione di un agente non è necessariamente legata ad una determinata specie animale. Nella Tabella 10.2 sono sinteticamente elencati alcuni animali vettori.

**Tabella 10.2** *Vettori di AB*

| Classe zoologica | Genere                       |
|------------------|------------------------------|
| Insetti          | Culex (zanzara)              |
|                  | Anopheles (zanzara)          |
|                  | Aedes (zanzara)              |
|                  | Musca (mosca domestica)      |
|                  | Sarcophaga (mosca)           |
|                  | Lucilla (mosca)              |
|                  | Pulex (pulce uomo)           |
|                  | Xenopsilla (pulce ratto)     |
|                  | Ctenocephalides (pulce cane) |
|                  | Pthirus (pidocchio umano)    |
|                  | Pediculus (pidocchio umano)  |
| Aracnidi         | Ixodes (zecca)               |
|                  | Dermatocenter (zecca)        |
|                  | Ornithodoros (zecca)         |
|                  | Argas (zecca)                |
| Mammiferi        | Mus (topo)                   |
|                  | Rattus (ratto)               |
|                  | Vulpes (volpe)               |
|                  | Canis (cane)                 |
|                  | Felix (gatto)                |

Per proteggere gli operatori dall'esposizione a vettori animati si applicano, secondo l'animale coinvolto, differenti strategie d'azione: eliminazione del vettore, allontanamento del vettore dall'operatore, riduzione del numero dei vettori, isolamento degli operatori dai vettori animati, riduzione delle probabilità di esposizione degli operatori ai vettori.

• **Eliminazione del vettore**

L'azione di eliminazione è perseguibile se si tratta d'invertebrati o di animali selvatici nocivi; diverso è l'approccio se si tratta di animali selvatici protetti o nel caso animali domestici.

Sicuramente i vettori animati che più di frequente sono responsabili di patologie infettive e parassitose sono artropodi, in particolare insetti, a cui seguono altri invertebrati.

Gli insetti come vettori rivestono una notevole importanza, determinata dalla facilità e rapidità di riproduzione e del gran numero di individui che possono essere presenti in uno spazio relativamente contenuto.

Inoltre sono ottimi volatori, e possono colpire sia di giorno sia di notte.

Contro insetti, zecche e altri artropodi sono efficaci gli insetticidi e gli acaricidi.

o **Insetticidi**

Per insetticida si intende una molecola chimica di sintesi o estratta da prodotti naturali, generalmente da vegetali, che viene assorbita dagli insetti ed interferisce con i processi metabolici dell'animale fino a portarlo al decesso. Gli insetticidi sono somministrati liquidi o sotto forma d'aerosol. Molte di queste molecole sono utilizzate anche per l'abbattimento dei serbatoi.

Gli insetticidi chimici sono classificati in relazione al tipo di molecola ed al meccanismo di azione prodotto nell'animale. Le principali classi sono:

|                   |   |
|-------------------|---|
| a) Clororganici   | Sono insetticidi efficaci su molte specie animali, caratterizzati da marcata lipofilia e persistenza nell'ambiente.   |
|                   | Diverse molecole efficaci di questa classe e utilizzate ampiamente nel secolo scorso sono state vietate per i danni che provocavano nella catena alimentare (DDT, Dieldrin).                |
| b) Fosfororganici | Sono insetticidi dotati di un ampio spettro d'azione e attivi su moltissime specie d'insetti, sono rapidamente degradati dall'ambiente.   |
|                   | Agiscono come potenti neurotossine inibendo l'azione dell'enzima acetilcolinesterasi nelle cellule nervose, portando ad un accumulo del neurotrasmettitore acetilcolina nelle sinapsi.      |
| c) Carbammati     | Sono insetticidi con scarsa tossicità per i mammiferi e che causano negli insetti l'inibizione della colinesterasi in conseguenza dell'inattivazione reversibile della acetilcolinesterasi. |

|                   |  |
|-------------------|--|
| d) Piretroidi     | Inizialmente estratti da piante della famiglia della composite (Crysanthemum) sono stati poi prodotti sinteticamente.  |
|                   | Sono molecole attive sugli insetti e hanno scarsa tossicità per gli animali vertebrati.  |
|                   | Sono distribuiti sotto forma di polvere o liquido ed agiscono per contatto; una volta assorbiti danneggiano la membrana dei neuroni.   |
|                   | Il piretro estratto dalle piante è inattivato facilmente dalla luce mentre i piretroidi di sintesi, come la permetrina ed altri, sono molto più resistenti alla degradazione provocata dalla luce.   |
| e) Benziluree     | Sono prodotti che agiscono in seguito all'ingestione da parte dell'insetto. Il meccanismo d'azione si manifesta con l'interferenza sulla formazione della chitina. In questa maniera si blocca lo sviluppo delle larve che si trovano nella fase della muta; infatti, non potendo formare una nuova cuticola, la larva è destinata alla morte. |
| f) Neonicotinoidi | Sono insetticidi che agiscono sul sistema nervoso dell'insetto: si fissano ai recettori nicotinici dell'acetilcolina, bloccando il passaggio degli impulsi nervosi e provocando morte dell'insetto.  |

#### o Acaricidi

Il termine indica generalmente agenti chimici adatti all'abbattimento degli aracnidi (Acari, Zecche, ecc.).

Gli acaricidi più utilizzati appartengono alle famiglie dei: Solforganici, Azotorganici, Stannorganici.

Esistono molecole insetticide che possiedono effetti acaricidi, come i piretroidi; un particolare effetto acaricida è posseduto dalla permetrina, che viene nebulizzata sui vestiti e protegge l'operatore contro le zecche, con effetto anche acaricida e repellente.

#### o Rodenticidi

I Rodenticidi, prodotti atti ad eliminare i roditori, sono stati ricordati in precedenza nel trattare i disinfestanti

|                     |  |
|---------------------|--|
| Sostanze chimiche   | Per le sostanze chimiche usate come rodenticidi si rimanda al capitolo dei disinfestanti per la eliminazione dei serbatoi. |
| Trappole meccaniche | Le trappole meccaniche armate con esche per attrarre gli animali sono anche usate per l'eliminazione dei roditori.         |

#### o Lotta biologica

Il metodo si fonda sulla conoscenza dell'antagonismo naturale fra diversi organismi viventi ed in particolare della capacità di alcuni di questi di essere predatori, parassiti o patogeni di altri.

Il concetto di lotta biologica si può facilmente estendere ad altre strategie che si avvalgono delle conoscenze del ciclo vitale degli insetti, del loro comportamento nelle diverse fasi e delle relazioni che l'animale stabilisce con l'ambiente negli stadi più critici del suo ciclo biologico.

La conoscenza di queste informazioni permette inoltre di pensare ad altre procedure basate sull'utilizzo di sostanze biologiche prodotte da alcuni animali per attirare gli insetti verso trappole mortali, disorientarli o allontanarli. I principali metodi impiegati sono:

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| a) Competizione fra insetti       | Nello studio del ciclo biologico degli insetti sono stati scoperti comportamenti e necessità di alcuni che possono trovare applicazione per eliminare o contenere il numero di insetti dannosi. Negli studi sono stati evidenziati gli antagonismi che si manifestano in una o più fasi della vita di un insetto: può diventare competitivo per una nicchia biologica oppure cibarsi dell'animale pericoloso. Gli insetti utili sono allevati in laboratorio e quindi trasferiti nei luoghi opportuni per svolgere la loro opera di bonifica o contenimento.  |
| b) Utilizzo di predatori naturali | Gli insetti volatori nella fase larvale non volano: le larve si sviluppano nel terreno o nell'acqua ed in questi ambienti si nutrono e crescono passando attraverso più mute per poi diventare farfalle. E' quindi allo stadio di larva possono che l'insetto può diventare nutrimento per diversi animali superiori insettivori. Ad esempio le zanzare depongono le uova nei bacini d'acqua stagnante; l'introduzione di pesci (genere Carassius o Gambusia) che si nutrono di larve di zanzara (Culex, Anopheles, Aedes) ne impedisce la proliferazione. Per le larve terrestri è molto efficace l'azione condotta dagli uccelli in particolare dei passeracei. Altri uccelli insettivori (rondini, rondoni) e mammiferi (pipistrelli) sono responsabili della cattura giornaliera di un numero elevato di insetti. |

|   |  |
|---|--|
| <p>c) Installazione di trappole con o senza ferormoni.</p>        | <p>Un sistema diffuso è quello di attrarre gli insetti verso contenitori (trappole) dove è contenuto un insetticida. L'attrazione dell'insetto è prodotta attraverso ferormoni, sostanze secrete da speciali ghiandole di un organismo animale; quando sono fiutate da soggetti della stessa specie determinano attrazione, accoppiamento, fuga, strutturazione gerarchica, ecc. La conoscenza delle sostanze che attraggono gli insetti, dei colori preferiti e delle temperature che favoriscono l'attrazione, ha permesso di ideare trappole senza l'uso di ferormoni. Come esempio ricordiamo che le zanzare sono attratte da una certa concentrazione di CO<sub>2</sub>, perciò le trappole che producono CO<sub>2</sub> fanno avvicinare la zanzara, che viene aspirata ed uccisa.</p> |
| <p>d) Irrorazioni con spore di <i>Bacillus thuringiensis</i>.</p> | <p>Questo microrganismo sporigeno ha l'habitat nel terreno: le spore vengono ingerite da larve o insetti adulti, sporulano dentro l'animale e liberano tossine che causano danni all'apparato digerente con successiva paralisi. Le tossine prodotte dal bacillo sono innocue per gli esseri umani e per gli animali superiori. Le spore, coltivate in laboratorio, sono sospese in un idoneo liquido e aerodisperse in diverse maniere secondo il caso.</p>   |

#### *Allontanamento del vettore dall'operatore*

Allontanare i vettori è un'altra strategia di prevenzione, elaborata in seguito alla scoperta che molti animali sono sensibili a suoni e rumori di una certa frequenza e a prodotti o dispositivi che disturbano gli organi sensoriali degli insetti.

Esistono in commercio prodotti chimici con effetto repellente per le zanzare o per le zecche, con i quali irrorare la cute o gli abiti. Ogni prodotto ha una sua caratteristica per efficacia e durata dell'effetto repellente. Alcuni repellenti agiscono anche come abbattenti, esempio la permetrina che è un acaricida ed anche un repellente per le zecche.

Profumi e fumi di essenze vegetali agiscono come repellenti verso le zanzare.

Meno certo è l'effetto di apparecchiature elettroniche che emettono ultrasuoni nell'allontanare i roditori o le zanzare.

#### *Riduzione del numero dei vettori*

Ridurre il numero di vettori rientra in tutte quelle pratiche che riducono gli habitat idonei da loro frequentati per riposo, ibernazione, riproduzione e alimentazione.

#### *Isolamento degli operatori dai vettori animati*

Isolare gli operatori ha il significato di creare una barriera tra vettore ed operatore, in particolare si possono utilizzare barriere personali (normali abiti) o barriere che proteggono contemporaneamente più persone (varchi di accesso con doppie porte, zanzariere, ecc).

Il singolo individuo può essere protetto contro zanzare e zecche con i DPI visti in precedenza.

Questi animali aspettano l'ospite attaccati ai fili d'erba, si agganciano ai vestiti e poi cercano un varco, generalmente le aperture delle maniche e quelle dei pantaloni, per raggiungere la cute, nella quale fanno penetrare il rostro per succhiare il sangue.

È molto importante, quindi, che le aperture dei vestiti siano allacciate in maniera stretta per impedire l'accesso al vettore.

Il capo resta in ogni caso vulnerabile, sia per i varchi esistenti fra collo e camicia sia per la possibilità che le zecche si mimetizzino fra i capelli.

Utilizzando abbigliamenti di colore chiaro sarà più facile individuare eventuali zecche attaccate agli abiti.

#### *Riduzione della probabilità di esposizione degli operatori ai vettori*

La riduzione delle probabilità di esposizione si può ottenere evitando le zone a rischio o i periodi nei quali è più facile rinvenire i vettori animati in azione.

Tutti i metodi descritti non sempre sono efficaci in maniera assoluta, perciò ridurre le probabilità di esposizione intesa come incontro fra vettore e ospite è sempre da perseguire come migliore politica di prevenzione.

È possibile, ad esempio, programmare le attività lavorative nelle ore, giornate o periodi dell'anno durante i quali i vettori sono assenti o meno numerosi.

In altre situazioni è possibile conoscere preventivamente se determinati vettori sono o meno presenti nel territorio e se sono o meno infetti cioè in grado di trasmettere gli AB.

---

Per esempio, è risaputo che le zanzare del genere *Culex* ed *Anopheles* sono attive solo dal tramonto all'alba e non durante il giorno. La zanzara tigre (*Aedes albopictus*) invece è attiva solo durante il giorno.

Gli insetti volatori, ed in particolare le zanzare, nelle giornate molto piovose o molto ventose non sono attivi e si rifugiano in luoghi riparati in attesa del miglioramento meteorologico.

Tutti gli insetti, con l'arrivo delle basse temperature invernali, trascorrono un periodo "letargico" in luoghi riparati, dai quali escono solo quando il clima ridiventa mite.

In questi ultimi anni a causa dei cambiamenti climatici si è osservato, in particolare per le zanzare, un allungamento del periodo di attività che si protrae quasi fino ai mesi invernali. Inoltre con la riduzione delle giornate invernali fredde si assiste ad una maggior sopravvivenza degli insetti adulti che svernano; quindi con la nuova stagione caldo è presente un maggior numero di vettori rispetto ai periodi con inverni molto freddi che provocano una gran mortalità fra i soggetti in "letargo".

### **10.3.2. Vettori inanimati**

I vettori inanimati sono ad esempio le attrezzature usate in laboratorio o sul territorio. Tali oggetti, per la loro struttura e conformazione, possono incidere la cute e, se contaminati, divengono vettori non animati.

- **Bonifica dei vettori inanimati**

Le attrezzature di lavoro per la maggior parte sono riutilizzabili, quindi, qualora siano state contaminate, devono essere al più presto sottoposte a bonifica attraverso disinfezione o sterilizzazione con uno dei sistemi visti in precedenza e compatibile con il materiale sottoposto a bonifica. Per ovviare a ciò, quando le condizioni e le metodiche lo consentono, è preferibile utilizzare materiale monouso.

- **Smaltimento sicuro di oggetti taglienti e/o pungenti**

Gli oggetti o le attrezzature in grado di pungere/ tagliare che sono imbrattate e che non sono riutilizzabili devono essere eliminati; è indispensabile lo smaltimento in maniera sicura.

I contenitori per la raccolta devono essere non perforabili, richiudibili in maniera sicura e senza possibilità di essere riaperti.

## **10.4. Adozione di barriere collettive ed individuali**

La bonifica delle sorgenti e dei serbatoi non sempre è un'operazione possibile, a volte per fattori fisici, chimici, etici, a volte anche fattori economici.

La bonifica è possibile se il serbatoio ha una dimensione ed un volume relativamente limitato o la sorgente è rappresentata da entità numericamente accettabili.

In altre circostanze gli AB sono deliberatamente utilizzati e quindi per gli operatori è inevitabile l'esposizione.

In tutti i casi, quando non è possibile sottrarre gli operatori dall'esposizione ai serbatoi ed alle sorgenti, essi si trovano ad operare alla presenza di AB, con tutti rischi conseguenti.

La capacità degli AB di resistere ed adattarsi ai fattori chimici e fisici permette loro di colonizzare l'organismo umano. In particolare un operatore può essere contaminato se:

- subisce un **inoculazione** di materiale contenente AB attraverso oggetti pungenti o taglienti imbrattati;
- subisce l'**ingestione** di materiale contenente AB per contaminazione delle mani, per proiezione di materiale contaminato sul viso in particolare naso e bocca;
- subisce l'**inalazione** di aerosol contenente AB presente nell'ambiente di lavoro o provocato dalle attività lavorative, attraverso per esempio l'apertura di contenitori di materiali contaminati, l'impiego di strumenti di lavoro per inoculare, agitare e centrifugare materiale infetto.

Gli operatori devono perciò essere protetti impedendo agli AB l'accesso all'organismo attraverso le vie o le modalità su menzionate.

Sulle misure che il Datore di Lavoro deve adottare per raggiungere e portare a termine questo obiettivo, il D.Lgs. 81/08 indica di rispettare "la priorità delle misure collettive sulle misure di protezione individuale".

Questo, nelle specifiche procedure per il contenimento del rischio biologico, significa che occorre procedere prima con misure tendenti al controllo di tutto l'ambiente di lavoro soggetto al rischio e poi degli individui operanti in quel luogo.

### **10.4.1. Dispositivi di Protezione Collettiva (DPC)**

I sistemi di protezione collettiva nel caso del rischio biologico possono essere i seguenti:

- Impianti di aerazione;
- Cappe biologiche a flusso laminare;
- Cappe trasportabili da utilizzare sul territorio.

I dispositivi di protezione collettiva in genere sono sistemi da applicare per quelle attività a rischio che si svolgono in ambienti confinati.

- **Impianti di aerazione**

Tali impianti non sono nati espressamente per ragioni legate alle attività con esposizione al rischio biologico, ma innanzi tutto per il ricambio d'aria degli ambienti confinati ove più persone sono addette a svolgere delle attività lavorative.

I principi su cui poggia l'azione dell'impianto d'aerazione è quello della diluizione dell'atmosfera inquinata con aria non inquinata o della sostituzione costante dell'aria ambiente.

Il ricambio dell'aria in un ambiente di lavoro consegue in ogni caso un benessere per il lavoratore insieme ad una riduzione del rischio d'accumulo di agenti biologici, chimici ma anche altri prodotti che si possono concentrare in seguito alle attività svolte in quell'ambiente.

Questa situazione corrisponde a quei casi in cui il rischio biologico non è particolarmente elevato oppure gli AB utilizzati non hanno caratteristiche particolarmente pericolose.

Per situazioni di lavoro più delicate esistono sistemi di aspirazione in continuo, dimensionati in base ai volumi d'aria interni, in grado di filtrare e introdurre in maniera forzata l'aria nell'ambiente di lavoro; anche l'aria espulsa è preventivamente filtrata.

- **Cappe Biologiche a flusso laminare**

Le cappe di sicurezza biologica sono utilizzate nei laboratori di microbiologia ma anche in altre discipline, dalla genetica all'elettronica; sono strumentazioni di dimensioni e funzionamento diverso adattati ad una serie particolari di applicazioni.

Ci sono infatti cappe destinate a preservare dall'inquinamento il prodotto trattato, altre impediscono l'esposizione dell'operatore agli AB manipolati all'interno della cappa, altre hanno la possibilità di operare sia in una maniera sia nell'altra.

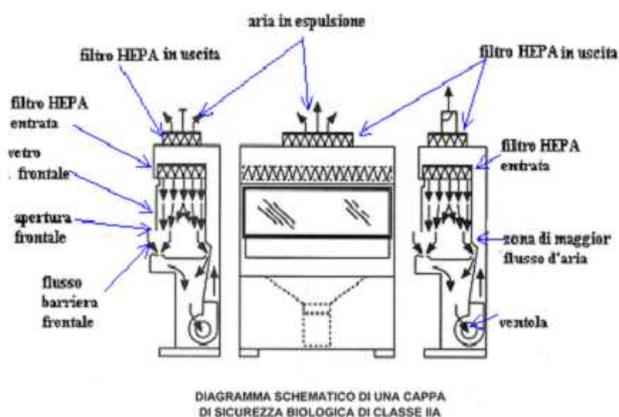
Per gli scopi che ci proponiamo con questi criteri d'indirizzo alla valutazione del rischio, le cappe biologiche di nostro interesse sono quelle che agiscono come barriera eliminando o riducendo il rischio di diffusione degli AB tramite aerosol e proiezione di materiali infetti o potenzialmente infetti, quindi proteggendo l'operatore.

La cappa di sicurezza biologica è un contenitore nel quale l'aria è fatta circolare in maniera forzata attraverso un filtro assoluto (HEPA); l'aria così trattata investe il piano di lavoro al quale accede l'operatore attraverso un'apertura frontale ed è ricircolata passando nuovamente attraverso il filtro assoluto.

Il flusso d'aria è unidirezionale e laminare; in pratica si tratta di filetti d'aria sterile paralleli che si muovono alla velocità costante di 0,45 m/sec (+/- 20%) in maniera da non creare turbolenze in direzione verticale oppure orizzontale secondo il tipo di cappa. Le qualità, l'efficienza e l'uso più idoneo di una cappa biologica sono definite dalla classificazione riportata nella tabella 10.3.

Per le altre caratteristiche si rimanda a testi specifici nei quali sono puntualmente riferite le procedure corrette di utilizzo.

**Figura 10.1** Schema di funzionamento delle cappe di aspirazione



Modificato da: Manuale di biosicurezza in laboratorio, Vol.31, 1995, Istituto Superiore di Sanità

**Tabella 10.3** *Classificazione delle cappe di aspirazione*

| Classe | % aria ricircolata | Caratteristiche   | Impieghi                                       | Protezione |          |          |
|--------|--------------------|---|--|------------|----------|----------|
|        |                    |   |  | Operatore  | Ambiente | Campione |
| I      |                    | L'aria è aspirata solo attraverso l'apertura frontale, prima di essere espulsa nell'ambiente passa attraverso un filtro HEPA.   | Attività a basso rischio; AB del gruppo 1 e 2. | Buona      | Ottima   | Scarsa   |
| II A   | 70                 | Il flusso d'aria laminare investe l'area di lavoro (piano di lavoro) verticalmente. I filtri HEPA sono posti a monte e a valle del campione infetto o potenzialmente infetto. Davanti all'apertura frontale, alta in misura sufficiente per fare entrare comodamente le mani e gli avambracci dell'operatore, si forma un flusso come barriera per l'entrata di aria ambiente o l'uscita dell'aria dalla cappa. | Attività a rischio medio; AB del gruppo 2 e 3. | Buona      | Ottima   | Ottima   |
| II B1  | 30                 |   |  |            |          |          |
| II B2  | 0                  |   |  |            |          |          |
| III    |                    | Sistema a chiusura ermetica, in pressione negativa (filtro HEPA sull'aria in entrata e doppio filtro HEPA in uscita), si accede tramite guanti incorporati.   | Attività ad alto rischio; AB del gruppo 4.     | Ottima     | Ottima   | Buona    |

• **Cappe trasportabili da utilizzare sul territorio**

Nel caso in cui gli operatori si trovino a lavorare sul territorio con materiali infetti o potenzialmente infetti le operazioni potrebbero provocare la formazione di aerosol e proiezioni di materiale contenente AB. In tutti questi casi è utile una cappa portatile leggera che rappresenta solo un sistema di contenimento di materiali a rischio, non vi fluisce aria filtrata, non esiste ricircolo di aria. I materiali si immettono da aperture poi sigillate e per lavorare si accede tramite guanti incorporati nella parete della cappa.



Va detto, comunque, che una protezione biologica perfetta non può essere esclusivamente basata sull'utilizzazione della cappa portatile. In ogni caso è necessario un equipaggiamento complementare tipo DPI o DPC idoneo.

Talvolta, per le circostanze e le modalità di lavoro, non è possibile servirsi delle misure collettive di protezione; altre volte l'efficacia delle misure collettive è ridotta o parziale. In questi casi diventa imprescindibile dotare gli operatori di dispositivi di protezione individuali e personali.

**10.4.2. Dispositivi di Protezione Individuale (DPI)**

La protezione individuale di un operatore attraverso l'adozione di dispositivi per una o più zone anatomiche è l'ultima scelta a cui il Datore di Lavoro deve attingere.

---

Il Datore di Lavoro, infatti, affiderà la protezione degli operatori ai DPI solo dopo essersi speso nell'intento di eliminare o ridurre il rischio e quando i mezzi di protezione collettivi non sono applicabili o non sono sufficientemente efficaci per la protezione degli esposti.

Più DPI possono essere indossati contemporaneamente per la protezione di più parti anatomiche.

L'uso e manutenzione dei DPI sono regolati dal D.Lgs. 81/08, che ne specifica i requisiti, e dalle norme tecniche di prodotto.

Il DPI è definito come "Qualsiasi attrezzatura destinata ad essere indossata e tenuta dal lavoratore allo scopo di proteggerlo contro uno o più rischi suscettibili di minacciarne la sicurezza o la salute durante il lavoro, nonché ogni complemento accessorio destinato a tale scopo" (art. 74 comma 1, D.Lgs. 81/08).

### **Le categorie di DPI**

Con riferimento al livello di rischio a cui sono destinati a proteggere i DPI sono stati suddivisi in tre categorie:

*Appartengono alla **prima categoria** i DPI di progettazione semplice destinati a salvaguardare la persona da rischi di lieve entità.*

*Appartengono alla **seconda categoria** i DPI che non rientrano nelle altre due categorie.*

*Appartengono alla **terza categoria** i DPI di progettazione complessa destinati a salvaguardare da rischi di morte o di lesioni gravi e di carattere permanente.*

Senza addentrarci molto nelle caratteristiche dei singoli DPI prendiamo in esame quelli disponibili per la protezione dall'esposizione agli AB, rimandando ai testi dedicati per una esauriente descrizione delle caratteristiche tecniche e per l'uso dei DPI.

- **Protezione del viso**

Il viso comprende organi che possono fungere da porta di entrata per gli AB.

La cute del viso e della testa può essere lesa da oggetti taglienti o pungenti ed imbrattati; attraverso le lesioni gli AB contenuti sulla superficie degli oggetti possono penetrare in profondità nell'organismo.

Inoltre i materiali infetti possono raggiungere le mucose degli occhi, del naso e della bocca; le mucose non sono barriere efficaci, almeno in questa parte anatomica.

Il materiale proiettato che colpisce la bocca può essere anche inghiottito, mentre gli aerosol possono facilmente essere ispirati dalla bocca e dal naso.

- **Schermo facciale**

Lo schermo facciale è costituito da una lastra di materiale plastico, alta poco più della distanza fra la fronte ed il mento, sorretta da un supporto che conferisce una forma a semicerchio; può essere indossato da solo dall'operatore oppure attaccato all'elmetto di protezione per la testa.

Lo schermo protegge l'intero viso dalle proiezioni di materiali ed oggetti, non preserva dagli aerosol che invece possono essere ispirati.

- **Occhiali a mascherina**

Gli occhiali sono adatti ad isolare le mucose congiuntivali da particelle aerodisperse, perché la montatura aderisce alla cute attorno alle cavità oculari con un supporto morbido.

Frequentemente gli occhiali a mascherina sono monolente.

- **Occhiali con stanghette dotati di ripari laterali e frontali**

Questo protettore è adatto a prevenire le proiezioni di materiali a rischio anche con direzione laterale perché forniti di ripari.

I ripari frontali aderiscono alla fronte impedendo che gli schizzi liquidi che colpiscono la fronte colino negli occhi.

Gli occhiali con stanghetta non sono adatti per sopportare impatti di una certa entità con direzione laterale.

- **Facciale filtrante**

Il facciale filtrante è adatto a trattenere le particelle aerodisperse potenzialmente infette evitando che l'operatore le ispiri attraverso il naso o la bocca.

E' costituito da un dispositivo a maschera che copre il naso e la bocca, con un filtro che trattiene gli AB e lasciare passare l'aria ambiente.

I facciali filtranti per la prevenzione dagli AB devono essere marcati con il pittogramma che indica il rischio biologico.

---

- **Protezione delle mani**

I dispositivi per la protezione delle mani dall'esposizione ad AB sono i guanti: i guanti evitano il contatto con la cute che, se lesionata, fornirebbe una porta d'entrata agli agenti biologici. I guanti possono essere di diversi materiali: lattice, vinile, nitrile, e di differenti spessori.

In accoppiamento ai guanti, è possibile utilizzare guanti antitaglio (in Kevlar o maglia d'acciaio) indossati sopra a quelli impermeabili, quando esiste la potenzialità di manovre che espongono al taglio.

Per la prevenzione della puntura al momento non esistono guanti compatibili anche con la destrezza dei movimenti e la sensibilità nella presa.

Tra i materiali disponibili per i guanti oggi l'orientamento è quello di dare la preferenza al nitrile per diverse ragioni:

- non dà allergia come avviene invece per il lattice;
- resiste alle sostanze chimiche, in particolare ai solventi, a differenza del lattice e del vinile;
- è sufficientemente elastico, quasi quanto il lattice e molto di più del vinile.

Anche altri guanti degli stessi materiali ma con maggior spessore sono utilizzati dall'Agenzia in particolare sul territorio, ad esempio nelle manovre di ispezione e raccolta di campioni che possono avere qualche asperità sulla superficie e che si trovano immersi in acqua.

- **Protezione del corpo**

In laboratorio il camice in cotone consente una sufficiente protezione dall'imbrattamento per quasi tutte le operazioni. Per altre operazioni con rischio maggiore o condizioni diverse si devono usare altre protezioni.

- **Tuta a vita limitata**

Nelle attività sul territorio, in particolare quando il rischio di imbrattamento è elevato, vengono utilizzate le tute integrali con cappuccio e possibilità di usufruire di copriscarpe, in polipropilene, amido di mais, ecc. che consentono un sufficiente isolamento dell'operatore dall'ambiente esterno, e contemporaneamente un certo grado di traspirabilità.

Dopo l'utilizzo la tuta deve essere smaltita come rifiuto a rischio biologico.

L'etichettatura del prodotto permette di scegliere la tuta più idonea alle attività da svolgere. Il grado di protezione è definito dal numero di tipo: per il rischio biologico i tipi utilizzati sono 5 e 6.

- **Protezione degli arti inferiori**

La protezione degli arti inferiori è indirizzata a proteggere la cute del piede dall'imbrattamento ma soprattutto dalle lesioni provocate dalla perforazione prodotta da oggetti infetti o potenzialmente infetti.

- **Calzatura chiusa tipo mocassino**

Scarpe chiuse in pelle non traforate sono sufficienti a proteggere l'operatore dall'esposizione di AB nelle consuete attività di laboratorio; proteggono inoltre da versamenti di prodotti infetti o potenzialmente tali.

- **Stivali di gomma alti al ginocchio con lama antiforo**

Per proteggersi dall'esposizione di AB nelle attività sul territorio può essere necessario l'uso di stivali impermeabili di gomma alti al ginocchio. Un'ulteriore e doverosa precauzione è quella di usare stivali dotati di lamina antiforo nella suola per impedire la perforazione da parte di oggetti taglienti.

---

## 11. AGENTI BIOLOGICI NEGLI AMBIENTI DI LAVORO: MONITORAGGIO MICROBIOLOGICO

Per avere un quadro il più completo possibile dell'esposizione a rischio biologico degli operatori, ad integrazione della valutazione del rischio descritta deve essere necessariamente previsto un monitoraggio biologico ambientale; ove possibile sarebbe auspicabile anche un monitoraggio biologico per i lavoratori maggiormente esposti in termini di tempo, di tipologia di esposizione e dell'agente biologico potenzialmente responsabile dell'esposizione. Di seguito si parlerà del monitoraggio ambientale per le attività di laboratorio e sul territorio.

### 11.1. Piano di monitoraggio

Il monitoraggio microbiologico deve essere pianificato e programmato in base alle specifiche esigenze del laboratorio/agenzia che lo effettua; la pianificazione è fondamentale per una successiva valutazione accurata ed interpretazione e corretta dei dati della contaminazione. Non deve comunque prescindere dai seguenti elementi minimi.

#### - Fonti di rischio

Il monitoraggio deve prevedere camponamenti dell'aria degli ambienti di lavoro, delle superfici, ed eventualmente degli abiti da lavoro/DPI indossati dai lavoratori.

#### - Punti di prelievo

Devono essere previsti, ed individuati in maniera univoca, i punti di prelievo ritenuti più significativi, che saranno ripetuti ad ogni monitoraggio.

#### - Frequenza dei monitoraggi

Deve essere indicata la periodicità con cui verrà ripetuto il monitoraggio; la frequenza può essere definita inizialmente più elevata e in seguito alla verifica della stabilità di condizioni buone, essere diminuita fino a divenire annuale.

Il monitoraggio deve inoltre essere effettuato in condizioni operative normali, possibilmente verso fine turno lavorativo quando è possibile che la contaminazione sia ai livelli massimi. Anche il monitoraggio in condizioni di riposo può essere utile per verificare l'efficacia delle procedure di pulizia.

#### - Metodi di campionamento

La stima della contaminazione microbica può essere influenzata anche dagli strumenti e dalla procedure utilizzate per eseguire la stima stessa. E' quindi indispensabile che le prove siano eseguite con metodi validati e indicati nel rapporto di prova.

#### - Parametri microbiologici

Non essendo praticabile la ricerca di tutti i microorganismi potenzialmente presenti nelle fonti di rischio di un ambiente indoor, il criterio da adottare è quello di preferire la ricerca dei microrganismi "indicatori", che possono appunto essere indicativi di una situazione di contaminazione e tali da consentire la loro ricerca in modo semplice e routinario.

La norma UNI EN ISO 14698-1 riporta utili indicazioni in merito.

Dal punto di vista applicativo ci si può riferire anche alle "Linee Guida INAIL: Il monitoraggio microbiologico negli ambienti di lavoro".

### 11.2. Monitoraggio dell'aria indoor

Nel manuale UNICHIM n. 203 edizione 2009, dal titolo "*Il rischio biologico in ambienti indoor: inquadramento della problematica e strategia di controllo e prevenzione*" sono individuate tre diverse classi di AB che possono essere presi come indicatori di contaminazione dell'ambiente aeriforme e sono: batteri mesofili, batteri psicrofili, miceti.

I batteri mesofili sono quelli che si sviluppano in maniera ottimale tra 25 e 40°C, comprendono generi e specie potenzialmente patogeni, oltre a quelli costituenti la normale flora batterica umana ed animale.

I batteri psicrofili si moltiplicano in maniera ideale invece tra 15 - 20°C e comprendono in particolare i microrganismi ambientali.

I miceti sono soprattutto microrganismi saprofiti; determinati generi o specie possono tuttavia provocare un'azione lesiva su diversi organi del corpo umano.

---

La loro diffusione in aria è favorita da condizioni di elevata polverosità, elevati tassi di umidità, dal vento o in vicinanza di aree con vegetazione.

### **11.2.1. Modalità di campionamento e analisi**

Per raccogliere i campioni da analizzare al fine di controllare le condizioni dell'ambiente di lavoro, è possibile scegliere tra i diversi tipi di campionatori esistenti in commercio. La scelta del campionatore è condizionata dalla situazione ambientale che si vuole campionare.

Il principio alla base del campionamento aereo è quello di prelevare un volume noto d'aria dell'ambiente in esame, filtrarla trattenendo gli AB contenuti. Gli agenti biologici raccolti con le diverse modalità sono poi incubati su idonei terreni di coltura, alla temperatura più idonea allo sviluppo dell'agente ricercato e per un tempo sufficientemente lungo, consono con il metabolismo del microrganismo/i ricercato/i. Nella scelta dei terreni di coltura da utilizzare si tiene conto anche che essi devono consentire non solo lo sviluppo, ma anche il conteggio degli agenti prelevati in quel volume d'aria ambiente.

Tra i principi utilizzati dai campionatori disponibili citiamo:

- **Campionatori per filtrazione**

Questi campionatori aspirano volumi prefissati d'aria, che è fatta passare attraverso delle membrane filtranti sterili di nitrato di cellulosa o gelatina. Le membrane trattengono tutti i microrganismi presenti nell'aria di grandezza superiore ai pori del filtro.

Le membrane, con adesi i microrganismi filtrati, sono trasferite su terreni di coltura solidi per lo sviluppo e la conta microbica dopo l'idonea incubazione.

- **Campionatore per gorgogliamento**

Il campionatore, tramite una pompa, aspira l'aria ambiente e la trasferisce facendola gorgogliare in un contenitore pieno di un mezzo liquido, nel quale sono dispersi e raccolti gli agenti aspirati dall'aria. Il mezzo liquido è in seguito filtrato per raccogliere i microrganismi e per trasferirli sugli opportuni terreni di coltura che saranno poi incubati nelle idonee condizioni di temperatura e tempo.

- **Campionatori attivi, ad impatto ortogonale o centrifugo**

Con l'utilizzo di questo campionatore il volume d'aria aspirato è scelto in base alla presunta contaminazione del locale che è oggetto dell'indagine e viene pre-impostato sullo strumento.

La scelta del volume è condizionata dalla seguente regola:

*“quanto maggiore è la contaminazione presunta, minore sarà il flusso d'aspirazione prescelto, entro range definiti dalla tipologia strumentale”.*

L'aria aspirata dal campionatore è fatta impattare sul terreno di coltura contenuto in capsule Petri (nel caso del campionatore ad impatto ortogonale) o su “strip” (per quello centrifugo) che sono inseriti internamente nel corpo dell'apparecchio aspiratore.

Il tipo di terreno per la coltura microbiologica da inserire nel campionatore è scelto in relazione al microrganismo o ai microrganismi che si intendono ricercare.

Al termine d'ogni ciclo d'aspirazione le piastre, o le strips, sono rimosse dall'apposito alloggiamento: le piastre sono chiuse con il loro coperchio, le strips reinserite nell'apposita “custodia”.

I materiali campionati sono riposti nel contenitore per il trasporto in laboratorio, dove sono incubate: il tempo e la temperatura di incubazione variano in relazione alle esigenze biologiche dei microrganismi ricercati.

Quest'ultimo campionatore è il tipo più frequentemente utilizzato per il controllo microbiologico ambientale.

Per il monitoraggio di microrganismi aerodispersi si sta diffondendo una tipologia di campionatore ad uso personale. Il principio di funzionamento si basa sullo sfruttamento di un flusso d'aria centrifugo, che inviato con gli AB contenuti, su una matrice liquida che cattura i microrganismi.

La soluzione campionata (matrice liquida + AB) può poi essere analizzata con diversi metodi:

- colturale
- biologia molecolare
- epifluorescenza

La biologia molecolare, PCR real-time in particolare, permette attraverso l'utilizzo di volumi contenuti l'identificazione di un numero considerevole di microrganismi.

Analogamente tale principio può essere applicato anche per il monitoraggio del bioaerosol (ad esempio presso gli impianti di depurazione).

Il panorama normativo propone anche le “Linee guida per la misurazione di microrganismi e di endotossine aerodispersi” UNI EN 13098:2002.

La norma fornisce le linee guida, per la valutazione dell'esposizione dell'ambiente di lavoro a microrganismi aerodispersi, inclusa la determinazione del numero totale e del numero coltivabile di microrganismi nell'atmosfera dell'ambiente di lavoro.

La norma, al punto 6, indica i vari principi di campionamento (statico e personale dalle zone di respirazione dei lavoratori), le tipologie di campionatori, i requisiti, le raccomandazioni per l'effettuazione del campionamento, la documentazione (verbale o scheda di campionamento), le modalità di trasporto e conservazione dei campioni in laboratorio.

### 11.2.2. Metodi di prova

In assenza di una normativa specifica che indichi la metodologia di riferimento per la determinazione dei batteri mesofili e psicrofili e miceti (funghi e lieviti) nella matrice aria ambiente (indoor e outdoor) si possono applicare metodi già adottati per le matrici acquose, assimilando il comportamento dei batteri aerodispersi a quello dei microrganismi dispersi in tale matrice.

I metodi utilizzati per il campionamento e la ricerca dei parametri indicati nei paragrafi precedenti, sono quelli riportati nella tabella seguente:

**Tabella 11.5** Parametri e norme di riferimento

| Parametro                     | Norma di riferimento   |
|-------------------------------|--|
| Miceti: Muffe e lieviti       | UNI EN ISO14698 -1:2004<br>ISTISAN 07/5: metodo ISS A 016C rev. 00 |
| Conteggio colonie a 22° e 36° | UNI EN ISO14698-1:2004<br>UNI EN ISO 6222:2001                     |

Il campionamento è descritto dalla norma UNI EN ISO 14698.2004 mentre le analisi dei singoli parametri sono condotte applicando metodi specifici per ogni parametro; questa è una norma internazionale, generale, per il controllo della biocontaminazione e descrive e promuove pratiche d'igiene appropriate per la creazione d'ambienti puliti e controllati.

Per quanto concerne la parte analitica, i vari metodi adottati riportano quanto segue:

#### Muffe e Lieviti: UNI EN ISO 14698:2004 + ISTISAN 07/5:metodo ISS A 016C rev.00

- Terreno di coltura: Agar all'estratto di malto.
- Incubazione: 22 - 25°C per 3 - 5 giorni (22±1°C a 3 giorni).
- Conteggiare le muffe e confermare gli eventuali lieviti al microscopio.

#### Conteggio colonie a 22°C e 36°C: UNI EN ISO 14698:2004 + UNI EN ISO 6222:2001

- Tecnica: semina in agar nutritivo.
- Terreno di coltura: Yeast extract Agar.
- Incubazione a 36±2°C per 44 ± 4h e incubazione a 22±2°C per 68 ± 4h.
- Conteggio delle colonie presenti in ciascuna delle due piastre.

La norma UNI EN 13098:2002 al punto 7, descrive i requisiti che i metodi analitici utilizzati per la determinazione di microrganismi devono avere, anche riguardo ai sistemi utilizzati per la "raccolta" del campione (mezzi semi solidi, liquidi, filtro).

I prospetti A1 e A2 riportano i metodi di campionamento (strumento e substrato), il principio del metodo analitico, i vantaggi e i limiti e gli ambienti monitorabili.

### 11.2.3. Espressione ed interpretazione dei risultati

Dopo l'esecuzione del campionamento e della coltura dei campioni prelevati, è necessario considerare come devono essere valutati e quale significato attribuire ai dati ottenuti.

Il risultato quantitativo è espresso come UFC rapportate all'unità di misura appropriata a seconda del metodo. Utilizzando il campionatore attivo il risultato è espresso in UFC/m<sup>3</sup> di aria campionata.

Per l'interpretazione dei dati ottenuti sono spesso utilizzati i seguenti indici:

**IGCM** = "Indice Globale di Contaminazione Microbica"

**ICM** = "Indice di Contaminazione da Batteri Mesofili"

**IA** = "Indice di Amplificazione"

Gli indici sono stati proposti per la prima volta dal Prof. Dacarro dell'Università di Pavia "Dipartimento di Farmacologia Sperimentale ed Applicata"; nascono dall'esperienza sul campo e sono ora utilizzati dagli Enti che si occupano di "sicurezza" e di "ricerca" (INAIL, Arpa, Università). Per il calcolo degli indici si devono utilizzare valori di contaminazione espressi in UFC/m<sup>3</sup>.

**IGCM = "Indice Globale di Contaminazione Microbica"**

La valutazione della carica batterica totale, insieme alla carica micetica totale, consente di applicare la semplice formula per ottenere l'indice IGCM rappresentato dalla somma delle unità formanti colonie ottenute in un m<sup>3</sup> di aria.

**IGCM "Indice Globale di Contaminazione Microbica":**

$$(UFCm^3 37^{\circ}C)+(UFCm^3 20^{\circ}C)+(UFCm^3 \text{ muffe e lieviti})$$

UFCm<sup>3</sup> 37°C = unità formanti colonia per metro cubo d'aria dopo incubazione a 37°C

UFCm<sup>3</sup> 20°= unità formanti colonia per metro cubo d'aria dopo incubazione a 20°C

UFCm<sup>3</sup> muffe e lieviti = unità formanti colonia per metro cubo d'aria dopo incubazione a 22°C

L'indice IGCM, quindi, fornisce un valore di contaminazione microbica totale, normalizzata all'unità di volume d'aria.

La conoscenza del valore di quest'indice rappresenta, pertanto, un parametro importante per la valutazione della qualità igienica dell'aria.

La valutazione dei batteri, sia psicrofili sia mesofili, diventa importante perché se un batterio psicrofilo è in grado di svilupparsi alla temperatura di 37°C, è potenzialmente un patogeno, giacché potrebbe vivere e moltiplicarsi in qualsiasi organismo umano o animale.

Allo stesso modo dobbiamo porci il problema per i microrganismi mesofili che si sviluppano e moltiplicano a 20°C, essi possono colonizzare i substrati ambientali che possono così diventare serbatoi di AB.

**ICM = "Indice di Contaminazione da Batteri Mesofili"**

L'indice ICM si propone di evidenziare la prevalenza di contaminazione batterica da agenti mesofili o psicrofili.

**ICM "Indice di Contaminazione da Batteri Mesofili":**

$$(UFC m^3 37^{\circ}C) / (UFC m^3 20^{\circ}C)$$

UFC m<sup>3</sup> 37°C = unità formanti colonia per metro cubo d'aria dopo incubazione a 37°C

UFC m<sup>3</sup> 20°= unità formanti colonia per metro cubo d'aria dopo incubazione a 20°C

L'indice ICM >1 evidenzia una presenza maggiore di batteri mesofili, mentre ICM <1 evidenzia la prevalenza di psicrofili.

Gli ambienti outdoor considerati normali sono solitamente caratterizzati dalla seconda condizione, mentre in ambienti confinati, con scarsa ventilazione e sovraffollamento, ICM può superare anche di molto l'unità, a causa dell'accumulo nell'aria di microrganismi diffusi dagli occupanti.

La situazione opposta si osserva nel caso di microrganismi d'origine ambientale, provenienti da substrati contaminati o da particolari attività lavorative.

**IA = "Indice di Amplificazione"**

Questo indice rappresenta uno strumento indispensabile per valutare la situazione effettiva della qualità dell'aria rispetto ad una situazione di riferimento.

Per gli ambienti confinati l'indice IA è rappresentato dal risultato del rapporto tra il valore di IGCM misurato all'interno e quello misurato all'esterno dell'ambiente in esame, considerato rappresentativo dell'aria non affetta dalle sorgenti di inquinamento interne.

Nel caso di ambienti all'aperto il valore di IGCM di riferimento è determinato in un punto sopra vento rispetto alle posizioni di prelievo, prossime alle attività considerate ed individuate a rischio di esposizione ad AB

$$IA = (IGCM \text{ interno}) / (IGCM \text{ esterno})$$

IGCM = “Indice Globale di Contaminazione Microbica”

La conoscenza dei valori descritti ci permette di dare un giudizio sul livello di contaminazione dell’ambiente, in base alle categorie proposte da Dacarro et al e illustrate nella tabella 11.1.

**Tabella 11.1** Categorie e classi di contaminazione microbiologica dell’aria, per ambienti di lavoro confinati, definite in funzione della misura dell’Indice Globale di Contaminazione Microbica (IGCM/m<sup>3</sup>), dell’Indice di Contaminazione da batteri Mesofili (ICM) e dell’Indice di Amplificazione (IA).

| Categoria   | IGCM/m <sup>3</sup> | Classe |              |           |        |
|-------------|---------------------|--------|--------------|-----------|--------|
| Molto bassa | < 500               |        |              |           |        |
| Bassa       | < 1000              |        |              |           |        |
| Intermedia  | > 1000              | A:     | IGCM > 1000  | ICM < 3   | IA < 3 |
|             |                     | B:     | IGCM > 1000  | ICM > 3 o | IA > 3 |
|             |                     | C:     | IGCM > 1000  | ICM > 3   | IA > 3 |
| Alta        | > 5000              | D:     | IGCM > 5000  | ICM < 3   | IA < 3 |
|             |                     | E:     | IGCM > 5000  | ICM > 3 o | IA > 3 |
|             |                     | F:     | IGCM > 5000  | ICM > 3   | IA > 3 |
| Molto alta  | > 10000             | G:     | IGCM > 10000 | ICM < 3   | IA < 3 |
|             |                     | H:     | IGCM > 10000 | ICM > 3 o | IA > 3 |
|             |                     | I:     | IGCM > 10000 | ICM > 3   | IA > 3 |

Quando il valore della classe di contaminazione di un ambiente supera il livello “intermedio”, devono essere utilizzati anche gli indici ICM ed IA; in questa maniera è possibile suddividere le classi in ulteriori sottoclassi, con grado di contaminazione crescente.

In assenza di veri e propri limiti di legge per la contaminazione biologica, questi indici ci consentono di monitorare la situazione indoor.

A scopo cautelativo, la classe di contaminazione riscontrata dovrebbe essere “molto bassa” o “bassa” e non superare in ogni caso il livello “intermedia” negli ambienti di lavoro.

Per gli ambienti in cui si svolgono le varie attività dell’Agenzia, il rispetto di tali classi pare adeguato e raggiungibile.

Prima dell’utilizzo degli indici sopra citati, erano in genere, utilizzate come riferimento le categorie di contaminazione dell’aria indicate da European Collaborative Action-Indoor Air Quality & Its Impact on Man- Report No. 12.

**Tabella 11.2** Categorie di contaminazione

| Categorie   | Abitazioni CFU/m <sup>3</sup><br>a 20-25 °C | Ambienti Indoor non industriali<br>CFU/m <sup>3</sup> a 20-25 °C |
|-------------|---|--|
| Molto bassa | <100  | <50  |
| Bassa       | <500  | <100   |
| Intermedia  | <2500                                       | <500   |
| Alta        | <10000                                      | <2000  |
| Molto alta  | >10000                                      | >2000  |

In letteratura si possono trovare altri limiti di contaminazione per valutare la qualità dell'aria indoor, per l'inquinamento da batteri e miceti. Tali limiti sono riportati nelle due tabelle seguenti:

**Tabella 11.3** Limiti di contaminazione per valutazione della qualità dell'aria indoor – batteri

| <b>BATTERI</b>  |                      |                     |
|---|----------------------|---------------------|
| Limiti di contaminazione suggeriti per l'aria in ambienti indoor<br>(i limiti suggeriti sono considerati bassi, accettabili o medi) |                      |                     |
| <b>Limite UFC / m<sup>3</sup></b>   | <b>Descrizione</b>   | <b>Bibliografia</b> |
| 50  | -                    | ACGIH               |
| 65  | Valore medio         | Holt, 1990          |
| 138   | V. max misurato      | Feeley, 1988        |
| 180   | V. max misurato      | CHBS, 1993          |
| 600   | Edifici con problemi | Nevalainen, 1990    |
| 380   | Edifici normali      | Nevalainen, 1990    |
| 60  | Uffici               | Nevalainen, 1990    |
| 154   | Valore medio         | Brickus, 1997       |
| 510   | Abitazioni nuove     | Reponen, 1992       |
| 576   | Valore medio         | Heineman, 1994      |

ACGIH: American Conference of Government Industrial Hygienists

CHBS: California Healthy Buildings Study, Fisk, 1993

**Tabella 11.4** Limiti di contaminazione per valutazione della qualità dell'aria indoor – miceti

| <b>MICETI</b>   |                     |                     |
|---|---------------------|---------------------|
| Limiti di contaminazione suggeriti per l'aria in ambienti indoor<br>(i limiti suggeriti sono considerati bassi, accettabili o medi) |                     |                     |
| <b>Limite UFC/m<sup>3</sup></b>   | <b>Descrizione</b>  | <b>Bibliografia</b> |
| 100   | Ospedali            | ACGIH               |
| 100   | Ambienti non ind.   | CEC                 |
| 200   | -                   | CIC                 |
| 100   | -                   | Godish, 1995        |
| 150   | -                   | Miller, 1988        |
| 100   | -                   | Ohgke, 1987         |
| 200   | -                   | Yang, 1993          |
| 50  | -                   | Canadian Guidelines |
| 72  | Ventilaz. naturale  | CHBS 1993           |
| 59  | Ventilaz. meccanica | CHBS 1993           |
| 12  | Aria condizionata   | CHBS 1993           |
| 108   | Valore medio        | Brickus, 1997       |
| 110   | -                   | Kemp, 1997          |
| 80  | Abitazioni nuove    | Reponen, 1992       |

ACGIH: American Conf. Of Government Industrial Hygienists

CHBS: California Healthy Buildings Study, Fisk, 1993

CIC: Cutter Information Corp.

CEC: Commission of the European Communities

#### **11.2.4. Frequenza del monitoraggio**

La periodicità di campionamento ed analisi, ove si svolgono attività laboratoristiche (manipolazione di campioni potenzialmente contaminati) è opportuno sia trimestrale per il primo anno.

Se durante questo periodo i risultati sono accettabili e costanti, si può optare per una periodicità almeno stagionale.

### **11.3. Monitoraggio delle superfici**

Per il monitoraggio dell'inquinamento da AB delle superfici presenti negli ambienti di lavoro si può ragionevolmente ritenere che sia sufficiente controllare la carica microbica totale.

---

### **11.3.1. Modalità di campionamento**

Per il campionamento delle superfici sono utilizzate le piastre “Rodac”, contenenti terreni di coltura solidi agarizzati idonei e specifici per i diversi microrganismi da ricercare. Nell’eventualità che si sospetti la presenza di disinfettanti sulla superficie in esame, il terreno di coltura deve contenere un agente inattivante.

Di norma, sono utilizzate piastre aventi una superficie utile di 24 cm<sup>2</sup>; la superficie del terreno di coltura di questo tipo di piastre presenta una leggera convessità; in questa maniera è possibile un contatto ideale tra terreno di coltura e superficie da controllare.

L’esecuzione pratica del prelievo segue la seguente procedura:

- togliere il coperchio della piastra “Rodac”
- capovolgere la parte contenente il terreno di coltura ed appoggiarla accuratamente sulla superficie da testare
- esercitare una leggera pressione per un tempo di circa 10 secondi
- l’operazione è conclusa con un leggero movimento rotatorio che facilita il distacco della piastra dalla superficie
- chiudere nuovamente di coperchio
- trasportare in laboratorio in un contenitore idoneo, incubare alla temperatura e per il tempo previsto.

Per il prelievo possono essere utilizzati anche altri presidi, come i tamponi, generalmente costituiti da un supporto rigido (asticciola di sezione circolare di legno metallo o plastica): un’estremità di questo supporto è completata con un avvolgimento di cotone o con altri materiali fibrosi come gli alginati, che sono facilmente solubili e quindi consentono di recuperare tutto il materiale raccolto dal tampone, che per il prelievo è strisciato con l’estremità ricoperta dal materiale fibroso sulla superficie da esaminare.

L’uso dei tamponi è consigliato quando la superficie non è liscia o, a causa della conformazione fisica, la parte da campionare non è facilmente raggiungibile.

Un altro sistema utilizzabile è lo “sponge-bags”, termine generico che individua spugnette sterili, montate o meno su supporto con manico asportabile dopo il prelievo, contenute in sacchetti sterili sigillati che vengono poi “strisciate”, dopo imbibizione con liquido sterile (soluzione tampone o soluzione fisiologica) sulla superficie da verificare delimitata (es. 100 x 100 mm) mediante, ad esempio, sistema d’acciaio sterilizzabile e reinserte nell’apposito sacchetto, chiuso con alette. Tali sistemi sono, di norma, corredati di certificato di qualità che riporta il dato di “recupero” per alcuni microrganismi (fertilità), il test di sterilità e d’inibizione. In commercio sono disponibili sistemi già preliminarmente imbevuti di liquido sterile es. tampone fosfato.

### **11.3.2. Metodi di prova**

Il campionamento, è descritto dalla norma UNI EN ISO 14698:2004 mentre le analisi dei singoli parametri sono condotte incubando piastre di agar nutritivo (ad esempio PCA Plate Count Agar o TSA Tryptic Soy Agar) addizionato con un prodotto in grado di neutralizzare l’azione di eventuali residui di disinfettanti o batteriostatici utilizzati per la decontaminazione.

#### Carica microbica totale

- capovolgere la piastra in modo che il terreno venga messo a contatto con la superficie da controllare mediante una leggera pressione per un tempo di 10 secondi,
- incubare a 30° ± 1°C per 48 ± 2 ore.

### **11.3.3. Valori accettabili**

Per quanto riguarda il monitoraggio delle superfici non esistono indicazioni di legge in merito ai valori che si possono considerare accettabili. Dalla bibliografia di settore e dall’esperienza appresa monitorando settimanalmente le superfici dei laboratori ove si svolgono analisi microbiologiche, è ritenuta accettabile una carica microbica totale non superiore a 50 UFC/piastra (24 cm<sup>2</sup>).

### **11.3.4. Frequenza del monitoraggio delle superfici**

Per le superfici dei laboratori, ove si esercita attività analitica con campioni infetti o potenzialmente infetti, si ritiene ragionevole che la verifica della carica inquinante sia svolta trimestralmente.

Il significato di questo controllo è quello di verificare l’adeguatezza e l’efficacia delle pratiche di pulizia e disinfezione.

La periodicità dei controlli può diventare semestrale, qualora non siano superati i valori limite per quattro monitoraggi trimestrali successivi, cioè per un anno.

---

## 11.4. Monitoraggio impianti idrici e di condizionamento per Legionella

L'acqua potabile trattata per produrre "acqua calda sanitaria" può essere veicolo per la diffusione di specifici microrganismi pericolosi per l'essere umano quali Legionella. Tale microrganismo è largamente presente nel mezzo idrico, è contraddistinto da elevata patogenicità per l'organismo umano e si diffonde tipicamente per via aerea; tale caratteristica accentua la sua pericolosità.

La presenza di impianti di condizionamento corredati di sistema di umidificazione o l'uso di docce può indurre la formazione di aerosol, che è potenziale veicolo di Legionella.

### 11.4.1. Modalità di campionamento e valori accettabili

Le modalità di esecuzione dei campionamenti, i terreni di coltura e le tecniche di analisi, nonché i riferimenti a valori considerati accettabili sono contenuti nei seguenti documenti:

- "Linee Guida per la prevenzione ed il controllo della Legionellosi", del 04.04.2000, pubblicato nella Gazzetta Ufficiale (Serie Generale) n. 103 del 05.05.2000
- "Linee Guida recanti indicazioni sulla Legionellosi per i gestori di strutture turistico - ricettive e termali", provvedimento del 13.01.2005 pubblicato nella Gazzetta Ufficiale (Serie Generale) n.28 del 04.02.2005 e ripubblicato nella Gazzetta Ufficiale (Serie Generale) n. 51 del 03.03.2005.
- ISO 11731: 1998 - Water quality – Detection and enumeration of Legionella.
- UNI EN ISO 11731-2:2008 - Qualità dell'acqua. Ricerca e conta di legionella – Parte 2: metodo per filtrazione diretta su membrana per acque a basso contenuto batterico

### 11.4.2. Metodi di prova nella matrice acqua e aria ambiente per la ricerca della Legionella

Per quanto riguarda la ricerca di Legionella in matrice acquosa (acqua calda sanitaria) la normativa nazionale di riferimento (documento del 04.04.2000) dettaglia sia le modalità di campionamento sia le fasi analitiche; è possibile applicare anche altri metodi normati internazionali in funzione, ad esempio, della carica microbica attesa.

La matrice aria ambiente non è citata nella normativa né sono disponibili metodologie normate. Per la determinazione di Legionella in tale matrice ci si avvale, sia per il campionamento sia per la determinazione, delle modalità descritte in Rapporti ISTISAN 04/16 (ISSN 1123-3117) "Un'epidemia di legionellosi nel IX Municipio del Comune di Roma" - Rapporto dell'indagine epidemiologica e ambientale - pag. 4.

In generale l'approccio analitico per la matrice acquosa si basa su:

- Concentrazione (per centrifugazione o mediante filtrazione) di un litro d'acqua
- Risospensione del concentrato in un volume noto che di norma corrisponde a 10 ml d'acqua derivante dallo stesso impianto idrico
- Trattamento di purificazione (acido e/o al calore)
- Semina su terreno di coltura selettivo: GVPC o MWY
- Incubazione dei terreni di coltura a 36 - 37°C per 10 giorni in aerobiosi, in ambiente umido e, preferibilmente, in atmosfera arricchita di CO<sub>2</sub> al 2.5%
- Conferma delle colonie tipiche mediante isolamento su terreno specifico, con L-cisteina (BCYE) e su terreno privo di L-cisteina e incubazione per 48 ore a 37°C
- Identificazione mediante agglutinazione al lattice e agglutinazione diretta su vetrino

I terreni consigliati per la preparazione delle piastre da utilizzare per la verifica della contaminazione dell'aria sono gli stessi utilizzati per la matrice acquosa e, conseguentemente, sono analoghe le modalità e i tempi d'incubazione.

Di recente è stata affiancata alla tecnica colturale quella in biologia molecolare, Real Time PCR che si basa sul rilevamento del DNA amplificato mediante lettura della fluorescenza di specifiche sonde marcate con fluorofori, sonde incorporate durante la fase di amplificazione del DNA.

Si tratta di una tecnica molto sensibile in quanto consente di rilevare anche le Legionelle presenti all'interno d'amebe e quelle "stressate" e quindi difficilmente coltivabili. Tuttavia, tale metodologia non è ancora riconosciuta e non è ancora completamente validata.

Inoltre, non è ancora disponibile la correlazione tra le UFC (unità formati colonia), relative al metodo colturale, e le UG (unità genomiche) relative al metodo in biologia molecolare.

---

### ***11.4.3. Frequenza del monitoraggio***

Almeno annuale ove sono presenti docce e/o impianti di condizionamento corredati di sistema diumidificazione.

## **11.5. Monitoraggio ambientale per le attività territoriali svolte dalle Agenzie**

Il controllo degli AB nell'ambito delle attività in esterno, per quanto teoricamente possibile, in questo momento non è messo in pratica nella routine. Quando ci si reca in siti presidiati è necessario chiedere il Documento di Valutazione dei Rischi per poter essere informati sui rischi presenti, sia di natura biologica sia degli altri rischi. Ciò consente di tutelare l'operatore e di definire in modo più accurato e fattivo il monitoraggio da condurre.

Il rischio biologico è, di norma, gestito operando sinergicamente e contestualmente sui seguenti fattori:

- conoscenza dell'ambito oggetto di verifica/campionamento/sopralluogo
- definizione di procedure dettagliate per lo svolgimento dell'attività specifica
- comportamenti congrui al rischio presente e alle procedure
- adeguata attrezzatura
- adeguati DPI

---

## 12.GLOSSARIO DEI TERMINI

### A

#### ACIDI NUCLEICI

In essi risiedono le informazioni genetiche dell'individuo vivente, sono trasmessi alle generazioni successive. Sono presenti in tutti nuclei cellulari.

Chimicamente sono macromolecole, polimeriche lineari, in altre parole, polimeri di nucleotidi.

Ciascun nucleotide è formato da:

- uno zucchero (ribosio o desossiribosio)
- una base azotata (basi puriniche – adenina, guanina; basi pirimidiniche – citosina, timida, uracile)
- gruppi fosfato

Due sono gli acidi nucleici

- DNA (acido desossiribonucleico)
- RNA (acido ribonucleico)

#### ALLERGENE

Sostanza in grado di provocare una reazione allergica iperimmune. Generalmente sono sostanze innocue per la maggior parte degli individui, mentre sono pericolose per gli individui detti allergici nei quali la reazione immunologica produce manifestazioni più o meno serie quali asma, orticaria, eczema, rinite, bronco spasma, febbre, ecc.

Le sostanze allergeniche (allergeni) penetrano nell'individuo in maggior misura attraverso le vie respiratorie provocando lì le maggiori patologie: pollini, feci degli acari domestici, forfora e peli d'animali, spore di miceti.

Altri allergeni, sono assimilati con gli alimenti, il cibo che più degli altri è messo in discussione nelle reazioni allergiche, in particolare: fragole, banane, pesche, kiwi, pesce, molluschi e crostacei.

Gli allergeni sono anche rappresentati da farmaci, oppure sono sostanze comunemente impiegate nella vita di tutti i giorni (prodotti cosmetici fibre e tessuti per l'abbigliamento, detersivi e saponi, cere e sostanze per uso professionale).

È importante ricordare che teoricamente ogni sostanza potrebbe provocare una reazione allergica in soggetti ipersensibili.

#### ALLERGIA

Alterazione del sistema immune, che ha come caratteristica un'iperattività al contatto con specifiche sostanze, detti allergeni.

La reazione è determinata da anticorpi **IgE** prodotte in un primo contatto con l'allergene dalle plasmacellule, che fissati ai mastociti alla successiva esposizione rilasciano dei mediatori chimici (amine vasoattive e citochine, capaci d'indurre modificazioni funzionali in organi e tessuti).

#### AMASTIGOTA

È una caratteristica dei protozoi parassiti che possono assumere due forme morfologiche di cui una è quella amastigote priva di flagello, non mobile, che vive entro la cellula parassitata. L'altra forma è quella libera dotata di flagello, quindi mobile.

#### AMINOACIDI

Molecole che organizzano strutture più complesse: le proteine.

#### AMSTRONG (Å)

Misura di lunghezza corrispondente a  $10^{-10}$  metri.

#### ANAFILASSI

La parola anafilassi deriva dal greco: da *va-/ana* + *φύλαξις/phyllaxis* che significa iperprotezione.

È una reazione che succede ad un individuo ipersensibile o allergico verso una sostanza antigenica detta allergene, alla quale è stato esposto, per contatto, ingestione, inalazione, inoculazione.

Affinché possa avvenire la reazione, il soggetto deve essere già stato esposto in precedenza allo stesso antigene.

Lo shock anafilattico è la forma più grave e potente delle reazioni anafilattiche.

La gravità della reazione anafilattica è definita dalla scala di Mueller che distingue i seguenti gradi:

- 
- 0: reazione cutanea senza significato clinico
  - I: sintomi generali (vertigine, cefalea, angoscia) + reazioni cutanee
  - II: oltre a 0+I, caduta della pressione arteriosa, tachicardia, sintomi gastrointestinali
  - III: oltre a 0+I+II broncospasmo
  - IV: arresto cardiorespiratorio.

### **ANABOLISMO**

Meccanismo fisiologico che partendo da molecole semplici, produce quelle più complesse.

### **ANEMIA**

Il termine in greco significa *senza sangue*, la condizione anemica corrisponde alla diminuzione della concentrazione nel sangue di emoglobina (molecola che trasporta ossigeno contenuta nel globulo rosso o emazia) rispetto alle condizioni ritenute normali per la maggioranza della popolazione. Si ritiene prudentemente anemico l'individuo maschio con emoglobina < a 13 g % ml, la donna <12 g % ml.

L'anemia può essere provocata dalla:

- perdita di globuli rossi,
- dalla ridotta produzione di globuli rossi,
- dalla ridotta produzione di emoglobina.

### **ANTIGENE**

Costituisce l'antigene ogni sostanza o molecola capace, se penetrata in un organismo, di stimolare la produzione di anticorpi specifici contro quella molecola.

L'antigene per essere tale deve possedere alcune peculiarità:

1. essere estraneo all'organismo.
2. essere una molecola complessa e di grandi dimensioni: elevato peso molecolare.
3. essere in grado d'indurre una risposta immunitaria, umorale e/o cellulare.
4. essere riconoscibile dagli anticorpi specifici o dagli specifici recettori posti sulla superficie cellulare di linfociti T e B.
5. deve diffondere lentamente perché nell'organismo sia stimolato il sistema immunologico, quindi non deve nemmeno essere eliminata troppo velocemente.

### **ANTICORPO**

È una proteina detta anche immunoglobulina, prodotta su stimolazione di un antigene che con esso è in grado di reagire.

### **APLOIDE**

Si riferisce al corredo cromosomico di una cellula, quando è rappresentato solo da un cromosoma per ogni coppia presente nella cellula diploide.

Alcune cellule (gameti) hanno un numero di cromosomi ridotto a metà rispetto alle altre cellule.

Il numero di cromosomi che è caratteristico della specie sarà ripristinato al momento della fusione dei due gameti che contengono ognuno la metà dell'intero patrimonio.

### **APOPTOSI**

Dal greco che significa "la caduta dei petali e delle foglie". Nel 1972, John F. Kerr, Andrew H. Wyllie e A. R. Curie indicarono con questo termine una forma di morte cellulare programmata.

### **ASCARIS LUMBRICOIDES**

Sono vermi cilindrici (nematodi) elminti pluricellulari eucarioti, vivono all'interno dell'intestino nuotando contro la corrente del liquido digestivo. Raggiungono la lunghezza di 20 – 30 cm, la trasmissione dell'infestazione avviene con le uova ingoiate che si trovano nel terreno contaminato dalle feci.

### **ASMA**

Reazione allergica che provoca broncospasmo.

### **AUTOIMMUNE, REAZIONE**

Reazione allergica contro organi e tessuti propri dell'organismo.

---

## **B**

### **BASI AZOTATE**

In generale nella chimica è detta base azotata qualsiasi composto con proprietà basiche, determinata dalla presenza su un atomo di azoto di una coppia di elettroni non condivisa.

Più precisamente in biochimica per base azotata s'intende una delle cinque basi che compongono i nucleotidi degli acidi nucleici (DNA ed RNA) e distinte in basi Purine e basi Pirimidine.

- Purine: Adenina, Guanina.
- Pirimidine: Citosina, Timida, Uracile.

DNA e l'RNA sono costituiti dalle stesse basi con l'eccezione per RNA che in più ha l'Uracile.

Il DNA presenta un doppio filamento, perciò esiste un legame accoppiato fra basi azotate.

Nell'RNA esistendo un solo filamento le basi non sono tra loro legate.

Le coppie di basi che si formano nel DNA sono:

- adenina – timina,
- citosina – guanina.

### **BLEFAROPLASTO**

Piccolo corpicciolo, situato in genere alla base di ciglia o flagelli di protozoi; si origina nel citoplasma, dalla divisione del primitivo centrosoma. È responsabile del movimento dei flagelli stessi. È anche noto con i nomi di *corpo* (o *granulo*) *basale* o *nucleo cinetico* o *centriolo*.

### **BIOLOGIA MOLECOLARE**

Studia i meccanismi molecolari che sono decisivi per la fisiologia degli esseri viventi.

In particolare studia le interazioni fra le macromolecole (proteine ed acidi nucleici: DNA e RNA).

La biologia molecolare si avvale di tecniche per la rilevazione, l'analisi, la manipolazione, l'amplificazione (Polymerase Chain Reaction, PCR) e la copia o clonazione di queste macromolecole.

## **C**

### **CAPILLARI**

Sono vasi sanguigni molto piccoli, di calibro 5µm, inferiore a quello di un'emazia (6-8µm); rappresentano l'ultima parte della rete sanguigna, che termina il percorso delle arterie ed inizia quello di ritorno delle vene.

Le pareti dei capillari non hanno fibre muscolari, ma sono composte di un singolo strato cellulare che poggia su una membrana basale. La posizione anatomica e la costituzione fisica consente loro di fungere da scambiatori di gas e di elementi nutrienti tra il sangue ed i tessuti.

### **CARICA INFETTANTE O INFESTANTE**

È la minima carica, il minimo numero di AB (batteri, virus, parassiti, funghi) in grado di provocare malattia in caso di esposizione.

### **CATABOLISMO**

È la funzione fisiologica nell'organismo vivente che degrada in molecole più semplici le molecole complesse assorbite con l'alimentazione. Il processo di degradazione produce energia.

### **CATABOLITI**

Molecole prodotte dal catabolismo.

### **CELLULA**

Dal latino "piccola camera". È l'unità fondamentale costituente tutti gli esseri viventi. È la più piccola struttura definibile come vivente.

### **CELLULE EFFETTRICI (linfociti)**

Sono cellule capaci di produrre anticorpi e mediatori chimici.

### **CESTODE (elminta)**

Gruppo di vermi parassiti dell'intestino, talvolta anche d'altri organi. Sono acquisiti dall'ospite con il consumo carni di maiale o di bovino.

I cestodi sono Platelmini, ovvero vermi piatti, hanno un corpo metamerico, ogni parte è detta proglottide.

---

La parte cefalica, detta scolice, è costituita da una “testa” che è dotata d’organi adesivi ventose e/o uncini per fissarsi alle pareti intestinali.

Le dimensioni sono molto variabili, da diversi metri a pochi millimetri. La riproduzione avviene attraverso un ospite intermedio che inghiotte le uova espulse all’esterno dall’ospite definitivo o che inghiotte tutta la proglottide.

### **CITOCINE**

Sono molecole proteiche prodotte da vari tipi di cellule del sistema immunologico e secrete nel mezzo circostante come risposta ad uno stimolo. Sono in grado di modificare il comportamento di altre cellule inducendo nuove attività come crescita, differenziazione e morte.

La loro azione di solito è locale, ma talvolta hanno un effetto su tutto l'organismo. Le citochine possono quindi avere un effetto autocrino (modificano il comportamento della stessa cellula che l'ha secreta), o paracrino (modificano il comportamento di cellule adiacenti).

Alcune citochine possono invece agire in modo endocrino, modificano cioè il comportamento di cellule molto distanti da loro. Hanno una vita media di pochi minuti.

### **CISTICERCHI**

Formazione del parassita cestode presente nei tessuti dell’ospite intermedio, bovino, suino o essere umano se ingerisce direttamente le uova del cestode.

### **CHEMIOTATTICI**

Sono sostanze di provenienza endogena all’organismo oppure esogena.

Sono fattori estraibili dai batteri, secreti dalle cellule o provenienti dai tessuti lesi.

I più importanti sono generati dal complemento e sono detti anafilotossine. Alcuni fattori chemiotattici agiscono specificamente dirigendo la migrazione di specifiche cellule.

### **CROMATINA**

È la regione più densa presente nel nucleo delle cellule eucariote. È costituita dagli acidi nucleici in particolare DNA avvolto su gruppi di proteine basiche dette istoni.

### **CROMOSOMA**

Presente nel nucleo delle cellule eucariote, è evidente in determinate fasi della vita cellulare.

È composto di un filamento a doppia elica di DNA sul quale sono residenti i geni che portano l’informazione ereditaria.

Ogni specie vivente ha un numero di cromosomi che è specifico per quella specie. Nelle cellule diploidi i cromosomi sono presenti in coppie simili ad eccezione per la coppia cromosomica sessuale che presenta nei cromosomi sessuali maschili una differenza morfologica; in alcune classi animali (uccelli) od ordini (lepidotteri) la coppia di cromosomi non uguali è nel sesso femminile.

Le cellule aploidi generalmente sono gameti che hanno un numero di cromosomi pari alla metà di quello delle cellule diploidi.

### **CROSSING OVER**

È lo scambio di porzioni di materiale genetico (DNA) di uno stesso cromosoma, oppure di cromosomi diversi della stessa coppia o di un'altra coppia.

Il fenomeno avviene durante la meiosi (maturazione dei gameti) ed è un importante meccanismo per il rimescolamento del materiale genetico che permette di ottenere una maggiore variabilità degli individui ottenuti con la riproduzione sessuale.

### **COLLOIDE**

Si riferisce allo stato di una sostanza nella fase finemente dispersa (diametro da  $10^{-9}$  m a  $1 \mu\text{m}$ ) in un'altra in fase continua.

### **COMA**

Condizione patologica di un individuo che ha perduto le facoltà cerebrali superiori, la mobilità, la sensibilità. Sono conservate in questo stato le funzioni vitali o vegetative della respirazione e della circolazione sanguigna.

---

## COMPLEMENTO

È un fattore complesso, costituito da almeno 20 proteine con attività enzimatica, contenuto nel plasma sanguigno e destinato a svolgere un'importante funzione nella risposta immune e in altri processi fisiologici e patologici.

Il sistema del complemento è composto di due vie d'attivazione, una classica e una alternativa.

La via classica è attivata con l'esposizione al fattore C1 del complesso antigene-anticorpo.

Termina con la formazione di un complesso enzimatico.

La via alternativa è attivata da endotossine batteriche, virus, funghi, anche in assenza di anticorpi specifici, o da complessi antigene-anticorpo. È in grado di richiamare e attivare i granulociti e i monociti, (vedi alla voce chemiotassi), di preparare i microrganismi alla fagocitosi (opsonizzazione) e di causare la lisi osmotica delle cellule patologiche, o eventualmente di quelle normali, producendo così gravi danni ai tessuti.

## D

### DIAPEDESI

È il processo attraverso cui i leucociti attraversano le pareti dei vasi sanguigni, in risposta ad mediatori chimici prodotti in seguito ad infiammazione di un distretto anatomico.

Essa è limitata alle venule, non ai capillari; l'unica eccezione è costituita dai capillari polmonari.

Per assolvere la funzione immunitaria le cellule della serie bianca devono potersi trasferire dal torrente circolatorio all'interstizio sottoendoteliale dei vasi.

La loro migrazione prevede essenzialmente quattro fasi diverse: aggancio (o rolling), attivazione degli stessi leucociti, adesione salda all'endotelio del vaso e diapedesi, che è il vero e proprio passaggio attraverso la parete del vaso. La migrazione delle cellule immunitarie avviene in modo tessuto-specifico.

### DIVISIONE CELLULARE

È l'importante processo durante il quale una cellula genitrice si divide in due cellule figlie.

Questa divisione porta alla moltiplicazione cellulare.

Esistono fondamentalmente due tipi di divisione cellulare all'interno delle quali possiamo verificare una varietà di modi di scissione cellulare:

- Divisione asessuata o per via vegetativa
  - fissione *binaria*: è la forma di riproduzione degli organismi procarioti. La fissione riduce la cellula genitrice in due metà, indipendenti, in possesso dello stesso corredo genetico della cellula genitrice. Le due parti che sono cellule complete, ma di volume ridotto rispetto alla cellula originale, crescono fino a raggiungere le dimensioni della cellula madre.
  - *mitosi*: è il processo di divisione nucleare della cellula madre in due nuclei figli contenenti lo stesso patrimonio genetico della cellula madre.
  - *divisione multipla*: da una cellula madre si possono ottenere per divisione più di due cellule figlie con lo stesso corredo cromosomico (es. merozoiti della malaria entro le emazie).
  - *gemmazione*: formazione che si estroflette sul corpo della cellula madre per formare una cellula figlia che ad un certo momento della crescita si stacca e prende vita autonoma (es. lieviti).
  - *frammentazione*: una cellula madre si rompe in più parti dando origine a cellule autonome dopo il periodo necessario a ricostruire tutte le parti per ottenere una cellula completa (es. ife dei miceti).
  - *rigenerazione*: in seguito a perdite di parti biologiche le cellule rigenerano le parti mancanti (es. vegetali, appendici del corpo di animali).
- Divisione sessuata
  - *Mitosi*: processo di divisione del nucleo della cellula madre in due nuclei figli con duplicazione dei cromosomi; alla fine del processo ogni cellula figlia contiene un corredo cromosomico identico a quello della cellula madre in numero e caratteristiche genetiche. Nel processo mitotico si possono riconoscere fasi distinte evidenziabili dal diverso stato dei cromosomi e sono dette: interinesi, profase, metafase, anafase, telofase.
    - *Intercinesi o interfase*: fase che precede la mitosi; i cromosomi non sono visibili perché il filamento del DNA è despiralizzato, la sua sottigliezza rende difficile il riconoscimento.
    - *Profase*: si evidenziano due centrioli migranti ai poli della cellula che sottendono le fibre del fuso acromatico su cui si attaccheranno i cromosomi. In questa fase i cromosomi sono già duplicati e si rendono visibili perché il filamento del DNA è spiralizzato divenendo più denso e quindi visibile.
    - *Metafase*: la membrana del nucleo non è visibile, manca una compartimentazione tra il nucleo ed il citoplasma appunto per la dissoluzione della membrana nucleare. I cromosomi

- 
- ora in numero doppio e disposti in posizione equatoriale dentro la cellula sono attaccati, con il centromero, ai filamenti del fuso acromatico alle cui estremità si trovano i centrioli ormai giunti alla posizione estrema della migrazione.
- **Anafase:** fase in cui ogni corredo cromosomico (il numero delle coppie di cromosomi che contraddistingue la specie, animale o vegetale, cui appartiene la cellula) è tirato dalle fibre del fuso verso le estremità verso i centrioli; inizia lo strozzamento della cellula che porterà alla divisione della cellula madre in due cellule figlie.
  - **Telofase:** fase di divisione della cellula in due cellule figlie, ricompare la membrana nucleare nelle due cellule figlie, i cromosomi si despiralizzano.
  - o **Meiosi:** è la divisione e moltiplicazione delle cellule sessuali o gameti. Consta di due successive mitosi, ma nella fase intercinetica fra i due processi non c'è despiralizzazione dei cromosomi e quindi duplicazione dei filamenti di DNA. La successiva "mitosi" riduce il numero di cromosomi a metà, vale a dire da un numero di cromosomi *diploide* si passa a cellule con numero *aploide* di cromosomi: con la fusione ed unione dei gameti (aventi ognuno metà del patrimonio cromosomico) si ristabilisce il numero del corredo cromosomico della specie.

### **DNA (acido desossiribonucleico)**

È un **acido nucleico**, contiene le informazioni genetiche (geni) necessarie alla biosintesi di

- RNA,
- proteine,

molecole indispensabili per lo sviluppo ed il corretto ed il fisiologico funzionamento degli organismi viventi. Chimicamente, il DNA è un **polimero** organico costituito da monomeri chiamati nucleotidi.

Tutti i nucleotidi sono costituiti da tre elementi fondamentali: un **gruppo fosfato**, il **desossiribosio** (zucchero a 5 atomi di carbonio) e una **base azotata**: *adenina, guanina, citosina, timina*.

Nelle cellule eucariote il DNA è all'interno del nucleo in strutture chiamate cromosomi. Negli altri organismi, privi di nucleo, esso può essere organizzato in cromosomi o meno.

### **DIPHYLIDIUM CANINUM**

Elminta cestode, parassita intestinale dell'individuo; viene contratto ingerendo pulci del cane e del gatto infestate con larve del parassita.

Le capsule ovigene prodotte dal verme adulto nell'intestino dell'essere umano, una volta emesse all'esterno, sono ingerite dalle larve delle pulci del cane o del gatto, si sviluppano nella cavità celomatica dell'artropode e una volta ingerite, completano lo sviluppo nell'intestino umano.

### **DIPLOIDE**

Si riferisce al corredo cromosomico, ovvero il numero caratteristico di cromosomi della specie a cui appartiene la cellula, formato da coppie di cromosomi a due a due uguali con eccezione della coppia di cromosomi sessuali che possono essere diversi.

### **DRACUNCULUS MEDINENSIS**

Verme parassita nematode, dal corpo a sezione rotondeggiante. Nello stadio adulto può raggiungere la lunghezza di qualche centimetro per il maschio e 70-80 cm la femmina.

Le femmine adulte gravide sono disposte nel sottocute degli arti di un umano con la parte caudale che sbocca all'esterno. Quando l'individuo immerge in acqua la parte infestata dal parassita, quest'ultimo emette le larve che diffondono nell'acqua; qui sono ingerite da copepodi, entro i quali poi completano due mute.

L'individuo bevendo l'acqua ingerisce i copepodi e con loro le larve del parassita. Esse penetrano attivamente nella parete gastrica e duodenale, migrano nel tessuto connettivo sottocutaneo in particolare degli arti, dove completano la maturazione un anno dopo l'infestazione. Le femmine fecondate perforano la cute dell'ospite, per porre all'esterno la parte caudale ove si trova la cloaca, al fine di immettere le larve nell'acqua alla successiva immersione.

## **E**

### **ECHINOCOCUS GRANULOSUS**

Elminta parassita cestode dei cani domestici e canidi selvatici; l'essere umano, gli ovini, i caprini e i suini sono gli ospiti intermedi. Lunghezza da 2 - 7 mm.

La tenia adulta si trova nell'intestino tenue dell'ospite definitivo (canidi).

Le uova, emesse all'esterno dal parassita che colonizza l'intestino dei canidi, sono ingerite dagli ospiti intermedi (suini, caprini, ecc o accidentalmente l'uomo).

---

Le larve parassite si localizzano nell'ospite intermedio, nel fegato, polmoni, ed in altri organi e tessuti, formando una cisti idatidea ricca di protoscolici.

I canidi, mangiando la carne d'animali parassitati (ospiti intermedi) s'infestano, mentre l'individuo contrae la parassitosi mangiando la carne degli ospiti intermedi o dalle feci dei canidi.

### **ECHINOCOCUS MULTILOULARIS**

Parassita cestode di piccole dimensioni 2 - 4 mm; ha come ospiti definitivi volpi, cani e gatti. Le uova depositate sul terreno con le feci di questi animali infestano roditori (ospite intermedio) che inghiottono cibo contaminato con le uova; esse si schiudono e l'embrione migra al fegato per via portale, e assumono una forma cistica alveolare.

Le volpi, i cani e i gatti cibandosi dei roditori acquisiscono il parassita che si fissa nell'intestino.

L'essere umano può diventare ospite intermedio assumendo con il cibo contaminato con feci contenenti le uova di Echinococcus.

### **ECZEMA**

È una reazione infiammatoria del derma, ad eziologia immunitaria irritativa, pruriginosa e non infettiva.

Si può presentare come un insieme di piccole macchie rosse, o foruncoli a gruppi.

Può essere anche una manifestazione di un'allergia alimentare.

### **ECZEMA DA CONTATTO**

È una dermatite allergica, reazione infiammatoria della pelle causata da ipersensibilità verso alcune molecole.

### **EDEMA**

È rappresentato dalla raccolta di liquidi negli spazi interstiziali con conseguente gonfiore della parte coinvolta.

Il gonfiore, come rilevanza ed estensione, dipende dalla quantità di liquido che si raccoglie nei tessuti.

### **EMAZIA, ERITROCITA, o GLOBULO ROSSO**

È una cellula del sangue, prodotta dal midollo osseo, che raggiunta la maturità è priva del nucleo (emazia).

L'emazia contiene un pigmento dalla molecola molto complessa, l'emoglobina., La funzione del globulo rosso è quella di trasportare l'ossigeno (O<sub>2</sub>), che si lega all'emoglobina e viene rilasciato nei capillari a contatto dei tessuti quando il globulo rosso transita negli alveoli polmonari .

Rilasciando l'ossigeno l'emoglobina lega l'anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) prodotta dai tessuti e la trasporta agli alveoli polmonari dove è rilasciata per essere espirata. La vita dell'emazia è mediamente di 120 gg.

### **EMOGLOBINA**

Molecola complessa presente all'interno dei globuli rossi, che conferisce a queste cellule il caratteristico colore rosso.

Ha la funzione di legare l'ossigeno o l'anidride carbonica negli scambi gassosi fisiologici fra polmoni e tessuti.

### **EMOGLOBINURIA**

Presenza d'emoglobina nelle urine.

### **ENERGIA CHIMICA**

È un'energia prodotta dalla formazione o rottura di legami chimici.

### **ENDOGENO**

Si riferisce ad un prodotto, agente, o altra formazione sita dentro l'organismo.

### **ENTAMOEBIA HISTOLYTICA**

È un protozoo parassita dell'intestino, responsabile di una colite con una sintomatologia caratterizzata da diarrea intensa. Altre volte l'Entamoeba diventa invasiva e forma delle lesioni cistiche in altri organi: fegato, cervello, polmoni ecc.

Si contrae ingerendo alimenti o acqua inquinata con cisti d'ameba. Normalmente le cisti si aprono nell'intestino ed assumono la forma vegetativa. Trasportate all'esterno, con le feci, assumono la forma cistica che rappresenta una forma di resistenza all'ambiente, in quella forma biologica possono sopravvivere molto tempo nell'attesa dell'ospite.

---

## **ENZIMA**

Dal greco en zýmō (nel lievito), è una molecola proteica in grado di catalizzare (catalizzatore biologico) una reazione chimica, ovvero di abbassare l'energia di attivazione di un processo chimico e quindi di accelerare una reazione senza intervenire sui processi chimici.

## **EUKARYOTA (o eucariote, eucariota, o eukarya)**

La parola deriva dalla fusione dei due termini greci "Eu", "bene" e "Carion", "nucleo".

## **ESCRETO**

Sostanze e materiali eliminati da un organismo, generalmente sostanze di rifiuto.

## **ESOGENO**

Si riferisce a tutto ciò che proviene dall'esterno dell'organismo.

## **ESSUDATO**

Liquido che si forma in conseguenza di un'inflammazione.

## **F**

### **FAGOCITOSI**

È la capacità posseduta da diverse cellule di inglobare materiali estranei e di digerirli.

### **FIBROSI CICATRIZIALI**

È la formazione di cicatrici di tessuto connettivo, più o meno estese, come conseguenza inevitabile di lesioni tessutali; essa presenta sempre un'organizzazione più disordinata del tessuto originario.

### **FLAGELLI**

Sono filamenti posseduti dai batteri ed usati per le funzioni motorie del microrganismo.

I flagelli sono costituiti da flagellina che è una proteina, sono fissati sia alla membrana sia alla parete batterica. Il tratto entro la cellula batterica è dritto e posto perpendicolarmente alla superficie cellulare, all'uscita si piega a 90° e forma una sorta d'uncino, mentre la parte distale è libera.

Per compiere il movimento il flagello ruota similmente ad un'elica e trascina il corpo batterico in maniera casuale o mirata.

La disposizione ed il numero dei flagelli consente di classificare i batteri anche da questa specifica attribuzione.

- Monotrichi = 1 solo flagello polare.
- Anfitrichi = 1 flagello alle due estremità polari.
- Lofotrichi = 1 ciuffo di flagelli alle due estremità polari.
- Peritriche = l'intero corpo batterico è circondato da flagelli.

## **G**

### **GENE**

I caratteri di un organismo sono il risultato del possesso dei geni che rappresentano l'unità fondamentale dell'eredità genetica degli organismi viventi.

I geni corrispondono a precisi tratti d'acido nucleico DNA, raramente di RNA.

### **GLICOLISI**

È un processo metabolico durante il quale una molecola di glucosio è trasformata mediante scissione in ambiente di anaerobiosi non stretta in due molecole di piruvato, passaggio intermedio per ottenere molecole ad alta energia come ATP (adenosintrifosfato) e NADH (nicotinammide adenina dinucleotide) in forma ridotta: la forma ossidata corrisponde a NAD.

### **GLICOPROTEINE**

È una proteina unita legata ad una parte formata da carboidrati: monosaccaridi semplici, catene più lunghe con legami con gruppi funzionali diversi.

La costituzione di alcune molecole di glicoproteine somiglia più ai glicidi come i mucopolisaccaridi.

Altre molecole sono più simili alle proteine come le mucoproteine.

---

## **GLOBULO ROSSO**

Vedi emazia

## **GOLGI, APPARATO DEL**

L'apparato è un organo intracellulare (Golgi 1898), costituito da membrane parallele immerse nel citoplasma, poste a formare cisterne appiattite.

È indispensabile nella fase finale di sintesi e secrezione delle proteine, inoltre partecipa alla sintesi dei polisaccaridi complessi.

Nei processi d'assorbimento dei lipidi prende parte nella produzione di lisosomi.

## **I**

### **IDROFILO**

dal greco dove hydros, "acqua", e philia, "amicizia).

È definita una sostanza o un elemento che ha la proprietà fisica di legarsi all'acqua o meglio di assorbirla sulla superficie o all'interno.

### **IDROFOBICO o IDROFOBO**

(dal greco hydros, acqua, e phobos, paura).

È definita la proprietà fisica di sostanze o elementi di respingere le molecole d'acqua, ovvero la proprietà di non assorbire l'acqua sulla superficie o all'interno.

Idrofobo può essere inteso come sostanza insolubile in acqua, o superficie non bagnabile.

Il termine idrofobico è anche sinonimo di lipofilo.

### **IFA**

Struttura filamentosa, tubolare, di diametro variabile.

### **INCUBAZIONE**

È riferita al periodo silente che segue l'esposizione ad AB e che precede la comparsa dei sintomi della malattia. Ha durata variabile.

### **INFEZIONE**

Il nome deriva dal latino "inficere" = approfondire, nel senso di invadere, penetrare. Indica la diffusione di AB in un ospite. Ciò significa che l'AB ha superato le difese dell'ospite ed è presente attivamente in quest'ultimo, provocando uno stimolo nel suo sistema immunitario di cui resta traccia nel tempo.

### **INFESTAZIONE**

Il nome deriva dal latino "infestare" = attaccare, riferendosi a parassiti con struttura più complessa pluricellulare o meno, che penetrano nell'ospite parassitato.

### **IMMUNITÀ**

Si riferisce alla protezione che un soggetto ha contro uno o più AB o antigeni.

L'immunità è conseguente al possesso da parte di un individuo biologico di specifici anticorpi o detti anche immunoglobuline capaci di riconoscere e legarsi specificatamente con specifici antigeni o AB

Un soggetto può acquisire in maniera diversa le immunoglobuline che conferiscono l'immunità.

### **IMMUNITÀ UMORALE**

Il sistema immunologico protegge l'individuo attraverso meccanismi immunitari naturali ed acquisiti.

Dentro questi sistemi le azioni immunitarie sono svolte da cellule (azioni immunitarie cellule mediate) o da elementi non cellulari, molecole biologiche come le immunoglobuline, il complemento, lisozima, ecc.

### **INFIAMMAZIONE o FLOGOSI**

Il tessuto anatomico danneggiato per l'azione d'agenti fisici, biologici o chimici, è protetto dall'azione aspecifica dell'infiammazione che tende con questo meccanismo eliminare la causa che ha provocato il danno.

La risposta infiammatoria è caratterizzata da una sequenza di fenomeni innescati dalla liberazione dei mediatori chimici endogeni della flogosi provocata dal danno tissutale.

La sequenza di delle manifestazioni fisiche sono:

- 
- vasodilatazione,
  - aumento della permeabilità capillare,
  - travaso di liquidi dai vasi al tessuto danneggiato con formazione dell'edema,
  - migrazione dei leuciti per diapedesi dai vasi al tessuto che è infiltrato nel punto della lesione.

Gli effetti visibili macroscopicamente dell'inflammazione sono:

- arrossamento della cute nella parte interessata,
- tumefazione, aumento del volume della zona interessata dalla flogosi,
- calda aumento della temperatura rispetto alle altre parti della cute, per maggior afflusso sanguigno,
- indolenzimento per la tensione a cui sono sottoposti i tessuti con l'edema,
- alterazione funzionale della zona infiammata.

Questi fenomeni fisici che contraddistinguono il processo flogistico hanno lo scopo di:

- eliminare la causa che ha prodotto il danno tessutale,
- diluire la causa che ha prodotto il danno,
- confinare l'agente che ha prodotto il danno.

Insieme a queste azioni sono messi in moto i meccanismi preposti a favorire la riparazione e/o sostituzione del tessuto danneggiato.

### **IPERSENSIBILITA'**

È un aspetto patologico del sistema immunitario di un individuo. Il sistema alla presenza di un determinato antigene risponde in maniera sovradimensionata provocando danni tessutali allo stesso individuo.

L'ipersensibilità è una caratteristica peculiare dell'individuo legata spesso al patrimonio genetico ereditario.

### **I POTENSIONE**

È un termine che si riferisce alla pressione sanguigna, quando è inferiore ai valori medi che si considerano normali per un individuo, tenendo conto dei parametri biologici della persona.

## **L**

### **LEUCOTRIENI**

Sono molecole lipidiche che intervengono nei processi immuni ed in quelli infiammatori (bronchite ed asma). Con la loro liberazione si libera contemporaneamente anche istamina che partecipa anch'essa ai fenomeni di infiammazione e di asma.

I leucotrieni svolgono un ruolo fondamentale della patofisiologia dell'asma, provocandone l'aggravarsi di sintomi quali:

- diminuzione dell'afflusso di aria alle vie respiratorie
- aumentata secrezione di muco
- accumulo di muco
- broncocostrizione

### **LIPOFILO**

Vedi Idrofobico

### **LISI CELLULARE**

Distruzione cellulare. Il processo di distruzione può avvenire per cause diverse, ma tutte hanno inizio con un attacco alla membrana cellulare che in qualche modo è lesa.

### **LISOSOMA**

(dal greco lysis, dissoluzione, e soma, corpo).

È una vescicola o un organulo intracitoplasmatico ricco di enzimi capace di idrolizzare quasi tutte le macromolecole biologiche, erappresenta una sorta di apparato digerente della cellula.

Dall'apparato del Golgi derivano i lisosomi primari che fondendosi con altre formazioni vescicolari danno luogo ai lisosomi secondari, contenenti materiali diversi anche di origine extracellulare e da processi di auto digestione

### **LIPOFOBO**

Vedi Idrofilo

---

## **M**

### **MACROFAGI**

Sono cellule circolanti presenti nel sangue, detti anche istiociti, fanno parte di una serie di cellule che intervengono nei processi infiammatori, sono detti genericamente fagociti di cui fanno parte anche i leucociti neutrofili ed i monociti.

Hanno la capacità d'inglobare nel loro citoplasma elementi estranei e digerirli.

### **MALATTIA**

È lo stato d'alterazione fisiologica di un organo o di un intero organismo di un soggetto, vale a dire una modificazione della normale equilibrata funzione di organi e tessuti.

### **MEMBRANA SIEROSA**

Sottili foglietti anatomici di tessuto biologico elastico, di aspetto lucente vascolarizzato che hanno la funzione di rivestimento e mantenimento della posizione degli organi o separare di parti anatomiche o chiusuradi orifizi.

### **METABOLISMO**

È un complesso di reazioni chimiche che si svolgono nell'organismo di un individuo o in un organo.

Il ruolo del metabolismo è quello di trasformare le molecole chimiche in energia.

### **METAMERICA SEGMENTAZIONE**

Si riferisce alla morfologia dell'organismo di diversi animali che presentano un corpo con ripetizione di parti uguali e che contengono anche le stesse unità funzionali.

### **MIOCARDITE**

Inflammazione localizzata del tessuto muscolare cardiaco con infiltrazione linfocitaria che produce un progressivo deterioramento del tessuto, che perde elasticità e quindi funzionalità.

Gli elementi che provocano l'inflammazione sono:

*chimici*: pH del sangue anomalo, ipersensibilità a farmaci, presenza nel sangue di sostanze estranee;

*fisici*: traumi toracici, aumento della viscosità ematica;

*biologici*: infezioni del miocardio da batteri o virus.

### **MITOCONDRI**

Organuli intracitoplasmatici presenti nelle cellule eucariote, di forma allungata reniforme, sono il luogo della respirazione cellulare; all'interno dei mitocondri si svolgono le reazioni chimiche che portano la cellula ad accumulare molecole energetiche (ATP, adenosintrifosfato).

## **N**

### **NUCLEOLO**

È un elemento cellulare presente nel nucleo come una regione particolarmente densa, priva di delimitazione o di membrana; esso è costituito da materiale genetico e proteine, in esso è prodotto l'RNA ribosomiale(RNA r), codificato da tratti di DNA.

### **NUCLEOTIDI**

Sono i monomeri degli acidi nucleici (RNA e DNA).

I nucleotidi sono formati da: una base azotata (purifica o pirimidinica), uno zucchero pentoso (cinque atomi di carbonio) ed un gruppo fosfato. Lo zuccheronell'RNA è il ribosio e nell'DNA è il desossiribosio.

### **NUCLEOSIDE**

È la parte del monomero degli acidi nucleici formato da uno zucchero e una base azotata.

## **O**

### **ONCOSFERA**

Rappresenta la fase larvale dei Platelminti ed in particolare di quelli della classe dei Cestodi.

---

Ogni larva è contenuta in un uovo che a sua volta è racchiuso nella proglottide matura che è la più distale rispetto allo scolice (testa).

L'embrione ha una forma ovoidale ed è provvisto di tre paia di uncini, ed è detta perciò larva esacanta.

### **OPSONIZZAZIONE /OPSONINE**

Per aumentare l'efficienza della fagocitosi alcune macromolecole, dette opsonine, vanno a ricoprire il corpo di un agente biologico; in questa maniera i recettori del fagocita individuano più facilmente l'elemento da digerire.

### **ORTICARIA**

È una patologia della cute, la quale è caratterizzata da piccole macchie, con pomfi e talvolta edemi.

### **OSMOSI**

L'osmosi è il passaggio spontaneo di un solvente (che nei sistemi biologici di solito è l'acqua) dalla soluzione in cui i soluti sono più diluiti a quella in cui sono più concentrati.

Questo movimento avviene attraverso una membrana semipermeabile e continua fino al raggiungimento di una situazione di equilibrio, in cui entrambe le soluzioni mantengono la stessa concentrazione.

## **P**

### **PERITONEO**

È una membrana sierosa mesoteliale che è presente nei vertebrati superiori, riveste la cavità addominale e pelvica ed avvolge gran parte dei visceri.

### **POMFO**

Rilevamento circoscritto edematoso del derma, con forma irregolare tondeggianti e liscio. Inizialmente il pomfo appare di colorito rosso roseo poi bianco ma con aloni rossastri e pruriginosi. Compare e scompare abbastanza rapidamente ed è caratteristico delle orticarie, delle punture d'insetti e dal contatto con vegetali urticanti.

### **PARASSITISMO**

Rappresenta un'interazione fra due organismi biologici di cui uno (parassita) vive utilizzando le risorse energetiche dell'altro detto ospite. Esistono diverse forme di parassitismo:

Parassitismo facoltativo: il parassita può vivere autonomamente senza parassitare altri individui per periodi più o meno lungo.

Endoparassitosi: è il parassitismo nel quale il parassita vive all'interno dell'organismo dell'ospite, stabilendosi in precisi organi anatomici, avendo raggiunto un alto grado di specializzazione per ottenere il massimo rendimento nel sito di parassitosi.

Ectoparassitosi: è il parassitismo in cui il parassita vive all'esterno dell'organismo ospite. Il rapporto è sempre in intimo contatto con la superficie: sulla cute sui peli, ecc. La specializzazione del parassita è particolarmente sviluppata per gli organi adesivi e l'apparato boccale.

Cleptoparassitismo: l'azione parassitica si attua attraverso il furto del cibo all'ospite.

La forma parassitoide: è una modalità di parassitismo che potrebbe confondersi con la predazione, il parassita sviluppandosi prima dell'ospite ne provoca la morte o lo utilizza come fonte d'energia.

Coparassitismo: è una forma di parassitismo sostenuta da due o più specie diverse di parassita.

Autoparassitismo: è una forma di parassitismo che può verificarsi negli animali vivipari, nei quali lo sviluppo dell'embrione si svolge nel corpo materno con gestazioni di più embrioni contemporaneamente. Il parassita si sviluppa a spese di un ospite della stessa specie.

### **PATOGENO**

Agente biologico in grado di determinare un processo morboso.

### **PATOGENICITÀ**

È la capacità di un agente biologico di causare nell'ospite sensibile un effetto patologico.

### **PATOGNOMONICO (SEGNO)**

È il segno caratteristico e tipico di una malattia.

---

## **PLATELMINTA**

Phylum rappresentato da vermi o elminti dal corpo appiattito dorso-ventralmente; sono presenti le classi: Turbellaria, Monogea, Trematodi, Cestoda.

## **PRESSIONE OSMOTICA**

La pressione necessaria a fermare il flusso di un solvente che attraversa una membrana semipermeabile che divide due soluzioni di differente concentrazione.

## **PLASMIDIUM FALCIPARUM**

È uno dei protozoi parassiti che provocano nell'essere umano la malaria. Il *P. falciparum* provoca una puntata febbrile ogni terzo giorno perciò la malattia è definita malaria terzana. Il parassita è trasmesso all'individuo da zanzare del genere *Anopheles* dopo aver compiuto un ciclo di sviluppo nella mucosa intestinale dell'insetto.

## **PLASMACELLULA**

Detta anche plasmocita, è una cellula del sistema immunitario preposta alla secrezione di quantità rilevanti di anticorpi. Le plasmacellule si differenziano da cellule comuni che sono i linfociti B sotto l'attivazione di uno o più antigeni e la partecipazione di altri linfociti (CD4+, CD4+ T helper).

## **PRIONE**

È considerato un agente biologico, nonostante la sua struttura sia esclusivamente proteica. L'origine del prione è determinata da un'alterazione della struttura tridimensionale di una proteina presente normalmente nei mammiferi. Possiede elevata capacità replicativa. Ha dimensioni più ridotte di quelle di un virus ed una notevole resistenza agli agenti fisici e chimici: è inattivato dal calore umido per un'ora a 132°C, da idrossido di sodio ed ipoclorito ad alte concentrazioni. Non è inattivato dal trattamento con fenolo, cloroformio, formaldeide e alcoli.

I prioni sono responsabili di rare, ma gravi e mortali patologie del sistema nervoso (encefalopatie): encefalopatie spongiformi trasmissibili (EST), malattia di Creutzfeldt-Jakob, sindrome di Gerstmann-Sträussler-Scheinker, insonnia fatale sporadica o familiare, Kuru. Negli animali: scrapie della pecora e della capra, Encefalopatia spongiforme bovina o BSE, trasmissibile all'individuo.

## **POLIMERO**

Dal greco πολυ- e μέρος, traducibile in "che ha molte parti"; è una molecola ad elevato peso molecolare (macromolecola) costituita da molte unità ripetitive uguali o diverse, unite dallo stesso tipo di legame in una catena continua.

## **PROTEINA**

È un polimero complesso composto da aminoacidi legati da un legame peptidica. La struttura spaziale delle proteine può assumere forme diverse fino a quelle tridimensionali.

## **R**

### **REAZIONE ALLERGICA**

È una reazione alterata eccessiva del sistema immunologico di un animale o di un essere umano alla presenza di una sostanza detta antigene, con la quale l'organismo è stato sensibilizzato durante un'esposizione precedente.

### **RNA (acido ribonucleico)**

È uno dei cosiddetti acidi nucleici, è presente nel citoplasma e nel nucleo delle cellule eucariote e costituisce anche il genoma di parte dei virus. Esso è costituito da una sequenza polimerizzata di nucleotidi, nei quali lo zucchero è costituito da un pentoso, il ribosio. Le basi azotate sono identiche a quelle del DNA tranne che la timina che è sostituita dall'uracile.

Sono state definite più forme di RNA secondo il ruolo svolto nella sintesi delle proteine.

*RNA messaggero*: nel nucleo copia l'informazione genetica trascrivendola dal DNA, quindi la trasferisce ai ribosomi, uscendo dal nucleo.

*RNA ribosomiale*: presente nei ribosomi. Sui ribosomi il messaggio genetico è tradotto.

*RNA trasfert*: trasporta i singoli aminoacidi e traduce l'informazione genetica assemblando di volta in volta l'aminoacido richiesto dal codice genetico tradotto.

Esistono anche altre forme di RNA che partecipano a funzioni cellulari differenti dalla sintesi proteica.

---

## RETICOLO ENDOPLASMATICO

È un sistema presente nel citoplasma della cellula, formato da canali e cisterne appiattite delimitate da membrane; è il luogo ove i lipidi sono metabolizzati. Sono distinti due tipi di reticolo endoplasmatico diversi morfologicamente e per il contenuto:

*Reticolo endoplasmatico rugoso*: per l'aspetto dovuto alla presenza di numerosi ribosomi distribuiti sulle membrane che delimitano i canali e le cisterne.

*Reticolo endoplasmatico liscio*: per l'aspetto più omogeneo. Sono assenti i ribosomi, ma contiene enzimi deputati alla degradazione di molecole tossiche per la cellula.

## RETICOLO ENDOTELIALE (SISTEMA)

È un sistema funzionale dell'organismo animale, rappresentato da più organi anatomici, quindi il sistema privo di una sede topograficamente definita e localizzata. Rappresenta una parte importante del sistema immunitario ed ha il compito di eliminare elementi estranei all'organismo potenzialmente tossici o in ogni modo dannosi. Il reticolo endoteliale è caratterizzato da cellule di tre tipi:

Cellule reticolari, presenti nei: polmoni, milza, midollo osseo, linfonodi

Macrofagi

Cellule del Kupffer, presenti nel *fegato*

## RESPIRAZIONE CELLULARE

Meccanismo cellulare che permette alla cellula di trarre energia da utilizzare per il suo metabolismo; si svolge in presenza di ossigeno (O<sub>2</sub>) ed utilizza i legami chimici dei substrati assimilati. I prodotti eliminati dalla respirazione cellulare sono anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) ed acqua (H<sub>2</sub>O).

## S

### SHOCK ANAFILATTICO

A causa del contatto di un antigene, detto allergene, con le immunoglobuline IgE si sviluppano nel soggetto una sequenza di eventi, scatenati dalla liberazione di mediatori chimici, in particolare istamina, da parte dei mastociti e dei Basofili.

Le reazioni sono le seguenti:

- Ipotensione
- Broncospasmo
- Reazioni orticarioidi
- Angioedema
- Edema della glottide
- Tachicardia
- Aritmia
- ecc.

I sintomi possono essere variabili sia in numero sia in gravità e possono determinare la morte del soggetto.

### SECRETO

Sostanza, prodotta da una ghiandola, organo specializzato per questa funzione. Il secreto può essere versato all'interno dell'organismo (ghiandole endocrine) o all'esterno dell'organismo (ghiandole esocrine).

### SCHISTOSOMA

(*S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. mekongi*, *S. intercalatum*)

È responsabile di una parassitosi indicata con più nomi: Schistosomiasi, Bilharziosi, Distomatosi.

Responsabile è un elminto del phylum Platyhelminthi.

La malattia si trasmette dai serbatoi (animali o uomini) all'essere umano attraverso un ospite intermedio (Gasteropode d'acqua dolce).

Con le feci o l'urina sono diffuse le uova nell'acqua, si sviluppano le forme larvali (miracidi) che infestano i gasteropodi, entro cui si sviluppano due generazioni di sporocisti.

Dopo la maturazione diventano cercarie e diffondono nelle acque ed in questa forma infestano l'individuo penetrando attraverso la cute.

Alla penetrazione segue la migrazione nelle vene mesenteriche dell'intestino (*S. japonicum*, *S. mansoni*, *S. mekongi*, *S. intercalatum*) o nelle vene perivescicali della vescica (*S. haematobium*.)

### SIMBIOSI

---

È un'associazione fra organismi di specie diversa, che non produce danno a nessuno degli organismi coinvolti o associati. Nelle diverse tipologie di simbiosi possiamo riconoscere le seguenti:

- Obbligatoria.
- Facoltativa.
- Commensale, solo uno trae vantaggi senza danno per l'altro.
- Mutualistica, entrambi hanno un vantaggio dall'associazione.
- Inquilinismo, uno dei due vive all'interno dell'altro o sopra oppure occupa il nido o la sua tana.

### **SOLUZIONE COLLOIDALE**

Una sostanza è un colloide quando si trova in uno stato finemente disperso in una soluzione e rappresenta uno stato intermedio fra la soluzione omogenea e la dispersione eterogenea. Essa presenta due fasi: una di dimensioni microscopiche con diametri variabili tra 10 - 9 m a 1 micron dispersa in una fase continua.

### **SPOROZOITA**

È lo stadio infestante di alcuni protozoi parassiti. Proviene dallo sviluppo dello zigote che si attua nell'ospite intermedio. Nella malaria lo zigote (formatosi nella mucosa intestinale) si trasforma in sporocisti da cui emergono gli sporozoi che migrano nelle ghiandole salivari della zanzara, che pungendo l'ospite per aspirare sangue inietta saliva infetta .

## **T**

### **THEOBALD SMITH**

Microbiologo americano che ha elaborato l'espressione :

$$P = NV/R$$

per calcolare la probabilità (P) che una malattia si verifichi, a seguito ad un' esposizione ad AB  
N.= microrganismi, V= la loro loro virulenza e R = resistenze dell'ospite

### **TISSULARE**

Indicato in ciò che ha rapporto con i tessuti.

### **TISSUTALE**

È sinonimo di tissulare.

### **TRABECOLE**

Sono fibre di supporto simili ad una trave che si trovano all'interno di un tessuto.

### **TRASCRIZIONE**

Processo attraverso il quale le informazioni contenute nel DNA sono trascritte per la sintesi delle proteine.

### **TRASUDATO**

Liquido che si forma ed esce da un tessuto non infiammato, a causa d'insulti meccanici.

### **TRICHINELLA SPIRALIS**

Elminta nematode parassita di vertebrati. Le larve sono presenti in forma cistica nei muscoli striati dell'ospite.

Se i tessuti dell'ospite diventano fonte di nutrimento per un altro soggetto, le larve raggiungono l'intestino del nuovo ospite e lì diventano mature e si riproducono, le nuove larve migrano nel tessuto muscolare striato e s'incistano.

### **TOXOPLASMA GONDII**

Protozoo parassita, unica specie del genere Toxoplasma, provoca la toxoplasmosi. Parassita intracellulare di uomini ed animali, ha una forma a mezzaluna.

## **V**

### **VACUOLO**

Deriva dal latino vacuus = vuoto.

Con questo termine sono definite le piccole cavità entro un materiale inorganico oppure organico.

---

Nelle cellule indica una cavità delimitata da una membrana.

### **VENULA**

Vaso sanguigno di piccolo diametro, consente al sangue che ha ceduto l'ossigeno ai tessuti e legato l'anidride carbonica (sangue venoso) di transitare da capillari alle vene.

La parete delle venule consta di tre strati che, partendo dall'interno, sono:

Endotelio, con cellule epiteliali squamose, con funzione di membrana.

Tessuto muscolare, intermedio, elastico, con funzione di variare il calibro del vaso.

Tessuto connettivo fibroso, esterno, con funzione di rivestimento e protezione del vaso sanguigno.

### **VIRULENZA**

Capacità di un microrganismo di superare i fattori dell'immunità non specifica dell'ospite e quindi di replicarsi in esso.

## **Z**

### **ZUCCHERI**

Sono dei composti chimici organici detti anche glucidi. Chimicamente sono idrati di carbonio o carboidrati.

Possono essere composti di una sola molecola di zucchero, o da più molecole polimerizzate.

---

## 13.FONTI BIBLIOGRAFICHE

1. Paolo Muzi, Mauro Bologna. Il rischio biologico nei laboratori.
2. Ganong, Barret, Barman, Boitano. Fisiologia Medica. Piccin.
3. Cooper Hasman. La Cellula. Piccin.
4. Siliparandi Tettamanzi. Biochimica Medica. Piccin
5. [www.my-personaltrainer.it/biologia/cellula-eucariote.html](http://www.my-personaltrainer.it/biologia/cellula-eucariote.html)
6. P.Introzzi. Trattato Italiano di Medicina Interna.
7. W. Peters & H.M. Gilles. Parassitologia e medicina tropicale. Lombardo Editore ROMA
8. G. Nicoletti, V. M. Nicolosi. Dizionario di batteriologia umana, normale e patologica. Menarini Firenze
9. Malattie infettive e parassitarie. USES Edizioni Scientifiche Firenze
10. A.Eyquem, J. Alouf, L. Montagnier. Trattato di medicina di Laboratorio. Microbiologia clinica. Piccin
11. D. Sarto, M. Albertazzi, D. Viglione, E. Zunino. Biological risk assessment: it is possible to apply an algorithm to a preliminary approach? 8° Internarional Conference IOHA Roma 28 settembre 2010.
12. D. Sarto, M. Albertazzi et Al. Rischio biologico: soluzioni e metodi per una corretta valutazione. Ambiente & Sicurezza sul Lavoro n. 2 Febbraio 2010.
13. INAIL 6° seminario CONTARP Varese 29 settembre 2009. Monitoraggio microbiologico nei laboratori non sanitari: un contributo alla valutazione del rischio.
14. D. Sarto, M. Albertazzi et Al. Valutazione del rischio biologico per le attività dei laboratori ARPAL. 24°congresso AIDII Firenze 16-17 novembre 2006.
15. Linee guida per la valutazione del rischio nelle attività territoriali delle Agenzie Ambientali. Centro Interagenziale "Igiene e Sicurezza del Lavoro" - anno 2006
16. [http://abu.altervista.org/viro/pdf/virologia\\_generale.pdf](http://abu.altervista.org/viro/pdf/virologia_generale.pdf) Tommaso Hinna Danesi
17. [http://www.microbiologia.unige.it/varnier/didattica/5.MASTER/masterepidemiologia2006/VIROLOGIA\\_Classificazione\\_2006.pdf](http://www.microbiologia.unige.it/varnier/didattica/5.MASTER/masterepidemiologia2006/VIROLOGIA_Classificazione_2006.pdf)
18. UNI EN ISO 14698-1:2004 Camere bianche e ambienti associati controllati. Controllo della biocontaminazione. Parte 1:principi generali e metodi.
19. UNI EN ISO 14698-2:2004 Camere bianche e ambienti associati controllati. Controllo della biocontaminazione. Parte 2:valutazione ed interpretazione dei dati di biocontaminazione.
20. Manuale UNICHIM n. 203 edizione 2009. Il rischio biologico in ambienti indoor:inquadramento della problematica e strategia di controllo e prevenzione.
21. INAIL. Il monitoraggio microbiologico negli ambienti di lavoro. Campionamento e analisi. Linee guida CONTARP. Edizione 2010.
22. INAIL. La qualità del dato analitico nel monitoraggio ambientale di bioaerosol. L'esperienza INAIL di intercalibrazione dei conteggi su piastra. Edizione 2011.
23. European Collaborative Action. Indoor Air Quality & its impact on man. Report n. 12.1993
24. Linee guida per la prevenzione ed il controllo della legionellosi. 4 aprile 2000. G.U. n. 103 del 5 maggio 2000
25. Linee guida recanti indicazioni sulla legionellosi per i gestori di strutture turistico-ricettive e termali. G.U. n. 28 del 4 febbraio 2005
26. ISO 11731:1998. Water quality. Detection and enumeration of Legionella.
27. UNI EN ISO 11731-2\_2008. Qualità dell'acqua. Ricerca e conta di Legionella. Parte 2:metodo per filtrazione diretta su membrana per acque a basso contenuto batterico.
28. Rapporto ISITAN 04/16. Un'epidemia di legionellosi nel IX municipio del comune di Roma. Rapporto dell'indagine epidemiologica e ambientale.
29. UNI EN ISO 6222:2001
30. metodo ISITAN 07/5: metodo ISS A 06C rev.00
31. UNI EN 13098:2002. Linee guida per la misurazione di microorganismi e di endotossine aerodispersi.
32. SIMLII. Linee guida rischio biologico in ambienti non sanitari. 2007.



Sistema Nazionale  
per la Protezione  
dell'Ambiente

ISPRA

ARTA Abruzzo

ARPA Basilicata

ARPA Calabria

ARPA Campania

ARPA Emilia-Romagna

ARPA Friuli Venezia Giulia

ARPA Lazio

ARPA Liguria

ARPA Lombardia

ARPA Marche

ARPA Molise

ARPA Piemonte

ARPA Puglia

ARPA Sardegna

ARPA Sicilia

ARPA Toscana

ARPA Umbria

ARPA Valle d'Aosta

ARPA Veneto

APPA Bolzano

APPA Trento

