

IL RISCHIO BIOLOGICO NEI LABORATORI CHE EFFETTUANO MANIPOLAZIONE DI COLTURE CELLULARI UMANE

G. SCAFETTA*, A. ALTIMARI**, R. GIOVINAZZO***

Quadro normativo e definizioni

L'ordinamento normativo italiano ha recepito le Direttive europee (D. 2000/54/CE, D. 90/679/CE, D. 93/88/CE, D. 95/30/CE, D. 97/59/CE e D. 97/65/CE), finalizzate alla prevenzione dei rischi per la salute e la sicurezza dei lavoratori esposti agli agenti biologici, dapprima con il Titolo VIII del D.Lgs. 626/1994 e successivamente con il Titolo X e relativi allegati del D.Lgs. 81/2008 e s.m.i.

Come noto, la normativa fissa i criteri per la classificazione degli agenti biologici in base al loro livello di pericolosità per la salute, distinguendo tra uso deliberato degli stessi (introduzione intenzionale di agenti biologici nel ciclo lavorativo come materia prima, substrato, catalizzatore, reagente o prodotto) ed esposizione potenziale ad essi (nei casi in cui la presenza di tali agenti rappresenta un epifenomeno indesiderato, ma inevitabile, anziché lo specifico oggetto del lavoro).

Si intende per “agente biologico” qualsiasi microrganismo, anche geneticamente modificato, coltura cellulare ed endoparassita umano che potrebbe provocare infezioni, allergie o intossicazioni.

Ai sensi dell'art. 267 del D.Lgs. 81/2008 si definisce come “coltura cellulare” il risultato della crescita *in vitro* - cioè in appositi recipienti, come piastre o fiasche di coltura contenenti un appropriato mezzo liquido o semisolido (figura 1) - di cellule derivate da organismi pluricellulari. Nella tabella 1 si riportano le tipologie di colture cellulari.

* Dipartimento di Scienze e Biotechnologie Medico-Chirurgiche, Università “Sapienza”, polo pontino.

** Inail - Direzione Generale, Consulenza Statistico Attuariale.

*** Inail - Direzione Generale, Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione.

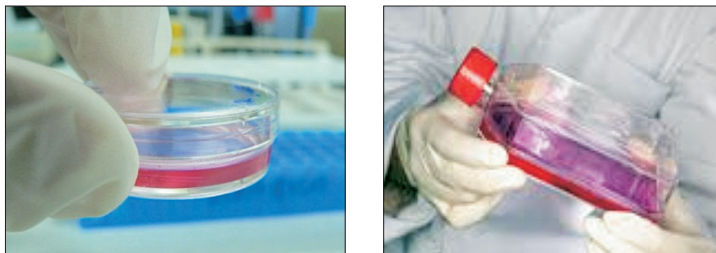


Fig. 1: Piastre, per cellule adese (a sinistra) e fiasche, per cellule in sospensione (a destra).

Tabella 1

Tipologie di coltura cellulare.

<i>Coltura primaria</i>	Cellule derivanti direttamente da una biopsia del tessuto di origine (ad es. coltura di cheratinociti da biopsia di pelle). Presentano crescita e sopravvivenza limitate.
<i>Linee cellulari continue</i>	Derivate da coltura primaria e costituite da un singolo tipo di cellule che può essere replicato, in coltura, un numero definito o indefinito di volte.
<i>Coltura cellulare stabilizzata</i>	Cellule che possono essere mantenute e fatte crescere in coltura indefinitamente (c.d. cellule “immortalizzate” - per mutazione spontanea o indotta da radiazioni, virus o sostanze chimiche - che possono replicarsi indefinitamente in coltura).
<i>Colture clonali</i>	Colture ottenute per divisione equazionale (mitosi) di una singola cellula. Si usano quando è richiesta un’elevata omogeneità cellulare.

Ai sensi del D.Lgs. 81/2008 (art. 268 e Allegato XLVI), tutti gli agenti biologici sono classificati in quattro gruppi, a rischio crescente di infezione e la pericolosità di tali agenti viene stabilita in base alle loro caratteristiche di infettività, patogenicità, trasmissibilità, neutralizzabilità e virulenza. La classificazione non tiene conto dei fattori che possono modulare la risposta all’esposizione nei lavoratori e nella popolazione in generale, come per esempio la resistenza o la suscettibilità dell’ospite (correlata a età, origine etnica, sesso, stato di salute, vaccinazioni eseguite, etc.), che devono pertanto essere opportunamente valutati al momento di scegliere le misure protettive da adottare.

Gli obblighi del datore di lavoro e le misure di prevenzione e protezione dei lavoratori sono condizionati dal gruppo di appartenenza dei microrganismi. In ogni caso, per le attività che comportano uso di agenti biologici, devono essere attuate misure tecniche, organizzative e procedurali per evitare o ridurre al minimo l’esposizione e i lavoratori esposti devono essere sottoposti a sorveglianza sanitaria.

La contaminazione biologica nei laboratori di ricerca

I laboratori in cui si effettua manipolazione di colture cellulari sono ambienti adibiti alla manipolazione di cellule utilizzate per esperimenti *in vitro*, cioè al di fuori di organismi viventi. La manipolazione può avvenire anche nelle c.d. *cell factories*, cioè in ambienti più sofisticati, a contaminazione controllata, in cui cellule prelevate da un donatore o da un paziente vengono manipolate *in vitro* seguendo le *Good Manufacturing Practice* (GMP) e poi (re)inoculate nel paziente, garantendo la sicurezza dello stesso e l'efficacia della terapia.

Le più frequenti modalità di contatto con agenti biologici per un lavoratore che opera in un laboratorio di analisi o di ricerca sono rappresentate da:

- 1) inoculazione di materiale infetto attraverso la cute (tramite punture con aghi di siringhe infette; abrasioni, tagli e ferite, lacerazioni causate da frammenti di vetreria contaminata rotta; contatto con polvere o superfici di lavoro contaminate). Malattie trasmesse con questo meccanismo sono l'AIDS, l'epatite B, l'epatite C;
- 2) ingestione di materiale infetto (per contatto con mani e dita contaminate, che possono anche disseminare tale materiale nel luogo di lavoro);
- 3) inalazione di aerosol, che rappresenta la più frequente modalità di veicolazione e dispersione nell'aria ambiente di materiale infetto, tanto più pericolosa in quanto spesso non sospettata e non facilmente dimostrabile. L'aerosol si può generare nel momento dell'apertura di contenitori, di provette e capsule di Petri o di fiale contenenti materiale liofilizzato, oppure nell'impiego di agitatori, siringhe, centrifughe o nello svuotamento di pipette, nella sterilizzazione alla fiamma di anse o aghi bagnati. Una volta generato, il bioaerosol può depositarsi anche su superfici e materiali di lavoro, contaminandole.

Infortunati sul lavoro e malattie professionali nel settore Laboratori di analisi

I laboratori che effettuano manipolazione di colture cellulari non sono classificati in una voce di tariffa a se stante. Tuttavia, indicazioni generali sulla rilevanza del fenomeno infortunistico e tecnopatologico per le attività di analisi svolte nei laboratori in generale possono evincersi utilizzando la Voce di Tariffa relativa ai "Laboratori di analisi chimiche, fisiche, industriali, merceologiche ecc.", nei quali possono svolgersi anche attività che comportano la manipolazione di cellule. Allo scopo di indagare la rilevanza di tale fenomeno, è stata condotta un'indagine negli archivi statistici Inail, utilizzando la Voce di Tariffa 0612. La rilevazione e l'elaborazione sono state effettuate sugli infortuni sul lavoro e le malattie professionali denunciati all'Inail nel quinquennio 2008 - 2012 ed indennizzati a tutto il 30 aprile 2013.

Come noto, caratteristica imprescindibile dell’infortunio sul lavoro è una causa violenta, verificatasi durante l’attività lavorativa e che ha prodotto la morte del lavoratore, oppure un’inabilità, che può essere “permanente assoluta” (se causa inabilità al lavoro per tutta la vita), “permanente parziale” (se causa un’inabilità al lavoro superiore al 15% e per tutta la vita) oppure “temporanea assoluta” (se l’infortunio impedisce per più di tre giorni lo svolgimento dell’attività lavorativa). Gli infortuni , relativi alla voce di tariffa qui considerata, denunciati nel quinquennio esaminato sono stati, nei primi tre anni, circa 840 l’anno, mentre negli ultimi due sono diminuiti, attestandosi intorno ai 740 l’anno (tabella 2, grafico 1). In generale, nel quinquennio 2008-2012 si è avuta una variazione negativa del 12% circa, percentuale molto più bassa rispetto a quella osservata per la sola Industria e Servizi (-26%).

Tabella 2

Infortuni sul lavoro denunciati nei Laboratori di analisi negli anni 2008-2012.

Infortuni	Anno evento				
	2008	2009	2010	2011	2012
Complesso:	828	844	854	745	731
<i>di cui, in occasione di lavoro:</i>	<i>600</i>	<i>571</i>	<i>629</i>	<i>533</i>	<i>526</i>
% in occasione di lavoro/complesso	72,5	67,7	73,7	71,5	72,0

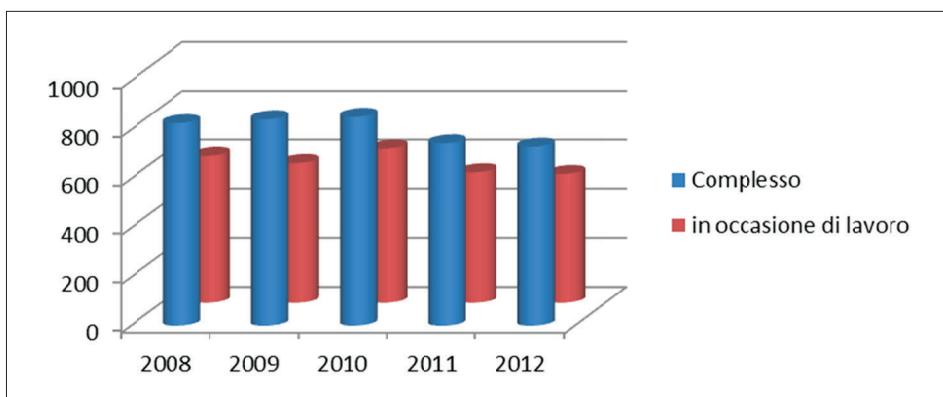


Grafico 1: *Infortuni sul lavoro denunciati nei Laboratori di analisi negli anni 2008-2012.*

Tabella 3

Infortuni sul lavoro definiti nei Laboratori di analisi negli anni 2008-2012.

Infortuni	Anno evento				
	2008	2009	2010	2011	2012
Complesso:	649	660	643	588	578
<i>di cui, in occasione di lavoro:</i>	<i>459</i>	<i>432</i>	<i>467</i>	<i>406</i>	<i>398</i>
% in occasione di lavoro/complesso	70,7	65,5	72,6	69,0	68,9

A livello territoriale, oltre il 50% degli infortuni sono stati denunciati al Nord, mentre la quota rimanente si è equi-distribuita tra Centro e Mezzogiorno (grafico 2). Per quanto riguarda invece la nazionalità, emerge chiaramente una presenza esigua di stranieri nel comparto oggetto di analisi: infatti, solo il 5% degli infortuni denunciati si riferisce a lavoratori che non sono di nazionalità italiana. Per quanto riguarda invece la nazionalità, emerge chiaramente una presenza esigua di stranieri nel comparto oggetto di analisi; infatti solo il 5% degli infortuni denunciati è a carico di lavoratori non italiani.

Comparando i dati della tabella 3 con quelli della tabella 2, risulta che il 76% circa degli infortuni denunciati viene indennizzato e, trattandosi essenzialmente di infortuni di lieve entità, oltre il 90% di indennizzi risulta in temporanea (grafico 3) tra quelli permanenti la maggior parte interessa gli indennizzi in capitale (cosiddetto risarcimento del danno biologico, cioè quelli con un grado di inabilità tra il 6% ed il 15%). Il 66% circa dei casi indennizzati ha interessato i lavoratori maschi (grafico 4), mentre per quanto riguarda le fasce di età il maggior numero di indennizzi si è registrato nella classe di età 35-49 sia per i maschi (42,2%) che per le femmine (40,8%); a seguire risulta la fascia di età 18-34 (maschi 37,2% e femmine 35,3%).

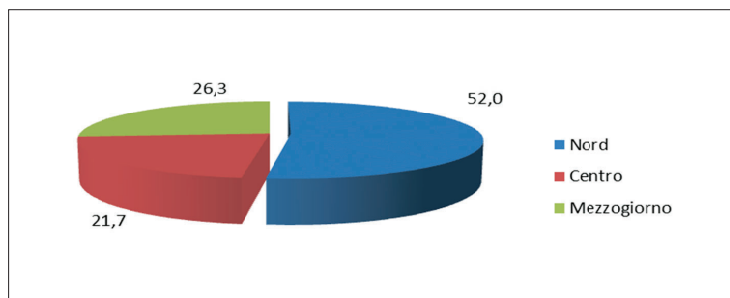


Grafico 2: *Composizione % degli infortuni in occasione di lavoro per ripartizione geografica, nel periodo 2008-2012.*

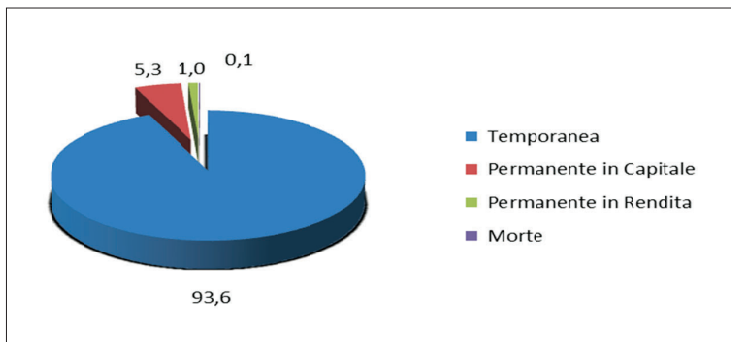


Grafico 3: *Composizione % degli infortuni in occasione di lavoro indennizzati per tipologia di di indennizzo, nel periodo 2008-2012.*

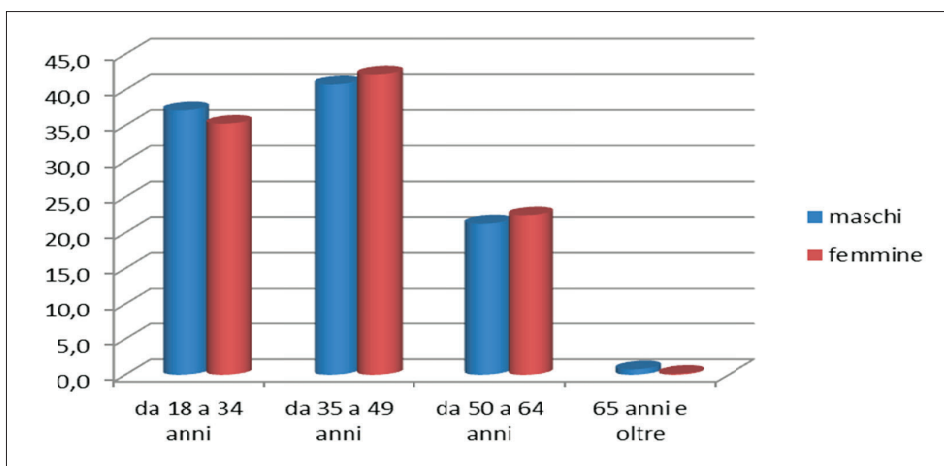


Grafico 4: *Composizione % degli infortuni in occasione di lavoro indennizzati per classe di età e sesso, nel periodo 2008-2012.*

Tra gli infortuni, particolare interesse riveste la cosiddetta “malattia - infortunio”, il cui termine deriva dall’assioma formulato dal BORRI nel 1912 con il quale veniva connotata, come “causa violenta”, la “causa virulenta”. Questo particolare tipo di infortunio, tuttavia, ha cominciato ad avere maggiore importanza pratica solo in tempi recenti ed in particolare da quando (anni 70-90) sono stati isolati i virus dell’epatite B e C, ovvero da quando ha fatto la sua comparsa la sindrome da immunodeficienza acquisita. Tali quadri morbosi incidono in modo relativamente modesto rispetto al totale degli infortuni: tuttavia, la loro gravità assume particolare importanza ed ha determinato problemi di carattere medico

legale di non poco conto connessi con la difficoltà, spesso oggettiva, di individuare il momento in cui si è verificato l'evento infettante .

Oltre il 2% degli infortuni denunciati nel settore "Laboratori di analisi" sono stati trattati come malattia-infortunio, riconosciuti e indennizzati nella loro quasi totalità.

La malattia professionale rappresenta, invece, un evento dannoso che agisce in maniera lenta e progressiva sull'organismo del lavoratore. Nella malattia professionale, dunque, a differenza di quanto accade per l'infortunio, non c'è alcuna causa violenta, in quanto la malattia viene contratta in maniera graduale dal lavoratore, nell'esercizio e a causa della mansione a cui è adibito. Infatti, si è affetti da malattia professionale quando la diagnosi medica accerti un nesso causale tra malattia e condizione lavorativa.

Negli ultimi anni la crescita delle segnalazioni di tecnopatie pervenute all'Inail è stata ininterrotta traendo, senz'altro, prevalente fondamento nelle attività lavorative intraprese e nelle novità legislative introdotte in materia, proprio negli anni più recenti. In tale periodo, infatti, si sono particolarmente intensificate le attività di informazione/formazione e prevenzione nei confronti dei lavoratori anche da parte dell'Inail, così come la divulgazione di approfondimenti attraverso diversi canali informativi. La sensibilizzazione dei datori di lavoro, dei lavoratori, dei medici di famiglia e dei patronati ha sicuramente dato l'innescò all'emersione delle c.d. malattie "perdute", attenuando lo storico fenomeno di sotto-denuncia, causato sia dai lunghi periodi di latenza di alcune patologie che dalla difficoltà di dimostrarne il nesso causale con l'attività lavorativa svolta.

Come noto, le malattie professionali si possono distinguere in "tabellate" e "non tabellate". Nell'ambito del cosiddetto "sistema tabellare", il lavoratore è sollevato dall'onere di dimostrare l'origine professionale della malattia. In proposito, l'emanazione del D.M. 9 aprile 2008 relativo alle nuove tabelle delle malattie professionali ha rappresentato un passaggio normativo estremamente importante: tra le malattie professionali tabellate sono state inserite quelle "causate da vibrazioni meccaniche trasmesse al sistema mano-braccio", "da sovraccarico biomeccanico dell'arto superiore e del ginocchio" e le "ernie discali lombari" e sono state anche ampliate le lavorazioni che espongono al rischio di ipoacusia. In quanto "tabellate"; tali patologie beneficiano ora della "presunzione legale di origine", principio che, agevolando il percorso di riconoscimento e di indennizzo, incentiva sicuramente il ricorso allo strumento assicurativo.

Infine, con il Decreto, la tabella delle malattie professionali ora precisa la patologia (piuttosto che dare la definizione generica di "malattia da ...") e costituisce quindi una vera e propria guida operativa per il medico in tema di malattie lavoro-correlate, favorendo l'emersione di una serie di patologie meno note o sottovalutate in passato. Un effetto connesso al maggior livello di dettaglio raggiunto è stato, in alcuni casi, la denuncia di più malattie (denunce plurime) insistenti su un unico lavoratore e connesse alla sua mansione (ad esempio, per le malattie al sistema mano-braccio

da vibrazioni meccaniche ci si può attendere da una a sei denunce per lo stesso rischio), con un certo effetto “moltiplicatore” sul numero complessivo di denunce. Negli ultimi 5 anni (2008-2012), anche il settore “Laboratori di analisi”, così come il complesso della gestione Industria e Servizi (35% circa), ha registrato, per le malattie professionali, una variazione positiva del 65% circa, denunciando in media 25 casi all’anno (tabella 4); le malattie hanno riguardato (grafico 5) quelle del sistema osteo-articolare, dei muscoli e del tessuto connettivo (40%), dovute prevalentemente a sovraccarico bio-meccanico e movimenti ripetuti, i tumori (20%) e le malattie del sistema nervoso e degli organi di senso (19%), mentre le malattie dell’apparato respiratorio, pur non avendo registrato un numero elevato di denunce, presentano un discreto tasso di riconoscimento (17%).

Tabella 4

Malattie professionali denunciate e riconosciute nei Laboratori di analisi negli anni 2008-2012.

Sesso	2008		2009		2010		2011		2012	
	Denunciate	Riconosciute	Denunciate	Riconosciute	Denunciate	Riconosciute	Denunciate	Riconosciute	Denunciate	Riconosciute
Femmine	10	7	4	0	11	3	6	0	11	2
Maschi	7	1	23	8	19	6	21	8	17	6
Totale	17	8	27	8	30	9	27	8	28	8

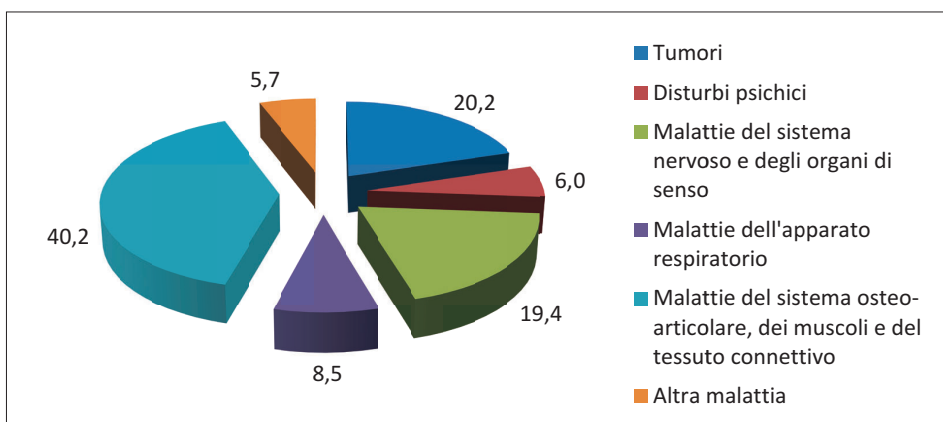


Grafico 5: *Malattie professionali denunciate nei Laboratori di analisi per tipo di malattia (percentuali, anni 2008-2012).*

Rischi in un laboratorio di colture cellulari

In generale, i rischi a cui si è esposti nei laboratori ove si effettua manipolazione di colture cellulari sono conseguenti a situazioni di pericolo derivanti da:

- utilizzo di sostanze nocive (tossiche, cancerogene, mutagene, teratogene, radioattive, etc.) nei protocolli di manipolazione delle colture cellulari (ad esempio, mitomicina C o radiazioni per arrestare la crescita delle cellule in coltura; sostanze tossiche o farmaci chemioterapici in sperimentazione, etc..)
- utilizzo di sostanze esplosive e/o infiammabili (alcooli, azoto liquido);
- utilizzo di agenti biologici pericolosi (ad esempio, virus per infettare le cellule in coltura);
- utilizzo di apparecchiature di lavoro specifiche, come per esempio macchine con parti meccaniche in movimento (centrifughe, agitatori), sistemi a pressione e sotto vuoto (ad esempio, autoclavi per la sterilizzazione di materiali e reagenti come puntali e tamponi), apparecchiature ad alte o basse temperature (rischio rumore, vibrazioni, elettrico);
- caratteristiche strutturali, impiantistiche, arredi, organizzazione degli spazi e delle modalità di lavoro inadeguati;
- carenze a livello di formazione, informazione ed addestramento degli operatori, nonché di procedure scritte, sia per le attività di lavoro routinarie che per la gestione di situazioni di emergenza.

Numerose indagini epidemiologiche hanno evidenziato come gran parte degli incidenti verificatisi nei laboratori di questo tipo sono conseguenti a disattenzione o mancata applicazione delle procedure di sicurezza. Lavorare in un ambiente dedicato alla manipolazione delle colture cellulari implica non solo 'saper' coltivare le cellule, ma anche conoscere i rischi associati alle strumentazioni e alle sostanze da utilizzare nei protocolli di lavoro e le procedure e le tecniche da adottare per controllare l'esposizione ai pericoli ed evitare contaminazioni dei materiali, dell'ambiente e, in particolare, del personale di laboratorio.

L'applicazione di buone tecniche di base (tabella 5) è fondamentale per la sicurezza del personale. In letteratura sono riportati diversi casi di "infezioni acquisite in laboratorio" (*Laboratory Acquired Infections*, LAI) a causa dell'emissione di aerosol conseguente alla rottura di contenitori nel corso di centrifugazioni ad alta velocità, al trasporto, senza utilizzo di guanti, di provette contenenti ceppi patogeni, oppure all'involontaria inoculazione nell'operatore di materiale biologico infetto.

Sono noti anche casi di LAI da parte di operatori coinvolti nella manipolazione di cellule renali di scimmia.

Tabella 5

Regole di base da seguire nel laboratorio di colture cellulari.

Usare sempre camice e guanti.

Fortemente raccomandato l'uso di materiale in plastica monouso

Pulire tutte le superfici prima di ogni operazione e tra operazioni diverse (o diverso operatore) con disinfettante (ad es. composti dell'ammonio quaternario o etanolo 70%)

Identificare in maniera chiara tutti i contenitori che si usano

Lavorare tutti i campioni sotto cappa

Tenere in ordine e mantenere la superficie della cappa il più possibile sgombra da oggetti

Maneggiare una sola linea cellulare alla volta

Verificare l'assenza nei terreni di contaminazione o di altre alterazioni

Rispettare le scadenze di pulizia e di controllo di incubatore e cappa biologica

Non permettere l'accesso contemporaneo di più persone nel laboratorio

Non manipolare cellule di dubbia origine contemporaneamente alle altre linee cellulari

Non tenere le cellule in coltura per lungo tempo

Non tenere le cellule per troppo tempo a confluenza

Non usare terreni completi oltre le 6-8 settimane

L'eventuale uso di sostanze chimiche, cancerogene e mutagene (o potenzialmente tali) durante la manipolazione cellulare, ad esempio mitomicina C per arrestare la crescita cellulare o trypan blue per la conta vitale delle cellule, deve essere sottoposto ad accurato monitoraggio: il personale esposto deve essere ridotto al minor numero possibile e l'esposizione registrata nella cartella sanitaria e di rischio dell'operatore. I chemioterapici, qualora utilizzati, esplicano, infatti, la loro funzione inibendo la crescita delle cellule tumorali, ma non essendo la loro azione selettiva, agiscono anche sulle cellule normali, causando alterazioni del DNA. È assolutamente necessario, pertanto, mettere a disposizione degli operatori le schede di sicurezza SDS (*Safety Data Sheet*) relative a tutti i prodotti chimici utilizzati in laboratorio, che contengono le informazioni necessarie sulle proprietà fisico-chimiche, tossicologiche e di pericolo necessarie per una corretta e sicura manipolazione di tali prodotti.

In caso di utilizzo di sostanze mutagene o teratogene, un'attenzione particolare va, inoltre, rivolta al personale femminile in età riproduttiva e ai soggetti eventualmente immunodepressi.

Le cellule in cui, tramite l'uso di virus (c.d. "vettori virali") sono stati inseriti o eliminati geni d'interesse (ad esempio, geni terapeutici, come l'enzima adenosina deaminasi - ADA), in quanto contenenti virus, possono rappresentare una

fonte di pericolo per l'operatore, così come anche le linee cellulari umane trasformate, cioè rese capaci di produrre spontaneamente virus con potenziale oncogeno. I vettori virali usati per il trasferimento del materiale genetico in genere contengono anche un gran numero di geni derivanti da microrganismi patogeni come batteri, virus ed altri parassiti e la maggior parte di essi, non essendo naturali, può dunque rappresentare un potenziale pericolo per l'ambiente e per la salute umana. Tali vettori penetrano nelle cellule bersaglio attraverso un meccanismo di vera e propria "infezione", trasferendo il gene terapeutico attraverso i loro naturali meccanismi biologici.

I vettori virali più utilizzati derivano da virus (*retrovirus*, *adenovirus* ed *herpesvirus*) caratterizzati da una relativa semplicità genetica e dalla proprietà di infettare con alta efficienza molti tipi di cellule. Le problematiche legate alla sicurezza nell'utilizzo e nella manipolazione dei vettori virali sono evidenti nel momento in cui tali virus sono in grado di infettare cellule umane.

L'enorme progresso delle conoscenze nel campo della biologia cellulare e delle biotecnologie ha consentito lo sviluppo di tecnologie mirate alla coltivazione ed alla ricostruzione "*in vitro*" di tessuti (terapia cellulare somatica), mettendo così a disposizione della comunità medica nuove possibilità terapeutiche, con l'impiego di prodotti che utilizzano cellule ottenute dallo stesso paziente o da un donatore. Inoltre, la terapia genica consente di modificare intenzionalmente il materiale genetico, correggendo un difetto genetico o aggiungendo un'informazione genica che modifica le caratteristiche della cellula, allo scopo di prevenire o curare determinate patologie.

Le norme minime di buona prassi da rispettare nella manipolazione di colture cellulari sono riportate nella tabella 6.

Tabella 6

Esempi di norme minime di buona prassi da adottare.

Manipolazione cellulare:

- È necessario considerare tutti i campioni e i tessuti provenienti da esseri umani come potenziali portatori di agenti patogeni e manipolarli in una cappa di sicurezza biologica di Classe II.
 - Le porte del laboratorio devono rimanere sempre chiuse durante lo svolgimento delle attività lavorative.
 - L'accesso al laboratorio deve essere consentito, esclusivamente, alle persone autorizzate ed adeguatamente istruite.
 - Tutti i tessuti e le coltivazioni cellulari che ne risultano devono essere lavorate in modo asettico, utilizzando materiali e strumenti sterili.
 - Nei locali destinati alle colture di cellule per utilizzo clinico dovranno essere garantite condizioni tali da impedire contaminazioni crociate fra cellule di origine diversa (separazione fisica e/o temporale delle diverse colture).
-

Valutazione del rischio biologico nella manipolazione di cellule

La valutazione del rischio è un processo complesso che si basa sul riconoscimento dei fattori di pericolo per la salute e la sicurezza dei lavoratori - in relazione alle attività lavorative svolte ed alla loro frequenza di svolgimento - sulla valutazione delle possibili lesioni o dei danni che possono scaturire dall'esposizione ad essi e sulla probabilità di accadimento dell'evento dannoso. Ai fini preventivi, oltre agli infortuni e alle malattie professionali correlate all'attività lavorativa in esame, è importante registrare e analizzare anche gli eventi accidentali e i quasi-incidenti che si sono verificati nello svolgimento di tale attività, per valutare sia il rischio osservato che quello atteso, che potrebbe concretizzarsi in un tempo successivo in un evento dannoso.

Il rischio biologico è un rischio difficilmente "percepibile": infatti, gli agenti biologici sono invisibili e ubiquitari, in quanto presenti sia negli ambienti di lavoro che in quelli non lavorativi, e spesso non provocano effetti evidenti immediati. Pertanto, come per il rischio da radiazioni o da sostanze genotossiche, il danno conseguente ad esposizione ad agenti biologici risulta difficilmente correlabile ad una esposizione lavorativa ben definita nello spazio e nel tempo, anche perché non esistono dosi-soglia. Inoltre, l'entità del danno può essere modificata dalla variabilità della risposta immunitaria dell'ospite all'esposizione, in quanto il contatto fra uomo ed agenti biologici in grado di provocare infezione non comporta automaticamente la malattia, per lo sviluppo della quale è necessario che l'agente patogeno superi le barriere difensive dell'organismo, sia presente in quantità sufficiente e l'organismo ospite sia recettivo.

Chi effettua la valutazione dei rischi in un laboratorio di colture cellulari deve conoscere e avere esperienza dei processi e delle apparecchiature di lavoro utilizzati, dei rischi ad essi correlati, delle modalità di trasmissione dei patogeni.

Nel processo di valutazione è necessario individuare:

1. le fonti di pericolo - anche solo potenziale - che possono essere:
 - a. colture cellulari e materiale d'uso ad esse correlato (terreni di coltura, sieri, supplementi, enzimi);
 - b. strumentazione utilizzata (centrifughe, frigoriferi, incubatori);
 - c. aree di lavoro (cappe biologiche, banconi di laboratorio);
 - d. rifiuti prodotti;
 - e. dispositivi di protezione necessari;
2. le fasi critiche delle attività di lavoro (tipologia e frequenza di svolgimento), ad es. quelle che comportano:
 - a. apertura di contenitori di campioni potenzialmente infetti;
 - b. manipolazione di aghi e bisturi;

- c. uso di sostanze tossiche;
 - d. centrifugazioni, omogeneizzazioni di materiale biologico o altre operazioni a rischio di produzione di bioaerosol;
3. i soggetti esposti, con particolare riguardo alle categorie sensibili (donne in stato di gravidanza, soggetti con condizioni individuali di ipersensibilità, etc.)

e stimare l'entità dell'esposizione.

Sebbene normalmente non dannosi per l'utilizzatore, cellule e tessuti vanno sempre trattati come potenzialmente infetti e meritevoli dunque di appropriate precauzioni in fase di manipolazione.

Il rischio da manipolazione di colture cellulari è strettamente correlato alle proprietà intrinseche delle cellule manipolate e/o alle caratteristiche acquisite in seguito alla manipolazione genica e alla possibilità che la coltura cellulare possa risultare contaminata da patogeni.

È necessario valutare la specie d'origine da cui provengono le cellule che si manipolano: più è stretta la relazione genetica delle cellule coltivate con l'uomo, maggiore è il rischio di contaminazione dell'operatore di laboratorio, poiché le barriere di difesa contro i patogeni sono in genere specie-specifiche. Quindi, cellule umane o derivate da primati presentano un rischio più elevato per l'operatore, rispetto a cellule provenienti da altre specie viventi (tabella 7). Qualora le cellule manipolate siano derivate da una biopsia, bisogna inoltre considerare lo stato di salute del donatore e in ogni caso la loro provenienza. Quando le cellule o i tessuti utilizzati in laboratorio provengono da una fonte certificata, come una banca cellulare nota commerciale, certificata e riconosciuta a livello internazionale (ad esempio, la DSMZ tedesca o l'ATCC americana), la documentazione fornita a corredo delle cellule (*Product Sheet*, riportante le informazioni generali sull'origine delle cellule, sulle condizioni di coltura, il livello di biosicurezza richiesto per la manipolazione, il cariotipo, il tempo di duplicazione e l'espressione antigenica; *Material Safety Data Sheet*, riportante informazioni sulla sicurezza nell'utilizzo di tali cellule; il certificato di analisi, riportante i risultati dei controlli di qualità effettuati sulle cellule, inclusi test microbiologici) fornisce elementi sufficienti ai fini della valutazione del rischio. Nei casi in cui le cellule siano derivate da pazienti, è necessario effettuare sul donatore alcune indagini (in particolare, testare la positività per HIV, HBV e HCV), prima della manipolazione e comunque considerare tali cellule a tutti gli effetti infette, almeno in via precauzionale.

Tabella 7

Proprietà intrinseche delle cellule e rischio correlato (il rischio aumenta procedendo in tabella dall'alto verso il basso) (PAUWELS K., 2006).

Fonte (specie di origine)	Tipo cellulare o tessuto	Tipo di coltura
Cellule di uccelli o invertebrati	Cellule epiteliali e fibroblasti	Linee cellulari ben caratterizzate
Cellule di mammifero (non primati)	Mucosa intestinale	Linee cellulari continue
Cellule di primati non umani	Endotelio	Cellule primarie
Cellule umane	Cellule neuronali Cellule ematopoietiche	

Le cellule possono essere infettate da agenti patogeni per l'uomo. La contaminazione da batteri e funghi è facilmente verificabile (visibile all'osservazione al microscopio), semplice da prevenire e trattare (antibiotici-antimicotici), mentre quella da virus è difficile da diagnosticare (i virus non sono visibili al microscopio ottico; alcuni, inoltre, possono essere latenti o avere effetti non visibili nei tempi di coltura al microscopio ottico).

Le cellule possono essere contaminate dal micoplasma, un batterio intracellulare, veicolato da siero, cellule (infettate per contaminazione crociata o dall'uomo (dall'operatore), di cui è sempre opportuno verificare la presenza nella coltura. La sua presenza nella coltura cellulare può portare a riduzione della capacità proliferativa, alterazioni del metabolismo degli acidi nucleici ed eventuale sviluppo di anomalie cromosomiche.

Oltre al micoplasma, nella valutazione dei rischi bisogna tenere in considerazione anche la possibile contaminazione da parte di prioni, anche detti "virus lenti", che rappresentano la causa delle encefalopatie spongiformi trasmissibili. Al momento non risultano infezioni da prioni associate all'attività di laboratorio e molte linee cellulari sono resistenti a tale infezione, ma questi agenti sono molto difficili da inattivare (sono estremamente resistenti ad alte dosi di radiazioni ionizzanti e ultraviolette) ed è stato dimostrato che nell'ambiente la loro attività residua può sopravvivere per lunghi periodi. Per questi motivi, nei laboratori in cui si utilizzano campioni contaminati o potenzialmente infetti da prioni, si devono attuare procedure di lavoro e di decontaminazione particolari, diverse da quelle convenzionali (ad es. sterilizzazione in autoclave con vapore a 134°C per 18 minuti; immersione in ipoclorito di sodio - 20.000ppm cloro attivo - per 1 ora; trattamento con idrossido di sodio 1M per 1 ora). Nei laboratori di ricerca biotecnologica, si introducono geni d'interesse (frammenti di DNA) nelle cellule tramite procedure di *trasfezione* o *infezione* che utilizzano vettori artificiali; il DNA esogeno introdotto può ricombinarsi con il DNA della cellula ospite e dare origine a prodotti pericolosi. Per molto tempo si è pensato che il DNA venisse rapidamente degradato nell'ambiente esterno e quindi non fosse in grado di essere assorbito dalla pelle o dal tratto intestinale dell'uomo. Studi speri-

mentali hanno evidenziato, invece, che il DNA persiste negli ambienti e può essere prontamente assorbito dalle cellule di tutti gli organismi; gli acidi nucleici possono essere somministrati con successo agli animali da esperimento per aerosol, applicazioni locali agli occhi, attraverso l'orecchio interno e i follicoli del cuoio capelluto, per iniezione intramuscolare diretta, attraverso la pelle o per bocca. Cellule immortalizzate con agenti virali o contenenti materiale genetico virale possono dunque rappresentare un rischio per il personale di laboratorio.

In aggiunta alla valutazione del rischio biologico correlata al tipo di cellule manipolate, bisogna considerare infine anche il tipo di manipolazione effettuata, le condizioni di coltura vigenti e la quantità di cellule manipolata. In figura 2 è riportato un diagramma di flusso utile ai fini della classificazione di rischio in base al tipo di coltura cellulare manipolata ed il conseguente livello di contenimento da prevedere per i locali in cui si effettua tale manipolazione.

A causa del potenziale rischio che il sistema immunitario non sia in grado di proteggere l'operatore di laboratorio dagli effetti conseguenti alla manipolazione di proprie cellule modificate tramite procedure *in vitro*, è assolutamente sconsigliato trattare cellule o tessuti derivati da se stessi o da colleghi.

In base a quanto sopra esposto, ai fini della prevenzione del rischio biologico correlato alla manipolazione di colture cellulari, risultano fondamentali la professionalità, l'addestramento, l'esperienza ed anche il buon senso degli operatori di laboratorio addetti alla manipolazione. Infatti, come già evidenziato in precedenza, sono proprio gli errori umani dovuti a disattenzione/superficialità/ripetività del lavoro svolto, cattivo uso delle attrezzature o inadeguatezza delle procedure di lavoro adottate a causare la maggior parte degli infortuni e delle LAI.

L'esposizione ad agenti biologici è controllabile attraverso l'adozione di adeguate misure di prevenzione e protezione.

Tra le misure di prevenzione da adottare per il personale di laboratorio rientrano i livelli di contenimento (ad esempio, realizzazione di ambienti a pressione positiva/negativa rispetto all'ambiente esterno), le attrezzature di lavoro utilizzate, i programmi di manutenzione preventiva di attrezzature e impianti, le norme di comportamento in laboratorio e le procedure di lavoro, finalizzate alla protezione dal contatto con tali organismi.

Con il termine di *procedura* si intende la metodica di lavoro adottata riguardo ad un'attività specifica (insieme di azioni da organizzare in uno spazio temporale definito): essa riconosce al suo interno ambiti di responsabilità, figure di riferimento a vari livelli, strumenti operativi, fonti di dati ed informazioni. Una procedura redatta e condivisa da un gruppo di lavoro e modificata opportunamente all'occorrenza (ad esempio, in occasione dell'acquisto di una nuova strumentazione o per l'introduzione di una nuova metodica lavorativa), diventa uno standard operativo che, non permettendo la personalizzazione del metodo di lavoro, ne riduce i potenziali errori.

Tra le misure di protezione, rientrano i Dispositivi di Protezione Collettiva (DPC) e Individuali (DPI). Lo svolgimento delle attività di manipolazione sotto

Cappe di sicurezza *Biohazard* (di tipo II o III) protegge l'operatore da eventuali dispersioni accidentali di cellule modificate nell'ambiente esterno, stante la filtrazione dell'aria assicurata mediante filtri HEPA (tabella 8).

Tabella 8

Caratteristiche principali delle cappe.

Classe Cappa Biohazard	I	II	III
Filtro HEPA su aria espulsa dalla cappa	Presente	Presente	Doppio
Filtro HEPA su aria in ingresso sul piano di lavoro	Non presente	Presente	Presente
Uso per agenti biologici	A basso rischio di infezione	A medio rischio di infezione	Ad alto rischio di infezione
Protezione dell'operatore	Si	Si	Si
Protezione del prodotto	No	Si	Si

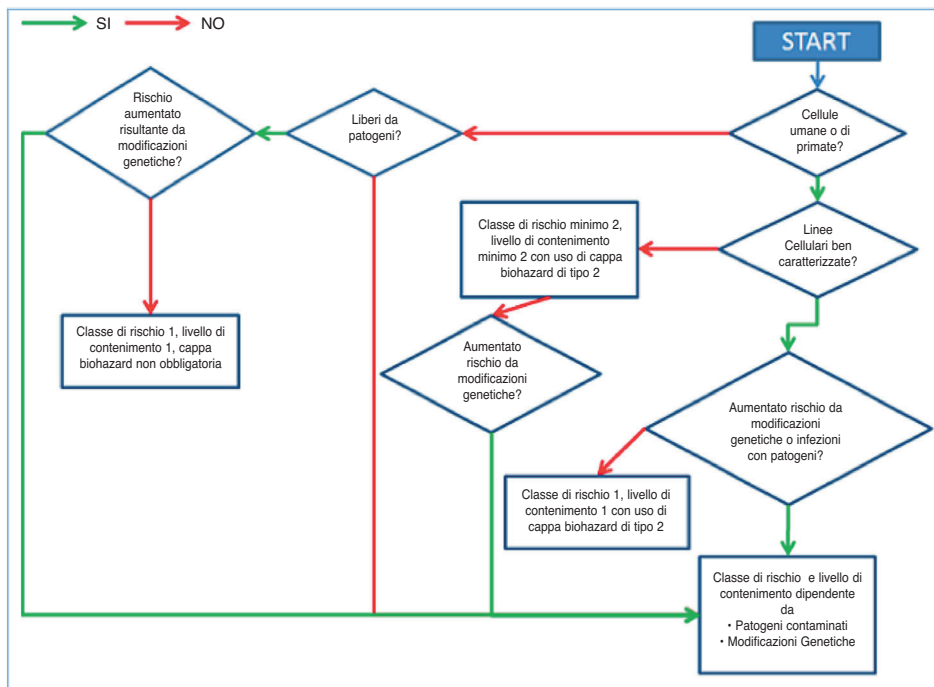


Fig. 2: Diagramma di flusso utilizzato per individuare la classe di rischio ed il livello di contenimento previsto in base al tipo cellulare e alla manipolazione in vitro effettuata (PAUWELS K., 2006).

Impiego di Dispositivi di Protezione Individuali nella manipolazione di cellule

I Dispositivi di Protezione Individuale (DPI) sono attrezzature utilizzate allo scopo di tutelare la salute e la sicurezza dei lavoratori. Il loro utilizzo è raccomandato quando, nonostante l'applicazione delle misure di prevenzione e protezione collettive, i rischi cosiddetti "residui" non sono eliminati o ridotti a livelli accettabili e devono pertanto essere ulteriormente contenuti.

Come noto, i DPI sono classificabili in tre categorie (D.Lgs. n. 475/1992): quelli di categoria III (ad esempio, i DPI per la protezione delle vie respiratorie) sono destinati a proteggere da lesioni gravi o permanenti o dalla morte e per il loro utilizzo è obbligatorio l'addestramento. Tutti i DPI per la protezione da agenti biologici ricadono in questa categoria.

I guanti (in lattice o in nitrile) riducono l'incidenza di contaminazione delle mani e rappresentano una barriera protettiva per prevenire una contaminazione grossolana, in caso di contatto diretto con agenti pericolosi. I guanti vanno sostituiti se lacerati o contaminati; non vanno indossati per tempi prolungati, per non abbassare l'efficienza di barriera. Dopo l'uso, i guanti vanno rimossi ed è necessario lavarsi le mani accuratamente.

I guanti non devono essere indossati al di fuori del laboratorio, per evitare di contaminare maniglie, tastiere, telefoni e altri oggetti con cui l'operatore viene a contatto (figura 3).



Fig. 3: Azioni in cui non vanno indossati i guanti, per evitare il rischio di contaminazione da agenti biologici.

Non tutti i tipi di cappe *Biohazard* proteggono l'operatore dalla contaminazione delle mani e delle braccia causata da schizzi e da aerosol; per tale motivo, è indispensabile l'uso di camici con maniche lunghe e polsini elastici su cui vanno infilati i guanti.

Quando non manipolati sotto cappa, gli agenti biologici possono essere veicolati dall'aerosol. I DPI per le vie respiratorie possiedono requisiti differenti in base all'uso a cui sono destinati. La protezione è garantita dalla capacità filtrante degli stessi, che varia in funzione delle dimensioni, della forma e della densità delle particelle aerodisperse che devono essere filtrare.

L'uso di maschere filtranti è richiesto quando si utilizzano sostanze tossiche. Non sono DPI le “mascherine chirurgiche” o “igieniche” sprovviste di filtro, poiché non proteggono l'operatore dalle possibili contaminazioni. Nelle *clean rooms* per la protezione totale del corpo dell'operatore si usano tute in Tyvek (DPI di III categoria), che assicurano anche la prevenzione della contaminazione del prodotto da parte dell'operatore stesso.

Gestione dei rifiuti prodotti dai laboratori

Lo smaltimento dei rifiuti è una fase essenziale del sistema di sicurezza di un laboratorio: deve essere effettuato solo da ditte autorizzate e deve essere considerato come un processo di prevenzione dei rischi e di protezione dai danni ad essi correlati.

Si considerano rifiuti sanitari pericolosi a rischio infettivo tutti i materiali che sono venuti a contatto con fluidi biologici infetti o presunti tali. Sono assimilabili a questo tipo di materiali i rifiuti dei laboratori di colture cellulari (ad esempio, piastre di coltura e materiale monouso) che siano venuti a contatto con materiale biologico, non necessariamente infetto. I rifiuti taglienti utilizzati debbono essere smaltiti negli appositi contenitori rigidi fino ai 2/3 della loro capienza, chiusi e poi smaltiti inserendoli nei contenitori per i rifiuti sanitari (figura 4). I contenitori per rifiuti biologici solidi (puntali e piccola plastiche) dovrebbero essere posizionati sotto cappa e, solo quando ermeticamente chiusi, essere inseriti in contenitori di maggiori dimensioni e poi smaltiti. I rifiuti liquidi (inclusi i terreni di coltura delle cellule) vanno invece sterilizzati in autoclave e successivamente raccolti in appositi contenitori di plastica etichettati, o immessi in contenitori di plastica nei quali sia stato precedentemente versato del disinfettante (ipoclorito di sodio allo 0.5% a contenitore pieno).



Fig. 4: Contenitori per rifiuti taglienti (a sinistra) e sanitari in genere (a destra).

In assenza o in caso di malfunzionamento dell'autoclave, i rifiuti a rischio infettivo, prima di essere conferiti all'esterno del laboratorio, devono essere sottoposti all'azione di soluzioni disinfettanti e collocati in contenitori a tenuta. Le proce-

ture di disinfezione e sterilizzazione si identificano quali misure di prevenzione ai sensi del Titolo X del D.Lgs. N. 81/2008, in quanto finalizzate a inattivare, distruggere o rimuovere microrganismi patogeni.

Le operazioni di confezionamento dei rifiuti a rischio infettivo devono essere effettuate utilizzando guanti di protezione, che devono essere eliminati non appena terminato il lavoro per evitare la contaminazione di altri oggetti.

RIASSUNTO

In questo lavoro si fornisce una serie di regole e accorgimenti per la salvaguardia della salute degli operatori che lavorano con colture cellulari, stabilizzate o primarie. In particolare, vengono elencate le condizioni di rischio e le modalità di contaminazione, i criteri per l'assegnazione della classe di rischio - sia in relazione alle cellule che alla loro manipolazione e possibilità di contaminazione, i dispositivi da usare per la protezione della salute e le norme di buona prassi nella manipolazione delle cellule e nello smaltimento dei rifiuti ad essa correlati. E' importante approfondire questa tematica, perché spesso gli operatori sono scarsamente formati sul rischio cui sono esposti e che possono controllare attraverso l'osservanza di alcune semplici regole o precauzioni.

SUMMARY

In this manuscript rules and tricks for the safety of people who work with cell lines or primary cells are offered. In particular, the condition of risk, the mechanism of contamination, the criteria for risk assessment, the protection equipment needed to watch over the worker's safety and the rules of good practice for the use of cells and the elimination of waste, are described. In fact, frequently the cell culture workers are not very well informed and trained on the biological risk which they are exposed to, whereas, using few and simple recommendations they can watch over their health, contributing to the reduction of the occupational biological risk.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA DI RIFERIMENTO

[1] INAIL: *Il rischio biologico nei luoghi di lavoro. Schede tecniche informative*, Pubblicazione Inail, Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione, Edizione 2012 (www.inail.it).

[2] SOSSAI D., MIELE M., BET P.: *Manuale di sicurezza per il personale dei laboratori di ricerca biotecnologica*, ERGA edizioni, 2001.

- [3] PARRELLO P.A.: *Ambienti a contaminazione controllata*, Novaria Tecnologie, 2009.
- [4] BARBASSA E., MOCHI S.: *Infortuni sul lavoro e malattie professionali nel settore laboratorio di analisi*, in *Rivista degli infortuni e delle malattie professionali*, Inail N. 1/2012, 213-222.
- [5] VONESCH N., TOMAO P., DI RENZI S., VITA S., SIGNORINI S.: *La biosicurezza nei laboratori per gli esposti ad agenti biologici*, in *G. Ital. Med. Lav. Erg.*, 2006; 28:4, 444-456.
- [6] <http://www2.umdj.edu/eohssweb/aiha/accidents/topic.htm>
- [7] CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION: *Laboratory-acquired West Nile Virus infections*, in *MMWR* 2002; 51: 1133-1135.
- [8] CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION: *Laboratory-Acquired Meningococcal Disease*, in *MMWR* 2002; 51: 141-144.
- [9] CDC (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION): *Suspected cutaneous anthrax in a laboratory worker*, in *MMWR* 2002; 51: 279-281.
- [10] NOVELLO S., GALLO R., KELLY M., LIMBERGER R.J., DE ANGELIS K., CAIN L., WALLACE B., DUMAS N.: *Laboratory-acquired Brucellosis*, in *Emerg. Infect. Dis.*, 2004; 10: 1848-1850.
- [11] DOBLHOFF-DIER O., STACEY G.: *Cell lines: applications and biosafety*, in: FLEMING D, HUNT D, editors, *Biological safety: principles and practices*, Washington, DC: ASM Press; 2000, p. 221-39.
- [12] HALLMAN A., OXFORD M. N. & POLLACK M.: *Biohazard in biological research*, Cold Spring Harbor, 1973.
- [13] HO M.W.: *Genetic Engineering Dream or Nightmare? The Brave New World of Bad Science and Big Business*, Gateway Books, Bath 2nd ed., Gateway, Gill & Macmillan, Dublin (1999).
- [14] AIREPSA - ISPESL: *Manuale di biosicurezza nei laboratori*, Edizione 2005.
- [15] *Linee guida per l'ingegneria dei tessuti e la terapia cellulare*, Gruppo di lavoro per la sicurezza e la qualità della sperimentazione in terapia cellulare e per l'impiego dei "Prodotti dell'ingegneria dei tessuti" a scopo terapeutico ovvero a scopo di trapianto su pazienti. Presidenza Consiglio Ministri, 1998.

[16] OZOG, H.: *Hazard identification analysis and control*, in *Chem. Ing.*, 2: 161-170 (1985). Code of Federal Regulation, 21 CFR 820 (1986).

[17] www.biosafety.be/CU/animalcellcultures/mainpage.html

[18] DOBLHOFF-DIER O. & STACEY G.: *Cell lines: applications and biosafety*, in *Biological Safety - Principles and Practices* (ed. D.O. Fleming & D.L. Hunt), 3rd edn, pp. 221-241, Washington, DC, USA: ASM Press (2000).

[19] FROMMER, W. *et al.*: *Safe biotechnology recommendations for safe work with animal and human cell cultures concerning potential human pathogens*, in *Applied Microbiology and Biotechnology*, 39, 141-147 (1993).

[20] <http://www.biosafety.be/CU/animalcellcultures/>

[21] HO M.W., TRAAVIK T., OLSVIK R., TAPPESER B., HOWARD V., VON WEIZSACKER C. AND MCGAVIN G.: *Gene Technology and Gene Ecology of Infectious Diseases*, in *Microbial Ecology in Health and Disease*, 10: 33-59 (1998b).

[22] LORENZ M.G., WACKERNAGEL W.: *Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment*, in *Microbiol. Rev.*, 58: 563-602 (1994).

[23] MERCER D.K., SCOTT K.P., BRUCE-JOHNSON W.A. GLOVER L.A., FLINT H.J.: *Fate of free DNA and transformation of the oral bacterium Streptococcus gordonii DL1 by plasmid DNA in human saliva*, in *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 6-10 (1999).

[24] SCHUBBERT R., LETTMANN C., DOERFLER W.: *Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice*, in *Molecular and General Genetics*, 242: 495-504 (1994).

[25] BROWN P.: *Naked DNA raises cancer fears for researchers*, in *New Scientist*, 6 October, 17 (1990).

[26] YEI S., MITTEREDER N., WERT S., WHITSETT J.A., WILMOTT R.W., TRAPNELL B.C.: *In vivo evaluation of the safety of adenovirus-mediated transfer of the human cystic fibrosis transmembrane conductance regulator cDNA to the lung*, in *Hum. Gene Ther.*, 15: 731-744 (1994).

[27] NOISAKRAN S., CAMPBELL I.L., CARR D.J.: *Ecotopic expression of DNA encoding IFN-alpha 1 in the cornea protects mice from herpes simplex virus type 1-induced encephalitis*, in *J. Immunol.*, 162: 4184-90 (1999).

- [28] YAMASOBA T., YAGL M., ROESSLER B.J., MILLER J.M., RAPHEAL Y.: *Inner ear transgene expression after adenoviral vecotr inoculation in the endolymphatic sac*, in *Hum Gene Ther*, 10: 744-69 (1999).
- [29] HOFFMAN R.M.: *The hair follicle as a gene therapy target*, in *Nature Biotechnology*, 18: 20-1 (2000).
- [30] BUDKER V., ZHAN, G., DANKO I., WILLIAMS P. AND WOLFF J.: *The efficient expression of intravascularly delivered DNA in rat muscle*, in *Gene Therapy*, 5: 272-6 (1998).
- [31] KHAVARI P.A.: *Cutaneous gene therapy*, in *Advances in Clinal Research*, 15: 27-35 (1997).
- [32] DURING M.J., XU R., YOUNG D., KAPLITT M.G., SHERWIN R.S., LEONE P.: *Peroral gene therapy of lactose intolerance using an adeno-associated virus vector*, in *Nat. Med.*, 4: 1131-5 (1998).
- [33] CAPUTO J.L.: *Safety procedures*, in: FRESHNEY RI FRESHNEY MG: editors, in *Culture of immortalized cells*, New York: Wiley-Liss; 1996.
- [34] WEISS RA.: *Why cell biologists should be aware of genetically transmitted viruses*, in *Natl. Cancer. Inst. Monogr.*, 1978; 48: 183-9.
- [35] ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ: *Manuale Operativo Rischio Biologico*, Versione 01. www.iss.it/binary/prev/cont/Manuale_Rischio_Biologico.
- [36] INAIL: *La sicurezza in ospedale. Strumenti di valutazione e gestione del rischio*, Edizione 2012.
- [37] PAUWELS K.: *Animal cell cultures: Risk assessment and biosafety recommendations*, <http://www.biosafety.be/CU/animalcellcultures/mainpage.html> (Belgian Biosafety server, Last revised: February 28, 2006).

IL REGISTRO INAIL DI ESPOSIZIONE A CANCEROGENI PROFESSIONALI: SISTEMA INFORMATIVO E FLUSSO DATI

ALBERTO SCARSELLI*

Introduzione

La raccolta sistematica e standardizzata dei livelli di esposizione dei lavoratori, in relazione all'utilizzo di agenti cancerogeni, costituisce una base di conoscenza di notevole rilevanza per la valutazione quantitativa dei fattori di rischio professionali, oltre a favorire la soluzione di molte problematiche medico-legali e l'adozione di misure prevenzionali idonee.

In Italia, il D.Lgs. n. 81/2008 e successive modificazioni [1] definisce i criteri per la valutazione dell'esposizione professionale dei lavoratori ad agenti cancerogeni e/o mutageni, stabilendo una serie di misure preventive specifiche per minimizzare il rischio di esposizione professionale. Tra queste, l'articolo 243 sancisce l'istituzione del registro di esposizione agli agenti cancerogeni e/o mutageni, individuando nel decreto Ministeriale 155/2007 [2] la definizione dei modelli di riferimento e le modalità di tenuta del registro. L'Inail e gli organi di vigilanza competenti per territorio (Asl) sono stati individuati come i soggetti istituzionali deputati alla gestione dei relativi flussi informativi. L'obiettivo principale dell'istituzione del registro è quello di individuare priorità e strategie finalizzate a promuovere interventi di prevenzione primaria nei luoghi di lavoro volti ad eliminare, o quanto meno a ridurre, il numero dei lavoratori esposti ed i livelli di esposizione a cancerogeni occupazionali. Il riconoscimento dei lavoratori esposti a cancerogeni, oltretutto, consente di porre in relazione l'occorrenza delle patologie neoplastiche con esposizioni pregresse, rendendo possibile l'identificazione di situazioni a maggior rischio e favorendo la loro prevenzione.

Esperienze di registrazione dell'esposizione professionale sono in corso in molti paesi dell'Unione Europea con modalità diverse. Il primo modello di registro è stato sviluppato in Finlandia (ASA Register) a partire dal 1979 [3] ed ha consentito di verificare l'efficacia dei sistemi di prevenzioni adottati nel tempo [4].

* Inail - Settore Ricerca, Certificazione e Verifica - Dipartimento di Medicina del Lavoro.

Recentemente sono stati discussi i risultati per la prevenzione dei tumori professionali e dei fattori di rischio tra i lavoratori esposti, sulla base dei dati registrati in ASA [5]. Altre esperienze analoghe sono: la banca dati COLCHIC istituita in Francia nel 1987 [6]; l'archivio MEGA operativo dal 1972 in Germania [7]; e il NEDB database attivo nel Regno Unito presso l'istituto Health and Safety Executive dal 1986 [8].

In Italia, l'istituzione del registro dei lavoratori esposti a cancerogeni risale al 1994 quando l'emanazione del D.Lgs. 629/1994 [9], oltre a regolamentare per la prima volta in modo organico la tutela della sicurezza e salute nei luoghi di lavoro, ha introdotto l'obbligo di registrazione delle esposizioni professionali a cancerogeni. Al datore di lavoro, tramite il medico competente, è demandata la valutazione dei rischi, l'identificazione delle sostanze potenzialmente nocive per la salute dei lavoratori e di conseguenza la definizione del protocollo di sorveglianza sanitaria, e l'istituzione del registro per i lavoratori esposti a sostanze cancerogene.

In questo elaborato viene presentato un quadro sintetico delle notifiche relative al rischio di esposizione professionale a cancerogeni sulla base dei dati raccolti dall'Istituto a norma dell'articolo 243 del Decreto Legislativo 81/2008 e successive modifiche [1], oltre a fornire una descrizione essenziale della struttura del sistema informativo e del relativo flusso di dati.

Materiali e metodi

La base di riferimento per la definizione delle caratteristiche del modello deputato al governo del flusso di dati generato dal sistema sono stati i modelli e le modalità di tenuta delle informazioni determinate dal decreto Ministeriale 155/2007 [2]. La banca dati, denominata SIREP, è stata realizzata in Oracle ed ha una struttura relazionale. Il suo disegno architettonico è descritto in dettaglio altrove [10]. Le notifiche delle esposizioni professionali pervenute all'Istituto sono state inserite nel sistema a partire dal 1996, e, ai fini di questo lavoro, è stata presa in considerazione la documentazione pervenuta tra il 1996 e il 2012. La norma prevede l'invio iniziale di una copia del registro all'Inail e all'Asl competente per territorio (entro trenta giorni dalla sua istituzione), e successivi invii periodici (con cadenza triennale) per la segnalazione delle variazioni intervenute dall'ultima comunicazione. Qualora cessi il rapporto di lavoro di un singolo lavoratore (ad es. per dimissioni, pensionamento, ecc.), copia delle annotazioni individuali trascritte sul registro per quel lavoratore deve essere inviata, entro trenta giorni, all'Inail unitamente alla cartella sanitaria e di rischio del lavoratore. Tale obbligo sussiste anche qualora cessi completamente l'attività dell'azienda (nel qual caso è necessario trasmettere in originale il registro all'Inail e inviarne una copia alla Asl competente per territorio).

Da ciascuna notifica sono state desunte le seguenti informazioni di base, in accordo anche con le indicazioni del gruppo di lavoro europeo sulle modalità di effettuazione delle misure delle esposizioni nei luoghi di lavoro [11]: Denominazione sociale, ubicazione territoriale dell'azienda (fino al livello comunale), settore di attività economica (secondo codifica Ateco dell'Istat) e dimensione aziendale (in termini di forza lavoro); dati anagrafici dei lavoratori; attività del lavoratore correlata all'esposizione (secondo classificazione delle professioni Istat), agente/i cancerogeno/i utilizzati (comprensivo di numero di CAS, ove esistente) e livello di esposizione (in termini di intensità, durata e frequenza). Gli agenti considerati sono quelli catalogati nella classificazione della Comunità Europea in categoria 1 (sostanze note per gli effetti cancerogeni sull'uomo) e 2 (sostanze da considerare cancerogene per l'uomo) di cancerogenicità/mutagenicità. L'inserimento di un lavoratore nel registro è una conseguenza della valutazione dei rischi per la salute durante il lavoro, e segue l'istituzione della sorveglianza sanitaria per il soggetto. Per la registrazione delle informazioni è stato progettato un software applicativo per la gestione del database e predisposto un servizio di data-entry per l'inserimento dei dati. È in fase avanzata di sperimentazione uno strumento applicativo informatizzato che consentirà la compilazione e la trasmissione dei registri di esposizione on-line tramite interfaccia web [12].

Le informazioni raccolte sono state catalogate ed elaborate in funzione della distribuzione territoriale e settoriale delle aziende e dei lavoratori esposti. Sono state realizzate analisi statistiche descrittive e di sintesi per settore economico di attività e regione dell'azienda, agente cancerogeno utilizzato, e professione dei lavoratori.

Risultati

Il numero totale di aziende che hanno istituito il registro degli esposti al 31 dicembre 2012 è di 14.264 (di cui circa il 3% sono aziende plurilocalizzate) e il numero di lavoratori esposti a cancerogeni è di 158.774 (di cui l'88% circa sono uomini). Per circa il 77% dei lavoratori esposti sono noti i valori di esposizione (quantitativi annuali delle sostanze impiegate o misure ambientali del particolato aerodisperso). In totale si contano 342.111 esposizioni lavorative e 370.010 misurazioni dei livelli di esposizione. In tabella I è riprodotta la distribuzione regionale delle aziende e dei lavoratori esposti; mentre nella tabella II è riportata la suddivisione per attività economica. Nella Figura 1 è rappresentata su mappa regionale la distribuzione dell'indicatore che rappresenta il rapporto percentuale tra le aziende che hanno inviato il registro all'Istituto e quelle presenti sul territorio secondo l'8° censimento Istat dell'industria e servizi del 2001 [13].

Tabella 1

Distribuzione regionale delle aziende e dei lavoratori.

Regione	N. Aziende	N. Lavoratori*	N. Aziende Istat**	Indicatore***
Piemonte	744	10.485	356.910	0,21%
Valle d'Aosta	3	28	12.145	0,02%
Lombardia	2.713	27.409	809.885	0,33%
Trentino Alto Adige	374	3.039	85.380	0,44%
Veneto	2.370	28.106	407.256	0,58%
Friuli-Venezia Giulia	602	7.658	95.157	0,63%
Liguria	234	2.704	135.431	0,17%
Emilia-Romagna	1.792	21.762	389.231	0,46%
Toscana	1.648	11.722	338.191	0,49%
Umbria	371	3.576	69.799	0,53%
Marche	1.170	9.826	133.926	0,87%
Lazio	618	7.762	381.040	0,16%
Abruzzo	300	2.848	96.315	0,31%
Molise	12	257	21.337	0,06%
Campania	419	2.806	318.405	0,13%
Puglia	285	6.030	241.040	0,12%
Basilicata	122	1.592	35.879	0,34%
Calabria	130	614	106.464	0,12%
Sicilia	249	6.710	263.998	0,09%
Sardegna	108	5.227	105.642	0,10%
<i>Totale</i>	<i>14.264</i>	<i>160.161</i>	<i>4.403.431</i>	<i>0,32%</i>

* Uno stesso lavoratore può essere presente in più regioni perché cessato in una azienda e riassunto in un'altra localizzata in una regione differente.

** In accordo con l'8° censimento Istat dell'industria e servizi del 2001.

*** Rappresenta il rapporto percentuale tra le aziende che hanno inviato il registro e quelle presenti sul territorio secondo l'8° censimento Istat dell'industria e servizi del 2001.

Tabella 2

Distribuzione per attività economica delle aziende e dei lavoratori.

Settore di attività economica	N. Aziende	N. Lavoratori*
A - Agricoltura, caccia e silvicoltura	48	441
B - Pesca, piscicoltura e servizi connessi	1	1
CA - Estrazione di minerali energetici	34	1.303
CB - Estrazione di minerali non energetici	17	211
DA - Industrie alimentari, delle bevande e del tabacco	42	222
DB - Industrie tessili e dell'abbigliamento	45	372
DC - Industrie conciarie fabbricazione di prodotti in cuoio pelle e similari	70	552
DD - Industria del legno e dei prodotti in legno	2.704	29.678
DE - Fabbricazione della pasta-carta, della carta e dei prodotti di carta; stampa ed editoria	53	1367
DF - Fabbricazione di coke, raffinerie di petrolio, trattamento dei combustibili nucleari	54	6019
DG - Fabbricazione di prodotti chimici e di fibre sintetiche e artificiali	379	27.631
DH - Fabbricazione di articoli in gomma e materie plastiche	140	2.176
DI - Fabbricazione di prodotti della lavorazione di minerali non metalliferi	165	1.362
DJ - Produzione di metallo e fabbricazione di prodotti in metallo	1.173	13.217
DK - Fabbricazione di macchine ed apparecchi meccanici, compresi l'installazione, il montaggio, la riparazione e la manutenzione	363	3.660
DL - Fabbricazione di macchine elettriche e di apparecchiature	139	1.312
DM - Fabbricazione di mezzi di trasporto	348	8.363
DN - Altre industrie manifatturiere	3.157	30.772
E - Produzione e distribuzione di energia elettrica, gas e acqua	82	1.359
F - Costruzioni	737	7.306
G - Commercio all'ingrosso e al dettaglio; riparazione di autoveicoli, motocicli e di beni personali e per la casa	3.577	13.061
H - Alberghi e ristoranti	8	29
I - Trasporti, magazzinaggio e comunicazioni	104	2.237
J - Intermediazione monetaria e finanziaria	1	19
K - Attività immobiliari, noleggio, informatica, ricerca, altre attività professionali ed imprenditoriali	253	3.173
L - Pubblica amministrazione e difesa; assicurazione sociale obbligatoria	76	1.011
M - Istruzione	78	3.384
N - Sanità e altri servizi sociali	180	4.111
O - Altri servizi pubblici, sociali e personali	236	2.270
Totale	14.264	166.619

* Uno stesso lavoratore può essere presente in più settori perché cessato in una azienda e riassunto in un'altra con diversa attività.

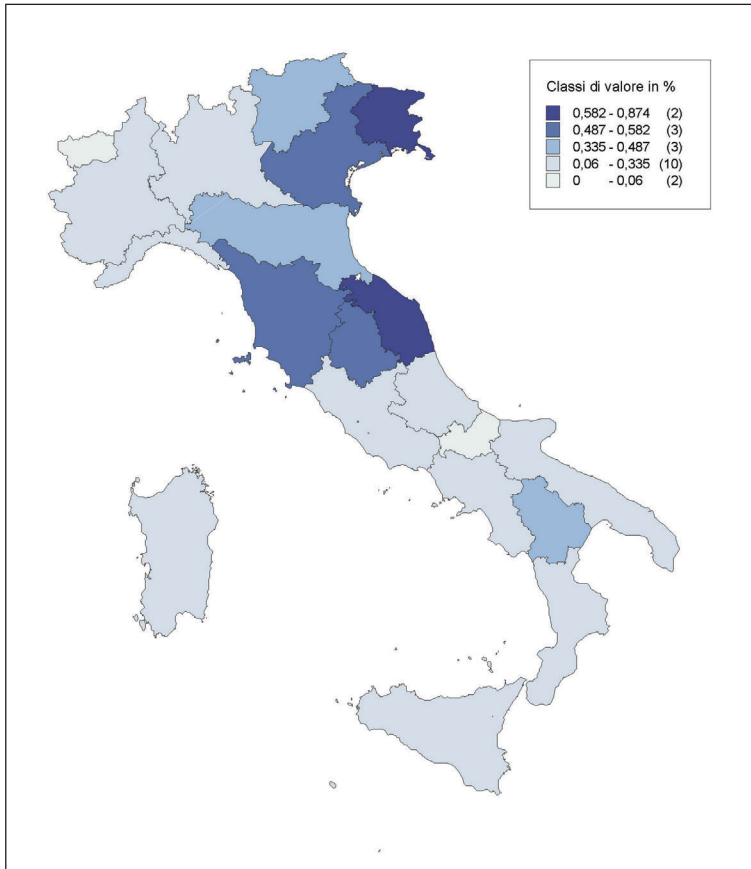


Fig. 1: Rapporto tra numero di aziende notificate all'Istituto e numero di aziende attive secondo l'8° censimento Istat del 2001.

I settori di attività economica a cui appartengono le aziende che si sono notificate all'Istituto sono principalmente l'industria manifatturiera, quella del legno e il commercio. La concentrazione maggiore di lavoratori esposti si riscontra, invece, nell'industria chimica. L'agente cancerogeno segnalato con maggior frequenza è la polvere di legno duro con più di 67.800 lavoratori, occupati principalmente nell'industria del legno e nella fabbricazione di mobili. Segue il benzene con circa 36.000 lavoratori impiegati soprattutto nel settore della fabbricazione di

prodotti chimici (circa il 60%), e i composti del cromo esavalente con 22.500 lavoratori, addetti prevalentemente alle attività del settore della galvanica (26%). Per quanto riguarda la professione dei lavoratori, quella con più esposti è rappresentata da “Ebanisti, attrezzisti, operai e artigiani del trattamento del legno” (codice CP 652) con più di 43.600 lavoratori (di cui il 90% uomini) che rappresenta circa il 27% del totale dei lavoratori esposti. Segue la professione di “Conduttori di impianti chimici e petrolchimici” (codice CP 715) con circa 19.600 lavoratori (97% uomini). Da segnalare anche la professione “Meccanici, montatori, riparatori e manutentori di macchine fisse e mobili” (codice CP 623) che conta più di 7.000 esposti, anche in questo caso quasi tutti uomini (97%). L’andamento temporale delle notifiche mostra un picco in corrispondenza del 2008, anno in cui è entrato in vigore il decreto attuativo D.M. 155/2007 [2] che ha stabilito definitivamente le procedure per la tenuta e le trasmissioni del registro. In media, ogni lavoratore risulta essere esposto a circa 2 sostanze cancerogene (esposizione multipla), e nel periodo 2000-2012 circa 2.200 lavoratori all’anno hanno cessato l’esposizione per fine rapporto di lavoro (turn-over). Nella Figura 2 è riportato l’andamento delle notifiche pervenute per anno di istituzione del registro, mentre nella Figura 3 è visualizzata la distribuzione delle aziende che hanno notificato il registro in relazione ai principali agenti cancerogeni segnalati.

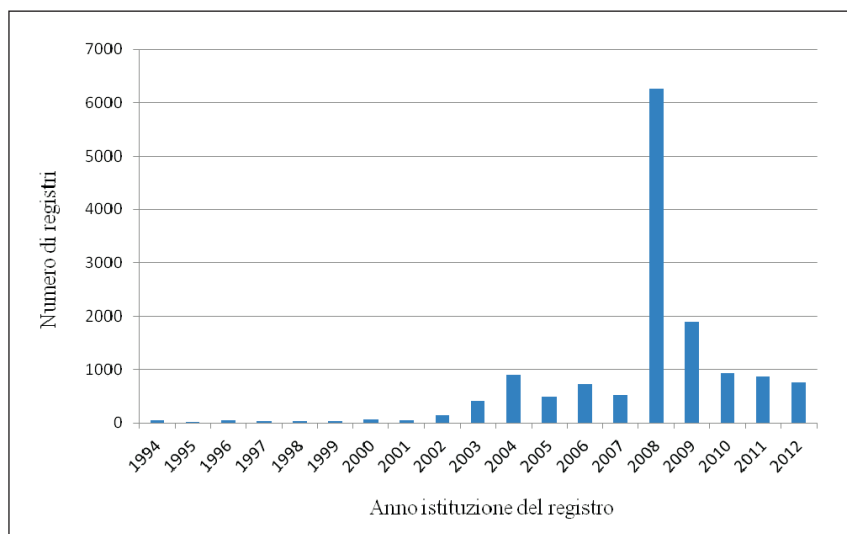


Fig. 2: Andamento temporale della trasmissione dei registri all’Istituto.

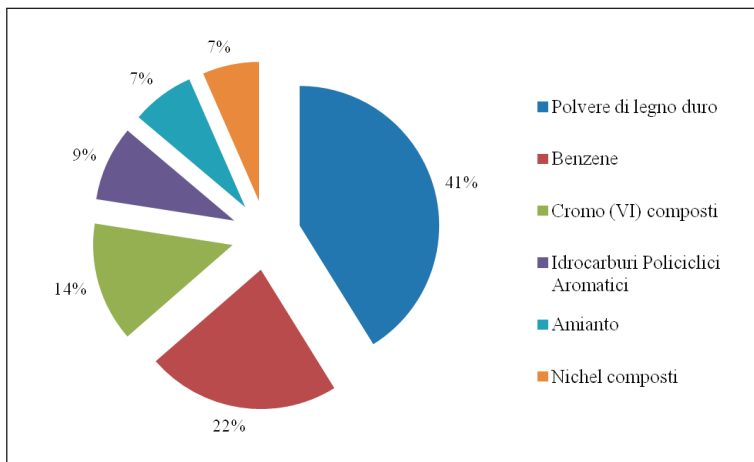


Fig. 3: Distribuzione delle aziende per i principali agenti cancerogeni segnalati.

Discussione e conclusioni

La registrazione dei livelli di esposizione va trascritta sul registro una sola volta e modificata nel caso in cui intervengano cambiamenti significativi nei valori espositivi a seguito, per esempio, di adozione di nuove e più incisive misure di prevenzione o modifiche strutturali nel ciclo lavorativo. La valutazione dell'esposizione dei lavoratori va, comunque, ripetuta ogni tre anni in concomitanza con l'aggiornamento del documento di valutazione dei rischi in azienda. È importante sottolineare che non è sufficiente mantenere il livello dell'esposizione al di sotto del suo valore limite imposto per legge o raccomandato dalle norme europee in materia ma è necessario adottare ogni possibile accorgimento al fine di ridurre l'esposizione dei lavoratori al più basso valore tecnicamente possibile. La responsabilità del processo di misurazione e di campionamento è a totale carico del datore di lavoro. Le principali norme di riferimento da seguire durante la fase di misurazione dei valori di esposizione negli ambienti di lavoro sono la UNI-EN 689:1997 [14] e la UNI-EN 1232:1999 [15]. Oltre all'utilizzo di indumenti e dispositivi di protezione individuale, e la predisposizione di idonee misure di contenimento della dispersione del particolato in area (cappe di aspirazioni localizzate sui macchinari, aspirazioni alla fonte senza riciclo, ecc), è importante effettuare una costante e metodica pulizia dei locali, delle attrezzature e degli

stessi indumenti protettivi. Molto importante è anche la gestione dello spazio all'interno dello stabilimento: infatti ambienti troppo raccolti o con macchinari troppo costipati aumentano la concentrazione nell'aria delle polveri. È necessario anche considerare l'eventuale sostituzione delle attrezzature e dei macchinari con impianti di nuova generazione e, se possibile, la sostituzione di un agente cancerogeno con una sostanza che, nelle condizioni in cui viene utilizzato, è meno nocivo alla salute dei lavoratori [1]. Le misurazioni dei livelli di esposizione vanno effettuate sistematicamente al fine di garantire il controllo delle misure di prevenzione adottate. Allo stesso modo, la formazione e l'informazione dei lavoratori riguardo al corretto uso degli indumenti di protezione personale e al potenziale rischio di cancerogenicità delle sostanze impiegate vanno ripetute periodicamente. Nel ribadire l'importanza di fornire linee guida dettagliate e standard operativi esaustivi [16], è fondamentale rilevare anche la necessità di attente e mirate campagne di formazione-informazione, da indirizzare non solo a organizzazioni sindacali e imprenditoriali ma anche alle stesse strutture del Servizio Sanitario Nazionale.

L'architettura del sistema informativo, così come progettata, garantisce un disegno *modulare e distribuito* favorendo l'integrazione tra le diverse entità componenti il sistema [17]. La modularità del sistema consente di apportare agevolmente integrazioni e rimodulazioni allo schema dei processi esistenti, mentre la proprietà di distribuzione ottimizza l'acquisizione dei dati e facilita lo scambio tra banche dati differenti. Il database è ospitato su un server *cluster* dedicato per aumentare l'affidabilità della struttura e migliorare le prestazioni del sistema. L'adozione di queste caratteristiche garantisce la *scalabilità* del sistema, ovvero la capacità di accrescere la sua struttura nel tempo in funzione dell'aumento della complessità dei dati da archiviare. Particolare attenzione è stata posta, durante la progettazione del sistema, all'esigenza di protezione dei dati personali, così come definita dalla normativa italiana sulla riservatezza e sicurezza dei dati (Legge n. 675/96 e successive modificazioni) [18], data la necessità di dover registrare le informazioni identificative dei lavoratori. L'identificazione dei lavoratori, infatti, è utile nella ricostruzione dell'intera storia lavorativa finalizzata alla conduzione di studi epidemiologici riguardanti la ricerca attiva delle malattie di natura professionale. Il modello dei dati adottato consente di ricostruire la storia delle esposizioni lavorative di ogni soggetto e delle aziende dove il lavoratore ha svolto l'attività.

La distribuzione per regione delle notifiche mostra una notevole variabilità. In particolare, analizzando l'indicatore costruito determinando il rapporto percentuale tra le aziende che si sono notificate all'Istituto e quelle indicate nell'8° censimento Istat dell'industria e dei servizi [13], le Marche e il Friuli-Venezia Giulia sono le regioni nelle quali il numero di aziende che ha inviato il registro è più elevato (Figura 1). Valle d'Aosta e Molise, invece, sono le regioni con il valore più basso dell'indicatore, risultato confermato anche in termini assoluti dal

numero di registri trasmessi (Tabella 1). Riguardo al settore di attività economica, si nota come l'industria chimica (in particolare il settore DF - Fabbricazione di coke e raffinerie di petrolio), pur avendo un relativo piccolo numero di aziende che hanno istituito il registro, mostra la media più alta di lavoratori esposti per singola azienda. La distribuzione delle professioni dei lavoratori riflette da una parte l'agente cancerogeno notificato con più frequenza (polvere di legno duro), dall'altra il settore economico delle aziende con maggior concentrazione di lavoratori esposti (industria chimica). Nella lettura delle tabelle è opportuno tener presente che uno stesso lavoratore può essere stato esposto anche a più di una sostanza cancerogena simultaneamente e, nel periodo di tempo considerato (1996-2012), può aver prestato lavoro in più aziende collocate in diversi settori economici e localizzate in regioni differenti. Tale situazione può aver comportato per uno stesso lavoratore diverse esposizioni allo stesso agente o esposizioni diverse per agenti differenti. Tra le problematiche più rilevanti riscontrate nella compilazione dei modelli, è da segnalare quella legata all'indicazione dei codici delle varie classificazioni utilizzate. Viene fatta, infatti, frequentemente confusione tra la qualifica professionale del lavoratore (es. operaio, impiegato, ecc) e la sua mansione (levigatore, verniciatore, ecc). Questa ultima deve essere indicata secondo la classificazione Istat delle professioni, cioè entrando maggiormente nel dettaglio dell'attività svolta dal lavoratore. In alcuni casi, inoltre, la classificazione Istat delle professioni viene confusa con quella Istat delle attività economiche (da indicare, invece, nei dati generali dell'azienda). Inoltre, alcune variabili importanti ai fini dell'analisi dei livelli di esposizione non vengono sempre riportate, come il metodo analitico di campionamento, il dispositivo utilizzato nella misura e il tipo di misurazione effettuata.

In conclusione la registrazione dei livelli e delle occasioni di esposizione, dei lavoratori esposti e delle sostanze cancerogene è uno strumento importante per l'individuazione delle situazioni di maggior rischio per la salute dei lavoratori e per la definizione di misure di prevenzione e protezione da adottare. È opportuno, quindi, incentivare le aziende all'istituzione del registro degli esposti e coadiuvare tutti i soggetti coinvolti nella procedura di registrazione alla corretta compilazione e trasmissione dello stesso.

Ringraziamenti

Si desidera ringraziare tutto il gruppo di lavoro "SIREP" del Laboratorio di Epidemiologia, Dipartimento di Medicina del Lavoro del Settore Ricerca dell'Inail, per la disponibilità e il prezioso lavoro offerto.

RIASSUNTO

Presso l'Istituto è attivo un sistema informativo per la raccolta e l'archiviazione delle informazioni relative alle esposizioni professionali a cancerogeni, progettato e sviluppato sulla base dei dispositivi di legge che regolamentano l'obbligo di tenuta e trasmissione del registro di esposizione (art. 243 D.Lgs. 81/2008). L'obiettivo dello studio è quello di illustrare a grandi linee l'architettura del sistema e fornire alcune statistiche di sintesi. Le principali informazioni contenute nel registro sono: i dati generali dell'azienda, le sostanze cancerogene utilizzate, le modalità di esposizione dei lavoratori e i dati relativi alle misurazioni ambientali. Sono state realizzate analisi statistiche descrittive per settore economico di attività e regione delle aziende, agente cancerogeno e professione dei lavoratori. Al 31 dicembre 2012 risultano registrate, cumulativamente, informazioni relative a: 14.264 aziende, 158.774 lavoratori, 342.111 esposizioni e 370.010 misurazioni dei livelli di esposizione. La maggior parte delle aziende appartiene all'industria manifatturiera, a quella del legno e al commercio, mentre la maggior concentrazione di lavoratori esposti è nell'industria chimica. Il sistema di sorveglianza istituito a seguito dell'obbligo di registrazione delle esposizioni consente di programmare studi analitici puntuali, in relazione sia alla verifica degli effetti dell'esposizione che alla valutazione dell'efficacia delle norme di prevenzione e protezione. È di fondamentale importanza, perciò, accrescere la consapevolezza di tutti i soggetti coinvolti nelle procedure di registrazione affinché la copertura del sistema venga ampliata e la qualità dei dati migliorata.

SUMMARY

At the Institute is active an information system for the collection and archiving of information related to occupational exposures to carcinogens, designed and developed on the basis of the law which has regulated the obligation of keeping and transmitting the exposure register (art. 243 DLgs 81/2008). The objective of this study is to provide a broad outline of the system architecture and provide some summary statistics. The main information contained in the register are: general data of the company, carcinogenic substances used, modalities of workers exposure and environmental measurements. Descriptive statistical analyses were carried out by economic sector of activity and territorial region of companies, carcinogen agent and workers occupation. To December 31, 2012 are recorded, cumulatively, information about: 14,264 companies, 158,774 employees, 342,111 exposures and 370,010 measurements of exposure levels. Most of the companies belong to the manufacturing industry, wood processing, and trade, while the largest concentration of exposed workers is in the chemical industry. The surveillance system instituted as a result of the registration obligation allows

to program specific analytical studies, both in relation to the monitoring of the exposure effects and to the evaluation of the effectiveness of prevention and protection standards. It is essential, therefore, to increase the awareness of all those involved in registration procedures so that the system coverage may be expanded and the quality of data improved.

BIBLIOGRAFIA

[1] DECRETO LEGISLATIVO 9 APRILE 2008, N. 81: *Attuazione dell'articolo 1 della legge 3 agosto 2007, n. 123, in materia di tutela della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro*, in *G.U.*, 30 aprile 2008, n. 101.

[2] DECRETO MINISTERIALE 12 LUGLIO 2007, N. 155: *Regolamento attuativo dell'articolo 70, comma 9, del D.Lgs. 19 settembre 1994, n. 626. Registri e cartelle sanitarie dei lavoratori esposti durante il lavoro ad agenti cancerogeni*, in *G.U.*, 18 settembre 2007, n. 217.

[3] ALHO J., KAUPPINEN T., SUNDQUIST E.: *Use of exposure registration in the prevention of occupational cancer in Finland*, in *Am. J. Ind. Med.*, 1988;13:581-592.

[4] HEIKKILA P., KAUPPINEN T.: *Occupational exposure to carcinogens in Finland*, in *Am. J. Ind. Med.*, 1992;21:467-480.

[5] KAUPPINEN T., SAALO A., PUKKALA E., VIRTANEN S., KARJALAINEN A., VUORELA R.: *Evaluation of a national register on occupational exposure to carcinogens: effectiveness in the prevention of occupational cancer; and cancer risks among the exposed workers*, in *Ann. Occup. Hyg.*, 2007; 51:463-470.

[6] RAYMOND V., JEANDEL B.: *COLCHIC-Occupational exposure to chemical agents database: current content and development perspectives*, in *Appl. Occup. Environ. Hyg.*, 2001; 16:15-21.

[7] STAMM R.: *MEGA-Database: one million data since 1972*, in *Appl. Occup. Environ. Hyg.*, 2001; 16:159-163.

[8] CHERRIE J.W., SEWELL C., RITCHIE P., MCINTOSH C., TICKNER J.: *Retrospective collection of exposure data from industry: result from a feasibility study in the United Kingdom*, in *Appl. Occup. Environ. Hyg.*, 2001; 16:144-148.

[9] DECRETO LEGISLATIVO 19 SETTEMBRE 1994, N. 626: *Attuazione delle Direttive n. 89/391/CEE, n. 89/654/CEE, n. 89/655/CEE, n. 89/656/CEE, n. 90/269/CEE,*

n. 90/270/CEE, n. 90/394/CEE, n. 90/679/CEE riguardanti il miglioramento della sicurezza e della salute dei lavoratori sul luogo di lavoro, in G.U. 12 novembre 1994, n. 265.

[10] SCARSELLI A., MONTARULI C., MARINACCIO A.: *The Italian Information System on Occupational Exposure to Carcinogens (SIREP): Structure, Contents and Future Perspectives*, in *Ann. Occup. Hyg.*, 2007;51:471-478.

[11] RAJAN B., ALESBURY R., CARTON B.: *European proposal for core information for the storage and exchange of workplace exposure measurements on chemical agents*, in *Appl. Occup. Environ. Hyg.*; 1997;12:31-39.

[12] TAIANO L., DI MARZIO D., SCARSELLI A., MARINACCIO A.: *Strumenti per la gestione dei flussi dati nazionali relativi ai registri di esposizione professionale ad agenti cancerogeni: un applicativo web per la tenuta e la trasmissione dei modelli (S.I.R.D.E.)*, in *Rivista degli Infortuni e delle Malattie Professionali*, 2013, 1-2, 145.

[13] ISTITUTO NAZIONALE DI STATISTICA: *8° Censimento generale dell'industria e dei servizi 2001*, Istat, Roma, 2004.

[14] UNI: *Atmosfera nell'ambiente di lavoro. Guida alla valutazione dell'esposizione per inalazione a composti chimici ai fini del confronto con i valori limite e strategia di misurazione - UNI-EN 689-1997*, UNI, Milano, 1997.

[15] UNI: *Atmosfera nell'ambiente di lavoro. Pompe per il campionamento personale di agenti chimici. Requisiti e metodi di prova - UNI-EN 1232:1999*, UNI, Milano, 1999.

[16] COORDINAMENTO TECNICO PER LA SICUREZZA NEI LUOGHI DI LAVORO DELLE REGIONI E DELLE PROVINCE AUTONOME: *Linee Guida per l'applicazione del Titolo VII Decreto Legislativo 626/1994*, Coordinamento Tecnico delle Regioni e Province Autonome, Roma, 2002.

[17] CERI S., PELAGATTI G.: *Distributed databases. Principles and systems*, McGraw-Hill, Inc, New York, 1984.

[18] LEGGE 31 DICEMBRE 1996, N. 675: *Tutela delle persone e di altri soggetti rispetto al trattamento dei dati personali*, in G.U., 8-1-1997, n. 5.