

IL RISCHIO BIOLOGICO NEI LUOGHI DI LAVORO: PRIORITÀ DI RICERCA PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO

Biancamaria Pietrangeli

Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro (ISPESL), Dipartimento Installazioni di Produzione e Inseguimenti Antropici, Roma

(Parole chiave: rischio biologico, valutazione del rischio, sicurezza occupazionale)

SINTESI

CONTESTO - La percezione della minaccia costituita dal bioterrorismo e le recenti epidemie di sindrome respiratoria acuta grave hanno focalizzato l'attenzione dell'opinione pubblica sui rischi associati alla recrudescenza delle malattie infettive. Se da un lato ciò ha permesso di accrescere notevolmente l'interesse nei confronti della valutazione del rischio biologico quale strumento di importanza fondamentale nell'ambito dei processi decisionali sia pubblici che privati, dall'altro occorre tuttavia riconoscerne limiti e carenze.

Tali problematiche interessano necessariamente il settore occupazionale, soprattutto se si considera che gli ambienti di lavoro sono in continua evoluzione in seguito alla introduzione di nuove tecnologie, sostanze e processi lavorativi.

OBIETTIVI - Il procedimento di valutazione del rischio biologico si sviluppò originariamente come un settore dell'analisi di rischio secondo un approccio specificatamente pensato per lo studio delle sostanze tossiche, sebbene il modello tossicologico non permetta di considerare alcune importanti specificità degli agenti biologici. A tutt'oggi, il procedimento di valutazione del rischio biologico è seriamente compromesso dal fatto che non esistono metodi comunemente accettati per la valutazione dell'esposizione ad agenti biologici, né tanto meno, relazioni dose-effetto e valori limite espositivi ben definiti.

METODI - Da un punto di vista scientifico, al fine di effettuare una corretta valutazione del rischio biologico, è necessario avviare attività di ricerca in grado di: i) ampliare le conoscenze in materia di comportamento degli agenti patogeni nell'ambiente, ponendo particolare attenzione a quei processi che si dimostrano critici per la trasmissione degli stessi; ii) elaborare tecniche di campionamento e metodologie analitiche adeguate, che permettano una migliore individuazione e quantificazione dell'esposizione nei luoghi di lavoro, punto di



BOW PO/base indexing:

EUOSHA - OSH: Rischi biologici [OSH: 28561B]; Valutazione del rischio [OSH:19641D]; Luoghi di lavoro [OSH. 56761B]; Parti interessate [OSH: 54201B]; Esposizione ambientale [OSH: 05401D]; Miglioramento continuo della qualità [OSH: 21641C]; Cultura della sicurezza [OSH: 19961D]; Esigenze di ricerca [OSH. 25321D]; CIS: Rischi biologici [CIS: Yhb]; Valutazione dei rischi [CIS: Ora]; Luoghi di lavoro [CIS:Ha]; Gruppi di persone [CIS: W]; Esposizione [CIS: Ye]; Miglioramento della sicurezza [CIS: Sgafo]; Consapevolezza di rischio [CIS: Pser]; Ricerca [CIS: Vyr]; NACE - ATECO: Amministrazione pubblica [ATECO: 75]; Attività di organizzazioni associative [ATECO: 91];

partenza per effettuare una corretta valutazione del rischio; iii) comprendere i principi fondamentali che regolano le interazioni agente batterico-ospite ed approfondire il ruolo che la genetica dell'ospite riveste nella predisposizione alla malattia.

RISULTATI - Le conoscenze sul rischio biologico occupazionale sono tuttora relativamente scarse e pertanto la gestione dello stesso risulta ancora inadeguata, soprattutto nei luoghi di lavoro dove la presenza di tali rischi è da considerarsi conseguenza accidentale dell'attività lavorativa stessa. Occorre quindi incrementare la raccolta di dati in questo settore attraverso gli studi epidemiologici e di monitoraggio, nonché applicare le conoscenze acquisite sui meccanismi biologici alle tecniche di modellazione del rischio.

INTRODUZIONE

Nonostante l'uso diffuso di antimicrobici e la disponibilità di cure, le malattie infettive sono tuttora responsabili di elevati tassi di morbosità e mortalità in tutto il mondo. La percezione della minaccia del bioterrorismo e le recenti epidemie di sindrome respiratoria acuta grave hanno focalizzato l'attenzione dell'opinione pubblica sui rischi associati alle malattie infettive. La comparsa di varianti altamente patogene di agenti già conosciuti unita alla possibilità di una nuova pandemia influenzale hanno stimolato gli studi sull'evoluzione degli agenti patogeni e sull'influenza dell'intervento dell'uomo sui relativi meccanismi di sviluppo. Se da un lato questo ha permesso di accrescere notevolmente l'interesse nei confronti della valutazione del rischio associato ai microrganismi, quale strumento fondamentale nell'ambito dei processi decisionali, dall'altro si è diffusa una maggiore consapevolezza dei limiti e delle carenze di tale strumento. Il procedimento di valutazione del rischio associato ai microrganismi patogeni si sviluppò originariamente come un settore dell'analisi di rischio secondo un approccio specificatamente pensato per lo studio delle sostanze tossiche, applicato con successo nell'ambito di numerosi processi decisionali sia pubblici che privati. Tuttavia, l'adozione del modello tossicologico ha impedito che venissero considerate alcune specificità degli agenti microbici. In effetti, l'infezione microbica è generalmente associata ad una eliminazione di agenti patogeni di nuova formazione in modo tale da rendere gli stessi ospiti infetti fonte di nuove infezioni; tali potenzialità di trasmissione conferiscono, infatti, una dimensione dinamica alle malattie infettive.

RISCHI BIOLOGICI EMERGENTI CORRELATI ALLA SICUREZZA SUL LAVORO

I microrganismi sono di fatto presenti ovunque nell'ambiente, la maggior parte di essi sono innocui per gli esseri umani e svolge inoltre molte funzioni importanti. Essi possono essere utilizzati per la produzione di farmaci o per la degradazione di sostanze inquinanti in ambienti contaminati, oltre ad essere responsabili della produzione di circa la metà della quantità di ossigeno che normalmente respiriamo. Ciò nonostante, alcuni microrganismi possono essere causa di infezioni, allergie, o esplicare effetti tossici, costituendo quindi un problema che coinvolge direttamente il settore occupazionale.

Una stima condotta su scala mondiale ha evidenziato come ogni anno 320.000 lavoratori in tutto il mondo perdano la vita a causa di malattie infettive provocate da agenti virali o batterici, oppure dovute al contatto con insetti o animali [1]; il maggior numero di tali malattie si verifica comunque all'interno dei Paesi in via di sviluppo. Virus, batteri o parassiti sono inoltre da considerarsi responsabili di almeno il 15% dei nuovi casi di tumore che si sviluppano in tutto il mondo [2].

La Direttiva 2000/54/CE [3] stabilisce i principi per la gestione e la prevenzione dei rischi



biologici e impone al datore di lavoro l'obbligo di procedere alla individuazione e valutazione dei rischi per tutte quelle attività nello svolgimento delle quali il lavoratore può risultare esposto ad agenti biologici. Gli agenti biologici, termine che, secondo le definizioni riportate nella Direttiva 2000/54/CE, comprende batteri, virus, funghi, colture cellulari e endoparassiti umani in grado di provocare infezioni, allergie o tossicità, sono talvolta introdotti deliberatamente all'interno del processo lavorativo (ad esempio nel caso di un laboratorio di microbiologia o dell'industria alimentare) oppure rappresentano un effetto indesiderato ma pur sempre correlato all'attività lavorativa in questione, come nel settore dell'agricoltura o del trattamento dei rifiuti. Inoltre, gli stessi ambienti di lavoro sono in continua evoluzione in seguito alla introduzione di nuove tecnologie, sostanze e processi lavorativi, ai cambiamenti in atto nella struttura della forza lavoro e nel mercato occupazionale nonché allo sviluppo di nuove forme di occupazione e di organizzazione del lavoro stesso. Le attuali situazioni lavorative sono pertanto portatrici di nuovi rischi e nuove sfide che entrambi, lavoratori e datori di lavoro, dovranno affrontare e che di volta in volta richiederanno uno specifico approccio politico, amministrativo, tecnico e normativo al fine di garantire elevati standard di salute e sicurezza sul lavoro.

L'Agenzia europea per la sicurezza e la salute sul lavoro e il relativo Osservatorio europeo dei rischi (ERO) hanno svolto un'indagine sul tema dei rischi emergenti nel campo della salute e sicurezza sul lavoro (SSL) al fine di permettere la tempestiva individuazione di tali rischi e consentire il raggiungimento di una migliore pianificazione e una maggiore efficacia degli interventi eventualmente attuati. Il progetto di ricerca sopra menzionato e la stesura del relativo rapporto dal titolo *Le previsioni degli esperti sui rischi biologici emergenti per la salute e la sicurezza sul lavoro*, ha visto la partecipazione di 109 esperti provenienti da 21 Paesi europei appositamente designati dal Centro tematico Osservatorio dei rischi (TCRO), già Centro tematico ricerca su lavoro e salute (TCWH), e dai *focal point* dell'Agenzia al fine di garantire che fosse coinvolta la più ampia gamma di competenze qualificate nell'ambito dell'Unione europea [4].

La maggior parte degli esperti concorda che i rischi biologici emergenti risultano strettamente legati a fenomeni di tipo sociale e ambientale: la globalizzazione favorisce ad esempio la diffusione di epidemie causate da vecchi e nuovi agenti patogeni quali la sindrome respiratoria acuta grave (SARS), l'influenza aviaria, la febbre emorragica virale, la tubercolosi, il virus dell'immunodeficienza umana (HIV), l'epatite B (HBV) e l'epatite C (HCV). Inoltre, l'alta densità all'interno di spazi confinati di popolazioni animali a contatto con l'uomo sta comportando un aumento del numero di casi di zoonosi, attraverso il superamento della barriera fra la specie umana e quella animale. L'aumento della popolazione e l'incremento degli spostamenti dovuti ai viaggi d'affari e ai flussi turistici e migratori favoriscono altresì la rapida diffusione su scala mondiale delle zoonosi e delle altre malattie infettive. Le categorie di soggetti particolarmente a rischio di contaminazione sono il personale aeroportuale, gli equipaggi di volo, i lavoratori addetti alla produzione, lavorazione e trasporto di bestiame, il personale incaricato di effettuare i controlli alle frontiere e di svolgere funzioni di polizia nonché i lavoratori impiegati nel settore sanitario e in quello dei trasporti e dei servizi pubblici. Il rischio al quale tali categorie di lavoratori risultano esposti è spesso sottostimato e ciò determina quindi la mancanza di misure di prevenzione adeguate [4]. È da registrare inoltre l'aumento del rischio dovuto alla comparsa dei microrganismi resistenti ai farmaci; l'incremento generalizzato dell'uso di antibiotici nei trattamenti sanitari e nell'allevamento di animali nell'ambito dell'industria alimentare determina la comparsa di agenti patogeni resistenti ai farmaci quali ad esempio *Staphylococcus aureus* meticillina-resistente (MRSA) e il bacillo tubercolare (TBC). Si osserva, infatti, un incremento del numero delle infezioni da MRSA tra gli operatori sanitari in servizio presso le strutture ospedaliere dei Paesi occidentali ed un aumento di antibiotico-resistenza tra gli allevatori di bestiame e nella popolazione in generale. Tra le più importanti problematiche emergenti, nell'ordine dell'indagine ERO/TCRO, segue quella riguardante i rischi derivanti da una valutazione del rischio inadeguata [4]. La Direttiva 2000/54/CE [3] sancisce i principi per la gestione del rischio biologico e impone al datore di lavoro l'obbligo di

provvedere alla valutazione dei rischi causati dalla presenza di agenti biologici nei luoghi di lavoro, sebbene lo stato delle conoscenze sui rischi biologici risulti tuttora relativamente poco sviluppato e un'adeguata valutazione di tali rischi sia in pratica ancora difficile da realizzare. La carenza di informazioni riguardanti i rischi biologici nei luoghi di lavoro, soprattutto nel caso di determinati ambienti come gli uffici o attività lavorative quali l'agricoltura e il trattamento dei rifiuti, rende difficile procedere ad una corretta valutazione del rischio.

I DATI DISPONIBILI SULLE MALATTIE PROFESSIONALI DA AGENTI BIOLOGICI

Determinare i tassi di prevalenza e di incidenza delle malattie correlate all'esposizione ad agenti biologici non è un'impresa facile. Oltre alla difficoltà di stabilire nessi epidemiologici certi, spesso si conosce il numero dei singoli casi, ma non il numero totale dei lavoratori esposti, rendendo impossibile il calcolo dei tassi specifici. Inoltre, i dati riguardanti le malattie professionali causate da agenti biologici sono spesso difficili da raccogliere poiché spesso l'infezione decorre in forma subclinica, con atipici periodi di incubazione e/o vie di trasmissione. La gamma degli effetti sulla salute riconducibili agli agenti biologici varia tra forme di malattia acuta e forme di malattia cronica. Nel caso delle malattie in forma acuta, l'organismo (o i suoi derivati) penetra nell'ospite, moltiplicandosi ove possibile fino a raggiungere un numero tale da generare l'insorgenza della malattia, provoca danni ai tessuti, diffusi o localizzati, per poi essere definitivamente sconfitto a seguito delle difese messe in atto dall'ospite (guarigione) oppure avere il sopravvento sullo stesso ospite (morte). Una malattia in forma acuta può anche implicare delle evoluzioni di tipo cronico e dare quindi origine a delle complicanze o lesioni permanenti. Le malattie in forma cronica sono invece caratterizzate dalla comparsa di un quadro clinico dall'andamento lentamente progressivo, ma persistente, all'interno del quale l'infezione iniziale (primaria) può perfino passare inosservata dall'ospite. Tuttavia, gli effetti cronici sulla salute sono difficili da determinare ed il termine comprende svariate situazioni di cronicità. Un'analisi sistematica della letteratura riguardante il tema degli effetti cronici sulla salute causati dall'esposizione ad agenti biologici è stata eseguita nel 2002 dall'Istituto nazionale britannico per la salute e sicurezza del lavoro (HSE), uno degli organi tecnici che opera a sostegno della Commissione per la salute e la sicurezza, l'ente responsabile dell'attività normativa in materia di salute e sicurezza per la Gran Bretagna. La relazione redatta dall'HSE esamina e valuta criticamente le evidenze scientifiche che documentano gli effetti cronici sulla salute associati alle infezioni causate dall'esposizione professionale ad agenti biologici [5].

In Italia, la disponibilità di dati sulle malattie professionali da agenti biologici è piuttosto limitata a causa di rilevazioni non sistematiche che permetta di monitorare i lavoratori coinvolti e le patologie maggiormente ricorrenti. Le statistiche relative alle malattie infettive che dovrebbero essere notificate per legge, sono di fatto incomplete e difficilmente riconducibili ai luoghi di lavoro. Nel 2004 in Italia è stato aggiornato l'elenco delle malattie per le quali è obbligatoria la denuncia ed un maggior numero di agenti biologici e di patologie ad essi associate sono stati opportunamente inseriti, fornendo quindi un prezioso contributo alle nostre conoscenze sulle malattie professionali da agenti biologici [6]. Ad esempio, nel sistema di rilevazione istituito per le malattie dell'apparato respiratorio sono stati inseriti agenti biologici di origine vegetale (quali polvere e farina di cereali, semi di soia, grano ecc., polveri di legno, enzimi, lattice ecc.), di origine animale (quali peli, piume, sangue, urina, forfora, ecc.) ed agenti fungini quali *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*. Tra gli agenti infettivi, anche l'HCV, l'HBV e l'HIV sono stati inseriti con riferimento ai tumori di origine professionale.



LE PROBLEMATICHE CONNESSE CON LA VALUTAZIONE DEI RISCHI BIOLOGICI NEI LUOGHI DI LAVORO

L'individuazione e la valutazione dei rischi derivanti dall'esposizione ad agenti biologici nei luoghi di lavoro costituiscono il campo di applicazione della Direttiva 2000/54/CE secondo la quale la valutazione dei rischi comporta:

- l'individuazione dei pericoli, la quale consiste nell'individuazione degli agenti biologici eventualmente presenti e degli effetti dannosi che questi possono causare;
- la valutazione della relazione dose (concentrazione) - risposta (effetto), la quale prevede una stima della relazione esistente tra il livello di esposizione ad una determinata sostanza e l'incidenza e gravità degli effetti eventualmente causati;
- la valutazione dell'esposizione, la quale consiste nell'identificazione delle concentrazioni, delle vie d'esposizione, del potenziale di assorbimento, nonché della frequenza e della durata dell'esposizione al fine di ottenere una stima delle dosi alle quali i lavoratori sono o possono essere esposti;
- la caratterizzazione del rischio, la quale prevede una stima dell'incidenza e della gravità degli effetti dannosi che possono verificarsi nei lavoratori a causa della reale o presunta esposizione agli agenti biologici.

Qualora i lavoratori risultino esposti a diversi gruppi di agenti biologici, i rischi saranno valutati in base al pericolo costituito da tutti gli agenti biologici presenti. Tale valutazione del rischio dovrà essere rinnovata periodicamente e comunque ogni qualvolta si verifichi un cambiamento delle condizioni lavorative che possa influire sull'esposizione dei lavoratori.

La valutazione del rischio biologico consiste nello studio scientifico della relazione quantitativa esistente tra la (potenziale) esposizione ai microrganismi patogeni e l'insorgenza dell'eventuale infezione/patologia e, come nel caso della valutazione del rischio tossicologico, essa fa un ampio uso di modelli matematici, soprattutto al fine di interpretare e integrare i dati risultanti dalla sperimentazione e dall'osservazione. Tuttavia, il procedimento di valutazione del rischio biologico è seriamente compromesso dal momento che non risulta tuttora disponibile nessun criterio universalmente accettato per la valutazione dell'esposizione agli agenti biologici né tanto meno esistono relazioni dose-effetto e valori limite dell'esposizione professionale (OEL) ben definiti.

LE RELAZIONI DOSE-EFFETTO

I dati relativi alle relazioni dose-effetto potrebbero facilitare la definizione dei valori limite espositivi (OELs) che potrebbero a loro volta garantire una corretta interpretazione dei risultati ottenuti attraverso le misurazioni effettuate nel corso del processo di valutazione del rischio. La normativa attualmente in vigore all'interno di alcuni Stati membri definisce i valori limite dell'esposizione agli agenti biologici solo con riferimento ad alcuni tipi di tossine [7], oppure nel caso di contaminanti quali la polvere di legno, la subtilisina e la polvere di farina. I valori limite dell'esposizione alle endotossine batteriche sono stati per il momento proposti ma non ancora definiti con certezza [8] anche a causa della mancanza di valide metodologie di valutazione quantitativa dell'esposizione [9]. Inoltre, il ruolo ricoperto dagli agenti biologici nell'evoluzione della sintomologia e della malattia è stato per ora compreso solo in minima parte. È da sottolineare anche che la risposta umana all'esposizione agli agenti biologici dipende dalla natura del materiale coinvolto e dalla predisposizione individuale [10].

I microrganismi inoltre, sono caratterizzati dalla costante capacità di reagire e interagire con l'ambiente circostante e risultano in grado di modificare velocemente la loro espressione



genica in risposta ai diversi segnali ambientali. Tale costante capacità di adattamento determina notevoli differenze nella interazione ospite-microorganismo, come dimostrano i dati sperimentali. Lo stato fisiologico dei microrganismi liberati dall'ospite infetto rappresenta uno dei fattori critici capaci di influire sul loro destino nell'ambiente e sulla loro trasmissione all'ospite successivo; tuttavia, è necessario sottolineare che anche in questo ambito le informazioni risultano piuttosto limitate. È stato recentemente dimostrato come il batterio *Vibrio cholerae* presente nelle feci dei pazienti affetti da colera si trovi in uno stato di iper-infettività: saggi effettuati su topi neonati evidenziano, infatti, come i valori di *V. cholerae* diffuso attraverso le feci siano dalle 10 alle 100 volte superiori rispetto a quelli di *V. cholerae* cresciuto in laboratorio, e che la dose di *V. cholerae* necessaria per provocare un'infezione orale è 10 volte inferiore nel caso in cui il patogeno venga diffuso attraverso le feci rispetto al suo equivalente cresciuto *in vitro* [11]. Sebbene questi studi rappresentino un primo tentativo di approfondimento del fenotipo iper-infettivo del batterio *V. cholerae* presente in campioni fecali, il relativo meccanismo molecolare rimane in gran parte sconosciuto. Oltre ad analizzare l'espressione genica responsabile dell'iper-infettività, alcuni studi si sono concentrati sulle proprietà morfologiche dei patogeni dimostrando come *V. cholerae* diffuso attraverso le feci risulta costituito da forme eterogenee comprendenti sia cellule in forma libera che in forma aggregata nell'ambito di biofilm. Un saggio di tipo competitivo effettuato utilizzando un ceppo di riferimento ha evidenziato come l'infettività media della forma aggregata è significativamente più elevata di quella delle corrispondenti cellule in forma libera, a causa della sua migliore capacità di sopravvivere in condizioni di stress *in vivo* [12].

Molto scarse sono le informazioni relative alle dosi infettanti o quelle riguardanti le relative concentrazioni di agenti biologici responsabili dell'insorgenza delle malattie: alcuni microrganismi patogeni possono risultare pericolosi già in quantità estremamente ridotte, mentre altri organismi possono costituire un importante rischio per la salute solamente quando raggiungono concentrazioni più elevate. È possibile inoltre osservare notevoli differenze nel grado di infettività fra i diversi isolati della stessa specie, lasciando quindi intuire che alcuni isolati risultano essere più virulenti di altri. Alcuni studi dose-risposta relativi a *Cryptosporidium* (genotipo 2) sono stati condotti su soggetti volontari sani ed hanno evidenziato sostanziali differenze nel grado di infettività di *Cryptosporidium* tra i diversi isolati (Iowa, UCP, e TAMU), fornendo quindi delle informazioni di notevole importanza per la valutazione quantitativa del rischio [13].

Altri dati evidenziano come il range delle DL50 tra diversi ceppi di *Listeria monocytogenes* oscilla da sei a sette ordini di grandezza negli studi su modelli animali [14]. L'esistenza di un tale grado di variabilità tra i diversi ceppi batterici rende più complicata la valutazione dose-risposta in generale e, in particolare, questa diventa ancor più complessa in considerazione della diversa suscettibilità individuale.

La formazione di biofilm da parte dei microrganismi patogeni (*Vibrio cholerae*, *Legionella pneumophila*, *Campylobacter jejuni*, *Mycobacterium avium*) è ampiamente documentata nella letteratura scientifica e si ritiene che tale processo contribuisca ad accrescere la capacità di sopravvivenza dei patogeni in determinati ambienti [15]. Le particelle che si staccano dai biofilm di solito superano il livello della dose infettiva minima richiesta da molti batteri patogeni biofilmanti. Inoltre, l'accresciuta capacità di resistenza ai fattori di stress (ad esempio, l'acidità) sviluppata dai batteri nel biofilm contribuisce a ridurre il livello della dose infettiva grazie all'aumento del numero di organismi vitali in grado di sopravvivere [16]. Occorre sottolineare ad esempio, l'esistenza di numerose lacune nelle nostre conoscenze relative ai meccanismi di trasmissione della legionellosi e alcune perplessità riguardano la determinazione del livello di dose infettiva dell'organismo necessario per provocare l'insorgenza della malattia nell'uomo [17]. Alcuni esperimenti condotti sugli animali hanno evidenziato la necessità di una dose elevata per produrre tale effetto e il fatto che non esista

una trasmissione persona-persona va a sostegno di tale tesi. Ciò nonostante, i sistemi idrici sono verosimilmente responsabili dell'emissione di basse concentrazioni di *legionella*, mentre l'evidenza epidemiologica indica la possibilità che l'infezione possa svilupparsi anche ad una certa distanza dalle sorgenti di aerosol. La concentrazione ambientale di *legionella* quindi, potrebbe risultare sottostimata a causa di impedimenti tecnici che ostacolano il processo di rilevazione. Comunque, il numero degli organismi presenti nell'aerosol rilevato nel corso dei monitoraggi non corrisponde alla dose alla quale il lavoratore risulta effettivamente esposto. L'evidenza riscontrata negli animali contraddice spesso i risultati delle osservazioni epidemiologiche e ambientali. Ciò è dovuto al fatto che il pericolo infettivo connesso all'esposizione ad aerosol contenente *legionella* dipenda dalla capacità di sopravvivenza del batterio, una condizione questa che a sua volta dipende da numerosi fattori connessi al batterio stesso (attività metabolica, virulenza del ceppo ecc.) e alle relazioni che il batterio stabilisce con altri microrganismi, in particolare con le alghe azzurre e le amebe [18,19].

Come indicato nel rapporto redatto dall'ERO/TCRO, numerosi studi hanno evidenziato l'esistenza di una complessa relazione non lineare e dose-dipendente tra l'esposizione ambientale ad alcuni agenti biologici quali le endotossine, le spore fungine e altri profili molecolari associati ai patogeni (PAMPs) e l'esito delle risposte immunitarie. L'esposizione a tali agenti sembra avere un ruolo critico nella patogenesi di malattie complesse quali l'asma, l'atopia, le allergie respiratorie e la sensibilizzazione agli allergeni ed essere inoltre responsabile dell'insorgere di risposte diverse negli esseri umani che variano in relazione al contesto ambientale e all'interazione tra l'esposizione ambientale e il patrimonio genetico di ciascun individuo. In effetti, è stato dimostrato come tali agenti possano indurre tali malattie oppure al contrario creare perfino dei meccanismi di difesa contro di esse [20-26]. Nella maggior parte dei casi, all'interno dei luoghi di lavoro si verifica l'esposizione combinata a miscele complesse costituite da tossine ed allergeni così come sono possibili interazioni con agenti non di origine biologica e, pertanto, un'ampia gamma di potenziali effetti sulla salute devono essere considerati. Risulta comunque complicato riuscire a determinare quali siano i costituenti principalmente responsabili dei presunti effetti sulla salute [9].

I METODI DI MISURAZIONE E LA VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE

Sebbene le tecniche basate su metodi colturali forniscano soprattutto informazioni di tipo qualitativo, esse sono da considerarsi comunque un importante strumento frequentemente utilizzato ai fini della valutazione dei rischi biologici. Tali metodi peraltro sono di scarsa utilità quando si effettuano studi sulla popolazione [9, 27,28].

Il bioaerosol, in particolare, può risultare di difficile individuazione, quantificazione ed associazione a specifiche sintomatologie. L'esposizione professionale a bioaerosol può causare diversi problemi di salute, tra i quali disturbi dell'apparato respiratorio (bronchite, asma e polmonite da ipersensibilità), malattie della pelle ed eventuali sintomi gastrointestinali. La valutazione dell'esposizione a bioaerosol è quindi necessaria al fine di esaminare le relazioni di causalità, ma la quantificazione dell'esposizione non è semplice. Uno dei principali problemi è infatti rappresentato dalla scelta dei relativi parametri di esposizione [29]. Il bioaerosol risulta caratterizzato da una composizione biologica estremamente complessa: esso può infatti contenere una grande quantità di microrganismi vitali e non vitali, compresi diversi componenti biologicamente attive quali ad esempio le endotossine derivanti da batteri Gram-negativi, il (1,3) - β - D glucano proveniente dalla parete cellulare di muffe e lieviti, nonché tossine maggiormente specie-specifiche di origine fungina e batterica.

Nel caso di ambienti di lavoro caratterizzati da un'esposizione a forme complesse di bioaerosol risulta pertanto estremamente complicato assegnare specifici parametri microbiologici a determinati problemi di salute [30,31]. Non esistono, inoltre, metodi di analisi e di campionamento dell'aria per la quantificazione dell'esposizione a bioaerosol che siano universalmente riconosciuti. È possibile effettuare analisi per l'enumerazione di diversi tipi di microrganismi coltivabili al fine di ottenere i dati riguardanti specifici microrganismi di particolare interesse (quali ad esempio quelli ritenuti responsabili di provocare reazioni patologiche associate a determinate tossine o allergeni). La polvere totale o la frazione respirabile ed i microrganismi totali possono essere individuati tramite microscopia al fine di analizzare l'eventuale relazione esistente tra i sintomi polmonari e il potenziale effetto pro-infiammatorio rispettivamente delle polveri organiche o dei microrganismi. Esistono altresì numerosi metodi di campionamento e tra questi il campionamento su filtri può dimostrarsi particolarmente utile con riferimento al campionamento personale e alla successiva analisi delle endotossine o conta totale effettuata al microscopio [32]. Tuttavia, esistono in letteratura numerosi esempi di scarse percentuali di sopravvivenza di alcuni tipi di microrganismi, ad esempio, i batteri Gram-negativi, registrate nel corso di campionamento su filtri.

In alternativa, il campionamento per impatto su terreni solidi o liquidi sembra invece permettere una conta dei microrganismi vitali più affidabile. Nel caso di cellule non coltivabili, le concentrazioni microbiche aerodisperse risultano invece sottostimate, con il risultato di falsi-negativi [33]. Inoltre, i metodi a impatto hanno una scarsa utilità ai fini del campionamento personale e non sono in grado di fornire campioni validi per l'analisi delle endotossine o per le conte totali in microscopia. Da tale analisi risulta quindi che possono essere utilizzati diversi metodi di campionamento ed analisi in funzione dell'obiettivo che ci si prefigge, e questo rende difficile il confronto dei risultati ottenuti e la definizione dei limiti espositivi ai bioaerosol [34].

In conclusione, i metodi di misura disponibili, perfino quelli maggiormente consolidati, non risultano ancora completamente validati e routinariamente applicati. Si rende pertanto necessaria la definizione di criteri comunemente accettati e di protocolli riconosciuti per la valutazione dell'esposizione agli agenti biologici, unitamente all'elaborazione di linee guida ed uniformi sulle procedure di campionamento, conservazione, estrazione ed analisi, al fine di approfondire le conoscenze sulla relazione tra l'esposizione professionale e gli effetti sulla salute.

LA PREDISPOSIZIONE GENETICA ALLE MALATTIE INFETTIVE

Esiste una notevole diversità fra le varie forme di predisposizione individuale alle infezioni e alle allergie. Il processo alla base dell'evolversi del processo infettivo trova origine nella specifica interazione che si determina tra l'individuo infetto e il microrganismo infettante e a tale proposito, occorre ricordare i significativi progressi raggiunti nella comprensione dei principi basilari che regolano le interazioni agente batterico-ospite. La resistenza all'infezione batterica si presenta come un carattere ereditario che sembra essere controllato da molteplici geni. Poiché il sistema immunitario congenito ricopre un ruolo di fondamentale importanza nel precoce contenimento dell'infezione, le eventuali variazioni o mutazioni genetiche che alterano la risposta immunitaria nei confronti degli agenti infettivi potrebbero fornire ulteriori delucidazioni sulla capacità del sistema immunitario di rispondere alle infezioni nonché la predisposizione genetica individuale alle infezioni [35,36]. Si ritiene che le differenze interindividuali alle malattie infettive possano avere una base genetica, così come dimostrato in alcuni studi caso-controllo o studi condotti su famiglie e su gemelli. Un numero crescente

di ricerche si propone di caratterizzare il ruolo che le caratteristiche genetiche svolgono nella predisposizione alle malattie. Numerosi studi hanno evidenziato l'associazione tra polimorfismi genici nell'evoluzione di svariate malattie a livello di manifestazione o progressione. Per la visione di tali studi è possibile consultare il catalogo Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM™) disponibile in Internet [37] e la banca dati Genecard al seguente indirizzo: <http://www.genecards.org>. Un'ulteriore evidenza della pressione selettiva degli agenti infettivi è supportata dalla presenza di un numero maggiore di polimorfismi nella regione dell'antigene leucocitario umano (HLA) in confronto ad altre regioni del genoma umano. Tale regione infatti, codifica numerose proteine coinvolte nella risposta immunitaria quali il complemento e il fattore di necrosi tumorale (TFN). Vi è attualmente ampia evidenza che i geni dell'ospite siano effettivamente da considerarsi importanti determinanti dell'esito delle infezioni da numerosi agenti patogeni [10].

PRIORITÀ DI RICERCA PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO BIOLOGICO

Al fine di garantire un'adeguata valutazione dell'esposizione ad agenti biologici e del rischio biologico associato, risulta evidente l'esigenza di sviluppare attività di ricerca in grado di ampliare le conoscenze in materia di comportamento degli agenti patogeni nell'ambiente, ponendo particolare attenzione a quei processi che hanno evidenziato aspetti di criticità per la trasmissione dei patogeni stessi. La trasmissione di un patogeno da un organismo ospite ad un altro costituisce un processo multifattoriale fortemente condizionato dai seguenti elementi: la sua quantità, la forma di crescita (ad esempio, se si trova in forma libera o all'interno di biofilm), le sue caratteristiche fisiologiche al momento che fuoriesce dal suo ospite iniziale; i meccanismi che esso utilizza per sopravvivere nell'ambiente esterno che ne controllano la quantità; ed infine la forma di crescita e la sua fisiologia quando penetra nel successivo ospite. Tutte queste caratteristiche ne determinano l'effettiva capacità di provocare la successiva infezione [38-41].

La comprensione di tutti quei processi che sono critici per la sopravvivenza dei patogeni nell'ambiente ci permetterebbe di migliorare le nostre conoscenze in materia di trasmissione dei batteri patogeni, al fine di ridurre la loro capacità di interagire con la popolazione umana. L'attività di ricerca dovrebbe inoltre essere finalizzata a comprendere meglio i meccanismi di trasmissione degli agenti patogeni attraverso i biofilm. La crescita microbica in forma adesa offre infatti condizioni più favorevoli grazie alla capacità della superficie di adsorbire e quindi concentrare i nutrienti, scarsamente presenti nella fase liquida. Gli agenti patogeni possono inoltre stabilire interazioni metaboliche nell'ambito del consorzio microbico. Infine, la formazione di biofilm garantisce protezione dai predatori e dai tossici quali ad esempio gli agenti antimicrobici [42]. Il biofilm assume quindi un ruolo fondamentale non solo per la sopravvivenza dei patogeni nell'ambiente, ma anche perché facilita la loro trasmissione attraverso l'ingestione di acqua contaminata o l'inhalazione di bioaerosol. È possibile inoltre che il biofilm stimoli la comparsa di nuove varianti genetiche. La disposizione ravvicinata dei batteri all'interno dei biofilm permette anche di incrementare il tasso di trasferimento genico, rendendo quindi possibile il trasferimento dei geni di virulenza e di resistenza. Il trasferimento dei geni di virulenza comporta l'incremento del grado di patogenicità e contribuisce alla comparsa di nuovi ceppi patogeni [38].

L'attività di ricerca dovrebbe inoltre prefiggersi lo scopo di migliorare gli strumenti per la rilevazione degli agenti biologici, soprattutto quelli che non utilizzano tecniche colturali specialmente laddove questi si sono dimostrati di scarsa utilità. A tale scopo, sono stati recentemente elaborati numerosi metodi molecolari per la caratterizzazione di specie



patogene, i quali offrono la possibilità di studiare i microrganismi direttamente in campioni ambientali. A titolo d'esempio citiamo i metodi che si basano sulla reazione a catena della polimerasi (PCR) e la PCR in seguito a trascrittasi inversa (RT-PCR) come pure la tecnica del *genetic fingerprinting* quali strumenti impiegati nello studio degli agenti patogeni e delle comunità microbiche presenti negli ambienti naturali [43].

Tali metodi sono caratterizzati da una relativa velocità di risposta ed un'estrema sensibilità che permette loro di essere applicati per determinare l'abbondanza delle singole specie o dei gruppi affini dal punto di vista filogenetico [44]. A tale riguardo, occorre segnalare l'introduzione di metodi basati sulle tecniche di PCR quantitativa utilizzati per la determinazione di agenti biologici aerodispersi [45-47]. L'impiego di metodi molecolari permette di migliorare le strategie di monitoraggio, incrementando da un lato i livelli di sensibilità e specificità e riducendo dall'altro il tempo di analisi. Essi possono essere inoltre utilizzati per il monitoraggio degli organismi geneticamente modificati (OGM) presenti nei luoghi di lavoro [48] così come stabilito dalla Direttiva 98/81/CE che modifica la Direttiva 90/219/CEE sull'impiego confinato di OGM [49].

Il principale limite delle tecniche di PCR è rappresentato dalla necessità di conoscere l'organismo in questione al fine di selezionare le sonde specifiche. Problematica è inoltre l'eventuale presenza di sostanze contaminanti che possono interferire con le reazioni enzimatiche. I campioni di aria presentano spesso un alto contenuto di sostanze contaminanti (ad esempio, nel caso di campioni prelevati negli allevamenti animali) oppure a volte le quantità (sia dei contaminanti, ma anche del DNA microbico) sono minime a causa del ridotto volume di aria campionabile (ad esempio, nel caso di campioni di aria *indoor*). In entrambi questi casi i protocolli per l'estrazione del DNA devono essere adattati al fine di ottenere DNA privo di sostanze contaminanti, evitando perdite significative [29].

La tipizzazione molecolare può essere inoltre utilizzata nella determinazione della correlazione clonale tra isolati clinici e isolati ambientali al fine di individuare l'origine delle malattie infettive di origine occupazionale [50].

Studi molecolari sui meccanismi di virulenza batterica possono fornire importanti contributi in materia di igiene e salute occupazionale. Per comprendere le modalità di comparsa di ceppi batterici patogeni opportunistici, la conoscenza dei geni omologhi delle controparti non patogene costituisce un presupposto di fondamentale importanza. Gli studi sul sequenziamento dei geni di virulenza permettono di acquisire maggiori e più dettagliate conoscenze sui rispettivi ruoli alla base dei meccanismi di virulenza batterica [51,52].

Nello studio dei numerosi *taxa* fungini con potenzialità allergeniche, la cui caratterizzazione ottenuta utilizzando esclusivamente metodi di isolamento colturale e di osservazione dei caratteri morfologici potrebbe risultare estremamente lenta e complicata, si suggerisce l'utilizzo di approcci molecolari e filogenetici [53-57]. I metodi basati sul sequenziamento del DNA sono inoltre utilizzati per approfondire lo studio di determinati geni fungini codificanti per proteine che risultano potenzialmente coinvolte nelle reazioni allergiche [58].

Il tema delle differenze interindividuali nella predisposizione alle malattie infettive costituisce una delle principali aree che necessita di ulteriori approfondimenti da parte della ricerca per la concreta definizione delle relazioni dose-effetto. Come descritto nei paragrafi precedenti, nel corso degli ultimi dieci anni, significativi progressi sono stati raggiunti nella determinazione delle cause che rendono alcuni soggetti particolarmente predisposti allo sviluppo di determinate malattie infettive. Nel prossimo futuro, le tipologie di lavoratori che risultano particolarmente a rischio potrebbero essere individuate mediante l'utilizzo di veloci tecniche di tipizzazione genetica e la conseguente applicazione di strategie di monitoraggio mirate.

CONCLUSIONI

I modelli per la valutazione del rischio biologico in ambito lavorativo devono, necessariamente, tener conto della natura altamente specifica delle interazioni ospite-agente patogeno nonché della elevata variabilità negli esiti clinici e nel grado di infettività, immunogenicità, patogenicità, caratteristici delle varie specie e ceppi microbici. È necessario mettere a punto tecniche di campionamento e metodi analitici che consentano di perfezionare i metodi di identificazione degli agenti biologici presenti sul luogo di lavoro e quelli di valutazione, in termini quantitativi, dell'esposizione agli stessi. Tali interventi sono propedeutici ai fini di una corretta valutazione del rischio. È inoltre cruciale intervenire sulla validazione dei metodi di misura attualmente in uso, sostenendone l'armonizzazione a livello internazionale al fine di ridurre al minimo la variabilità dei parametri rilevati nei diversi laboratori di ricerca. Per raggiungere quest'ultimo obiettivo, è auspicabile che laboratori di ricerca di esperienza consolidata, istituti operanti nel settore della salute e sicurezza, e istituti di normazione europei collaborino per raggiungere un accordo sull'approccio più efficace ai fini di una armonizzazione in tale settore. È auspicabile inoltre che si stabiliscano criteri di controllo qualità per la raccolta, l'estrazione e l'analisi dei campioni nonché per l'attività di *reporting* dei risultati conseguiti.

Tenuto conto che gli studi effettuati sui rischi biologici sono tuttora relativamente scarsi, con conseguenti gravi difficoltà nella gestione di tali rischi, soprattutto nel caso di quei luoghi di lavoro in cui la presenza di tali rischi è conseguenza accidentale dell'attività lavorativa stessa, è necessario perfezionare il processo di raccolta dei dati ottenuti attraverso gli studi epidemiologici e di monitoraggio e applicare le conoscenze acquisite sui meccanismi biologici alle tecniche di modellazione del rischio. Considerata la natura eterogenea dei rischi biologici, che variano in funzione dell'area di attività, sarà imprescindibile l'adozione di misure di prevenzione differenziate per le varie tipologie di rischio, caratteristiche dei diversi contesti lavorativi. Tali misure includono una progettazione delle infrastrutture tale da conferire alle stesse un livello di sicurezza elevato e l'implementazione di adeguate misure tecniche, organizzative e procedurali. L'uso dei dispositivi di protezione individuale deve essere previsto come l'ultima risorsa a disposizione dei lavoratori, nel caso in cui sia impossibile eliminare il rischio o, quantomeno, riportarlo ad un livello accettabile. Devono essere inoltre previsti controlli periodici sulle apparecchiature, per rilevare eventuali dispersioni di agenti biologici o per verificare il corretto funzionamento dei dispositivi atti a contenere la propagazione di detti agenti. Tali controlli sono inoltre eseguiti con il fine di rilevare eventuali anomalie o altri fattori che potrebbero causare la dispersione involontaria degli agenti biologici e per accertare l'efficacia dei sistemi di decontaminazione in uso. Il ricorso alle suddette ispezioni può essere considerato come parte integrante della gestione dell'ambiente di lavoro.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Driscoll T, Takala J, Steenland K, Corvalan C, Fingerhut M. Review of estimates of the global burden of injury and illness due to occupational exposures. World Health Organization; 2005.
2. Bosch FX. Infections. UICC Handbook for Europe. International Union Against Cancer.[online] 2004. URL <http://www.uic.org/fileadmin/manual/9.6infections.pdf>
3. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of the 18th September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work. Official Journal L 262/21 of 17/10/2000 .

4. European Agency for Safety and Health at Work (OSHA). Expert forecast on Emerging Biological Risks related to Occupational Safety and Health. European Risk Observatory. Luxembourg [online] 2007. URL <http://osha.europa.eu/publications/reports/7606488>
5. Health & Safety Executive (2002). The chronic health effects of exposure to biological agents. Salmon R.L., Parry S.M. eds. Research Report 006.
6. Italia. Decreto del Ministero del Lavoro e della previdenza sociale del 27 aprile 2004. Gazzetta Ufficiale n.134, 10 giugno 2004.
7. European Agency for Safety and Health at Work (OSHA). Biological agents. Luxembourg 2003. Facts 41 :1681-2123. [online] URL <http://osha.europa.eu./publications/factsheets/41>
8. ICOH Committee on Organic Dust Endotoxin in the environment: a criteria document. Int J Occup Environ Health 1997; 3(suppl.):1-48
9. Douwes J, Thorne P, Pearce N, Heederik D. Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. Ann. Occup Hyg 2003; 47(3):187-200.
10. Segal S, Hill AVS. Genetic susceptibility to infectious disease. Trends in Microbiology 2003; 11(9):445-8
11. Merrell DS, Butler SM, Qadri F, Dolganov NA, Alam A, Cohen MB, Calderwood SB, Camilli A. Host-induced epidemic spread of the cholera bacterium. Nature 2002; 417:642-5
12. Faruque SM, Biswas K, Udden SM, Ahmad QS, Sack DA, Nair GB, Mekalonos JJ. Transmissibility of cholera: in vivo-formed biofilms and their relationship to infectivity and persistence in the environment. USA: Proc Natl Acad Sci 2006; 103: 6350-5
13. Teunis PFM, Chappell CL, Okhuysen PC. Cryptosporidium dose response studies: variation between isolates. Risk Analysis 2002; 22 (1): 175-183).
14. Inouye S, Yamashita K, Yamadera S, Okabe N. Surveillance of viral gastroenteritis in Japan: pediatric cases and outbreak incidents. J. Infect. Disease 2000; 181(2 suppl):270-4
15. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinical relevant microorganisms. Clin Microbiol 2002; 15:167-193
16. Fux CA, Costerton JW, Stewart PS, Stoodley P. Survival strategies of infectious biofilms. Trends Microbiol 2005; 13:34-40
17. O'Brien SJ, Bhopal RS. Legionnaires' disease: the infective dose paradox. The Lancet 1993; 342: 5-6
18. Berk SG, Ting RS, Turner GW, Ashburn RJ. Production of respirable vesicles containing live Legionella pneumophila cells by two Acanthamoeba spp. Appl Environ Microbiol 1998; 64 (1): 279-286
19. Mampel J, Spirig T, Weber SS, Haangensen JA, Molin S, Hilbi H. Planktonic replication is essential for biofilm formation by Legionella pneumophila in a complex medium under static and dynamic flow conditions. Appl Environ Microbiol 2006; 72:2885-2895
20. Radon K. The two sides of the endotoxin coin. Occup Environ Med 2006;63(1):73-8
21. Radon K, Ehrenstein V, Praml G, Nowak D. Childhood visits to animal buildings and atopic diseases in adulthood. An age-dependent relationship. Am J Ind Med 2004; 46(4):349-356
22. Liu AH, Redmon J. Endotoxin: friend or foe?. Allergy Asthma Proc 2001; 22 (6): 337-340
23. Vandenberg L, Bachert C, Van CP, Claeys S. The innate immune system and its role in allergic disorders. Int Arch Allergy Immunol 2006;139 (2): 159-165
24. Eduard W, Omenaas E, Bakke PS, Douwes J, Heederik D. Atopic and non-atopic asthma in a farming and a general population. Am J Ind Med 2004; 46 (4): 396-9
25. Heederik D, Sigsgaard T. Respiratory allergy in agricultural workers: recent developments. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2005; 5(2): 129-134
26. Song BJ, Liu AH. Metropolitan endotoxin exposure, allergy and asthma. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2003; 3(5): 331-5
27. Eduard W, Heederik D. Methods for quantitative assessment of airborne levels of non-infectious microorganisms in highly contaminated work environments. Am Ind Hyg Assoc J 1998; 59:113-127

28. Boleij J, Buringh E, Heederik D, Kromhout H. Occupational Hygiene of chemical and biological agents. Amsterdam: Elsevier; 1995
29. Thorne PS, Duchaine C, Douwes J., Eduard W, Gorny R, Jacobs R, Reponen T. Schierl R., Szponar B. Working Group Report 4: Exposure assessment for Biological agents. *Am J Ind Med* 2004; 46:419-422
30. Eduard W, Douwes J, Mehl R, Heederik D, Melbostad E. Short term exposure to airborne microbial agents during farm work: exposure-response relations with eye and respiratory symptoms. *Occup Environ Med* 2001; 58:113-8
31. Bunger J, Antlauf-Lammers M, Schulz TG, Westphal GA, Muller MM, Ruhnau P, Hallier E. Health complaints and immunological markers of exposure to bioaerosols among biowaste collectors and compost workers. *Occup Environ Med* 2000; 57:458-464
32. Lee SA, Adhikari A, Grinshpun SA, McKay R, Shukla R, Reponen T. Personal exposure to airborne dust and microorganisms in agricultural environment. *J Occup Environ Hygiene* 2006; 3:118-130
33. Nielsen M, Wurtz H, Nielsen BH, Breum NO, Poulsen OM. Relationship between different bioaerosol parameters sampled from the breathing zone of waste collectors – identification of the most important parameters. *Ann Agric Med* 1997; 4:81-5
34. Pietrangeli B, Beneventi S, Bricarello M, Meinieri V, Bonetta S, Carraro E. L'importanza delle modalità di campionamento nella valutazione dell'esposizione professionale a endotossine batteriche. *Fogli d'Informazione ISPESL* 2007; 2:99-108.
35. Villar J, Maca-Meyer N, Pérez-Méndez L, Carlos FC. Bench-to-bedside review: understanding genetic predisposition to sepsis. *Crit Care* 2004; 8(3): 180-9
36. Fernando SL, Britton WJ. Genetic susceptibility to mycobacterial disease in humans *Immunol. Cell Biology* 2006; 84: 125–137
37. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD), {date of download}. World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=omim>
38. Yildiz FH. Processes controlling the transmission of bacterial pathogens in the environment. *Res Microbiol* 2007; 158: 95-202
39. Hood MA, Guckert JB, White DC, Deck F. (1986). Effect of nutrient deprivation on lipid, carbohydrates, DNA, RNA and protein levels in *Vibrio cholerae*. *Appl Environ Microbiol* 1986; 52:788-793
40. Yildiz FH, Schoolnik GK. Role of rpoS in stress survival and virulence of *Vibrio cholerae*. *J Bacteriol* 1998; 180:773-784
41. Swanson MS, Hammer BK. *Legionella pneumophila* pathogenesis: a fateful journey from amoebae to macrophages. *Annu Rev Microbiol* 2000; 54:567-613
42. Costerton JW, Caldwell DE, Korber DL, Lappin Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49:711-745
43. Amann, RI, Ludwig W, Schleifer K. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev* 1995; 59:143–169
44. Danovaro R, Luna GM, Dell'Anno A, Pietrangeli B. Comparison of terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) and automated ribosomal intergenic spacer analysis (ARISA) for fingerprinting analysis of bacterial diversity in aquatic environments. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72(9):5982-9
45. Khan AA, Cerniglia CE. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* from clinical and environmental samples by amplification of the exotoxin A gene using PCR. *Appl. Environ Microbiol* 1994; 60:3739-3745
46. Stetzenbach LD, Buttner MP, Cruz P. Detection and enumeration of airborne biocontaminants. *Curr Op Biotechnol* 2004;15:170-4
47. Orsini M, Laurenti P, Boninti F, Arzani D, Ianni A, Romano-Spica V. A molecular approach



- for evaluating bioaerosol exposure in wastewater treatment plant workers. *Water Res* 2002; 36:1375-8
48. Gramiccioli G, Mirri S, Pascucci C, Camerini B, Corrente G, Nucera E, Amaddeo D, Ciabatti I, Lorenzetti R, Zini M, Pietrangeli B. Biosicurezza degli impianti biotecnologici: verifica delle misure di contenimento dei microrganismi geneticamente modificati. *Ambiente Risorse Salute* 2004; 98:14-8
 49. Unione Europea. Council Directive 98/81/EC of 26 October 1998 amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified microorganisms. *Official Journal of the European Communities* L 330 of 5 December 1998.
 50. Mansi A, Scaturro M, Paba E, Marcelloni AM, Bruni R, Russo G, Ricci ML, Spagnoli G. (2006). Legionella contamination in work environment: a case-report.. *Proc. 28 th Int. Conf. Occupational Health (ICOH)*. Milano, June 11-16 2006.
 51. Davolos D, Pietrangeli B.(2006). Gene sequencing studies and analysis on the virulent roles of the bacterial denitrifying enzymes. *Proc. 28 th Int. Conf. Occupational Health (ICOH)*. Milano, June 11-16 2006;
 52. Davolos D., Pietrangeli B., De Bartolo C. (2006). Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* (Á-Proteobacteria; Enterobacteriaceae) isolated from a pig farm in Italy. *Proc. XIX Int Conf Ordine Nazionale Biologi*. Portorose; 6-8 luglio 2006.
 53. Wu Z, Wang X, Blomquist G. Evaluation of PCR primers and PCR conditions for specific detection of common airborne fungi. *J Environ Monit* 2002; 4:377-82
 54. Wu Z, Tsumura Y, Blomquist G, Wang X. 18S rRNA gene variation among common airborne fungi and development of specific oligonucleotide probes for the detection of fungal isolates. *Appl. Environ. Microb* 2003; 69:5389-97
 55. Kurtzman CP, Robnett CJ. Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie van Leeuwenhoek* 1998; 73:331-71
 56. Fell JW, Boekhout T, Fonseca A, Scorzetti G, Statzell-Tallman A. Biodiversity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large-subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. *Int J Syst Evol Microbiol* 2000; 50:1351-71
 57. Davolos D., Pietrangeli B. (2006). Molecular analysis on the fungi isolated from bioaerosols. In: *Annual Conference of the Association for General and Applied Microbiology 2006 (VAAM)*. Jena (Germany), 19-22 March 2006, p.182.
 58. Davolos D, Pietrangeli B. DNA sequencing and phylogenetic analysis of allergen-encoding genes from airborne moulds and yeasts. *Prevenzione Oggi* 2007; 3(3): 23-35





COME INVIARE I LAVORI

Tutti i ricercatori italiani e stranieri possono proporre lavori scientifici che non siano già stati pubblicati o in corso di pubblicazione in altre riviste. I contenuti degli articoli sono di esclusiva responsabilità degli autori.

Tutti gli elaborati pubblicati sono sottoposti a controllo di qualità. L'accettazione dei lavori proposti è riservata alla direzione della rivista, con l'ausilio del Consiglio scientifico e attraverso la valutazione di *referee* designati dal Consiglio stesso. La risposta di merito verrà data all'autore dell'articolo entro tre mesi dal ricevimento del materiale.

I lavori devono essere inviati alla redazione di *Prevenzione Oggi*, Via Alessandria 220/E, 00198 Roma, in duplice copia:

- una copia, firmata, per posta, allegando la scheda per la presentazione dei lavori presente sul sito http://prevenzioneoggi.ispesl.it/documenti/autori/modulo_autori.pdf;
- una via e-mail a: prevenzioneoggi@ispesl.it. nel formato dei più diffusi programmi di videoscrittura, sia Windows, sia Mac;
- il manoscritto comprensivo degli allegati non deve superare gli 8 MB;
- è presente una check list sul sito per la verifica della corretta preparazione del manoscritto.
- per una più agevole revisione degli elaborati, si prega di utilizzare nella stesura del manoscritto un'interlinea di 1,5 e margini larghi.

NORME PER GLI AUTORI

Lo scopo delle norme editoriali e redazionali di seguito indicate è di facilitare gli autori nella presentazione del proprio lavoro e di rendere più rapida la pubblicazione. Gli articoli in difetto verranno rinviati all'autore/i per la correzione con conseguente ritardo della loro pubblicazione.

Gli elaborati possono essere presentati in inglese o in italiano; la redazione provvederà alla traduzione.

Il tema dell'articolo deve trattare una delle seguenti aree scientifiche:

- tecnologie di sicurezza,
- igiene del lavoro,
- medicina del lavoro e fattori psicosociali,
- formazione e promozione della salute nei luoghi di lavoro,
- comunicazione e cultura della sicurezza,
- epidemiologia,
- certificazione,
- responsabilità sociale delle imprese,
- impatto ambientale degli insediamenti produttivi.

Prima pagina dell'articolo

Deve riportare il titolo del lavoro in italiano e in inglese. Nome e cognome estesi dell'autore, seguiti dal nome esteso dell'affiliazione istituzionale, corredata di acronimo qualora esista, nome esteso del dipartimento, città e paese.

Parole chiave

Gli autori dovranno fornire da tre a cinque parole chiave in italiano e in inglese.

Sintesi

Per ogni articolo deve essere inoltre redatta una sintesi tra le 250 e le 400 parole in italiano e in inglese strutturata in: *contesto/background*, *obiettivi/objectives*, *metodi/methods*, *risultati/results*. Non vanno inserite le note a piè di pagina e i riferimenti bibliografici.



Articoli

Gli articoli di ricerca devono, di norma, avere una lunghezza tra le 4000 e le 7000 parole ed essere composti da: introduzione (contesto e obiettivi), materiali e metodi, risultati, conclusioni, riferimenti bibliografici.

Tutti i termini in lingua straniera o in latino devono essere scritti in corsivo. I caratteri in corsivo, neretto e le virgolette devono essere utilizzati solo nei casi strettamente necessari.

Per simboli o lettere greche utilizzare, ove possibile, l'opportuna traslitterazione nel testo.

Usare la terminologia inglese soltanto nel caso in cui non ci sia un termine equivalente in italiano.

I prodotti commerciali e la strumentazione citati nel testo devono essere specificati riportando tra parentesi il nome della ditta, la città e lo stato. Dopo la prima citazione, è sufficiente riportare tra parentesi il solo nome della ditta già citata in precedenza.

Unità di misura e abbreviazioni

Si raccomanda l'uso del Sistema Internazionale (SI) di misura. Pertanto, le misure di lunghezza, altezza, peso e volume dovranno essere riportate nel sistema metrico (metro, chilogrammo, o litro) o nei loro multipli di dieci, e le temperature dovranno essere in gradi Celsius. Quando il SI è carente, si possono usare unità di misura non-SI.

Usare le abbreviazioni solo se queste sono largamente adottate nella letteratura scientifica.

Ogni altra abbreviazione può essere adottata solo in seguito all'indicazione del suo significato nel testo.

Riferimenti bibliografici

Dovranno essere numerati progressivamente in riferimento al testo, inseriti fra parentesi quadre ed essere redatti in accordo con gli Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, noti come Vancouver style, a cura dell'International Committee of Medical Journal Editors - secondo i seguenti modelli:

- articoli tratti da riviste:
Uboldi de Capei M, Dametto E, Fasano ME, Rendine S, Curtioni ES. Genotyping for cytokine polymorphisms: allele frequencies in the Italian population. *Eur J Immunogen* 2003;30:5-10
- monografie:
Ringsven MK, Bond D. *Gerontology and leadership skills for nurses*. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996
- articoli in monografie:
Barnothy MF, Barnothy JM. Magnetobiology. In: Balfour Slonim N. editor. *Environmental physiology*. St. Louis: C.V. Mosby Company, 1974,313-349
- documenti di enti autori:
International Agency for Research on Cancer IARC. *Some flame retardants and textile chemicals, and exposures in the textile manufacturing industry*. Lyon: IARC; 1990. (IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans n. 48)
- presentazioni a convegni:
Melrose, JC. Thermodynamics of surface phenomena. In: Landsberg PT editor. *Proceedings of international conference on thermodynamics*. Cardiff, 1-4 April 1970. London: Butterworths; 1970. p. 273-86
- documenti reperiti online:
Dunham RB. Nominal group technique: a users' guide [online] 1998 (data di consultazione). URL: <http://instruction.bus.wisc.edu/obdemo/readings/ngt.html> University of Wisconsin
- documenti legislativi:
Italia. Legge 31 dicembre 1996, n.675. Tutela delle persone e di altri soggetti rispetto al trattamento dei dati personali. *Gazzetta Ufficiale* n. 5, 8 gennaio 1997

N.B. Nell'elenco dei riferimenti bibliografici, i numeri di pagina andranno indicati senza ripetizione delle centinaia o delle decine, se queste non variano ad esempio: 312-5 (non 312-315).

Tabelle e figure

Vanno allegate in file separati dal testo e numerate progressivamente in ordine di citazione. Devono essere corredate da una didascalia esplicativa posta al di sopra e devono essere intelligibili senza riferimento al testo. Nel testo dovrà essere indicata la loro posizione. Dovranno essere utilizzate con la citazione della relativa fonte.

Immagini e grafici

Si consiglia di allegare sempre gli originali o una copia cartacea quanto più possibile nitida dell'eventuale materiale iconografico. Dovranno essere utilizzati con la citazione della relativa fonte. Nel caso in cui l'autore voglia fornire direttamente il materiale in veste informatica, potrà attenersi alle seguenti specifiche: formato file TIFF, JPG; risoluzione non inferiore a 300 dpi.

CONDIZIONI DI ABBONAMENTO

Abbonamento annuo in prosecuzione di tiratura

Italia: € 95,00

Esteri: € 116,40

Per ulteriori informazioni contattare il numero telefonico +39 06 52200552.

L'abbonamento non disdetto un mese prima della scadenza, si intenderà tacitamente rinnovato.

Eventuali reclami per numeri mancanti saranno accettati, sempre che la disponibilità di fascicoli in magazzino lo consenta, solo se pervenuti non oltre 15 giorni dalla data di spedizione del numero successivo.

TRATTAMENTO DEI DATI PERSONALI

Il trattamento dei dati personali degli autori e degli abbonati è conforme al D.Lgs. 196/03.

I dati non potranno essere diffusi o comunicati a terzi.

L'ISPESL potrà utilizzarli solo per la divulgazione di eventi scientifici di interesse.

L'autore o l'abbonato potrà comunque richiederne la cancellazione.



Invito a presentare contributi

Cari colleghi,

la nostra rivista trimestrale *Prevenzione Oggi - Prevention Today* sulla ricerca multidisciplinare in tema di salute e sicurezza del lavoro è pubblicata in doppia versione italiano e inglese dall'Istituto Superiore per la Prevenzione e la Sicurezza del Lavoro, organo tecnico-scientifico del Servizio Sanitario Nazionale, sottoposto alla vigilanza del Ministro della Salute.

La rivista è orientata in particolare ai ricercatori e ai responsabili della sicurezza aziendale e ha lo scopo di divulgare lavori scientifici originali attinenti alle seguenti aree scientifiche: tecnologie di sicurezza; igiene del lavoro; medicina del lavoro; fattori psicosociali; formazione; promozione della salute nei luoghi di lavoro; comunicazione e cultura della sicurezza; epidemiologia; certificazione; responsabilità sociale delle imprese; impatto ambientale degli insediamenti produttivi.

Oltre agli articoli di ricerca, la rivista include: l'Editoriale in cui trovano ampio spazio gli argomenti più attuali della salute e sicurezza del lavoro, con la pubblicazione di studi ed analisi degli aspetti politici e legislativi, curati dagli esperti di settore; la sezione Focus che intende valorizzare i risultati della ricerca prevenzionale, presentando lo stato dell'arte su specifici temi, con particolare riguardo al trasferimento delle conoscenze e all'impatto sulla salute e sicurezza del lavoro.

Tutti i ricercatori italiani e stranieri possono presentare lavori scientifici in inglese o in italiano purché inediti: i contributi non devono essere già stati pubblicati o presentati ad altre riviste. La proposta del lavoro deve essere accettata da tutti i suoi autori. La responsabilità degli articoli è esclusiva degli autori. L'accettazione dei lavori proposti è sottoposta ad un attento procedimento di peer-review, in conformità con gli standard delle riviste internazionali.

Qualora foste interessati a sottoporre i vostri lavori vi invitiamo a consultare le norme per gli autori presenti sul sito web dell'Istituto dedicato alla rivista:

<http://prevenzioneoggi.ispesl.it>

La redazione di *Prevenzione Oggi - Prevention Today*