



Università degli Studi di Ferrara

*SERVIZIO PREVENZIONE E PROTEZIONE*

# LINEE GUIDA PER L'ACQUISTO, L'UTILIZZO E LA MANUTENZIONE DELLE CAPPE BIOLOGICHE E BIOHAZARD



# Università degli Studi di Ferrara

SERVIZIO PREVENZIONE E PROTEZIONE

## Sommario

1 INTRODUZIONE.....	2
2 RIFERIMENTI NORMATIVI.....	3
3 TIPOLOGIE DI CAPPE BIOLOGICHE.....	3
3.1 Cappa biologica a flusso laminare verticale .....	3
3.1.1 Cappa biologica a flusso laminare di classe I .....	4
3.1.2 Cappa biologica a flusso laminare di classe II .....	4
3.1.3 Cappa biologica a flusso laminare di classe III o "gloves box" .....	5
3.2 Cappa biologica a flusso laminare orizzontale .....	5
4 EFFICIENZA DELLE CAPPE.....	5
4.1 Contenimento biologico .....	5
4.2 Facilità di pulizia .....	6
4.3 Facilità di sterilizzazione .....	6
5 ACQUISTO ED INSTALLAZIONE DI CAPPE.....	6
6 CONTROLLI E MANUTENZIONE PERIODICHE.....	7
6.1 Contenimento dell'aria per cappe di classe I e II.....	7
6.2 Contenimento dell'aria per cappe di classe III .....	7
6.3 Pulizia della cappa .....	8
6.4 Sterilizzazione .....	8
6.5 Decontaminazione prima di interventi di manutenzione .....	8

## 1 INTRODUZIONE

Le cappe a flusso laminare, comunemente chiamate cappe biologiche o biohazard, sono da considerarsi dei Dispositivi di Protezione Collettiva (DPC) che hanno lo scopo di ridurre il rischio per l'operatore quando si maneggiano microrganismi pericolosi o potenzialmente pericolosi e impedire la contaminazione dell'ambiente circostante. Inoltre hanno lo scopo di proteggere il materiale biologico manipolato dalla contaminazione ambientale e dalle contaminazioni crociate (intese come l'introduzione involontaria di impurezze di natura chimica o microbiologica da un prodotto in un altro prodotto). In entrambi i casi non proteggono necessariamente da tutti i pericoli.

Le cappe sono uno strumento di protezione primaria per la sicurezza dei lavoratori. Sono richieste specifiche competenze per la scelta, la collocazione ed installazione in laboratorio e specifica formazione/addestramento dei lavoratori per il corretto utilizzo e manutenzione. L'efficienza delle



# Università degli Studi di Ferrara

**SERVIZIO PREVENZIONE E PROTEZIONE**

prestazioni del sistema complessivo della cappa biologica deve essere verificata sia al momento della prima installazione sia nel corso del tempo, attraverso un programma di controlli periodici.

## 2 RIFERIMENTI NORMATIVI

La normativa di riferimento per le cappe biologiche a flusso laminare è stata recepita dalla UNI EN 12469 – Biotecnologie – Criteri di prestazione per le postazioni di sicurezza microbiologica. Ci si può avvalere anche delle seguenti normative:

EN 1822-1 High efficiency air filters (HEPA and ULPA) - Part 1: Classification, performance testing, marking

EN 12296 Biotechnology - Equipment - Guidance on testing procedures for cleanability

EN 12297 Biotechnology - Equipment - Guidance on testing procedures for sterilizability

EN 12298 Biotechnology - Equipment - Guidance on testing procedures for leaktightness

EN 13091:1999 Biotechnology - Performance criteria for filter elements and filtration Assemblies

## 3 TIPOLOGIE DI CAPPE BIOLOGICHE

Esistono diverse tipologie di cappe biologiche (microbiological safety cabinet - MSC), qui elencate.

### 3.1 Cappa biologica a flusso laminare verticale

Generalmente, le cappe a flusso laminare verticale sono dotate di tre filtri HEPA: un motoventilatore superiore spinge l'aria attraverso un filtro principale da cui emerge un flusso laminare che investe il piano di lavoro. L'aria oltrepassa il piano di lavoro (di acciaio forato) e viene aspirata da un motoventilatore inferiore; l'aria viene spinta attraverso un secondo filtro nello spazio sovrastante il filtro principale. Il 30% dell'aria viene restituita all'esterno (previa filtrazione attraverso un terzo filtro). Le cappe hanno uno schermo di vetro il quale è adottato per una maggior sicurezza dell'operatore.

Solitamente, alla fine dell'operazione di lavoro viene richiusa ermeticamente la cappa e accesa una lampada germicida a raggi UV-C .

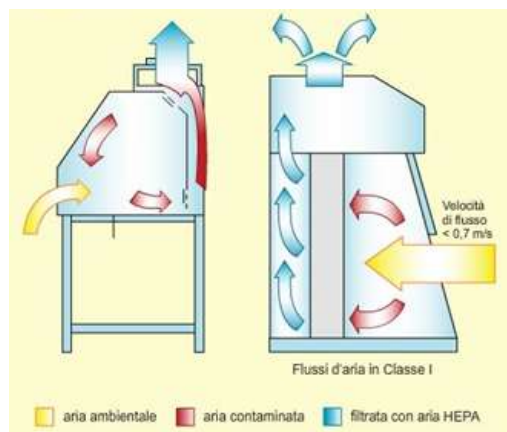
Le cappe di laboratorio biologico si dividono in:

- Cappa di classe I
- Cappa di classe II
- Cappa di classe III

### 3.1.1 Cappa biologica a flusso laminare di classe I

La cappa di prima classe è una cappa la cui funzione è quella di proteggere l'operatore, ma non il campione su cui sta lavorando. L'aria non è filtrata in entrata, con conseguente possibile contaminazione crociata da parte dell'ambiente e dei materiali non sterili, ma è filtrata in uscita tramite filtri HEPA. Tali filtri sono disposti in cima alla cappa: essi sono definiti filtri assoluti e filtrano il 99,999% delle particelle fino a 0,3 micron contenute nel flusso dell'aria.

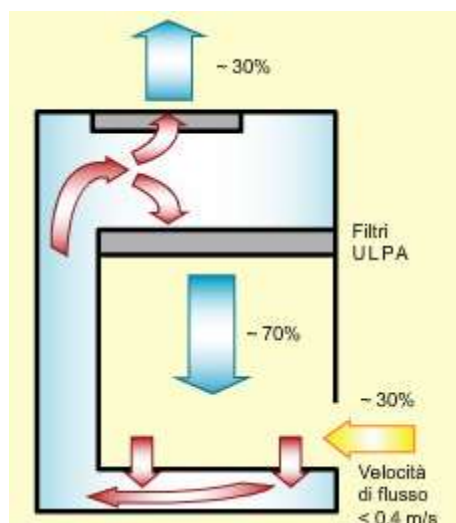
Tali cappe sono adottate per la manipolazione di microrganismi di gruppo I-II, esclusi i patogeni.



### 3.1.2 Cappa biologica a flusso laminare di classe II

La cappa di seconda classe è una cappa la cui funzione è quella di proteggere sia l'operatore, sia il campione, garantendo condizioni di assoluta sterilità.

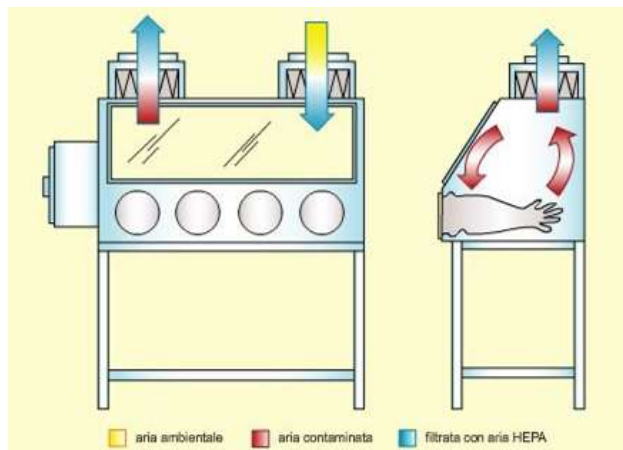
Tale cappa è formata da un piano di acciaio inossidabile forato, che permette l'entrata dell'aria preventivamente filtrata attraverso un sistema di 2 filtri HEPA, posti a distanza ravvicinata. Da tale cappa esce verso l'esterno il 30% dell'aria, mentre il restante 70% rimane nella cappa: la funzione della parziale fuoriuscita dell'aria è di creare una depressione che la richiama all'interno, in modo da instaurare un flusso continuo. L'aria entra all'interno della cappa con un flusso verticale, in modo che i microrganismi non fuoriescano dall'ambiente di lavoro e non contaminino l'operatore (nel caso di microrganismi patogeni).



Tale cappa è indicata per la manipolazione di microrganismi di gruppo II e di gruppo III.

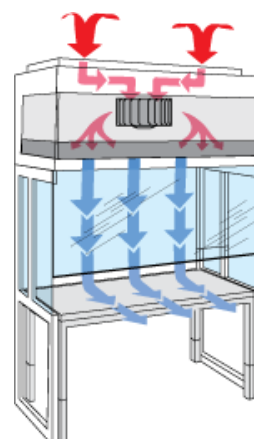
### 3.1.3 Cappa biologica a flusso laminare di classe III o "gloves box"

La cappa di classe terza è una cappa la cui funzione è quella di isolare completamente l'operatore dal campione che manipola e non esporlo a rischi di contagio con virus patogeni di gruppo IV. Tale cappa è completamente chiusa ed ermetica: l'operatore manipola gli agenti biologici tramite guanti fissi che lo isolano completamente. Le cappe di classe III filtrano l'aria sia in entrata che in uscita, tramite 4 filtri HEPA: l'aria in entrata è sterilizzata tramite un filtro posto sul retro. L'aria in uscita è sterile grazie al passaggio attraverso 2 filtri HEPA, assicurando all'ambiente interno una pressione negativa.



### 3.2 Cappa biologica a flusso laminare orizzontale

Questo tipo di cappe servono solo ad evitare contaminazioni del campione e a mantenere un ambiente sterile all'interno della cappa stessa, mentre non garantiscono alcuna protezione all'operatore, in quanto viene investito direttamente dal flusso di aria (potenzialmente contaminata) in uscita. Pertanto non si tratta di cappe di sicurezza biologica, in quanto rischiose per l'operatore e l'ambiente



## 4 EFFICIENZA DELLE CAPPE

La progettazione, la costruzione e i materiali delle cappe biologiche devono essere adeguati per il funzionamento sicuro della cappa biologica. Adeguati per un funzionamento sicuro devono essere anche l'illuminazione, il livello sonoro, le vibrazioni, la stabilità, la temperatura, l'impianto elettrico e del gas. Nella cappa deve essere incorporato un sistema di controllo collegato ad allarmi, adatto per indicare condizioni di sicurezza e di non sicurezza (riferiti ai livelli di flusso dell'aria).

Scopo di una cappa biologica a flusso laminare verticale è quello di garantire aria sterile al suo interno e l'assenza di contaminazione dell'ambiente circostante ad opera dei microrganismi eventualmente patogeni manipolati all'interno della cappa stessa. Sono quindi da tenere in considerazione tre differenti aspetti, quali il contenimento biologico, la facilità di pulizia e di sterilizzazione.

### 4.1 Contenimento biologico

I livelli di contenimento delle cappe a flusso laminare sono riportati nella tabella 1.

Indice di contenimento	Descrizione
------------------------	-------------



# Università degli Studi di Ferrara

SERVIZIO PREVENZIONE E PROTEZIONE

A	Rilascio/perdita di microrganismi non definiti
B	Rilascio/perdita <sup>1)</sup> di microrganismi identificati e quantificati in specifiche condizioni
C	Rilascio/perdita <sup>1)</sup> di microrganismi testati in condizioni definite e sotto al limite rilevabile <sup>2)</sup>

1) Sulla base della valutazione della perdita BATNEEC (migliore tecnica disponibile che non comporti costi eccessivi)  
2) Il valore soglia prescritto dovrebbe essere basato sul livello di sicurezza richiesto e può essere, per esempio, il limite di rilevamento di un BATNEEC approvato.

Tabella 1. Prestazioni in base al contenimento di una cappa biologica

## 4.2 Facilità di pulizia

I livelli di facilità di pulizia delle cappe a flusso laminare sono riportati nella tabella 2.

Indice di pulibilità	Descrizione
A	Sporco visibile o pulizia non definita
B	Pulibilità <sup>1)</sup> testata e quantificati in condizioni definite o cappa con specifici criteri tecnici
C	Pulibilità <sup>1)</sup> testata e quantificati in condizioni definite e sporczia sotto il valore soglia rilevabile <sup>2)</sup>

1) Sulla base della valutazione della perdita BATNEEC (migliore tecnica disponibile che non comporti costi eccessivi)  
2) Il valore soglia prescritto dovrebbe essere basato sul livello di sicurezza richiesto e può essere, per esempio, il limite di rilevamento di un BATNEEC approvato.

Tabella 2. Prestazioni in base alla pulibilità di una cappa biologica

Il livello di facilità di pulizia per tutte le cappe biologiche deve essere di classe B o superiore.

## 4.3 Facilità di sterilizzazione

Le classi di sterilizzabilità delle cappe a flusso laminare sono riportati nella tabella 3.

Indice di sterilizzazione	Descrizione
A	Cappa non adatta o non testata per l'abbattimento di microrganismi di riferimento
B	La cappa può essere trattata per abbattere microrganismi di riferimento
C	La cappa può essere sterilizzata

Il livello di facilità di sterilizzazione per tutte le cappe biologiche deve essere di classe B o superiore.

## 5 ACQUISTO ED INSTALLAZIONE DI CAPPE

Ciascuna cappa biologica deve mostrare adeguata etichettatura che reca le caratteristiche della cappa stessa:

- classe
- nome e indirizzo del produttore
- numero e la data di riferimento alla norma europea, cioè EN 12469: 2000;
- modello, numero di catalogo e numero di serie
- consumo energetico, voltaggio e frequenza
- area di lavoro sicura
- anno di fabbricazione



# Università degli Studi di Ferrara

## SERVIZIO PREVENZIONE E PROTEZIONE

Il fabbricante o il fornitore deve fornire un manuale scritto in cui sono riportate le procedure operative per un corretto utilizzo della cappa in base alla classe di appartenenza.

L'utente deve conservare la documentazione che dimostra le prestazioni dell'attrezzatura e la loro verifica, tra cui:

- un certificato di un test di prova secondo la norma europea; un certificato di filtro HEPA / contenimento dell'attrezzatura nel luogo di utilizzo;
- i metodi e le attrezzature utilizzate per testare la cappa;
- installazione e funzionamento manuali;
- istruzioni per la manutenzione e la sostituzione dei filtri, tra cui una dichiarazione della necessità di adeguata decontaminazione dell'attrezzatura;
- un diagramma che mostra il flusso d'aria attraverso l'armadio;
- i limiti dello spazio di lavoro e l'indicazione delle aree (ad esempio vicino alla parte anteriore
- apertura) che non sono protette;
- le istruzioni su come disinfettare e pulire e quali i disinfettanti adatti;
- per cappe di classe III, il diametro del polsino e forma del guanto adeguati alle dimensioni della porta.

Il test di installazione, effettuato dalla ditta fornitrice secondo l'articolo 71 del T.U. 81/08, deve avvenire dopo l'acquisto e posizionamento nella stanza, al cambio di installazione o al cambiamento di ambiente. Se la ventilazione nella stanza è cambiata, non è richiesto un ulteriore test di installazione.

La misura volumetrica della portata d'aria e la visualizzazione dei flussi d'aria sono necessari ma possono essere integrati da test di ritenzione in apertura frontale.

## 6 CONTROLLI E MANUTENZIONE PERIODICHE

Per le cappe a flusso laminare le normali operazioni di manutenzione consistono nella sostituzione dei prefiltri secondo le indicazioni della ditta costruttrice, nella pulizia/disinfezione delle superfici interne con opportuni disinfettanti e nel controllo dell'efficienza dei filtri effettuato da ditte specializzate.

### 6.1 Contenimento dell'aria per cappe di classe I e II

L'aria, potenzialmente contaminata, che circola in cappe biologiche è sotto pressione positiva e può fuoriuscire direttamente verso l'esterno della carcassa. E' necessario quindi controllarne la tenuta. Le cappe biologiche devono essere testate per perdite sotto pressione positiva.

### 6.2 Contenimento dell'aria per cappe di classe III

La pressione di esercizio di progettazione deve essere di almeno 200 Pa sotto la pressione dell'aria del laboratorio. La perdita in caso di sovrappressione di 500Pa in condizioni di tutto chiuso dopo 30 minuti deve essere  $\leq 10\%$ .

E' buona prassi contattare periodicamente l'assistenza tecnica affinché esegua la conta particellare ed il controllo del flusso d'aria, infatti metodi diretti o indiretti della misurazione del flusso di gas di scarico o di alimentazione dell'aria, oltre che al momento dell'installazione e collaudo, rappresentano test di routine.



# Università degli Studi di Ferrara

SERVIZIO PREVENZIONE E PROTEZIONE

## 6.3 Pulizia della cappa

Dopo ogni utilizzo pulire la superficie della cappa con germicida appropriato (ad esempio alcool al 70% o glutaraldeide al 4% e procedere con un ciclo di 15 minuti di UV).

Una volta al mese pulire la parte esterna della cappa con un detergente e pulire internamente la cappa (anche sotto il piano di lavoro) con un decontaminante specifico.

Tutti gli angoli all'interno della cappa e altre aree normalmente accessibili devono essere arrotondati per una corretta pulizia. Le superfici devono essere integre e senza difetti superficiali.

Verificare periodicamente la presenza di microrganismi nell'aria filtrata esponendo per 30 minuti capsule di Petri aperte contenenti terreni colturali agarizzati per la crescita degli eterotrofi e dei miceti, disposte in punti rappresentativi della superficie di lavoro o, in alternativa, usare contatori di particelle

## 6.4 Sterilizzazione

Tutte le cappe biologiche devono essere testate per la sterilizzabilità secondo la norma EN 12297.

## 6.5 Decontaminazione prima di interventi di manutenzione

Il ciclo di decontaminazione è un processo chimico atto all'eliminazione di microrganismi viventi come patogeni, spore e funghi.

Sulle cabine di sicurezza microbiologica, come Cappe Biohazard a flusso laminare verticale, è necessario effettuare questo processo prima di eseguire qualsiasi manutenzione all'interno di questa, per evitare la fuoriuscita di microrganismi.

Da Normativa le cappe devono essere sottoposte a decontaminazione nelle seguenti circostanze:

- Prima dell'inizio dei lavori di manutenzione sulla cappa dove l'accesso alla camera interna possa potenzialmente esporre l'operatore e il laboratorio a contaminati;
- Prima di effettuare test di penetrazione del filtro;
- Dopo la fuoriuscita di contaminante dove le superfici inaccessibili possono essere state contaminate.
- Per decontaminazione si intende un processo chimico in grado di distruggere tutte le forme di microrganismi viventi.

La norma Uni En 12469: 2000 spiega il metodo e le sostanze da utilizzare per eseguire il ciclo di decontaminazione su cabine di sicurezza microbiologica e ricorda che questa procedura deve essere eseguita da personale adeguatamente formato, in maniera che vengano ridotti i rischi e sia assicurata la piena efficacia del processo.

La norma consiglia di eseguire la fumigazione con paraformaldeide, in alternativa, si può eseguire con il perossido di idrogeno anche se in alcuni casi potrebbe non essere adeguato.

Il processo deve riguardare l'intera cabina, tra cui filtri, unità di ventola e superfici di lavoro. L'apparecchiatura dovrà essere rivestita con un involucro e sigillata, sia per garantire l'efficacia del processo, sia per non disperdere nell'ambiente i vapori immessi.

Al termine del ciclo di decontaminazione la formaldeide è neutralizzata con carbonato di ammonio, evitando l'immissione nell'ambiente dopo la rimozione del rivestimento protettivo.