

RISCHIO BIOLOGICO

*Biosicurezza nei laboratori BSL1 - 4,
gruppi di rischio, livelli di biocontenimento
e
barriere secondarie*

Clara Nazzaro
UOC Qualità e sicurezza





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



*Scientific laboratories
are dangerous places????*

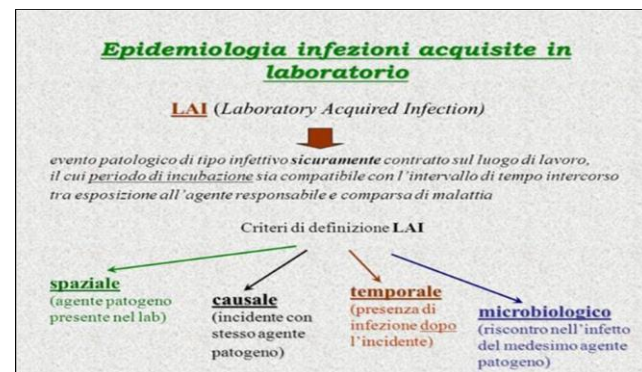


Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

DIMENSIONI DEL PROBLEMA



- Negli ultimi 100 anni sono stati riportati più di 5000 casi di infezioni acquisite in laboratorio (LAI) con un tasso di mortalità di circa il 4%;
- sono stati riportati casi aneddotici di infezione con quasi tutti i possibili patogeni, inclusi virus animali;
- negli ultimi 30 anni, prima l'epatite B e poi l'infezione da HIV hanno contribuito a riportare l'attenzione sul problema delle infezioni acquisite in laboratorio, e hanno condotto all'introduzione di pratiche di controllo più stringenti;
- più recentemente è emersa la problematica delle infezioni da microrganismi ad elevato impatto sociale ("select agents"; RG4, MOGM)



Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza

Indagine sulle infezioni acquisite in laboratorio in tutto il mondo nei laboratori di livello di biosicurezza 3 e 4

N. Wurtz,¹ A. Papà,² M. Hukic,^{3,4} A. Di Caro,⁵ I. Leparc-Goffart,⁶ E. Leroy,^{7,8} M. P. Landini,⁹ Z. Sekeyova,¹⁰
J. S. Dumler,¹¹ D. Bădescu,¹² N. Busquets,¹³ A. Calistri,¹⁴ C. Parolin,¹⁴ G. Palù,¹⁴ I. Christova,¹⁵ M. Maurin,¹⁶
B. La Scola,¹ e D. Raoult¹

-La maggior parte delle LAI (73%) si è verificata in BSL3 durante attività microbiologiche (42%), il 22% durante l'utilizzo del microscopio, ed un altro 22% durante la manipolazione di colture cellulari;

-i tecnici di laboratorio sono stati i più numerosi (87%), seguiti dai ricercatori (7%) e dagli operatori addetti alla cura degli animali (6%);

-tutti i 15 casi riportati non hanno avuto conseguenze gravi.

Sono stati contattati i laboratori BSL3 o BSL4 ufficialmente accreditati di 119 istituzioni pubbliche o private

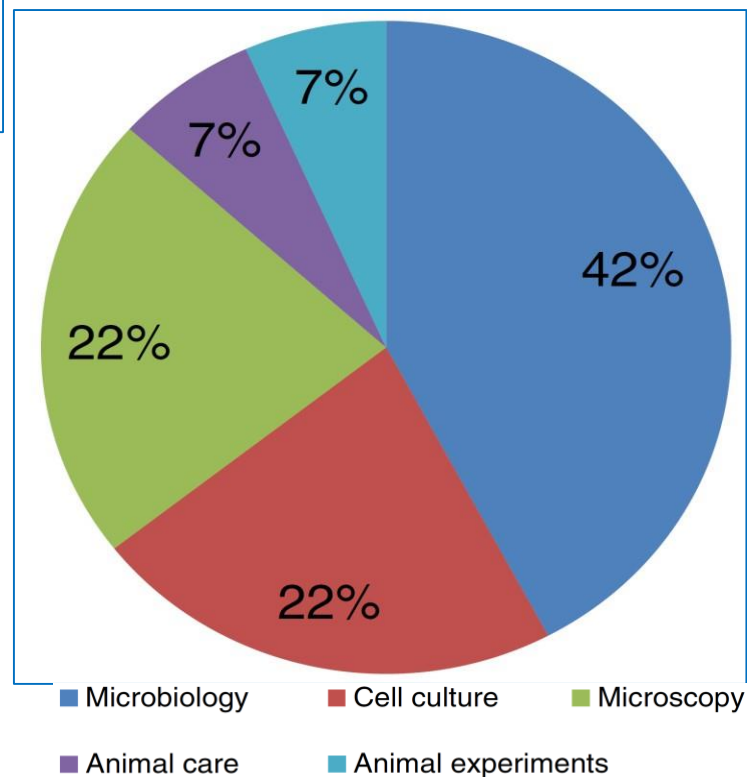


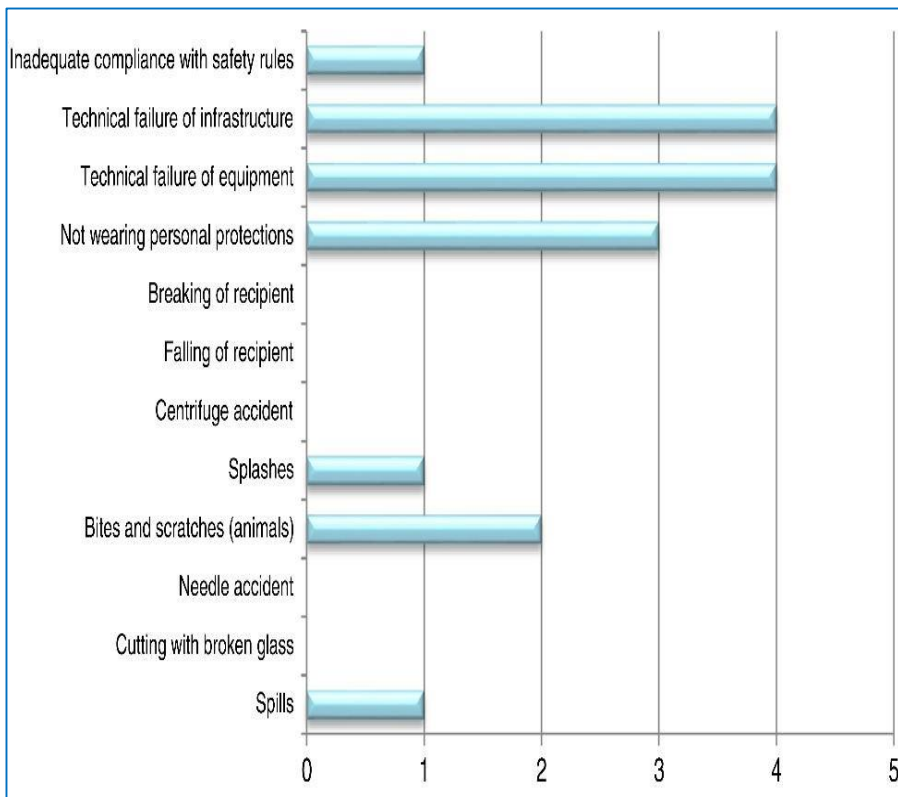
Fig. 3 In which context did the infection happen?





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

TIPO DI INCIDENTE



-87% dei casi sono stati dovuti a trasmissione per via aerea, mentre per il resto dei casi si è trattato di trasmissione percutanea

-in nessun caso si è avuta trasmissione secondaria

-la metà dei casi è stata causata da malfunzionamento di strumentazioni o dei laboratori (in un caso è stato necessario sospendere le attività e chiudere il laboratorio)

-4 sono state dovute al mancato rispetto delle regole di biosicurezza, 3 di essi non indossavano DPI

-2 LAI a morsi o graffi di animali

-2 a spandimento di materiale infetto

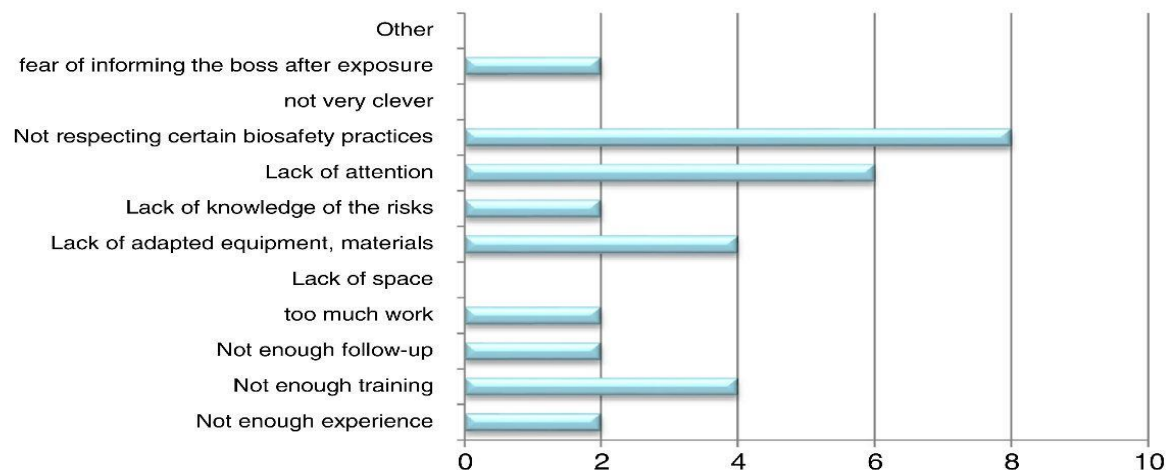


Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza

CAUSE PROBABILI

Indagine sulle infezioni acquisite in laboratorio in tutto il mondo nei laboratori di livello di biosicurezza 3 e 4

[N. Wurtz](#),¹ [A. Papà](#),² [M. Hukic](#),^{3,4} [A. Di Caro](#),⁵ [I. Leparç-Goffart](#),⁶ [E. Leroy](#),^{7,8} [M. P. Landini](#),⁹ [Z. Sekeyova](#),¹⁰
[J. S. Dumler](#),¹¹ [D. Bădescu](#),¹² [N. Busquets](#),¹³ [A. Calistri](#),¹⁴ [C. Parolin](#),¹⁴ [G. Palù](#),¹⁴ [I. Christova](#),¹⁵ [M. Maurin](#),¹⁶
[B. La Scola](#),¹ e [D. Raoult](#)¹¹



Principali cause di LAI:

-Mancato rispetto delle regole di sicurezza

-Scarsa attenzione

-Materiali ed attrezzature inadeguati

-Formazione insufficiente





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

OBIETTIVO di questo corso:

→ Acquisire
la consapevolezza
del rischio

→ Eliminare
i comportamenti
non corretti

MI RIGUARDA IL
RISCHIO
BIOLOGICO?



Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza

OBIETTIVO : *formazione dei lavoratori (art, 37)*

Il datore di lavoro assicura che ciascun lavoratore riceva una formazione sufficiente ed adeguata in materia di salute e sicurezza, anche rispetto alle conoscenze linguistiche, con particolare riferimento a:

- *concetti di rischio, danno, prevenzione, protezione, organizzazione della prevenzione aziendale, diritti e doveri dei vari soggetti aziendali, organi di vigilanza, controllo, assistenza;*
- *rischi riferiti alle mansioni e ai possibili danni e alle conseguenti misure e procedure di prevenzione e protezione caratteristici del settore o comparto di appartenenza dell'azienda.*





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Normativa vigente

D.lgs. 9 aprile 2008, n. 81
Testo coordinato con il D.Lgs. 3 agosto 2009, n. 106

TESTO UNICO SULLA SALUTE E SICUREZZA SUL LAVORO

**Attuazione dell'articolo 1 della Legge 3 agosto 2007, n. 123 in materia di tutela
della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro.**

(Gazzetta Ufficiale n. 101 del 30 aprile 2008 - Suppl. Ordinario n. 108)
(Decreto integrativo e correttivo: Gazzetta Ufficiale n. 180 del 05 agosto 2009 - Suppl. Ordinario n. 142/L)

REV. GENNAIO 2022

DOTT. ING. GIANFRANCO AMATO - DOTT. ING. FERNANDO DI FIORE



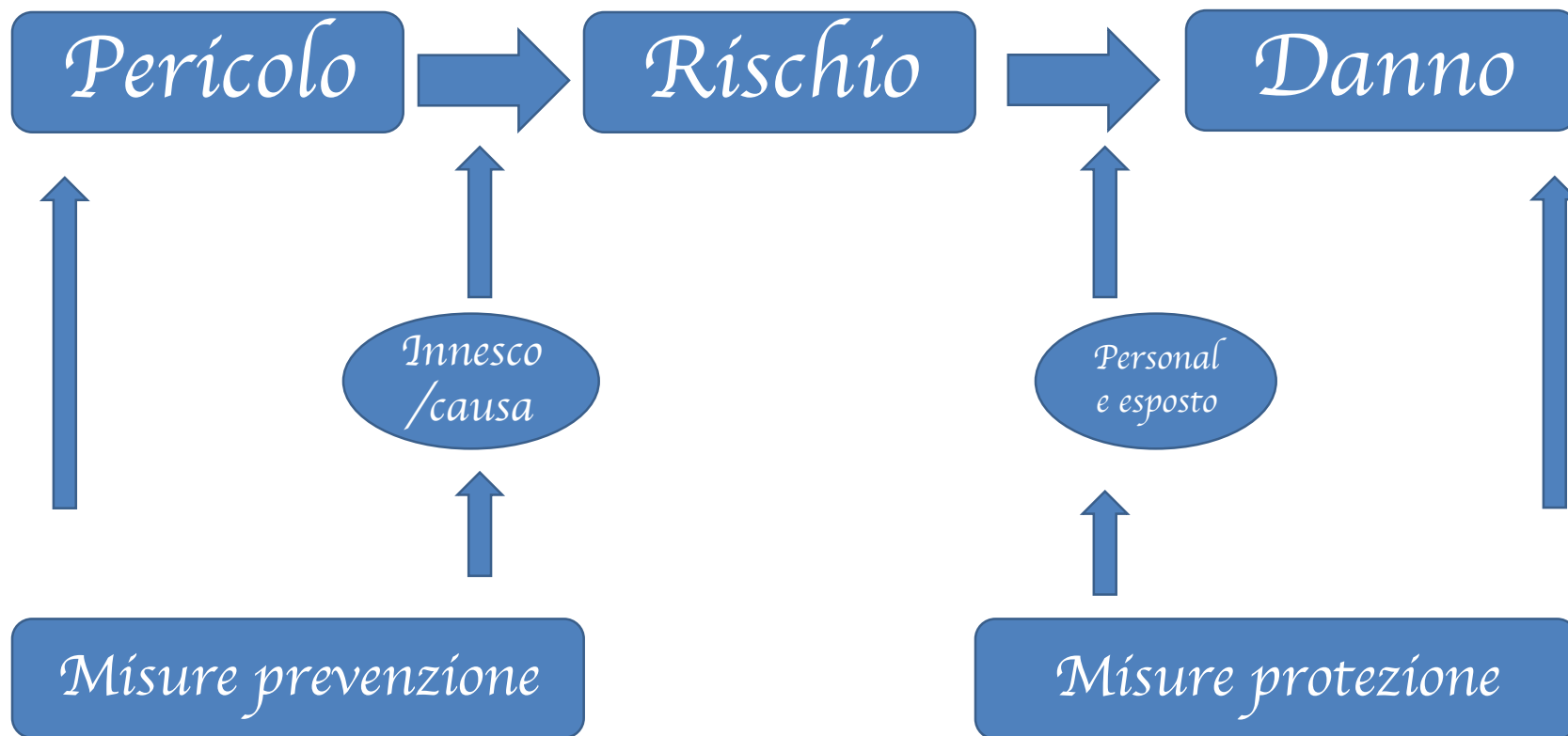
*Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza*

D. Lgs 81/08_art. 15 Misure generali di tutela:

Le misure generali di tutela della salute e della sicurezza dei lavoratori nei luoghi di lavoro sono:

- a) la valutazione di tutti i rischi per la salute e sicurezza*
- b) la programmazione della prevenzione, mirata ad un complesso che integri in modo coerente nella prevenzione le condizioni tecniche produttive dell'azienda nonché l'influenza dei fattori dell'ambiente e dell'organizzazione del lavoro*
- c) l'eliminazione dei rischi e, ove ciò non sia possibile, la loro riduzione al minimo in relazione alle conoscenze acquisite in base al progresso tecnico*







Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



*MA QUINDI COS'È IL RISCHIO
BIOLOGICO???*



Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza



→ **Rischio**: probabilità che in presenza di un particolare fattore di rischio si verifichi un evento indesiderato per la salute

Rischio Biologico → probabilità che in presenza di un **AGENTE BIOLOGICO**, si verifichi un evento indesiderato per la salute





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

DECRETO Lgs.9 APRILE 2008 n.81, rev. Agosto 2022

TITOLO X - ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI

D.Lgs. 09 aprile 2008 n. 81

TITOLO X - ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI

CAPO I - DISPOSIZIONI GENERALI

CIRCOLARI

Circolare n. 15/2012 del 27/06/2012 - Oggetto: Dispositivi di Protezione Individuale per la protezione delle vie respiratorie da agenti biologici aerodispersi.

Articolo 266 - Campo di applicazione

1. Le norme del presente Titolo si applicano a tutte le attività lavorative nelle quali vi è rischio di esposizione ad agenti biologici.
2. Restano ferme le disposizioni particolari di recepimento delle norme comunitarie sull'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati e sull'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati.

Articolo 267 - Definizioni

1. Ai sensi del presente Titolo s'intende per:
 - a) *agente biologico*: qualsiasi microrganismo anche se geneticamente modificato, coltura cellulare ed endoparassita umano che potrebbe provocare infezioni, allergie o intossicazioni;
 - b) *microrganismo*: qualsiasi entità microbiologica, cellulare o meno, in grado di riprodursi o trasferire materiale genetico;
 - c) *coltura cellulare*: il risultato della crescita in vitro di cellule derivate da organismi pluricellulari.



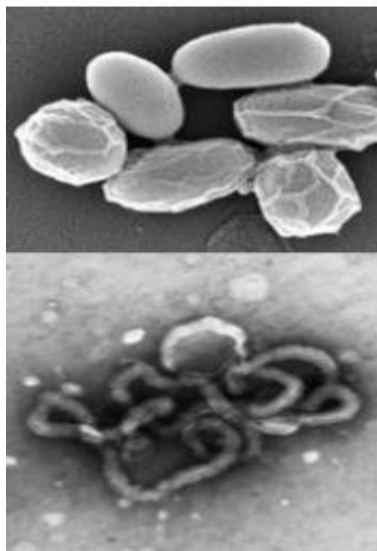
Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

DECRETO Lgs.9 APRILE 2008 n.81, rev. Agosto 2022

TESTO UNICO SULLA SALUTE E SICUREZZA SUL LAVORO TITOLO X - ESPOSIZIONE AD AGENTI BIOLOGICI



AGENTE BIOLOGICO: qualsiasi microrganismo (entità microbiologica, cellulare o meno, in grado di riprodursi o trasferire materiale genetico) anche se geneticamente modificato, coltura cellulare ed endoparassita umano che potrebbe provocare infezioni, allergie o intossicazioni.

ALLEGATO XLVI (Elenco Degli Agenti Biologici Classificati)

- ✧ Batteri
- ✧ Virus
- ✧ Parassiti
- ✧ Funghi



Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza

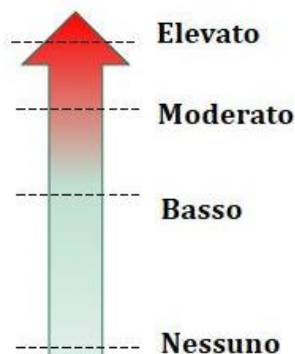
Classificazione degli agenti biologici in Gruppi di Rischio (GR)

Gli agenti biologici sono ripartiti in **4 GRUPPI** a seconda del rischio di infezione:

Rischio per l'individuo



Rischio per la comunità



-La classificazione in 4 livelli di rischio degli agenti infettivi e delle attività di laboratorio è stata introdotta dai CDC nel 1974 nel manuale;

-tale suddivisione, ripresa nelle varie edizioni del "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" (BMBL) dei CDC, e nel "Laboratory biosafety manual" del WHO rappresenta tuttora una linea guida fondamentale per la valutazione e classificazione del potenziale rischio biologico connesso alle varie attività biomediche e microbiologiche svolte in laboratorio

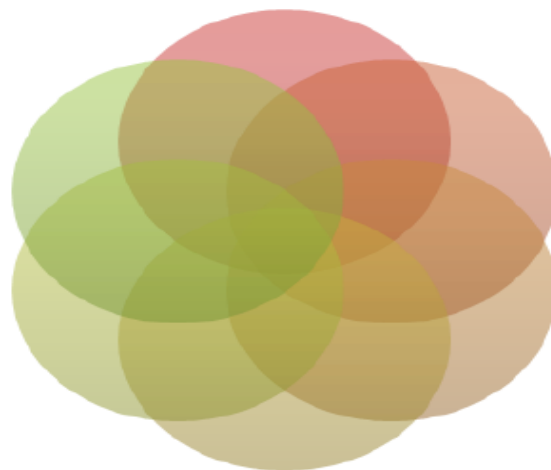


Classificazione degli agenti biologici in Gruppi di Rischio (GR)

SUDDIVISIONE IN 4 CLASSI IN BASE A:

Disponibilità di misure
profilattiche (vaccini) o
terapeutiche (farmaci)
(NEUTRALIZZABILITA')

Capacità di
trasmettersi da un
soggetto infetto ad un
altro soggetto
(TRASMISSIBILITA')



Capacità di causare
gravi malattie
nell'uomo
(PATOGENICITA')

Capacità di replicarsi
nell'organismo ospite e
di indurre
malattia **(VIRULENZA)**

Resistenza al di fuori
dell'organismo ospite
(STABILITA')



GRUPPO DI RISCHIO 1

✓ **RISCHIO INDIVIDUALE:** nessuno o basso



✓ **RISCHIO COLLETTIVO:** nessuno o basso



 *Microrganismo che difficilmente è causa di malattia nell'uomo o negli animali*

➤ *Bacillus subtilis*

➤ *Escherichia coli* (ceppi non patogeni)



GRUPPO DI RISCHIO 2

✓ **RISCHIO INDIVIDUALE:** moderato



✓ **RISCHIO COLLETTIVO:** basso

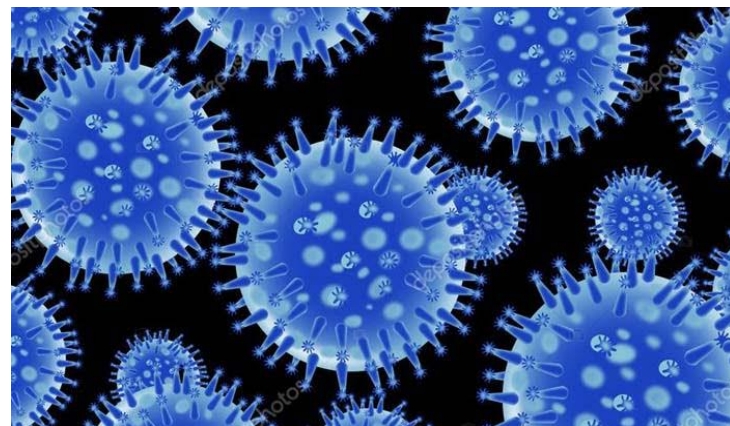


-Può causare malattia nell'uomo o negli animali (anche grave), ma difficilmente pone un serio pericolo per i laboratoristi, la collettività, il bestiame o l'ambiente;

-Il rischio di diffusione dell'infezione è limitato;

-Esistono misure preventive e terapie efficaci.

- *Clostridium botulinum*
- *Coronaviridae* (no SARS, no MERS)
- *Herpesviridae*



GRUPPO DI RISCHIO 3

✓ **RISCHIO INDIVIDUALE:** *elevato*



✓ **RISCHIO COLLETTIVO:** *basso*

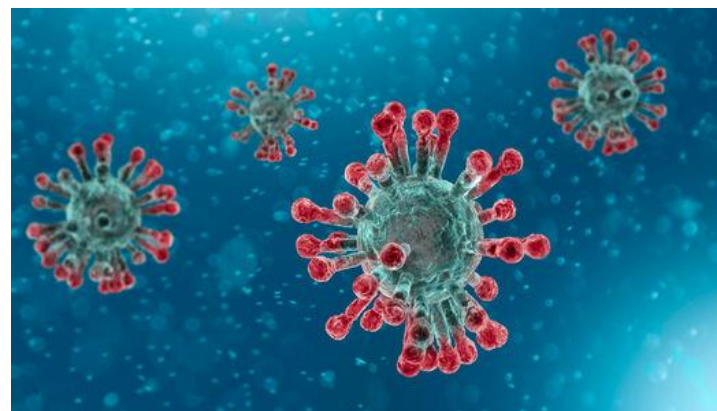


-può causare malattie gravi in soggetti umani e
costituire un serio rischio per i lavoratori

-può propagarsi alla comunità

-di norma sono disponibili efficaci misure profilattiche e terapeutiche

- *M. tuberculosis*
- *HIV*
- *Chikungunya*
- *SARS-CoV*





GRUPPO DI RISCHIO 4

✓ **RISCHIO INDIVIDUALE:** elevato



✓ **RISCHIO COLLETTIVO:** elevato



-può provocare malattie gravi nell'uomo e nell'animale e costituire un serio rischio per i lavoratori

-può presentare un elevato rischio di propagazione nella comunità

-non sono disponibili di norma efficaci misure profilattiche e terapeutiche

➤ **Filovirus (Ebola, Marburg)**

➤ **Variola virus**

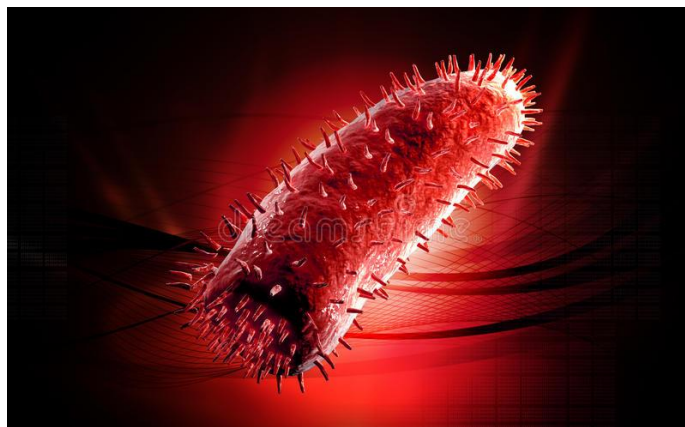




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

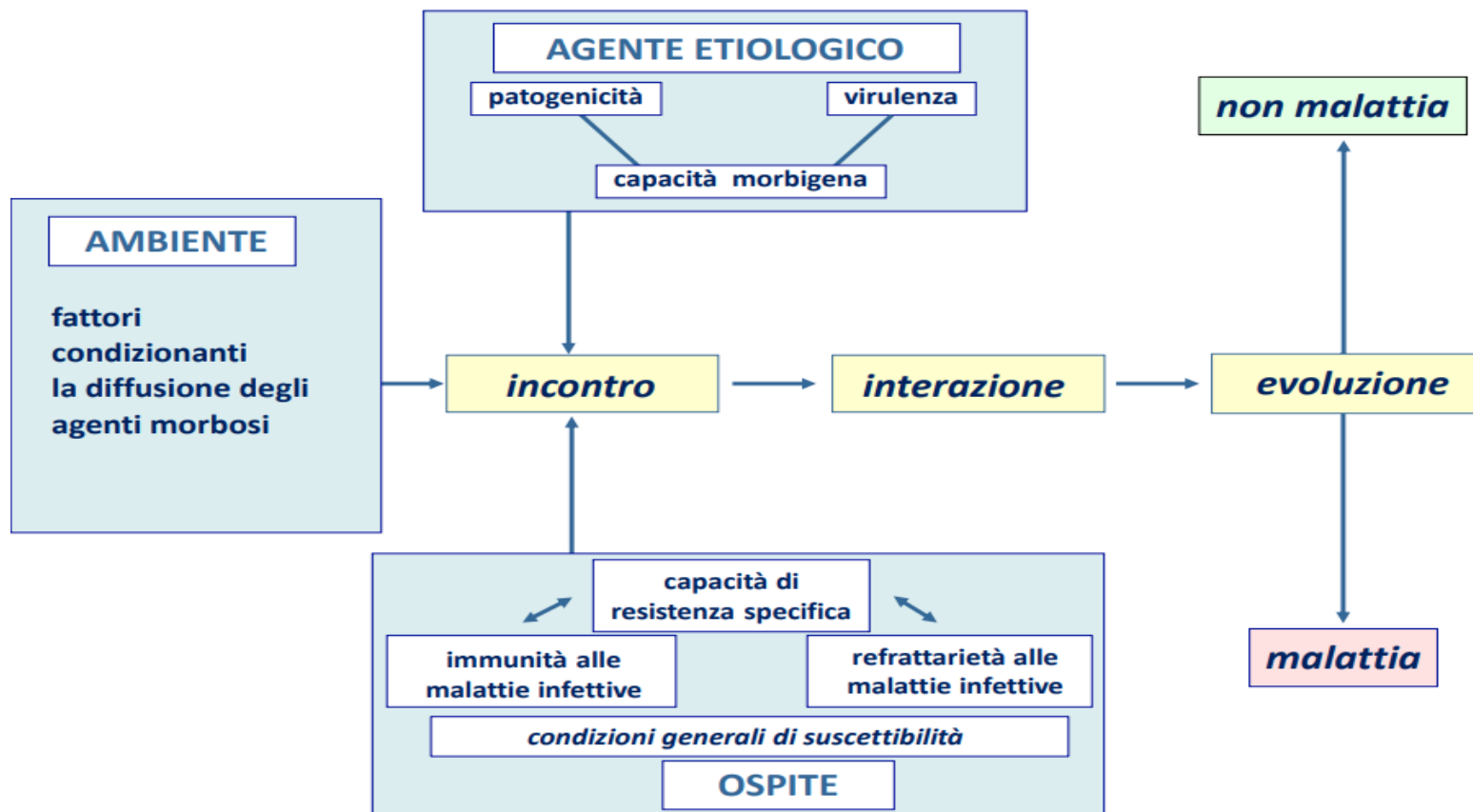
CLASSIFICAZIONE DEGLI AGENTI BIOLOGICI

*“Taluni agenti classificati nel gruppo di pericolo 3 ed indicati con doppio asterisco (**)
nell'allegato XLVI possono comportare un rischio di infezione limitato perché
normalmente non sono veicolati dall'aria. Nel caso di particolari attività comportanti
l'utilizzazione dei suddetti agenti, in relazione al tipo di operazione effettuata e dei
quantitativi impiegati, può risultare sufficiente assicurare i livelli di contenimento ivi
previsti per gli agenti del gruppo 2”. Es. Rabbia*



Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza

Quali sono i fattori che influenzano la crescita dei microrganismi ed il rischio di infezione?



Tipologie di esposizione al Rischio Biologico

Uso deliberato (Allegato XLVI)

uso intenzionale nel ciclo lavorativo di agenti biologici per sfruttarne le proprietà biologiche a qualsiasi titolo (materia prima, substrato, catalizzatore, reagente o prodotto in un processo lavorativo, ecc.)



Esposizione potenziale (Allegato XLIV)
la presenza di agenti biologici ha un carattere di epifenomeno indesiderato ma inevitabile, del lavoro





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



*MA QUALI SONO LE VIE PIÙ COMUNI PER
L'ACQUISIZIONE DI UN' INFEZIONE IN
LABORATORIO?*



Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza

LABORATORY-ACQUIRED INFECTIONS (LAIS) VIE DI TRASMISSIONE - 2

Aerosol:



- ✓ Inalazione di aerosol infetti
- ✓ sonicazione
- ✓ omogeneizzazione
- ✓ agitazione o miscelazione vigorosa (vortex)
- ✓ apertura di contenitori di materiali infetti a P diversa dalla P ambientale
- ✓ apertura delle provette, pipettaggio
- ✓ citometria

~ 80%



LABORATORY-ACQUIRED INFECTIONS (LAIS) VIE DI TRASMISSIONE - 1

~ 20%

Inoculazione parenterale con aghi di siringa o altri oggetti taglienti contaminati

Contatto di liquidi fuoriusciti o di spruzzi con le mucose

Ingestione o esposizione attraverso il contatto di dita o oggetti contaminati con bocca e occhi

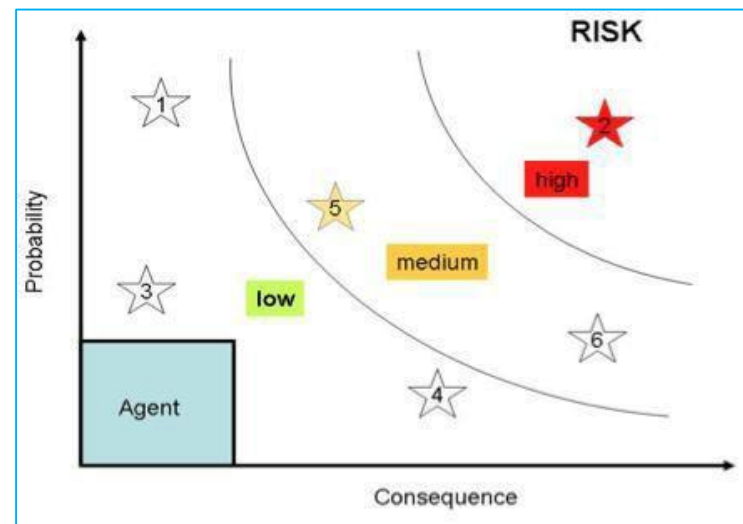
Morsi e graffi da parte di animali





responsabilità personale

- ✓ *Lavorare in sicurezza all'interno del laboratorio costituisce un obbligo per tutto il personale*
- ✓ *ogni singolo lavoratore è responsabile della propria sicurezza e di quella dei colleghi*
- *Introduzione del concetto di*
Risk Assessment



Misure di Protezione



DPI = qualsiasi attrezzatura destinata ad essere indossata e tenuta dal lavoratore allo scopo di proteggerlo contro uno o più rischi suscettibili di minacciarne la sicurezza o la salute durante il lavoro, nonché ogni complemento o accessorio destinato a tale scopo

(art. 74, comma 1 del D.Lgs. 9 aprile 2008, n.81)

scelta dei DPI da utilizzare durante le attività di laboratorio per la manipolazione di uno specifico agente infettivo deve tener conto:

- ✓ del microrganismo da manipolare (Gruppo di rischio e caratteristiche di INFETTIVITA', PATOGENICITA', TRASMISSIBILITA' e NEUTRALIZZABILITA')
- ✓ delle specifiche lavorazioni da svolgere (colture o alte concentrazioni di agenti infettivi, utilizzo delle centrifughe e delle ultracentrifughe e altre attività che possono portare a formazione di aerosol, uso di oggetti taglienti)
- ✓ delle strutture e attrezzature di cui si dispone e delle pratiche operative e procedure necessarie per lavorare in sicurezza (es. disponibilità di BSC)





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Protezione individuale

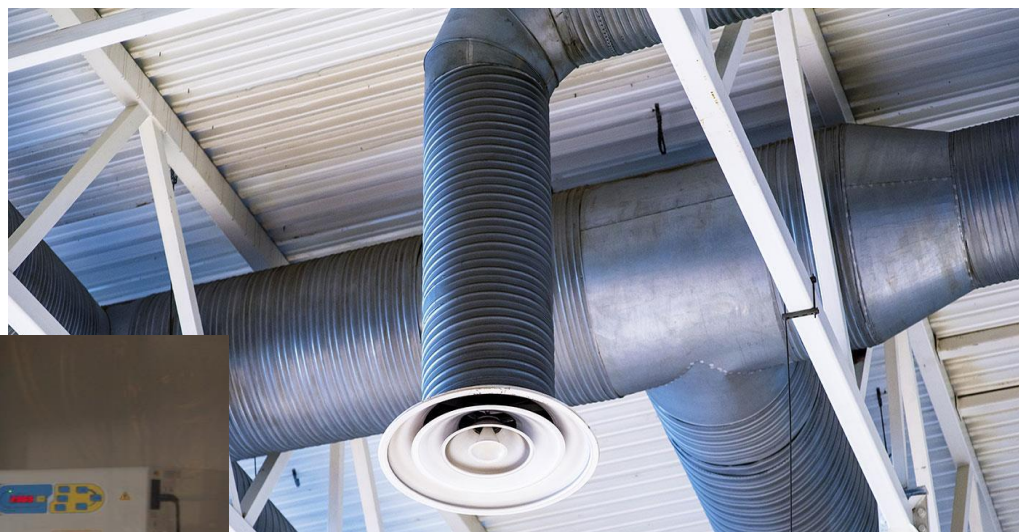


Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Protezione collettiva



Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Contenimento, cappe e DPI

Contenimento: Insieme di procedure ed accorgimenti tecnici attuabili per l'utilizzo in sicurezza di agenti biologici o di materiale potenzialmente patogeno

La misura fondamentale del contenimento del rischio è rappresentata dalla buona pratica di laboratorio (BPL), associata al corretto uso di DPC e DPI

Le cappe di sicurezza biologica (Biohazard) sono impianti di contenimento, progettate per proteggere adeguatamente dall'esposizione:

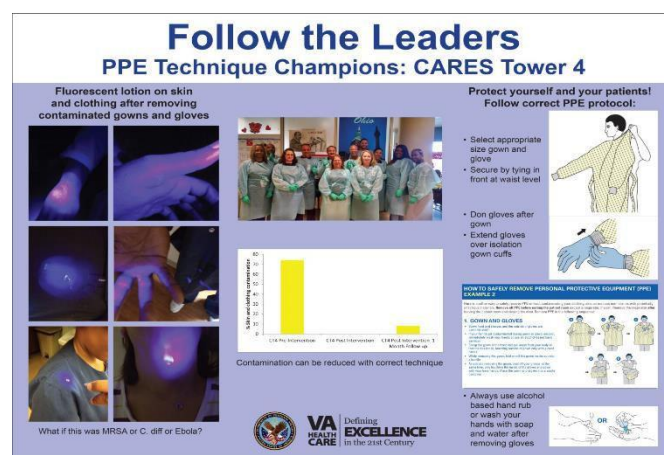
- ♦ l'operatore
- ♦ l'ambiente del laboratorio
- ♦ il materiale di lavoro

da aerosol e schizzi potenzialmente patogeni generati durante le diverse fasi di manipolazione di matrici biologiche.



Contamination of Health Care Personnel During Removal of Personal Protective Equipment

Myreen E. Tomas, MD; Sirisha Kundrapu, MD; Priyaleela Thota, MD; Venkata C. K. Sunkesula, MD;
Jennifer L. Cadnum, BS; Thriveen Sankar Chittoor Mana, MS; Annette Jenson, BS, CIC; Marguerite O'Donnell, RN;
Trina F. Zabarsky, RN; Michelle T. Hecker, MD; Amy J. Ray, MD; Brigid M. Wilson, PhD; Curtis J. Donskey, MD



- ✓ *Personal protective equipment (PPE) reduces, but does not eliminate, the risk of skin and clothing contamination with pathogens among health care personnel,*
- ✓ *the risk of inadvertent contamination of skin and clothing despite use of PPE may be particularly high during removal of contaminated equipment;*
- ✓ *in simulations of contaminated PPE removal, use of protocols recommended by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) has been associated with less frequent hand and clothing contamination compared with non standardized methods, suggesting that use of the appropriate technique can reduce contamination.*

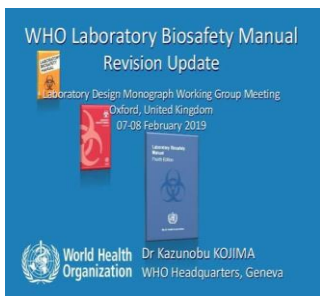




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

MANUALI DI SICUREZZA NEI LABORATORI

- ✓ L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha da tempo riconosciuto l'importanza della Biosicurezza ritenendo che, nell'ambito della tutela della salute e sicurezza dei lavoratori esposti ad agenti biologici, *la pubblicazione di linee guida faciliti la valutazione del rischio e l'adozione di comportamenti appropriati nelle specifiche procedure.*



1983 OMS 1st *Laboratory Biosafety manual* CDC (BMBL) *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* [2009, 5^a edizione]

- ✓ Il manuale ha spinto i vari Paesi ad accettare e mettere in opera concetti di base di Biosicurezza e a sviluppare compendi nazionali riguardanti le nozioni pratiche per la manipolazione, in sicurezza, di microrganismi patogeni nei laboratori entro i loro confini geografici



Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza

- Ai vari gruppi di rischio devono necessariamente corrispondere in laboratorio adeguati Livelli di Biosicurezza (Biosafety Level, BSL 1 - 4; USA)

Altre denominazioni:

- Containment Level (CL 1-4; Canada)
- Safety Level (S1-4; Germania)
- Maximum Biosafety Level (MBL; Giappone)



“Cultura della Biosicurezza”

- Il WHO ha pubblicato la 1° edizione del Laboratory Biosafety manual nel 1983
- Un altro manuale fondamentale è : Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) del CDC [V° versione 2007]



DEFINIZIONI

- ✓ *“Laboratory biosafety”* (Biosicurezza) è il termine per descrivere norme, tecnologie e pratiche di contenimento che sono realizzate per prevenire esposizioni involontarie o fuoriuscite accidentali di agenti patogeni e tossine.
- ✓ *“Laboratory biosecurity”* (Bioprotezione) si riferisce a misure di sicurezza istituzionali e personali elaborate per prevenire perdite, furti, usi scorretti, fuoriuscite accidentali o intenzionali di patogeni o tossine

Efficaci pratiche di Biosicurezza sono le basi fondamentali per le attività di Bioprotezione dei laboratori



SCOPO

- ✓ Lo scopo del **contenimento** è di ridurre o eliminare l'esposizione degli operatori, di altre persone e dell'ambiente esterno ad agenti potenzialmente pericolosi
- ✓ **Contenimento lo uso come DPC, dove non basta rafforzamento con DPI**





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

DEFINIZIONI

✓ *Contenimento primario*

La protezione del personale e dell'ambiente immediatamente circostante dall'esposizione ad agenti infettivi è garantita da procedure di laboratorio che prevedono:

- buona pratica microbiologica
- appropriate attrezzature di laboratorio
- *indumenti di protezione personale.*

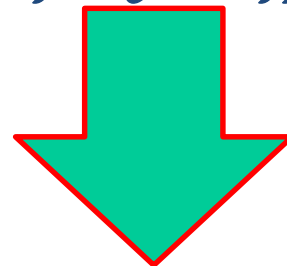
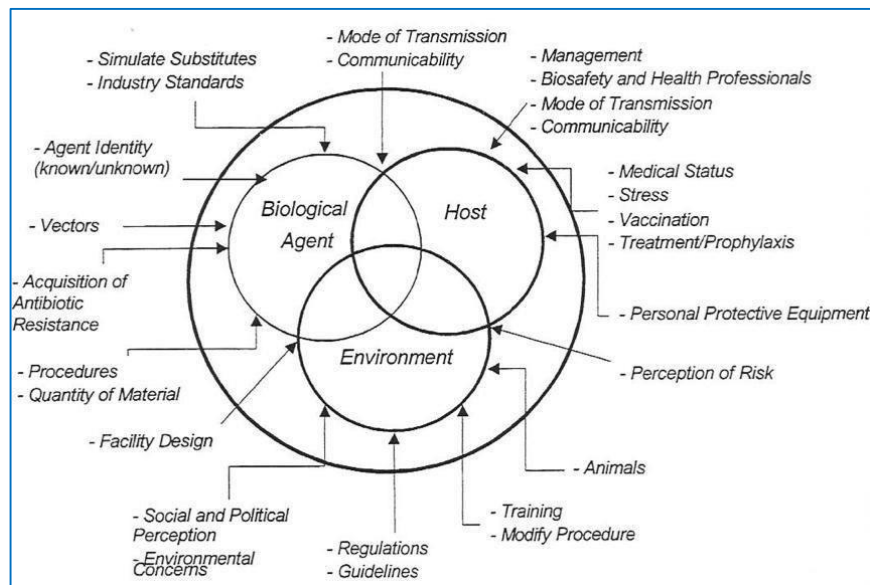
La vaccinazione può contribuire ad aumentare il livello di protezione personale

✓ *Contenimento secondario*

La protezione dell'*ambiente* esterno al laboratorio dall'esposizione a materiali infettivi è garantito dalla combinazione della progettazione del laboratorio e delle procedure operative. (*filtri sui camini*)

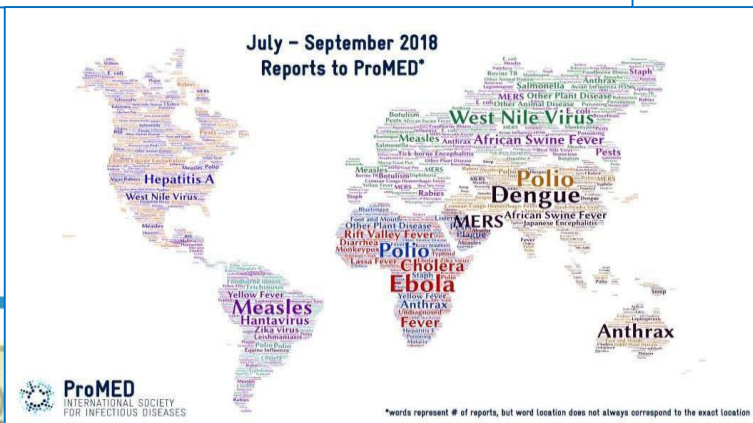


L'assegnazione di un dato livello di Biosicurezza per le attività di laboratorio con uno specifico microrganismo deve derivare **dalla valutazione del rischio**, piuttosto che essere fatta automaticamente in base al solo gruppo di rischio cui l'agente patogeno appartiene.



L'assegnazione di un livello di biosicurezza deve tener conto di:

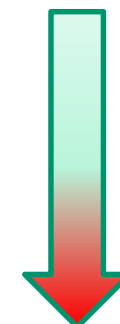
- del microrganismo usato
- delle specifiche lavorazioni da svolgere
- delle strutture e attrezzature di cui si dispone e delle pratiche operative
- procedure necessarie per lavorare in sicurezza



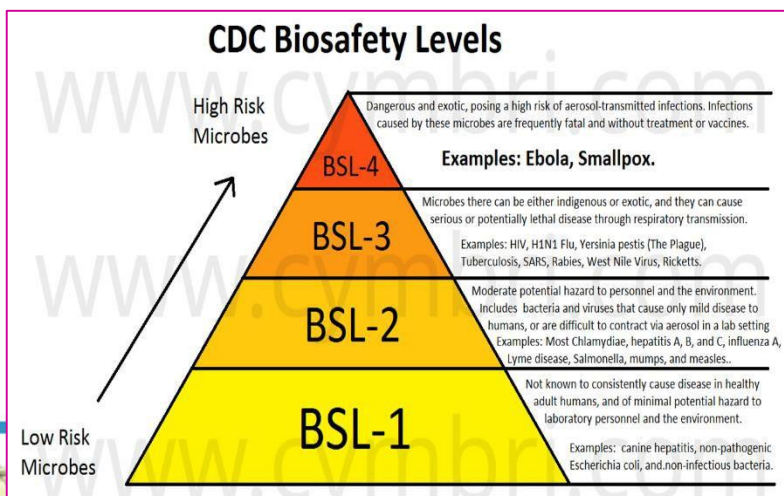
CLASSIFICAZIONE DEI LIVELLI DI BIOSICUREZZA

- ✓ *LABORATORI DI BASE: BSL₁ e 2*
- ✓ *LABORATORI DI CONTENIMENTO: BSL₃*
- ✓ *LABORATORI DI MASSIMO CONTENIMENTO: BSL₄*

Basso



Elevato





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

CORRISPONDENZA TRA I GRUPPI DI RISCHIO E I LIVELLI DI BIOSICUREZZA DEI LABORATORI

Gruppo	Livello di Biosicurezza	Tipo di Laboratorio	Pratiche	Attrezzature
1	Base Livello 1	Insegnamento di base, ricerca	Buona pratica di laboratorio	Nessuna, banco da lavoro
2	Base Livello 2	Diagnostica di base, ricerca	Buona pratica di laboratorio più Dispositivi di protezione Individuali (DPI) e segnale di pericolo	Banco da lavoro più Cappe di sicurezza per le procedure che producono aerosol
3	Contenimento Livello 3	Diagnostica specialistica, ricerca	Come Livello 2 più DPI speciali, accesso controllato, ventilazione senza ricircolo	Cappe di sicurezza per tutte le procedure
4	Massimo contenimento Livello 4	Patogeni pericolosi	Come Livello 3 più ingresso autorizzato, doccia di decontaminazione, adeguato sistema di smaltimento dei materiali monouso come rifiuti	Cappe di sicurezza di classe III (glove-box) o Tute pressurizzate con Cappe di classe II, più autoclave passante e sistema di ventilazione con filtri assoluti



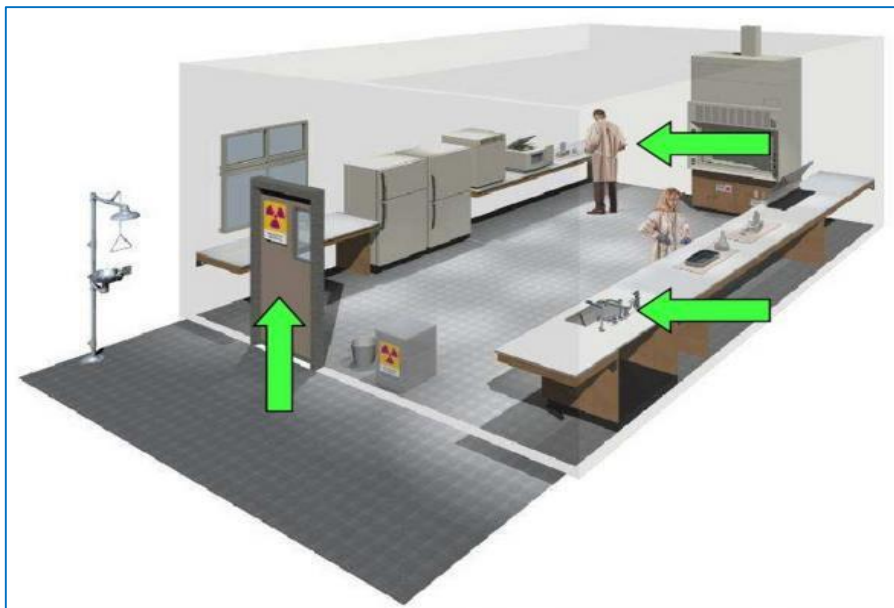
World Health Organization

WHO Laboratory biosafety manual, 2004, III edition

Clara Nazzaro - UOC Qualità e sicurezza

LIVELLO DI BIOSICUREZZA 1 (BSL-1)

Lavorazione di materiale contenente agenti infettivi ben caratterizzati e di minimo rischio biologico, non associati a malattie negli immunocompetenti

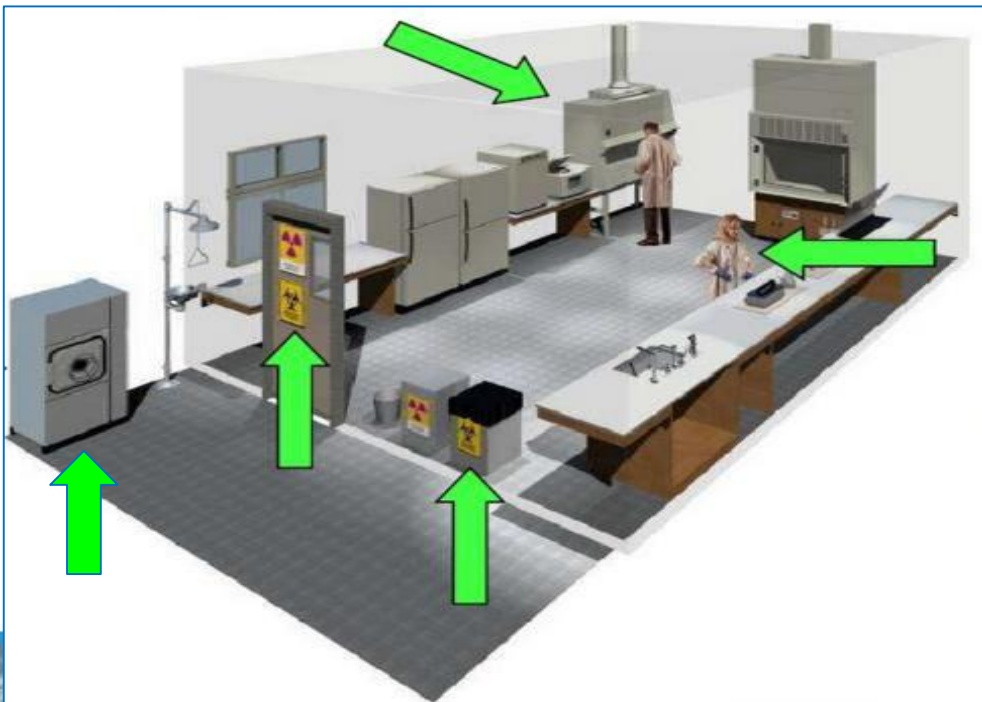


- ✓ **Livello base di contenimento**
- ✓ **Pratiche microbiologiche standard** (divieto di fumare, mangiare, bere, utilizzare con prudenza aghi e strumenti taglienti, manuale di sicurezza, istituzione di un registro degli incidenti e esposizioni accidentali)
- ✓ **Dispositivi di protezione individuali standard** (camice, guanti e protezione per gli occhi in alcuni casi)
- ✓ **Requisiti della struttura non specifici** (accesso controllato, lavandino per il lavaggio delle mani, pavimenti e superfici di lavoro resistenti impermeabili e facili da pulire e decontaminare, adeguata illuminazione)

LIVELLO DI BIOSICUREZZA 2 (BSL-2)

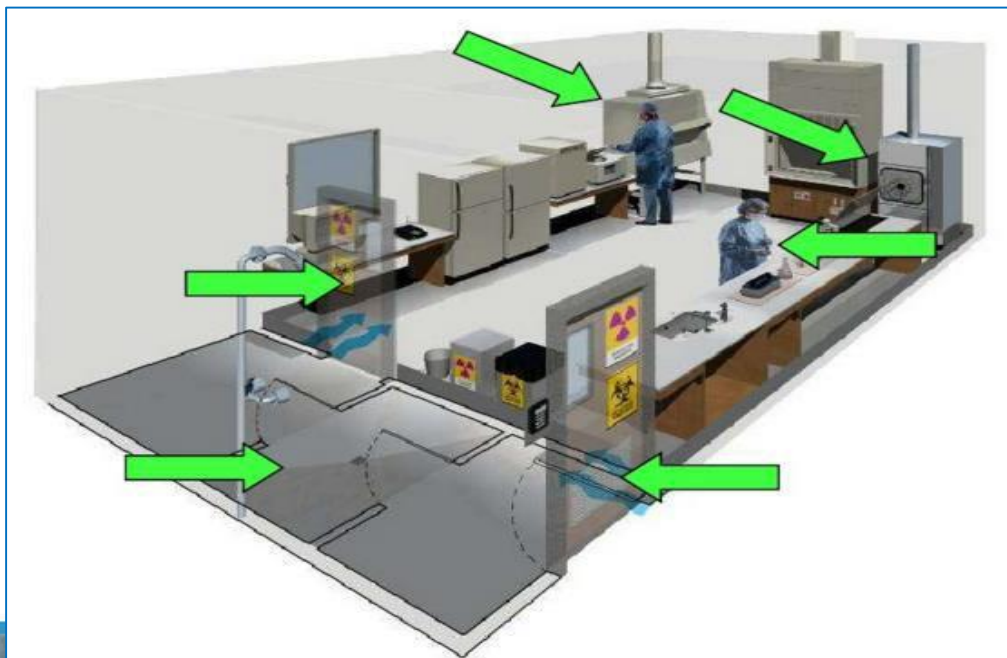
Lavorazione di materiale contenente agenti infettivi indigeni di moderato rischio biologico presenti nella comunità, associati a malattie umane di diversa gravità

- ✓ **Caratteristiche BSL-1 più:**
- ✓ **Pratiche specifiche** (segnale di rischio biologico, accesso limitato alle persone autorizzate e istruite nella manipolazione di agenti infettivi, smaltimento dei rifiuti infettivi separato programma di immunizzazione)
- ✓ **Dispositivi di protezione individuali standard** (camice e guanti e per alcune procedure maschera e occhiali)
- ✓ **Attrezzature di biosicurezza** (BSC-1/2 per procedure che possono creare aerosol/schizzi)
- ✓ **Requisiti della struttura** (porte con serratura, lavandino con hands-free operations, lavandino per lavaggio occhi, autoclave, ventilazione meccanica con flusso d'aria verso l'interno senza ricircolo consigliata)



LIVELLO DI BIOSICUREZZA 3 (BSL-3)

Lavorazione di materiale contenente agenti infettivi GR3 indigeni o esotici con possibile trasmissione aerea, associati a malattie umane gravi e potenzialmente letali. Lavorazione con elevate concentrazioni di GR2 che possono diffondersi per aerosol



- ✓ **Caratteristiche BSL-2 più:**
- ✓ **Livello di contenimento elevato**
- ✓ **Pratiche specifiche** (supervisore del laboratorio che controlla l'accesso, manipolazione del materiale esclusivamente in BSC)
- ✓ **Dispositivi di protezione individuali standard** camice di tipo urologico, copricapo, calzature apposite, copriscalari, DPI respiratorio per alcune procedure;
- ✓ **Tutti i DPI devono essere rimossi e decontaminati prima di lasciare il laboratorio**

LIVELLO DI BIOSICUREZZA 3 (BSL-3)

ATTREZZATURE DEL LABORATORIO

- ✓ Manipolazione di tutti i potenziali materiali infetti deve essere effettuata all'interno di BSC
- ✓ centrifughe con contenitori di sicurezza o rotor di contenimento



SORVEGLIANZA SANITARIA

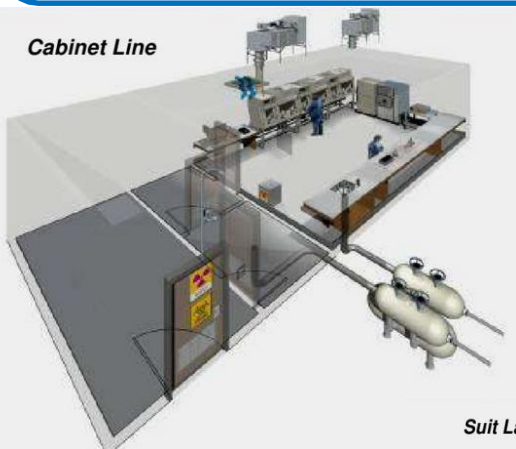
- ✓ visita medica del personale che lavora BSL-3, è obbligatoria e include un'anamnesi dettagliata e una visita specifica mirata alle singole mansioni
- ✓ Siero t=0



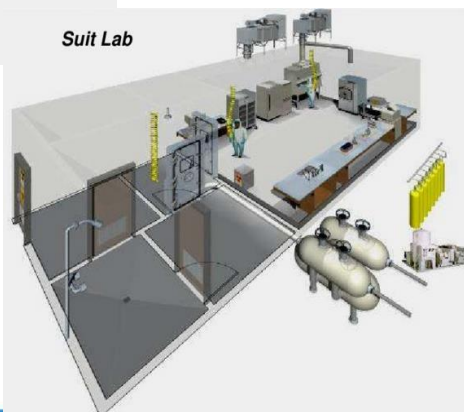
LIVELLO DI BIOSICUREZZA 4 (BSL-4)

Lavorazione di materiale contenente agenti infettivi pericolosi di GR4 e esotici con possibile trasmissione aerea, associati a malattie umane potenzialmente letali per le quali non sono disponibili vaccini o terapie

Cabinet Line



Suit Lab



Biosafety Level 4 (BSL-4)

- Personnel must receive specialized training in handling extremely dangerous infectious agents, containment equipment and functions
- Access to lab is restricted: immunocompromised persons are never allowed to enter the lab
- Standard practices include BSL-3 plus:
 - strictly controlled access to the laboratory;
 - changing clothing before entering and exiting lab (showering upon exiting recommended);
 - decontaminating all material exiting facility

LIVELLO DI BIOSICUREZZA 4

Necessari requisiti strutturali, professionali ed organizzativi peculiari per la manipolazione di materiali contenenti agenti GR4

Per la manipolazione di un agente biologico del GR4, è necessaria un'autorizzazione da parte del **Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali**, su parere dell'**Istituto Superiore di Sanità**. Essa ha la durata di 5 anni ed è rinnovabile. L'accertamento del venir meno di una delle condizioni previste per l'autorizzazione ne comporta la revoca.

BSL-4 Facilities Worldwide

● black: existing BSL-4 (or equivalent) facility
○ white: planned BSL-4 facility

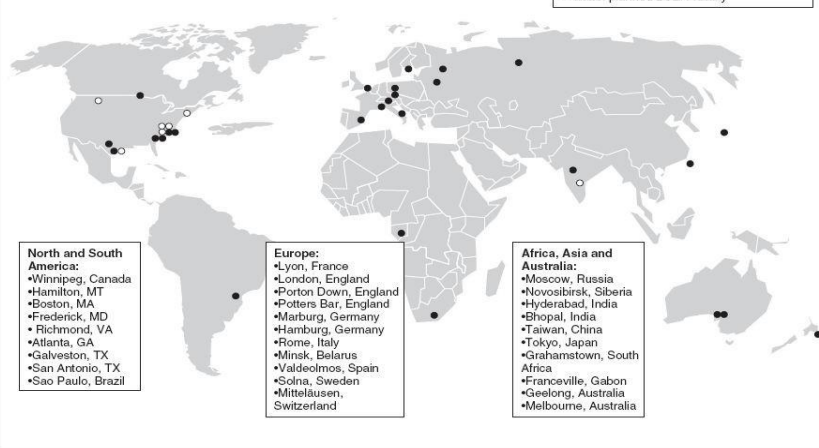


Table 1. European Network of Biosafety-Level-4 Laboratories: Facilities for diagnostics and research operating in the EU.

Country	Organization
France	Laboratoire P4 Jean Merieux, Inserm, Lyon
Germany	Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, Hamburg
Germany	Philipps Universität Marburg, Marburg
United Kingdom	Health Protection Agency-Centre for Infections (Cfi), London
United Kingdom	Centre for Emergency Preparedness and Response, Porton Down
Sweden	Swedish Institute for Communicable Disease Control, Solna, Stockholm
Italy	National Institute for Infectious Diseases IRCCS "L. Spallanzani," Rome
Hungary	National Center for Epidemiology, Budapest

doi:10.1371/journal.ppat.1003105.t001

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS PATHOGENS

Opinion

Biosafety Level-4 Laboratories in Europe: Opportunities for Public Health, Diagnostics, and Research

Carla Nisi¹, Concetta Castilletti¹, Hervé Raoul², Roger Hewson³, David Brown⁴, Robin Gopal⁵, Markus Eickmann⁶, Stephan Günther⁷, Mirza Ali⁸, Zoltan Koltay⁹, Heinz Feldmann¹⁰, Antonino D. Caro¹¹, Maria R. Capobianchi¹², Giuseppe Ippolito¹³

¹ "L. Spallanzani" National Institute for Infectious Diseases, Rome, Italy, ² French National Institute for Health and Medical Research, Lyon, France, ³ Health Protection Agency, Salisbury, United Kingdom, ⁴ Health Protection Agency, London, United Kingdom, ⁵ University of Marburg, Marburg, Germany, ⁶ Bernhard Nocht Institute of Tropical Medicine, Hamburg, Germany, ⁷ Swedish Institute for Communicable Disease Control, Solna, Sweden, ⁸ Division of Intramural Research (DIR), National Institutes of Health (NIH), Bethesda, Maryland, United States of America, ⁹ National Institute for Allergy and Infectious Diseases (NIAID), National Institutes of Health (NIH) Rocky Mountain Laboratories, Hamilton, Montana, United States of America

Qualità e
sicurezza



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



INTERIM GUIDELINE

Laboratory diagnosis of Ebola virus disease

19 September 2014

WEST AFRICA Field laboratory



BIORISK GROUP 4

Filoviruses are highly infectious agents and strict precautions must be applied when handling specimens for diagnosis. Laboratory tests on the non-inactivated virus present an extreme biological risk^{iii,iv}. Proper precautions and engineering control (i.e. facility and equipment) must be observed at all times, in accordance with the issues identified in the risk assessment for each procedure.

Biosafety recommendations for laboratories conducting diagnostic testing for EVD with appropriate biosafety BSL3/BSL4 facilities

- Virus isolation should be done only in a maximum containment BSL4 laboratory. Ensure safe and secure handling and storage of the virus isolates and other specimens from accidental or deliberate release.
- The inactivation of specimens, depending on the detection protocol used, should be performed under BSL3 conditions.
- For non-inactivated samples, RT PCR and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) testing can be performed at a BSL3 laboratory.
- If samples have been inactivated (i.e. cell lysis) RT PCR and ELISA testing can be performed at a BSL2 laboratory.

Biosafety recommendations for laboratories conducting diagnostic testing for EVD without appropriate BSL3/BSL4 facilities

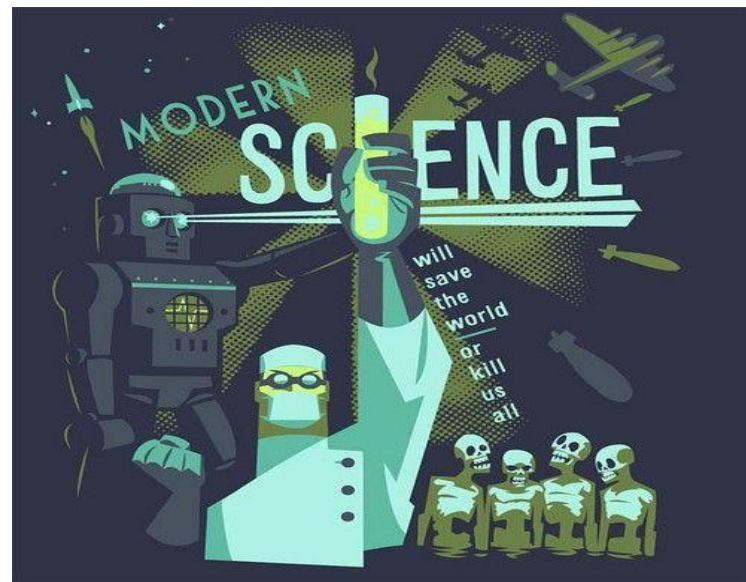
- Specimens for either PCR or ELISA testing should be processed inside a Class III biosafety cabinet (glovebox) with current certification in a separate laboratory area.
- Following inactivation, specimens can be removed from the glovebox and all other procedures performed under BSL2 conditions.
- Use appropriate Personal Protective Equipment (PPE) when handling the specimens before inactivation: gloves, fit-tested masks such as N95 Respirators and Filtering Face Piece (FFP) 3, Powered Air Purifying Respirators (PAPR) if fit-testing fails, full face shields, and disposable impermeable gowns.

Note: All liquid and solid wastes should be treated with care and undergo proper decontamination. Specimen containers and laboratory surfaces should be appropriately decontaminated.

ALTRE CLASSIFICAZIONI DEGLI AGENTI BIOLOGICI

Oltre alla classificazione che tiene in considerazione la pericolosità degli agenti patogeni *in un ambiente controllato, quali sono i laboratori*, esistono altre classificazioni, e tra queste le più importanti sono:

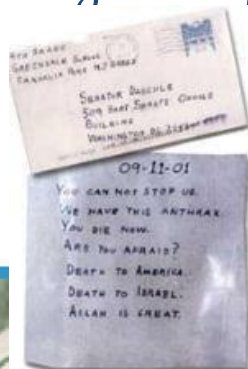
- ✓ classificazione ai fini bioterroristici
- ✓ classificazione ai fini del trasporto



Classificazione agenti biologici per **BIOTERRORISMO/biowar**

E' mirata al possibile utilizzo dei microrganismi come armi da guerra, e tiene conto, oltre che della loro pericolosità, della possibilità di poterli trasformare "in arma" (es. resistenza ambientale, diffusibilità e trasmissione, assenza di sistemi di difesa, etc.):

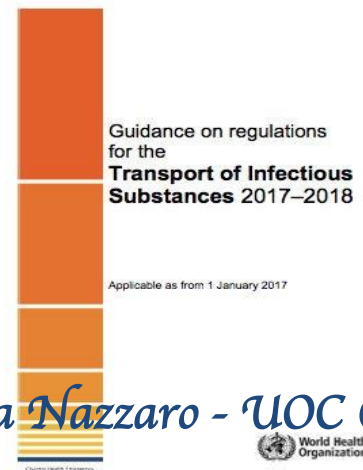
- **CLASSE A:** agenti in grado di causare morti e malattie di vaste proporzioni, di essere facilmente diffusi o trasmessi da persona a persona e che richiedono speciali azioni di sanità pubblica; (Febbri emorragiche virali, *Bacillus anthracis*, *Clostridium Botulinum*)
- **CLASSE B:** agenti con moderate caratteristiche di diffusibilità e rates di mortalità e morbilità; (*Coxiella burnetii*, *Vibrio cholera*)
- **CLASSE C:** patogeni emergenti che possono rappresentare minacce future.



-salute del personale ad esso addetto in caso di incidenti che causino il rilascio degli agenti;

-pericolosità degli agenti anche in base alla loro resistenza ambientale e alle quantità presenti.

Le diverse direttive, emanate a livello internazionale, sono predisposte sulla base delle Raccomandazioni del Comitato di Esperti delle Nazioni Unite (UN) per il trasporto di merci pericolose, e ne regolamentano il trasporto secondo le diverse modalità: per via aerea (IATA), via terrestre su strada (ADR), via ferroviaria (RID) e via mare (IMDGcode).





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



The WHO's Laboratory Biosafety Manual
states that:

*"no biosafety cabinet or other facility or procedure
alone guarantees safety unless the users operate safe
techniques based on informed understanding"*

*"La sicurezza in laboratorio non può essere realizzata
semplicemente con una serie di istruzioni, ma deriva da
un'attitudine mentale a metterla costantemente in pratica sia
da parte di chi opera nel laboratorio sia da chi ne ha la
supervisione e la responsabilità"*



Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

GRAZIE PER L'ATTENZIONE



Clara Nazzaro - UOC Qualità e
sicurezza