

# Rischio biologico 2

Rischio microbiologico  
Livelli di Biosicurezza  
Gestione zoonosi

Cristina E. Di Francesco  
Unità di Ricerca di Malattie Infettive  
degli animali domestici  
Facoltà di Medicina Veterinaria

# Definizioni Art. 267 - D. Lgs.vo n. 81/2008:

- agente biologico: qualsiasi microrganismo anche se geneticamente modificato, coltura cellulare ed endoparassita umano **che potrebbe provocare infezioni, allergie o intossicazioni**
- microrganismo: qualsiasi entità microbiologica, cellulare o meno, in grado di riprodursi o trasferire materiale genetico
- coltura cellulare: il risultato della crescita *in vitro* di cellule derivate da organismi pluricellulari.

# CARATTERISTICHE DEI PATOGENI

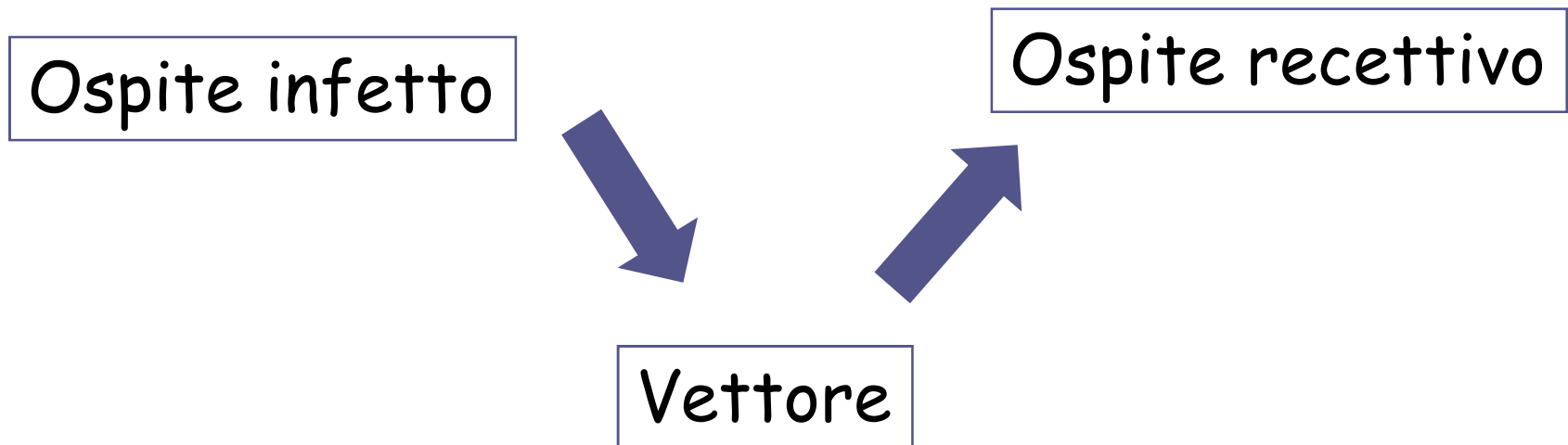
- **INFETTIVITÀ**
  - Intesa come la capacità di un microorganismo di penetrare e moltiplicarsi nell'ospite
  - quantità di patogeno indispensabile per iniziare un'infezione
- **PATOGENICITÀ**
  - capacità di indurre la malattia
- **VIRULENZA**
  - gravità della malattia indotta dai diversi ceppi influisce sulla trasmissione e può variare
- **RESISTENZA**
  - tempo che un patogeno può trascorrere all'esterno dell'organismo ospite

# TRASMISSIONE DEI PATOGENI

DIRETTA



INDIRETTA



# Classificazione Art. 268 - D. Lgs.vo n. 81/2008 :

- a) **agente biologico del gruppo 1**: un agente che presenta poche probabilità di causare malattie in soggetti umani;
- b) **agente biologico del gruppo 2**: un agente che può causare malattie in soggetti umani e costituire un rischio per i lavoratori; é poco probabile che si propaga nella comunità; sono di norma disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche;
- c) **agente biologico del gruppo 3**: un agente che può causare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori; l'agente biologico può propagarsi nella comunità, ma di norma sono disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche;
- d) **agente biologico del gruppo 4**: un agente biologico che può provocare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori e può presentare un elevato rischio di propagazione nella comunità; non sono disponibili, di norma, efficaci misure profilattiche o terapeutiche.

## BATTERI e organismi simili

Per gli agenti che figurano nel presente elenco la menzione « spp » si riferisce all'intero gruppo di specie che si trova in natura e che può essere dannoso per l'uomo.

Agente biologico	Classificazione
Actinobacillus actinomycetemcomitans	2
Actinomadura madurae	2
Actinomadura pelletieri	2
Actinomyces gerenceseriae	2
Actinomyces israelii	2
Actinomyces pyogenes	2
Actinomyces spp	2
Arcanobacterium haemolyticum (Corynebacterium haemolyticum)	2
Bacillus anthracis	3
Bacteroides fragilis	2
Bartonella bacilliformis	2
Bartonella (Rochalimea) spp	2
Bartonella quintana (Rochalimea quintana)	2
Bordetella bronchiseptica	2
Bordetella parapertussis	2
Bordetella pertussis	2
Borrelia burgdorferi	2
Borrelia duttonii	2
Borrelia recurrentis	2
Borrelia spp	2
Brucella abortus	3
Brucella canis	3
Brucella melitensis	3
Brucella suis	3
Burkholderia mallei (pseudomonas mallei)	3
Burkholderia pseudomallei (pseudomonas pseudomallei)	3
Campylobacter fetus	2
Campylobacter jejuni	2
Campylobacter spp	2
Cardiobacterium hominis	2
Chlamydia pneumoniae	2
Chlamydia trachomatis	2
Chlamydia psittaci (ceppi aviari)	3
Chlamydia psittaci (ceppi non aviari)	2
Clostridium botulinum	2
Clostridium perfringens	2
Clostridium tetani	2
Clostridium spp.	2

Escherichia coli, ceppi verocitotossigenici (es. O157:H7 oppure O103)	3(**)
Flavobacterium meningosepticum	2
Fluoribacter bozemanii (Legionella)	2
Francisella tularensia (Tipo A)	3
Francisella tularensis (Tipo B)	2
Fusobacterium necrophorum	2
Gardnerella vaginalis	2
Haemophilus ducreyi	2
Haemophilus influenzae	2
Haemophilus spp	2
Helicobacter pylori	2
Klebsiella oxytoca	2
Klebsiella pneumoniae	2
Klebsiella spp	2
Legionella pneumophila	2
Legionella spp	2
Leptospira interrogans (tutti i sierotipi)	2
Listeria monocytogenes	2
Listeria ivanovii	2
Morganella morganii	2
Mycobacterium africanum	3
Mycobacterium avium/intracellulare	2
Mycobacterium bovis (ad eccezione del ceppo BCG)	3
Mycobacterium chelonae	2
Mycobacterium fortuitum	2
Mycobacterium kansasii	2
Mycobacterium leprae	3
Mycobacterium mageritense	2
Mycobacterium marinum	2
Mycobacterium microti	3 (**)
Mycobacterium paratuberculosis	2
Mycobacterium scrofulaceum	2
Mycobacterium simiae	2
Mycobacterium szulgai	2
Mycobacterium tuberculosis	3
Mycobacterium ulcerans	3 (**)
Mycobacterium xenopi	2
Mycoplasma caviae	2
Mycoplasma hominis	2
Mycoplasma pneumoniae	2
Neisseria gonorrhoeae	2
Neisseria meningitidis	2
Nocardia asteroides	2
Nocardia brasiliensis	2
Nocardia farcinica	2
Nocardia nova	2
Nocardia otitidiscaviarum	2
Pasteurella multocida	2
Pasteurella spp	2



Rhodococcus equi	2	Herpesvirus varicella-zoster	2
Rickettsia akari	3(**)	Virus Herpes dell'uomo tipo 7	2
Rickettsia canada	3(**)	Virus Herpes dell'uomo tipo 8	2
Rickettsia conorii	3	Virus linfotropo B dell'uomo (HBLV-HHV6)	2
Rickettsia montana	3(**)	Orthomyxoviridae:	
Rickettsia typhi (Rickettsia mooseri)	3	Virus Influenzale tipi A, B e C	2
Rickettsia prowazekii	3	Orthomyxoviridae trasmesse dalle zecche: Virus Dhori e Thogoto	2
Rickettsia rickettsii	3	Papovaviridae:	
Rickettsia tsutsugamushi	3	Virus BK e JC	2
Rickettsia spp	2	Papillomavirus dell'uomo	2
Salmonella arizonae	2	Paramyxoviridae:	
Salmonella enteritidis	2	Virus del morbillo	2
Salmonella typhimurium	2	Virus della parotite	2
Salmonella paratyphi A, B, C	2	Virus della malattia di Newcastle	2
Salmonella typhi	3(**)	Virus parainfluenzali tipi 1-4	2
Salmonella (altre varietà sierologiche)	2	Virus respiratorio sinciziale	2
Serpulina spp	2	Parvoviridae:	
Shigella boydii	2	Parvovirus dell'uomo (B 19)	2
Shigella dysenteriae (Tipo 1)	3(**)	Picornaviridae:	
Shigella dysenteriae, diverso dal Tipo 1	2	Virus della congiuntivite emorragica (AHC)	2
Shigella flexneri	2	Virus Coxackie	2
Shigella sonnei	2	Virus Echo	2
Staphylococcus aureus	2	Virus dell'epatite A (enterovirus dell'uomo 72)	2
Streptobacillus moniliformis	2	Virus della poliomielite	2
Streptococcus pneumoniae	2	Rhinovirus	2
Streptococcus pyogenes	2	Poxviridae:	
Streptococcus spp	2	Buffalopox virus (e)	2
Streptococcus suis	2	Cowpox virus	2
Treponema carateum	2	Elephantpox virus (f)	2
Treponema pallidum	2	Virus del nodulo dei mungitori	2
Treponema pertenue	2	Molluscum contagiosum virus	2
Treponema spp	2	Monkeypox virus	3
Vibrio cholerae (incluso El Tor)	2	Orf virus	2
Vibrio parahaemolyticus	2	Rabbitpox virus (g)	2
Vibrio spp	2	Vaccinia virus	2
Yersinia enterocolitica	2	Variola (mayor & minor) virus	4
Yersinia pestis	3	Whitepox virus (variola virus)	4
Yersinia pseudotuberculosis	2	Yatapox virus (Tana & Yaba)	2
Yersinia spp	2	Reoviridae:	
		Coltivirus	2
		Rotavirus umano	2
		Orbivirus	2
		Reovirus	2
		Retroviridae:	
		Virus della sindrome di immunodeficienza umana (AIDS)	3(*)
		Virus di leucemie umane a cellule T (HTLV) tipi 1 e 2	3(*)
		SIV (h)	3(*)

Hantaan (febbre emorragica coreana)	3	Echinococcus granulosus	3(**)
Belgrado (noto anche come Dobrava)	3	Echinococcus multilocularis	3(**)
Seoul-Virus	3	Echinococcus vogeli	3(**)
Sin Nombre (ex Muerto Canyon)	3	Entamoeba histolytica	2
Puumala-Virus	2	<i>Fasciola gigantica</i>	2
Prospect Hill-Virus	2	<i>Fasciola hepatica</i>	2
Altri Hantavirus	2	<i>Fasciolopsis buski</i>	2
Nairovirus:		Giardia lamblia (Giardia intestinalis)	2
Virus della febbre emorragica di Crimea/Congo	4	Hymenolepis diminuta	2
Virus Hazara	2	Hymenolepis nana	2
Phlebovirus:		Leishmania brasiliensis	3(**)
Febbre della Valle del Rift	3	Leishmania donovani	3(**)
Febbre da Flebotomi	2	Leishmania aethiopica	2
Virus Toscana	2	Leishmania mexicana	2
Altri bunyavirus noti come patogeni	2	Leishmania peruviana	2
Caliciviridae:		Leishmania tropica	2
Virus dell'epatite E	3(**)	Leishmania major	2
Norwalk-Virus	2	Leishmania spp	2
Altri Caliciviridae	2	Loa Loa	2
Coronaviridae	2	Mansonella ozzardi	2
Filoviridae:		Mansonella perstans	2
Virus Ebola	4	Naegleria fowleri	3
Virus di Marburg	4	Necator americanus	2
Flaviviridae:		Onchocerca volvulus	2
Encefalite d'Australia (Encefalite della Valle Murray)	3	Opisthorchis felineus	2
Virus dell'encefalite da zecca dell'Europa Centrale	3(**)	Opisthorchis spp	2
Absettarov	3	Paragonimus westermani	2
Hanzalova	3	Plasmodium falciparum	3(**)
Hypr	3	Plasmodium spp (uomo & scimmia)	2
Kumlinge	3	Sarcocystis sui hominis	2
Virus della dengue tipi 1-4	3	Schistosoma haematobium	2
Virus dell'epatite C	3(**)	Schistosoma intercalatum	2
Virus dell'epatite G	3(**)	Schistosoma japonicum	2
Encefalite B giapponese	3	Schistosoma mansoni	2
Foresta di Kyasanur	3	Shistosoma mekongi	2
Louping ill	3(**)	Strongyloides stercoralis	2
Omsk (a)	3	Strongyloides spp	2
Powassan	3	Taenia saginata	2
Rocio	3	Taenia solium	3(**)
Encefalite verno-estiva russa (a)	3	Toxocara canis	2
Encefalite di St. Louis	3	Toxoplasma gondii	2
Virus Wesselsbron	3(**)	Trichinella spiralis	2
Virus della Valle del Nilo	3	Trichuris trichiura	2
Febbre gialla	3	Trypanosoma brucei brucei	2
Altri flavivirus noti per essere patogeni	2	Trypanosoma brucei gambiense	2
Hepadnaviridae:		Trypanosoma brucei rhodesiense	3(**)
Virus dell'epatite B	3(**)	Trypanosoma cruzi	3
Virus dell'epatite D (Delta) (b)	3(**)	Wuchereria bancrofti	2



# RISCHIO BIOLOGICO E ZONOSI

- Qualsiasi infezione o malattia che può essere naturalmente trasmessa dagli animali vertebrati all'uomo e viceversa (OMS)
- > 200 zoonosi:
  - **Batteri**: Salmonellosi; Campylobatteriosi; Antrace; Brucellosi; E. coli, Leptosirosi; Febbre Q; Clamidiosi; Shigellosi; Tularemia
  - **Virus**: Rabbia, Influenza aviaria, West Nile, Ebola, Rift Valley Fever
  - **Funghi**: Dermatofitosi; Sporotrichosi
  - **Parassiti**: Echinococcosi; Toxoplasmosi; Trichinellosi; Cisticercosi
  - **Agenti non convenzionali**: TSE

# Livelli di biosicurezza in laboratorio

- Biosafety Level 1 (BSL 1)
- Biosafety Level 2 (BSL 2)
- Biosafety Level 3 (BSL 3)
- Biosafety Level 4 (BSL 4)

The concept of developing such laboratories resides within the principles of biosafety and biosecurity. Biosafety is achieved by implementing various degrees of laboratory control and containment, through laboratory design and access restrictions, professional expertise and training, use of containment equipment, and safe methods of managing infectious materials in a laboratory setting. On the other hand, biosecurity involves "securing" or limiting access to the facilities, research materials and information.

The lowest level, biosafety level 1 (BSL-1) laboratory is essentially a teaching laboratory that may include research involving well-characterized agents not known to consistently cause any disease in immunocompetent adult humans, and pose minimal potential hazard to laboratory personnel and the environment. Work can be performed on open-bench with good laboratory practices, aseptic techniques, and proper waste disposal; no containment facility is required.

Biosafety level 2 (BSL-2) laboratory involves working with agents that pose moderate hazards to personnel and the environment. Basic laboratory with restricted access and containment during certain processes (*i.e.* aerosols, large volumes, *etc.*) is required. Use of autoclaves and biological safety cabinets is desired. Use of good laboratory practices, safe waste disposal measures, and aseptic techniques are mandatory. Usually non-respiratory, non-lethal agents are handled in BSL-2 laboratory.

Biosafety level 3 (BSL-3) is applicable to clinical, diagnostic, teaching, research, or production facilities where work is performed with agents that may cause serious or potentially lethal disease through inhalation, to the personnel, and may contaminate the environment. It requires that laboratory personnel receives specific training in handling pathogenic and potentially lethal agents, and be supervised by scientists competent in handling infectious agents and associated procedures. All work is performed in biocontained environments using appropriate engineering controls.

Biosafety level 4 (BSL-4), the highest level, is required for working with dangerous and exotic infectious agents that pose a high individual as well as environment risk of life-threatening disease, aerosol transmission, or a related agent with unknown risk of transmission. Laboratory personnel receive specific training in handling pathogenic and potentially lethal agents, and have to mandatorily work wearing positive pressure BSL-4 suits. As per the guidelines of the Ministry of Environment & Forests, India, various animal pathogens and plant pests are classified and defined in G.S.R. 1037(E) conferred by sections 6, 8 and 25 of the Environment (Protection) Act, 1986 (29 of 1986) with a view to protect the environment, nature and health, in connection with the application of gene-technology and microorganisms<sup>4</sup>. Some of the high risk group pathogens are listed in the [Table<sup>5</sup>](#).

# BSL 1 e 2

## Agenti biologici gruppo 1 e 2

- Simbolo internazionale di rischio biologico
- Accesso autorizzato
- Porte chiuse
- No animali
- Camici, uniformi, guanti
- Lavarsi le mani
- Occhiali, schermi
- No scarpe aperte
- No cibo, fumo



# BSL 1 e 2

## Agenti biologici gruppo 1 e 2

- No aspirare-ingerire
- Ridurre aerosol
- Limitare aghi e siringhe
- Segnalare versamenti accidentali
- Decontaminare liquidi
- Smaltire rifiuti
- Ordine e pulizia superfici
- Decontaminare superfici
- Decontaminare materiale, campioni, colture



Only authorized  
personel



No animals  
allowed



Do no use  
mobile phone



No food or drink



No smoking



Use protective  
gloves



Wash hands

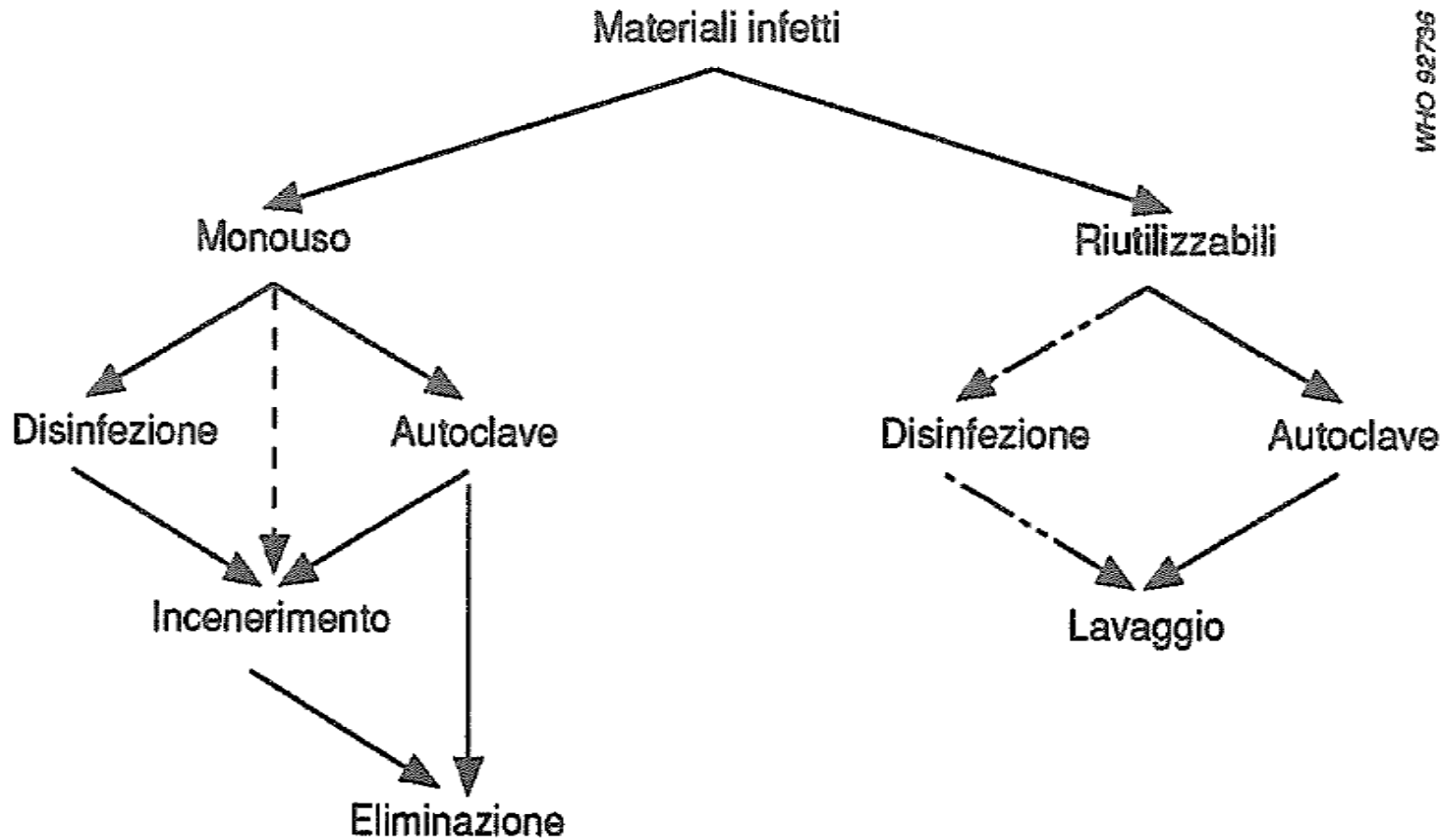


Use protective  
clothing



# Decontaminazione materiale infetto

WHO 92736



# BSL 1 e 2 Agenti biologici gruppo 1 e 2



- Personale istruito sulla biosicurezza
- Formazione sui rischi specifici
- Sorveglianza sanitaria periodica
- Immunizzazione

# BSL 1 e 2

## Attrezzature di sicurezza

- Pipettatori automatici
- Anse monouso
- Provette contenitori tappo a vite
- Autoclavi
- Cappe di biosicurezza (BSC)

# BSL 3 Agenti biologici gruppo 2 e 3

- **Simbolo internazionale di rischio biologico con indicazione del livello**
- Accesso autorizzato
- Porte chiuse
- No animali
- **Camici senza aperture, uniformi, guanti, copricapo e calzari**
- Lavarsi le mani
- Occhiali, schermi
- No scarpe aperte
- No cibo, fumo



# BSL 3 Agenti biologici gruppo 2 e 3

- Manipolazione materiale biologico sotto cappa di sicurezza (II e III)
- Protezione respiratoria
- Laboratorio separato
- Porte a chiusura automatica
- Finestre chiuse
- Impianto di aerazione in pressione negativa
- Scarichi aria con filtri
- Disinfezione periodica filtri
- Sorveglianza sanitaria obbligatoria



# BSL 4

## Massimo contenimento

- Regola delle due persone
- Cambio completo abiti e scarpe in entrata e uscita
- Edificio separato
- Aerazione a pressione negativa
- Decontaminazione scarichi
- Cappe biosicurezza III in stanza separata e spogliatoio in entrata e uscita
- Tuta a tenuta pressurizzata
- Percorso di entrata (vestizione e doccia)
- Percorso di uscita con due docce separate (tuta e operatore)

Misure di contenimento	Livelli di contenimento		
	1	2	3
Zona di lavoro separata da altre attività	No	Raccomandato	Si
Filtro (HEPA) o simile su aria	No	Si, aria estratta	Si, aria immessa/estratta
Accesso limitato	Raccomandato	Si	Si attraverso camera di compensazione
La zona di lavoro deve poter essere chiusa a tenuta per consentire la disinfezione	No	Raccomandato	Si
Specifiche procedure di disinfezione	Si	Si	Si
Pressione negativa zona di lavoro	No	Raccomandato	Si
Controllo efficace dei vettori, ad esempio, roditori ed insetti	Raccomandato	Si	Si

Misure di contenimento	Livelli di contenimento		
	1	2	3
Superfici idrorepellenti e di facile pulitura	Si, banco di lavoro	Si, banco di lavoro e pavimento	Si, banco di lavoro, arredo, muri, pavimento e soffitto
Deposito sicuro per agenti biologici	Si	Si	Si
Finestra d'ispezione	Raccomandato	Raccomandato	Si
I laboratori devono contenere l'attrezzatura a loro necessaria	No	Raccomandato	Si
Cabine di sicurezza, isolatori o altri contenitori per materiali infetti	Ove opportuno	Si, quando l'infezione è veicolata dall'aria	Si
Inceneritori per carcasse	Raccomandato	Si (disponibile)	Si (sul posto)
Tattamento dei rifiuti	Si	Si	Si con sterilizzazione
Tattamento delle acque reflue	No	Facoltativo	Facoltativo

# Trasporto materiale infettivo - Protezione del personale

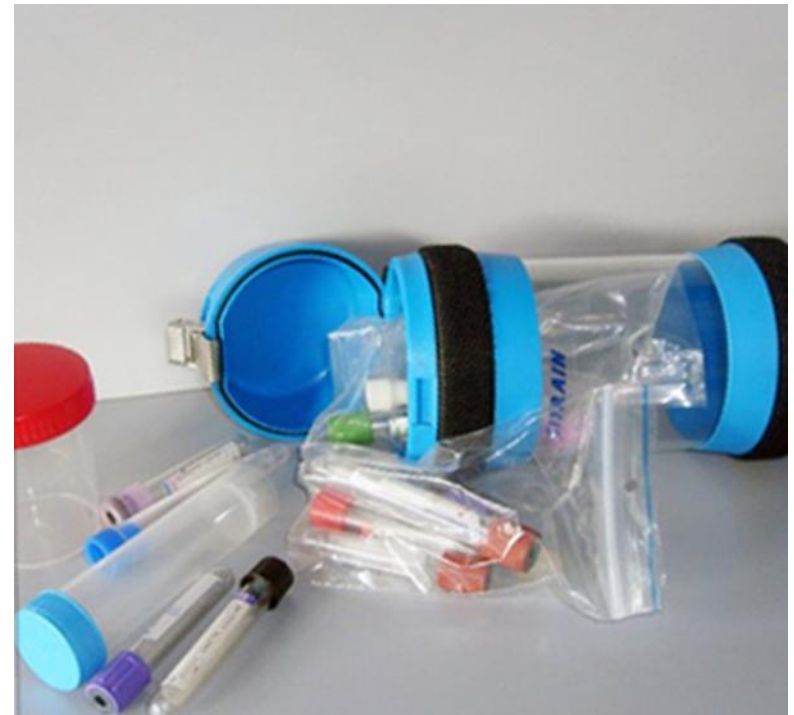
- COSA NON FARE

Portare il campione in un  
bicchiere

Portare il campione in mano

Portare il campione in un  
guanto

Portare il campione su un  
portaprovette o un vassoio



# Corretto confezionamento campioni

- Tre involucri/contenitori
  1. Contenitore del campione
  2. Contenitore secondario
  3. Confezione esterna





# Contenitore del campione

- A tenuta
- Impermeabile
- Identificato
- Avvolto in materiale assorbente
- Inserito nel contenitore secondario



# Contenitore secondario

- Può contenere più campioni
- Contiene tutte le informazioni del campione
  - Tipo campione
  - Destinatario
  - Mittente

# Contenitore esterno

- Protegge da acqua e danni fisici
- Simbolo di sostanza infettiva
- Ditta produttrice
- Stato di provenienza
- Etichetta con tutte le informazioni
  - Destinatario
  - Mittente