Rischio biologico in microbiologia

Prevenzione, valutazione e gestione dei campioni in laboratorio

Riconoscere il rischio e scegliere misure adeguate fa parte del lavoro diagnostico.



Che cosa intendiamo per rischio biologico?

Pericolo e rischio descrivono aspetti diversi dell’esposizione.

Agente biologico

Microrganismo, coltura cellulare o endoparassita umano che può causare infezione, allergia o tossicità.

Pericolo

Capacità intrinseca dell’agente di causare un effetto avverso.

Rischio

Probabilità e conseguenze dell’esposizione nelle condizioni concrete di lavoro.

Dall’agente all’esposizione

La sequenza aiuta a capire dove intervenire.

- Sorgente: paziente, animale, coltura, materiale biologico o ambiente contaminato.
- Via: inalazione di aerosol, contatto con mucose o cute non integra, inoculo o ingestione involontaria.
- Ospite: suscettibilità individuale, stato immunitario e possibilità di profilassi o terapia.

La prevenzione interrompe la catena riducendo la probabilità o le conseguenze dell’esposizione.

Sorgente e via di esposizione

Il rischio può essere presente anche prima di identificare l’agente.

Sorgenti in laboratorio

Campioni clinici, colture, controlli, superfici, attrezzature e rifiuti contaminati.

Procedure a rischio

Apertura di contenitori, centrifugazione, pipettaggio, schizzi, taglienti e gestione di sversamenti.

Che cosa modifica il rischio?

La valutazione riguarda il compito reale, non solo il nome dell’agente.

Agente e campione

Patogenicità, quantità, concentrazione, matrice e informazioni cliniche disponibili.

Procedura

Aerosol, schizzi, volumi, contenitori aperti, taglienti e passaggi ripetuti.

Persone e ambiente

Competenze, immunizzazione ove indicata, attrezzature, locali e misure disponibili.

Virus e batteri: meccanismi di danno

I meccanismi variano tra agenti e non vanno generalizzati.

Virus

La replicazione può alterare le funzioni cellulari; la risposta immunitaria limita l'infezione, ma può contribuire al danno tissutale.

Batteri

Adesione, invasione, evasione immunitaria e tossine possono concorrere alla malattia.

Gruppi di rischio degli agenti

La classificazione descrive il rischio d’infezione associato all’agente.

Gruppo 2

Può causare malattia e costituire un rischio per i lavoratori; la diffusione è poco probabile; di norma esistono misure efficaci.

Gruppo 3

Può causare malattia grave e serio rischio per i lavoratori; è possibile la diffusione; di norma esistono misure efficaci.

Gruppo 4

Può causare malattia grave e serio rischio per i lavoratori; può comportare elevata diffusione; di norma non esistono misure efficaci.

Biosafety Levels 1-4

Risk Group

"Highly Hazardous"

The highest and most complex biohazard level, characterized by high transmission via aerosol, making the pathogens more dangerous for the laboratory workforce and the surrounding community.

"Serious Hazards"

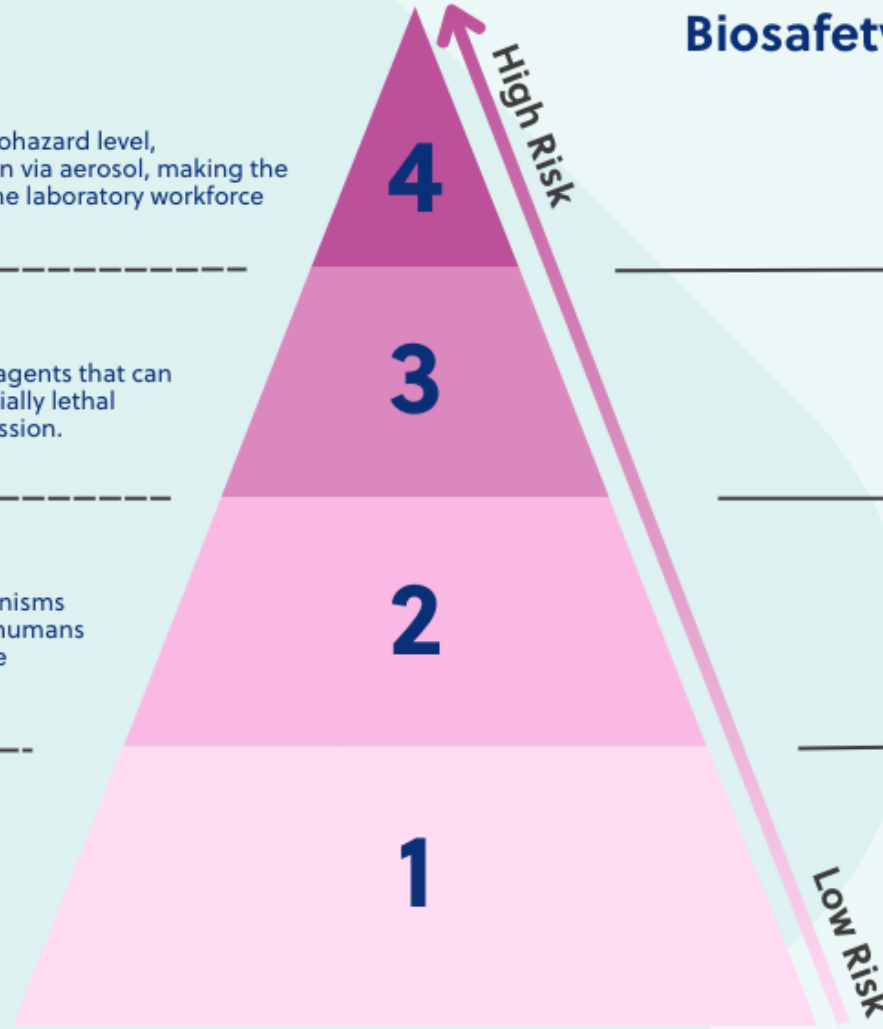
Involves the control of infectious agents that can cause serious hazards and potentially lethal conditions via respiratory transmission.

"Moderate Hazards"

Designed for handling microorganisms presenting moderate hazards to humans which are unlikely to spread in the community.

"Minimal Hazards"

Suitable for handling low-risk microorganisms that pose a minimal threat to human health.



Biosafety Level

BSL-4

BSL-3

BSL-2

BSL-1

Germfree

via NIH National Institutes of Health
Turning Discovery Into Health

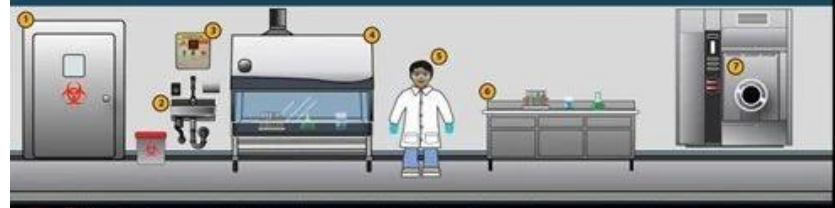
4 BIOSAFETY LAB LEVELS

BSL1



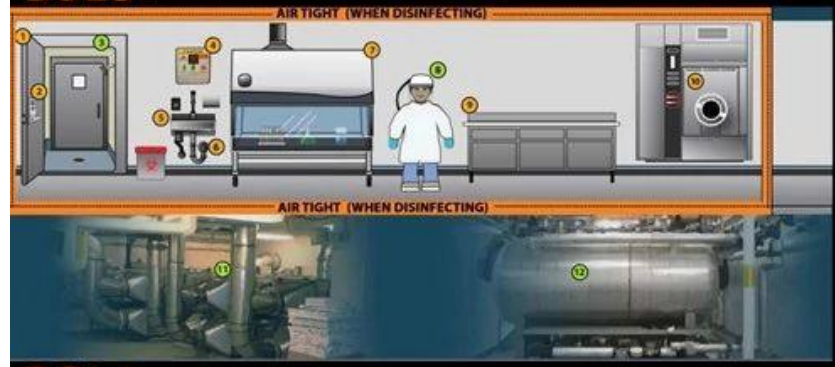
BSL1
- controlled access
- hand washing sink
- sharp hazards warning policy
- personal protective equipment
- laboratory bench
- autoclave

BSL2



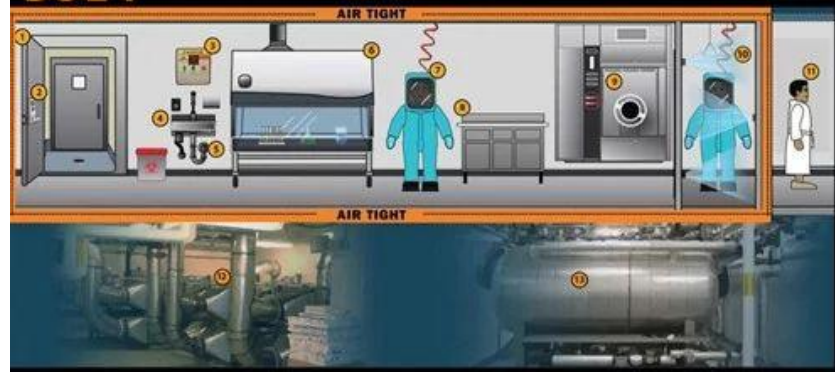
BSL2
- controlled access
- hand washing sink
- sharp hazards warning policy
- physical containment device
- personal protective equipment
- laboratory bench
- autoclave

BSL3 (WITH RISK-BASED ENHANCEMENTS)



BSL3
- self-closing double-door access
- controlled access
- personal shower out
- sharp hazards warning policy
- hand washing sink
- sealed penetrations
- physical containment device
- powered air purifying respirator
- laboratory bench
- autoclave
- exhaust HEPA filter
- effluent decontamination system

BSL4



BSL4
- self-closing double-door access
- controlled access
- sharp hazards warning policy
- hand washing sink
- sealed penetrations
- physical containment device
- positive pressure protective suit
- laboratory bench
- autoclave
- chemical shower out
- personal shower out
- supply and exhaust HEPA filters
- effluent decontamination system

Required safety equipment Risk-based enhancements

www.cdc.gov/24-7

Dispositivi di protezione individuale (DPI)

La scelta dipende da agente, campione, procedura e possibilità di esposizione.

CAMICE

Protegge cute e indumenti da schizzi e contaminazione. Scegliere copertura e resistenza ai liquidi in base alla procedura.

GUANTI

Barriera per il contatto; non sostituiscono l'igiene delle mani. mani. Cambiarli quando contaminati o danneggiati.

OCCHI E VISO

Occhiali protettivi e visiera per spruzzi; la visiera non sostituisce una sostituisce una protezione respiratoria.

VIE RESPIRATORIE

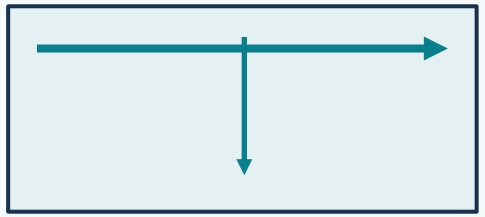
Mascherina chirurgica e respiratore filtrante hanno funzioni diverse; diverse; scegliere secondo rischio di aerosol e procedure.

MESSAGGIO CHIAVE **DPI + misure tecniche e organizzative: i DPI sono l'ultima barriera, non l'unica.**

Flusso laminare e cabine di sicurezza biologica

La direzione del flusso d' aria determina che cosa viene protetto.

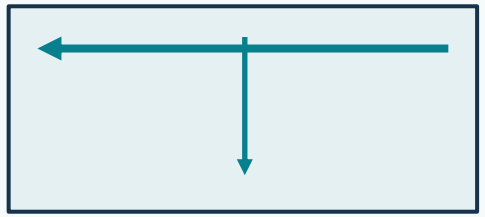
Cappa a flusso laminare (clean bench)



ARIA FILTRATA → CAMPIONE

Protegge il prodotto, NON l'operatore e NON l'ambiente. Non usare per manipolare agenti infettivi.

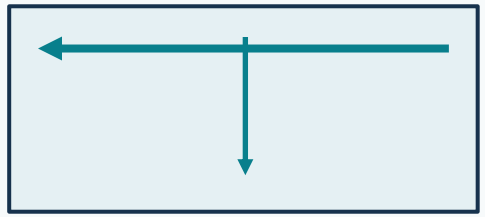
BSC classe I



ARIA AMBIENTE → INTERNO

Protegge operatore e ambiente; non garantisce garantisce protezione del prodotto.

BSC classe II



FLUSSO IN ENTRATA + HEPA

Protegge operatore, ambiente e installata, verificata e usata

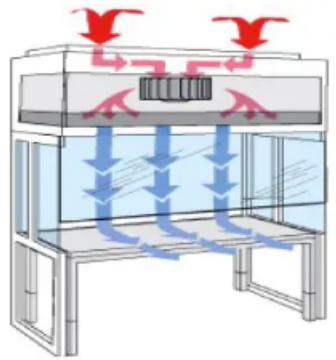
BSC classe III: sistema completamente chiuso, con manipolazione mediante guanti integrati e protezione elevata.

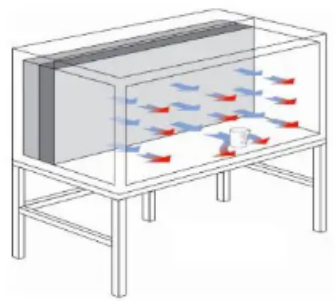
Funzionamento

All’interno della cappa, l’aria ambiente viene aspirata, filtrata tramite filtri HEPA (High Efficiency Particulate Air) e reimmessa nell’area di lavoro in modo laminare, ovvero con un flusso regolare e senza turbolenze. Questo flusso continuo di aria sterile evita che particelle presenti nell’aria possano depositarsi sui campioni.

Protezione offerta

- ✅ Protezione del prodotto.
- ❌ Nessuna protezione per l’operatore.
- ❌ Nessuna protezione per l’ambiente.





Tipologie di cappe a flusso laminare

Flusso orizzontale

L’aria filtrata viene spinta orizzontalmente verso l’operatore. Questa configurazione garantisce una protezione ottimale del campione, ma espone direttamente l’operatore al flusso, rendendola inadatta per manipolazioni di materiali pericolosi.

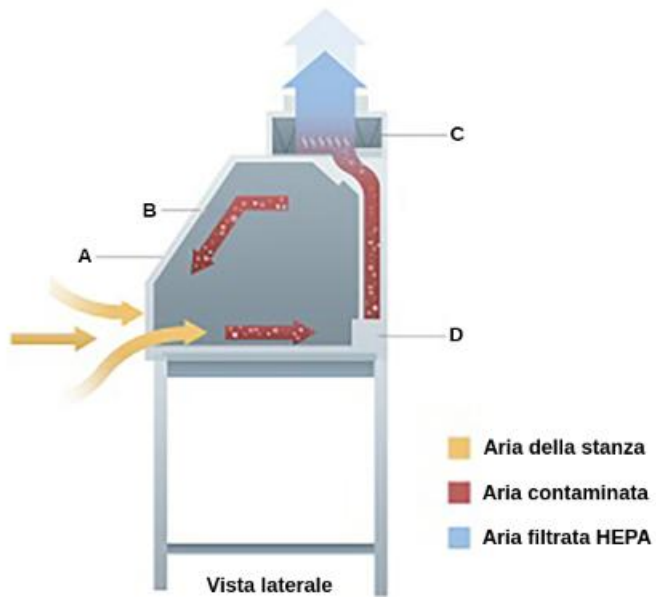
Protezione offerta

- ✅ Protezione del prodotto.
- ✅ Protezione dell'operatore.
- ✅ Protezione dell'ambiente.

Classificazioni delle cappe di sicurezza biologica (secondo standard EN 12469 e NSF/ANSI 49)

Classe I

- Protezione dell'operatore e dell'ambiente.
- Nessuna protezione per il prodotto.
- Aria aspirata direttamente dalla stanza, espulsa filtrata HEPA.
- Utilizzata per manipolazioni che non richiedono ambiente sterile ma con agenti potenzialmente pericolosi.



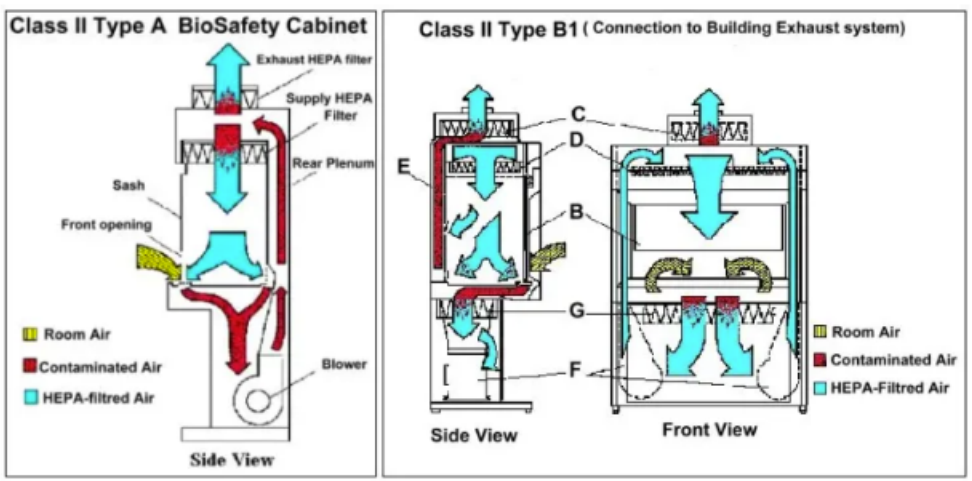
Vista laterale

Classe II

Protezione completa per prodotto, operatore e ambiente.

Tipologie:

- **Tipo A1:** Ricircolo parziale, espulsione in laboratorio.
- **Tipo A2:** Simile all'A1, ma con maggiore protezione dell'operatore. Espulsione in laboratorio o canalizzabile.
- **Tipo B1:** 70% dell'aria espulsa all'esterno tramite condotto. Ideale per sostanze chimiche volatili in piccole quantità e biohazard.
- **Tipo B2:** 100% dell'aria espulsa. Totalmente canalizzata all'esterno. Per manipolazioni con agenti biologici e sostanze chimiche tossiche.



Cappe: attenzione alla classe II (tipi A e B)

Una clean bench a flusso laminare non è una cabina di sicurezza biologica (BSC).

Clean bench — Protegge il prodotto, NON operatore e ambiente: non usarla per manipolare materiale potenzialmente infettivo.

Classe II • A1

≈70% ricircolo · ≈30% espulsione HEPA

Espulsione filtrata in ambiente o, se prevista, verso l'esterno tramite canopy. canopy. Velocità d'ingresso min. 75 ft/min.

Classe II • A2

≈70% ricircolo · ≈30% espulsione HEPA

Come A1, ma velocità d' ingresso min. 100 ft/min. Molto usata in diagnostica.

Classe II • B1

Ricircolo parziale · espulsione esterna obbligatoria

Una parte dell'aria viene ricircolata; espulsione tramite condotto dedicato. Possibili dedicato. Possibili impieghi chimici limitati e controllati.

Classe II • B2

Nessun ricircolo · 100% espulso all'esterno

Total exhaust tramite impianto dedicato. Offre contenimento biologico, specifiche possibilità per sostanze chimiche.

Tutte le BSC II proteggono operatore, campione e ambiente. I filtri HEPA trattengono particelle biologiche, non vapori chimici.

Nota: la classificazione NSF/ANSI 49 include anche il tipo C1. Fonte: CDC/NIH, BMBL 6ª ed., appendice A.

Gruppo dell’agente ≠ livello di contenimento automatico

La scelta si basa sulla valutazione dell’attività e sulle disposizioni applicabili.

- Il gruppo di rischio è una proprietà classificatoria dell’agente.
- Contano anche campione, procedura, quantità, aerosol e possibilità di esposizione.
- Il responsabile verifica capacità del laboratorio, attrezzature, competenze e misure previste.

Documenta la valutazione e aggiornala quando cambiano agente, procedura o informazioni disponibili.

La normativa italiana

Il Titolo X del D.Lgs. 81/08 disciplina la protezione dei lavoratori.

- Artt. 266–286: obblighi di valutazione, prevenzione, protezione e gestione dell’esposizione ad agenti biologici.
- Allegato XLVI: classificazione degli agenti nei gruppi 2, 3 e 4.
- Allegati XLIV, XLVII e XLVIII: attività con possibile esposizione e misure di contenimento.

Applicare il testo vigente, le indicazioni dell’autorità competente e le procedure del laboratorio.

Prima di manipolare un campione

Una breve verifica preanalitica sostiene sia qualità sia sicurezza.

- Controlla identità, integrità, matrice, richiesta e informazioni cliniche pertinenti.
- Individua passaggi che possono generare aerosol, schizzi o inoculo.
- Scegli procedura, DPI e contenimento secondo la valutazione locale del rischio.

Precauzioni standard, procedure scritte, contenitori sicuri e formazione sono la base per ogni campione.

Un orientamento iniziale per i campioni

Il gruppo dell’agente guida la valutazione; non sostituisce il protocollo locale.

Sospetto di gruppo 2

Diagnostica ordinaria con precauzioni standard e controlli adeguati alla procedura.

Sospetto di gruppo 3

Avvisa il responsabile; verifica prima che attività e strutture siano idonee.

Sospetto di gruppo 4

Coordina il percorso con laboratori specialistici e autorità secondo le procedure vigenti.

Campioni con sospetto di agente del gruppo 2

Le attività seguono procedure validate e la valutazione locale del rischio.

Esami di routine

Precauzioni standard, DPI adeguati alla mansione, contenitori integri e procedure documentate.

Possibili aerosol

Usa contenimento primario e accessori di sicurezza quando indicato; limita le manipolazioni non necessarie.

Campioni con sospetto di agente del gruppo 3

Prima di attività non routinarie servono comunicazione e valutazione specifica.

Valuta e coordina

Avvisa il responsabile. Verifica personale, locali e attrezzature prima di proseguire.

Colture e aerosol

Richiedono misure di contenimento appropriate. Se il laboratorio non è attrezzato, concorda l’invio a una struttura idonea.

Campione sospetto: movimentazione e coordinamento

Mantieni il campione chiuso e identificato secondo le procedure locali. Limita i passaggi e le manipolazioni non necessari. In caso di sospetto di gruppo 4, contatta il responsabile e coordina il percorso con un laboratorio di riferimento prima di procedere.



Misure di prevenzione: più livelli

Le misure si combinano in base alla valutazione dell’attività.

Pratiche

Formazione, igiene delle mani, procedure scritte e gestione sicura dei taglienti.

Attrezzature

Contenimento primario per attività a rischio di aerosol; manutenzione e decontaminazione.

Organizzazione

DPI, gestione dei rifiuti, accesso controllato e sorveglianza sanitaria ove prevista.

In caso di esposizione o incidente

Attiva il piano locale e coinvolgi le figure competenti.

- Metti in sicurezza la situazione senza esporti ulteriormente; segui le misure immediate previste.
- Avvisa subito il responsabile e richiedi valutazione sanitaria secondo il piano aziendale.
- Registra l’evento e collabora alla revisione delle cause e delle misure preventive.

La risposta specifica dipende dal tipo di esposizione e dalle procedure di emergenza del laboratorio.

Caso 1 · il sospetto emerge durante l’analisi

DATI DEL CASO

Un campione arriva con richiesta generica. Durante il percorso emergono informazioni cliniche che fanno considerare un agente del gruppo 3. Nessuna procedura ad alto rischio è ancora stata avviata.

DISCUTETE E MOTIVATE

1. Quali passaggi interrompi o rimandi?
2. Chi informi e quali dati clinici richiedi?
3. Che cosa verifichi prima di decidere se procedere o inviare il campione?

CONSEGNA · Proponete un percorso motivato, proporzionato e documentato.

Caso 2 · sospetto di agente del gruppo 4

DATI DEL CASO

Il laboratorio riceve una segnalazione clinico-epidemiologica compatibile con un agente del gruppo 4. Il campione non è stato aperto; la richiesta diagnostica è urgente.

DISCUTETE E MOTIVATE

1. Chi deve essere avvisato immediatamente?
2. Quali manipolazioni eviti in attesa di indicazioni?
3. Come concordi invio, comunicazioni e tracciabilità?

CONSEGNA · Definite i passaggi senza avviare attività non autorizzate.

Gruppo 3 e gruppo 4: scelte proporzionate

La differenza principale è il percorso compatibile con il livello di rischio e le capacità disponibili.

Sospetto di gruppo 3

Valutazione specifica; attività solo in condizioni idonee. Se mancano, coordinare il riferimento.

Sospetto di gruppo 4

Contatto immediato e coordinamento specialistico; evitare manipolazioni non necessarie. Non avviare colture di routine.

Cinque domande prima di procedere

La sicurezza è parte della qualità diagnostica.

- Quale agente è noto o sospettato e su quali informazioni?
- Quale campione e quali procedure possono esporre?
- Quali misure servono per la mansione concreta?
- Il laboratorio ha competenze, attrezzature e autorizzazioni adeguate?

Chi va informato e come si documentano decisioni e incidenti?

Riferimenti essenziali

Consultare le versioni vigenti e le procedure locali.

Normativa italiana

D.Lgs. 81/2008, Titolo X e Allegati XLIV–XLVIII. Direttiva 2000/54/CE e successive modifiche.

Biosicurezza

WHO, Laboratory Biosafety Manual, 4th ed. (2020). CDC/NIH, BMBL, 6th ed. CDC, Biological Risk Assessment Process.