



NOTA OPERATIVA N.11

Indicazioni per la manipolazione di campioni biologici di origine umana per i quali non è possibile escludere l'infettività da virus SARS-CoV-2

19 maggio 2020



1. CLASSIFICAZIONE DEL VIRUS SARS-CoV-2

Fonte

AA.VV. *Gestione del rischio biologico correlato alla epidemia di COVID-19*

nella manipolazione dei campioni tissutali e citologici, con particolare riguardo ai campioni a fresco o non adeguatamente fissati.

Società Italiana di Anatomia Patologica e Citologia Diagnostica – Divisione Italiana della International Academy of Pathology – (SIAPEC-IAP), 24 marzo 2020

Il virus SARS-Cov2 appartiene alla famiglia dei Coronaviridae. L'Allegato XLVI del D. Lgs. 81/08 classifica i virus appartenenti alla famiglia Coronaviridae come agenti biologici del gruppo di rischio 2. Tuttavia tale riferimento normativo non è da ritenersi appropriato per i Coronavirus di tipo SARS-Cov. **Il virus SARS-Cov2 è invece da inquadrarsi come gruppo di rischio 3**, come indicato da Health and Safety Executive Advisory Committee on Dangerous Pathogens e dal Royal College of Pathologists britannici e dalla comunità scientifica statunitense e canadese.

Il SARS-Cov2 può essere patogeno per inalazione di aerosol (che in laboratorio può essere prodotto da centrifugazione o scuotimento con vortex, per esempio di preparati di biomateriali di origine polmonare) o contaminazione delle mucose da biomateriali infetti (es.: liquido di origine polmonare durante la dissezione di un campione a fresco o inadeguatamente fissato) o da superfici infette.

Il virus SARS-Cov19 può persistere e sopravvivere a lungo nell'ambiente: dati sperimentali dimostrano che il virus sopravvive, oltre le 72 ore su superfici di acciaio e plastica, e, seppur per tempi minori, anche su carta.

Le indicazioni della Organizzazione Mondiale della Sanità in relazione alla esecuzione di test di laboratorio su pazienti affetti da COVID-19 indica che in generale le metodiche di laboratorio non propagative, quali sequenziamento e amplificazione di acidi nucleici (cioè dove NON si effettuano culture virali, isolamento di virus e test di neutralizzazione) devono essere effettuate in laboratori con livello di biosicurezza BSL-2.

2. LINEE PER LA PROPOSTA DI PROTOCOLLI OPERATIVI

Fonte

Italian Journal of Prevention, Diagnostic and Therapeutic Medicine
IJPDTM Vol3. Speciale Covid19, 14 aprile 2020

Il Comitato Scientifico della Società Italiana di Medicina Diagnostica e Terapeutica (SIMEDT) raccomanda di effettuare le attività di coltura per isolamento del virus in Laboratorio BSL di classe 3 con procedure e DPI conseguenti, le attività di diagnostica con tecniche di biologia molecolare in Laboratorio BLS di classe 2 con procedure e dispositivi di protezione individuale (DPI) conseguenti.

Tuttavia, pur alla luce del fatto che la sovrarmenonata indicazione dei criteri di scelta dei DPI e delle rispettive modalità di utilizzo tenga conto del rischio presunto di esposizione di esposizione (ovvero, tipo di attività) e la dinamica di trasmissione del patogeno (ovvero per contatto o per esposizione inalatoria ad aerosol) si ritiene tuttavia di indicare l'adozione dei seguenti DPI per il Tecnico di Laboratorio Biomedico che manipola campioni respiratori:



Mascherina	Durante le emergenze sanitarie che coinvolgono le vie respiratorie, a maggior ragione nel caso specifico di interesse (relativo ad un agente biologico da allocare in classe 3 di pericolosità), si ritiene adeguato l'utilizzo di mascherine FFP3 o equivalenti. È dimostrato che le mascherine mantengono la loro protezione se utilizzate per periodi prolungati. Tuttavia, l'indicazione è di non superare il tempo massimo di 4 ore per mascherina; si precisa altresì che un cambio più ravvicinato andrà valutato in circostanze specifiche, quali per esempio conseguenti ad imbrattamento o altre evenienze che possano inficiare l'efficacia del DPI medesimo
Camice impermeabile	Per l'esecuzione delle diverse procedure e lavorazioni sui campioni, tali da poter comportare esposizione per le diverse vie ad agenti biologici, si ritiene adeguato l'utilizzo da parte degli operatori di mascherine, occhiali, guanti e camice. È altresì indicato l'utilizzo di sovra camice, in caso di camice non resistente ai fluidi.
Guanti	È importante sottolineare che l'uso di guanti non sostituisce la necessità di un'igiene delle mani adeguata, da eseguirsi frequentemente mediante l'utilizzo di una soluzione alcolica (concentrazione almeno al 70%), con conseguente contemporanea sostituzione dei guanti medesimi
Occhiali	Alla luce di recenti segnalazioni pubblicate nella letteratura scientifica internazionale, che hanno individuato negli occhi un organo bersaglio e peculiare via di ingresso per il Covid-19, si ritiene di indicare la necessità di adottare protezione specifica a livello oculare (occhiali o visiera facciale)
Altresì, si ricorda la necessità - oltre che di utilizzare i DPI adeguati - di effettuare sempre l'igiene delle mani per prevenire la trasmissione da contatto e per l'igiene respiratoria	

Fonte

Istituto Nazionale per le Malattie Infettive - Struttura Complessa Laboratorio di Virologia, Allegato 5, *Istruzioni operative per l'invioidi campioni relativi alla diagnosi di infezione da Coronavirus emergenti (MERS-CoV, SARS, 2019-nCoV)*

Sulle base delle informazioni ad oggi disponibili e delle raccomandazioni da parte del WHO ed ECDC, per la manipolazione dei campioni biologici con sospetto di infezione da CoV emergenti è stata indicata l'effettuazione ad un *livello di biosicurezza 2 (BSL2)*, utilizzando dispositivi di protezione individuale standard e delle vie aeree.

Tuttavia, coerentemente con le considerazioni ed indicazioni riportate ai paragrafi precedenti (e segnatamente per le situazioni che prevedano "la manipolazione dei campioni biologici con sospetto di infezione da CoV emergenti"), si **ritiene adeguata l'adozione di un livello di biosicurezza 3 (BSL 3)**.

In estrema sintesi, infatti:

- 1) il tema principale appare relazionato al fatto che, se il Covid-19 è equiparato a un agente di gruppo 3: le precauzioni da adottarsi devono pertanto essere coerenti con tale assunzione;
- 2) su un campione non noto (e fino a prova contraria), va applicato il "principio di precauzione" e quindi applicati cogenti criteri di biosicurezza di livello 3; a maggior ragione, in caso di lavorazione su campioni sicuramente positivi.
- 3) la distinzione di grado di pericolosità, operata sulla base del criterio della formazione o



meno degli aerosol in base al tipo di lavorazione, pur avendo un sicuro fondamento teorico, all'atto pratico non appare condivisibile e viene superata dall'adozione del già citato "principio di precauzione"

2.1 Caratteristiche BLS dei laboratori

Fonte

OMS, *Laboratory Biosafety Manual*, terza edizione (2004)

pubblicato in Italia da

ISPESL *Manuale di biosicurezza nei laboratori*, edizione italiana

© AIRESPSA 2005

BLS-1

Laboratorio per la lavorazione di materiale contenente agenti infettivi ben caratterizzati e di minimo rischio biologico, non associati a malattie negli immunocompetenti.

Livello base di contenimento con pratiche microbiologiche standard.

Utilizzo di 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).

BLS-2

Laboratorio per la lavorazione di materiale contenente agenti infettivi indigeni di moderato rischio biologico presenti nella comunità, associati a malattie umane di diversa gravità.

Livello base di contenimento con pratiche microbiologiche standard, accesso limitato alle persone autorizzate, smaltimento dei rifiuti infettivi separato.

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, consigliata ventilazione meccanica con flusso d'aria verso l'interno senza ricircolo).

Le misure e i livelli di contenimento richiesti corrispondono sostanzialmente a quelli riportati nella colonna B.2 dell'Allegato XLVII del D. Lgs. 81/08, riportato più avanti.

Attrezzature essenziali di sicurezza per il laboratorio BLS-2

1. Pipettatori automatici o elettrici per evitare di pipettare a bocca. Ne esistono diversi modelli.
2. Cappe di Biosicurezza, da usare ogni qualvolta:
 - vengono manipolati materiali infetti; tali materiali possono essere centrifugati fuori dalla cappa nel caso si usino cestelli di sicurezza sigillati e questi vengano aperti e chiusi sotto cappa;
 - esiste un elevato rischio di contaminazione per via aerea;
 - si svolgono procedure ad alto potenziale di produzione di aerosol; queste possono includere la centrifugazione, frammentazione, omogenizzazione, agitazione o miscelazione vigorosa, sonicazione, apertura di contenitori di materiali infetti a pressione diversa dalla pressione ambientale, inoculazione intranasale di animali, e raccolta di tessuti infetti da animali e uova.
3. Anse di plastica monouso. In alternativa, sotto cappa di Biosicurezza, possono essere utilizzati sterilizzatori elettrici per anse al fine di ridurre la produzione di aerosol.
4. Provette e contenitori con tappo a vite.

Tuttavia, al Livello di Biosicurezza 3, la manipolazione di tutti i potenziali materiali infetti deve essere effettuata all'interno di una cappa di sicurezza biologica o di un altro dispositivo di contenimento primario. Occorre prendere in considerazione attrezzature quali le centrifughe, che avranno bisogno di accessori di contenimento aggiuntivi, per esempio contenitori di sicurezza o rotori di contenimento. Alcune centrifughe e altre attrezzature, quali i cell-sorting usati con cellule infette, possono necessitare di una ventilazione aggiuntiva a scarico locale con filtraggio HEPA, per un contenimento efficiente.

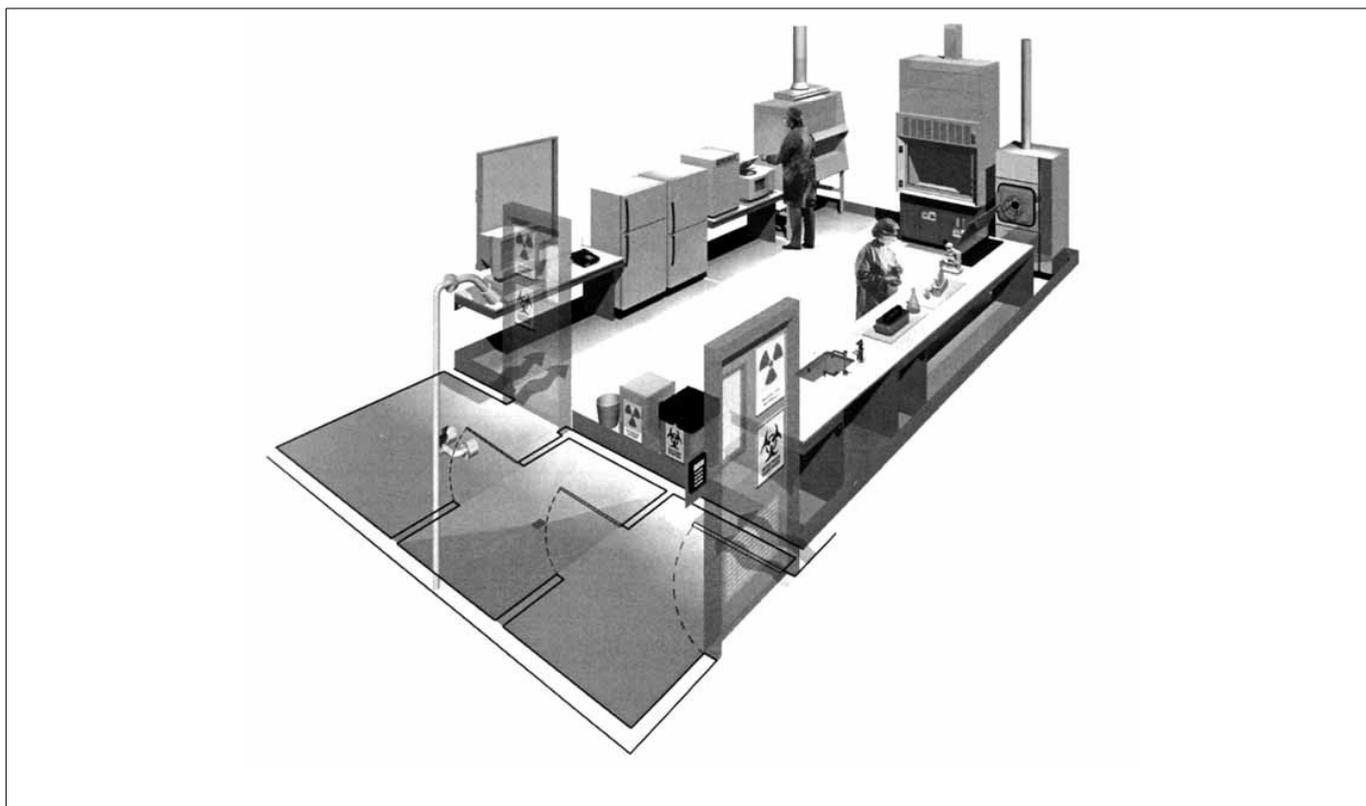


Figura 2. **Laboratorio con Livello di Biosicurezza 3**

(immagine grafica per gentile concessione di CUH2A, Princeton, NJ, USA).

Il laboratorio è separato dal flusso di passaggio generale delle persone e vi si accede attraverso un'anticamera (ingresso a porta doppia o laboratorio di base, Livello di Biosicurezza 2) oppure una camera di compensazione. All'interno del locale è disponibile un'autoclave per la decontaminazione dei rifiuti prima dello smaltimento. È inoltre disponibile un lavandino con rubinetto azionabile senza l'uso delle mani. È stato creato un flusso d'aria direzionale dall'esterno verso l'interno del laboratorio e ogni lavoro che comporta l'uso di materiali infetti viene svolta all'interno di cappe di sicurezza biologica.

BLS-4

Laboratori per la lavorazione di materiale contenente agenti infettivi pericolosi di gruppo 4 e esotici con possibile trasmissione aerea, associati a malattie umane potenzialmente letali per le quali non sono disponibili vaccini o terapie. Per la manipolazione di un agente biologico del gruppo 4, 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.

L'unico laboratorio BLS-4 in Italia è localizzato a Roma presso l'INMI L. Spallanzani.



ALLEGATO XLVII

SPECIFICHE SULLE MISURE DI CONTENIMENTO E SUI LIVELLI DI CONTENIMENTO

Nota preliminare:

Le misure contenute in [questo ALLEGATO](#) debbono essere applicate in base alla natura delle attività, la valutazione del rischio per i lavoratori e la natura dell'agente biologico di cui trattasi.

A. Misure di contenimento	B. Livelli di contenimento		
	2	3	4
1. La zona di lavoro deve essere separata da qualsiasi altra attività nello stesso edificio	No	Raccomandato	Si
2. L'aria immessa nella zona di lavoro e l'aria estratta devono essere filtrate attraverso un ultrafiltro (HEPA) o un filtro simile	NO	SI, sull'aria estratta	SI, sull'aria immessa e su quella estratta
3. L'accesso deve essere limitato alle persone autorizzate	Raccomandato	Si	Si attraverso una camera di compensazione
4. La zona di lavoro deve poter essere chiusa a tenuta per consentire la disinfezione	No	Raccomandato	Si
5. Specifiche procedure di disinfezione	Si	Si	Si
6. La zona di lavoro deve essere mantenuta ad una pressione negativa rispetto a quella atmosferica	No	Raccomandato	Si
7. Controllo efficace dei vettori, ad esempio, roditori ed insetti	Raccomandato	Si	Si
8. Superfici idrorepellenti e di facile pulitura	Si, per il banco di lavoro	Si, per il banco di lavoro e il pavimento	Si, per il banco di lavoro, l'arredo, i muri, il pavimento e il soffitto
9. Superfici resistenti agli acidi, agli alcali, ai solventi, ai disinfettanti	Raccomandato	Si	Si
10. Deposito sicuro per agenti biologici	Si	Si	Si, deposito sicuro
11. Finestra d'ispezione o altro dispositivo che permetta di vederne gli occupanti	Raccomandato	Raccomandato	Si
12. I laboratori devono contenere l'attrezzatura a loro necessaria	No	Raccomandato	Si
13. I materiali infetti, compresi gli animali, devono essere manipolati in cabine di sicurezza, isolatori o altri adeguati contenitori	Ove opportuno	Si, quando l'infezione è veicolata dall'aria	Si
14. Inceneritori per l'eliminazione delle carcasse degli animali	Raccomandato	Si (disponibile)	Si, sul posto
15. Mezzi e procedure per il trattamento dei rifiuti	Si	Si	Si, con sterilizzazione
16. Trattamento delle acque reflue	No	Facoltativo	Facoltativo



3. CONCLUSIONI

Le attività che comportano la manipolazione di campioni biologici di origine umana (ad esempio: sangue, urine, tessuti biotici, feci) per i quali non è possibile escludere l'infettività da virus SARS-CoV-2 e fino a prova contraria (assenza di dichiarazione COVID-free), dato che il medesimo microrganismo è allocato in gruppo 3 di pericolosità biologica secondo la classificazione internazionale, devono essere svolte applicando le misure e i livelli di contenimento previsti per i laboratori BLS-3.

Si sottolinea inoltre che nell'analisi dei compiti lavorativi previsti nelle diverse fasi di manipolazione dei campioni, la distinzione tra manovre che possano o meno provocare la formazione di aerosol (pur avendo indubbio fondamento teorico), appare superata dall'applicazione del cosiddetto "principio di precauzione", con conseguente adozione dei criteri di biosicurezza livello 3.

Si ricorda, altresì, che dovranno in ogni caso essere rispettate le misure di sicurezza per la prevenzione del contagio da SARS-CoV-2 fornite dall'Ateneo con la Nota Operativa n.4 "Linee guida sulle attività da svolgere e i comportamenti da tenere nei laboratori di ricerca dell'Ateneo".

Servizio del Medico Competente di Ateneo

Dott.ssa Maria Grazia Ricci (Coordinatrice)

Dott. Stefano Basilico

Dott.ssa Silvia Cairoli

Dott. Giuseppe Leocata

Direzione Sicurezza, Sostenibilità e Ambiente Il Responsabile dell'Ufficio Sostenibilità

(Arch. Giuseppe Rossi)

Direzione Sicurezza, Sostenibilità e Ambiente Il Responsabile Delegato

(Dott. Ing. Giovannino Messina)