



NOTA OPERATIVA N.11bis

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

1. Classificazione del virus SARS-CoV-2
2. Linee guida sulla biosicurezza nei laboratori concernenti il nuovo coronavirus e l'esame di campioni clinici di pazienti affetti da SARS-CoV-2
3. Indicazioni per la manipolazione di campioni biologici di origine umana, non correlati a pazienti COVID-19, ma per i quali non è possibile escludere l'infettività da virus SARS-CoV-2
4. Indicazioni per la manipolazione di campioni biologici di origine umana, di pazienti COVID-19
5. Conclusioni

Appendice: Caratteristiche BSL dei laboratori

10 Giugno 2020



## 1. Classificazione del virus SARS-CoV-2

Fonte

### DIRETTIVA (UE) 2020/739 DELLA COMMISSIONE del 3 giugno 2020 (1)

L'allegato III della direttiva 2000/54/CE stabilisce l'elenco degli agenti biologici di cui è noto che possono causare malattie infettive nell'uomo, classificati secondo il livello del rischio di infezione. Conformemente alla nota introduttiva 6 di tale allegato, l'elenco dovrebbe essere modificato per tenere conto delle conoscenze più recenti riguardo agli sviluppi scientifici ed epidemiologici che hanno determinato notevoli cambiamenti, compresa l'esistenza di nuovi agenti biologici.

Nell'ottobre 2019 la direttiva (UE) 2019/1833 della Commissione ha apportato una modifica all'allegato III della direttiva 2000/54/CE, che consiste in particolare nell'aggiunta di numerosi agenti biologici, tra cui il coronavirus della sindrome respiratoria acuta grave (virus SARS) e il coronavirus della sindrome respiratoria medio-orientale (virus MERS).

Il virus «coronavirus 2 della sindrome respiratoria acuta grave», abbreviato «SARS-CoV-2», che ha causato la pandemia di Covid-19 è molto simile ai virus SARS e MERS. In considerazione dei dati clinici ed epidemiologici attualmente disponibili concernenti le caratteristiche del virus, come le modalità di trasmissione, le caratteristiche cliniche e i fattori di rischio per l'infezione, la UE ha ritenuto opportuno aggiungere con urgenza il SARS-CoV-2 all'allegato III della direttiva 2000/54/CE al fine di continuare a garantire un'adeguata protezione della salute e della sicurezza dei lavoratori sul luogo di lavoro.

Per tale motivo la **Direttiva UE2020/739** ha modificato l'allegato III della direttiva 2000/54/CE, nella tabella relativa ai VIRUS (Ordine «Nidovirales», Famiglia «Coronaviridae», Genere «Betacoronavirus») inserendo **"Sindrome respiratoria acuta grave da coronavirus 2 (SARS-CoV-2)"** tra la voce «Sindrome respiratoria acuta grave da coronavirus (virus SARS)» e «Sindrome respiratoria medio-orientale da coronavirus (virus MERS)», inquadrando definitivamente **SARS-CoV-2** nel **gruppo di rischio 3**, con modifica della direttiva (UE) 2019/1833 della Commissione.

L 175/14

II

Gazzetta ufficiale dell'Unione europea

4.6.2020

#### ALLEGATO

Nell'allegato III della direttiva 2000/54/CE, nella tabella relativa ai VIRUS (Ordine «Nidovirales», Famiglia «Coronaviridae», Genere «Betacoronavirus») è inserita la seguente voce tra «Sindrome respiratoria acuta grave da coronavirus (virus SARS)» e «Sindrome respiratoria medio-orientale da coronavirus (virus MERS)»:

|                                                                                 |   |  |
|---------------------------------------------------------------------------------|---|--|
| «Sindrome respiratoria acuta grave da coronavirus 2 (SARS-CoV-2) <sup>(1)</sup> | 3 |  |
|---------------------------------------------------------------------------------|---|--|

<sup>(1)</sup> In linea con l'articolo 16, paragrafo 1, lettera c), il lavoro di laboratorio diagnostico non propagativo riguardante il SARS-CoV-2 dovrebbe essere condotto in una struttura in cui si utilizzano procedure equivalenti almeno al livello di contenimento 2. Il lavoro propagativo riguardante il SARS-CoV-2 dovrebbe essere condotto in un laboratorio con livello di contenimento 3 a una pressione dell'aria inferiore a quella atmosferica.»



## 2. Linee guida sulla biosicurezza nei laboratori concernenti il nuovo coronavirus e l'esame di campioni clinici di pazienti affetti da SARS-CoV-2

**Fonte principale: OMS** "Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19)" 19 Marzo 2020 (2)

Il SARS-CoV-2 può causare gravi malattie umane nella popolazione infetta, presentando un serio rischio in particolare per i lavoratori anziani e quelli con una patologia soggiacente o una malattia cronica.

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.

Nel marzo 2020 l'Organizzazione mondiale della sanità ha pubblicato linee guida sulla biosicurezza nei laboratori concernenti il nuovo coronavirus e l'esame di campioni clinici di pazienti affetti da SARS-CoV-2.

Le linee guida precisano che il **lavoro di laboratorio diagnostico non propagativo**, come ad esempio il sequenziamento, può essere condotto in una struttura in cui si utilizzano procedure equivalenti almeno al livello di contenimento 2 (**livello di biosicurezza 2, BSL-2**), mentre il **lavoro propagativo** riguardante il SARS-CoV-2 dovrebbe essere condotto in un laboratorio di contenimento con una pressione dell'aria inferiore a quella atmosferica (**livello di biosicurezza 3, BSL- 3**). Anche la recente Direttiva **(UE) 2020/739**, conferma tali indicazioni.

L'Istituto Superiore di Sanità (3, 4) ha indicato in due note ufficiali **che i campioni di tamponi nasali e biologici di pazienti COVID**, devono essere manipolati in strutture con livelli di contenimento del rischio biologico comparabile a **BSL-2**, mentre riserva il livello **BSL3** solo alla coltura di virus, saggi di isolamento o di neutralizzazione.

La stessa posizione è confermata da autorevoli fonti nazionali ed internazionali, quali la Società Scientifica Italiana di Tecnici di Laboratorio Biomedico (5), la CDC e la OMS (6), il governo UK (7) e una recente pubblicazione sulla rivista Cytometry (8) e altre istituzioni.

Nel Dettaglio:

**-Rapporto ISS COVID-19 • \_n. 11/2020 (3):** Raccomandazioni per il corretto prelievo, conservazione e analisi sul tampone oro/nasofaringeo per **la diagnosi di COVID-19**

Pg 5: "Sulle base delle raccomandazioni da parte dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e dello European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), la manipolazione dei campioni biologici viene eseguita utilizzando opportuni DPI e ad un livello di biosicurezza 2 (BSL2)."

**-Rapporto ISS COVID-19 • \_n. 13/2020 (4):** Raccomandazioni per raccolta, trasporto e conservazione di **campioni biologici COVID-19**

pg 6: "Analisi molecolari (sequenziamento, amplificazione genica etc) e sierologiche devono essere condotte presso le strutture con livelli di contenimento del rischio biologico



comparabile a BSL-2, mentre coltura di virus, saggi di isolamento o di neutralizzazione vanno eseguiti in laboratorio BSL-3 (<https://apps.OMS.int/iris/handle/10665/331138>). "

- **S.I.T.La.B. N. 2/20** "DPI nelle linee guida ISPESL e raccomandazioni ISS e OMS per il contenimento della trasmissione di COVID-19 per il Tecnico di Laboratorio Biomedico" (5).  
MANIPOLAZIONE DI CAMPIONI RESPIRATORI

Tabella 4 pg 5:

|                                                             |                                                                                                                                     |                                       |                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Laboratorio di riferimento regionale e nazionale ISS</b> | Tecnici di laboratorio<br>(Si raccomanda riduzione al minimo del numero di operatori esposti; formazione e addestramento specifici) | Manipolazione di campioni respiratori | Laboratorio BSL di classe 3<br>(coltura per isolamento del virus) con procedure e DPI conseguenti<br><br>Laboratorio BSL di classe 2<br>(diagnostica con tecniche di biologia molecolare) con procedure e DPI conseguenti |
|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

- **CDC-OMS:** Laboratory biosafety guidance related to the novel coronavirus (2019-nCoV) Interim guidance 12 February 2020 (6)

Highlights of 2019-nCoV laboratory biosafety

- All procedures must be performed based on risk assessment and only by personnel with demonstrated capability in strict observance to any relevant protocols at all times.
- Initial processing (before inactivation) of all specimens should take place in a validated biological safety cabinet (BSC) or primary containment device.
- Non-propagative diagnostic laboratory work (e.g. sequencing, NAAT) should be conducted at facilities and procedures equivalent to BSL-2 and propagative work (e.g. virus culture, isolation or neutralization assays) at a containment laboratory with inward directional airflow (BSL-3).

- **GOV.UK** COVID-19: guidance for sampling and for diagnostic laboratories (7)

Pg 5: The following work may also be conducted at CL2 following standard laboratory precautions, where this is consistent with the terms of the local risk assessment for those activities:

diagnostic assays using OMSle blood, serum and plasma, including routine biochemistry and haematology, unless there is a risk of generating aerosols assays using virus-inactivated specimens, including molecular testing of inactivated specimens examination of bacterial or fungal cultures staining and microscopy of heat-fixed or chemically-fixed smears; centrifugation of routine blood samples. However, where there is infectious potential, samples must be centrifuged using sealed centrifuge rotors or sample cups which are loaded and unloaded in a MSC.



- Dall'articolo apparso su Cytometry 2020 (8)

**Table 1.** Summary of the personal protective equipment and collective protective devices for handling and processing blood specimens and PBMCs from Covid-19 patients

| PROCEDURE                                                      | PERSONAL PROTECTIVE EQUIPMENT                                                                                                                                                                    | COLLECTIVE PROTECTIVE DEVICES                                                 |
|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Handling of blood                                              | <ul style="list-style-type: none"><li>• Surgical mask</li><li>• Two pairs of gloves (the external to be used only when working in the BSC)</li><li>• Eye protection</li><li>• Lab coat</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Class II BSC in a BLS-2 lab</li></ul> |
| Staining of PBMCs                                              | <ul style="list-style-type: none"><li>• Surgical mask</li><li>• Two pairs of gloves (the external to be used only when working in the BSC)</li><li>• Eye protection</li><li>• Lab coat</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Class II BSC in a BLS-2 lab</li></ul> |
| Acquisition at the flow cytometer (fixed cells)                | <ul style="list-style-type: none"><li>• Surgical mask</li><li>• Gloves</li><li>• Eye protection</li><li>• Lab coat</li></ul>                                                                     | <ul style="list-style-type: none"><li>• BLS-2 lab</li></ul>                   |
| Acquisition of unfixed cells: requires cell sorting procedures | See <a href="https://isac-net.org/page/Biosafety">https://isac-net.org/page/Biosafety</a>                                                                                                        | <ul style="list-style-type: none"><li>• BLS-3 lab</li></ul>                   |

In conclusione, ad oggi tutte le fonti nazionali ed internazionali indicano per l'attività di laboratorio non propagative del virus, cioè test biochimici e molecolari, l'utilizzo delle norme di sicurezza di tipo BSL2.

### 3. Indicazioni per la manipolazione di campioni biologici di origine umana, non correlati a pazienti COVID-19, ma per i quali non è possibile escludere l'infettività da virus SARS-Cov-2

Per quanto noto dalla letteratura scientifica, il virus SARS-Cov2 è stato identificato in massima parte in tessuti e biomateriali di origine polmonare, mentre più raramente è stato identificato in altri biomateriali, incluso il sangue (9) e il materiale fecale (10).

Per quanto riguarda le urine i dati disponibili indicano che in tali materiali le indagini hanno dato risultati negativi (11) o al più con valori di positività al di sotto del livello ritenuto soglia (12). Esiste comunque il controverso problema della trasmissione fecale-orale del virus, che in questo momento impone di considerare cautelativamente come possibili fonti di infezione anche i campioni chirurgici del tratto gastrointestinale (13).

Sulle base delle informazioni ad oggi disponibili e delle raccomandazioni da parte del OMS e degli altri enti nazionali ed internazionali, per la manipolazione dei campioni biologici con sospetto di infezione da SARS-CoV-2 è stata indicata l'applicazione di un *livello di biosicurezza 2 (BSL2)*, utilizzando dispositivi di protezione individuale standard e delle vie aeree.

Alla luce del fatto, che per numerosi campioni non è possibile ottenere a priori una dichiarazione di campione "Covid-free", i criteri di scelta dei DPI e delle rispettive modalità di utilizzo deve tener conto del rischio presunto di esposizione (ovvero, tipo di attività e possibile generazione di aerosol) e della dinamica di trasmissione del patogeno (ovvero per contatto o per esposizione inalatoria ad aerosol).

Si ritiene quindi, applicando il criterio di massima precauzione, di indicare che la manipolazione dei campioni fino a loro inattivazione, deve avvenire in laboratori di tipo





BSL2 con l'adozione, per tutto il personale di Laboratorio che manipola campioni biologici di origine umana, dei seguenti DPI:

|                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Mascherina</b>                                                                                                                                                                          | 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 <b>FFP2</b> o equivalenti.                                           |
| <b>Camice Dedicato</b>                                                                                                                                                                     | 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 dedicato alle operazioni.                                       |
| <b>Guanti in doppio strato</b>                                                                                                                                                             | 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                              |
| <b>Occhiali</b>                                                                                                                                                                            | 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 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

Si sottolinea inoltre che tutte le operazioni che possono potenzialmente generare aerosol, devono essere effettuate sotto cappa a flusso laminare tipo BSC II.

#### 4. Indicazioni per la manipolazione di campioni biologici di origine umana, di pazienti COVID-19

Sulle base delle informazioni ad oggi disponibili e delle raccomandazioni da parte dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e degli altri enti nazionali ed internazionali per la manipolazione dei campioni biologici da SARS-CoV-2 è stata indicata l'applicazione di un *livello di biosicurezza 2 (BSL2)*, utilizzando dispositivi di protezione individuale standard e delle vie aeree, che applicando il criterio di massima precauzione risultano essere:

|                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Mascherina</b>                  | 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 <b>FFP3</b> o equivalenti.                                                                       |
| <b>Camice Resistente ai fluidi</b> | 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. |
| <b>Guanti in doppio strato</b>     | 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                                                                                                                                                                                  |
| <b>Occhiali</b>                                                                                                                                                                            | 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 SARS-CoV-2, 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 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

Si sottolinea inoltre che tutte le operazioni che possono potenzialmente generare aerosol, devono essere effettuate sotto cappa a flusso laminare tipo BSC II.

## 5. 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 (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 BSL-2, con l'utilizzo di opportuni DPI, come indicato nelle tabelle allegate.

Si sottolinea inoltre che nell'analisi del rischio relativo ai compiti lavorativi previsti dai protocolli nelle diverse fasi di manipolazione dei campioni, occorre individuare le manovre che possano o meno provocare la formazione di aerosol. In applicazione del cosiddetto "principio di precauzione", tutte le manovre in oggetto andranno effettuate sotto cappa di sicurezza livello BSCII, nei laboratori BSL2, con gli opportuni DPI (mascherine FFP2 o FFP3, a seconda della provenienza dei campioni).

Le attività di coltura di virus, saggi di isolamento o di neutralizzazione vanno eseguiti in laboratorio BSL-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"*.



## RIFERIMENTI e links:

1. DIRETTIVA (UE) 2020/739 DELLA COMMISSIONE del 3 giugno 2020  
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/?uri=CELEX:32020L0739>
2. Organizzazione Mondiale della Sanità  
[https://www.OMS.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.OMS.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19))
3. -Rapporto ISS COVID-19 • \_n. 11/2020 "  
[https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+n.+11\\_2020+Rev+2+DEF.docx.pdf/bba894a3-230c-a37b-23d7-f2120f12f897?t=1590768805137](https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+n.+11_2020+Rev+2+DEF.docx.pdf/bba894a3-230c-a37b-23d7-f2120f12f897?t=1590768805137)
4. -Rapporto ISS COVID-19 • \_n. 13/2020,  
[vhttps://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+n.+13\\_2020+campioni+biologici.pdf/50ee1f09-45df-c7a9-9dd4-26c2332f9ce9?t=1587107214457](https://www.iss.it/documents/20126/0/Rapporto+ISS+COVID-19+n.+13_2020+campioni+biologici.pdf/50ee1f09-45df-c7a9-9dd4-26c2332f9ce9?t=1587107214457)
5. S.I.T.La.B. N. 2/20 "DPI nelle linee guida ISPESL e raccomandazioni ISS e OMS per il contenimento della trasmissione di COVID-19 per il Tecnico di Laboratorio Biomedico" (5). S. Stanziale (Padova ), A.G. Bianculli (Roma), A. Magaldi (Potenza), S.A. Distefano (Palermo). Rev. 1.0 SITLaB news Pubblicato: 15 Marzo 2020  
<https://www.sitlab.it/2020/03/18/dpi-nelle-linee-guida-ispesl-e-raccomandazioni-iss-e-OMS-per-il-contenimento-della-trasmissione-di-covid-19-per-il-tecnico-di-laboratorio-biomedico-2/>
6. **CDC-OMS:** Laboratory biosafety guidance related to the novel coronavirus (2019-nCoV) Interim guidance 12 February 2020  
[https://www.OMS.int/docs/default-source/coronaviruse/laboratory-biosafety-novel-coronavirus-version-1-1.pdf?sfvrsn=912a9847\\_2](https://www.OMS.int/docs/default-source/coronaviruse/laboratory-biosafety-novel-coronavirus-version-1-1.pdf?sfvrsn=912a9847_2)
7. **GOV.UK** COVID-19: guidance for sampling and for diagnostic laboratories (6)  
(<https://www.gov.uk/government/publications/wuhan-novel-coronavirus-guidance-for-clinical-diagnosticlaboratories>)
8. Cossarizza A, *et al.* Handling and Processing of Blood Specimens from Patients with COVID-19 for Safe Studies on Cell Phenotype and Cytokine Storm. *Cytometry A*. 2020 Apr 10. doi: 10.1002/cyto.a.24009.
9. Xu Z *et al.* Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*. 2020 Feb 18:S2213-2600(20)30076-X. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
10. Pan Y *et al.* 2020. Viral load of SARS CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect Dis* 2020 Apr;20(4):411-412. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30113-4.
11. Wang W *et al.* Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*. 2020;323(18):1843-1844.doi:10.1001/jama.2020.3786.
12. Kim JY *et al.* 2020. Viral load kinetics of SARS CoV-2 infection in first two patients in Korea. *J. Korean Med Sci*. 35(7):e86. doi: 10.3346/jkms.2020.35.e86.
13. Xiao F, *et al.* Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2" *Gastroenterol* 2020;158:1831–1833; doi: 10.1053/j.gastro.2020.02.055.





**Servizio del Medico Competente di Ateneo**

Dott.ssa Maria Grazia Ricci (Coordinatrice)

M.G.R.

Dott. Stefano Basilico

Stefano Basilico

Dott.ssa Silvia Cairolì

Silvia Cairolì

Dott. Giuseppe Leocata

Giuseppe Leocata

**Direzione Sicurezza, Sostenibilità e  
Ambiente**

Il Responsabile dell'Ufficio Sostenibilità  
(Arch. Giuseppe Rossi)

Giuseppe Rossi

**Direzione Sicurezza, Sostenibilità e  
Ambiente**

Il Responsabile Delegato  
(Dott. Ing. Giovannino Messina)



## APPENDICE

### **Caratteristiche BSL dei laboratori e Allegato XLVII del D. Lgs. n.81/2008 "Specifiche sulle misure di contenimento e sui livelli di contenimento"**

#### Fonte

OMS, *Laboratory Biosafety Manual*, terza edizione (2004)  
pubblicato in Italia da  
ISPESL *Manuale di biosicurezza nei laboratori*, edizione italiana  
© AIRESPSA 2005

#### **BSL-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).

#### **BSL-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 BSL-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.
5. Autoclavi o altri mezzi per decontaminare i materiali infetti.
6. Pipette Pasteur monouso in plastica, per evitare il vetro, quando è possibile.

7. Le attrezzature quali le autoclavi e le cappe di Biosicurezza devono essere collaudate con metodi adeguati prima di essere messe in uso. La manutenzione deve avvenire ad intervalli regolari, secondo le indicazioni del fabbricante.

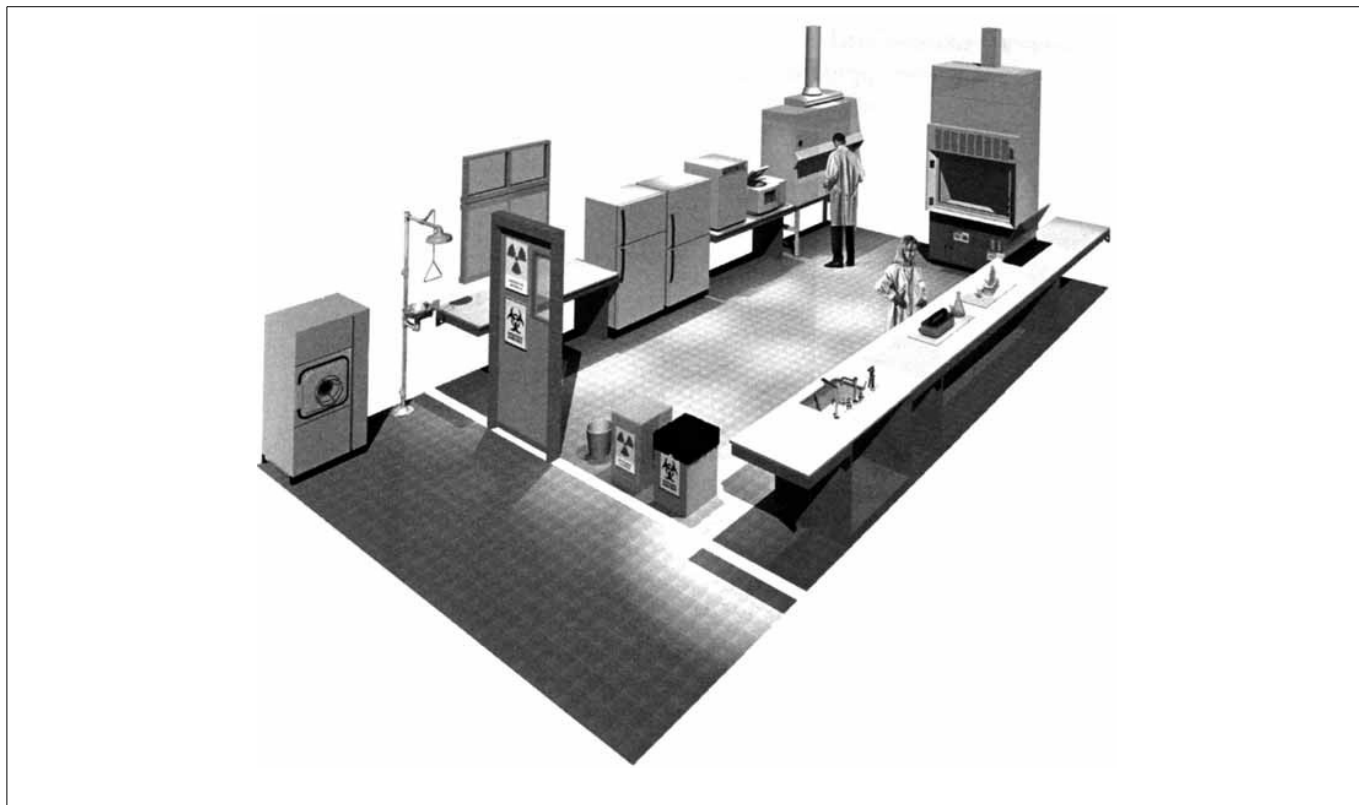


Figura 1. **Laboratorio di Biosicurezza di livello 2**  
(figura gentilmente fornite da CUH2A, Princeton, NJ, USA).

Le procedure che comportano aerosol vengono effettuate sotto cappa di sicurezza biologica. Le porte sono tenute chiuse ed è apposta l'indicazione di rischio biologico. I rifiuti potenzialmente contaminati sono separati dagli altri rifiuti.

## BSL-3

Laboratori per la lavorazione di materiale contenente agenti infettivi Gruppo 3 indigeni o esotici con possibile trasmissione aerea, associati a malattie umane gravi.

Lavorazione di materiale con elevate concentrazioni di agenti di Gruppo 2 che possono diffondersi per aerosol.

Livello di contenimento elevato, pratiche microbiologiche standard e specifiche (supervisore del laboratorio che controlla l'accesso, manipolazione del materiale sotto cappa).

Dispositivi di protezione individuali standard: camice di tipo urologico, copricapo, calzature apposite, copriscarpe, DPI respiratoria per alcune procedure. Tutti i DPI devono essere rimossi e decontaminati prima di lasciare il laboratorio.

Le misure e i livelli di contenimento richiesti corrispondono sostanzialmente a quelli riportati nella colonna B.3 dell'Allegato XLVII del D. Lgs. 81/08, riportato più avanti.

### Attrezzature del laboratorio BSL-3

I principi per la scelta delle attrezzature del laboratorio, incluse le cappe di sicurezza biologica sono gli stessi previsti per il laboratorio di base, con Livello di Biosicurezza 2. 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.

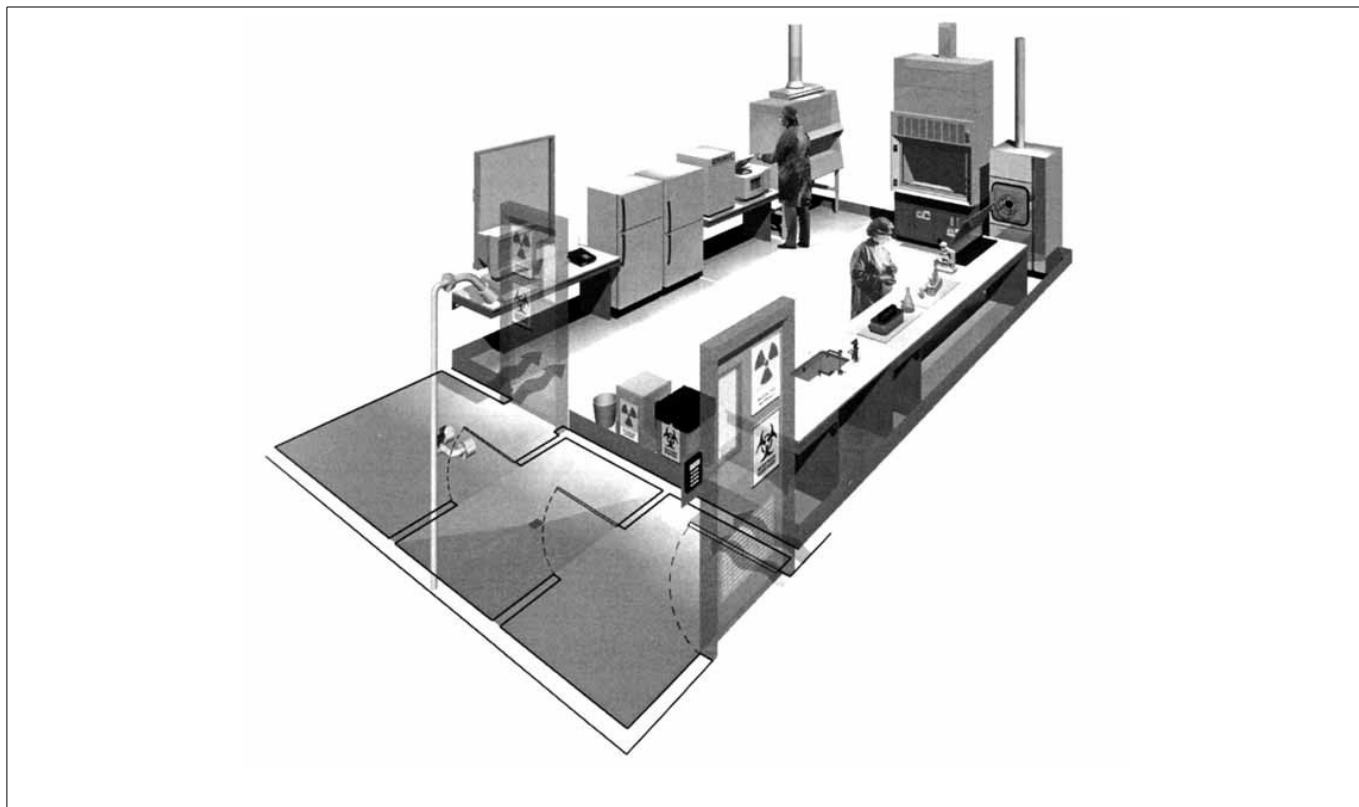


Figura 2. **Laboratorio con Livello di Biosicurezza 3**

(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.

## BSL-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 BSL-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                                                              |