

Traduzione di pubblicazione estratta dal Public Health Media Library del CDC (Centers for Disease Control and Prevention)

Linee guida provvisorie per la biosicurezza del laboratorio per la manipolazione e l'elaborazione dei campioni associati alla malattia di Coronavirus 2019 (COVID-19)

Riepilogo delle modifiche recenti

Le revisioni apportate il 18 marzo 2020 includono raccomandazioni per la spedizione di isolati o colture SARS-CoV-2 come sostanza biologica UN 3373, categoria B

Guida generale

Tutti i laboratori devono eseguire una valutazione del rischio sito-specifica e attività-specifica per identificare e mitigare i rischi. Le valutazioni del rischio e le misure di mitigazione dipendono da:

- le procedure eseguite
- identificazione dei pericoli coinvolti nel processo e/o nelle procedure
- il livello di competenza del personale che esegue le procedure
- l'attrezzatura e la struttura di laboratorio
- le risorse disponibili

Seguire le precauzioni standard quando si maneggiano campioni clinici, che possono contenere materiali potenzialmente infettivi. Le precauzioni standard includono l'igiene delle mani e l'uso di dispositivi di protezione individuale (DPI), come camici da laboratorio o abiti, guanti e protezioni per gli occhi.

Seguire le pratiche e le procedure di laboratorio ordinarie per la decontaminazione delle superfici di lavoro e la gestione dei rifiuti di laboratorio.

Guida specifica

L'isolamento del virus nella coltura cellulare e la caratterizzazione iniziale degli agenti virali recuperati nelle colture di campioni SARS-CoV-2 NON sono attualmente raccomandati, tranne in un laboratorio di livello 3 di sicurezza biologica (BSL-3).

I seguenti test diagnostici di routine dei campioni possono essere gestiti in un laboratorio BSL-2 (vedi Tabella 2 riportante uno schema sui livelli di sicurezza biologica) usando le precauzioni standard:

- Utilizzo di strumenti e analizzatori automatici
- Elaborazione di campioni iniziali
- Colorazione e analisi microscopica di strisci fissi
- Esame di colture batteriche
- Esame patologico ed elaborazione di tessuti fissati in formalina o inattivati in altro modo
- Analisi molecolare di preparati di acido nucleico estratti
- Imballaggio finale dei campioni per il trasporto ai laboratori diagnostici per ulteriori test (i campioni devono essere già in un contenitore primario sigillato e decontaminato)

- Utilizzo di campioni inattivati, ad esempio campioni nel tampone di estrazione dell'acido nucleico
- Esecuzione di studi al microscopio elettronico con griglie fissate con gluteraldeide.

Tabella 2. **Gruppi di rischio per Livello di Biosicurezza**

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

Test decentralizzati e Point of Care

Per test diagnostici su campioni condotti al di fuori di un laboratorio BSL-2, come test respiratori rapidi eseguiti presso il punto di cura, utilizzare le Precauzioni Standard per fornire una barriera tra il campione e il personale durante la manipolazione del campione. Per ulteriori informazioni sulla raccolta, la manipolazione e il test dei campioni, fare riferimento a Raccomandazioni sulla prevenzione e il controllo delle infezioni per i pazienti con malattia coronavirus confermata 2019 (COVID-19) o Raccolta, manipolazione e test di campioni clinici da persone sotto inchiesta (PUI).

Procedure con elevata probabilità di generare goccioline o aerosol

Per le procedure con un'elevata probabilità di generare aerosol o goccioline, utilizzare una cappa di sicurezza biologica di classe II (BSC) certificata o precauzioni aggiuntive per fornire una barriera tra il campione e il personale. Esempi di queste precauzioni aggiuntive includono dispositivi di protezione individuale (DPI), come una maschera chirurgica o una visiera, o altre barriere fisiche, come una protezione antispruzzo; contenitori di sicurezza per centrifughe; e rotori per centrifuga sigillati per ridurre il rischio di esposizione al personale di laboratorio.

Devono essere eseguite valutazioni del rischio di biosicurezza specifiche del sito e dell'attività per determinare se ulteriori precauzioni di biosicurezza sono giustificate in base alle esigenze situazionali, come elevati volumi di test e la probabilità di generare goccioline e aerosol infettivi.

Decontaminazione

Decontaminare le superfici di lavoro e le attrezzature con disinfettanti appropriati. Utilizzare disinfettanti ospedalieri con certificazione EPA con indicazioni sull'etichetta di

efficacia contro SARS-CoV-2. Seguire le raccomandazioni del produttore per l'uso, come diluizione, tempo di contatto e manipolazione sicura.

Gestione dei rifiuti di laboratorio

Gestire i rifiuti di laboratorio derivante dai test dei campioni di pazienti sospetti o confermati COVID-19 come tutti gli altri rifiuti a rischio biologico in laboratorio. Attualmente, non ci sono prove che suggeriscano che questi rifiuti di laboratorio necessitino di ulteriori procedure di imballaggio o disinfezione.

Imballaggio e spedizione dei campioni

Imballare e spedire campioni, colture o isolati di sospetti e confermati SARS-CoV-2 come sostanza biologica UN 3373, categoria B, in conformità con l'attuale edizione dell'International Air Transport Association (IATA) Dangerous Goods Regulations. Il personale deve essere addestrato a imballare e spedire secondo le norme e in modo corrispondente alle loro responsabilità specifiche per funzione.

Domande frequenti sulla biosicurezza di laboratorio e SARS-CoV-2 (FAQs)

Domande sulla manipolazione dei campioni

D: Come devono essere conservati i campioni?

R: Conservare i campioni a 2-8 °C per un massimo di 72 ore dopo la raccolta. Se si verifica un ritardo nell'estrazione, conservare i campioni a -70 °C o inferiore. Conservare i campioni di acido nucleico estratti a -70 °C o meno.

D: In che modo il personale deve trasportare campioni sospetti o confermati SARS CoV-2 all'interno di una struttura?

R: Il personale deve aderire alle procedure standard associate ad altri agenti patogeni respiratori, come l'influenza stagionale e altri coronavirus umani, quando trasportano campioni all'interno di una struttura. Il personale deve eseguire valutazioni del rischio specifiche per sito e attività per determinare se sono giustificate maggiori precauzioni di biosicurezza in base alle esigenze situazionali.

D: Quali sono le precauzioni standard?

R: Le precauzioni standard si basano sul principio secondo cui tutto il sangue, i fluidi corporei, le secrezioni, la pelle non intatta, le mucose e le escrezioni (tranne il sudore) possono contenere agenti infettivi trasmissibili. Le precauzioni standard includono l'igiene delle mani e l'uso di dispositivi di protezione individuale (DPI) come camici da laboratorio o abiti, guanti e protezioni per gli occhi.

D: Cosa sono gli aerosol e le goccioline infettive?

R: Aerosol e goccioline contenenti particelle di diametro <100 µm non sono visibili ad occhio nudo. Gli operatori di laboratorio devono essere consapevoli del fatto che tali particelle possono essere generate durante molte procedure di laboratorio e che queste particelle possono essere inalate o contaminare in modo trasversale le superfici di lavoro, i materiali e le attrezzature.

Gli aerosol infettivi sono piccole particelle liquide o solide sospese nell'aria che contengono agenti infettivi. Possono disperdersi in tutto il laboratorio e rimanere infettivi nel tempo e nella distanza. Queste particelle hanno dimensioni che possono essere

inalate nel tratto respiratorio inferiore (<5 µm di diametro). Esempi di organismi trasmessi dagli aerosol includono spore di *Aspergillus* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, virus rubeola (morbillo) e virus varicella-zoster (varicella).

Le goccioline sono tradizionalmente definite come particelle infettive più grandi (> 5 µm di diametro) che cadono rapidamente dall'aria, contaminando i guanti, l'area di lavoro immediata e le mucose delle persone che eseguono la procedura.

Esempi di agenti infettivi che vengono trasmessi attraverso la via delle goccioline includono *Bordetella pertussis*, virus influenzali, adenovirus, *Mycoplasma pneumoniae*, coronavirus associato alla SARS (SARS-CoV), streptococco di gruppo A e *Neisseria meningitidis*.

D: Quali procedure possono generare aerosol e goccioline?

R: Molte procedure di laboratorio di routine possono potenzialmente generare aerosol e goccioline che spesso non sono rilevabili. Le seguenti procedure di laboratorio sono state associate alla generazione di aerosol e goccioline infettive: centrifugazione, pipettaggio, vortex, miscelazione, agitazione, sonicazione, rimozione di tappi, decantazione di liquidi, preparazione di strisci, vetrini fiammeggianti, aliquotazione e caricamento di campioni, caricamento di siringhe, manipolazione di aghi, siringhe o oggetti taglienti, aspirazione e trasferimento di sangue e fluidi corporei, subcoltura di bottiglie per emocolture, fuoriuscita di campioni e pulizia delle fuoriuscite.

Domande sull'imballaggio e spedizione dei campioni

D: A che temperatura devono essere spediti i campioni?

R: I campioni devono essere spediti a 2-8 °C con impacchi di ghiaccio. Se il campione è congelato, spedire durante la notte su ghiaccio secco. Il recipiente primario e l'imballaggio secondario devono mantenere la loro integrità alla temperatura del refrigerante utilizzato, nonché alle temperature e alle pressioni che potrebbero derivare dalla perdita di refrigerazione. I pacchetti contenenti ghiaccio secco devono essere progettati e costruiti in modo da prevenire l'accumulo di pressione e consentire il rilascio di gas che potrebbe rompere il pacchetto.

D: Quali informazioni sono necessarie sulla confezione esterna per la spedizione di campioni con impacchi di ghiaccio?

R: Assicurarsi che l'imballaggio esterno sia stato correttamente contrassegnato ed etichettato con quanto segue:

1. Pericolo etichettato con il numero di identificazione ONU già sull'etichetta - UN 3373
2. Sostanza biologica, categoria B
3. Nome, indirizzo e numero di telefono del mittente
4. Nome, indirizzo e numero di telefono del destinatario
5. Il nome e il numero di telefono di una persona responsabile sono facoltativi se presenti sulla fattura delle vie aeree

D: Una persona responsabile è richiesta per i documenti di spedizione?

R: Sì, una persona responsabile deve essere elencata sulla lettera di vettura aerea o sulla dichiarazione del mittente (se applicabile).

D: Una volta completata l'imballaggio dei campioni, i membri dello staff devono decontaminare l'area di lavoro?

R: Decontaminare le superfici di lavoro e le attrezzature con disinfettanti appropriati. Utilizzare disinfettanti ospedalieri con certificazione EPA con indicazioni sull'etichetta per essere efficaci contro SARS-CoV-2. Seguire le raccomandazioni del produttore per l'uso, come diluizione, tempo di contatto e manipolazione sicura.