

ISTRUZIONI OPERATIVE PER L'INVIO AL LABORATORIO DI RIFERIMENTO REGIONALE DI CAMPIONI RELATIVI ALLA SORVEGLIANZA DI MORBILLO E ROSOLIA

In base alla DGRPE 0033189-12/11/2018, i casi sospetti di morbillo e di rosolia devono essere indagati con appropriate indagini, eseguite in un laboratorio accreditato secondo i requisiti stabiliti dall'OMS, ovvero il LNR o un laboratorio della rete MoRoNET.

La UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza dell'Istituto Nazionale per le Malattie Infettive "Lazzaro Spallanzani" afferente alla rete MoRoNET, è il laboratorio di riferimento regionale per la Regione Lazio, designato con la DCA n. U00181 del 12 maggio 2015.

Si riportano le istruzioni operative su tipologia di campioni, modalità di trasporto, consegna dei campioni al Laboratorio di riferimento della regione Lazio.

Per ogni caso sospetto, va inviato un **campione di siero** sul quale il laboratorio di riferimento effettuerà i test sierologici previsti (ricerca di IgM e IgG). Inoltre, **contestualmente al campione di siero, va inviato anche un campione di urina**, destinato alla caratterizzazione molecolare del ceppo.

I campioni devono essere accompagnati dal sinottico "sorveglianza di laboratorio per morbillo/rosolia" (Allegato 1). Nel sinottico va specificata la ASL a cui indirizzare i referti con relativi recapiti telefonici e mail. Qualora presso la struttura richiedente siano già stati effettuati test preliminari, nel sinottico vanno riportati i risultati ottenuti. Le modalità dettagliate sono riportate nella sezione seguente.

Le ASL dovranno adoperarsi affinché i casi di morbillo e/o rosolia siano confermati con appropriate indagini di laboratorio, e possono anche farsi direttamente carico dell'invio dei campioni a scopo di sorveglianza, corredate dall'Allegato 1.

I risultati verranno comunicati alle ASL di appartenenza. Si sottolinea che l'indagine molecolare è effettuata generalmente solo a scopo di sorveglianza, e la tempistica generalmente non è compatibile con la gestione clinica dei pazienti. Il laboratorio di riferimento regionale si raccorderà con il laboratorio di riferimento nazionale per gli aspetti previsti nel succitato DGPRES, compreso l'invio dei campioni positivi alla PCR allo scopo della genotipizzazione.

Qualora la struttura che ha in carico il paziente (Reparti di ricovero e/o Pronto Soccorso) intenda richiedere esami sierologici e/o PCR **a scopo diagnostico**, che comportano la comunicazione alla struttura richiedente degli esiti in tempi compatibili con la gestione clinica, insieme ai campioni deve essere inviata la richiesta specifica, con Allegato A2. Si ricorda che, anche quando vengono richiesti esami a scopo diagnostico, vanno sempre e comunque ottemperati gli obblighi relativi alla sorveglianza. Ciò vuol dire che al laboratorio devono essere inviati comunque sia le urine che il siero, accompagnati dal sinottico di sorveglianza.

1. Tipologia e raccolta dei di campioni

La raccolta dei campioni va effettuata secondo le modalità indicate nel DGPRES, riassunte nello schema sottostante.

Campioni d'elezione:

Sangue venoso: il prelievo di sangue venoso, senza anticoagulanti, viene effettuato secondo le procedure standard.

Urine: il prelievo di urine (circa 10-50 ml) viene effettuato raccogliendo preferibilmente **le prime urine del mattino**, che contengono la maggior quota di cellule di sfaldamento delle vie urinarie in cui si trova il virus in fase acuta. Usare per la raccolta una provetta sterile o un contenitore per l'urinocoltura. Ideale per la ricerca del genoma virale effettuare il prelievo nel range 0-7gg dall'insorgenza dell'esantema.

Esame da effettuare	Tempo di raccolta	Tipologia di campioni	Provetta/Contenitore
Ricerca IgM e IgG specifiche	4-28 gg da esordio esantema	Sangue venoso	Provetta di sangue senza anticoagulanti
Ricerca di RNA virale	Entro 10 gg da esordio esantema	Urine (10-50 ml)	Contenitore per urino coltura o falcon da 50 ml

Conservazione e trasporto delle urine

Le urine vanno mantenute a +4°C. Il trasporto al Laboratorio deve essere effettuato entro il più breve tempo possibile, preferibilmente entro le 24 (comunque non oltre le 72 ore) e a temperatura refrigerata.

Alternativamente è possibile conservare le urine e consegnarle in un secondo momento previo adeguato trattamento:

- centrifugare (in una provetta da 50 ml) un volume di 10-50 ml di urine a 1500–2000 RPM per 10 minuti, preferibilmente a +4°C;
- eliminare il supernatante;
- risospingere il sedimento in 1-3 ml di PBS (Phosphate Buffered Saline);
- congelare il campione a -80°C o -20°C

I campioni congelati vanno trasportati preferibilmente in modo da evitare lo scongelamento. Se non si dispone di mezzi per mantenere il campione congelato, il trasporto va fatto almeno in ghiaccio.

In alternativa alle tipologie di campioni indicate, ai fini della sorveglianza è possibile effettuare tipologie alternative di prelievo, in particolare:

Prelievo di sangue capillare da fingerprick

Nel caso in cui non sia possibile effettuare il prelievo di sangue venoso per motivi organizzativi e/o rifiuto del paziente (per es. paziente gestito a domicilio o bambini molto piccoli), si potrà effettuare un fingerprick (puntura del polpastrello), raccogliendo le gocce di sangue su card costituite da carta da filtro Whatmann,

analoghe a quelle usate per la raccolta del sangue per gli screening neonatali. Le gocce di sangue vanno depositate negli appositi cerchi avendo cura di coprire tutta la superficie circolare disponibile, e fatte asciugare all'aria. Una volta asciutte, le card vanno racchiuse nell'apposito involucro e possono essere mantenute a temperatura ambiente fino all'invio.

Prelievo della saliva mediante Salivette

Il prelievo di saliva va effettuato entro 4-7 giorni dall'esordio dei sintomi.

La raccolta **va eseguita preferibilmente al mattino, prima di lavare i denti. Durante il giorno il campione di saliva può essere raccolto non prima che siano passati 30 minuti dall'assunzione di cibo o bevande.**

Modalità di effettuazione del prelievo:

- Aprire la provetta ed il contenitore interno ed estrarre il tampone d'ovatta (Salivette). La pellicola di plastica che avvolge il tampone non deve essere tolta.
- Strofinare il tampone sulla gengiva del paziente. Il tampone deve inumidirsi bene (ci vorranno uno o due minuti). I bambini più grandi e gli adulti possono masticare il tampone o tenerlo sotto la lingua. In questo caso, il tampone va tenuto in bocca finché il paziente sente di dover deglutire la saliva (di solito sono sufficienti 30-45 secondi).
- Reinserire il tampone nel contenitore interno e chiudere con il tappo la provetta di plastica esterna.
- Conservare a +4°C. Il trasporto al Laboratorio deve essere effettuato entro il più breve tempo possibile, preferibilmente entro le 24 (comunque non oltre le 72) ore e a temperatura refrigerata.

Qualora venga richiesto, il laboratorio di riferimento può fornire alle ASL **il kit per il prelievo** dei campioni, che contiene:

- Provetta da 50ml per raccolta delle urine
- Provetta per prelievo di sangue senza anticoagulanti
- Farfallina per prelievo
- Cartoncino per il prelievo di sangue capillare
- Provetta per la raccolta della saliva (Salivette)
- Etichette
- Sinottico di sorveglianza integrata morbillo/rosolia (Allegato 1)

La richiesta del kit deve essere inviata via e-mail ai seguenti indirizzi: **licia.bordi@inmi.it**; **leonora.lalle@inmi.it**.

2. Etichettatura dei campioni e documentazione

I campioni devono essere accompagnati da:

- Sinottico morbillo/rosolia (in calce) se provenienti dalle ASL, Pronto Soccorso o Ospedali che effettuano l'invio ai fini esclusivi di sorveglianza
- Allegato A/2 se provenienti da strutture di Pronto Soccorso o Ospedali che richiedano le prestazioni a scopo diagnostico

Su ogni singolo campione deve essere apposta un'etichetta riportante a chiare lettere il nome del paziente, la tipologia del campione (sangue, urine, tampone salivare) e la data di prelievo.

Il sinottico “sorveglianza di laboratorio per morbillo/rosolia” e l'Allegato A/2 devono riportare chiaramente il medico referente e i recapiti (telefonici fax ed e-mail) per le comunicazioni.

3. Confezione e trasporto

Il trasporto dei campioni al laboratorio va eseguito secondo le correnti *raccomandazioni per il trasporto di campioni diagnostici*.

4. Consegna dei campioni

L'indirizzo cui inviare in campioni è:

**Laboratorio di Virologia
Padiglione Baglivi
Istituto Nazionale per le Malattie Infettive “L. Spallanzani”
Via Portuense 292
00149 Roma**

5. Contatti

Il Laboratorio di Virologia è attivo **h24**.

Il virologo di turno può essere reperito ai seguenti numeri:

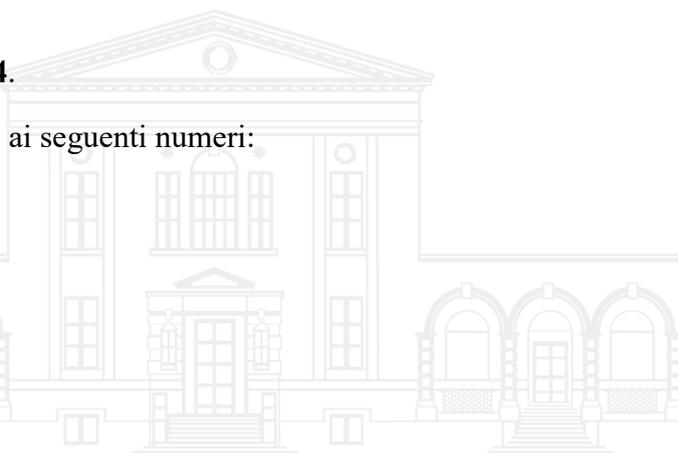
- tel. 0655170666
- cell. 3204343793

Ulteriori recapiti utili:

Accettazione: tel. 0655170674

Dott.ssa Licia Bordi: tel. 0655170693

Dott.ssa Eleonora Lalle: tel. 0655170665



Allegato 1. Sinottico di sorveglianza di laboratorio per morbillo/rosolia

REGIONE _____ ASL _____ COMUNE _____

DATI ANAGRAFICI DEL PAZIENTE

Cognome e nome	Sesso M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>
Nato il ____ / ____ / ____ a	Provincia
Domicilio: Comune	Provincia
Residenza (se diversa da domicilio): Comune	Provincia

DIAGNOSI CLINICA

Morbillo Rosolia Parotite

STATO VACCINALE

Precedente vaccinazione contro morbillo, rosolia, parotite e varicella.

No Non so, non ricordo

Vaccino MPR

Sì, 1 dose Sì, 2 dosi Sì, non ricordo le dosi

Vaccino MPRV

Sì, 1 dose Sì, 2 dosi Sì, non ricordo le dosi

Sì solo Morbillo Sì solo Parotite Sì solo Rosolia Sì solo Varicella

Se sì, quando ha effettuato l'ultima dose (gg/mm/aaaa): ____ / ____ / ____
(gg/mm/aaaa)

DATI CLINICI

Data di comparsa dell'esantema o della tumefazione parotidea: (gg/mm/aaaa) ____ / ____ / ____

Tipo di prelievo: Sangue Saliva Urine Altro (Specificare:)

Data del prelievo (gg/mm/aaaa): ____ / ____ / ____

Il caso appartiene ad un focolaio? No Sì Non so

Medico referente (a cui inviare i risultati di laboratorio):

Nome Cognome

Struttura:

N° di telefono N.Fax: Email:

Eventuali risultati di laboratorio effettuati presso la struttura richiedente:

Morbillo: IgM.....IgG.....PCR

Rosolia: IgM.....IgG.....PCR.....



Struttura Complessa Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza.
Direttore: Dott. Fabrizio Maggi; e-mail: fabrizio.magg@inmi.it; Tel. 0655170914 Fax 065594555

Allegato "A"/2

DA:

RICHIEDENTE: _____

RAGIONE SOCIALE (SE DIVERSA DAL RICHIEDENTE): _____

INDIRIZZO: _____

PARTITA IVA: _____

A:

ISTITUTO NAZIONALE PER LE MALATTIE INFETTIVE "LAZZARO SPALLANZANI" – "I.R.C.C.S."

COGNOME E NOME	RICHIESTA

MEDICO RICHIEDENTE _____ DATA _____

FIRMA E TIMBRO DEL DIRETTORE SANITARIO
DELLA STRUTTURA RICHIEDENTE

PARTE DA COMPILARE A CURA DELL'U.O. DELL'ISTITUTO "L. SPALLANZANI" – CHE EFFETTUA LA
PRESTAZIONE

PRESTAZIONI ESEGUITE IL: _____

PRESTAZIONI ESEGUITE	IMPORTO

FIRMA E TIMBRO DI CHI EFFETTUA LA PRESTAZIONE

FIRMA E TIMBRO DEL DIRETTORE DEL DIPARTIMENTO
