



Istituto Nazionale per le Malattie Infettive
Struttura Complessa Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

Allegato B

Istruzioni operative per l'invio di campioni relativi alla diagnosi di infezione da arbovirus al Laboratorio di Riferimento Regionale (Rev. 1 del 12/05/2022)

Ai fini degli accertamenti relativi alle infezioni da arbovirus, si riportano le istruzioni operative su tipologia di campioni, modalità di trasporto, consegna dei campioni diagnostici al Laboratorio di Virologia dell'INMI "L. Spallanzani". Si precisa che le istruzioni specifiche per l'infezione da virus West Nile sono state compilate in un documento dedicato.

Prima di inviare campioni, è necessario contattare il laboratorio.

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

Il virologo di turno può essere reperito ai seguenti numeri telefonici:

- 0655170666
- 3204343793

Il referente, Direttore del Laboratorio f.f., D.ssa Garbuglia: tel. 0655170692

Ulteriori recapiti utili:

- Accettazione: tel. 0655170674; fax 0655170676
- Segreteria: fax 065594555

La diagnosi si basa sulla ricerca diretta del virus o dell'acido nucleico virale, o sulla base della risposta anticorpale. Il virus è presente solo nelle fasi iniziali dell'infezione (generalmente non più di 5 giorni dall'esordio clinico), e può presentare diversa localizzazione a seconda della manifestazione clinica. Gli anticorpi si sviluppano più tardivamente: le IgM si possono rilevare a partire da 4-5 giorni dopo l'esordio clinico, e possono perdurare alcuni mesi; le IgG si sviluppano con qualche giorno di ritardo rispetto alle IgM, e perdurano indefinitamente. In genere quando compaiono i primi anticorpi il virus non è più rilevabile nel sangue, ma può permanere in altri distretti dell'organismo. La negatività alla ricerca diretta del virus o dei suoi prodotti non necessariamente indica assenza di infezione; pertanto, ai fini della diagnosi definitiva di esclusione, è opportuno basarsi sulla assenza di sieroconversione, per cui è essenziale un doppio prelievo, uno in fase acuta (entro 5 giorni dall'esordio clinico) ed uno in fase convalescente, distanziato di 10-15 giorni dal primo prelievo.

Esami molecolari: E' stato allestito un pannello molecolare che si basa su metodi diversi e complementari, che permettono lo screening e la conferma di infezione, nonché la caratterizzazione molecolare dei virus. Tali test vengono eseguiti non in regime di urgenza; la refertazione di solito viene conclusa nel giro di 5 giorni.

Esami sierologici: E' disponibile un pannello sierologico che si basa su metodi diversi e complementari, che sono necessari per affrontare i problemi legati alla cross-reattività fra virus appartenenti alla stessa famiglia. Essi comprendono la ricerca di IgM ed IgG mediante Immonofluorescenza indiretta (IFA) basata su pannelli comprendenti vari arbovirus e l'eventuale test di siero-neutralizzazione virus-specifica.

Diagnosi differenziale: l'esecuzione dei test diagnostici (molecolari e sierologici) per un arbovirus è associata all'esecuzione di altri test per la diagnosi differenziale rispetto ad altre infezioni epidemiologicamente correlate e clinicamente simili (es. Zika vs Dengue e Chikungunya). Oltre ai pannelli specifici per arbovirus, i laboratori di Virologia e di

Microbiologia dell'INMI Spallanzani offrono un ampio pannello di test diagnostici verso altre infezioni sostenute da agenti non esclusivamente virali, quali: malaria, febbre tifoide, shigellosi, colera, leptospirosi, peste, rickettsiosi, febbre ricorrente (borreliosi da pidocchi), morbillo, infezione da enterovirus, influenza, bartonellosi, ecc. Per concordare l'orientamento più opportuno nella diagnosi differenziale è essenziale la comunicazione diretta con il laboratorio.

Si riportano di seguito le informazioni generali sull'invio dei campioni diagnostici, ribadendo che, in base a quanto sopra espresso, è essenziale che il medico richiedente consulti il laboratorio per concordare le indagini più appropriate e la tipologia di campione da inviare.

1. Tipologia dei campioni da inviare

Fase della malattia	Tipologia di campioni	Tipologia di contenitore
Fase acuta sintomatica <i>(Entro i primi 5 giorni dall'esordio)</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Sangue/EDTA per RT-PCR - Sangue senza anticoagulanti per RT-PCR e sierologia - Urine - Saliva o Tampone salivare - Liquor <i>(in caso di sintomatologia neurologica)</i> <p>In base alla valutazione congiunta con il laboratorio ed alla presentazione clinica, possono essere inviati campioni biologici aggiuntivi, quali:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Liquido seminale, tampone vaginale, altro 	<ul style="list-style-type: none"> - Provetta sterile infrangibile (almeno 4 ml) - Provetta sterile infrangibile (almeno 4 ml) - Contenitore infrangibile sterile (provetta o contenitore per urinocultura. Almeno 5 ml) - Tampone floccato in terreno di trasporto virale (almeno 2 ml, non contenente inattivanti) in flacone infrangibile. - Contenitore infrangibile sterile (almeno 1 ml) - Da concordare con il Laboratorio
Fase di risoluzione della sintomatologia, <i>(comunque non prima di 7/10 giorni dall'inizio della sintomatologia)</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Sangue senza anticoagulanti per sierologia - Urine - Saliva o Tampone salivare - Liquor <i>(in caso di sintomatologia neurologica)</i> <p>In base alla valutazione congiunta con il laboratorio ed alla presentazione clinica, possono essere inviati campioni biologici aggiuntivi, quali:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Liquido seminale, tampone vaginale, altro 	<ul style="list-style-type: none"> - Provetta sterile infrangibile (almeno 4 ml); - Contenitore infrangibile sterile (come sopra). - Tampone floccato in terreno di trasporto virale (come sopra) in flacone infrangibile. - Contenitore infrangibile sterile (almeno 1 ml). - Da concordare con il Laboratorio

I campioni vanno mantenuti refrigerati (+4-8°C) prima dell'invio e possibilmente durante il trasporto.

2. Modalità di prelievo dei campioni respiratori

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

riportate sulle provette devono essere coerenti con quelle inserite nell'allegato A2 per l'invio di campioni per sospetta arbovirosi.

I prelievi devono essere accompagnati da:

- **Scheda di notifica e sorveglianza dedicata;**
- **Allegato A2 compilato in ogni sua parte.** Il modello di allegato A2 specifico per gli arbovirus è accluso in calce alla procedura. Tale modello è utilizzabile anche per la richiesta di esami per l'eventuale screening di donatori di organo/tessuti, qualora le disposizioni del CNT e del CNS lo prevedano. Nell'allegato A2 è **necessario elencare la tipologia dei campioni inviati, il recapito telefonico** del medico richiedente ed il numero di **fax** al quale inviare il referto.

3. Confezione e trasporto

Il trasporto al Laboratorio deve essere effettuato entro il più breve tempo possibile, preferibilmente entro le 24 ore. I campioni vanno mantenuti refrigerati (+4-8°C) durante il trasporto, evitando che congelino per contiguità con i panetti utilizzati per mantenere la refrigerazione se questi sono a temperatura troppo al disotto di quella di congelamento (es. -80°C).

Per tempi di consegna più prolungati, vanno presi accordi con il laboratorio per stabilire le modalità più opportune di preparazione e conservazione dei campioni.

Ai fini della biosicurezza, il trasporto dei campioni al laboratorio va eseguito secondo le correnti *raccomandazioni per il trasporto di campioni diagnostici*.

Si ricorda che, prima di inviare i campioni, è necessario contattare il laboratorio attivo h24.

Il virologo di turno è rintracciabile ai seguenti numeri:

- Telefono Fisso 0655170666
- Cellulare: 3204343793)

e darà tutte le informazioni necessarie per il corretto trasporto dei campioni e, in caso di necessità, potrà fornire indicazioni per contattare un corriere in grado di effettuare la spedizione.

4. Consegna dei campioni

L'indirizzo cui inviare i campioni è il seguente

Laboratorio di Virologia

Padiglione Baglivi

Istituto Nazionale per le Malattie Infettive "L. Spallanzani"

Via Portuense 292

00149 Roma

5. Trasmissione dei risultati

I risultati degli esami eseguiti saranno inviati (eventualmente via fax se espressamente specificato nell'Allegato A2) con la massima tempestività, e comunque entro 48-72 ore, al medico richiedente, secondo quanto previsto nel citato DPGRE. Si raccomanda di specificare i recapiti telefonici e fax nell'Allegato A/2, per favorire la tempestività della comunicazione.

Il Laboratorio di Riferimento Regionale si raccorderà con il Laboratorio di riferimento Nazionale per quanto di competenza secondo quanto previsto nel citato DPGRE.

ALLEGATO "A"/2 (Arbovirus)

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.

Identificazione del Paziente:

Cognome _____ Nome _____ Data di nascita _____

Reparto di provenienza _____

Motivo della richiesta di test:

- Screening pre-trapianto Diagnosi di infezione

Campioni inviati:

- | | | |
|--------------------------------------|---|---|
| <input type="checkbox"/> Siero | <input type="checkbox"/> Saliva | <input type="checkbox"/> Tampone rettale |
| <input type="checkbox"/> Urine | <input type="checkbox"/> Liquor | <input type="checkbox"/> Striscio di sangue |
| <input type="checkbox"/> Sangue/EDTA | <input type="checkbox"/> Tampone faringeo | <input type="checkbox"/> Goccia spessa |
| <input type="checkbox"/> Altro | | |

(specificare) _____

ESAMI RICHIESTI	

IL MEDICO RICHIEDENTE

(Nome in stampatello) _____

firma del richiedente _____

DATA _____

Recapiti per le comunicazioni: _____

N. di fax al quale inviare il referto: _____

**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	PRESTAZIONI ESEGUITE	IMPORTO

FIRMA E TIMBRO DI CHI EFFETTUA LA PRESTAZIONE

FIRMA E TIMBRO DEL DIRETTORE DEL DIPARTIMENTO
