



*Istituto Nazionale per le Malattie Infettive
Struttura Complessa Laboratorio di Virologia.*

Direttore: D.ssa M.R. Capobianchi

e-mail: maria.capobianchi@inmi.it; Tel. 0655170434 Fax 065594555

Allegato 5

Istruzioni operative per l'invio di campioni relativi alla diagnosi di infezione da Coronavirus emergenti (MERS-CoV, SARS, 2019-nCoV)

Ai fini degli accertamenti relativi all'infezione di Coronavirus respiratori emergenti, si riportano le istruzioni operative su tipologia di campioni, modalità di trasporto, consegna dei campioni diagnostici al Laboratorio di Virologia dell'INMI "L. Spallanzani", da parte di **Istituzioni Esterne**.

Prima di inviare campioni, è necessario contattare preventivamente il laboratorio.

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

Il virologo di turno può essere reperito ai seguenti numeri:

- 0655170666
- 3204343793

Ulteriori recapiti utili:

Accettazione: tel 0655170674; fax 0655170676

Segreteria: fax 065594555

1. Tipologia di campioni

Fase della malattia	Tipologia di campioni
<i>I) Inizio sintomatologia</i>	<ul style="list-style-type: none">- Prelievo del tratto respiratorio inferiore o superiore (Bal, espettorato, tampone faringeo o naso-faringeo o altro**)- Sangue senza anticoagulanti per sierologia (1 provetta)- Urine- Feci (se con sintomatologia diarroica)
<i>II) Fasi avanzate della malattia</i>	<ul style="list-style-type: none">- Prelievo del tratto respiratorio inferiore o superiore (Bal, espettorato, tampone faringeo o naso-faringeo o altro**)- Sangue senza anticoagulanti per sierologia (1 provetta)- Urine- Feci (se con sintomatologia diarroica)

* In analogia con quanto osservato per gli altri coronavirus respiratori emergenti, la sieroconversione per 2019-nCoV potrebbe richiedere tempi più lunghi; l'OMS consiglia un intervallo di 21 giorni fra prelievo acuto e convalescente.

Inoltre si fa presente che in caso di infezione da coronavirus respiratori emergenti la presenza del virus nelle secrezioni del tratto superiore può essere scarsa e fugace, quindi non rilevabile anche con le tecniche molecolari, per cui il campione di elezione è quello proveniente dal tratto respiratorio inferiore.

****In base alla presentazione clinica ed alla sintomatologia, è possibile inviare campioni di tipologia diversa, previo accordo con il Laboratorio di Riferimento.**

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

2. Modalità di prelievo dei campioni respiratori

Tratto respiratorio inferiore

I prelievi del tratto respiratorio inferiore sono i **campioni di elezione** per la diagnosi. Raccogliere l'espettorato, il lavaggio broncoalveolare (Bal) o il BroncoAspirato (BAS) utilizzando le precauzioni per la protezione da aerosol, in una provetta sterile.

Secondo le linee guida del WHO, l'espettorato indotto non è un campione da tenere in considerazione per la diagnosi perché, per la possibilità di generare aerosol, pone ad un rischio ancora più elevato l'operatore

(https://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/LaboratoryTestingNovelCoronavirus_21Dec12.pdf).

Tratto respiratorio superiore

Tampone nasofaringeo (NF)/orofaringeo(OF)

Eseguire il tampone NF o OF avendo cura di raccogliere una buona quantità di secrezione, utilizzando i tamponi associati agli appositi Kit di trasporto virale, o tamponi secchi (preferenzialmente in dacron) da inserire in provette con liquido di trasporto virale sterile, o, in alternativa, soluzione fisiologica, o PBS, o terreno MEM o RPMI (volume 2 ml). Per arricchire il campione è necessario ripetere il campionamento più di una volta, utilizzando almeno 2 differenti tamponi e stemperando comunque i tamponi in un'unica provetta. **In nessun caso i tamponi vanno conservati a secco oppure introdotti nei preparati per microbiologia**

2. Etichettatura dei campioni e documentazione

Su ogni singolo campione deve essere apposta un'etichetta riportante a chiare lettere il nome del paziente, la tipologia del campione (tampone faringeo, Bal, ecc.) e la data di prelievo. Le informazioni riportate sulle provette **devono essere coerenti** con quelle inserite nell'allegato A2.

I prelievi devono essere accompagnati da:

- **Allegato A2** compilato in ogni sua parte **va specificato il numero di fax al quale inviare il referto (in calce al presente allegato)**
- **Copia dell' Allegato 3** - Scheda per la segnalazione di casi di infezione da virus respiratori.

Poiché i test diagnostici completi possono comprendere indagini accessorie e/o di conferma, come ad es. ripetizione di PCR con primers diversi, identificazione degli isolati con PCR e/o sequenziamento, ecc., secondo le indicazioni che vengono periodicamente aggiornate dall'OMS e

dai CDC, la regolarizzazione amministrativa delle indagini eseguite verrà effettuata a consuntivo dei test eseguiti, in maniera concordata tra l'INMI e l'Istituzione richiedente, sulla base del tariffario istituzionale vigente.

2. Confezione e trasporto

Confezionare il pacco per i campioni clinici utilizzando contenitori adeguati a norma di legge (Circolare n. 3 dell'8 maggio 2003 del Ministero della Salute) per l'invio di materiale biologico, categoria B codice UN3373. E' fatto obbligo di utilizzare un triplo imballaggio, formato da un imballo esterno, uno intermedio ed uno interno a tenuta stagna, conforme alle disposizioni vigenti. Il pacco deve essere provvisto di un'etichetta che riporti i dati del mittente e del destinatario. I campioni vanno mantenuti refrigerati (+4-8°C) prima dell'invio. Il trasporto al Laboratorio deve essere effettuato entro il più breve tempo possibile, preferibilmente entro le 24 ore e a temperatura di refrigerazione. Per tempi di consegna più prolungati, vanno presi accordi con il laboratorio per stabilire le modalità più opportune di preparazione e conservazione dei campioni.

3. Consegna dei campioni

L'indirizzo cui inviare i campioni è:

L'indirizzo cui inviare i campioni è:

Laboratorio di Virologia

Padiglione Baglivi

Istituto Nazionale per le Malattie Infettive "L. Spallanzani"

Ingresso carrabile: via Giacomo Folchi, 6a

00149 Roma

4. Esecuzione degli esami e trasmissione dei risultati

Esami molecolari: Sono stati allestiti dei pannelli molecolari che si basano su metodi diversi e complementari, che permettono lo screening, la conferma e la caratterizzazione molecolare dei virus. I risultati saranno comunicati nel più breve tempo possibile, compatibilmente con l'esecuzione di test accessori per circostanziare la diagnosi.

Esami sierologici e diagnosi differenziale: I risultati delle indagini sierologiche e della eventuale diagnostica differenziale saranno disponibili nei tempi previsti per la diagnostica virologica standard.

Si raccomanda di indicare chiaramente nell'allegato A2 il numero di fax per la trasmissione dei risultati.

SISTEMA SANITARIO REGIONALE



IRCCS
LAZZARO SPALLANZANI