

ALLEGATO 4

Istruzioni per la raccolta dei campioni per la conferma della diagnosi di morbillo, rosolia e parotite, e per la genotipizzazione virale

Per la conferma di laboratorio dei casi sospetti di morbillo o rosolia le ASL possono avvalersi dei laboratori locali o, in alternativa, dei Laboratori di Riferimento Regionali, laddove esistono, o del Laboratorio di Riferimento Nazionale presso l'Istituto Superiore di Sanità. Il laboratorio nazionale di riferimento esegue test sierologici, test molecolari (PCR) e sequenziamento ed analisi delle sequenze. Per le ASL che intendono avvalersi del laboratorio nazionale per la conferma della diagnosi e per la genotipizzazione virale, il laboratorio mette a disposizione dei kit per la raccolta dei campioni ed il ritiro dei campioni stessi. Le ASL che faranno riferimento ai laboratori regionali dovranno concordare con questi le procedure per l'invio dei campioni.

Poiché in Europa continuano a verificarsi epidemie causate dal virus della parotite e tutti i Paesi europei utilizzano vaccini combinati morbillo-parotite-rosolia (MPR) nei programmi di immunizzazione nazionale, il presente allegato comprende anche le istruzioni per la raccolta dei campioni nei casi di sospetta parotite che potranno essere inviati al Laboratorio di Riferimento Nazionale.

1. ISTRUZIONI GENERALI per la raccolta dei campioni

La corretta scelta dei tempi di prelievo dei campioni biologici rispetto all'insorgenza delle manifestazioni cliniche è importante per l'interpretazione dei risultati e per giungere ad una conferma della diagnosi. Dopo il prelievo, i campioni vanno inviati al laboratorio il più rapidamente possibile.

1.1. Campioni per la ricerca delle IgM: Un campione di sangue capillare o venoso per la ricerca delle IgM deve essere raccolto da tutti i casi sospetti di morbillo o di rosolia al primo contatto con il medico, o, preferibilmente, tra 4 e 28 giorni dopo la comparsa dell'esantema (o della tumefazione parotidea nel caso di sospetta parotite).

1.2. Campioni per la ricerca dell'RNA virale, l'isolamento e la genotipizzazione: Un campione di urine e/o di saliva deve essere raccolto al primo contatto con il medico e, comunque, non oltre 10 giorni dalla comparsa dell'esantema (o della tumefazione parotidea nel caso di sospetta parotite), periodo entro il quale il virus è più facilmente isolabile.

- **Urine:** Il campione ideale è rappresentato dalle prime urine eliminate al mattino in quanto contengono la quota maggiore di cellule di sfaldamento delle vie urinarie nelle quali è presente il virus del morbillo nella fase acuta dell'infezione. Il campione adeguato è pari a 10-50 ml di urine.
- **Saliva:** La raccolta di saliva 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.

1.3. Campioni per il dosaggio delle IgG: È possibile confermare la diagnosi di morbillo o di rosolia anche attraverso la dimostrazione di un aumento del titolo anticorpale IgG, di almeno quattro volte dalla fase acuta alla fase convalescente della malattia. In questo caso è necessario disporre di due campioni di sangue, uno prelevato in fase acuta (alla comparsa dei sintomi) ed uno prelevato in fase convalescente (almeno due settimane dopo) che devono essere testati nella stessa seduta analitica.

Nota: La soluzione ideale è effettuare contemporaneamente sia il prelievo di sangue per la ricerca delle IgM sia il prelievo di urine e di saliva per la ricerca dell'RNA virale. Questo è possibile se i prelievi vengono tutti effettuati **tra il 4° ed il 10° giorno** dall'esordio dell'esantema (per i casi sospetti di morbillo o rosolia), o della tumefazione parotidea (per i casi sospetti di parotite).

2. CAMPIONI INVIATI ALL'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

L'Istituto Superiore di Sanità fornisce dei Kit per il prelievo dei campioni nei casi sospetti di Morbillo, Rosolia e Parotite. **La richiesta dei Kit deve essere inviata all'Istituto Superiore di Sanità via Fax al n° 06-49902082 o via e-mail: morbillo.mipi@iss.it**

Il kit di raccolta contiene:

- Provetta per il prelievo delle urine
- Provetta per la raccolta della saliva
- Strisce di carta bibula per la raccolta del sangue capillare
- Lancetta
- Etichette
- Scheda identificativa paziente.

Le istruzioni per la raccolta e l'invio dei campioni sono riportate di seguito.

PRIMA DI ESEGUIRE I PRELIEVI contattare il Laboratorio ai numeri: Tel: 06-49903235/06-49902663/06-49903242 e inviare un fax al n.(Fax. 06-49902082) o un'e-mail all'indirizzo morbillo.mipi@iss.it. Il Laboratorio provvederà a inviare un corriere per il ritiro dei campioni.

Nel fax o email specificare le informazioni per il ritiro, che sono:

- Nome di una persona di riferimento
- Indirizzo
- N° di telefono
- Orari nei quali è possibile effettuare il ritiro.

A) Raccolta dei campioni di sangue capillare per la ricerca delle IgM

A.1 Tempo di raccolta

- 4°-28° giorno dalla comparsa dell'esantema o della tumefazione parotidea
- I prelievi possono essere eseguiti contemporaneamente alla raccolta delle urine e della saliva per l'isolamento virale, tra il **4° ed il 10° giorno** dall'inizio dei sintomi

A.2 Come eseguire il prelievo di sangue capillare

- Pungere con la lancetta il dito indice o il tallone (per i lattanti). Raccogliere sulla carta bibula da 3 a 6 gocce di sangue. Ogni striscia può contenere due-tre gocce di sangue.
- Le strisce vanno lasciate asciugare all'aria e poi inserite in busta etichettata con nome e cognome del paziente e la data di prelievo del campione.
- Le strisce di carta bibula vanno conservate a temperatura ambiente o in frigorifero fino al momento della spedizione.
- Istruzioni più dettagliate per il prelievo sono riportate nel foglio allegato al kit.

B) Raccolta dei campioni per la ricerca dell'RNA o l'isolamento virale e la genotipizzazione

La ricerca e la caratterizzazione dell'RNA sono importanti per tipizzare il genoma e risalire all'origine geografica del virus.

B.1 Tempo di raccolta

- I campioni di urine e di saliva devono essere raccolti entro 10 giorni dalla comparsa dell'esantema o della tumefazione parotidea.
- Le urine e la saliva possono essere raccolte contemporaneamente ai prelievi di sangue, tra il **4° ed il 10° giorno** dall'inizio dei sintomi.

B.2 Modalità di raccolta delle urine

- I campioni ideali sono rappresentati dalle prime urine eliminate al mattino in quanto contengono la quota maggiore di cellule di sfaldamento delle vie urinarie nelle quali è presente il virus del morbillo nella fase acuta dell'infezione
- Il campione adeguato è pari a 10-50 ml di urine
- Le urine vanno raccolte usando la provetta fornita con il kit o un qualsiasi contenitore per urinocoltura.
- Il contenitore deve essere etichettato con il nome del paziente, la data del prelievo e la data di esordio dell'esantema
- Le urine vanno conservate a +4°-8° C.

B.3 Come eseguire il prelievo di saliva

- La raccolta di saliva 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.
- 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)
- Rimettere il tampone nel contenitore interno, e questo nella provetta di plastica.
- Scrivere sull'etichetta il nome e cognome del paziente e la data di prelievo del campione. Attaccare l'etichetta sull'esterno della provetta.
- Istruzioni più dettagliate per il prelievo sono riportate nel foglio allegato al kit.

C) Come inviare i campioni al laboratorio di riferimento nazionale

La confezione dei campioni per il trasporto va effettuata nel modo seguente:

- Inserire la Salivette e la carta bibula nella busta di plastica.
- Compilare la scheda di trasmissione per gli accertamenti di laboratorio ed inserirla nella tasca esterna della busta di plastica.
- Inserire il tutto, insieme al campione di urine (Attenzione: **AVVITARE BENE IL COPERCHIO**) in una scatola (preferibilmente di polistirolo).
- Conservare il pacco in frigorifero.

Sul pacco è necessario specificare:

- 1. IL NOME DEL MITTENTE**
- 2. che la spedizione è in PORTO ASSEGNATO**
- 3. che il destinatario è il Dott. Fabio Magurano**
- 4. l'indirizzo: Dipartimento MIPI, Istituto Superiore di Sanità. Viale Regina Elena 299 - 00161 Roma**
- 5. che si tratta di CAMPIONE BIOLOGICO PER ANALISI**

3. CAMPIONI INVIATI AI LABORATORI REGIONALI

Le ASL che intendono avvalersi dei Laboratori Regionali devono prendere contatto con gli stessi per definire le modalità di invio. Restano validi i tempi dei prelievi indicati nella parte generale del presente documento.