

ISTRUZIONI PER LA RACCOLTA DEI CAMPIONI

Si richiede di effettuare sempre il test sierologico per la ricerca delle IgM specifiche e di proporre anche il test sierologico con la ricerca delle IgG e se possibile effettuare sempre anche la raccolta di campioni di urine o di saliva per l'isolamento virale.

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 **tra il 4° ed il 10° giorno dall'esordio dell'esantema**.

La conferma di laboratorio consiste in:

- Test positivo per IgM specifiche, su un campione di siero prelevato in fase acuta ed in assenza di vaccinazione recente;
- Aumento significativo delle IgG specifiche (di almeno 4 volte) dosate su due campioni di siero prelevati in fase acuta e convalescente (dopo 2-4 settimane);
- Isolamento del virus selvaggio (escluso ceppo vaccinico) da un campione biologico prelevato in fase acuta;
- Ricerca del genoma virale mediante PCR su un campione biologico prelevato in fase acuta.

Prelievo di urine 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.

Tempo di raccolta

- I campioni di urine devono essere raccolti entro e non oltre 10 giorni dalla comparsa dell'esantema.
- Le urine possono essere raccolte contemporaneamente ai prelievi di sangue, tra il 4° ed il 10° giorno dalla comparsa del rash.

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 40-50 ml di urine;
- Le urine vanno raccolte usando preferibilmente una provetta con tappo a vite o, in assenza di questa, un qualsiasi contenitore per urinocultura.
- Il contenitore deve essere ben chiuso ed 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.

Prelievo di campione di sangue

Modalità e Tempo di raccolta

- E' previsto che un campione di sangue per il dosaggio delle IgM specifiche sia raccolto da tutti i casi tra 4 e 28 giorni dopo la comparsa dell'esantema.
- I prelievi possono essere eseguiti contemporaneamente alla raccolta delle urine/saliva per l'isolamento virale, tra il 4° ed il 10° giorno dall'inizio dell'esantema.
- Il campione adeguato da raccogliere è di almeno 5ml per adulti e adolescenti e almeno 1 ml per i bambini.
- Il sangue intero non deve essere congelato ma deve essere conservato in frigorifero alla temperatura di 4-8°C e fatto pervenire al laboratorio di riferimento per effettuare il test entro 24 ore.
- Qualora il primo prelievo fosse stato raccolto entro 3 giorni dall'esordio del rash (è il caso dei

prelievi raccolti in PS, Ospedale) e risultasse negativo, sarebbe meglio procedere con la raccolta di un secondo campione. Se i campioni di sangue sono prelevati entro le 72 ore dalla comparsa dell'esantema, i test IgM per morbillo possono dare un risultato falso negativo fino al 30% dei casi e per rosolia fino al 50%.

Tecniche alternative di campionamento (attualmente non ancora validate dal Laboratorio)

Recentemente il laboratorio WHO ha validato due tecniche alternative di campionamento per la sorveglianza di morbillo e rosolia: il prelievo di sangue capillare e il prelievo di saliva.

Il sangue capillare può essere utilizzato in alternativa al siero poiché gli anticorpi risultano stabili in questa forma e non necessita del mantenimento della catena del freddo.

I campioni di saliva sono facili da raccogliere, non sono tecniche invasive e pertanto sono maggiormente accettate dalla popolazione.

I campioni di saliva e di sangue capillare possono essere utilizzati anche per l'identificazione del genoma virale.

Prelievo dei campioni di sangue capillare

Tempo di raccolta

- Il prelievo può essere eseguito tra il 4°-28° giorno dalla comparsa dell'esantema.
- Se eseguito contemporaneamente alla raccolta delle urine/saliva, tra il 4° ed il 10° giorno dall'esordio dell'esantema.

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.
- 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.

Prelievo di saliva

- I campioni di saliva devono essere raccolti entro e non oltre 10 giorni dalla comparsa dell'esantema.
- Se eseguiti contemporaneamente ai prelievi di sangue, tra il 4° ed il 10° giorno dall'esordio dell'esantema.
- 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 tra la mucosa della guancia e la gengiva del paziente. Il tampone deve inumidirsi bene (ci vorranno uno o due minuti).
- Per gli adolescenti e gli adulti, il tampone va tenuto in bocca fino a quando non risulti ben inumidito (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.
- Informazioni più dettagliate verranno fornite dalla ditta produttrice dei dispositivi di raccolta della saliva.

- Se la temperatura esterna è inferiore ai 22°C i campioni dovrebbero essere inviati al laboratorio di riferimento entro 24 ore. A temperature esterne più elevate è opportuno conservare i campioni in frigorifero e inviarli al laboratorio mediante trasporto refrigerato.

Affinché il risultato dei prelievi possa essere considerato attendibile è indispensabile avvalersi del Laboratorio di Riferimento Regionale:

**SC Microbiologia e Virologia U
Città della Salute e della Scienza- Presidio Molinette
Corso Bramante 88- Torino**