



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

Guida Pratica Utente (GPU)

Sommario

1. SCOPO	2
2. CAMPO DI APPLICAZIONE.....	2
3. RESPONSABILITÀ.....	2
4. DESCRIZIONE	2
4.1 Dotazione strumentale.....	2
4.2 Gli utenti e la tipologia di prestazioni.....	3
4.3 Attività H24	3
5. AREE di COMPETENZA	3
5.1 Sierologia.....	4
5.2 Caratterizzazione molecolare	4
5.3 Ricerca e identificazione di agenti virali	5
5.4 Laboratori di Biosicurezza	6
6. ATTIVITÀ DI DIAGNOSTICA AVANZATA.....	6
7. ATTIVITÀ DIDATTICA E DI RICERCA	7
8. ELENCO ESAMI e RICHIESTA di PRESTAZIONI DIAGNOSTICHE	8
9. CAMPIONI BIOLOGICI	9
Principali tipologie di campioni per analisi sierologiche	9
Principali tipologie di campioni per altre analisi virologiche e test di biologia molecolare	9
TABELLA 1 - ISTRUZIONI PER LA RACCOLTA DEI CAMPIONI	10
10. TRASPORTO E CONSEGNA DEI CAMPIONI E REFERTAZIONE	11
10.1 Modalità di trasporto	11
10.2 Orari di consegna dei campioni	12
10.3 Tempi di risposta.....	12
10.4 Consegna dei referti.....	12
TABELLA 2 - RECAPITI UTILI.....	13



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

1. SCOPO

La presente Guida Pratica per l'Utente (GPU) ha lo scopo di fornire agli utenti dell'INMI (reparti di degenza e APC INMI, Poliambulatorio e Ambulatori INMI, Ospedali ed Istituzioni esterne) le indicazioni sugli esami effettuabili presso il Laboratorio di Virologia (elencati nel Sinottico esami e nell'Elenco esami e richiedibili mediante Allegato A2), sulle modalità di richiesta degli stessi, di consegna dei campioni al Laboratorio, sui tempi di risposta e la modalità di consegna dei referti.

La presente GPU e gli Allegati sono scaricabili dal sito www.inmi.it
Per la richiesta di informazioni specifiche, scrivere a: acceviro@inmi.it

2. CAMPO DI APPLICAZIONE

Il Laboratorio è certificato secondo la norma UNI EN ISO 9001:2015 per l'erogazione di servizi di diagnostica di laboratorio finalizzati alla ricerca ed identificazione di agenti virali, caratterizzazione molecolare e sierologia e per la gestione dei Laboratori di Biosicurezza con relativa attività diagnostica e di formazione (Sistema di Gestione della Qualità, SGQ) dal 2003. Il prodotto diagnostico è costantemente monitorato attraverso il controllo di qualità (CQ) interno e la verifica esterna di qualità (VEQ).

Il Laboratorio garantisce attività diagnostica e di ricerca nell'area della virologia con tecniche di avanguardia; interagisce con le UO cliniche per individuare i percorsi diagnostici più appropriati, in rapporto ai bisogni assistenziali e di ricerca; organizza e conduce attività di sperimentazione diagnostica innovativa; fornisce supporto diagnostico H24 a livello nazionale per le infezioni virali emergenti e a livello regionale per lo screening infettivologico dei donatori di organo/tessuto.

Il laboratorio ha sede presso il Padiglione Baglivi dell'INMI.

3. RESPONSABILITÀ

L'équipe è composta da: direttore, dirigenti biologi, capotecnico e operatori tecnici sanitari, infermiera professionale e ausiliari. Fanno parte dell'équipe anche biologi e tecnici ricercatori con contratto di collaborazione scientifica, che si dedicano principalmente ad attività di ricerca.

4. DESCRIZIONE

4.1 Dotazione strumentale

Il Laboratorio possiede una dotazione strumentale di altissimo livello tecnologico, costantemente aggiornato. La maggior parte dei sistemi diagnostici sono interfacciati con il sistema gestionale WLab: i risultati dei test, nella maggior parte dei casi eseguiti dallo strumento direttamente su provetta madre, vengono trasmessi, previo controllo dell'operatore, al sistema gestionale per la validazione tecnica e diagnostica, e per la refertazione.

In particolare, per gli esami sierologici:

- la maggior parte degli esami viene eseguita su sistemi diagnostici ad alta processività, completamente automatizzati (CLIA, CMIA, ecc); i test meno frequenti e quelli di seconda battuta o conferma si eseguono su analizzatori a minor processività, parzialmente automatizzati (ELISA, Blot)



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

Per gli esami molecolari:

- i test più richiesti (carica virale HIV, HCV, HBV, CMV, SARS-CoV-2) vengono eseguiti con metodiche Real Time su sistemi diagnostici completamente automatizzati, ad alta processività, con fase di estrazione integrata nel sistema
- altre determinazioni molecolari ed il sequenziamento nucleotidico vengono eseguiti su analizzatori automatizzati, a minor processività
- nel parco tecnologico sono inclusi sistemi di sequenziamento ad alta processività di ultima generazione (NGS) utilizzati sia in ambito diagnostico, sia in ambito di ricerca, per la caratterizzazione molecolare dei patogeni.

4.2 Gli utenti e la tipologia di prestazioni

Il laboratorio svolge attività diagnostica routinaria e avanzata per:

- **utenti interni** (UOC degenza ordinaria dell'INMI), con prenotazione diretta degli esami dai reparti tramite cartella clinica informatizzata
- **utenti ambulatoriali**, ad accesso diretto al CUP del Poliambulatorio dell'INMI, con impegnativa SSN del medico (di base o specialista), che esegue i prelievi e prenota direttamente gli esami sul programma gestionale di Laboratorio
- **utenti di altri Ospedali e Istituzioni**, sia della Regione Lazio che di altre Regioni italiane, con richiesta degli esami effettuata tramite modulo aziendale (Allegato A2).

4.3 Attività H24

Inoltre, il Laboratorio svolge **attività H24 in urgenza** per:

- il **Coordinamento Regionale Trapianti Lazio (CRT)**, per il quale esegue in maniera centralizzata gli esami per l'accertamento della sicurezza infettivologica delle donazioni di organo/tessuto.
- il **Centro Nazionale Trapianti (CNT)**, per il quale svolge attività di consulenza virologica, ed offre la disponibilità ad eseguire esami non facilmente reperibili nei laboratori che assistono i centri trapianto (es. ricerca molecolare e sierologica per virus emergenti)
- **Utenti interni** (UO degenza INMI) ed **altri Ospedali**, per i quali esegue accertamenti microbiologici in regime di urgenza (test molecolari multiplex per patogeni neurotropi in liquor cefalorachidiano, conta cellulare in liquor, test per malaria, antigeni batterici urinari, test molecolari multiplex per patogeni respiratori e gastroenterici, test antigenico rapido per SARS-CoV-2, test per arbovirosi, ecc.)
- **Operatori sanitari di istituzioni convenzionate**, per i quali eseguono accertamenti microbiologici urgenti in caso di incidente sul lavoro (indagini sierologiche HIV, HCV, HBV, ed altro secondo richiesta)

5. AREE di COMPETENZA

Il laboratorio garantisce l'identificazione e la caratterizzazione di agenti virali utilizzando metodi colturali, sierologici, molecolari e sequenziamento.

L'attività si articola in quattro grandi aree:

- Sierologia
- Caratterizzazione molecolare



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

- Ricerca e identificazione di agenti virali
- Laboratori di biosicurezza

5.1 Sierologia

I test sierologici vengono utilizzati per la ricerca di componenti di virus (antigeni virali) o di anticorpi verso le componenti dei virus.

- ✓ antigeni virali (es. HBsAg, HIVp24, HDVAg, SARS-CoV-2 Ag, ecc)
- ✓ anticorpi (es. CMV IgG/IgM, VZV IgG/IgM, ecc.)

La diagnosi viene in genere effettuata con metodi basati su CMIA, CLIA, ELISA, immunoblot (IB) o immunofluorescenza (IF).

Gli anticorpi rilevabili possono essere totali oppure distinti nelle frazioni IgG e IgM, IgA. Sono disponibili altresì test accessori o di conferma della presenza delle IgG o IgM.

Sono altresì disponibili test di sieroneutralizzazione.

Menu disponibile:

- ✓ Test di screening per HIV di quarta generazione (HIV Ab/Ag Combo)
- ✓ Test di screening per virus epatitici (HAV, HBV, HCV, HDV, HEV, Pegivirus)
- ✓ Diagnosi e screening di infezioni in ambito prenatale-perinatale (CMV e Rosolia); test di avidità delle IgG
- ✓ Diagnosi e screening per Morbillo, Parotite, Parvovirus B19
- ✓ Virus erpetici (EBV, VZV, HSV-1 e 2, HHV-6, HHV-7, HHV-8)
- ✓ Virus cardiotropi, enterotropi, neurotropi in IF
- ✓ Test di conferma o test accessori
- ✓ Ricerca di anticorpi per virus emergenti/riemergenti Chikungunya, Dengue (entrambi anche con test rapido), Zika, Flebovirus, Hantavirus, West Nile, ecc., basati su CLIA, IF, ELISA e neutralizzazione.

5.2 Caratterizzazione molecolare

I test molecolari sono utilizzati per la ricerca e la quantificazione di acidi nucleici virali (RNA o DNA) in fluidi biologici, biopsie, prelievi autoptici, ed altri tipi di matrici biologiche.

- La determinazione quantitativa dei genomi virali con metodi altamente sensibili e standardizzati permette il monitoraggio del livello di carica virale in relazione all'utilizzo di protocolli terapeutici per alcune malattie quali AIDS, Epatiti virali, infezione da CMV, il monitoraggio delle infezioni post-trapianto, la stadiazione delle infezioni a fini terapeutici e la diagnosi di alcune infezioni.
- Per alcuni virus, principalmente nei casi in cui non sono disponibili metodi commerciali standardizzati, sono disponibili metodi quantitativi e qualitativi *in house* costruiti su dati di letteratura o di esperienza originale, che utilizzano PCR (DNA) e RT-PCR (RNA) in formato classico o real-time

Menu disponibile:

Il pannello offerto per la diagnosi virologica molecolare comprende la quasi totalità dei virus di importanza medica nell'uomo. Si riportano alcune applicazioni salienti:

- ✓ Determinazione quantitativa



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

HIV-1, HIV-2, HCV, HBV, HDV, HIV-1 DNA, TTV, ADV, CMV, EBV e BKV; HSV-1 e 2, VZV, HHV-6, HHV-8, JCV, Parvovirus B19, ecc

- ✓ **Determinazione qualitativa**
SARS-CoV-2, HAV, HEV, Pegivirus (ex GBV), Enterovirus, Influenza, Morbillo, Parotite, Rosolia, Astrovirus, Norovirus, Rotavirus, HTLV I/II, JEV, TBE, WNV, YFV, Alkhurma e altri virus rari/emergenti
- ✓ **Tipizzazione virale**
Sequenziamento per determinazione di genotipo e farmaco-resistenza: HIV, HCV, HBV, CMV, HPV e per l'identificazione/caratterizzazione di virus emergenti; tipizzazione influenza, SARS-CoV-2.
- ✓ **Pannelli molecolari**
In considerazione del fatto che spesso le malattie virali si presentano con sintomi simili che non possono essere collegati ad uno specifico agente, e allo scopo di favorire l'appropriatezza della richiesta, il laboratorio utilizza pannelli di esami molecolari sindromici raggruppati per tropismo e presentazione clinica.
 - Virus Cardiotropi (Enterovirus, Parvovirus B19, ADV, CMV, EBV, HHV-6)
 - Virus Enterotropi (ADV, Enterovirus, Astrovirus, Norovirus, Rotavirus)
 - Virus Neurotropi (JCV, CMV, EBV, HSV-1 e 2, VZV, Enterovirus, Morbillo, Parotite)
 - Virus Respiratori (Influenza A e B, ADV e Bocavirus, Coronavirus e Parainfluenza 1-4, Rinovirus e Enterovirus, RSV e Metapneumovirus)
 - Test rapido per Patogeni Neurotropi tramite multiplex-PCR su liquor
 - Test rapido per Patogeni Respiratori tramite multiplex-PCR su tampone nasofaringeo

5.3 Ricerca e identificazione di agenti virali

L'area riguarda principalmente metodi colturali per l'isolamento virale da matrici biologiche. Comprende anche la ricerca di anticorpi specifici mediante saggi di neutralizzazione.

È un approccio di alta specializzazione, che necessita di laboratori particolarmente attrezzati, dotati di strutture ad elevato livello di biocontenimento (BSL3, BSL4), e di personale esperto in tecniche di virologia classica. Tale approccio utilizza un pannello di colture cellulari di origine umana o animale che consente la moltiplicazione di un agente virale presente nel campione biologico; inoltre, esso risulta particolarmente utile quando si vuole ricercare un agente eziologico in un quadro definito per sindrome.

Inoltre il laboratorio offre il servizio di tipizzazione genomica attraverso analisi di sequenziamento con tecnica Sanger e due piattaforme next-generation-sequencing (NGS) Illumina e Ion Torrent, test di resistenza ai farmaci antivirali, caratterizzazione di varianti virali, e analisi filogenetica.

Menu disponibile:

- Coltivazione e identificazione di virus su vari substrati cellulari (Fibroblasti diploidi, Vero, Hep2, MDCK, A549)



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

- Titolazione di anticorpi neutralizzanti, per conferma di diagnosi in caso di test di screening cross reattivi e/o per controllo vaccinazione (Flavivirus, Poliovirus, SARS-CoV-2 e altro)

5.4 Laboratori di Biosicurezza

Sono nati in risposta all'esigenza di creare un ambiente idoneo per quelle attività diagnostiche e di ricerca che richiedono particolari misure di protezione per gli operatori e per l'ambiente; il loro utilizzo è progressivamente cresciuto sull'onda delle emergenze infettivologiche che hanno caratterizzato gli ultimi anni (SARS, Ebola, Influenza H5N1, SARS-CoV-2).

Tali laboratori sono inseriti in un contesto normativo e scientifico di livello internazionale, e sono partner in network di cooperazione sopranazionale finalizzati al potenziamento delle capacità diagnostiche delle reti di laboratori in ambito internazionale.

Nei laboratori di Biosicurezza dell'INMI, a scopo diagnostico, viene eseguita l'iniziale manipolazione e la inoculazione su colture cellulari di materiali biologici provenienti da pazienti sospetti di albergare virus di livello 3 e 4. Gli isolati virali così ottenuti vengono caratterizzati con metodi biologici (all'interno dei laboratori di bio-sicurezza) o, dopo averne inattivato l'infettività, con metodi molecolari, in condizioni di bio-contenimento meno stringenti.

6. ATTIVITÀ DI DIAGNOSTICA AVANZATA

Le attività diagnostiche svolte dal Laboratorio comprendono, oltre al pannello completo di esami virologici routinari, numerosi esami svolti mediante piattaforme tecnologiche avanzate:

- isolamento virale e caratterizzazione biologica e molecolare di isolati virali in condizioni di elevato bio-contenimento (BSL3 e 4)
- test di sieroneutralizzazione
- sequenziamento genico per identificazione e la caratterizzazione di varianti virali
- test genotipici e fenotipici virali per la ricerca di mutazioni associate a resistenza (HIV, HBV ed HCV), per la determinazione del tropismo (HIV), tipizzazione molecolare
- esami molecolari finalizzati alla gestione di eventi epidemici, comprendenti la caratterizzazione molecolare e l'analisi filogenetica per l'identificazione di cluster di infezioni virali
- test genotipici per la rilevazione di polimorfismi legati a resistenza a terapie antivirali
- indagini forensi

Inoltre il laboratorio è coinvolto in attività di sviluppo di nuovi test diagnostici e piattaforme strumentali, e fornisce proficiency panels per virus emergenti.



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

7. ATTIVITÀ DIDATTICA E DI RICERCA

L'attività di formazione impegna il laboratorio di Virologia sia nella organizzazione che nella partecipazione ad eventi formativi.

Molti eventi prevedono l'accreditamento ECM. E' sempre attivo il programma di formazione continua per gli operatori interni destinati alle attività nei laboratori di biosicurezza e il programma di formazione per gli operatori esterni all'INMI.

Il direttore ed i dirigenti del laboratorio svolgono regolarmente attività di docenza in corsi formativi e di aggiornamento per dirigenti, personale infermieristico e tecnico-sanitario dell'Istituto, su tematiche di laboratorio correlate alla clinica. Sono, inoltre, relatori invitati in Corsi di formazione, Congressi Nazionali ed Internazionali nei settori di eccellenza dell'Istituto.

Tutto il personale partecipa, in ruolo di discente, a corsi di aggiornamento formativo organizzati dall'Istituto ed a corsi di aggiornamento su strumenti evoluti e tecnologie innovative.

Il laboratorio coniuga, nell'ambito delle malattie infettive, le attività di assistenza diagnostica con la ricerca scientifica, svolta in collaborazione con altre UO dell'INMI.

Le aree di ricerca riguardano: HIV, epatiti, patogeni emergenti, patogenesi delle infezioni virali, meccanismi di difesa antivirale, innovazione diagnostica, biosicurezza.

Oltre ai temi indicati, il laboratorio fornisce supporto alle sperimentazioni cliniche ed alle altre attività di ricerca condotte nell'Istituto, fornendo tutta la gamma di attività diagnostica virologica routinaria ed avanzata necessaria.

Si elencano più in dettaglio alcuni temi di ricerca:

- ✓ Fattori virali coinvolti nella patogenesi e nella risposta alle terapie dell'infezione da HIV, HCV ed HBV
- ✓ Fattori dell'ospite che condizionano l'andamento naturale e la risposta alle terapie nell'infezione da HIV, HCV ed HBV
- ✓ Caratterizzazione molecolare e filogenetica di virus coinvolti in episodi di trasmissione nosocomiale o comunitaria
- ✓ Allestimento e validazione di metodi diagnostici innovativi per le infezioni virali, con particolare riferimento ai metodi molecolari
- ✓ Studi dei reservoir virali nelle infezioni croniche
- ✓ Infezioni nell'ospite immunocompromesso, inclusi i soggetti trapiantati o esposti a terapie immunosoppressive
- ✓ Caratterizzazione molecolare e biologica di patogeni nuovi ed emergenti
- ✓ Sviluppo di percorsi integrati per la biosicurezza



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

8. ELENCO ESAMI e RICHIESTA di PRESTAZIONI DIAGNOSTICHE

L'elenco degli esami diagnostici effettuato dal Laboratorio è riportato nel “**Sinottico Esami**”. Maggiori informazioni e tempi di risposta sono fornite nel “**Elenco degli esami virologici**”.

Alcuni esami inclusi nel menù ordinario richiedono la compilazione di una **scheda per la raccolta dati specifica**, come di seguito specificato.

- 1) Scheda per la richiesta dati per diagnosi di infezione da HIV: va compilata con i dati anagrafici aggiuntivi, necessari alla registrazione del test in quanto previsti dalla normativa vigente in materia, e deve sempre accompagnare il campione.
- 2) Scheda per la richiesta di test di farmacoresistenza per HIV
- 3) Scheda per la richiesta di test di farmacoresistenza per HBV
- 4) Scheda per la richiesta di test di farmacoresistenza per HCV
- 5) Scheda per la richiesta di test di farmacoresistenza per CMV
- 6) Scheda per la raccolta dati per epatiti A ed E

Prenotazione degli esami da parte di utenti esterni (Ospedali, Enti e altre Istituzioni):

Gli utenti esterni richiedono gli esami compilando il modulo aziendale **Allegato A2 insieme al Sinottico esami compilato in ogni sua parte**. Gli esami richiesti tramite Allegato A2 vengono compensati secondo il Tariffario Istituzionale, periodicamente aggiornato. E' essenziale che i dati anagrafici del paziente siano completi e riportati con grafia chiara. E' necessario che sull'Allegato A2 non si adottino richieste generiche, quali “esami virologici o ricerche virali” ma che venga consultato, a tale scopo, l'*Elenco degli esami virologici* (Allegato 2), che riporta anche la tipologia di campione e di provette da utilizzare, oppure che venga contattato in caso di dubbio il personale del laboratorio al fine di identificare l'esame più opportuno.

L'*Allegato A2* deve essere firmato dal medico e dal Direttore Sanitario della struttura richiedente. Qualora esista una specifica Convenzione tra la struttura richiedente e l'INMI, la firma del Direttore Sanitario non è necessaria. L'indicazione del medico richiedente è utile per un eventuale contatto, in caso di chiarimenti o ulteriori informazioni.

L'*Allegato A2* può essere anticipato via mail al Laboratorio all'indirizzo: **acceviro@inmi.it**

Prenotazione esami da parte di utenti interni e Ambulatori

Gli esami vengono richiesti da parte delle UO interne informatizzate (per i pazienti interni) e del Poliambulatorio (per i pazienti ambulatoriali) tramite trasmissione Cartella Clinica Elettronica.

Qualora non sia possibile effettuare la procedura informatizzata, la richiesta di esami deve pervenire al Laboratorio di Virologia in forma cartacea, con il *Sinottico Esami* e con gli eventuali altri moduli, secondo gli esami richiesti. I moduli devono essere accuratamente compilati e firmati.



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

9. CAMPIONI BIOLOGICI

Principali tipologie di campioni per analisi sierologiche

Gli anticorpi vengono generalmente ricercati nel sangue o, più raramente, nel liquor; in occasioni particolari, è possibile effettuare la ricerca anche in altri liquidi biologici.

- Sangue (in genere senza anticoagulanti, in provetta da siero)
- Liquor
- Altri liquidi biologici (p.es. saliva)

Principali tipologie di campioni per altre analisi virologiche e test di biologia molecolare

- Sangue (periferico o, più raramente, midollare) con o senza anticoagulanti
- Urina
- Tampone faringeo o nasofaringeo; Tampone oculare; Tampone uretrale; Tampone vaginale; Tampone cutaneo; Tampone rettale; Altri tamponi
- Feci
- Espettorato, Broncolavaggio (BAL)
- Biopsie
- Liquor
- Liquido amniotico
- Essudati
- Altre matrici biologiche



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

TABELLA 1 - ISTRUZIONI PER LA RACCOLTA DEI CAMPIONI

Sangue periferico o midollare	5 ml di sangue in provetta con EDTA (tappo lilla) per <i>Isolamento virale, PCR e RT-PCR</i> 7 ml di sangue in provetta con EDTA (tappo lilla grande) per <i>Viremie HIV, HBV, HCV e WNV</i> 7 ml di sangue in provetta senza additivi (tappo giallo) per <i>PCR, RT-PCR, Ricerca di anticorpi</i>
Tamponi (faringeo, oculare, uretrale, cutaneo, rettale, etc.)	Utilizzare appositi tamponi (preferenzialmente floccati) con terreno di trasporto idoneo per virus. Il Laboratorio è in grado di fornire, su richiesta, il materiale di trasporto adeguato; in alternativa può essere utilizzato 1 ml di soluzione fisiologica sterile. In ogni caso <u>non</u> devono essere usati terreni di trasporto per batteriologia (gel). Effettuare il prelievo in condizioni di asepsi tenendo separati campioni provenienti da zone anatomiche diverse; bagnare la punta del tampone nel terreno di trasporto e strofinare il tampone sulla sede prescelta per il prelievo, cercando di raccogliere materiale biologico. Inserire il tampone nella provetta contenente il terreno, spezzare il bastoncino se troppo lungo, richiudere il tappo, e trasportare al più presto in laboratorio, mantenendo il campione a +4°C. Il tampone nasofaringeo per la ricerca di virus respiratori richiede un volume di terreno di trasporto 2 ml.
Prelievo di liquido vescicolare	Effettuare il prelievo in condizioni di asepsi; utilizzare una siringa sterile da insulina, pungere la vescicola e aspirarne il contenuto. Depositare il liquido vescicolare in una provetta sterile contenente terreno di trasporto per virus, lavando ripetutamente l'ago e la camera interna della siringa con lo stesso terreno di trasporto. Se la lesione è aperta, il prelievo va eseguito mediante tampone (vedi sopra). Trasportare al più presto in laboratorio, mantenendo il campione a +4°C.
Feci	Raccogliere un piccolo quantitativo di feci nell'apposito contenitore. Trasportare al più presto in laboratorio, mantenendo il campione a +4°C.
Broncolavaggio (BAL)	Effettuare il prelievo in condizioni di asepsi; utilizzare soluzione fisiologica sterile, eventualmente addizionata con antibiotici e porre il materiale in contenitore sterile. Trasportare al più presto in laboratorio, mantenendo il campione a +4°C.
Biopsie	Effettuare il prelievo in condizioni di asepsi, tenendo separati campioni provenienti da tessuti o zone diversi. Porre i campioni in 1-2 ml di soluzione fisiologica sterile addizionata di antibiotici o di terreno di trasporto per virus. Non va utilizzata soluzione fissativa. I campioni autoptici vanno raccolti entro 24 ore dal decesso ed eventualmente congelati.
Liquor, Urine, Esudati, Liquido amniotico e altri fluidi biologici	Raccogliere i campioni con modalità di asepsi in contenitore sterile. Inviare al più presto al laboratorio, mantenendo i campioni a +4°C. Non sono necessari terreni di trasporto.



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

10. TRASPORTO E CONSEGNA DEI CAMPIONI E REFERTAZIONE

10.1 Modalità di trasporto

I prelievi devono essere eseguiti e mantenuti in condizioni di asepsi e la consegna al Laboratorio deve essere effettuata **nel più breve tempo possibile dopo il prelievo**.

- I *campioni di sangue* vanno trasportati a temperatura ambiente; è fortemente raccomandato che la consegna venga effettuata nello stesso giorno del prelievo;
- I *campioni di liquor ed altri liquidi biologici* diversi dal sangue, che devono essere sottoposti a test di biologia molecolare (*PCR, sequenziamento, etc.*) o a ricerca e caratterizzazione di virus mediante metodo biologico (*isolamento virale*), vanno trasportati a freddo (+4°C) o in ghiaccio e devono essere consegnati al più presto al Laboratorio;
- I *campioni non liquidi* devono essere introdotti in idonei terreni di trasporto (terreno di trasporto per virus o Soluzione Fisiologica), per affrontare il trasporto in condizioni idonee;

Per gli altri Ospedali e Istituzioni esterne:

- **In caso di spedizione o di tragitto lungo**, i campioni di sangue per *indagini sierologiche*, è consigliabile spedire il siero (a +4°C) piuttosto che il sangue intero, che potrebbe andare incontro ad emolisi;
- Nell'impossibilità di recapitare i *campioni di liquor ed altri liquidi biologici* nei tempi e con le modalità indicate, è possibile congelarli a $\leq 20^{\circ}\text{C}$ e poi trasportarli in Laboratorio in ghiaccio secco o con altro refrigerante. I ripetuti scongelamenti compromettono gravemente l'esito dei test biologici e molecolari. Un trasporto *non conforme* alle indicazioni può dare luogo a dei risultati falsamente negativi. Per il sangue, il congelamento della provetta di raccolta è accettabile se la provetta contiene il gel separatore e dopo centrifugazione. In caso contrario, è necessario separare il siero da analizzare, che può essere congelato. Per dubbi o ulteriori chiarimenti su casi particolari rivolgersi al laboratorio
- Nel caso di *prelievi autoptici*, i campioni liquidi vanno inviati secondo quanto sopra indicato; i tessuti devono essere conservati sterilmente a -80°C e inviati in ghiaccio secco per garantire l'integrità degli acidi nucleici. L'opportunità di inserire i tessuti in liquido di trasporto prima del congelamento va discussa con gli operatori del Laboratorio. E' comunque controindicato l'invio di campioni prelevati dopo le prime ore dal decesso, in quanto l'integrità degli acidi nucleici è fortemente compromessa

Non-idoneità: I campioni che risultano non-idonei per il test richiesto verranno accettati con riserva. Se gli esami richiesti non sono eseguibili, sarà segnalato nel più breve tempo possibile alla struttura di provenienza e potrebbe essere richiesto un nuovo campione con diversa modalità di raccolta; in caso di non conformità minore, la rilevazione verrà comunque comunicata agli interessati mediante una nota allegata al referto.



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

10.2 Orari di consegna dei campioni

Per i campioni provenienti dalle strutture esterne, la consegna di campioni è regolamentata come di seguito: lunedì-sabato dalle 7,30 alle 13,30.

Inoltre, il Laboratorio di Virologia è in funzione H24 per i campioni con carattere di urgenza provenienti dai reparti INMI, dalle strutture esterne convenzionate e dal Centro Trapianti.

In caso di particolari esigenze cliniche indifferibili, possono essere eseguiti altri esami, previa valutazione congiunta con il dirigente di turno in relazione all'appropriatezza e alla fattibilità.

10.3 Tempi di risposta

Nell'Elenco degli esami virologici sono riportati i tempi di risposta, indicati con riferimento ai giorni lavorativi. Nel caso in cui vengano richiesti nuovi esami nei giorni successivi all'accettazione dei campioni biologici, si effettua una nuova accettazione (quindi una nuova scheda-paziente) e il tempo di risposta sarà automaticamente aggiornato alla nuova richiesta.

Per particolari necessità, incluso quelle sopraindicate come urgenze, si possono concordare con i dirigenti del Laboratorio tempi e modalità differenti per singoli casi, compatibilmente con i tempi delle procedure analitiche e l'organizzazione del workflow di Laboratorio.

10.4 Consegna dei referti

- per UO interne

I referti sono disponibili in cartella clinica informatizzata (CCE) attraverso il Web aziendale.

- per Poliambulatorio

I referti, firmati digitalmente, possono essere scaricati con le credenziali personali o ritirati presso il Poliambulatorio, Prevenzione Prenatale e Unità Operativa CRAIDS.

- Per Ospedali e Istituzioni

La maggior parte delle Istituzioni esterne riceve i referti per via telematica, in forma criptata, con pw univoca per ciascun ente. Qualora la struttura esterna segnali esplicitamente sull'*Allegato A2* o tramite richiesta su acceviro@inmi.it l'esigenza di ricevere il referto via e-mail, l'Accettazione del laboratorio provvederà alla trasmissione dei referti richiesti con questa modalità in forma criptata e tramite doppia e-mail (la prima contenente il referto criptato; la seconda recante la pw per decriptare il referto).



Organizzazione: UOC Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza

TABELLA 2 - RECAPITI UTILI

Nomi e indirizzi e-mail	Numero di telefono	N. di telefono interno
Direttore di Laboratorio: Prof. Fabrizio Maggi (fabrizio.maggi@inmi.it)	06 55170434	2434
Dirigente di guardia (servizio H24, 7/7 gg) (acceviro@inmi.it)	06 55170666 Cell: 3204343793	2666
Capotecnico: Pisciotta Maria (maria.pisciotta@inmi.it)	06 55170691	2691
Segreteria (segreviro@inmi.it)	06 55170 690	2690
Accettazione centralizzata campioni bio- logici (acceviro@inmi.it)	06 55170674 06 55170698	2674 2698
Infermiera: Felici Luisa (luisa.felici@inmi.it)	06 55170698	2698
Dirigenti:		
Abbate Isabella (isabella.abbate@inmi.it) Carletti Fabrizio (fabrizio.carletti@inmi.it) Rozera Gabriella (gabriella.rozera@inmi.it)	06 55170655	2655
Amendola Alessandra (alessandra.amendola@inmi.it) Meschi Silvia (silvia.meschi@inmi.it) Bordi Licia (licia.bordi@inmi.it)	06 55170660 06 55170663	2660 2663
Garbuglia Annarosa (annarosa.garbuglia@inmi.it) Valli Beatrice (mariabeatrice.valli@inmi.it) Lapa Daniele (daniele.lapa@inmi.it)	06 55170692	2692
Lalle Eleonora (eleonora.lalle@inmi.it) Colavita Francesca (francesca.colavita@inmi.it)	06 55170694	2694
Forbici Federica (federica.forbici@inmi.it) Matusali Giulia (giulia.matusali@inmi.it) Minosse Claudia (claudia.minosse@inmi.it)	06 55170654	2654
Berno Giulia (giulia.berno@inmi.it) Fabeni Lavinia (lavinia.fabeni@inmi.it)	06 55170656	2656