



## **Raccomandazioni per il corretto prelievo e conservazione del campione biologico. Diagnosi di conferma di Covid-19**

**Task Force ISS-DMI, Dipartimento Malattie Infettive  
Istituto Superiore di Sanità**

*Alessandra Ciervo  
ISS-Roma 25-03-2020*



## Prelievo e conservazione del campione biologico.

### Campioni biologici per la diagnosi di Covid-19

Tampone faringeo

Tampone nasale

Tampone combinazione naso/faringeo

Lavaggio bronco-alveolare

Aspirato endotracheale

Espettorato



Raccogliere in un contenitore sterile a tenuta ermetica utilizzando le precauzioni per la protezione da aerosol

### Personale Sanitario DPI per il prelievo

- camice monouso impermeabile con manica lunga
- guanti monouso
- mascherina facciale filtrante tipo FFP2 o FFP3
- protezione per gli occhi (occhiali a maschera o schermo facciale)
- cuffia monouso per i capelli.



### **Tampone faringeo**

- Invitare il paziente a piegare la testa all'indietro e aprire bene la bocca;
- se necessario, usare un abbassalingua sterile;
- inserire il tampone tra i pilastri tonsillari e dietro l'ugola;
- strofinare le zone tonsillari
- evitare che il tampone si contamini con la saliva, evitando il contatto del tampone con la lingua, le guance o le arcate dentarie.



### **Tampone nasale**

- Invitare il paziente ad assumere una posizione eretta con la testa leggermente inclinata all'indietro;
- inserire il tampone nella narice e spingerlo lungo la cavità nasale per circa 2,5 cm in modo da raggiungere la parte posteriore del rinofaringe.
- ruotarlo delicatamente perché si ricopra abbondantemente con il secreto nasale
- ripetere eventualmente la manovra nell'altra narice.



**Una volta terminato il tampone il bastoncino va inserito nel terreno di trasporto**



Per praticità **TAMPONI** di uno stesso soggetto possono essere stemperati e raccolti nella stessa provetta contenente terreno di trasporto per virus

Si possono utilizzare Kit di raccolta pronti all'uso contenenti terreno di trasporto (provette da 3ml)

**In alternativa** utilizzare tamponi preferibilmente in poliestere tipo dracon e provette a chiusura ermetica (tappo a vite) contenenti 2/3 ml di terreno per colture cellulari tipo MEM o RPMI, o PBS, oppure soluzione fisiologica.





### **Etichettatura**

Su ogni campione deve essere apposta un'etichetta riportante

1. nome cognome e data di nascita del paziente
2. data del prelievo
3. tipo di campione

### **Conservazione**

I campioni devono essere inviati immediatamente al laboratorio o in alternativa possono essere conservati in frigo (+4°C) per un tempo < 48 ore

Se il campione non può essere processato entro 48 ore va conservato a -80°C

### **Modalità di confezionamento e spedizione**

Materiale biologico, categoria B codice UN3373:

- triplo imballaggio, formato da: un imballo esterno, uno intermedio ed uno interno a tenuta stagna, in modo da impedire la fuoriuscita del contenuto anche in caso di incidente durante il trasporto.
- Il pacco deve essere provvisto di un'etichetta che riporti i dati del mittente e del destinatario (nominativo, indirizzo, telefono, e-mail). Inserire le schede dei pazienti opportunamente compilate.
- Trasporto refrigerato (utilizzando i siberini) o ghiaccio secco per campioni congelati.



## Diagnosi di conferma di Covid-19

### Laboratorio Nazionale di Riferimento per Covid-19 presso l'ISS

I campioni vengono registrati con protocollo interno ed identificati con un codice alfanumerico



Sistema sorveglianza integrata ISS

Laboratorio	Codice del tampone	Alfanumerico
	data prelievo	gg/mm/aaaa
	laboratorio Regionale che ha fatto analisi risultata positiva	Lista Laboratori riferimento regionale + altro
	Sequenza genomica effettuata	Si/No
	se si specificare se inviata ad ISS	Si/No
	data conferma ISS	gg/mm/aaaa
	Conferma ISS	Si/No

I campioni vengono aliquotati. Una parte viene utilizzata per la conferma diagnostica mentre le altre vengono conservate per ulteriori indagini molecolari o virologiche.

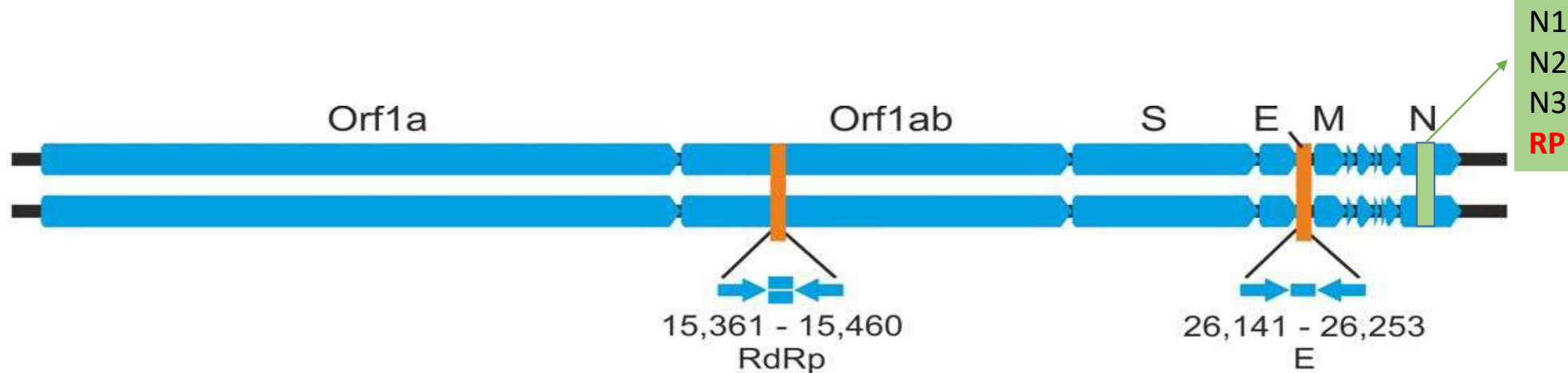


La prima fase dell'analisi consiste nell'estrazione e purificazione degli acidi nucleici (RNA) tramite kit commerciali.

La seconda fase consiste nell'individuazione della presenza dell'RNA virale di Sars-CoV-2.

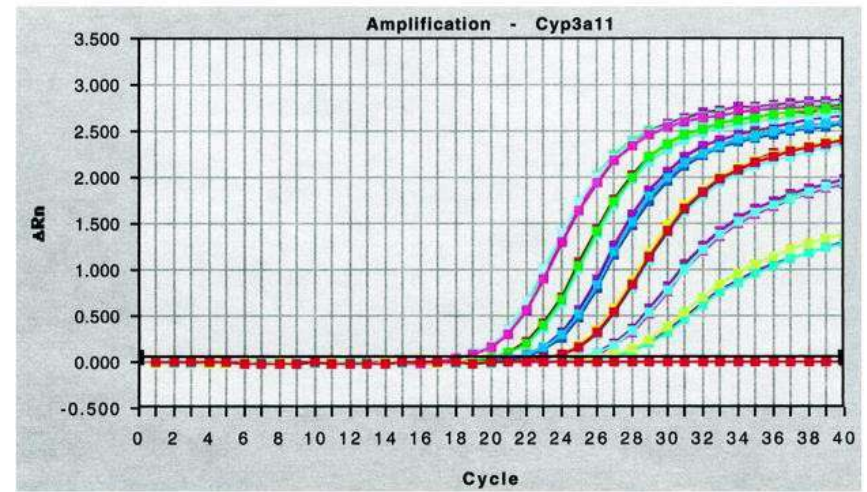
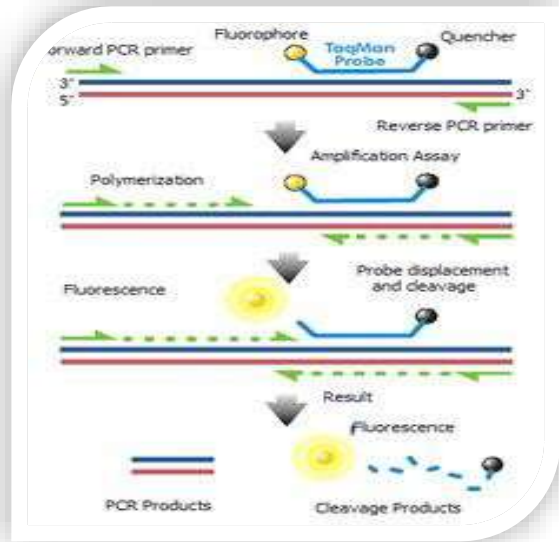
Protocollo Corman et al ([https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf?sfvrsn=a9ef618c\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf?sfvrsn=a9ef618c_2))

Protocollo US CDC (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-detection-instructions.html>)





# Allestimento del saggio molecolare Real-time reverse-transcription polymerase chain reaction







ABI ViiA7 Real Time PCR System



7500 Real-Time PCR System



Stratagene MX3005P



CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System



LightCycler 480



## Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases

Interim guidance  
19 March 2020



0009774-20/03/2020-DGPRE-DGPRE-D



*Ministero della Salute*

DIREZIONE GENERALE DELLA PREVENZIONE SANITARIA  
UFFICIO 5 PREVENZIONE DELLE MALATTIE TRASMISSIBILI E PROFILASSI INTERNAZIONALE

**OGGETTO: Annullamento e sostituzione della Circolare del Ministero della Salute n. 0009480 del 19 marzo 2020 “COVID-19: rintraccio dei contatti in ambito di sorveglianza sanitaria e aggiornamento delle indicazioni relative alla diagnosi di laboratorio di casi di infezione da SARS-CoV-2.”**

- I laboratori di riferimento regionali devono svolgere funzione di coordinamento per i laboratori aggiuntivi identificati dalle regioni a effettuare la diagnosi SARS-CoV-2, fornendo il supporto e le indicazioni necessarie secondo specifici piani regionali. Quale criterio per la valutazione delle capacità diagnostiche per infezione da COVID-19 dei nuovi laboratori arruolati dalle regioni si ritiene sufficiente un riscontro dei risultati di diagnosi riguardanti i loro primi 5 campioni positivi e 10 campioni negativi con quanto rilevato presso i laboratori di riferimento regionali.
  - Laddove vi sia ancora una limitata trasmissione di COVID-19, la conferma della diagnosi di campioni positivi può essere effettuata dallo stesso laboratorio che esegue la diagnosi SARS-CoV-2 mediante un test RT-PCR che utilizzi un secondo gene target di SARS-CoV-2.
  - In aree con diffusa trasmissione COVID-19 è considerata sufficiente quale diagnosi di laboratorio la positività al test RT-PCR rilevata su un singolo gene target di SARS-CoV-2. Test di conferma devono essere effettuati solo per i campioni in cui il risultato è difficilmente interpretabile o il ciclo soglia in RT-PCR è maggiore di 35. In questi casi si raccomanda di ripetere il test su una nuova raccolta di campione.
  - Viene richiesto il solo invio di un numero rappresentativo di campioni clinici al Laboratorio di Riferimento Nazionale in ISS, previo accordo, al fine di monitorare l'epidemiologia molecolare di SARS-CoV-2.
  - Tutti i campioni risultati positivi SARS-CoV-2 in pazienti deceduti devono essere conservati congelati a -80°C presso la struttura che effettua il prelievo e/o la diagnosi di laboratorio e inviati successivamente al Laboratorio di Riferimento Nazionale in ISS su espressa richiesta.
- Si rappresenta, inoltre, che, nei laboratori autorizzati per le analisi dei tamponi, la presentazione di campioni afferenti a personale sanitario dovrà ottenere priorità assoluta e la comunicazione del risultato dovrà avvenire in un arco di tempo massimo di 36 ore.



# GRAZIE PER L'ATTENZIONE

**Task Force ISS-DMI-Gruppo di coordinamento**

**Giovanni Rezza  
Paola Stefanelli  
Maria Rita Castrucci  
Alessandra Ciervo  
Flavia Riccardo  
Antonino Bella  
Patrizio Pezzotti**