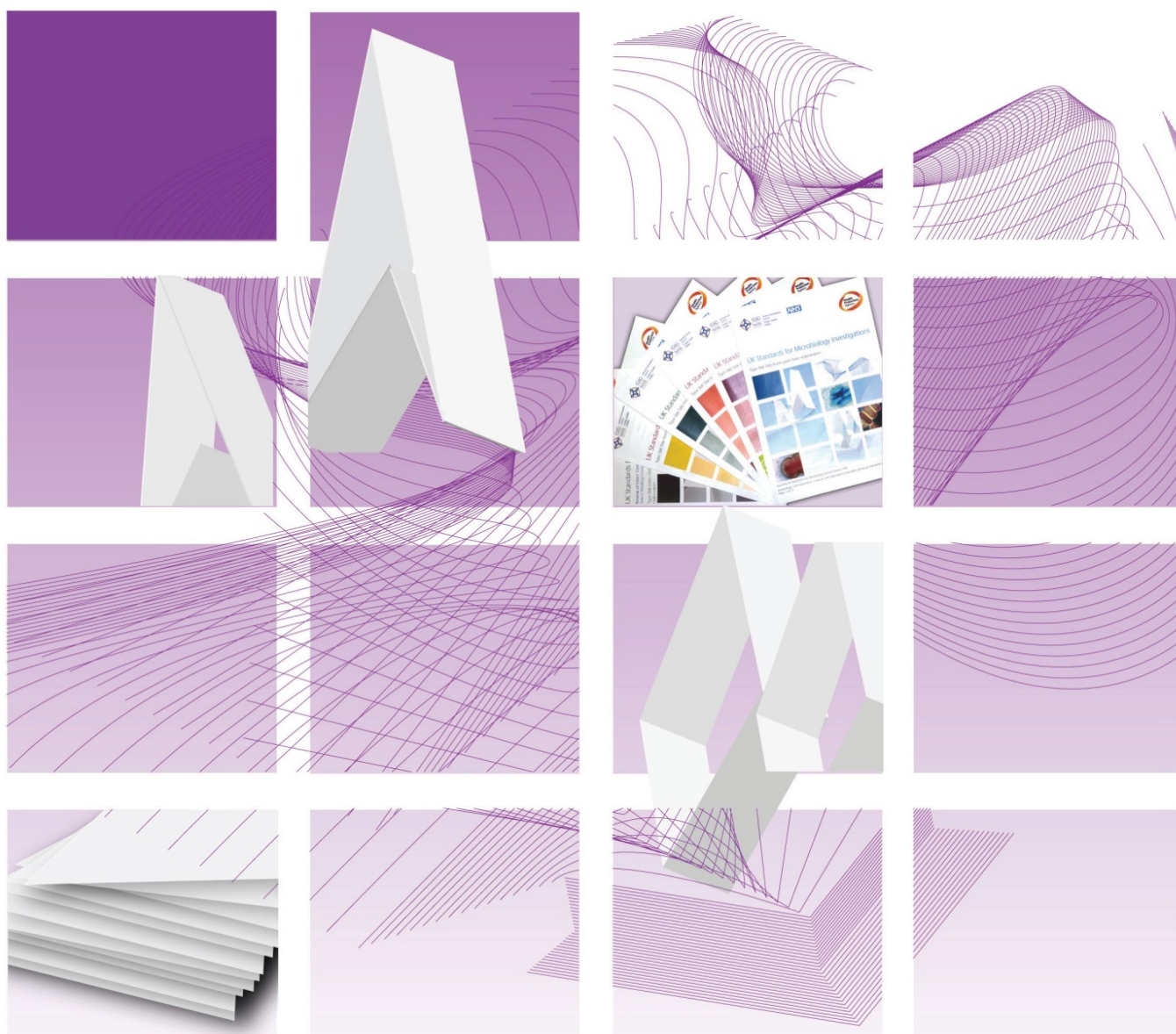


Ricerche Microbiologiche: Procedure Standard del Regno Unito

Sorveglianza per Polio nel RU



Ringraziamenti

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche (SMI - Standards for Microbiology Investigations) sono sviluppate sotto l'egida dell'Health Protection Agency (HPA) in collaborazione con il Servizio Sanitario Nazionale (NHS - National Health Service), la Sanità Pubblica del Galles e con le organizzazioni professionali i cui loghi sono di seguito elencati sul sito web <http://www.hpa.org.uk/SMI/Partnerships>. Le SMI sono sviluppate, revisionate e controllate da diversi gruppi di lavoro che sono supervisionati da un comitato direttivo (consultare <http://www.hpa.org.uk/SMI/WorkingGroups>).

Si ringraziano per contributi forniti i numerosi operatori dei laboratori clinici, gli specialisti e i laboratori di riferimento che hanno fornito informazioni e commenti durante lo sviluppo di questo documento. Si ringraziano i Revisori Medici per le modifiche apportate ai contenuti clinici.

Per ulteriori informazioni contattare:

Standards Unit

Microbiology Services Division

Health Protection Agency

61 Colindale Avenue

London NW9 5EQ

E-mail: standards@hpa.org.uk

Website: <http://www.hpa.org.uk/SMI>

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche sono sviluppate con la collaborazione di:



Ricerche Microbiologiche Standard del RU#: Situazione

- Nel Regno Unito sono principalmente destinate come risorsa generale ai professionisti che operano nel campo della medicina di laboratorio. La consulenza specialistica dovrebbe essere disponibile qualora necessaria.
- Le SMI forniscono ai clinici informazioni in merito allo standard dei servizi di laboratorio riferibili alle ricerche per la diagnosi delle infezioni nei loro pazienti e le documentazioni forniscono indicazioni che facilitano la prenotazione elettronica di test appropriati da parte dei reparti ospedalieri.
- Le SMI forniscono gli standard per le ricerche microbiologiche anche ai responsabili della sanità pubblica che devono considerarle come parte delle procedure da adottare per la salute (sia clinica che pubblica) per la propria popolazione.

Informazioni di base per le SMI

Le SMI comprendono algoritmi e procedure raccomandate che riguardano tutte le componenti del processo diagnostico dalla fase pre-analitica (sindrome clinica) alle diverse fasi analitiche (prove di laboratorio) e post-analitiche (interpretazione e comunicazione dei risultati).

Gli algoritmi delle sindromi sono corredati da informazioni più dettagliate contenenti consigli sulle indagini per specifiche malattie e infezioni. Note orientative riguardano il contesto clinico, la diagnosi differenziale e indagini appropriate per particolari condizioni cliniche. Le note orientative descrivono metodologie di laboratorio essenziali che sono alla base della qualità, ad esempio la validazione della prova, la garanzia della qualità, la definizione dell'incertezza della determinazione.

La Standardizzazione del processo diagnostico conseguente all'adozione delle SMI consente di garantire in tutto il Regno Unito strategie d'indagine equivalenti nei diversi laboratori ed è una condizione essenziale per interventi nel campo della sanità pubblica, della sorveglianza, e per le attività di ricerca e di sviluppo. Nel Regno Unito le SMI rappresentano strategie omogenee per le prove diagnostiche e la programmazione degli interventi di sanità pubblica.

Coinvolgimento delle Organizzazioni Professionali

Coinvolgimento delle Organizzazioni Professionali

Lo sviluppo delle SMI è condotto nell'ambito dell'HPA in collaborazione con il NHS, Public Health NHS Galles e con le organizzazioni professionali.

L'elenco delle organizzazioni partecipanti può essere trovato su sito <http://www.hpa.org.uk/SMI/Partnerships>. L'inclusione del logo di un'organizzazione in una SMI implica il sostegno degli obiettivi e del processo di preparazione del documento. I rappresentanti delle organizzazioni professionali fanno parte del comitato direttivo e dei gruppi di lavoro che sviluppano le SMI, anche se le opinioni dei partecipanti non sono necessariamente quelle espresse da tutta l'organizzazione che essi rappresentano.

Le SMI sono sviluppate, revisionate e aggiornate con un ampio processo di consultazione. I documenti elaborati riflettono l'opinione della maggior parte dei partecipanti. Le SMI sono liberamente disponibili per la consultazione su <http://www.hpa.org.uk/SMI> come documenti controllati in formato Adobe PDF.

#

UK Standards for Microbiology Investigations erano in precedenza conosciuti come National Standard Methods.

Microbiologia è usato come termine generico per includere le due specialità di Microbiologia Medica riconosciute dal GMC (General Medical Council), (che comprende Batteriologia, Micologia e Parassitologia) e la Virologia Medica.

Assicurazione di Qualità

La procedura per lo sviluppo delle SMI è certificata dalla ISO 9001:2008.

Evidence NHS ha accreditato il processo utilizzato dal HPA di produrre le SMI. L'accreditamento è valido per tre anni dal luglio 2011. L'accreditamento è applicabile a tutte le indicazioni prodotte dal mese di ottobre 2009 utilizzando i processi descritti in Standard Operating Procedure della HPA di SW3026 (2009) versione 6.

Le SMI rappresentano una procedura standard di buona qualità pratica alla quale si devono attenere per la propria attività tutti i laboratori di microbiologia clinica e di sanità pubblica del Regno Unito. Le SMI sono ben referenziate e non rappresentano gli standard minimi di attività, e neppure il più alto livello di complesse indagini di laboratorio disponibili nel Regno Unito. Utilizzando le SMI, i laboratori dovranno tenere conto delle esigenze locali e intraprendere ricerche aggiuntive qualora opportune. Le SMI aiutano i laboratori a soddisfare i requisiti dell'accreditamento con la promozione di procedure d'elevata qualità che possono essere verificate. Le SMI forniscono inoltre un punto di riferimento per lo sviluppo del metodo. Queste stesse devono essere utilizzate in associazioni con altre SMI.

I laboratori di microbiologia del Regno Unito che non utilizzano le SMI dovrebbero essere in grado di dimostrare almeno l'equivalenza delle loro metodologie di prova.

Le prestazioni della SMI dipendono dal personale ben addestrato e dalla qualità dei reagenti e delle attrezzature utilizzate. I laboratori dovrebbero assicurare che tutti i reagenti di tipo commerciale e quelli messi a punto in laboratorio siano stati validati e risultati idonei allo scopo. I laboratori devono partecipare a programmi di valutazione di qualità esterni ed eseguire le relative procedure del controllo di qualità interno.

Sebbene sia stata posta la massima attenzione nella preparazione delle SMI, la HPA, e l'organizzazione(i) subentranti e qualsiasi altra organizzazione di sostegno, dovranno, per quanto possibile nel rispetto della legge vigente, escludere la responsabilità per qualsiasi spreco, costo, reclamo, danno o maggior spesa derivante da o connesse all'uso di una SMI o qualsiasi informazione ivi contenuta. Se sono apportate modifiche a una SMI, deve essere chiaro dove e chi le ha apportate.

Le SMI sono assoggettate ai diritti d'autore della HPA, che devono essere riconosciuti quando appropriato.

La Tassonomia microbica è aggiornata al momento in cui è stata completata la revisione.

Regolamentazione della Gestione dei dati Sensibili

Le valutazioni delle Regole Anti-discriminazione concernenti le SMI sono disponibili all'indirizzo.

<http://www.hpa.org.uk/SMI>.

La HPA è un'organizzazione che condivide le direttive Caldicott. Ciò significa prendere ogni possibile precauzione per prevenire la diffusione non autorizzata d'informazioni sui pazienti e di garantire che le informazioni riguardanti gli stessi siano mantenute in condizioni di sicurezza.

Citazione Suggesta per questo Documento

Health Protection Agency. (2012). Surveillance of Polio in the UK. UK Standards for Microbiology Investigations. P 1 Emissione 4. <http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>.

Contenuti

RINGRAZIAMENTI.....	2
RICERCHE MICROBIOLOGICHE: PROCEDURE STANDAD DEL RU: SITUAZIONE	3
TABELLA MODIFICHE	6
SCOPO DEL DOCUMENTO	7
INTRODUZIONE.....	7
1 RUOLO DELL'HPA E DEI LABORATORI NHS	8
2 RUOLO DEL VIRUS REFERENCE DEPARTMENT, MICROBIOLOGICAL SERVICE DIVISION, COLINDALE.....	10
3 RUOLO DEGLI HEALTH PROTECTION SERVICES NEL HPA COLINDALE	10
APPENDICE 1. INFORMAZIONE TECNICA SUL LABORATORIO DIAGNOSTICO PER INFEZIONE POLIO	12
APPENDICE 2. MODULO SORVEGLIANZA POLIO	13
APPENDICE 3. LETTERA AI CLINICI.....	13
APPENDICE 4. RISPOSTA DELLA PUBLIC HEALTH A POTENZIALE INFEZIONE DA POLIOVIRUS SELVAGGIO.....	14
APPENDICE 5. DEFINIZIONI DI CASO PER POLIOMIELITE PARALITICA	18

Tabella delle modifiche

Ciascun metodo SMI possiede una registrazione separata delle correzioni. Quelle attuali sono specificate in questa pagina. Le precedenti modifiche sono disponibili presso la standards@hpa.org.uk.

I documenti nuovi o revisionati devono essere controllati in ciascun laboratorio in accordo con il sistema locale di gestione della qualità.

Modifica No/Data.	32/03.05.12
Emissione eliminata no.	3.3
Emissione inserita no.	4
Sezione(i) interessate/Pagina no.	Modifica.
Intero Documento	Documento presentato in nuovo formato
Introduzione	Contenuto aggiornato
Appendice 2	Modulo di sorveglianza incluso nel documento

Emissione eliminata. no	31/29.11.05
Emissione inserita no	3.2
Argomento inserito	3.3
Sezione(i) interessate	Modifica.
Intero documento	Documento aggiornato

Scopo del Documento

Questa SMI riguarda la sorveglianza per la Polio e deve essere usata insieme alle altre SMI.

Introduzione

L'Organizzazione Mondiale della Sanità prosegue gli sforzi per sradicare la poliomielite in ogni parte del mondo e ritiene che quest'obiettivo sia raggiungibile anche nei luoghi più isolati della terra. Una volta raggiunto quest'obiettivo, e prima di qualsiasi decisione volta a interrompere l'immunizzazione di massa contro la polio, sarà fondamentale dimostrare che tutti i paesi sono esenti da infezioni da poliovirus selvaggi. La certificazione di una nazione o di una regione esente da casi di infezione di polio richiede la dimostrazione che i sistemi di sorveglianza siano in grado di individuare eventuali infezioni endemiche da poliovirus selvaggi.

Nel 1997/8, è stato richiesto al Public Health Laboratory di preparare parte della relazione per la commissione dell'OMS riguardante il Regno Unito per la certificazione dell'eradicazione della poliomielite nel continente europeo. Questo per dimostrare che l'attuale prassi clinica e di laboratorio è stata in grado di individuare i casi di malattia paralitica, meningite asettica e infezione asintomatica causati da poliovirus selvaggi. Nella primavera 1998 è stata trasmessa alla commissione la relazione che dichiarava il Regno Unito libero di poliovirus selvaggi e questa è stata accettata. La certificazione formale non ha potuto essere comunque emessa fino a quando l'intero continente è stato esente da poliovirus selvaggio per tre anni. L'Europa è stata dichiarata libera dalla polio nel 2002. È essenziale che continui una sempre più attenta sorveglianza perché è ancora possibile l'importazione di poliovirus dalle regioni endemiche. Inoltre, si sono verificati focolai di poliomielite da ceppi vaccinali ricombinanti in nazioni certificate come esenti dalla polio, e in cui è diminuita la somministrazione del vaccino. È richiesta la dimostrazione che i casi con possibile diagnosi di poliomielite siano adeguatamente indagati per escludere l'infezione da poliovirus selvaggio. Elementi di prova sono previsti anche per la capacità di identificare correttamente i ceppi non-polio di enterovirus e ceppi vaccinali di poliovirus. Dal gruppo di esperti del Regno Unito deve inoltre essere eseguita una dettagliata revisione dei dati clinici e di laboratorio di tutti i casi sospetti di poliomielite paralitica (compresi quelli di paralisi flaccida acuta con paralisi permanente). I casi di paralisi non adeguatamente indagati, devono essere oggetto di una revisione clinica.

Nel 2004, il Regno Unito ha modificato la strategia di vaccinazione passando dall'uso del vaccino vivo con somministrazione orale (OPV) al vaccino inattivato (IPV). Tutti i poliovirus isolati, tranne quelli isolati di recente da persone a cui è stato somministrato OPV, dovrebbero ora essere considerati come ceppi potenzialmente non-vaccinali.

Il Regno Unito ridurrà al minimo il rischio di reintroduzione di poliovirus rilasciati da impianti o campioni che li possono contenere. Sono già state superate importanti tappe per soddisfare i requisiti della fase iniziale del Global Action Plan del WHO, 2ª edizione (<http://www.polioeradication.org/content/publications/WHO-VB-03-729.pdf>). Dal 2001 (consultare Appendice 4.5), il Public Health Laboratory Service, come parte della risposta del Regno Unito all'iniziativa dell'OMS, ha predisposto un inventario nazionale delle strutture che possiedono materiali con poliovirus. Una revisione dell'inventario conclusa nel 2009 da parte Health Protection Agency (che ha sostituito i Public Health Laboratory Services), ha evidenziato che ora solo in 26 sedi permangono poliovirus, o materiale che potenzialmente contiene il virus. Qualsiasi laboratorio che acquisti o isoli poliovirus selvaggi, o vaccino virus, o conservi enterovirus non tipizzati, deve informare il coordinatore per il contenimento della polio del RU (polio@hpa.org.uk).

Tutti i laboratori sono vivamente consigliati a cercare alternative all'uso di poliovirus selvaggi e per l'eliminazione di tutto il materiale non necessario.

I laboratori che continuano a isolare, conservare o usare poliovirus, devono rispettare gli attuali requisiti di legge, descritti nel Control of Substances Hazardous to Health (COSHH) 2002 regulations, per lavorare con agenti biologici che presentano un rischio per la salute umana (<http://www.hse.gov.uk/COSHH/index.htm>). Attualmente nel Regno Unito il poliovirus appartiene al

Gruppo patogeno di Rischio 2; tutte le manipolazioni che coinvolgono questo virus devono essere eseguite in condizione CL2, come pure il trattamento di materiali contenenti il virus. Tuttavia, l'OMS raccomanda che le misure di contenimento devono andare oltre quelle richieste dalla CL2 nella Tabella 3 del COSHH. Le raccomandazioni OMS, BSL-2/polio, non sono al momento vigenti per legge nel Regno Unito, ma ai laboratori che lavorano con poliovirus si consiglia di applicare, per la manipolazione sicura del virus, misure superiori a quelle della BSL-2/polio. Le linee guida dell'OMS sono specificate nel Global Action Plan, 2° edizione. <http://www.polioeradication.org/content/publications/WHO-VB-03-729.pdf>).

Il presente documento illustra il ruolo della HPA nel mantenere la sorveglianza della polio nel Regno Unito fino a certificazione completata in tutto il mondo.

1 Ruolo della HPA e dei Laboratori NHS

I Laboratori devono concorrere a garantire che sia esclusa l'infezione da poliovirus in tutti i casi di paralisi flaccida acuta (inclusa la sindrome di Guillain-Barré) secondo i criteri WHO. Ciò comporta l'invio di due campioni di feci per la cultura virale che può essere eseguita presso la Virus Reference Division, HPA Colindale, se localmente non è disponibile l'isolamento del virus o la PCR per enterovirus. I campioni devono essere prelevati a 48 ore di distanza ed entro due settimane dall'esordio (vedi Appendice 1).

I laboratori dovrebbero assicurare ricerche per tutti i possibili poliovirus isolati in laboratorio o rilevati con la PCR - anche da soggetti asintomatici.

Per agevolare la sorveglianza della paralisi flaccida acuta, migliorare quella della meningite asettica, si raccomanda, in modo particolare, di tener presente che i poliovirus causano meningite asettica molto più frequentemente della poliomielite paralitica e che la maggior parte degli enterovirus sono rilevati in campioni di LCR. Pertanto i campioni di LCR positivi per enterovirus e gli estratti positivi di acido nucleico devono essere anche inviati per la tipizzazione al Virus Reference Department.

I laboratori dovrebbero discutere nelle fasi precoci tutti i casi sospetti di virus polio con il Virus Reference Department o con gli Health Protection Services, HPA Colindale. Questi casi devono essere segnalati al CCDC locale, o a struttura equivalente nelle amministrazioni decentrate.

In caso di polio sospetta i laboratori devono consigliare le seguenti indagini (vedi Appendice 1):

- PCR per Enterovirus su feci, LCR o tamponi faringei / aspirato naso faringeo.
- Campioni LCR: biochimica, microscopia e coltura virale.
- Coltura virale di tamponi faringei / aspirato naso faringeo .
- Coltura virale e / o PCR su feci da contatti domestici.

Le indagini specifiche di seguito riportate sono disponibili presso il Virus Reference Department

- Poliovirus-PCR specifica su feci, LCR o tamponi faringei / aspirato naso faringeo.
- Coltura virale e test di neutralizzazione (feci, LCR, tamponi faringei / aspirato naso faringeo.
- Prove di neutralizzazione intratipica per poliovirus.
- Conferma e differenziazione di poliovirus con sequenziamento di ceppi vaccinici e selvaggi.
- Siero di fase acuta e convalescente per il rilievo di anticorpi neutralizzanti per poliovirus 1, 2 e 3 in campioni di siero acuto e convalescente (disponibile presso il Virus Reference Department).
- Saggio per IgM poliovirus (richiesto, se appropriato, al Virus Reference Department) .

I laboratori devono eseguire tutti gli accertamenti di routine secondo gli standard del RU per le indagini microbiologiche (dove appropriato/se disponibili).

Nell'ottica del miglioramento della sorveglianza, i laboratori devono fare riferimento all'Enteric Virus Unit, Virus Reference Department (consultare Appendice 2):

- a. Tutti gli isolati di poliovirus o campioni clinici dai quali poliovirus è stato rilevato con metodi molecolari o sierologici.
- b. Isolati di enterovirus non tipizzabili (se si preferisce, questi possono essere saggiati in laboratori locali con competenza adeguata). Se non disponibili, inviare per tipizzazione al Colindale).
- c. Campioni di LCR positivi alla PCR per enterovirus (se si preferisce, questi possono essere saggiati nei laboratori locali con competenza adeguata. Se non disponibili, inviare per tipizzazione al Colindale).
- d. Isolati di enterovirus e campioni PCR-positivi per enterovirus da casi con sintomi di paralisi.
- e. Isolati di enterovirus e campioni PCR-positivi per enterovirus da casi con manifestazioni neurologiche (inclusi quelli riferibili a meningite / encefalite / meningismo / irritabilità / cefalea / convulsioni / apnea e morte improvvisa segnalati sul modulo di richiesta).
- f. Isolati di enterovirus e campioni PCR-positivi di soggetti immunocompromessi.
- g. Campioni clinici di enterovirus PCR-positivi e isolati di enterovirus da persone con miocardite.

NB: I cDNA devono essere inviati solo se ottenuti con trascrizione inversa a innesco casuale (esameri random).

I laboratori devono agevolare l'Health Protection Services fornendo copia dell'informazione clinica dei casi sospetti di polio paralitica (consultare Allegato 3). Inoltre, quando si rileva un poliovirus, il laboratorio deve fornire successive informazioni cliniche. Ciò comprende:

- Anamnesi clinica (presenza di sintomi simil-polio)
- Stato immunitario (immunocompromesso o immunocompetente)
- Vaccinazioni polio.
- Storia di viaggio per il caso, e dei membri della famiglia.

Campioni appropriati devono essere inviati con urgenza al Virus Reference Department per accertare se si tratta di virus vaccino o di ceppo selvaggio. Nel primo caso, occorre verificare se si tratta di un vaccino derivato da poliovirus (VDPV) per differenziazione intratipica

I laboratori devono agevolare l'Health Protection Services e il CCDC locale con informazioni di sanità pubblica per i casi sospetti (consultare Appendice 4).

Contributo al contenimento: se in laboratorio si isola un ceppo selvaggio o vaccinale antipolio correlato poi tutto campione(i) significativo deve essere:

- Inviato al Virus Reference Department
- Denunciato al "Poliovirus register" se i campioni sono stati conservati nel laboratorio locale
- Scartato

2 Ruolo del Dipartimento di Riferimento, Microbiological Services Division, Colindale

Il Virus Reference Department eseguirà l'indagine di routine sui campioni clinici raccolti da casi sospetti di polio, eseguendo poi la caratterizzazione intratipica di qualsiasi poliovirus isolato o di campioni PCR poliovirus specifici. In particolare, nella fase iniziale devono essere ricercate le seguenti informazioni;

- Tutti i poliovirus isolati.
- Campioni clinici PCR-positivi per enterovirus e isolati di enterovirus da casi con sintomi di paralisi.
- Campioni clinici PCR-positivi per enterovirus (compresi i LCR) e isolati di enterovirus da persone con possibili malattie neurologiche.
- Campioni clinici PCR-positivi per enterovirus e isolati di enterovirus da casi con miocardite.
- LCR PCR-positivi per enterovirus e isolati da colture cellulari da soggetti immunocompromessi.
- LCR PCR-positivi per enterovirus e isolati da colture cellulari da soggetti ad alto rischio (popolazioni scarsamente vaccinate).

Il Virus Reference Department eseguirà indagini di routine per poliovirus su campioni di casi con sintomi neurologici di paralisi o altra sintomatologia, come indicato in precedenza, entro una settimana dal ricevimento.

Il Virus Reference Department eseguirà successive indagini nei casi di sospetta polio, secondo le indicazioni OMS e SOP approvate dalla HPA. Queste indagini comprendono:

- Neutralizzazione anticorpale per poliovirus di tipo 1, 2 e 3.
- PCR per enterovirus sulle feci, LCR o tampone faringeo / aspirato naso faringeo.
- Poliovirus PCR su feci, LCR o tampone faringeo / aspirato naso faringeo.
- Caratterizzazione dei poliovirus con sequenziamento della regione VP1.

Il Virus Reference Department fornirà consulenza sulle indagini dei casi sospetti.

Il Virus Reference Department aiuterà i laboratori e l'Immunisation Department con informazioni di sanità pubblica per un caso sospetto.

3 Ruolo degli Health Protection Services nell'HPA Colindale

L'Health Protection Services offrirà consulenza per una ricerca appropriata ai laboratori e ai CCDC nei casi sospetti di poliovirus.

L'Health Protection Services offrirà consulenza e supporto ai CCDC con informazioni di sanità pubblica per un caso sospetto (vedi Appendice 4).

L'Health Protection Services farà da collegamento fra laboratori locali, CCDC e medici per ottenere ulteriori informazioni cliniche di tutti i casi sospetti di polio (vedi Appendice 3).

L'Health Protection Services raccoglierà informazioni cliniche e di laboratorio per la revisione da parte gruppo di esperti del RU per:

- Tutti i casi di paralisi che sono indagati per l'infezione da poliovirus.
- Per i casi di paralisi in cui i campioni di feci non erano stati raccolti nel momento appropriato.
- Tutte le identificazioni di enterovirus.

L'Health Protection Services raccoglierà informazioni su isolati di poliovirus ed enterovirus e identificazioni segnalate all'Health Protection Services e offrirà consulenza all'EVU (Enteric Virus Unit), Virus Reference Department.

L'Health Protection Services raccoglierà dati sui casi di sospetta poliomielite da qualsiasi fonte (notificato all'ONS, paralisi riferite al Medicines Control Agency, facendo riferimento all'EVU, Virus Reference Department o casi segnalati all'Health Protection Service), secondo le definizioni del caso concordate (consultare Appendice 5).

Appendice 1. Informazione Tecnica sul Laboratorio di Diagnosi per Infezione da Poliovirus

1 CAMPIONI APPROPRIATI

Tamponi faringei	prima settimana di malattia.
Feci	fino a quarta settimana di malattia.
LCR	precoce.
Siero	prima settimana e 2 - 3 settimane dopo.

2. ISOLAMENTO VIRUS

2.1 Preparazione dei campioni

Tamponi faringei: chiarificare il mezzo di trasporto contenente il tampone con centrifugazione a bassa velocità.

Feci: preparare una sospensione al 10% e chiarificare con centrifugazione a bassa velocità.

LCR: usare indiluito

2.2 Inoculazione delle colture cellulari

Inoculare i campioni in colture cellulari seguendo le procedure del laboratorio locale. Esaminare giornalmente lo strato cellulare per l'effetto citopatico. Se non è visibile alcun effetto citopatico dopo 1 settimana, raschiare le cellule nel terreno di coltura, congelare e scongelare e trapiantare in cellule fresche.

2.3 cellule consigliate

I Poliovirus crescono in una grande varietà di colture cellulari di origine umana e dei primati. Le cellule RD (rhabdomyosarcoma), sono particolarmente sensibili per l'isolamento di poliovirus e di enterovirus (e possono essere fornite, se necessario, dal Virus Reference Department). Altre cellule idonee includono le MRC5 o altri fibroblasti umani, linee di rene di scimmia primarie e secondarie, HEP2, Hep2C, HeLa e PLC/PRF5.

2.4 Virus tipizzazione

Gli Isolati devono essere identificati e tipizzati ad esempio con neutralizzazione, fluorescenza ecc.. Sono disponibili prove commerciali per l'identificazione con fluorescenza per i poliovirus e un numero limitato di enterovirus.

3 POLIOVIRUS ISOLATI

I poliovirus isolati devono essere inviati all'EVU, Virus Reference Department, per saggi di marcatori intratipici vaccinali e genotipizzazione, accompagnati dal modulo compilato per il Miglioramento della Sorveglianza per la Polio.

3.1 PCR

La PCR può essere utilizzata per il rilevamento dei poliovirus e degli enterovirus nelle feci, tamponi faringei, LCR e nei primi campioni di siero.

4 SIEROLOGIA

Sono disponibili test anticorpali per l'infezione da polio presso l'EVU, Virus Reference Department Virus (volume minimo richiesto è di 300 µL). I sieri devono essere inviati accompagnati dal modulo compilato per il miglioramento della Sorveglianza per la Polio.

La sierologia per la polio può essere richiesta per motivi diversi dall'indagine della malattia neurologica, per esempio condizione immunitaria per i viaggiatori, pazienti immunocompromessi e

per scopi di Medicina del Lavoro. Questi saranno trattati come campioni inviati. I campioni di siero devono essere inviati con il modulo per "Sorveglianza della Polio".

5 ALTRE INFORMAZIONI

Per altre informazioni prendere contatto con l'EVU, Virus Reference Department 020 8327 6225
Centralino fuori orario lavorativo 020 8200 4400

Appendice 2 . Modulo Sorveglianza Polio

http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1287144477120

Appendice 3 . Lettera ai Clinici

Eradicazione della polio

Egregio Dr _____

Re: Nome Caso / identificatore: _____ Segnalato su / da: _____

Come forse le è noto, l'Organizzazione Mondiale della Sanità mira a sradicare i poliovirus selvaggi. Prima di prendere qualsiasi decisione, sarà importante dimostrare che il poliovirus selvaggio è assente ovunque, in tutti i paesi. Ciò richiede un processo di certificazione, in cui ogni paese presentata i dati della sorveglianza alla commissione regionale dell'OMS per una revisione critica. Il Regno Unito è stato certificato libero dalla polio. Per mantenere questo stato, il Regno Unito deve dimostrare di disporre di adeguati sistemi di vigilanza in atto per rilevare rapidamente e indagare i casi sospetti di polio.

I criteri che verranno utilizzati saranno estremamente rigorosi e, in particolare, è richiesta la prova che l'infezione da poliovirus selvaggio sia stata esclusa in **ogni** caso di paralisi. L'OMS ha stabilito uno standard di riferimento (gold standard) per **tutti** i casi sospetti di paralisi flaccida acuta, che dovrebbero essere studiati con l'invio di campioni di feci per ricerca virologica. Nel Regno Unito, tuttavia, ove la diagnosi di polio paralitica è considerata veramente improbabile, molti di questi casi sono esclusi con criteri clinici o di altro tipo. Sarà quindi necessario per noi documentare i risultati clinici e le indagini in tutti i casi sospetti e di presentare questi per una revisione accurata. Mi rivolgo quindi scrivendo ai clinici per tutti i casi che sono stati segnalati come paralisi flaccida acuta, **compresi quelli in cui la diagnosi di poliomielite era stata da allora negata**, per ottenere successivi dettagli per questa revisione.

Sarei quindi molto grato se potesse inviare a me una copia della nota di sintesi di dimissione e / o lettere ambulatoriali (o le note a vostra discrezione) del caso di cui sopra, che è stato riportato nel (inserire l'anno). In particolare siamo interessati all'anamnesi della vaccinazione o di viaggio, a indagini di laboratorio (es. campioni inviati per accertamenti virologici, esame delle cellule del LCR), esordio clinico (es. presenza di sintomi sensoriali o neuronali motori superiori) e all'esito (paralisi residua almeno 60 giorni dopo l'esordio). Le sarei grato se cortesemente potesse trasmettere tutte le informazioni che potremmo non ancora disporre nel più breve tempo possibile.

Ringrazio per il vostro aiuto fornito a questa importante iniziativa.

Consulente epidemiologo
Immunisation Department
Health Protection Agency, Colindale

Appendice 4 . Risposta della Public Health a Potenziale Infezione da Poliovirus Selvaggio

Livello uno:

A. singolo caso di rilevamento di poliovirus in persona altrimenti sana

Definito come: Virus della poliomielite (non derivato da variante) isolato da persona sana con:

O recente vaccinazione polio orale o storia di viaggio in area con vaccinazione OPV (oral polio vaccine)

O il contatto con un membro della famiglia con anamnesi recente di vaccinazione OPV o recente viaggio in un'area con vaccinazione OPV

O nessuna storia recente di vaccinazione o di viaggio e nessun familiare o anamnesi con vaccinazione

1. Verificare se sono state eseguite appropriate indagini nei casi e nei contatti. (consultare Appendice 1)
2. Ripetere il controllo nel caso e in tutti i contatti domestici con intervallo di 4 settimane. Segnalare all'Health Protection Services /Virus Reference Department
3. Ripetere il campionamento fino a due campioni negativi a distanza di 48 ore
4. Assicurarsi che tutti i contatti familiari stretti sono vaccinati con vaccino IPV (vaccino antipolio inattivato o ucciso)
5. Se nessun fattore di rischio è evidente, richiesta urgente per discutere la gestione successiva e la ricerca di contatti con l'Health Protection Services e con il Department of Health.

B. Caso singolo di poliovirus in persona immunodepressa

Definito come: Poliovirus (non da variante antigene) isolato da persona immunodepressa con o senza sintomi di paralisi

1. Assicurarsi che siano state avviate appropriate indagini per il caso e i contatti (consultare Appendice 1).
2. Segnalazione all'Health Protection Services / Virus Reference Department. Informare il Department of Health.
3. Fare riferimento al caso clinico
4. Consigliare un'adeguata igiene personale e l'esclusione dal lavoro con manipolazione degli alimenti
5. Controllo mensile delle feci con escrezione continua fino a tre campioni negativi per polio con intervalli mensile -> quindi riesaminare con l'HPA Colindale (Virus Reference Department e Health Protection Services)
6. Richiedere consulenza specialistica prima di un viaggio (per quanto riguarda eventuale uso di vaccinazioni antipolio o IVG)
7. Assicurarsi che i contatti ravvicinati con i familiari siano protetti e che questi siano vaccinati con un vaccino contenente IPV, indipendentemente dallo stato vaccinale

C. Caso singolo di sospetta polio paralitica associata al vaccino

Definito come: Malattia compatibile in ricevente con vaccinazione antipolio orale recente (con o senza isolamento del poliovirus)

1. Verificare che siano state avviate appropriate indagini per il caso e i contatti (consultare Appendice 1). Segnalazione all'Health Protection Services / Virus Reference Department. Informare il Department of Health.
2. Consigliare la vaccinazione con IPV ai non vaccinati che vivono a stretto contatto (familiari operatori sanitari)
3. Incoraggiare la vaccinazione con IPV alle persone non vaccinate nella scuola / località..

Livello due: possibile caso singolo d'infezione da poliovirus selvaggio

Definito come: Isolato poliovirus da persona con sintomi di paralisi, che non ha un'anamnesi di vaccinazione recente o contatto con un soggetto vaccinato.

Poliovirus isolato da persona di ritorno da una possibile zona endemica (qualsiasi paese al di fuori dell'Europa occidentale, America del Nord, o in Australasia).

Poliovirus isolato in bambino di una famiglia itinerante.

Poliovirus isolato in bambino di una comunità che può rifiutare la vaccinazione (ad esempio, le comunità Steiner).

1. Avviare immediatamente appropriate indagini (consultare Appendice 1) per il caso e i contatti. Segnalare immediatamente all'Health Protection Services e / o al Virus Reference Department. Contact Department of Health per ottenere la fornitura di OPV..
2. Assicurarsi che tutti i contatti familiari stretti siano vaccinati immediatamente con OPV, indipendentemente dallo stato vaccinale..
3. Indagare immediatamente che la copertura vaccinale nella popolazione a rischio (es.: scuola, comunità residenziale, località). Se nella popolazione infantile locale si sospettata che sia inferiore all'85% prendere in considerazione una campagna vaccinale porta a porta che preveda:
 - Singola dose di OPV a persone di tutte le età se il caso si verifica in una comunità ben definita (a prescindere dalla storia vaccinale) o
 - Singola dose di OPV a tutti i bambini della scuola materna e in età scolare nella località (a prescindere dalla storia vaccinale) e
 - Favorire la vaccinazione con IPV (completamento del corso della vaccinazione in tutte le persone del luogo non vaccinate e parzialmente vaccinate).
4. Se la popolazione bersaglio (definita al punto 3) rifiuta il vaccino
 - Valutare l'opportunità di somministrare una singola dose di vaccino alle persone nelle comunità circostanti.
 - Istituire in loco una sorveglianza attiva per paralisi da infezione sostenuta e non da polio virus.

Livello tre: caso singolo confermato di poliovirus selvaggio

Definito come: Isolato poliovirus selvaggio confermato dalla differenziazione intratipica o sequenziamento del virus presso il Virus Reference Department.

1. Raccogliere campioni di feci dai contatti domestici. Considerare la possibile raccolta di campioni di feci da un'ampia popolazione.
2. Segnalare immediatamente al HPS. Dovrà essere informato il Department of Health e il WHO
3. Istituire localmente la sorveglianza attiva per l'infezione di tipo paralitico e non paralitico.
 - Avvisare i laboratori locali e i medici.
 - Favorire la raccolta dei campioni di feci in tutti i casi di malattie neurologiche acute.
 - Considerare l'indagine sulle feci dei contatti sani.
4. Quando l'infezione sembra essere d'importazione. Accertare immediatamente la copertura vaccinale nella popolazione a rischio (es.: scuola, comunità residenziale, località). Se si ritiene che la copertura vaccinale nella popolazione infantile locale sia inferiore all'85% prendere in considerazione una campagna vaccinale porta a porta che preveda:

- Singola dose di OPV a persone di tutte le età se si verifica in una comunità ben definita (a prescindere dalla storia vaccinale) o
 - Singola dose di IPV/OPV a tutti i bambini della scuola materna e in età scolastica nella località (a prescindere dalla storia vaccinale) e
 - Favorire localmente la vaccinazione con IPV (completamento del corso della vaccinazione in tutte le persone non vaccinate e parzialmente vaccinate).
5. Se l'infezione sembra essere indigena eseguire in modo retrospettivo la ricerca del caso
- Contattare i laboratori locali per ottenere qualunque isolato recente di enterovirus r
 - Effettuare un'indagine sulle feci nelle persone sane e a rischio.
6. Se si ritiene che l'infezione possa essere di tipo indigeno, condurre una campagna porta a porta che preveda:
- Somministrazione di singola dose di IPV / OPV a persone di tutte le età, se il caso si verifica in una comunità ben definita (a prescindere dalla storia vaccino) o
 - Somministrazione locale di singola dose di IPV / OPV a tutti i bambini della scuola materna e in età scolastica (a prescindere dalla storia vaccino) e
 - Vaccinazione locale con IPV (per favorire il completamento del corso vaccinale in tutte le persone non vaccinate e parzialmente vaccinate).
7. Se nella popolazione coinvolta 4 o 6 persone rifiutano il vaccino
- Valutare l'opportunità di somministrazione di dose singola di vaccino a persone nelle comunità circostanti.
8. Si consideri l'opportunità di condurre una campagna porta in altre fasce di età / popolazione in funzione delle condizioni epidemiologiche

Livello 3: caso singolo confermato da circolazione di poliovirus vaccino-derivato (c-VDPV *)

Definito come: Poliovirus isolato confermato come variante genetica cVDPV (circulating vaccine-derived polio virus) con sequenziamento presso il Virus Reference Department, proveniente da persona con o senza sintomi di paralisi

Gestione della salute pubblica a livello 3 per incidente con polio-virus selvaggio

*I poliovirus variante vaccino derivata sono definiti come ceppi vivi attenuati contenuti nel vaccino antipolio orale (OPV), che sono stati modificati e riadattati in una forma che può causare paralisi negli esseri umani e con capacità di sostenere la loro circolazione. Questi sono identificati come varianti derivante tramite differenziazione intratipica.

1. I cVDPV sono associati alla trasmissione da persona a persona e considerati circolanti nell'ambiente;
2. I polio iVDPV (poliovirus vaccino-derivati correlati a immunodeficienza) sono isolati da pazienti immunodeficienti che hanno infezioni prolungate dopo l'esposizione all'OPV.

Livello quattro: casi epidemiologicamente collegati di polio paralitica

Definito come: Malattia compatibile che si verifica in 2 o più persone nella stessa località in un periodo di 8 settimane in cui 2 o più individui non hanno un'anamnesi di vaccinazione recente o contatto con un ricevente (con o senza poliovirus isolati).

1. Avviare immediatamente appropriate indagini del caso e contatti. Segnalare immediatamente al HPS e / o al Virus Reference Department. Informare il Department of Health.
2. Assicurarsi che tutti i contatti familiari stretti siano vaccinati immediatamente con OPV, indipendentemente dallo stato vaccinale.

- 3 Istituire localmente la sorveglianza attiva per l'infezione di tipo paralitico e non paralitico.
 - Avisare i laboratori locali e i medici.
 - Incoraggiare la raccolta dei campioni di feci in tutti i casi di malattie neurologiche acute.
 - Considerare indagine sulle feci dei contatti sani.
 - Contattare i laboratori locali per ottenere qualunque isolato recente di enterovirus
4. Condurre una campagna porta a porta che preveda:
 - Somministrazione di dose singola di OPV alle persone di tutte le età, se caso si verifica in una comunità ben definita (a prescindere dalla storia vaccinale) o
 - Somministrazione locale di dose singola di OPV a tutti i bambini della scuola materna e in età scolastica (a prescindere dalla storia vaccinale) e
 - Vaccinazione (somministrazione locale della vaccinazione a tutte le persone non vaccinate)
- 5 Considerare una campagna porta a porta in altre fasce d'età / popolazioni in funzione delle condizioni epidemiologiche.

Livello 4: Casi epidemiologicamente correlati a c-VDPV

Definito come: Due o più isolati di polio virus da persone nella medesima località che manifestano paralisi / non-paralisi / o nessun sintomo e confermati come cVDPV al sequenziamento effettuato presso il Virus Reference Department

Gestione della salute pubblica come livello 4 per incidente con polio-virus selvaggio

Appendice 5 . Definizione di Caso per Poliomielite Paralitica

Definizione di caso per poliomielite paralitica

Paziente con caratteristiche cliniche compatibili con poliomielite paralitica dal quale è stato isolato poliovirus vaccino o polio virus selvaggio da un campione clinico.

Manifestazioni cliniche compatibili per poliomielite paralitica

- Paralisi flaccida acuta.
- Diminuzione o assenza dei riflessi tendinei degli arti colpiti.
- Nessuna perdita sensoriale o cognitiva.
- Nessuna altra causa identificata, nonostante le indagini di laboratorio.
- Deficit neurologico presente 60 giorni dopo l'esordio dei sintomi tranne che nel paziente deceduto.

Definizioni delle categorie dei casi

1. Destinatario del Vaccino (Va R – vaccine recipient)#

- Caratteristiche cliniche compatibili con poliomielite paralitica, e
- Nessun accertamento di laboratorio di virus di tipo selvaggio* e
- Esordio paralisi tra i 4 ei 30 giorni dopo che il paziente ha ricevuto il vaccino antipolio orale †

vaccinati all'estero o in paziente con soggiacente immunodeficienza precedentemente vaccinato con OPV

*conferma con l'isolamento del virus vaccino

† Nei soggetti immunocompromessi questi periodi possono essere considerevolmente prolungati

2. Vaccino per contatto (Va C – vaccine contact)

- Caratteristiche cliniche compatibili con poliomielite paralitica, e
- Nessun riscontro di laboratorio per virus di tipo selvaggio*, e
- Contatto con un soggetto vaccinato, e
- Insorgenza della paralisi tra 4 e 75 giorni dopo la somministrazione del vaccino antipolio orale †

* conferma con isolamento del virus vaccinico.

† per pazienti immunocompromessi questi periodi possono essere considerevolmente più lunghi

3. Indigeno selvaggio

- Caratteristiche cliniche compatibili con poliomielite paralitica, e
- Isolamento di virus di tipo selvaggio, e
- Nessun viaggio e nessun contatto con persona che ha viaggiato o risieduta in zona conosciuta in cui il poliovirus selvaggio ha circolato negli ultimi 30 giorni prima dell'esordio dei sintomi..

4. Virus Selvaggio importato

- Caratteristiche cliniche compatibili con poliomielite paralitica, e
- Isolamento di virus selvaggio, e
- Viaggio o residenza o in un paese dove è noto che il poliovirus selvaggio circola nei 30 giorni precedenti la comparsa dei sintomi (consultare di seguito 5).

5. Altre categorie

5,1 virus selvaggio - da importazione

- Caratteristiche cliniche compatibili con poliomielite paralitica, e
- Isolamento virus di tipo selvaggio, e
- Contatto nei 30 giorni precedenti la comparsa dei sintomi con chiunque abbia viaggiato o soggiornato in un paese in cui è nota la circolazione di poliovirus selvaggio, o contatto nei primi 30 giorni dalla comparsa dei sintomi con chiunque sia affetto da poliomielite acuta e che abbia viaggiato o soggiornato in un paese dove è nota la circolazione di poliovirus selvaggio

5,2 caso associato a vaccino - possibile o contatto non noto

- Caratteristiche cliniche compatibili con poliomielite paralitica, e
- isolamento del virus del vaccino, ma non noto nessun contatto diretto con soggetto vaccinato e non evidenza anamnestica che il paziente abbia ricevuto vaccino antipolio orale

5.3 Caso compatibile*

- Caratteristiche cliniche compatibili con poliomielite paralitica, e
- Nessun isolamento di poliovirus da campioni clinici e
- Presenza o assenza di evidenza sierologica per infezione recente, da poliovirus e
- Nessuna evidenza di infezione con altri virus neurotropi

* Questi casi devono essere inviati per revisione agli esperti per la successiva classificazione