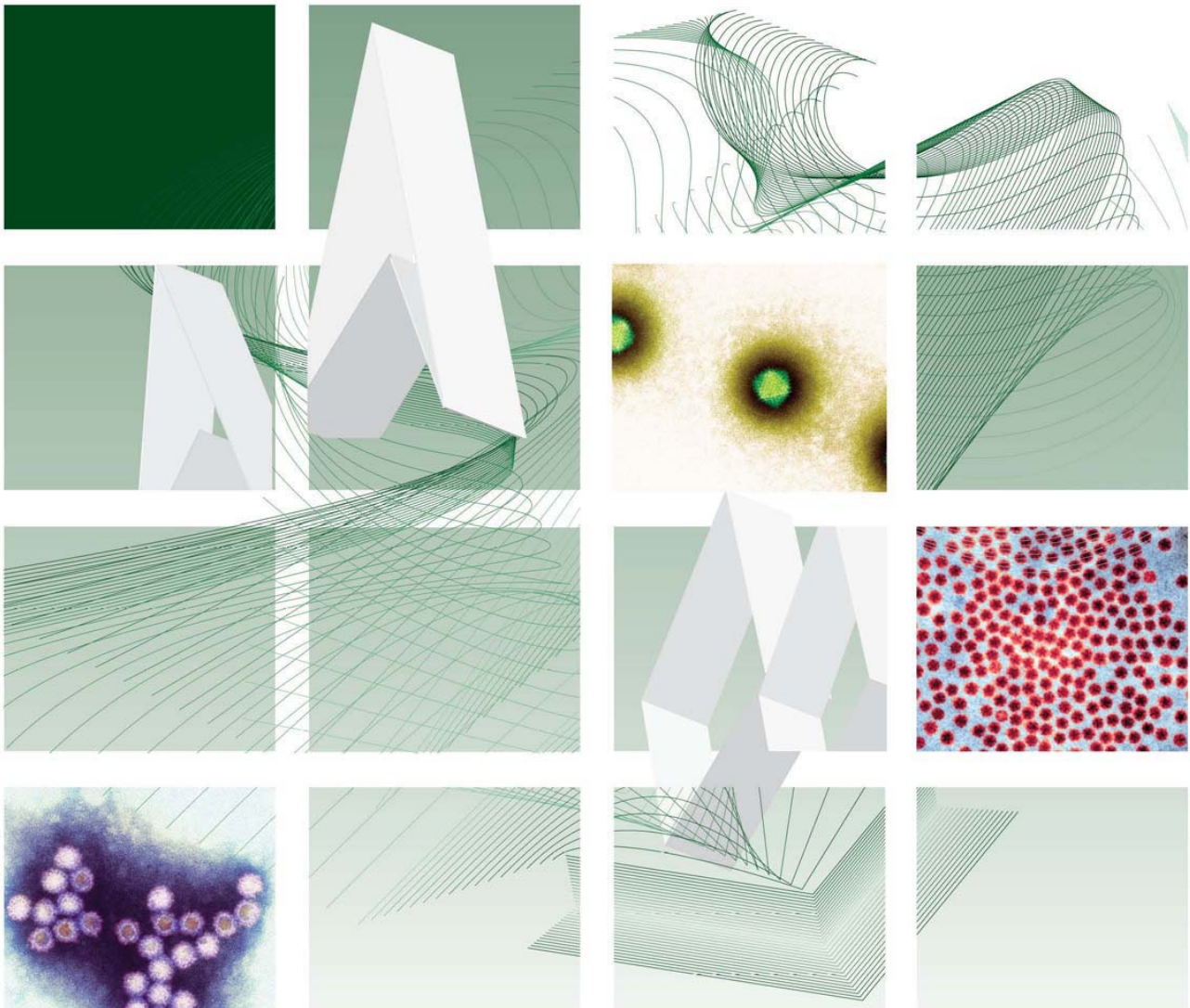


# Ricerche Microbiologiche: Procedure Standard del Regno Unito

Ricerche di V. Influenza A H1N1 di Origine Suina  
usando Saggio A H1 di Origine Suina



## Ringraziamenti

Le Procedure Standard del Regno Unito per le Ricerche Microbiologiche (SMI - Standards for Microbiology Investigations) sono sviluppate sotto l'egida della 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](mailto: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: Procedure Standard del Regno Unito<sup>#</sup>: Situazione**

### **Utilizzatori delle SMI**

Sono stati identificati tre gruppi di utenti per i quali le SMI sono particolarmente utili:

- 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**

Lo sviluppo delle SMI è condotto nell'ambito dell'HPA in collaborazione con il NHS, Public Health del 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 una 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.

---

<sup>#</sup> Gli Standard di Microbiologia del RU erano in precedenza conosciuti come Metodi Nazionali Standard.

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).

Le SMI sono sviluppate, revisionate ed 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.

## Assicurazione di Qualità

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

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 di 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 delle 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 derivanti 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 di informazioni sui pazienti e di garantire che le informazioni relative agli stessi siano mantenute in condizioni di sicurezza.

## Citazione Suggesta per questo Documento

Health Protection Agency. (2012). Investigation of Swine-Lineage Influenza A/H1N1 v Using the Swine-Lineage Influenza A H1 Assay. UK Standards for Microbiology Investigations. V 51 Emissione 1.2. <http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>.

## Contenuti

---

RINGRAZIAMENTI .....	2
RICERCHE MICROBIOLOGICHE: PROCEDURE STANDARD DEL REGNO UNITO: SITUAZIONE .....	3
TABELLA MODIFICHE .....	6
RICERCA DI INFLUENZA A/H1N1 DI ORIGINE SUINA CON SAGGIO <sup>2</sup> A H1 DI ORIGINE SUINA <sup>A</sup> : DIAGRAMMA DI FLUSSO .....	7
APPENDICE 1: GESTIONE CASI CONFERMATI O PROBABILI .....	9
APPENDICE 2: MATRICE DI REFERTAZIONE PER V. INFLUENZA A/H1N1 DI ORIGINE SUINA .....	10
SEGNALAZIONE ALL' AHPA .....	11
BIBLIOGRAFIA .....	12



La procedura di sviluppo delle SMI è certificata ISO 9001.



La NHS Evidence ha accreditato la procedura usata dalla HPA per produrre le SMI. L'accreditamento è valido per tre anni dal Luglio 2011. L'accreditamento è riferito alle linee guida emanate dall'Ottobre 2009 che utilizzano le procedure descritte nella HPA's Standard Operating Procedure SW3036 (2009) versione 6. Informazioni più dettagliate sull'accreditamento sono disponibili al sito [www.evidence.nhs.uk](http://www.evidence.nhs.uk)

## Tabella delle modifiche

---

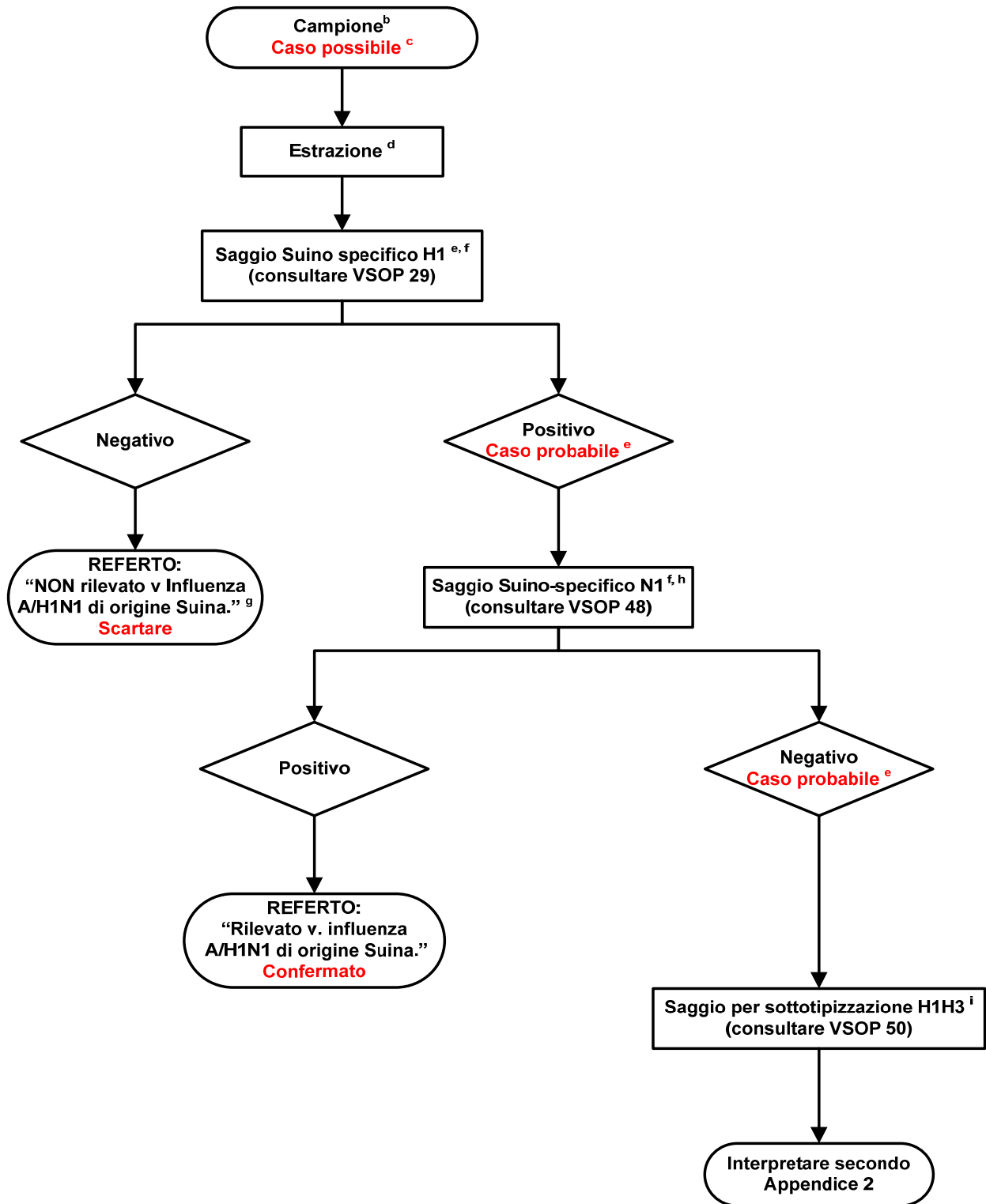
Ciascun documento controllato possiede una registrazione separata delle correzioni. Quelle attuali sono specificate in questa pagina. Le precedenti modifiche sono disponibili presso la [standards@hpa.org.uk](mailto:standards@hpa.org.uk).

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

Modifica No/Data.	2/29.06.12
Emissione eliminata. no .	1.1
Emissione inserita no	1.2
<b>Sezione(i) interessate</b>	<b>Modifica.</b>
Whole document.	Minori modifiche di formattazione

Modifica No/Data.	1/02.11.11
Emissione inserita no.	1
Emissione eliminata. no	1.1
<b>Sezione(i) interessate</b>	<b>Modifica.</b>
Documento intero .	Documento presentato in nuovo formato.
Bibliografia	Bibliografia in parte aggiornata.

## Ricerca di V. Influenza A/H1N1 di Origine Suina con Saggio<sup>a</sup> A H1 di Origine Suina – Diagramma<sup>a</sup> di Flusso

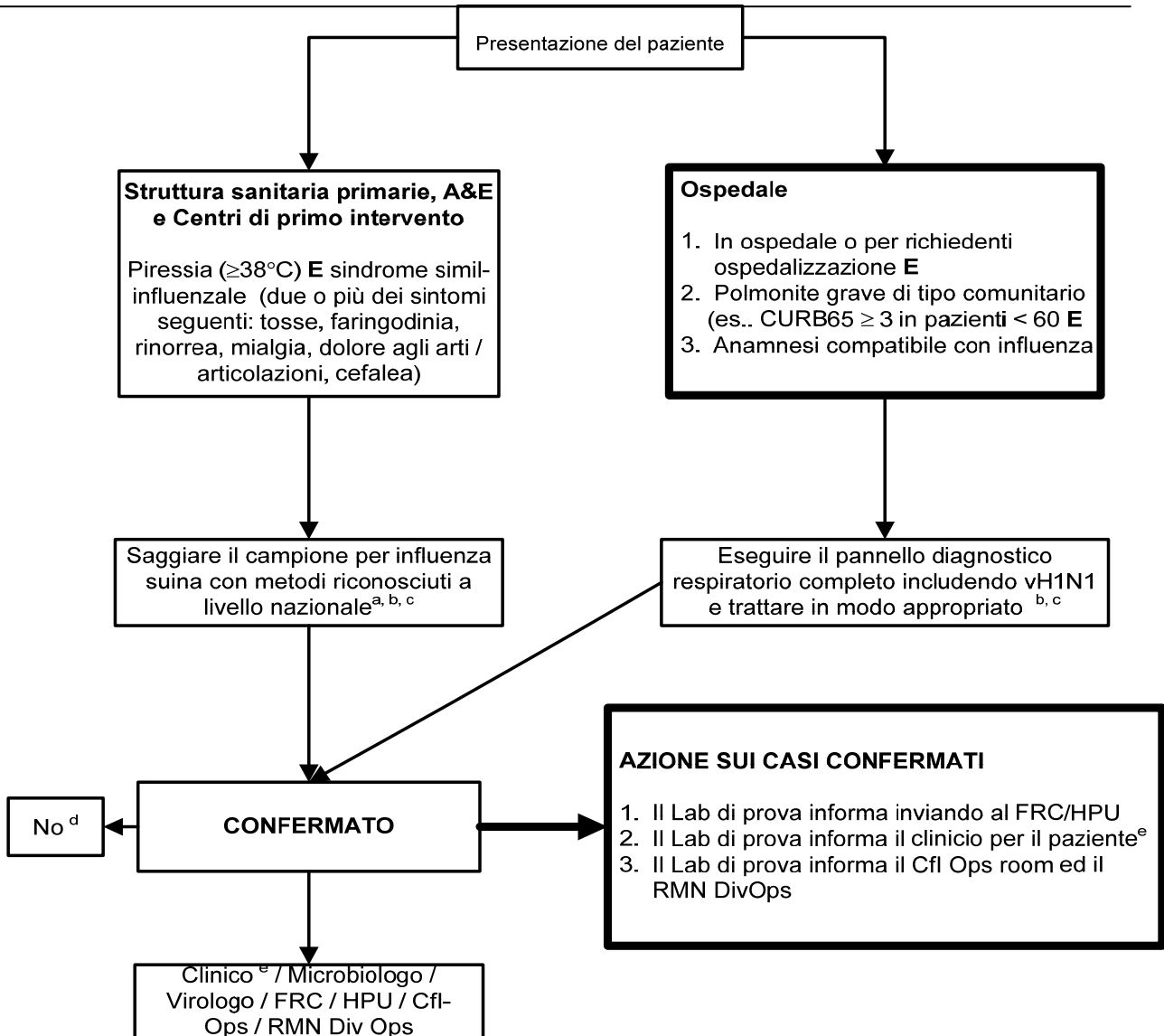


## Note a piè pagina

- a Questo approccio diretto all'accertamento usando un saggio specifico in prima istanza è idoneo in caso di numerosi campioni per i quali si deve escludere il v A/H1N1 di origine suina, e per laboratori che affrontano la fase di declino di un'epidemia da V. A/H1N1 di origine suina. Sebbene l'algoritmo metta in evidenza sequenziale le prove per H1 ed N1 è altrettanto valido eseguirle simultaneamente in prima istanza.
- b I campioni devono essere prelevati ed inviati al laboratorio con un confezionamento appropriato (confezionamento di classe B). I campioni sono di solito tamponi di tipo combinato nasale e faringeo, inseriti in terreno di trasporto per virus. I campioni devono essere inviati ad un laboratorio designato con un corriere autorizzato. In laboratorio i campioni devono essere manipolati come quelli appartenenti al Gruppo di Rischio 2, tranne che gli stessi provengano da soggetti con infezione nota; in questo caso devono essere manipolati in Cabine di Sicurezza Biologica di Classe 1 o Classe 2 in un laboratorio di Categoria 2 (o in Categoria di contenimento 3, se si tratta di campioni liquidi, quali espettorato o aspirato naso faringeo)<sup>1</sup>.
- c Questo algoritmo si riferisce alla ricerca ove la definizione del caso è compatibile o è stata iniziata la sorveglianza per influenza A/H1N1 di origine suina.).
- d I campioni possono essere inattivati a 80°C per 20 minuti.
- e Swine-Lineage Influenza A H1 Specific Fast Real Time PCR – consultare V29 – Swine-Lineage Influenza A H1 specific fast Real Time PCR (Notare che il saggio è validato per l'estrazione con Qiagen QIAamp® Viral RNA Mini kit o Biomerieux NucliSENS® easy MAG. Considerare inoltre che si possono ottenere possibili risultati falsamente negativi se il campione è in grado di inibire la PCR.
- f Notare che il controllo della serie analitica fornito dalla HPA per il saggio real-time PCR è geneticamente diverso dal controllo virale positivo (A/Aragon/3218/2008); i falsi positivi dovuti a contaminazione con questo virus possono essere rapidamente differenziati dai veri positivi con il sequenziamento.
- g Considerare accertamenti diversi da quelli per influenza A non suina e per Influenza B o altre virosi respiratorie.
- h Swine –lineage influenza A N1 real time confirmatory assay – Consultare V 48 o saggi simili per prova di amplificazione dell'acido ucleico di influenza generica A.
- i One-Step Influenza Multiplex Real Time RT-PCR (Influenza A H1H3 Subtype assay) – consultare V50.



## Appendice 1. Gestione dei Casi Confermati o Probabili



<sup>a</sup> Soggetto a revisione in funzione del mutare delle circostanze – approcci appropriati possono variare da laboratorio a laboratorio, ma i saggi PCR per vH1 ed N1 possono essere utili quando si richiedono accertamenti solo per v A/H1N1 di origine suina

<sup>b</sup> Non è necessario contattare il laboratorio per informare che i campioni devono essere inviati

<sup>c</sup> Per cortesia non prendere contatti diretti con il laboratorio per i risultati – questi ritorneranno tramite i percorsi convenuti ( la richiesta è estesa anche ai pazienti)

<sup>d</sup> Trattamento come clinicamente indicato

<sup>e</sup> Questo può variare da Nazione a Nazione ed è soggetto all'accordo locale con le HPU

## APPENDICE 2 – Matrice di Refertazione per V Influenza A/H1N1 di Origine Suina

Profilo	Testing Sequence (left to right)				Referto t	Azione
	Suino H1	Suino N1	Sottotipo H1H3	Ripetere Suino H1		
1	Negativo				NON riscontrato V Influenza A/H1N1 di origine suina	Nessuna – eliminare Considerare accertamenti per Influenza A non di origine suina o per altri patogeni respiratori
2	Positivo	Positivo			Riscontrato v Influenza A/H1N1 di origine Suina Caso confermato	Comunicare il risultato Inviare al Cfl
3*	Positivo				Compatibile con Infezione da v Influenza A/H1N1 di Origine Suina, ma non confermato. Considerare come caso probabile in attesa di conferma	Comunicare il risultato solo si prevede che le prove di conferma saranno ottenute con ritardi significativi Accertamenti locali successivi
4	Positivo	Negativo			Compatibile con Infezione da V Influenza A/H1N1 di Originw Suina, ma non confermato. Considerare come caso probabile in attesa di conferma.	Comunicare il risultato Ripetere localmente il saggio Inviare urgentemente il campione al Cfl
5	Positivo	Negativo	Positiv0	Nota a piè pagina1	PCR POSITIVA per virus Influenza A compatibile con virus influenza A. A seguire prove di tipizzazione per confermare se di tipo è di origine suina o di tipo stagionale umana. Caso possibile.	Comunicare il risultato Ripetere gli accertamenti locali Inviare al Cfl in modo urgente
6	Positivo	Negativo	Negativ0	Nota a piè pagina 2	PCR POSITIVA per virus Influenza A virus compatibile con v Influenza A/H1N1 di origine Suina, ma non confermata. Caso probabile Successivo referto a seguire	Comunicare il risultato. Ripetere I saggi locali e considerare l'esecuzione della PCR Real-time Influenza Quadriplex – consultare V 25 – Real-Time Quadriplex PCR for the detection of influenza or similar genetic influenza A matrix assay nucleic acid amplification test. Inviare urgentemente i campioni al Cft.

- 1 Predisporre il trasporto urgente del campione al Cfl per conferma, in modo particolare per escludere infezione mista. Considerare la possibilità di risultati falsi negativi con uno o l'altro dei saggi, interpretare in funzione dei risultati delle prove ripetute.
- 2 Predisporre il trasporto urgente del campione al Cfl per conferma. Considerare la possibilità di risultati falsi negativi con uno o l'altro dei saggi, interpretare in funzione dei risultati delle prove ripetute.

\* Questi devono essere refertati come risultati provvisori solo se le prove per N1 si prevede siano ottenute con ritardo

## Notifica alla HPA <sup>2,3</sup>

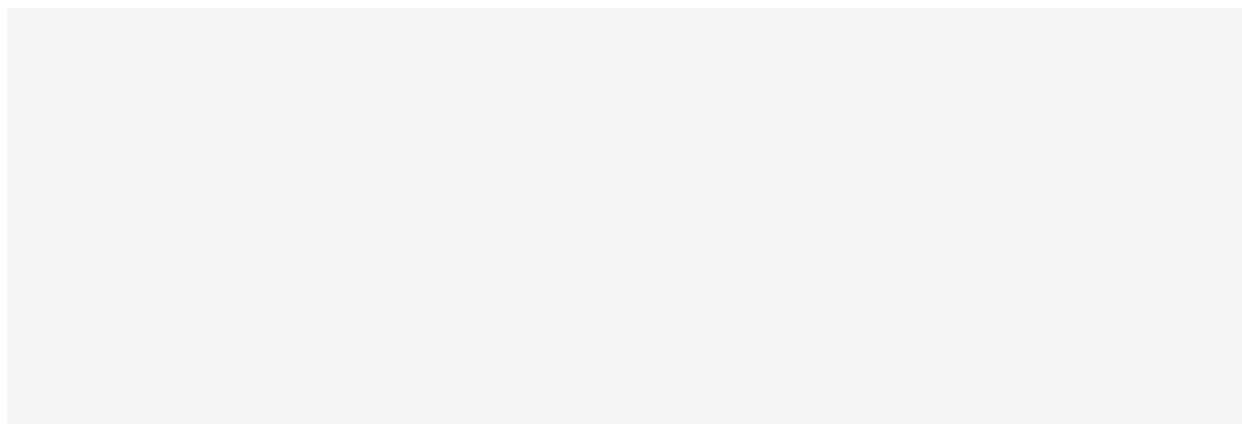
---

Le Norme di Denuncia di Denuncia della Health Protection Agency del 2010 richiedono ai laboratori diagnostici di comunicare all'Health Protection Agency (HPA) l'identificazione degli agenti causali elencati nella Scheda 2 della Direttiva. Le denunce devono pervenire per scritto, su carta o per via elettronica, entro sette giorni. I casi urgenti possono essere notificati il più presto possibile oralmente, si raccomanda entro 24 ore. Questi stessi devono essere in seguito denunciati in forma scritta entro sette giorni. Secondo la Notification Regulations il laboratorio ricevente la notifica è l'ufficio locale della HPA. Se il caso è già stato notificato da un professionista medico abilitato, al laboratorio diagnostico è ancora richiesta la denuncia del caso qualora si riscontrino evidenze d'infezione imputabili ad agenti causali soggetti a tale disposizione.

La denuncia secondo la Direttiva dell'Health Protection (Notification) Regulations 2010 non sostituisce l'informazione volontaria all'HPA. La maggior parte dei laboratori NHS segnala spontaneamente all'HPA gran parte delle diagnosi di laboratorio sostenute da agenti causali e molte sezioni dell'HPA hanno definito accordi con i laboratori locali per segnalazioni urgenti di alcuni tipi d'infezione. Queste iniziative devono continuare.

(Nota: La linea guida dell'Health Protection Legislation Guidance (2010) include la segnalazione per HIV & STIs, HCAs e CJD da includere nel 'Notification Duties of Registered Medical Practitioners', e non nel 'Notification Duties of Diagnostic Laboratories')

In Scozia<sup>4</sup> e Galles<sup>5</sup> sono vigenti altre disposizioni.



Come da accordi intercorsi con la Health Protection Agency, la presente traduzione è a cura del Dott. Roberto Rescaldani, già Direttore del Laboratorio di Microbiologia e Virologia dell'Ospedale Universitario San Gerardo dei Tintori di Monza.

## Bibliografia

---

1. Advice on working with influenza viruses. <http://www.hse.gov.uk/biosafety/diseases/pandflu.htm>. p. 1-6.
2. Health Protection Agency. Laboratory Reporting to the Health Protection Agency: Guide for Diagnostic Laboratories. 2008.
3. Department of Health. Health Protection Legislation (England) Guidance 2010. [http://www.dh.gov.uk/en/Publicationsandstatistics/Publications/PublicationsPolicyAndGuidance/DH\\_114510](http://www.dh.gov.uk/en/Publicationsandstatistics/Publications/PublicationsPolicyAndGuidance/DH_114510). p. 1-112.
4. Scottish Government. Public Health (Scotland) Act 2008. <http://www.scotland.gov.uk/Topics/Health/NHS-Scotland/publicact/Implementation/Timetable3333/Part2Guidance/Q/EditMode/on/ForceUpdate/on>.
5. The Welsh Assembly Government. Health Protection Legislation (Wales) Guidance 2010. <http://wales.gov.uk/docs/phhs/publications/100716ahealthprotguidanceen.pdf>.