



Zoonosi e malattie da vettore

Documento di indirizzo per la diagnosi di laboratorio nell'uomo

[versione 1.1]



This work is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International License. To view a copy of this license, visit

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

A cura di:

- Elisa Antognini – Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche
- Patrizia Bagnarelli – Università Politecnica delle Marche – Facoltà di Medicina
- Simone Barocci - Laboratorio di Patologia Clinica - ASUR Area Vasta 2
- Giuliana Blasi – Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche
- Raoul Ciappelloni – Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche
- Cesare Ciccarelli – Azienda Sanitaria Unica Regionale – Area Vasta 5
- Gabriella Colao – Azienda Sanitaria Unica Regionale – Area Vasta 2
- Giusi De Iaco – Azienda Ospedaliero Universitaria – Ospedali Riuniti Ancona
- Anna Duranti – Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche
- Daniel Fiacchini – Azienda Sanitaria Unica Regionale – Area Vasta 2
- Stefano Fisichella – Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche
- Martina Foglini – Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche
- Antonio Fortunato – Azienda Sanitaria Unica Regionale – Area Vasta 5
- Stefano Gavaudan – Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche
- Luciana Gironacci – Azienda Sanitaria Unica Regionale – Area Vasta 3
- Giuseppe Iacchia – Azienda Sanitaria Unica Regionale – Area Vasta 4
- Salvatore Licitra – Azienda Sanitaria Unica Regionale – Area Vasta 4
- Elisabetta Loggi – Azienda Sanitaria Unica Regionale – Area Vasta 4
- Antonella Marziali – Azienda Sanitaria Unica Regionale – Area Vasta 4
- Stefano Menzo – Università Politecnica delle Marche – Facoltà di Medicina
- Alessandra Morelli – Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche
- Maira Napoleoni – Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche
- Giuseppe Noce – Agenzia Regionale Sanitaria (ARS) Regione Marche
- Francesca Orecchioni – Azienda Ospedaliero Universitaria – Ospedali Riuniti Ancona
- Marta Paniccià – Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria-Marche
- Paola Pauri – Azienda Sanitaria Unica Regionale – Area Vasta 2
- Barbara Pieretti – Azienda Ospedaliera – Ospedali Riuniti Marche Nord
- Silvia Preziuso – Università degli Studi di Camerino – Facoltà di Medicina Veterinaria
- Annamaria Priori – IRCCA – Laboratorio di Patologia Clinica

Sommario

1. Premessa	5
2. Il “Documento di indirizzo per la diagnosi di laboratorio nell’uomo”	6
3. Fonti bibliografiche per la creazione del Documento di indirizzo.....	7
4. Il Sistema di notifica delle malattie infettive nell’uomo.....	7
4.1 Normativa italiana	7
4.2 Normativa europea.....	8
5. Il sistema di notifica delle malattie infettive animali in Italia	8
6. Sistema Europeo di Sorveglianza TESSy per la notifica delle malattie infettive a livello comunitario	9
7. Fonti bibliografiche e sitografia	9
ZOONOSI ALIMENTARI.....	11
SALMONELLOSI.....	12
LISTERIOSI	15
CAMPYLOBACTERIOSI	20
INFEZIONE DA ESCHERICHIA COLI PRODUTTORE.....	23
DI TOSSINA SHIGA/VEROCITOSSINA (STEC/VTEC)	23
EPATITE E.....	28
BRUCELLOSI	31
MALATTIE DA VETTORE.....	36
ENCEFALITI DA ZECHE (TBE)	37
WEST NILE DISEASE.....	40
LEISHMANIOSI	43
MALATTIA DI LYME	46
GESTIONE SANITARIA DELLA ZECCA	50

MALATTIE PARASSITARIE	53
ANISAKIASI	54
ECHINOCOCCOSI CISTICA O IDATIDOSI	57
TRICHINELLOSI	60
 ALLEGATO 1 SCHEDE DI ACCOMPAGNAMENTO	 63

1. Premessa

Un'efficace prevenzione delle zoonosi richiede un approccio multidisciplinare e un continuo scambio d'informazioni tra laboratori, reparti ospedalieri, servizi medici e veterinari dei dipartimenti di prevenzione, affinché la capacità d'intervento e l'efficacia dello stesso siano massimizzate. L'elemento fondamentale per garantire l'individuazione rapida della circolazione di agenti zoonotici e del rischio di epidemie è la corretta diagnosi nell'uomo. La formulazione di una corretta diagnosi è importante al fine di evidenziare tempestivamente la presenza di focolai epidemici, le relative fonti di infezione e, di conseguenza, ritirare rapidamente dal commercio alimenti pericolosi o interromperne le produzioni. Inoltre, la definizione dell'impatto di una zoonosi nell'uomo consente di effettuare una valutazione del rischio e di pianificare eventuali interventi. L'uomo viene considerato come "sentinella" per la comparsa di nuovi agenti infettivi nella popolazione e negli allevamenti.

Alla base di una corretta diagnosi è necessaria la corretta applicazione della conferma di laboratorio. Il dato di laboratorio sulle zoonosi rappresenta un'informazione importantissima, perché rende più mirata la diagnosi e quindi la notifica, permette di attivare rapidamente uno stato di allerta e di conoscere la presenza di agenti patogeni in un territorio, anche in carenza di notifiche. Affinché i dati prodotti dal laboratorio siano leggibili e condivisibili è necessario però adottare protocolli diagnostici armonizzati per la diagnosi di laboratorio delle zoonosi.

Nelle Marche il settore della sorveglianza delle zoonosi viene affrontato con un approccio multidisciplinare da diversi anni. A partire dal 2010, il progetto CCM *"Sorveglianza Zoonosi: alleanza prevenzione, ospedale, territorio"* e la linea progettuale del Piano Regionale della Prevenzione 2010-2012 *"Lotta a Chikungunya, West Nile Disease Dengue e principali zoonosi"* avevano come obiettivi il miglioramento della sorveglianza delle zoonosi attraverso l'integrazione medico – veterinaria, la formazione dei Medici di Medicina Generale, dei Pediatri di Libera Scelta e degli operatori dei Dipartimenti di Prevenzione e dei Laboratori Ospedalieri, al fine di sensibilizzare alla problematica e creare una rete di collaborazione interistituzionale e interprofessionale. Inoltre, grazie a queste attività progettuali è stato creato un tavolo di lavoro tra operatori dei laboratori ospedalieri e dell'Istituto Zooprofilattico, per un confronto sulle metodiche di laboratorio utilizzate per la diagnosi delle zoonosi.

Il settore strategico della diagnosi laboratoristica è stato ripreso nell'ambito del CCM 2013 *"Sorveglianza delle zoonosi e delle malattie da vettori: razionalizzazione dell'approccio diagnostico di laboratorio e dei flussi informativi per la pianificazione degli interventi in campo medico e veterinario"*, che ha coinvolto la regione Marche quale responsabile scientifico oltre alle regioni Emilia Romagna, Lombardia, Lazio e Sicilia.

Il progetto, nato dalla consapevolezza della centralità del laboratorio diagnostico quale punto di osservazione fondamentale per il miglioramento della sorveglianza delle zoonosi, in grado di fornire importanti informazioni sulla presenza di una malattia in un territorio, ha previsto l'elaborazione di un documento per la standardizzazione della diagnosi di laboratorio delle zoonosi.

Il Piano nazionale della prevenzione (PNP 2014-2018) ha rappresentato un'ulteriore evoluzione del processo di miglioramento della sorveglianza delle zoonosi attraverso il completamento dei

protocolli diagnostici condivisi che ha preso avvio nelle precedenti esperienze progettuali e la loro ufficializzazione e diffusione come *“Zoonosi e malattie da vettori - Documento di indirizzo per la diagnosi di laboratorio nell’uomo”* a livello regionale.

Il Documento è stato elaborato con l'obiettivo di fornire indicazioni, per ogni agente di zoonosi, sui protocolli diagnostici clinici, epidemiologici e di laboratorio, sui campioni da prelevare per la conferma di laboratorio, sulle modalità di prelievo, conservazione e trasporto dei campioni, sulle definizioni di caso probabile e confermato. Le attività hanno preso avvio nel 2017 con l'istituzione, con Decreto del Dirigente della P. F. Prevenzione e Promozione della Salute nei Luoghi di Vita e di Lavoro n. 3/spv del 24/02/2017, di un Gruppo di lavoro formato da rappresentanti delle Aziende Ospedaliere, dei Dipartimenti di Prevenzione, dell'INRCA, della Regione Marche, dei laboratori ospedalieri e dell'IZSUM. Il gruppo di lavoro, selezionate alcune zoonosi ritenute prioritarie, ne ha approfondito la capacità diagnostica dei laboratori di patologia umana ed ha elaborato i protocolli diagnostici che costituiscono il presente Documento di indirizzo.

2. Il “Documento di indirizzo per la diagnosi di laboratorio nell'uomo”

Il *Documento di indirizzo* propone i criteri clinici, epidemiologici e laboratoristici, le definizioni di caso probabile, sospetto e confermato e le metodiche di laboratorio che, secondo la bibliografia e le opinioni degli esperti coinvolti nel progetto, rappresentano le più appropriate in termini di sensibilità, specificità e fattibilità. Il documento propone, per alcuni patogeni, la modulistica necessaria per l'invio di ceppi batterici o altri campioni ai laboratori di seconda istanza per la conferma diagnostica o per la segnalazione dell'isolamento al Dipartimento di Prevenzione o al competente ufficio regionale.

Le definizioni di caso e di conferma diagnostica, ossia come si definisce la positività al termine della procedura diagnostica, rappresentano elementi fondamentali nella sorveglianza e in particolare nella sorveglianza integrata medico-veterinaria. In molti casi, infatti, il rilievo di una positività per zoonosi nell'uomo, importante ai fini della terapia del paziente, può comportare provvedimenti anche in ambito zootecnico o nella commercializzazione degli alimenti. Garantire un processo diagnostico affidabile e specifico risulta fondamentale anche per il grande impatto economico che i provvedimenti di sanità pubblica presi in seguito ad una notifica di alcune zoonosi possono determinare.

Destinatari del documento sono:

- i medici di base o medici ospedalieri che potranno trovare indicazioni per formulare un sospetto, per confermarlo o escluderlo con accertamenti di laboratorio e i criteri per la notifica;
- gli operatori dei laboratori di patologia clinica umana pubblici e privati che si occupano della diagnosi microbiologica, sierologica, virologica o parassitologica delle zoonosi, che potranno trovare le procedure diagnostiche di riferimento secondo la bibliografia e le opinioni degli esperti coinvolti nel progetto;

- gli operatori della prevenzione che potranno consultare i processi diagnostici, le definizioni di caso e i criteri di notifica.
- Chiunque voglia approfondire da una fonte di informazione affidabile i protocolli diagnostici delle zoonosi, malattie da vettori, malattie a trasmissione alimentare nell'uomo.

3. Fonti bibliografiche per la creazione del *Documento di indirizzo*

Il documento si basa sulla *Decisione 2012/506/UE che stabilisce la definizione di caso ai fini della dichiarazione delle malattie trasmissibili alla rete di sorveglianza comunitaria istituita ai sensi della decisione n. 2119/98/CE del Parlamento europeo e del Consiglio* e sulla *Decisione 2018/945/UE relativa alle malattie trasmissibili e ai problemi sanitari speciali connessi da incorporare nella sorveglianza epidemiologica, nonché alle pertinenti definizioni di caso*.

Nel nostro Documento vengono forniti approfondimenti relativamente alle definizioni di caso e ai criteri clinici, epidemiologici e di laboratorio, al fine di renderli più operativi e adatti alla realtà epidemiologica nazionale e alla capacità dei laboratori ospedalieri. Tali dettagli aggiuntivi sono stati elaborati sulla base del Report EFSA/ECDC (*The European Union Summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks*), e dei contributi forniti dagli esperti dei Centri di Referenza Nazionali o del Gruppo di lavoro del presente progetto.

Le indicazioni fornite relativamente alle modalità di notifica di ciascuna zoonosi considerata derivano dal Decreto Ministeriale del 15 dicembre 1990, che prevede l'obbligo di notifica, da parte del medico, di tutti i casi di malattia diffusiva pericolosa per la salute pubblica all'autorità competente, attraverso un sistema informativo (SIMI) che assicura la condivisione dei dati tra i vari servizi interessati.

4. Il Sistema di notifica delle malattie infettive nell'uomo

4.1 Normativa italiana

Il sistema di notifica delle malattie infettive dell'uomo si basa sul Decreto Ministeriale del 15 dicembre 1990, che prevede l'obbligo di notifica, da parte del medico, di tutti i casi di malattia diffusiva pericolosa per la salute pubblica all'autorità competente, attraverso un sistema informativo (SIMI) che assicura la condivisione dei dati tra i vari servizi interessati. Il flusso informativo si svolge attraverso il medico, ospedaliero o di base, che diagnostica la malattia infettiva (per alcune basta il sospetto) ed effettua la segnalazione all'Azienda Sanitaria Locale (ASL) di competenza. Le ASL adottano eventuali misure di profilassi a tutela della salute pubblica e trasmettono la segnalazione alla Regione che ha compito di supervisione e coordinamento e agli Organismi Centrali. Il SIMI stabilisce l'obbligo di notifica per 47 malattie infettive classificate in 4 classi in base alla loro rilevanza di sanità pubblica e al loro interesse sul piano nazionale e internazionale; prevede inoltre una quinta classe che comprende le malattie non elencate nei gruppi precedenti e le zoonosi indicate dal regolamento di Polizia Veterinaria. Le zoonosi ricadono quasi tutte nella classe II che include le malattie rilevanti perché ad elevata frequenza e/o passibili di interventi di controllo; per alcune è prevista la notifica in classe V e in classe

IV quando si verificano come focolai. Per una serie di patologie di particolare interesse di sanità pubblica all'interno del SIMI sono state attivate sorveglianze speciali, con modalità di definizione di caso e flusso dei dati dedicati. Ne sono esempio il Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA - <http://old.iss.it/seieva/>) che include l'epatite E e il Registro Italiano della Sindrome Emolitico-Uremica che raccoglie anche le infezioni da E. coli produttori di Verocitotossina. Per disporre di una banca dati confrontabile a livello internazionale questo sistema di notifica segue i principi di validazione riportati nelle decisioni della Commissione europea in materia di dichiarazione delle malattie trasmissibili alla rete di sorveglianza comunitaria istituita ai sensi della decisione n. 2119/98/CE del Parlamento europeo e del Consiglio e secondo i criteri e le definizioni dicasi stabiliti dalla Decisione 2012/506/UE.

4.2 Normativa europea

La normativa europea con la Decisione di Esecuzione 2018/945 Della Commissione del 22 giugno 2018 relativa alle malattie trasmissibili e ai problemi sanitari speciali connessi da incorporare nella sorveglianza epidemiologica, nonché alle pertinenti definizioni di caso, indica le definizioni di caso ai fini della dichiarazione delle malattie trasmissibili elencate nella decisione 2000/96/CE alla rete di sorveglianza comunitaria. Sia l'elenco delle malattie che quello delle definizioni di caso sono allineati alla nomenclatura dell'Organizzazione mondiale della sanità in conformità della classificazione statistica internazionale delle malattie e dei problemi sanitari correlati, decima revisione (ICD-10).

5. Il sistema di notifica delle malattie infettive animali in Italia

Nel settore veterinario il sistema di sorveglianza epidemiologica delle zoonosi è fondato sul Regolamento di Polizia veterinaria (DPR 320/54 e successive modifiche e integrazioni). A partire dalla sua emanazione, il Regolamento ha costituito la base di una politica sanitaria imperniata sulla sorveglianza, attuata dai Servizi veterinari pubblici, considerata lo strumento principale per combattere le malattie infettive. Grazie a questa normativa, sono state definite chiaramente le regole per la profilassi e il controllo delle malattie diffuse degli animali e delle zoonosi. Le malattie animali soggette a denuncia sono circa 60, molte delle quali zoonosi. In particolare, il sistema di notifica delle zoonosi si basa sull'articolo 5 del DPR 320/54, che prevede l'obbligo di segnalare tutti i casi di malattie diffuse pericolose per la salute pubblica al Servizio competente del Dipartimento di Prevenzione. I soggetti tenuti alla denuncia di casi, anche sospetti, di queste malattie infettive sono numerosi, tra questi: veterinari pubblici e veterinari liberi professionisti, allevatori, direttori degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali, funzionari di Pubblica sicurezza, proprietari o detentori di animali. Nella denuncia devono essere specificati i seguenti elementi:

- la natura della malattia accertata o sospetta;
- le generalità del proprietario degli animali morti, ammalati o sospetti;

- l'ubicazione precisa del ricovero o del pascolo in cui questi si trovano;
- il numero di animali colpiti e quello dei rimanenti animali sospetti o sani;
- l'eventuale recente provenienza;
- la data di esordio della malattia e/o di morte;
- le eventuali osservazioni del veterinario;
- le precauzioni adottate d'urgenza per prevenire la diffusione della malattia.

6. Sistema Europeo di Sorveglianza TESSy per la notifica delle malattie infettive a livello comunitario

Il Sistema Europeo di Sorveglianza (TESSy) è un sistema di metadati altamente flessibile che ha come obiettivi principali l'analisi dei dati sulle malattie trasmissibili e la produzione di outputs utili per eventuali azioni in Sanità Pubblica. Tutti gli Stati membri dell'UE e i paesi dell'EEA riportano i dati disponibili sulle malattie trasmissibili come descritto nella Decisione CE 2119/98. Oltre alla sorveglianza di routine, TESSy ha sostituito i sistemi di raccolta dei dati in vigore per le reti di sorveglianza specializzata (DSN). L'inserimento dei dati viene effettuato dai "contact point" nazionali nominati dal Ministero della Salute e successivamente attraverso il sistema TESSy i dati vengono inviati al Ministero della Salute che li invia all'ECDC con cadenza quadrimestrale o in base al tipo malattia.

7. Fonti bibliografiche e sitografia

- Direttiva Europea 2003/99/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 17 novembre 2003 sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici, recante modifica della decisione 90/424/CEE del Consiglio e che abroga la direttiva 92/117/CEE del Consiglio. Gazzetta ufficiale dell'Unione europea L 325, 12 dicembre 2003. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02003L0099-20130701&qid=1429021349341&from=IT>
- Annual Epidemiological Report (AERs). European Centre for Disease Prevention and Control. <https://www.ecdc.europa.eu/en/annual-epidemiological-reports>
- The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control (EFSA and ECDC). EFSA Journal 2019;17(12):5926. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5926>
- Ministero della Sanità. Decreto Ministeriale del 15 dicembre 1990: "Sistema informativo delle malattie infettive e diffuse". Gazzetta Ufficiale n. 6, 8 gennaio 1991. http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_normativa_1357_allegato.pdf
- DECISIONE DI ESECUZIONE (UE) 2018/945 DELLA COMMISSIONE del 22 giugno 2018 relativa alle malattie trasmissibili e ai problemi sanitari speciali connessi da incorporare nella sorveglianza epidemiologica, nonché alle pertinenti definizioni di caso <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018D0945&from=FR>

- Morelli A., Duranti A., Pauri P., Secondini S. (2016). Il laboratorio: un punto di vista privilegiato nella sorveglianza delle zoonosi. (SPVet.it 99/2016) <http://spvet.it/archivio/numero-99/646.html>
- Duranti A., Cimini D., Pauri P., Capezzone G., Fiacchini D., Morelli A., Secondini S., Gori G., Gavaudan S. (2015). Un approccio multidisciplinare per la prevenzione delle zoonosi e delle malattie da vettori nelle Marche; Inserto BEN, 2015, 28(12): i-ii. <https://www.epicentro.iss.it/ben/2015/dicembre/dicembre2015.pdf>
- Graziani C., Duranti A., Morelli A., Busani L., Pezzotti P. (2016). "Zoonosi in Italia nel periodo 2009-2013". Rapporti Istisan 2016, ISSN: 1123-3117. http://old.iss.it/binary/publ/cont/16_1_web.pdf
- Duranti A., Sabbatucci M., Blasi G., Acciari V.A., Ancora M., Bella A., Busani L., Centorame P., Cammà C., Conti F.D., De Medici D., Di Domenico M., Di Marzio V., Filippini G., Fiore A., Fisichella S., Gattuso A., Gianfranceschi M., Graziani C., Guidi F., Marcacci M., Marfoggia C., Neri D., Orsini M., Ottaviani D., Petruzzelli A., Pezzotti P., Rizzo C., Ruolo A., Scavia G., Scuola S., Tagliavento G., Tibaldi A., Tonucci F., Torresi M., Migliorati G., Pomilio F. (2018). A severe outbreak of listeriosis in central Italy with a rare pulsotype associated with processed pork products. J Med Microbiol. 2018 Sep;67(9):1351-1360. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30024370>
- CDC - Centers for Disease Control and Prevention: <https://www.cdc.gov>
- ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control: <https://ecdc.europa.eu/en/home>
- EFSA - Autorità europea per la sicurezza alimentare: <https://www.efsa.europa.eu/it>
- EpiCentro - Portale di epidemiologia per gli operatori sanitari: <https://www.epicentro.iss.it>
- EUR-Lex - L'accesso al diritto dell'Unione Europea: <https://eur-lex.europa.eu/homepage.html?locale=it>
- FSA - Food Standards Agency: <https://www.food.gov.uk>
- ISS - Istituto Superiore della Sanità: <http://www.iss.it>
- IZSUM - Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "T.Rosati": <http://www.izsum.it/IZSUM>
- MedlinePlus - Health Information from the National Library of Medicine: <https://medlineplus.gov>
- Ministero della Salute: <http://www.salute.gov.it/portale/home.html>
- PHA - Public Health Agency: <https://www.publichealth.hscni.net>
- PubMed - US National Library of Medicine: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
- Research Gate: <https://www.researchgate.net/>
- SPVet.it - eJournal Sanità Pubblica Veterinaria: <http://spvet.it>; <http://indice.spvet.it>
- VesA Marche - Veterinaria e sicurezza Alimentare: <http://www.veterinariaalimenti.marche.it>
- WHO - World Health Organization: <https://www.who.int>

SCHEDE TECNICHE

ZOONOSI ALIMENTARI

SALMONELLOSI

1. Diagnosi clinica e definizioni di caso

Agente eziologico	Salmonella spp., escluso S. Typhi e S. Paratyphi
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Sindrome diarroica Forma acuta – periodo di incubazione 6 – 72 ore • Febbre • Dolore addominale • Nausea, vomito • Diarrea • Batteriemie • Infezioni focali a carico di ossa e meningi
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Esposizione ad alimenti: • Uova e prodotti • Carni poco cotte o crude di maiale (salsicce, salumi freschi) • Carne di pollame • Alimenti pronti per il consumo, esposti a contaminazione secondaria Trasmissione interumana Trasmissione da animale a uomo Esposizione ambientale
Caso probabile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti una correlazione epidemiologica.	

2.1 Conferma di laboratorio Diagnostica di prima istanza

Tipo di campione: Feci

Modalità di prelievo	• Raccolte dopo l'emissione, dopo l'esordio della malattia e prima dell'assunzione di farmaci • Raccolte in quantità sufficiente (3,5gr/5-10ml) • Il materiale va raccolto in recipienti puliti e trasferito in contenitori con tappo a vite correttamente contrassegnati.
Modalità di trasporto e conservazione	• Le feci dovrebbero pervenire in laboratorio entro 1-2 ore dall'emissione, altrimenti conservate alla temperatura di 4°-6° C per 24 ore in terreni di trasporto o soluzioni saline tamponate
Tipo di esame	• Coprocultura
Criteri di laboratorio	Almeno uno dei due seguenti criteri: • Isolamento di Salmonella spp. (escluse S. typhi e S. paratyphi) in un campione clinico • Identificazione dell'acido nucleico della Salmonella spp. (escluse S. typhi e S. paratyphi) in un campione clinico

Caso confermato: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio → **NOTIFICA**

2.2 Conferma di laboratorio Diagnostica di seconda istanza

Tipo di campione: Ceppo batterico

Modalità di prelievo	Ceppo batterico isolato in appositi terreni
Modalità di trasporto e conservazione	I ceppi batterici vanno trasportati al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservati alla temperatura di 4°C
Tipo di esame	• Tipizzazione sierologica secondo lo schema di Kauffmann-White-Le Minor • Metodiche di biologia molecolare: PCR (Polymerase Chain Reaction), PFGE (Pulsed-field Gel Electrophoresis), MLVA (Multiple-Locus Variable number tandem repeat Analysis), MLST (Multilocus sequence typing)

Salmonellosi – Specifiche tecniche

Diagnostica di prima istanza

Coprocoltura

- semina diretta (sospensione del campione fecale in fisiologica 1:10 seguito da semina diretta su terreni di coltura selettivi e/o cromogenici ; incubazione in aerobiosi a 35- 37°C)
- semina dopo arricchimento (sospensione del campione fecale in brodo di arricchimento in rapporto 1:5 seguito da incubazione; sottocoltura successiva su terreni selettivi e/ o cromogenici; incubazione in aerobiosi a 35- 37°C).

Diagnostica di seconda istanza

Identificazione molecolare con PCR e RT-PCR MULTIPLEX:

Si tratta di metodiche volte all'identificazione molecolare di *Salmonella* spp. E della variante monofasica di *Salmonella Typhimurium* (S.4,(5),12:i:-). Per l'identificazione molecolare della variante di *Salmonella Typhimurium* si ricorre ad una reazione di amplificazione enzimatica del DNA batterico a partire dal ceppo isolato con successiva corsa elettroforetica e lettura al transilluminatore.

L'utilizzo della RT-PCR MULTIPLEX determina l'identificazione simultanea di diverse specie batteriche, utilizzando più primers specifici. Dopo la reazione di amplificazione, la lettura della prova viene effettuata valutando la presenza di curve di amplificazione, date dalla fluorescenza emessa dalle sonde presenti in seguito alla reazione di amplificazione, l'incremento della fluorescenza è direttamente proporzionale all'accumulo del prodotto della PCR.

PFGE, MLST:

L'utilizzo della PFGE e della MLST consente, mediante il confronto dell'impronta del DNA o delle caratteristiche genomiche, di capire se gli isolati di *Salmonella* possono derivare dallo stesso clone cellulare, in definitiva risultano essere fondamentali ai fini dell'indagine epidemiologica.

LISTERIOSI

1. Diagnosi clinica e definizioni di caso

Agente eziologico	<i>Listeria monocytogenes</i>
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Tempi d'incubazione 1-40 giorni Almeno una delle cinque seguenti manifestazioni: • febbre • meningite, meningoencefalite o encefalite • sintomi di tipo influenzale • setticemia • infezioni localizzate quali artrite, endocardite, endoftalmite e ascessi. Listeriosi in gravidanza • Aborto spontaneo • parto di feto morto o parto prematuro durante la gravidanza Listeriosi neonatale • parto di feto morto (morte fetale dopo 20 settimane di gestazione) • parto prematuro (prima di 37 settimane gestazionali) <i>oppure</i> Almeno una delle cinque seguenti manifestazioni nel primo mese di vita: • meningite o meningoencefalite • setticemia • dispnea • granulomatosi infantisettica • lesioni cutanee, mucose o congiuntivali.

Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Almeno una delle quattro seguenti correlazioni epidemiologiche: • esposizione a una fonte comune • trasmissione interumana (trasmissione verticale) • esposizione ad alimenti contaminati: - alimenti crudi di origine animale e vegetale e non sottoposti a idoneo trattamento di risanamento (es. latte crudo o carne cruda) - alimenti pronti al consumo, quali alimenti cotti o lavorati e contaminati dopo il risanamento - Latte crudo, formaggi formaggi molli, gelati - Pesci crudi o affumicati e derivati (molluschi, salmone e altri pesci affumicati) - Salumi (salsicce, salami, wurstel). • trasmissione da animale a uomo.
Caso probabile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici, con una correlazione epidemiologica.	

2.1 Conferma di laboratorio	
Diagnostica di prima istanza	
Tipo di campione: LIQUIDO CEFALO-RACHIDIANO	
Modalità di prelievo	• Prelevare mediante puntura lombare (PL) o rachicentesi nello spazio tra la 4^a e la 5^a vertebra lombare una quantità adeguata • Raccogliere in provette sterili con tappo a vite e fondo conico e in provetta da emocultura 1 ml • Dividere in 3 aliquote per ridurre la contaminazione di sangue proveniente dai tessuti perforati • Effettuare prima dell'inizio della terapia antibiotica
Modalità di trasporto e conservazione	• Conservare i campioni di liquor a 3±1 °C per non più di 72 ore, oppure congelare a -80°C (in questo caso i campioni possono essere conservati fino a 6 mesi)
Tipo di esame	• Esame colturale • Metodiche di biologia molecolare
Tipo di campione: SANGUE INTERO	
Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle norme di asepsi • Prelevare quantità sufficiente di sangue in appositi flaconi contrassegnati contenenti brodi per emocultura (10ml per gli adulti, 5ml per i bambini) • Prelievo da effettuare prima dell'inizio della terapia antimicrobica
Modalità di trasporto e conservazione	• Inviare i campioni per emocultura al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservarli a temperatura ambiente per non più di 16-18 ore oppure incubati a 35-37°C • I campioni non vanno refrigerati
Tipo di esame	• Esame colturale • Metodiche di biologia molecolare

Criteri di laboratorio

- Isolamento di *Listeria monocytogenes* o identificazione dell'acido nucleico della *Listeria monocytogenes* da siti normalmente sterili
- In un caso associato a gravidanza: Isolamento di *Listeria monocytogenes* o identificazione dell'acido nucleico della *Listeria monocytogenes* in un sito solitamente non sterile (es. tessuto placentare, liquido amniotico, meconio, tampone vaginale) o in un feto, in un feto nato morto, in un neonato o nella madre entro 24 ore dal parto

Caso confermato → NOTIFICA

Qualsiasi persona che soddisfi i criteri di laboratorio.

In un caso associato a gravidanza (madre o neonato nel primo mese di vita) che soddisfi i criteri di laboratorio, solo la madre deve essere dichiarata come caso.

Nota: se il sistema nazionale di sorveglianza non registra i sintomi clinici, tutti i casi confermati in laboratorio devono essere dichiarati come casi confermati.

2.2 Conferma di laboratorio Diagnostica di seconda istanza

Tipo di campione: CEPPO BATTERICO

Modalità di prelievo	Ceppo batterico isolato in appositi terreni (es. ALOA Agar, OXFORD agar, Agar sangue).
Modalità di trasporto e conservazione	I ceppi batterici vanno trasportati al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservati alla temperatura di 4°C.
Tipo di esame	• Metodiche di biologia molecolare • MLST (Multilocus sequence typing)

Listeriosi – Note tecniche	
Diagnostica di prima istanza	
Esame colturale	
• Valutare l'aspetto macroscopico del liquido cefalo rachidiano attraverso la conta cellulare e la colorazione di Gram. Centrifugare il liquido cefalo rachidiano ed inoculare il sedimento ottenuto in piastre di terreno selettivo (Oxford agar, Aloa Agar, Rapid L.Mono agar), terreno non selettivo (Agar Sangue, Columbia agar, agar cioccolato) e terreno liquido (Trypticase soy broth, Brain heart infusion or Listeria enrichment broth). • In caso di utilizzo di terreno colturale solido, è consigliabile lasciare asciugare l'inoculo prima di diffonderlo con un'ansa sterile. Incubare le piastre per 72 ore a 37°C in aerobiosi e con il 5% di CO₂. • I campioni di feci sono di uso limitato e non raccomandati per la diagnosi, le feci devono essere esaminate in caso sia sospettata una forma di listeriosi gastroenterica. • <i>Listeria monocytogenes</i> è di agevole isolamento sui terreni di coltura, I terreni selettivi permettono un isolamento ancora più agevole nel caso si abbia a che fare con materiali contaminati.	
Diagnostica di seconda istanza	
Metodiche di biologia molecolare	
Si basano sull'analisi di porzioni più o meno estese del DNA batterico ottenuto da colonie cresciute su terreni colturali solidi. Il laboratorio utilizzerà i metodi che sono in uso al fine di confermare dapprima l'identificazione di specie (PCR di specie, sierogruppo) e successivamente altre prove che permettono di identificare cluster batterici (Sierogruppo, PFGE, MLST e WGS). L'estrazione del DNA può essere effettuata mediante bollitura o altro metodo in uso in laboratorio, l'amplificazione delle sequenze geniche mediante primers specifici e valutazione della positività o negatività del campione mediante elettroforesi su gel di agarosio e lettura al transilluminatore oppure per elaborazione automatica con elaborazione di curve di fluorescenza, il sequenziamento (MLST) o mediante tecniche di sequenziamento dell'intero genoma (WGS). L'utilizzo della PFGE consente, mediante il confronto delle caratteristiche genomiche, di fornire indicazioni relative alla clusterizzazione degli isolati di <i>Listeria monocytogenes</i>. In laboratorio sono utilizzate sempre più le metodiche che permettono il sequenziamento dell'intero genoma (WGS).	

CAMPYLOBACTERIOSI	
1. Diagnosi clinica e definizioni di caso	
Agente eziologico	<i>Campylobacter</i> spp.
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Forma acuta (incubazione 1 – 7 giorni) Qualsiasi persona che presenti almeno una delle tre seguenti manifestazioni: • Diarrea • Dolori addominali • Febbre Complicanze croniche: • Artrite reattiva • Sindrome Guillain-Barrè • Sindrome Miller Fisher • Glomerulonefrite • Eritema nodoso • Anemia emolitica
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Almeno una delle cinque seguenti correlazioni epidemiologiche: • trasmissione da animale a uomo • trasmissione interumana • esposizione a una fonte comune • esposizione ambientale • esposizione ad alimenti o ad acqua da bere contaminati ◦ carne di pollame cruda o poco cotta ◦ cibi contaminati da carne di pollo cruda ◦ latte non pastorizzato
Caso probabile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti una correlazione epidemiologica.	

2.1 Conferma di laboratorio Diagnostica di prima istanza

Tipo di campione: FECI

Modalità di prelievo	• Raccolte dopo l'emissione, dopo l'esordio della malattia e prima dell'assunzione di farmaci. • Raccolte in quantità sufficiente (3,5gr/5-10ml). • Il materiale va raccolto in recipienti puliti e trasferito in contenitori con tappo a vite correttamente contrassegnati.
Modalità di trasporto e conservazione	• Le feci dovrebbero pervenire in laboratorio entro 1-2 ore dall'emissione, altrimenti conservate alla temperatura di 4-6° C per 24 ore in terreni di trasporto o soluzioni saline tamponate.
Tipo di esame	• Esame colturale • Ricerca antigenica • Metodi di biologia

Criteri di laboratorio

Almeno uno dei seguenti criteri:

- Isolamento di *Campylobacter* spp patogeno in un campione clinico
- Identificazione dell'acido nucleico di *Campylobacter* spp patogeno in un campione clinico

Caso confermato → NOTIFICA

Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio.

2.2 Conferma di laboratorio

Diagnostica di seconda istanza

Tipo di campione: CEPPPO BATTERICO per tipizzazione molecolare

Modalità di prelievo	• Ceppo batterico isolato in appositi terreni
Modalità di trasporto e conservazione	• I ceppi batterici vanno trasportati al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservati alla temperatura di 4°C.
Tipo di esame	• Metodiche di biologia molecolare • PFGE, MLST, NGS

CAMPYLOBACTERIOSI – Note tecniche

Diagnostica di prima istanza - FECI

Ricerca antigene:

Metodo rapido utilizzato per la diagnosi qualitativa di *Campylobacter* spp., attraverso la ricerca degli antigeni del cell-wall di *Campylobacter* patogeno nelle feci. Il test utilizza anticorpi monoclonali specifici coniugati per gli antigeni di *Campylobacter* spp. e anticorpi monoclonali su fase solida per l'identificazione diretta dalle feci di *Campylobacter* spp.

Esame colturale:

Semina diretta delle feci su mCCD Agar e incubazione in microaerofilia per 40-48 ore a 41,5°C e contemporaneamente arricchimento delle feci in Preston, incubazione in microaerofilia per 22-26 ore a 41,5°C, semina su mCCD Agar, incubazione in microaerofilia per 40-48 ore a 41,5°C.

Diagnostica di seconda istanza – CEPPPO BATTERICO

Identificazione molecolare con PCR

L'identificazione molecolare di *Campylobacter* tramite PCR prevede l'estrazione del DNA genomico da colonia batterica cresciuta a partire da idonei terreni di coltura mediante bollitura, l'amplificazione delle sequenze geniche di interesse (gene codificante il 16S rRNA del *Campylobacter* spp., **mapA** gene codificante per una proteina di membrana del *Campylobacter jejuni* e **ceuE** gene del *Campylobacter coli* codificante per una lipoproteina di membrana coinvolta nel trasporto dello ione ferro) mediante primer specifici e la valutazione della positività o negatività del campione mediante elettroforesi su gel di agarosio e lettura al transilluminatore dei prodotti di PCR.

PFGE - MLST:

L'utilizzo della PFGE e della MLST consente di analizzare caratteristiche strettamente peculiari del genoma di un batterio al fine di definire la clonalità o meno degli isolati batterici in esame. Tali tecniche quindi si offrono come efficaci e rapidi strumenti di sorveglianza e di riconoscimento di episodi epidemici.

**INFEZIONE DA *ESCHERICHIA COLI* PRODUTTORE
DI TOSSINA SHIGA/VEROCITOSSINA (STEC/VTEC)**

1. Diagnosi clinica e definizioni di caso

Agente eziologico	<i>E. coli</i> produttori di Shiga-tossina (<i>STEC</i>) (anche detta Verocitotossina, da cui l'acronimo <i>VTEC</i>) ad effetto citotossico. I sierogruppi maggiormente diffusi sono: O157, O111, O26, O103, O121 e O145.
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Periodo d'incubazione 1-6 giorni, in base al patotipo <i>Diarrea da STEC/VTEC</i> • Diarrea, spesso emorragica • Dolori addominali <i>Sindrome emolitica uremica (SEU)</i> Indipendentemente dalla presenza o meno di sintomatologia gastroenterica prodromica, qualsiasi persona che presenti un blocco renale acuto e almeno una delle seguenti due manifestazioni: • anemia emolitica microangiopatica (Hb < 10 g/l, emazie frammentate o inferiori ai valori soglia stabiliti dal WHO) • trombocitopenia (plt < 150.000/microlitro); • insufficienza renale acuta o evidenza di danno renale – proteinuria, ematuria anche in assenza di alterazione della creatininemia

Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Almeno una delle cinque seguenti correlazioni epidemiologiche: • Trasmissione interumana (contatto con persone con diarrea) • Esposizione a una fonte comune • Esposizione ambientale • Trasmissione da animale a uomo (soprattutto bovini, pecore, capre) • Esposizione ad alimenti o acqua da bere contaminati - Carni poco cotte o crude di bovino (carne macinata, hamburger) - Latte crudo o formaggi a latte crudo - Insaccati freschi - Ortaggi
Caso possibile di SEU associata a STEC/VTEC: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici per la SEU → NOTIFICA Caso probabile di STEC/VTEC: Qualsiasi paziente che soddisfi i criteri clinici e con almeno un link epidemiologico o con criteri di laboratorio soddisfatti, in assenza di criteri clinici → NOTIFICA	

2.1 Conferma di laboratorio Diagnostica di prima istanza	
Tipo di campione: FECI	
Modalità di prelievo	• Raccolte dopo l'emissione, dopo l'esordio della malattia e prima dell'assunzione di farmaci. • Raccolte in quantità sufficiente (3,5gr/5-10ml). • Il materiale va raccolto in recipienti puliti e trasferito in contenitori con tappo a vite correttamente contrassegnati.
Modalità di trasporto e conservazione	• Le feci dovrebbero pervenire in laboratorio entro 1-2 ore dall'emissione, altrimenti conservate alla temperatura di 4-6° C per 24 ore in terreni di trasporto o soluzioni saline tamponate.
Tipo di esame	• Test molecolare Real time PCR per ricerca geni stx1/vtx1, stx2/vtx2, eae.
Tipo di campione: SIERO (solo per casi SEU)	

Modalità di prelievo	• 5 ml in provette tappo rosso (senza anticoagulante)
Modalità di trasporto e conservazione	• Temperatura di refrigerazione
Tipo di esame	• Immunodosaggio per ricerca anticorpi anti Lps
Tipo di campione: CEPPO BATTERICO	
Modalità di prelievo	• Ceppo batterico <i>E. coli</i> isolato in appositi terreni
Modalità di trasporto e conservazione	• I ceppi batterici vanno trasportati al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservati alla temperatura di 4°C.
Tipo di esame	• Metodiche di biologia molecolare • PFGE, MLST, NGS
Criteri di laboratorio	
Almeno uno dei seguenti criteri: • isolamento/coltura di <i>Escherichia coli</i> che produce la tossina Shiga/verocitossina o contiene geni <i>stx1/vtx1</i> o <i>stx2/vtx2</i> • identificazione diretta dell'acido nucleico dei geni <i>stx1/vtx1</i> o <i>stx2/vtx2</i> • identificazione diretta della tossina Shiga/verocitossina libera nelle feci.	
Solo per la SEU il seguente criterio può essere utilizzato come criterio di laboratorio per confermare la presenza di STEC/VTEC: • risposta anticorpale sierogruppo specifica all'<i>Escherichia coli</i> (LPS)	
In assenza di sintomi clinici: • isolamento di <i>Escherichia coli</i> O157 non fermentante il sorbitolo (senza test della tossina o dei geni che producono la tossina)	
Caso confermato → NOTIFICA	
Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio.	

2.2 Conferma di laboratorio	
Diagnostica di seconda istanza	
Tipo di campione: CEPPO BATTERICO per tipizzazione molecolare	
Modalità di prelievo	Ceppo batterico E.coli isolato in appositi terreni
Modalità di trasporto e conservazione	I ceppi batterici vanno trasportati al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservati alla temperatura di 4°C.
Tipo di esame	- Metodiche di biologia molecolare - PFGE, MLST, NGS

INFEZIONE DA <i>ESCHERICHIA COLI</i> PRODUTTORE DI TOSSINA SHIGA/VEROCITOSSINA (STEC/VTEC) – Note tecniche
Diagnostica di prima istanza
Ricerca antigene/tossine: Utilizzo di metodi immunoenzimatici o immunocromatografici per la determinazione della presenza della shiga tossina con determinazione dell'antigene comune o determinazione qualitativa delle tossine shiga (Stx1 e Stx2) in estratti di campioni fecali in soluzione fisiologica e brodo di arricchimento di colture fecali. Diagnosi sierologica di infezione da EHEC: ricerca anticorpi anti-LPS E.coli O157, O26, O103, O111, O145 (met. ELISA). Identificazione diretta dell'acido nucleico dei geni <i>stx1/vtx1</i> o <i>stx2/vtx2</i> da campioni di feci: utilizzo di metodiche di biologia molecolare (PCR o Real time PCR) che si basano sull'estrazione del DNA genomico dei batteri cresciuti su terreni colturali liquidi o solidi mediante bollitura (PCR) o purificazione con resine non immobilizzate (real time PCR), amplificazione delle sequenze geniche mediante primers specifici e valutazione della positività o negatività del campione mediante elettroforesi su gel di agarosio e lettura al transilluminatore (PCR) oppure per elaborazione automatica con formazione di curve di fluorescenza (Real Time PCR).

Diagnostica di seconda istanza

Identificazione diretta dell'acido nucleico dei geni *stx1/vtx1* o *stx2/vtx2* da ceppo batterico: utilizzo di metodiche di biologia molecolare (PCR o Real time PCR) che si basano sull'estrazione del DNA genomico dei batteri cresciuti su terreni colturali liquidi o solidi mediante bollitura (PCR) o purificazione con resine non immobilizzate (real time PCR), amplificazione delle sequenze geniche mediante primers specifici e valutazione della positività o negatività del campione mediante elettroforesi su gel di agarosio e lettura al transilluminatore (PCR) oppure per elaborazione automatica con formazione di curve di fluorescenza (Real Time PCR).

PFGE, MLST, NGS: l'utilizzo della PFGE e della MLST consente, mediante il confronto dell'impronta del DNA, di capire se gli isolati di *E. coli* possono derivare dallo stesso clone cellulare. Le metodiche NGS consentono il sequenziamento dell'intero genoma ottenendo dati utili per la tipizzazione e caratterizzazione degli agenti eziologici, risultando fondamentali per stabilire eventuali correlazioni epidemiologiche.

EPATITE E

1. Diagnosi clinica e definizioni di caso

Agente eziologico	Virus dell'Epatite E (HEV), Famiglia <i>Hepeviridae</i> , genere <i>Hepevirus</i>
-------------------	---

Sospetto clinico

Criteri clinici	Periodo d'incubazione da 2 a 10 settimane, con una media di 5-6 settimane • Discreta sintomatologia gastro-intestinale • Aumento delle transaminasi sieriche (ALT > 10 volte il limite massimo del range di normalità) • Febbre • Ittero L'infezione sintomatica è più comune nei soggetti tra i 15 e i 40 anni, mentre nei bambini è asintomatica e anitterica
-----------------	---

Sospetto epidemiologico

Criteri epidemiologici	Trasmissione oro-fecale • Trasmissione interumana • Viaggi in zone endemiche • Trasmissione da animale ad uomo • Esposizione ad alimenti o acqua contaminati • Esposizione e/o contatto con suini, prodotti di origine suina e molluschi contaminati
------------------------	---

Caso probabile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici, con una correlazione epidemiologica → **NOTIFICA**

2.1 Conferma di laboratorio Diagnostica di prima istanza

Tipo di campione: SIERO

Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • Prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette prive di anticoagulante • Prelievo da effettuare prima dell’inizio della terapia
Modalità di trasporto e conservazione	• Ai campioni dovrebbe essere allegato un modulo di richiesta con dati anagrafici e clinico-anamnestici • Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	• Immunodosaggio

Criteri di laboratorio

Presenza di anticorpi specifici:

- IgM anti HEV positivo
- IgM anti HBc negativo
- IgM anti HaV negativo

Caso confermato → NOTIFICA

Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio (i casi IgM anti-HEV positivi, in assenza di sintomatologia clinica, sono comunque inclusi tra i casi di "Epatite acuta E").

2.2 Conferma di laboratorio

Diagnostica di seconda istanza

Tipo di campione: FECI per tipizzazione molecolare

Modalità di prelievo	• Raccolte dopo l’emissione, dopo l’esordio della malattia e prima dell’assunzione di farmaci • Raccolte in quantità sufficiente (3,5gr/5-10ml) • Il materiale va raccolto in recipienti puliti e trasferito in contenitori con tappo a vite correttamente contrassegnati
Modalità di trasporto e conservazione	• Le feci dovrebbero pervenire in laboratorio entro 1-2 ore dall’emissione, altrimenti conservate alla temperatura di 4-6° C per 24 ore in terreni di trasporto o soluzioni saline tamponate

2.2 Conferma di laboratorio

Diagnostica di seconda istanza

	Nel caso il campione venga consegnato ad un laboratorio periferico, deve essere trasferito al laboratorio di virologia possibilmente entro 48 ore.
Tipo di esame	Test molecolare RT-PCR

Epatite E – Note tecniche

Diagnostica di prima istanza

Immunodosaggio

Allestimento di dosaggi immunoenzimatici che vanno a determinare la presenza e la concentrazione di anticorpi IgG, IgM rispetto alla formazione di un prodotto di reazione colorato o in grado di emettere luce in seguito ad una reazione chimica.

Diagnostica di seconda istanza

Metodiche di biologia molecolare

Le tecniche di caratterizzazione molecolare si basano su metodiche di One-Step Real Time RT-PCR qualitative e quantitative per la ricerca del Virus responsabile dell'Epatite E e per la sua eventuale quantificazione. Dopo la concentrazione del virus, l'RNA virale viene estratto e successivamente purificato da eventuali contaminanti in grado di inibire la reazione di PCR. L'RNA purificato viene quindi eluito in apposito buffer e retrotrascritto in cDNA che viene poi amplificato tramite Real-Time PCR. La Real-time RT-PCR utilizza sonde ad idrolisi marcate alle estremità con fluorocromi (reporter) e assorbitori di fluorescenza (quencher). La chimica del saggio assicura che, durante il processo di amplificazione, la sonda venga idrolizzata con conseguente emissione di fluorescenza. In questo modo il segnale di fluorescenza del marcatore aumenterà proporzionalmente all'aumentare della quantità di amplificato.

BRUCELLOSI

1. Diagnosi clinica e definizioni di caso

Agente eziologico	<i>Brucella melitensis; Brucella abortus; Brucella suis</i>
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Periodo di incubazione variabile (da alcuni giorni a diversi mesi). Qualsiasi persona presenti febbre e almeno una delle sette seguenti manifestazioni: • Sudorazione (abbondante, maleodorante, specialmente notturna) • Brividi • Artralgia • Debolezza • Depressione • Cefalea • Anoressia Complicanze: • Forme respiratorie da lievi fino a polmoniti, ascessi e versamenti pleurici • Epato e splenomegalia • Malattia osteo-articolare

Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Almeno una delle cinque seguenti correlazioni epidemiologiche: - Esposizione ad alimenti contaminati: • latte non trattato • formaggi a stagionatura inferiore a 3 mesi • ricotta artigianale • gelato • panna • yogurt - Esposizione ad acqua da bere contaminata - Trasmissione da animale infetto • secrezioni o organi contaminati • perdite vaginali • aborti e placenti - Esposizione ad una fonte comune - Esposizione in laboratorio
Caso probabile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti una correlazione epidemiologica.	

2.1 Conferma di laboratorio Diagnostica di prima istanza	
Tipo di campione: SANGUE	
Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle norme di asepsi • Prelevare quantità sufficiente di sangue in appositi flaconi contrassegnati contenenti brodi per emocoltura (10ml per gli adulti, 5ml per i bambini) • Effettuare 2-3 prelievi in rapida successione (5-10') • Prelievo da effettuare prima dell'inizio della terapia antimicrobica
Modalità di trasporto e conservazione	• Inviare i campioni per emocoltura al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservarli a temperatura ambiente per non più di 16-18 ore oppure incubati a 35-37°C • I campioni non vanno refrigerati

Tipo di esame	• Emocultura con isolamento di <i>Brucella</i> spp. patogena per l'uomo • Sieroagglutinazione rapida (SAR) • Prova di fissazione del complemento • Test ELISA • Metodiche di biologia molecolare
Criteri di laboratorio Almeno uno dei tre seguenti criteri: • isolamento della <i>Brucella</i> spp. patogena per l'uomo da un campione clinico • risposta anticorpale specifica alla <i>Brucella</i> patogena per l'uomo (prova standard di agglutinazione, prova di fissazione del complemento, test ELISA) • identificazione dell'acido nucleico della <i>Brucella</i> spp. patogena per l'uomo in un campione clinico.	
Caso confermato → NOTIFICA Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio.	

2.2 Conferma di laboratorio

Diagnostica di seconda istanza

Tipo di campione: CEPPPO BATTERICO

Modalità di prelievo	• Ceppo batterico isolato in appositi terreni
Modalità di trasporto e conservazione	• I ceppi batterici vanno trasportati al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservati alla temperatura di 4°C.
Tipo di esame	• Metodiche di biologia molecolare

BRUCELLOSI – Note tecniche

Diagnostica di prima istanza - SANGUE

Emocoltura

Esame su sangue che permette di evidenziare la presenza di microrganismi nel torrente circolatorio, importante per la diagnosi di batteriemia o di sepsi. Con i sistemi automatici attualmente i flaconi vengono incubati a 35°C per 15 giorni oppure la diagnosi di brucella viene fatta utilizzando metodi di coltura alternativi come ad esempio il metodo di lisi e centrifugazione, per cui non si ritiene più necessario prolungare l'incubazione. I sistemi automatici provvedono alla lettura ogni 10'-24', segnalando eventuali campioni positivi che vanno prontamente rimossi dallo strumento per procedere con la colorazione. Le emocolture positive vengono sottoposte a sub-coltura su un set appropriato di terreni in grado di assicurare anche la crescita di germi più esigenti e lasciate ad incubare per 24 ore. Si sono sviluppate inoltre tecniche innovative, da affiancare alle tecniche tradizionali, rapide e altamente specifiche che consentono una notevole riduzione dei tempi di refertazione per l'identificazione del patogeno in seguito a positività del flacone, quali la tecnologia FISH, MALDI-TOF, multiplex PCR.

Sieroagglutinazione rapida

Reazione sierologica in cui la formazione di immunocomplessi, tra un anticorpo in sospensione e un antigene corpuscolato, si apprezza con l'individuazione di agglutinati macroscopicamente visibili.

Fissazione del complemento

E' una reazione in cui, tra due sistemi antigene-anticorpo (immuno-complesso), oscilla il complemento. Il primo sistema è formato da un antigene noto e dall'anticorpo corrispondente eventualmente presente nel siero in esame; il secondo sistema è costituito da globuli rossi di montone ed anticorpi anti-GR di montone (emolisina). Nel caso in cui nel siero in esame non vi siano anticorpi rivolti verso l'antigene noto, non si formerà l'immuno-complesso ed il complemento rimarrà totalmente libero di fissarsi al secondo sistema, provocando emolisi.

Diagnostica di seconda istanza – CEPPPO BATTERICO

Identificazione molecolare con PCR e RT-PCR

Le tecniche di identificazione molecolare si basano sull'estrazione del DNA genomico dei batteri cresciuti su terreni colturali solidi mediante bollitura, amplificazione delle sequenze geniche mediante primer specifici e valutazione della positività o negatività del campione mediante elettroforesi su gel di agarosio e lettura al transilluminatore oppure per elaborazione automatica con formazione di curve di fluorescenza.

SCHEDE TECNICHE MALATTIE DA VETTORE

ENCEFALITI DA ZECCHIE (TBE)

1. Diagnosi clinica e definizione di caso

Agente eziologico	Virus della famiglia Flaviviridae, genere Flavivirus, Tick borne Encephalitis virus
Vettore	Zecche del genere Ixodes
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Periodo di incubazione: 4 – 28 giorni (media 7 giorni) Qualsiasi persona con sintomi di infiammazione del sistema nervoso centrale (Snc), ad esempio meningite, meningoencefalite, encefalomielite, encefaloradicolite.
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Esposizione a puntura di zecca e/o consumo di prodotti lattiero caseari non pastorizzati
Caso probabile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e i criteri epidemiologici o qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio per il caso probabile → SEGNALAZIONE entro 24 ore all'Azienda sanitaria competente → INVIO DEI CAMPIONI al laboratorio di riferimento regionale	
2. Conferma di laboratorio - caso probabile	
Tipo di campione: siero	
Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • Prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette prive di anticoagulante
Modalità di trasporto e conservazione	• Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	• Anticorpi IgM specifici per la TBE in un unico campione di siero.

3. Conferma di laboratorio - caso confermato	
Tipo di campione: siero	
Tipo di esame	• Anticorpi IgM e IgG specifici per la TBE nel siero • Identificazione dell'acido nucleico del virus della TBE in un campione clinico • Sieroconversione o aumento di quattro volte degli anticorpi specifici per la TBE in una coppia di campioni di siero • Anticorpi IgM specifici per la TBE nel LCS • Isolamento del virus della TBE da un campione clinico
Tipo di campione liquido cefalo rachidiano	
Modalità di prelievo	• Prelevato per puntura lombare (PL) o rachicentesi nello spazio tra la 4^a e la 5^a vertebra lombare • Raccolto in provette sterili con tappo a vite e fondo conico e in provetta da emocoltura 1 ml • Diviso in 3 aliquote per ridurre la contaminazione di sangue proveniente dai tessuti perforati
Modalità di trasporto e conservazione	• I campioni liquor possono essere refrigerati per non più di 72 ore, invece per la conservazione oltre i sei mesi, congelati a -80°C
Tipo di esame	• Identificazione dell'acido nucleico del virus della TBE in un campione clinico • Anticorpi IgM specifici per la TBE nel LCS • Isolamento del virus della TBE da un campione clinico
Tipo di campione: sangue intero	
Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • Prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette con anticoagulante
Modalità di trasporto e conservazione	• Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	• Identificazione di RNA virale tramite NAT • Isolamento del virus da un campione clinico
Caso confermato: qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e almeno uno dei criteri di laboratorio per il caso confermato → SEGNALAZIONE entro 24 ore all'Azienda sanitaria competente, Regione, ISS e Ministero della salute	

4. Ulteriori accertamenti	
Tipo di campione: zecca	
Modalità di prelievo	• Rimuovere prontamente la zecca dal sito di inoculo afferrandola il più vicino possibile alla cute e senza strapparla via in modo tale che venga via anche il rostro. Non usare sulla zecca prima della rimozione calore o sostanze quali acetone, ammoniaca, cloruro di etile, alcol etilico, etere, cloroformio, vaselina che inducono nell'artropode un riflesso di rigurgito, con aumento del rischio di trasmissione di agenti patogeni. • Disinfettare la zona
Modalità di trasporto e conservazione	• Se la zecca è viva va raccolta preferibilmente in una provetta senza tappo chiusa con un batuffolo di cotone bagnato leggermente con acqua, in assenza di tale soluzione può essere utilizzata una provetta chiusa con tappo. • Il campione deve essere conservato a temperatura ambiente
Tipo di esame	• Identificazione • Tecniche di biologia molecolare
Encefalite da zecche – note tecniche	
Diagnostica – caso probabile	
Ricerca anticorpi IgM specifici per la TBE in un unico campione di siero. La presenza di anticorpi IgM evidenzia una infezione precoce, in atto.	
Diagnostica – caso confermato	
Anticorpi IgM e IgG specifici per la TBE sieroconversione o aumento di quattro volte La ricerca di anticorpi specifici effettuata su due campioni di siero consecutivi permette di evidenziare l'avvenuto contatto con l'agente eziologico. Nel caso del primo campione negativo, la sieroconversione è data dalla comparsa degli anticorpi nel secondo campione. Nel caso di positività del primo campione, la sieroconversione è data dall'aumento del tasso anticorpale di almeno 4 volte nel secondo campione.	
Identificazione dell'acido nucleico del virus della TBE in un campione clinico Per il rilevamento del genoma virale si utilizzano tecniche di biologia molecolare quali la Real-Time PCR.	
Anticorpi IgM specifici per la TBE nel LCS Scopo della ricerca di anticorpi specifici nel liquor è quello di diagnosticare una risposta anticorpale specifica all'interno del sistema nervoso centrale e si misura calcolandone la sintesi intratecale. Il metodo di indagine solitamente utilizzato è di tipo quantitativo con metodiche ELISA.	

WEST NILE DISEASE	
1. Diagnosi clinica e definizioni di caso	
Agente eziologico	Famiglia: Flaviviridae, specie West Nile Virus
Vettore	Zanzare del genere Culex
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Periodo di incubazione: in media tra 2 e 14 giorni, fino a 21 giorni Qualsiasi persona che presenti almeno una delle seguenti manifestazioni cliniche: encefalite; meningite a liquor limpido; poliradicolo-neurite (simil Guillain-Barré); paralisi flaccida acuta.
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Almeno una delle seguenti due correlazioni epidemiologiche: trasmissione da animale a uomo (che risieda o abbia viaggiato in zone in cui il WNV è endemico nei cavalli o negli uccelli o che sia stato esposto a punture di zanzare in tali zone); trasmissione interumana (trasmissione verticale, trasfusione sanguigna, trapianti).
Caso sospetto sulla base delle evidenze cliniche ed epidemiologiche	
→ SEGNALAZIONE entro 12 ore alla ASL di competenze → INVIO DEI CAMPIONI al Laboratorio di Riferimento Regionale	
2.1 Conferma di laboratorio – caso probabile	
Tipo di campione: SIERO	
Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • Prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette prive di anticoagulante
Modalità di trasporto e conservazione	• Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione

Tipo di esame	• Ricerca anticorpi IgM con test immunoenzimatico
Criteri di laboratorio	• Risposta anticorpale IgM specifica al WNV nel siero
Caso probabile: persona che soddisfi il criterio clinico ed il criterio di laboratorio per il caso probabile → SEGNALAZIONE entro 12 ORE alla ASL di competenza	
2.2 Conferma di laboratorio – caso confermato	
Tipo di campione: SIERO	
Tipo di esame	• Ricerca anticorpi IgM con test immunoenzimatico • Ricerca anticorpi IgG • Test di sieroneutralizzazione • Ricerca dell'acido nucleico mediante metodiche di biologia molecolare • Sequenziamento dell'amplificato • Isolamento del virus
Criterio di laboratorio	• Isolamento del WNV • Risposta anticorpale specifica (IgM)
Tipo di campione: LIQUIDO CEFALO-RACHIDIANO (LCF)	
Modalità di prelievo	• Prelevato per puntura lombare (PL) o rachicentesi nello spazio tra la 4^a e la 5^a vertebra lombare • Raccolto in provette sterili con tappo a vite e fondo conico e in provetta da emocoltura 1 ml • Diviso in 3 aliquote per ridurre la contaminazione di sangue proveniente dai tessuti perforati
Modalità di trasporto	• I campioni liquor possono essere refrigerati per non più di 72 ore, invece per la conservazione oltre i sei mesi, congelati a -80°C • Ai campioni dovrebbe essere allegato un modulo di richiesta con datai anagrafici e clinico-anamnestici
Tipo di esame	• Ricerca anticorpi IgM con test immunoenzimatico • Identificazione dell'acido nucleico del virus mediante metodiche di biologia molecolare • Sequenziamento dell'amplificato ottenuto • Isolamento del virus
Criterio di laboratorio	• Isolamento del WNV • Risposta anticorpale specifica (IgM) • Identificazione dell'acido nucleico del WNV

2.2 Conferma di laboratorio – caso confermato	
Tipo di campione: URINA	
Modalità di prelievo	• Prelevata entro 2-3 settimane dall'insorgenza dei sintomi • Posta in appositi contenitori
Modalità di trasporto	• Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	• Ricerca dell'acido nucleico mediante metodiche di biologia molecolare • Sequenziamento dell'amplificato • Isolamento del virus
Criterio di laboratorio caso confermato	• Isolamento del WNV • Identificazione dell'acido nucleico del WNV • Isolamento del WNV
Tipo di campione: SANGUE INTERO	
Modalità di prelievo	• prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette con EDTA • entro 5-7 giorni dalla comparsa dei sintomi
Modalità di trasporto	• Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	• Ricerca dell'acido nucleico del virus mediante metodiche di biologia molecolare • Sequenziamento dell'amplificato ottenuto
Criterio di laboratorio caso confermato	• Isolamento del WNV • Identificazione dell'acido nucleico del WNV • Isolamento del WNV
Caso confermato: Persona che soddisfi almeno uno dei criteri di laboratorio per caso confermato → SEGNALAZIONE entro 12 ORE alla ASL di competenza	

LEISHMANIOSI	
1. Diagnosi clinica e definizione di caso	
Agente eziologico	<i>Leishmania</i> spp.
Vettore	Flebotomi (<i>Phlebotomus perniciosus</i> , <i>P. perfiliewi</i> , <i>P. neglectus</i> e <i>P. ariasi</i>)
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Leishmaniosi cutanea (Periodo d'incubazione da 1 settimana a 8 mesi): • Lesione papulare non dolente che si manifesta nel sito della puntura infettante. La papula può progredire come lesione ulcerativa oppure nodulare che tende poi a guarire spontaneamente nel corso di mesi o anni, lasciando una cicatrice deturpante Leishmaniosi viscerale (periodo d'incubazione da 3 settimane a 2 anni, con una media di 2-4 mesi) • Febbre resistente agli antibiotici • Epatosplenomegalia • Pancitopenia • Ipergammaglobulinemia Se non viene trattata farmacologicamente la forma viscerale può risultare fatale in oltre il 90% dei casi.
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Puntura di flebotomi (pappataci), permanenza in zone endemiche per Leishmaniosi
Caso sospetto: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti una correlazione epidemiologica	
2. Conferma di laboratorio – caso probabile	
Tipo campione: siero	
Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • Prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette prive di anticoagulante
Modalità di trasporto e conservazione	• Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	• Ricerca anticorpi con test ELISA o IFAT o test immunocromatografico rK 39;

Caso probabile: qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e risulti positiva al test per caso probabile → **SEGNALAZIONE** entro 48 ore all'Azienda sanitaria competente. In tutti i casi di focolaio epidemico la segnalazione deve avvenire **entro 24 ore**. (CLASSE SECONDA D.M. 15/12/1990)

3. Conferma di laboratorio – caso confermato

Tipo campione: siero

Tipo di esame	Ricerca anticorpi con test ELISA o IFAT o test immunocromatografico rK 39;
----------------------	--

Tipo di campione: sangue periferico

Modalità di prelievo	Prelevare 3 ml di sangue in apposite provette con EDTA
Modalità di trasporto e conservazione	Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	PCR

Tipo di campione: aspirato midollare

Modalità di prelievo	- Prelievo effettuato nel rispetto di norme di asepsi - Punch biopsy
Modalità di trasporto e conservazione	Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	- Esame istologico dopo colorazione GIEMSA (biopsie incluse in paraffina) - PCR su campioni biotici a fresco o inclusi in paraffina (in quest'ultimo caso: sezioni di 100 micron di spessore)

Tipo di campione: biopsia cutanea	
Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto di norme di asepsi • Punch biopsy
Modalità di trasporto e conservazione	• Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	• Esame istologico dopo colorazione GIEMSA (biopsie incluse in paraffina) • PCR su campioni biotici a fresco o inclusi in paraffina (in quest'ultimo caso: sezioni di 100 micron di spessore)
Caso confermato: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti sierologia positiva e/o esame parassitologico (microscopia o PCR) positivo (OMS, 2010).	

Leishmaniosi – note tecniche
Diagnosi di prima istanza
Immunodosaggio Allestimento di dosaggi immunoenzimatici che vanno a determinare la presenza e la concentrazione di anticorpi IgG, IgM rispetto alla formazione di un prodotto di reazione colorato o in grado di emettere luce in seguito ad una reazione chimica. I test ELISA e IFAT rimangono i test d'elezione per la ricerca anticorpale nei confronti della leishmaniosi.
Diagnosi di seconda istanza
Immunoblotting Tecnica che offre la possibilità di valutare la risposta anticorpale diretta contro le singole proteine antigeniche oltre che la possibilità di differenziare fra infezione primaria e riattivata.
Biologia molecolare Tale metodica di laboratorio consente di amplificare le sequenze specifiche del genoma di Leishmania; è un esame altamente sensibile e in grado di identificare piccolissime quantità di DNA protozario contenuto nel materiale biologico esaminato.
Esame istologico dopo colorazione GIEMSA Dopo aver effettuato uno striscio da aspirato midollare o biopsia cutanea, si procede alla colorazione Giemsa o May-Grunwald Giemsa e si osserva al microscopio ottico con

obiettivo 40X o 100X. Si osservano colorati in rosso violetto i parassiti che vengono liberati nello spazio intercellulare a seguito della rottura dei macrofagi. Più raro è il reperto di Leishmanie all'interno dei macrofagi.

MALATTIA DI LYME

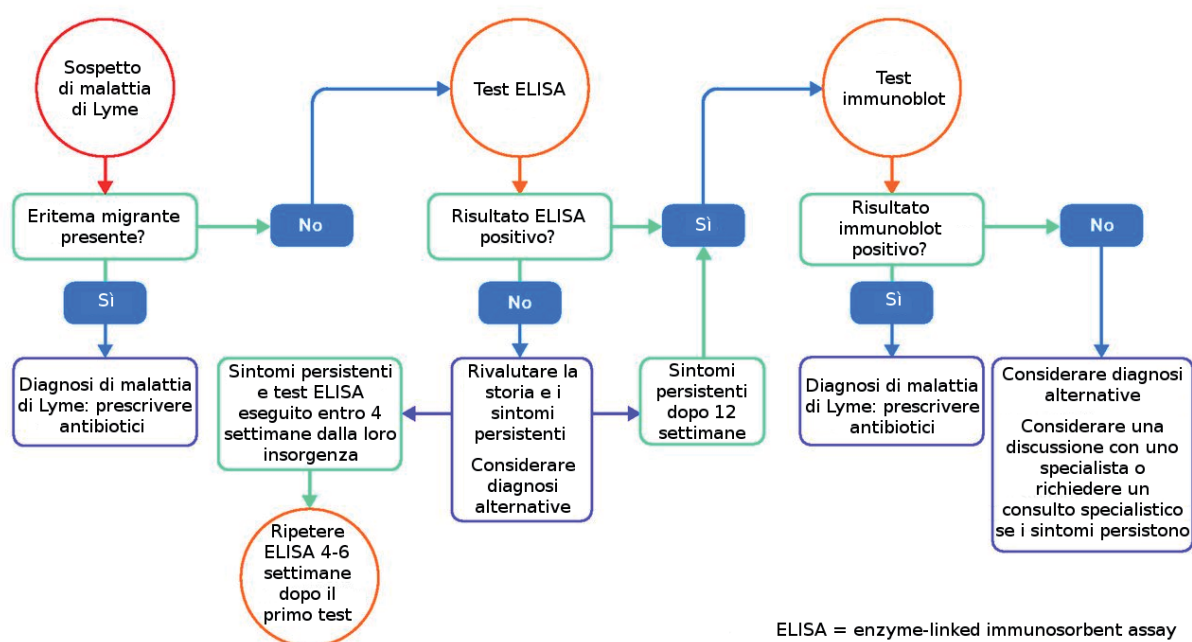
1. Diagnosi clinica e definizione di caso

Agente eziologico	<i>Borrelia burgdorferi</i>
Vettore	Zecche (<i>Ixodes ricinus</i>)
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Caso confermato in persone che presentano Eritema migrante con eruzione cutanea rossa: • solitamente visibile da 1 a 4 settimane (ma può comparire da 3 giorni fino a 3 mesi) dopo il morso della zecca • aumenta di dimensioni e può avere un'area centrale più chiara • generalmente non determina prurito, calore o dolore • perdura per diverse settimane • di solito si localizza in corrispondenza del morso di zecca Caso sospetto in persone che presentano una variabile combinazione dei seguenti sintomi: • febbre e sudorazione • adenomegalia • malessere • astenia • dolori al collo o rigidità • artralgie e/o mialgie migranti; • disturbi cognitivi quali amnesie e difficoltà di concentrazione, spesso descritti come "mente annebbiata" • cefalea • parestesia Altri sintomi sospetti: • sintomi neurologici: es. paralisi facciale o altre paralisi del nervo cranico, meningiti, neurite multipla o altre radicolopatie inspiegate o, raramente, encefaliti, presentazioni neuropsichiatriche, o modifiche inspiegate nella sostanza bianca all'imaging cerebrale • artriti infiammatorie ad una o più articolazioni che possono essere fluttuanti e migranti • patologie cardiache, quali arresto cardiaco o pericardite • sintomi oftalmici, come uveite o cheratite

	• manifestazioni cutanee, quali acrodermatite cronica atrofica o linfocitoma.
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Puntura di zecche del complesso <i>Ixodes ricinus</i> . Per la trasmissione deve rimanere attaccata per almeno 24 ore alla pelle. Non escludere la probabilità di malattia di Lyme nelle persone sintomatiche senza anamnesi positiva per esposizione a punture di zecca.
Caso confermato in presenza di Eritema migrante → SEGNALAZIONE entro 48 alla ASL di competenza. Nel caso si verifichi come focolaio, entro 24 ore. Caso sospetto in presenza di altri sintomi → INVIO DI CAMPIONI AL LABORATORIO	

Figura 1: Algoritmo per l'utilizzo dei test di laboratorio nella diagnosi della malattia di Lyme (da Linee guida per la diagnosi e il trattamento della malattia di Lyme. **Evidence** Ottobre 2018 | Volume 10 | Issue 9 | e1000188).

Utilizzare presentazione clinica e test di laboratorio per guidare la diagnosi
In caso di sospetto clinico elevato di malattia di Lyme, considerare l'inizio del trattamento
in attesa dei risultati del test e non escludere la malattia di Lyme anche se i risultati sono negativi



2. Diagnosi di laboratorio – per la definizione del caso probabile in assenza di eritema migrante

Tipo di campione: Siero	
Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • Prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette prive di anticoagulante
Modalità di trasporto e conservazione	Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	Ricerca anticorpale ELISA
Caso probabile: Presenza di anticorpi con test ad alta sensibilità (Test Elisa) o presenza di anticorpi con test ad alta specificità (Test Immunoblot)	

3. Diagnosi di laboratorio – per la definizione del caso confermato in assenza di eritema migrante

Tipo di campione: Siero	
Tipo di esame	Westernblot
Caso confermato: Test westernblot positivo	

4. diagnosi di laboratorio – altri accertamenti

Tipo di campione: Liquidocefalorachidiano – in presenza di sintomi neurologici	
Modalità di prelievo	• Prelevato per puntura lombare (PL) o rachicentesi nello spazio tra la 4^a e la 5^a vertebra lombare • Raccolto in provette sterili con tappo a vite e fondo conico e in provetta da emocoltura 1 ml • Diviso in 3 aliquote per ridurre la contaminazione di sangue proveniente dai tessuti perforati • prelievo da effettuare prima dell'inizio della terapia antimicrobica

Modalità di trasporto e conservazione	• I campioni possono essere refrigerati per non più di 72 ore, invece per la conservazione oltre i sei mesi, congelati a -80°C
Tipo di esame	• Metodiche di biologia molecolare
Tipo di campione: Zecca	
Modalità di prelievo	• Rimuovere prontamente la zecca dal sito di inoculo afferrandola il più vicino possibile alla cute e senza strapparla in modo tale che venga via il rostro. Non usare sulla zecca prima della rimozione calore o sostanze quali acetone, ammoniaca, cloruro di etile, alcol etilico, etere, cloroformio, vaselina che inducono nell'artropode un riflesso di rigurgito, con aumento del rischio di trasmissione di agenti patogeni. • Disinfettare la zona
Modalità di trasporto e conservazione	• Se la zecca è viva va raccolta preferibilmente in una provetta senza tappo chiusa con un batuffolo di cotone bagnato leggermente con acqua, in assenza di tale soluzione può essere utilizzata una provetta chiusa con tappo. • Il campione deve essere conservato a temperatura ambiente
Tipo di esame	• Identificazione • Metodiche di biologia molecolare

GESTIONE SANITARIA DELLA ZECCA

Cosa fare per prevenire il morso di zecca e l'eventuale trasmissione delle malattie

Prima	Informarsi, se è possibile, sulla presenza del rischio zecche nell'area di competenza. Nel caso si preveda un viaggio o si viva in zona endemica per Tick Borne Encephalitis (TBE) valutare la possibilità della vaccinazione Vestirsi opportunamente con abiti lunghi e chiari cercando di evitare punti di entrata delle zecche utilizzando in caso anche il nastro adesivo. Utilizzare abbigliamento adatto: scarpe chiuse (meglio stivali), maglia a maniche lunghe ed infilata dentro i pantaloni, pantaloni lunghi con le estremità infilate dentro i calzini/calzettoni, cappello o copricapo. Non indossare abiti legati alla vita che possono avere l'effetto coperta strisciata che mima il passaggio di un possibile ospite Spruzzare sulla cute repellenti a base di DEET (dietiltoluamide) o Icaridina e sugli gli abiti e su tende o altre attrezzature da campo prodotti repellenti a base di permetrina ripetere l'applicazione più volte <u>secondo le istruzioni del prodotto.</u>
Durante	Percorrere sentieri ben battuti con erba sfalcata, evitare il contatto diretto con erba (es.: sedersi o sdraiarsi direttamente sui prati), le zone incolte, le zone ricche di cespugli e sottobosco. Evitare i luoghi visibilmente frequentati da animali. Non lasciare zaini o altri accessori sul suolo. Utilizzare guanti nel caso si manipolino animali selvatici.
Dopo	Scuotere eventuali panni (coperte, tovaglie) che siano stati stesi sull'erba prima di entrare all'interno delle abitazioni. Controllare i vestiti e spazzolarli prima di portarli all'interno delle abitazioni. Controllarsi e farsi controllare accuratamente ogni area del corpo al fine di scovare le eventuali zecche, prestare particolare attenzione al cuoio capelluto nei bambini ed a tutte le zone con presenza di reticolo venoso (ascelle, inguine, incavo del ginocchio). <u>Considerare le piccole dimensioni delle zecche non ingorgate ed in particolare delle forme immature.</u>

Come asportare un'eventuale zecca ritrovata infissa sulla superficie corporea	
Modalità di prelievo	Asportare al più presto le eventuali zecche afferrandole con un paio di pinzette o di appositi uncini reperibili in commercio quanto più possibile vicino alla cute e tirando e ruotando delicatamente. Non schiacciare la zecca. Se il rostro della zecca rimane all'interno della pelle, estrarlo con l'aiuto di un ago sterile. Applicare disinfettanti sulla parte soltanto dopo l'estrazione della zecca, evitando quelli che colorano la pelle (tintura di iodio, mercurocromo) perché potrebbero mascherare reazioni locali. Non applicare calore e nessun tipo di sostanza (alcool, etere, olio) per togliere la zecca, queste, infatti, inducono il riflesso di rigurgito nella zecca facilitando la trasmissione di alcuni patogeni.
Modalità di trasporto e conservazione	Conservare la zecca in un contenitore a temperatura di refrigerazione e conferirla al laboratorio per una corretta identificazione di specie ed eventuale ricerca patogeni che possa supportare un eventuale sospetto clinico di malattia.
Tipo di esame	Identificazione di specie morfologica e/o molecolare Ricerche molecolari di patogeni trasmessi
Cosa fare dopo l'asportazione della zecca	
	Riferire al paziente di controllare la puntura per almeno 30-40 giorni al fine di riconoscere l'eventuale comparsa di reazioni cutanee specifiche di alcune patologie (Eritema Cronico Migrante). La somministrazione di antibiotici per uso sistemico o locale a scopo profilattico nel periodo di osservazione è sconsigliata, poiché può mascherare eventuali sintomi e/o segni di malattia e rendere più complicata la diagnosi. Considerare la possibilità di trasmissione di patogeni attraverso la puntura di zecca nel caso di comparsa di febbre o altra sintomatologia durante il periodo di osservazione.

Maggiori informazioni?

- Zoonosi trasmesse da zecche Inail 2018 Collana Salute e Sicurezza
- Piano Nazionale di sorveglianza e risposta all'encefalite virale da zecche e altre arbovirosi e hantavirus non sottoposti a specifici piani di sorveglianza e risposta - 2018.
- <https://www.epicentro.iss.it/zecche/MaterialeInfo>

Note tecniche

Nel territorio italiano sono state segnalate circa 40 specie di zecche dalle caratteristiche biologiche peculiari che ne condizionano la capacità /probabilità di trasmettere agenti patogeni all'uomo.

La competenza vettoriale per ciascun patogeno varia a seconda delle specie o gruppi di specie di zecca, per questo è importante il riconoscimento di specie di questi ectoparassiti.

La presenza di patogeni all'interno delle zecche non esita necessariamente nella trasmissione di questi all'uomo ed in ogni caso la trasmissione non esita necessariamente in infezione/malattia. Il rilievo del patogeno all'interno della zecca unitamente alla conoscenza della specie di zecca e quindi della competenza vettoriale possono essere utili però, oltre che per generare informazioni di carattere epidemiologico, anche per indirizzare il sospetto diagnostico in caso di sintomatologia clinica.

SCHEDE TECNICHE MALATTIE PARASSITARIE

ANISAKIASI

1. Diagnosi clinica e definizioni di caso

Agente eziologico	<i>Anisakis</i> spp.
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Forma acuta <u>Forma esofagea</u> - Insorge poche ore dopo il pasto, provoca: • disfagia • bruciore • reflusso gastro-esofageo <u>Forma gastrica</u> dolore all'epigastrio nausea, vomito forme orticarioidi diffuse <u>Forma intestinale</u> • coliche • nausea, vomito, diarrea • manifestazioni infiammatorie • eosinofilia Forma cronica • Lesioni granulomatose o ascessuali • Difficoltà allo svuotamento gastrico • Occlusione intestinale • Versamento peritoneale • Coliti • Sangue occulto nelle feci Forma extra gastro-intestinale/ectopica • Perforamento della parete gastro-intestinale • Dolori addominali diffusi Manifestazioni allergiche Nel caso il soggetto abbia avuto un precedente contatto con il parassita: • Forma gastro-allergica • Reazione anafilattica
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Esposizione ad alimenti: Consumo di pesce di mare, calamari o gamberi crudi, poco cotti o trattati in modo inadeguato (congelati, salati, marinati, affumicati a freddo). Il parassita soccombe a temperature superiori a 60°C per oltre 10 minuti o a temperature di congelamento per 24 ore a -20° C.

Caso possibile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti una correlazione epidemiologica.

2.1 Conferma di laboratorio – CASO PROBABILE

Tipo di campione: Siero

Modalità di prelievo	➤ Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi ➤ Prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette prive di anticoagulante ➤ Prelievo da effettuare prima dell'inizio della terapia
Modalità di trasporto e conservazione	➤ Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	➤ Saggi immunologici
Criteri di laboratorio	➤ Positività dei saggi immunologici per la ricerca di IgE specifiche dirette contro i determinanti antigenici dell'<i>Anisakis</i>.

2.2 Conferma di laboratorio – CASO CONFERMATO

Tipo di campione: Larva

Modalità di prelievo	• Prelievo del parassita effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi durante le procedure videoguidate
Modalità di trasporto e conservazione	◦ Trasportare in laboratorio e processare nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare in etanolo al 70%.
Tipo di esame	Identificazione della larva mediante: • osservazione microscopica • metodiche molecolari PCR/RFLP
Criteri di laboratorio	• Identificazione del parassita mediante osservazione microscopica e identificazione dell'acido nucleico di <i>Anisakis</i> spp. con metodiche molecolari PCR/RFLP

Caso confermato: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio.

Anisakiasi – Note tecniche

Saggi immunologici:

Ricerca di IgE totali e anticorpi specifici anti-*Anisakis* (la positività non indica necessariamente la presenza della malattia) con metodiche ELISA, RIA e immunofluorescenza.

Identificazione della larva

E' importante l'isolamento e il riconoscimento del parassita mediante visualizzazione microscopica effettuata su materiale biotico, endoscopico, reperti istologici, campioni di feci e vomito e proseguire con l'individuazione delle caratteristiche molecolari del parassita. La procedura si basa su tre fasi operative:

- esame visivo per la ricerca delle larve di parassiti
- allestimento dei preparati microscopici
- identificazione delle larve

L'osservazione microscopica permette di valutare alcuni elementi tassonomici delle larve isolate che consentono di differenziare il genere *Anisakis* da altri generi riscontrabili nei pesci marini.

Metodiche molecolari di PCR/RFLP:

La PCR/RFLP è una metodica si basa sull'analisi dei frammenti di restrizione ottenuti dopo l'amplificazione della regione genomica nucleare che comprende la subunità ribosomiale 5.8 S ed i due spaziatori ITS-1 e ITS-2. Questa metodica molecolare permette un utile approccio per l'identificazione di specie appartenenti al genere *Anisakis*, sia vicine che distanti dal punto di vista genetico, in quanto gli spaziatori ribosomiali mostrano alti livelli di mutazioni puntiformi interspecifiche in presenza di variazioni intraspecifiche molto basse.

Per l'estrazione del DNA si sfrutta la sua capacità di adsorbirsi a particelle di silice in presenza di sali caotropici come guanidina idrocloruro o guanidina isotiocianato.

L'amplificazione del DNA avviene mediante PCR e la successiva restrizione enzimatica viene effettuata con l'utilizzo di due enzimi di restrizione: HhaI e HinfI.

Successivamente i prodotti della digestione vengono rilevati mediante elettroforesi su gel d'agarosio e i profili di digestione ottenuti consentono di risalire alle nove specie appartenenti al genere *Anisakis*: *A.simplex* s.s., *A.pegreffii*, *A.berlandi*, *A.typica*, *A.ziphidarium*, *A.nascettii*, *A.physeteris*, *A.brevispiculata*, *A.paggiae*.

ECHINOCOCCOSI CISTICA O IDATIDOSI

1. Diagnosi clinica e definizioni di caso

Agente eziologico	<i>Echinococcus granulosus</i> e <i>E.multilocularis</i>
Sospetto clinico	
Criteri clinici	<u>E. granulosus</u> I sintomi dipendono dal numero di cisti, dalla localizzazione e dalle dimensioni raggiunte. Dolore addominale Massa palpabile Ittero, colestasi Sintomi di tipo allergico quali: febbre, prurito, orticaria e eosinofilia, crisi asmatiche, dispnea, edema della glottide fino allo shock anafilattico ➤ La rottura di cisti broncopolmonari provoca emottisi, tosse, dolore toracico Le cisti possono localizzarsi anche a livello di tessuto osseo, SNC, milza e cuore. Inoltre in seguito a rottura i protoscolici possono disseminare e formare altre cisti. <u>E. multilocularis</u> Le cisti tendono a formarsi e a crescere in modo invasivo nel parenchima epatico, determinando lesioni e sintomi tipiche delle masse occupanti spazio.
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	• Contatto con cani infestati dal parassita • Ingestione di alimenti contaminati

Caso probabile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti una correlazione epidemiologica.

2.1 Conferma di laboratorio	
Diagnostica di prima istanza	
Tipo di campione: PAZIENTE (da polmone, ossa e muscoli)	
Modalità di prelievo	//
Modalità di trasporto e conservazione	//
Tipo di esame	• Diagnostica per immagini
Tipo di campione: SIERO	
Modalità di prelievo	➤ Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi ➤ Prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette prive di anticoagulante ➤ Prelievo da effettuare prima dell'inizio della terapia
Modalità di trasporto e conservazione	➤ Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	➤ Emoagglutinazione indiretta, ELISA, Westernblotting
Tipo di campione: CISTI IDATIDEA DA BIOPSIA CHIRURGICA O RILIEVO AUTOPTICO	
Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi durante le procedure videoguidate. • prelevare quantità sufficiente di campione
Modalità di trasporto e conservazione	Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	PCR per <i>Echinococcus granulosus complex</i>
Criteri di laboratorio	Almeno uno dei cinque seguenti criteri: • istopatologia o parassitologia compatibile con <i>Echinococcus multilocularis</i> o <i>granulosus</i> (ad esempio visualizzazione diretta di protoscolici nel fluido cistico) • identificazione di cisti dalla morfologia macroscopica patognomonica di <i>Echinococcus granulosus</i> nei campioni chirurgici

- lesioni tipiche degli organi individuate mediante tecniche diagnostiche per immagini (ad esempio tomografia computerizzata, sonografia, risonanza magnetica) E confermate da un test sierologico
- identificazione di anticorpi sierici specifici verso l'*Echinococcus* spp. mediante test sierologici altamente sensibili E conferma mediante un test sierologico di alta specificità
- identificazione dell'acido nucleico dell'*Echinococcus multilocularis* o *granulosus* in un campione clinico.

Caso confermato: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio

→ Segnalazione da parte del Medico **entro 48 ore**. In tutti i casi di focolaio epidemico la segnalazione deve avvenire **entro 24 ore**.

Echinococcosi cistica o Idatidosi – Note tecniche

Diagnostica per immagini:

La radiologia tradizionale viene utilizzata per il polmone, le ossa e per i muscoli. I muscoli possono essere indagati anche mediante ecografia, comunemente utilizzata per l'addome.

La TAC e la RMN vengono utilizzate solo in casi particolari, per studiare l'esatta localizzazione delle cisti, se necessario, e per lo studio post-chirurgico delle lesioni residue.

Immunodosaggio: IFA, ELISA, Westernblotting

La diagnosi sierologia è utilizzata come supporto alla diagnosi clinica e strumentale. La risposta anticorpale è correlata al grado di evoluzione e ad alla localizzazione della cisti.

Le indagini sierologiche più comunemente utilizzate, l'emoagglutinazione indiretta e il test ELISA, presentano una percentuale elevata di falsi negativi e falsi positivi. La tecnica di Westernblotting che utilizza l'antigene B purificato dal liquido cistico, può essere utilizzato come test di conferma in quanto dotato di maggiore sensibilità e specificità.

Metodiche molecolari:

La procedura si basa sulle seguenti fasi operative:

- estrazione di DNA da varie matrici (feci, organi, muscolo, cisti tissutali);
- amplificazione del DNA target mediant primer specifici;
- valutazione della positività o negatività del campione mediante elettroforesi su gel d'agarosio dei prodotti di PCR;
- sequenziamento dei prodotti di PCR positivi.

TRICHINELLOSI	
1. Diagnosi clinica e definizioni di caso	
Agente eziologico	<i>Trichinella spp.</i>
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Almeno tre dei seguenti sintomi: • Febbre • Mialgia • Diarrea • Edema facciale • Eosinofilia • Emorragie subcongiuntivali, subungueali e retiniche
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Almeno una delle due seguenti correlazioni epidemiologiche: • esposizione ad alimenti contaminati (carne) • esposizione a una fonte comune.
Caso probabile: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti una correlazione epidemiologica → NOTIFICA	

2.1 Conferma di laboratorio	
Diagnostica di prima istanza	
Tipo di campione: SIERO	
Modalità di prelievo	• Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi • Prelevare quantità sufficiente di sangue in apposite provette prive di anticoagulante • Prelievo da effettuare prima dell'inizio della terapia
Modalità di trasporto e conservazione	• Trasportati in laboratorio e processati nel più breve tempo possibile, altrimenti conservare a temperature di refrigerazione
Tipo di esame	• ELISA • Immunofluorescenza • Westernblot
Tipo di campione: BIOPSIA MUSCOLARE (GENERALMENTE DAL MUSCOLO DELTOIDE)	
Modalità di prelievo	Prelievo effettuato nel rispetto delle rigorose norme di asepsi Prelevare almeno 1gr di reperto biotipico
Modalità di trasporto e conservazione	◦ I campioni di tessuto muscolare devono essere inviati refrigerati o in formalina, posti in un contenitore a chiusura ermetica ◦ Il campione deve essere inviato all'LNR corredato del modulo di richiesta di analisi
Tipo di esame	Identificazione larva con: • Osservazione microscopica • Preparati istologici • Digestione artificiale • Metodiche di biologia molecolare
Criteri di laboratorio	Almeno uno dei due seguenti criteri: • dimostrazione dell'esistenza di larve di <i>Trichinella</i> in tessuti ottenuti mediante biopsia muscolare • risposta anticorpale specifica alla <i>Trichinella</i> (test IFA, ELISA o Western blot).
Caso confermato: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio	

Trichinellosi – Note tecniche

Immunodosaggio

Immunofluorescenza, ELISA e immunoblot per mettere in evidenza gli anticorpi specifici che possono essere rilevati da 2 settimane a 2 mesi dall'infezione.

I parametri ematochimici alterati possono essere d'aiuto quali eosinofilia, leucocitosi e alterazione degli enzimi muscolari.

Digestione artificiale e osservazione microscopica:

La ricerca si basa sull'applicazione di un processo di digestione artificiale finalizzato a liberare le larve di *Trichinella* spp, eventualmente presenti, dalle fibre del tessuto muscolare in esame e sulla loro raccolta mediante l'uso di una membrana filtrante.

Biologia molecolare:

La PCR permette l'amplificazione specifica di frammenti acido nucleico, di cui sono note le sequenze iniziali e terminali nucleotidiche, se una specie (o genotipo) ha la sua porzione DNA caratteristico, grazie alla sua composizione e / o dimensione, è possibile scegliere una coppia di oligonucleotidi che permette per la sua amplificazione. L'amplificazione è caratterizzata da una elevata sensibilità e specificità. Nella PCR multiplex vengono utilizzate due o più coppie di oligonucleotidi per l'amplificazione, così in questo caso, è possibile amplificare con una singola analisi PCR più sequenze contemporaneamente. Oggi, 8 specie sorelle sono state identificate nel genere *Trichinella*. Tutte le specie di *Trichinella* e genotipi differiscono tra loro per la composizione e / o la dimensione delle sequenze nucleotidiche di diversi loci; di conseguenza, l'analisi comparativa delle sequenze nucleotidiche appartenenti alla ITS1, ITS2 e ESV, permette l'identificazione univoca della maggior parte dei taxa epidemiologicamente rilevanti che sono: *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi*, *T. pseudospiralis*, *T. murrelli*, *T. nelsoni*, *T. papuae* e *T. zimbabwensis*.

ALLEGATO 1. SCHEDE DI ACCOMPAGNAMENTO

^(*) se si è in possesso di maggiori informazioni, utilizzare la scheda specifica per i casi perinatali



Italia

Sorveglianza degli enterobatteri patogeni:
SCHEDA DI ACCOMPAGNAMENTO CAMPIONE DI ORIGINE UMANA

A. Origine e caratteristiche del campione biologico

1. Laboratorio di origine:		Prov.
2. Prelievo effettuato nel comune di (località):		Prov.
3. Ospedale (se diverso da laboratorio origine):		
4. Codice dello stipite assegnato dal laboratorio di origine:	5. Data prelievo del campione:	

B. Informazioni sugli stipiti

1. Trasmissione ^(a) :	
2. Motivo di esecuzione dell'esame colturale: ☐ Non noto ☐ Infezione acuta ☐ Inchiesta epidemiologica ☐ Controllo (Specificare)	
3. Tipo campione: ☐ Feci ☐ Sangue ☐ Liquor ☐ Urine ☐ Pus ☐ Altro (specificare):.....	
4. Cognome e Nome:	
5. Sesso: ☐ Non noto ☐ Maschio ☐ Femmina	
6. Data di nascita:	7. Età, anni:
8. Comune di residenza del paziente (località): Prov.	
9. Viaggi effettuati nei 30 gg prima dell'insorgenza dei sintomi: ☐ Non noto ☐ No ☐ Sì (spec. dove):.....	
10. Paziente ospedalizzato: ☐ Non noto ☐ No ☐ Sì Se sì indicare nome reparto:	
11. Esito: ☐ Sconosciuto ☐ Deceduto ☐ Dimesso	
12. Alimenti implicati: ☐ Non noto ☐ No ☐ Sì (spec.)	
13. Se alimenti implicati, in base a: ☐ Sospetto ☐ Dati epidemiologici ☐ Isolamento microbiologico ☐ Dati epidemiologici + isolamento microbiologico	

C. Identificazione microbiologica

1. Identificazione: ☐ <i>Salmonella</i> ☐ <i>Shigella</i> ☐ <i>Campylobacter</i> ☐ <i>Yersinia</i> ☐ <i>E. coli</i> VTEC ☐ altri <i>E. coli</i> patogeni ☐ altro (spec.)					
2. Specie:					
3. Sensibilità agli antibiotici per <i>Salmonella/Shigella/Yersinia</i> (segnare il valore di MIC o il diametro in mm per Kirby-Bauer): ^(b)					
Amp	Ctx	Caz	Fox	Amc	Mem
Cip	Pef	Na	Gm	Su	Tmp
C	Te	Tig	Col	Azm	S
4. Sensibilità agli antibiotici per <i>Campylobacter</i> (segnare il valore di MIC o il diametro in mm per Kirby-Bauer):					
CIP	Te	Gm	E		
D. Parte riservata al laboratorio di riferimento (CRREP sezione di Tolentino)					
1. Codice assegnato allo stipite:			2. Data ricevimento:		
3. Tipizzazione finale:			4. Data tipizzazione:		
5. Profilo di MLVA			6. NGS: ☐ Sì ☐ No		
7. Sensibilità agli antibiotici per <i>Salmonella/Shigella/Yersinia</i> (segnare il valore di MIC o il diametro in mm per Kirby-Bauer):					
A	Ctx	Caz	Fox	Amc	Mem
Cip	Pef	Na	Gm	Su	Tmp
C	Te	Tig	Col	Azm	S
8. Sensibilità agli antibiotici per <i>Campylobacter</i> (segnare il valore di MIC o il diametro in mm per Kirby-Bauer):					
CIP	Te	Gm	E		

a) animale-uomo; alimento inclusa acqua potabile; associazione con cure sanitarie; uso di droghe iniettive; esposizione occupazionale (laboratorio); madre-bambino (durante la gravidanza o il parto); trapianto d'organo; persona-persona (fecale-orale escluso madre-bambino e sessuale); acqua ricongiunta; sessuale; trasfusione; sconosciuta; altro.

(b) Amp: ampicilina; Cip: ciprofloxacina; C: cloramfenicol; Cbx: cefotaxima; Pef: pefloxacina; Te: tetraciclina; Caz: ceftazidime; Na: ácido nalidixico; Tig: tigeciclina; Fox: cefoxitina; Gm: gentamicina; Col: colistina; Amc: amoxicilina+ácido clavulánico; Su: sulfisossazol; Azm: azitromicina; Mem: meropenem; Tmp: trimethoprim; S: streptomisina; E: eritromicina

[Versione 1.0]