ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'
04 aprile 2019

"II° convegno MoRoNet
La Rete Nazionale dei Laboratori di Riferimento per il Morbillo e la Rosolia"

MoRoNet: Laboratorio di Riferimento della Regione Veneto

Prof. Giorgio Palù

Dipartimento di Medicina Molecolare
Università degli Studi di Padova
UOC Microbiologia e Virologia
Azienda Ospedaliera di Padova

Dr. Monia Pacenti

UOC Microbiologia e Virologia
Azienda Ospedaliera di Padova

Il laboratorio di riferimento della Regione Veneto nel sistema sanitario

UOC Microbiologia e Virologia
Azienda Ospedaliera di Padova

Certificato ISO 9001:2015,
Accreditato con Ente Nazionale Accredia per ISO 15189:2013

Laboratorio di Riferimento Regionale *all'interno del*
Programma regionale di genofenotipizzazione ed epidemiologia molecolare *(DDR 5/2015)*

Direttore:
Prof. Giorgio Palù, giorgio.palu@unipd.it
Segreteria *Tel. 049-8218830-7915 Fax. 049-8213054*

Contatti:
Laboratorio di Virologia - Tel. 049/8213047
Dr.ssa Monia Pacenti, monia.pacenti@aopd.veneto.it

Laboratorio di Sierologia – Tel. 049/8218833
Dr.ssa Margherita Cattai, margherita.cattai@aopd.veneto.it
Dr.ssa Caterina Boldrin, caterina.boldrin@aopd.veneto.it

Laboratorio di Diagnostica molecolare – Tel. 049/8218152
Prof.ssa Luisa Barzon, luisa.barzon@unipd.it
Dr.ssa Elisa Franchin, elisa.franchin@unipd.it
Dr.ssa Silvana Pagni, silvana.pagni@unipd.it

Computing resourcing: Bioinformatica e Analisi Genomica – Tel. 049/8218152
Dr. Enrico Lavezzo, enrico.lavezzo@unipd.it
Prof. Stefano Toppo, stefano.toppo@unipd.it
Prof. Riccardo Manganelli, riccardo.manganelli@unip.it

LRR del Veneto: attività di sorveglianza per la conferma dei casi sospetti di morbillo e rosolia

REGIONE DEL VENETO
DIREZIONE PREVENZIONE,
SICUREZZA ALIMENTARE, VETERINARIA
Direttore: Dr.ssa Francesca Russo

U.O. Prevenzione e Sanità Pubblica , Sicurezza alimentare e veterinaria
Dr.ssa Giuseppina Napoletano

Prot. 62101 del 13/02/2019

TRASMISSIONE CIRCOLARE MINISTERIALE PROT. N. 33189 DEL 12/11/2018 "AGGIORNAMENTO DEL SISTEMA DI SORVEGLIANZA INTEGRATA DEL MORBILLO E DELLA ROSOLIA, PER RAFFORZAMENTO DEGLI OBIETTIVI DI ELIMINAZIONE"

- **Allegato. 4.1 Istruzioni invio campioni**
- Allegato A Elenco referenti sorveglianza integrata morbillo rosolia
- Circolare minist_33189_12_11_2018.pdf

Allegato 4.1

ISTRUZIONI GENERALI PER L'INVIO DEI CAMPIONI PER LA CONFERMA DI LABORATORIO di CASI SOSPETTI D' INFEZIONE DA MORBILLO E ROSOLIA

UOC Microbiologia e Virologia, Via Nicolò Giustiniani, 2
Azienda Ospedaliera di Padova
Direttore: Prof. Giorgio Palù,
Segreteria: Tel. 049/8218830-7915-7914 Fax: 049/8213054

TIPOLOGIA DI CAMPIONI:

I campioni clinici vanno raccolti tra 4 -10 giorni dalla comparsa dell'esantema.

Per tutti i casi sospetti di infezione, vanno *sempre inviati tutti i seguenti campioni biologici*:

n. 1 provetta di sangue (plasma o siero);

n. 1 provetta di urine (5-10ml) (prime urine eliminate al mattino in quanto contengono la quota maggiore di cellule di sfaldamento delle vie urinarie nelle quali è presente il virus nella fase acuta dell'infezione).

n. 1 tampone oro-faringeo (un qualsiasi tampone per prelievo oro-faringeo ***senza gel***)

CONSERVAZIONE E INVIO DEI CAMPIONI:

Tutti i campioni biologici devono arrivare al LRR accompagnati dalla ***scheda di raccolta dati*** *(Allegato 6)*, compilata in ogni sua parte.

I campioni vanno conservati a **+4 °C**, e consegnati al LRR, quanto prima, in contenitore refrigerato.

La conferma di laboratorio deve essere conclusa entro massimo 4 giorni dal prelievo, pertanto i campioni possono essere conservati a **+4 °C** non oltre 72 ore dal prelievo.

L'invio può essere effettuato secondo i seguenti giorni e orari di apertura del LRR:

Indirizzo: UOC Microbiologia e Virologia, Via Nicolò Giustiniani, 2
Azienda Ospedaliera di Padova, 35128 Padova

Orari: dal lunedì al venerdì, dalle ore 8:00 alle ore 17:30; il sabato dalle ore 8:00 alle ore 13:00

Referenti

Dr.ssa Monia Pacenti **- Tel. 049/8213047** **e-mail:** monia.pacenti@aopd.veneto.it

Flusso di lavoro nell'attività di sorveglianza di morbillo e rosolia come LRR accreditato - Regione Veneto

1

Notifica morbillo pos. il 28.3.2019

ALLEGATO 6

Modello scheda per l'invio dei campioni ad un laboratorio della Rete MoRoNet, per la conferma di laboratorio dei casi di morbillo, rosolia e parotite

REGIONE VENETO ASL 3 COMUNE VENEZIA

DATI ANAGRAFICI DEL PAZIENTE

Cognome e nome ..... Sesso M F

Nato il 06/05/2007 BOLOGNA Provincia BO

Domicilio: Comune VENEZIA SANTA CROCE 804 Provincia VE

Residenza (se diversa da domicilio): Comune ..... Provincia .....

DIAGNOSI CLINICA

Morbillo ☒ Rosolia ☐ Parotite ☐

STATO VACCINALE

Precedente vaccinazione contro morbillo, rosolia, parotite e varicella.

☒ No ☐ Non so, non ricordo

Vaccino MPR

☐ Sì, 1 dose ☐ Sì, 2 dosi ☐ Sì, non ricordo le

Vaccino MPRV

☐ Sì, 1 dose ☐ Sì, 2 dosi ☐ Sì, non ricordo le

☐ Sì solo Morbillo ☐ Sì solo Parotite ☐ Sì solo Rosolia

Data nascita 06/05/2007
CF .....
Richiesta n. 10642291
Data prelievo 26/03/2019
c/o CENTRO DI GENOFENOTIPO
Data ritiro 29/03/2019

Se sì, quando ha effettuato l'ultima dose (gg/mm/aaaa): ___/___/___ (gg/mm/aaaa)

DATI CLINICI

Data di comparsa dell'esantema o della tumefazione parotidea: (gg/mm/aaaa) 24/3/2019

Tipo di prelievo: Sangue ☒ Saliva ☒ Urine ☒ Altro ☐ (Specificare: .....)

Data del prelievo (gg/mm/aaaa) 25/03/2019

Il caso appartiene ad un focolaio? ☒ No ☐ Sì ☐ Non so

Medico referente (a cui inviare i risultati di laboratorio):

Nome FRANCESCA Cognome CAPRETTA

Struttura: SISP AZIENDA ULSS 3 SERENISSIMA

Via SORGBUILO 1454 Comune: VENEZIA Provincia VE

N° di telefono 041-5298148 N.Fax 041 5298237 Email: francesca.capretta@ulss3.veneto.it

2

Diagnosi molecolare

- ✓ Real-time RT-PCR *in house* nel tampone faringeo, saliva, urine
  (Test accreditato con Ente Nazionale Accredia per ISO 15189:2013)
- ✓ Sequenziamento/genotipizzazione secondo criteri WHO dei casi PCR positivi
  (Test accreditato con Ente Nazionale Accredia per ISO 15189:2013)
- ✓ Analisi genomica e filogenetica

✓ Diagnosi Sierologica

- ✓ Ricerca anticorpi anti Morbillo (IgM e IgG)
- ✓ Ricerca anticorpi anti Rosolia (IgM e IgG)

Test di sieroneutralizzazione per la determinazione di anticorpi protettivi anti Morbillo

✓ Isolamento virale in coltura

- ✓ Isolamento virale in coltura da campioni di siero, saliva, urine (su linee cellulari B95a)

3

Notifica morbillo positivo d 28 marzo 2019 8:01

Da: Segreteria Microbiologia e Virologia

A: vittorio selle | sisp@aulss3.veneto.it | francesca capretta

Cc: Margherita Cattai-Microbiologia e Virologia-AOP | Monia Pacenti-Microbiologia e Virologia-AOP | francesca russo | francesca zanella | giorgio palu | luisa barzon

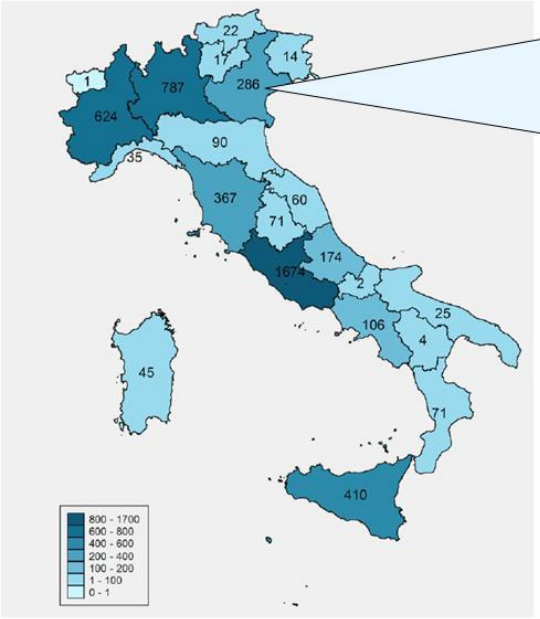
Notifica morbil...ZO GIOVANNI.pdf (359,4 KB) Scarica | Valigetta | Rimuovi

SI SEGNALA CASO DI INFEZIONE DA MORBILLIVIRUS DI PAZIENTE TRANSITATO PER S.I.S.P. DISTRETTO DI VENEZIA
PAZIENTE: R.G. n. 06.05.2007
AULSS3 SERENISSIMA S.I.S.P. DISTRETTO DI VENEZIA
RESPONSABILE S.I.S.P. DR. VITTORIO SELLE

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

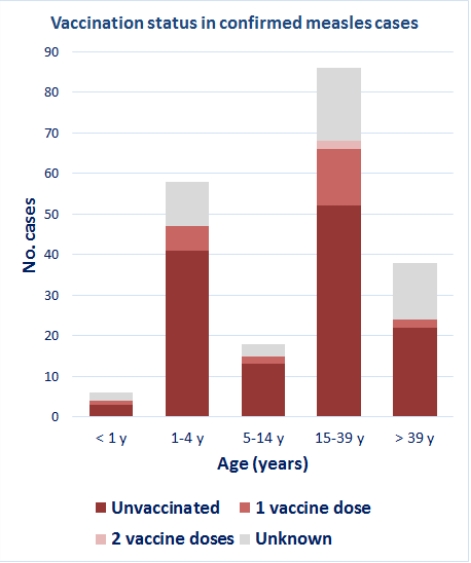
MoRoNet
LIBERI DA MORBILLO E ROSOLIA

Outbreak di morbillo in Italia, 2017



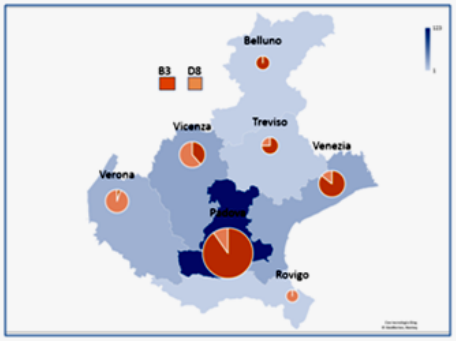
Veneto Region

- **288 cases**, 247 confirmed, 30 probable, 10 possible
- Median age: **25.5 years** (range: 0-69)
- Males 56.7%
- Vaccination status: **81% unvaccinated**, **11% one dose**, **2.7% two doses**, 56.7% unknown
- **34% hospitalized**
- 40 transmission clusters identified

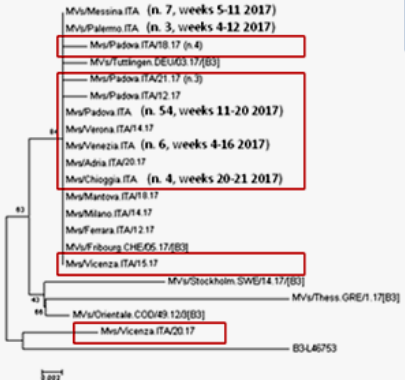


Distribution of measles virus genotypes, Veneto Region, 2017

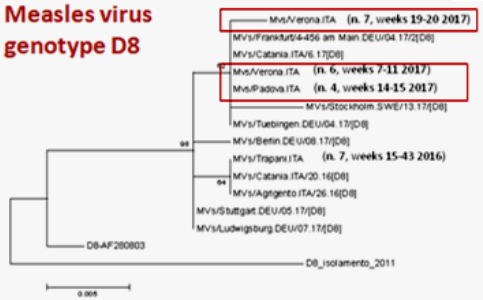
B3 (72%); D8 (28%)



Measles virus genotype B3



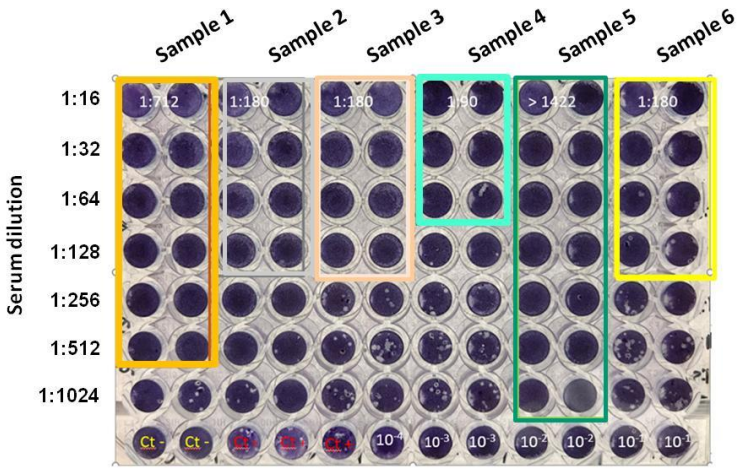
Measles virus genotype D8



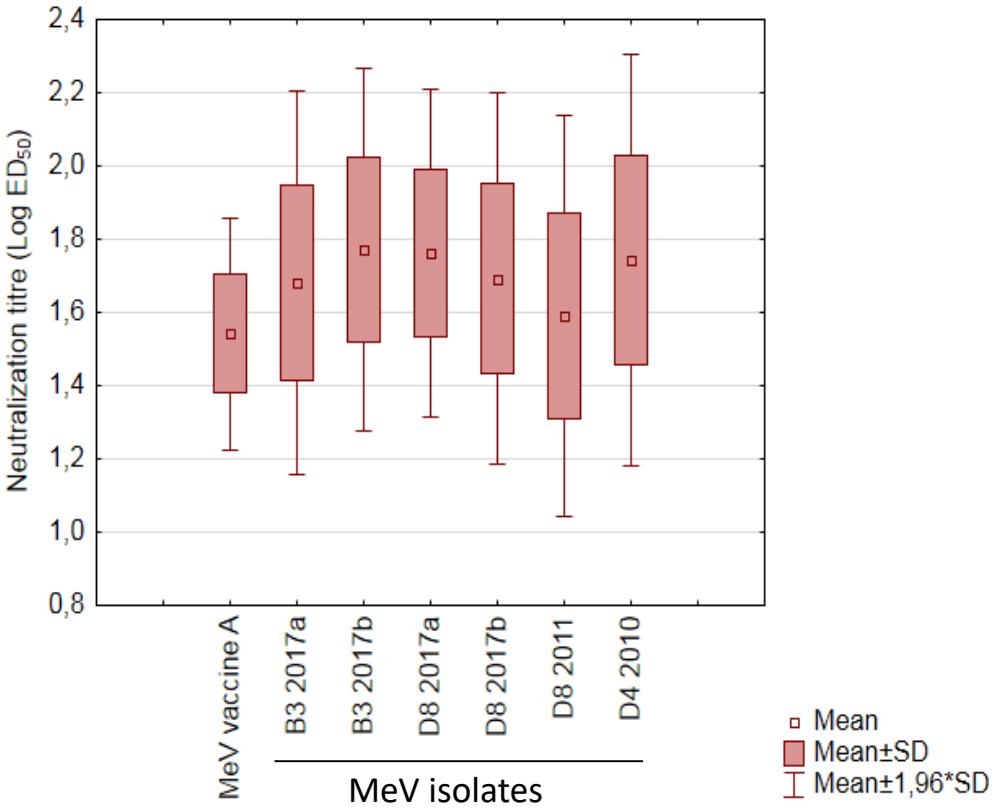
Laboratory test	Time since onset	
	≤ 4 days	5-7 days
Serum MeV IgM +	75 (82%)	36 (92%)
MeV RNA + in pharyngeal swab	110 (99%)	51 (98%)
MeV RNA + in urine	105 (96%)	57 (97%)

MoRoNet
LIBERI DA MORBILLO E ROSOLIA

Anticorpi cross-neutralizzanti verso i ceppi epidemici di MeV in soggetti vaccinati con 2 dosi

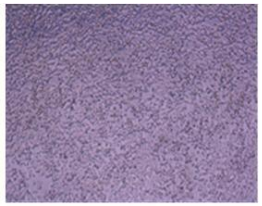


Microneutralization assay with patients' sera against a MeV genotype B3 2017 isolate

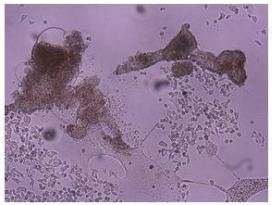


Risultati dei titoli neutralizzanti condotti in cellule B95-A di sieri di soggetti vaccinati con 2 dosi di vaccino anti-morbillo, e con diverso titolo di anticorpi IgG (misurati con test EIA) verso il ceppo vaccinale e i diversi ceppi/genotipi di MeV isolati durante gli outbreaks nella Regione Veneto (genotipi D4 2010, D8 2011, D8 2017, B3 2017)

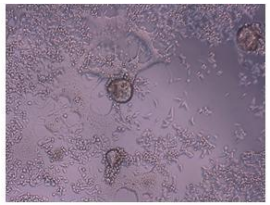
L'immunità conferita da 2 dosi di vaccino anti-morbillo cross-protegge contro le infezioni determinate dai ceppi di MeV dei recenti focolai epidemici.



Uninfected B95A



MeV CPE in B95A



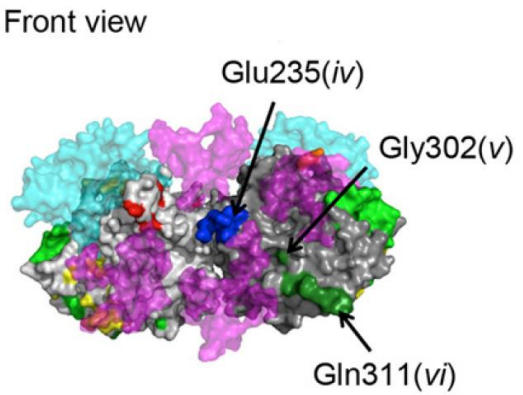
MeV CPE in B95A

MoRoNet
LIBERI DA MORBILLO E ROSOLIA

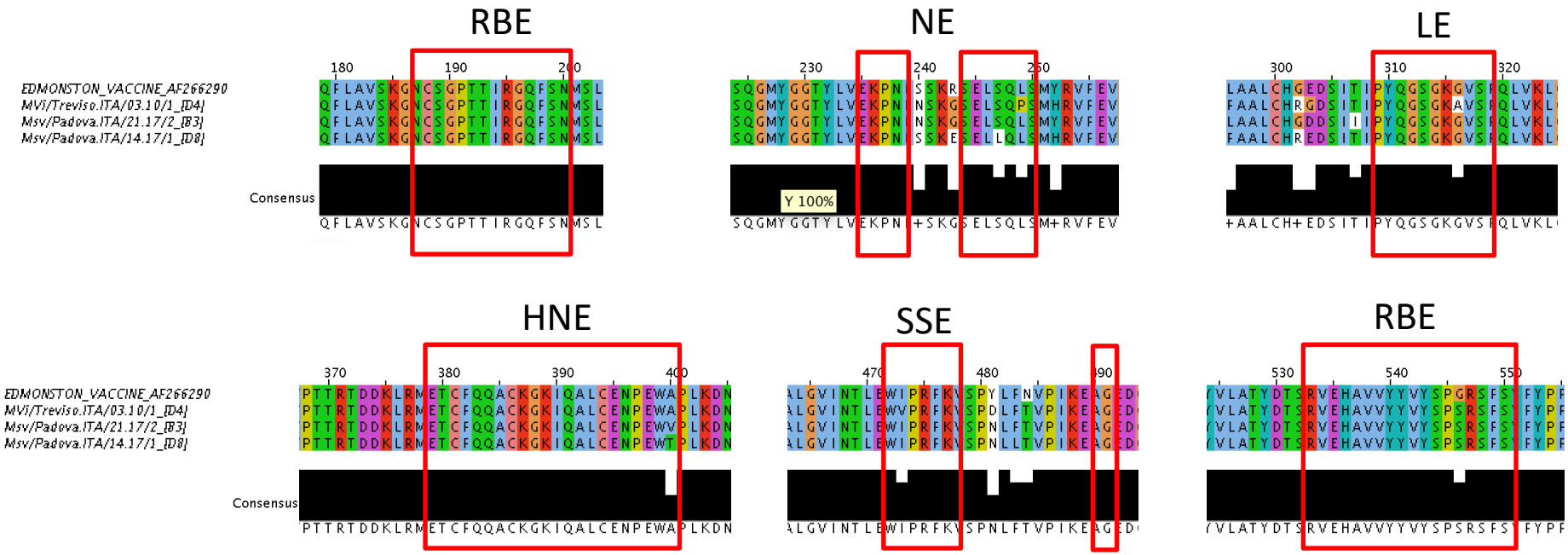
Sequenziamento del gene H

Allineamento delle sequenze aminoacidiche degli epitopi neutralizzanti del gene H dei diversi isolati clinici di Mev.

MeV hemoagglutinin

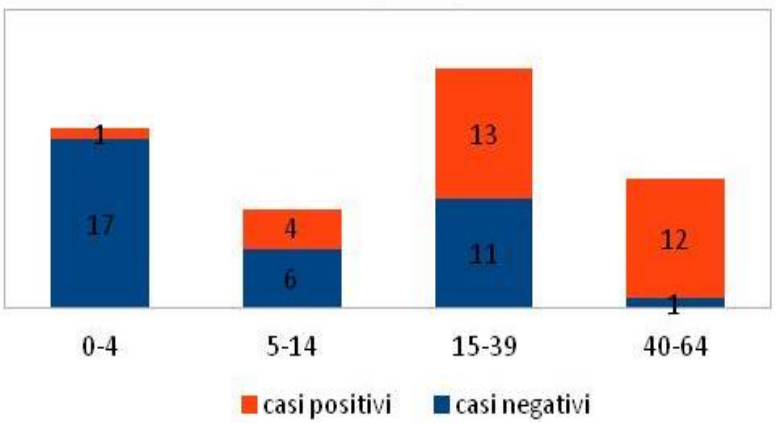


Tahara *et al. J Virol* 2013

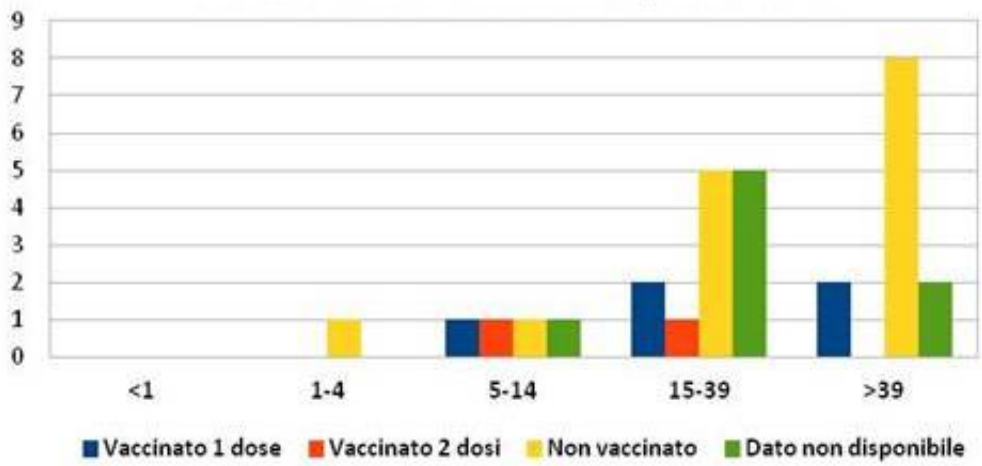


MoRoNet
LIBERI DA MORBILLO E ROSOLIA

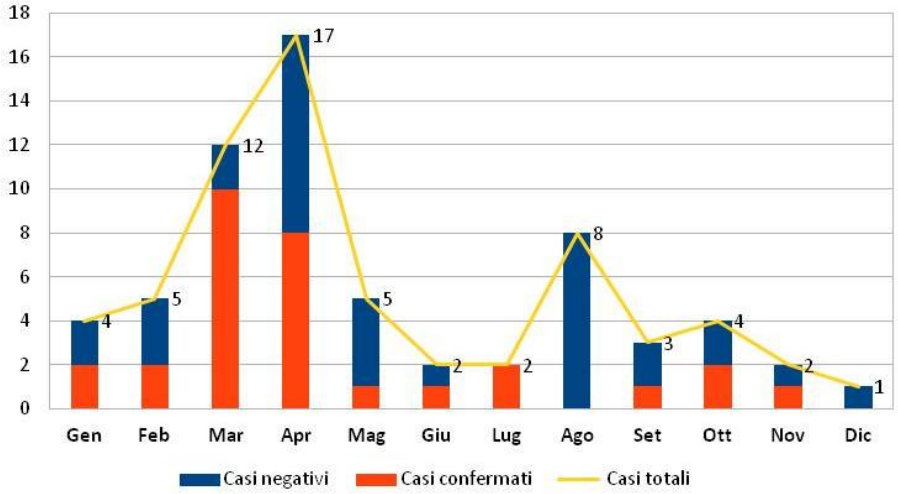
Attività di sorveglianza e indagini diagnostiche dei casi sospetti di morbillo e rosolia in qualità di LRR - anno 2018



Distribuzione casi segnalati/confermati di infezione da Morbillo per classi di età.



Stato vaccinale dei casi confermati presso il LRR, suddivisi per fasce d'età



La distribuzione temporale dei casi segnalati di morbillo

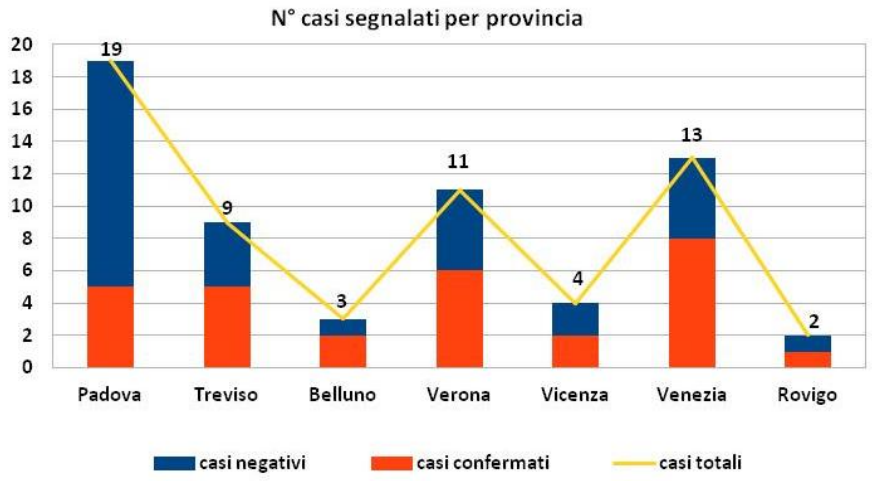
MoRoNet
LIBERI DA MORBILLO E ROSOLIA

Attività di sorveglianza e indagini diagnostiche dei casi sospetti di morbillo e Rosolia in qualità di LRR - anno 2018

Durante l'anno 2018 sono stati inviati al LRR del Veneto i campioni biologici per la diagnosi di laboratorio di ***70 casi sospetti di morbillo.***

I casi positivi con conferma di laboratorio sono 30: 17 riconducibili a focolai e 18 sono casi sporadici.
Circa l'90% dei casi sono stati confermati dal LRR di Padova.

Un totale di circa ***180 diversi campioni biologici*** sono stati processati e analizzati per la conferma dei casi di morbillo.



Indagini sierologiche:

- **50 campioni di siero**

Indagini molecolari:

- **58 campioni di urine**
- **53 tamponi faringei**
- **3 campioni di saliva**
- **9 di plasma**

Campioni biologici dei casi confermati

Tempo dalla comparsa dei sintomi		< 4 giorni	4-7 giorni	8-21 giorni
MeV IgM siero	POS	5 (62,5%)	10 (91%)	3 (100%)
	NEG	3 (37,5%)	1 (9%)	0(0%)
MeV RNA TF* TF*tampone faringeo	POS	7 (100%)	13 (100%)	5 (100%)
	NEG	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
MeV RNA urine	POS	7 (100%)	15 (100%)	5 (100%)
	NEG	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

MoRoNet
LIBERI DA MORBILLO E ROSOLIA

Caratterizzazione genotipica dei ceppi di morbillo circolanti nella Regione Veneto durante l'anno 2018

Figura A

Measles virus genotype B3/2018

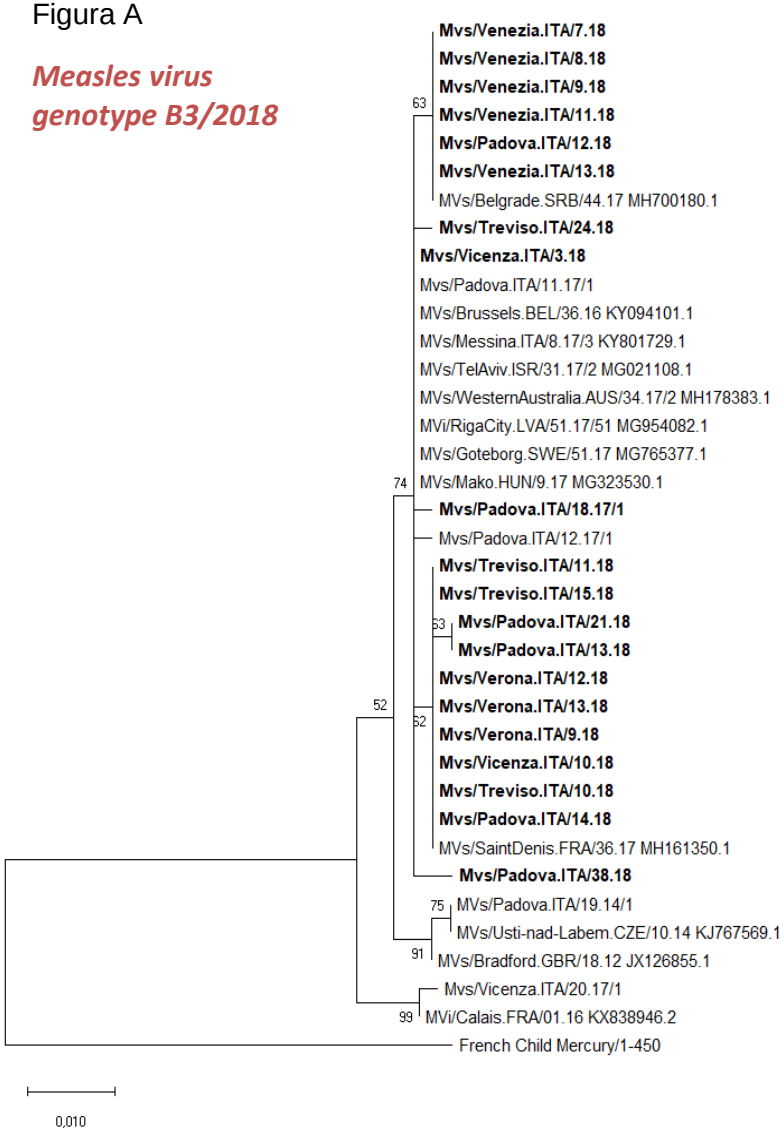
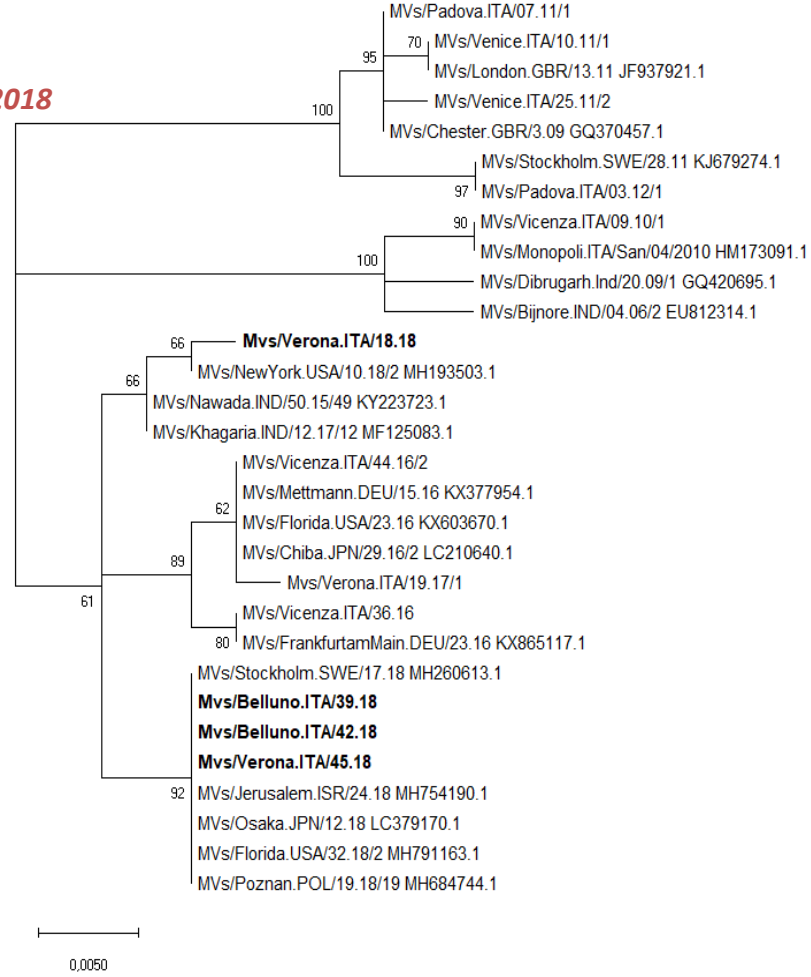


Figura B

Measles virus genotype D8/2018



Albero filogenetico di MeV, ottenuto dalle sequenze 450-N, che evidenzia i casi di MeV genotipo B3 (figura A) di MeV genotipo D8 (figura B) identificati in Veneto durante il 2018 (*in grassetto).*

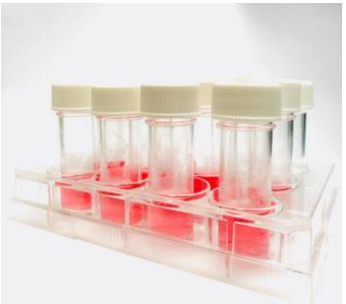
Indagini diagnostiche e attività di sorveglianza in qualità di Laboratorio di Riferimento Regionale_anno 2019

Al 02/04/2019 nella Regione Veneto risultano segnalati: 15 casi sospetti di morbillo: ***10 casi confermati di morbillo***, 3 possibili, 2 classificati come non caso.

2 focolai entrambi notificati dalla ULSS 2 Marca Trevigiana*: 1° con 2 casi e il 2° con 3 casi*

LRR Regione Veneto	2019
Casi testati	**12**
Casi confermati totali	**8**
Genotipizzati	**5**
Confermati solo con sierologia	**0**
Confermati solo con RT-PCR	**4**
Confermati con entrambi i saggi	**4**
Casi isolati in coltura	**1**

Genotipo D8



Il laboratorio nell'ambito della sorveglianza regionale del Veneto: criticità e punti di forza

Criticità:

- ✓ Necessità di individuare all'interno del LRR un gruppo di lavoro formato e dedicato che svolga in "tempo reale" le varie attività nell'ambito della sorveglianza di laboratorio di morbillo e rosolia a livello regionale; che adempia in modo puntuale, funzionale e continuo alle richieste ed esigenze dell'accreditamento MoRoNET;
- ✓ Criticità nella possibilità di centralizzare la diagnosi di laboratorio di casi sospetti di infezioni da virus del morbillo e della rosolia, viste su tutto il territorio, presso Laboratorio di Riferimento Regionale (LRR).
- ✓ Necessità di fare formazione sulle modalità e sull'importanza della conferma di laboratorio presso LRR accreditati della rete MoRoNET: ancora oggi, manca una consolidata conoscenza della rete di sorveglianza con i vari Servizi di Sanità e Igiene Pubblica del Veneto.

ISTITVTO SVPERIORE DI SANITÀ

MoRoNet
LIBERI DA MORBILLO E ROSOLIA

Il laboratorio nell'ambito della sorveglianza regionale del Veneto: criticità e punti di forza

Punti di forza:

- ✓ Riconoscimenti di risorse regionali dedicate, economiche e non. Ad oggi gli esami per la diagnostica molecolare e sierologica sono esenti da fatturazione per i richiedenti se pervengono al LLR Veneto secondo il flusso concordato.
- ✓ Tempi rapidi di risposta (6-48h dal ricevimento del campione).
- ✓ Possibilità di approccio diagnostico intergrato con conferma rapida dei casi e disponibilità di test per diagnosi differenziale.
- ✓ Personale altamente qualificato con ampia esperienza e capacità di set-up rapido di nuovi percorsi e test diagnostici.
- ✓ Costi contenuti grazie all'esecuzione di test *in house* validati ed accreditati secondo percorso di accreditamento Accredia (Certificato ISO 9001:2015 e Accreditati con Ente Nazionale Accredia per ISO 15189:2017)e implementabili in base alle esigenze epidemiologiche.
- ✓ I test per la conferma di laboratorio di casi di infezione da virus del morbillo e della rosolia sono eseguiti con elevata qualità delle prestazioni: regolare partecipazione a VEQ nazionali e internazionali.
- ✓ Membro di Network internazionali di laboratori di riferimento (EVD LabNET)

ISTITVTO SVPERIORE DI SANITÀ

MoRoNet
LIBERI DA MORBILLO E ROSOLIA

Ringraziamenti

Dipartimento di Medicina Molecolare, Università degli Studi di Padova, Padova, Italia

Giorgio Palù, Luisa Barzon, Enrico Lavezzo, Stefano Toppo, Riccardo Manganelli.

U.O.C. di Microbiologia e Virologia, Azienda Ospedaliera di Padova, Padova, Italia

Margherita Cattai, Caterina Boldrin, Elisa Franchin, Silvana Pagni, Federico Dal Bello, Nataskya Maione, Lucia Rossi.

Servizio Promozione e Sviluppo Igiene e Sanità Pubblica, Regione Veneto, Italia

Francesca Russo, Giuseppina Napoletano, Francesca Zanella.

Grazie per l'attenzione

ISTITVTO SVPERIORE DI SANITÀ

MoRoNet
LIBERI DA MORBILLO E ROSOLIA

Attività del laboratorio svolta negli ultimi due anni: Regione Veneto

	2017	2018
Casi testati	450	70
Casi confermati totali	247	30
Genotipizzati	90	26

	2017	2018
Confermati solo con sierologia	99	13
Confermati solo con RT-PCR	162	27
Confermati con entrambi i saggi	80	10

ISTITVTO SVPERIORE DI SANITÀ

MoRoNet
LIBERI DA MORBILLO E ROSOLIA