



Ministero della Salute  
Istituto Superiore di Sanità

*Centro Nazionale Sangue*

Via Giano della Bella, 27  
00162 Roma  
Tel: 06 4990 4953 / 4954  
Fax: 06 4990 4975  
E-mail: cns@iss.it

## **ALGORITMO PER LA CONFERMA DI DONATORI RILEVATI POSITIVI ALLO SCREENING PER IL **WEST NILE VIRUS** MEDIANTE TECNICA NAT**

**strumento aggiuntivo di sorveglianza della popolazione dei donatori di sangue ed emocomponenti  
nelle provincie di Rovigo, Venezia, Vicenza, Ferrara, Modena, Bologna e Mantova - Anno 2011**

*Documento elaborato da:*

*Dott. Giulio Pisani, Reparto Prodotti Biologici, CRIVIB, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

*Prof. Vittorio Sambri, Unità di Microbiologia Clinica, Laboratorio CRREM, Università di Bologna, Bologna*

*Dott. Claudio Velati, Presidente Nazionale Società Italiana di Medicina Trasfusionale e Immunoematologia (SIMTI)*

*Dott.ssa Simonetta Pupella, Centro Nazionale Sangue, Roma*

*Per informazioni e/o chiarimenti: Dott. Giulio Pisani [giulio.pisani@iss.it](mailto:giulio.pisani@iss.it) Tel. 06-49902306*

## Premessa

In relazione alle indicazioni fornite dal CNS per la sorveglianza e prevenzione della trasmissione del West Nile Virus (WNV) mediante la trasfusione di emocomponenti labili nella stagione estiva-autunnale 2011 e alla necessità di armonizzare le procedure di laboratorio finalizzate alla conferma dei donatori rilevati positivi allo screening mediante test NAT, si suggerisce l'applicazione del seguente algoritmo diagnostico, che propone percorsi differenziati in rapporto alla tipologia di test di screening adottata presso i Servizi Trasfusionali/Laboratori di riferimento identificati dalle regioni Veneto, Lombardia ed Emilia-Romagna per lo svolgimento di tale attività.

### Metodo TaqMan (Roche) in Minipool da 6

- Caso a) Test NAT **NON REATTIVO** su Minipool → le unità vengono rilasciate
- Caso b) Test NAT **REATTIVO** su Minipool → le unità **NON** vengono rilasciate ma sottoposte ad una ripetizione del test da eseguire possibilmente entro le 24 ore dalla donazione su campioni di backup conservati a +4°C.

**Ripetizione del test:** eseguito con lo stesso metodo NAT su ciascun campione di backup costituente il minipool. Il test viene eseguito in singolo per esigenze strumentali.

#### Risultato

- uno o più campioni analizzati risultano **REATTIVI** → la/le unità corrispondenti al/ai campione/i reattivi **NON** vengono rilasciate. Le rimanenti unità risultate **NON REATTIVE** vengono rilasciate.
- tutti i campioni analizzati risultano **NON REATTIVI** → le unità **NON** vengono rilasciate ma sottoposte ad un approfondimento virologico presso un laboratorio di riferimento

### Metodo TaqMan (Roche) in singolo (applicabile in caso di area affetta)

- Caso a) Test NAT **NON REATTIVO** → l'unità viene rilasciata
- Caso b) Test NAT **REATTIVO** → l'unità **NON** viene rilasciata ma sottoposta ad una ripetizione del test da eseguire possibilmente entro le 24 ore dalla donazione sul campione di backup conservato a +4°C.

**Ripetizione del test:** eseguito con lo stesso metodo NAT sul campione di backup. Il test viene eseguito in singolo per esigenze strumentali. Indipendentemente dal risultato l'unità **NON** verrà rilasciata ma sottoposta ad un approfondimento virologico

### Risultato

- il campione analizzato in singolo risulta **REATTIVO** → l'unità corrispondente al campione reattivo **NON** viene rilasciata ma sottoposta ad un approfondimento virologico
- il campione analizzato in duplicato risulta **NON REATTIVO** → l'unità corrispondente al campione non reattivo viene considerata **DUBBIA** e quindi **NON** viene rilasciata ma sottoposta ad un approfondimento virologico

È comunque consigliabile confermare il campione risultato Reattivo WNV RNA processando lo stesso campione con un test NAT alternativo, possibilmente in duplicato, o presso un laboratorio di riferimento o altro Laboratorio/ServizioTrasfusionale che dispone della metodica indicata.

### Metodo TMA (Novartis) in singolo

Caso a) Test NAT **NON REATTIVO** → l'unità viene rilasciata

Caso b) Test NAT **REATTIVO** → l'unità NON viene rilasciata ma sottoposta ad una ripetizione del test da eseguire possibilmente entro le 24 ore dalla donazione su campione di backup conservato a +4°C .

**Ripetizione del test:** eseguito con lo stesso metodo NAT sul campione di backup. Il test viene eseguito in duplicato. Indipendentemente dal risultato l'unità NON verrà rilasciata ma sottoposta ad un approfondimento virologico

### Risultato

- il campione analizzato risulta **REATTIVO** → l'unità corrispondente al campione reattivo **NON** viene rilasciata e sottoposta ad un approfondimento virologico
- il campione analizzato in duplicato risulta **NON REATTIVO** → l'unità corrispondente al campione non reattivo viene considerata **dubbia** e quindi **NON** viene rilasciata ma sottoposta ad un approfondimento virologico

### Metodo TMA (Novartis) in pool (situazione non applicata al momento in Italia)

Caso a) Test NAT **NON REATTIVO** su Minipool → le unità vengono rilasciate

Caso b) Test NAT **REATTIVO** su Minipool → le unità NON vengono rilasciate ma sottoposte ad una ripetizione del test da eseguire possibilmente entro le 24 ore dalla donazione su campioni di backup conservati a +4°C

**Ripetizione del test:** eseguita con lo stesso metodo NAT su ciascun campione di backup costituente il minipool. Test eseguito su ogni campione in duplicato.

### Risultato

- uno o più campioni analizzati risultano **REATTIVI** → la/le unità corrispondenti al/ai campione/i reattivi **NON** vengono rilasciate. Le rimanenti unità risultate **NON REATTIVE** vengono rilasciate.
- tutti i campioni analizzati in duplicato risultano **NON REATTIVI** → le unità vengono rilasciate

## Approfondimento Diagnostico

I campioni risultati inizialmente o ripetutamente reattivi al test NAT, vanno sottoposti ad ulteriori indagini che verranno eseguite presso un Laboratorio di Riferimento.

### Conferma virologica

- Inviare la sacca di plasma congelata al Laboratorio di Riferimento per un approfondimento virologico.
- Il Laboratorio di Riferimento provvederà a scongelare ed aliquotare il contenuto della sacca in tubi tipo *falcon* da 50 mL e congelare nuovamente le aliquote ad una temperatura  $\leq -70^{\circ}\text{C}$ .
- Il laboratorio di Riferimento procederà ad effettuare l'isolamento virale: inoculo 100  $\mu\text{L}$ /pozzetto in piastre a 24 *contenenti* cellule Vero. Lettura della piastra per 15 gg per presenza/assenza di effetto citopatico.

### Conferma sierologica (follow up del donatore)

ELISA e/o IFA

1° prelievo: a 7gg      IgG+/IgM → eseguire test di avidità

2° prelievo: a 21gg

3° prelievo: a 40gg

4° prelievo a 6 mesi

Le positività riscontrate in sierologia devono essere confermate con un test di neutralizzazione (PRNT) su isolati WNVBO/09 ed USUVBO709 + Ab monoclonale anti-WNV/anti-USUV virus. Anche il Test di neutralizzazione dovrebbe essere armonizzato tra i Laboratori di Riferimento