

**PROTOCOLLO PER LA SORVEGLIANZA NAZIONALE DELLE
MALATTIE INVASIVE DA MENINGOCOCCO, PNEUMOCOCCO
ED EMOFILO E DELLE MENINGITI BATTERICHE IN ITALIA**

6 OTTOBRE 2017

SOMMARIO

PROTOCOLLO DELLA SORVEGLIANZA MALATTIE BATTERICHE INVASIVE: IN EVIDENZA	3
OBIETTIVI DELLA SORVEGLIANZA	8
CONFERMA DI LABORATORIO.....	9
EVENTI SOTTO SORVEGLIANZA E LORO DEFINIZIONE DI CASO	10
MALATTIA INVASIVA DA NEISSERIA MENINGITIDIS	10
MALATTIA INVASIVA DA STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE.....	10
MALATTIA INVASIVA DA HAEMOPHILUS INFLUENZAE	11
MENINGITI DA ALTRO AGENTE BATTERICO	11
POPOLAZIONE IN STUDIO, FLUSSO DI DATI.....	12
DISSEMINAZIONE DEI RISULTATI	13
PUNTI DI CONTATTO E SITI WEB DI RIFERIMENTO	14
REFERENZE	15
ALLEGATO - INDICAZIONI TECNICHE PER LA PREPARAZIONE ED INVIO DEGLI ISOLATI E CAMPIONI CLINICI AL LABORATORIO DI RIFERIMENTO DELL'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ	16

PROTOCOLLO DELLA SORVEGLIANZA MALATTIE BATTERICHE INVASIVE: IN EVIDENZA

- Aggiornamento del 02 agosto 2017. Questo aggiornamento fa seguito alla pubblicazione della Circolare del Ministero della Salute del 9 maggio 2017 “Prevenzione e controllo delle malattie batteriche invasive prevenibili mediante vaccinazione” (<http://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2017&codLeg=59229&parte=1%20&serie=null>).
- Aggiornamento del 11 aprile 2016. Aggiornamento minore. Resa uguale nella scheda cartacea la dizione per registrare l’esito della malattia al momento della segnalazione e nel follow up a 14 giorni.
- Aggiornamento del 4 aprile 2016. Inserite nelle schede di segnalazione informazioni per una migliore descrizione dei casi quali presenza di sequele, fattori predisponenti e comunità frequentate. Aggiunto fra i criteri di laboratorio il rilevamento dell’agente eziologico nel liquor torbido di pazienti con sintomatologia meningea.
- Aggiornamento 24 luglio 2015: aggiornati gli indirizzi di email PEC a pagina 5 dell’allegato.
- Aggiornamento 17 febbraio 2015: le diverse schede di segnalazione (clinica, informazioni a carico della ASL, informazioni di laboratorio) contenute in 3 allegati separati, sono state fuse in una unica scheda contenente le stesse informazioni.
- Aggiornamento del 19 settembre 2014
 - Gli eventi sotto sorveglianza sono rimasti gli stessi (le malattie invasive da meningococco, pneumococco, emofilo e tutte le meningiti batteriche) ma le definizioni di caso per pneumococco, meningococco ed emofilo sono state adeguate a quelle Europee del 2012.
 - La scheda cartacea di segnalazione è stata modificata e dovrà essere utilizzata per la segnalazione da parte del clinico/direzione sanitaria alla ASL. La ASL invece invierà la notifica attraverso la piattaforma web MaBI già predisposta.
 - Verrà, inoltre, valutata la possibilità di acquisire le segnalazioni attraverso esportazione dei dati dalle regioni con sistemi informatizzati regionali per la notifica di malattie infettive.
 - Nell’ambito del Sistema di Sorveglianza si intende potenziare le capacità diagnostiche dei laboratori di microbiologia, condividendo le procedure da adottare, e identificando e supportando i centri di riferimento nel territorio con materiali e protocolli standardizzati. Inoltre, il coordinamento dell’attività di sorveglianza presso il Dipartimento Malattie Infettive ISS si rende disponibile a effettuare le tipizzazioni e fornire il risultato diagnostico ai laboratori che lo richiederanno.
 - Le procedure per l’invio degli isolati e/o campioni ai laboratori di riferimento dell’ISS sono state aggiornate. Inoltre, si rende disponibile un corriere prepagato per il ritiro, presso i laboratori collaboranti alla sorveglianza, dei ceppi di meningococco, *H. influenzae* e pneumococco.

Le malattie batteriche invasive (meningiti, batteriemie, polmoniti batteriemiche e altri quadri clinici con isolamento di batteri da siti normalmente sterili) rappresentano un'importante causa di malattia e sono caratterizzate da un'elevata frequenza di gravi complicanze (1). Dal punto di vista clinico, queste malattie presentano una sintomatologia scarsamente specifica per singolo agente eziologico. L'accertamento della loro eziologia è quindi di estrema importanza, non solo ai fini terapeutici, ma anche per aspetti relativi alla prevenzione (eventuale profilassi dei contatti, strategie vaccinali).

La sorveglianza delle malattie batteriche invasive da *Neisseria meningitidis* (meningococco), *Streptococcus pneumoniae* (pneumococco) e *Haemophilus influenzae* (emofilo) è stata attivata nel 2007, estendendo il monitoraggio delle meningiti alle altre patologie invasive. Il sistema prevede la raccolta dei dati relativi ai casi di malattia, l'identificazione e la caratterizzazione dell'agente eziologico mediante metodiche microbiologiche o molecolari.

La sorveglianza delle infezioni causate da questi patogeni e la loro distribuzione per sierotipi/sierogruppi è essenziale per guidare interventi di sanità pubblica, valutare l'andamento epidemiologico, controllare eventuali casi secondari, stimare la quota di casi prevenibili, identificare eventuali fallimenti vaccinali e valutare l'impatto delle strategie vaccinali. Come è noto, sono ad oggi disponibili vaccini per la prevenzione delle infezioni da emofilo di tipo b (Hib), da meningococco di sierogruppo A, B, C, Y, W e da pneumococco (da 10, 13 o 23 sierotipi a seconda delle diverse composizioni vaccinali). La caratterizzazione microbiologica prevede anche la valutazione della sensibilità agli antibiotici. Tale valutazione è importante per rilevare la circolazione di ceppi resistenti agli antibiotici utilizzati in terapia e in chemiopprofilassi. Infine, la tipizzazione molecolare dei ceppi consente di evidenziare cloni emergenti e particolarmente virulenti e di ricostruire la catena di trasmissione in caso di focolai epidemici ("outbreak") (2).

L'importanza di monitorare i casi di malattia batterica invasiva dopo l'avvio di programmi estesi di vaccinazione è stata inizialmente dimostrata nell'ambito della sorveglianza delle malattie invasive da emofilo (3,4). Infatti, sebbene l'incidenza delle malattie invasive causate da Hib sia drasticamente diminuita a seguito dell'introduzione della vaccinazione anti-Hib nel 1995, negli ultimi anni si è osservato un aumento delle malattie invasive da emofilo causate principalmente da ceppi diversi dal b e, in particolare, da ceppi non capsulati (anche noti come non tipizzabili) che non sono

prevenibili con la vaccinazione. In modo analogo, la sorveglianza delle malattie invasive da pneumococco ha evidenziato, in parallelo all'uso della vaccinazione anti-pneumococcica con il primo vaccino glicoconiugato con formulazione 7-valente, un incremento del numero di casi di infezioni invasive dovute a sierotipi non contenuti nel vaccino, fenomeno definito di "replacement" o rimpiazzo vaccinale (5,6). Per quanto concerne il meningococco, dopo l'introduzione della vaccinazione anti-meningococco C nei bambini a partire dal 2005, si è osservata una significativa diminuzione dell'incidenza in quella fascia di età e un aumento di casi nei giovani adulti. Il focolaio epidemico in Toscana del 2015-2016, ad esempio, ha coinvolto raramente bambini al di sotto dei 5 anni di età.

Nel contesto europeo, l'Italia si colloca come paese a bassa incidenza di malattia invasiva da meningococco, pneumococco ed emofilo (7). Dati aggiornati sull'epidemiologia delle Malattie Batteriche Invasive da *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* sono pubblicati periodicamente sul sito dell'ISS (8).

Si osservano importanti differenze di incidenza tra le Regioni, verosimilmente attribuibili a fenomeni di sotto-notifica e di sotto-diagnosi in alcune aree del Paese. Per questo nel riportare i risultati della sorveglianza, nell'anno 2008 a confronto con l'anno 2016 (Tabella 1) sono calcolate sia le incidenze sulla base di tutte le segnalazioni pervenute al sistema di sorveglianza (sulla popolazione generale), sia le incidenze calcolate in una selezione di Regioni/PP.AA che hanno riportato incidenze più elevate per i tre patogeni. Le incidenze più elevate descritte nelle Regioni prese in considerazione sono probabilmente da attribuirsi alla presenza di sistemi di sorveglianza e diagnosi più efficienti e/o ad una maggiore attitudine alla notifica (Tabella 1).

Confrontando le incidenze calcolate nell'anno 2008 a confronto con l'anno 2016 nella fascia di età 0-4 anni, è apprezzabile una riduzione delle malattie batteriche invasive da pneumococco e da meningococco B. Il calo dell'incidenza delle infezioni da meningococco C nel bambino, dovuto all'aumento delle coperture vaccinali nel Paese, non è chiaramente visibile sui dati nazionali a causa dell'aumento dei casi da meningococco C registrato in Toscana nel biennio 2015-2016. L'impatto della vaccinazione è, invece, visibile nei dati relativi al gruppo di Regioni selezionate (Tabella 1).

Si è verificato un aumento delle segnalazioni di malattia invasiva da pneumococco nel biennio 2015-2016. Questo aumento nel numero di casi ha interessato principalmente adulti di età superiore ai 64 anni, con una proporzione di casi con un quadro clinico di batteriemia/sepsi

rispetto a meningite simile agli anni precedenti. Presumibilmente tale aumento è stato determinato da un miglioramento della diagnosi eziologica e dall'uso di tecnologie diagnostiche più sensibili.

Particolarmente bassa è l'incidenza di malattia invasiva da emofilo, come conseguenza del programma d'immunizzazione dei nuovi nati con vaccino coniugato contro il tipo b attivo in Italia dal 1995, tuttavia, negli ultimi anni, si è osservato un deciso trend di aumento delle segnalazioni che interessa tutte le fasce di età.

Tabella 1: Numero di casi e incidenza per 100.000 abitanti di malattie batteriche invasive per fascia di età in Italia e in una selezione di Regioni/PP.AA. italiane [Emilia Romagna, Friuli Venezia Giulia, Lombardia, P.A. Bolzano, P.A. Trento, Piemonte, Veneto], Fonte ISS- Piattaforma informatizzata delle Malattie Batteriche Invasive (MaBI) <http://www.iss.it/mabi/> , 2008 e 2016.

	Italia 2008	Italia 2016	Regioni/PP.AA selezionate 2008	Regioni/PP.AA selezionate 2016
Meningococco (tutti i sierogruppi)				
0-4 anni	46 (1,64 x 100.000)	47 (1,83 x 100.000)	28 (2,34 x 100.000)	19 (1,70 x 100.000)
Popolazione generale	180 (0,30 x 100.000)	232 (0,38 x 100.000)	111 (0,44 x 100.000)	96 (0,37 x 100.000)
Meningococco C				
0-4 anni	9 (0,32 x 100.000)	8 (0,31 x 100.000)	5 (0,42 x 100.000)	3 (0,25 x 100.000)
Popolazione generale	55 (0,09 x 100.000)	80 (0,13 x 100.000)	38 (0,15 x 100.000)	28 (0,11 x 100.000)
Meningococco B				
0-4 anni	27 (0,96 x 100.000)	20 (0,78 x 100.000)	20 (1,67 x 100.000)	12 (1,07 x 100.000)
Popolazione generale	79 (0,13 x 100.000)	67 (0,11 x 100.000)	51 (0,20 x 100.000)	38 (0,15 x 100.000)
Pneumococco (tutti i sierotipi)				
0-4 anni	102 (3,60 x 100.000)	70 (2,70 x 100.000)	89 (7,40 x 100.000)	54 (4,80 x 100.000)
Popolazione generale	693 (1,16 x 100.000)	1462 (2,41 x 100.000)	576 (2,27 x 100.000)	1193 (4,58 x 100.000)
Emofilo (tutti i sierotipi)				
0-4 anni	6 (0,21 x 100.000)	25 (0,97 x 100.000)	5 (0,42 x 100.000)	22 (1,96 x 100.000)
Popolazione generale	49 (0,08 x 100.000)	140 (0,23 x 100.000)	44 (0,17 x 100.000)	106 (0,41 x 100.000)
Emofilo B				
0-4 anni	2 (0,07 x 100.000)	5 (0,19 x 100.000)	1 (0,08 X 100.000)	5 (0,43 X 100.000)
Popolazione generale	6 (0,02 x100.000)	12 (0,09 x100.000)	3 (0,02 x100.000)	10 (0,07 x100.000)

OBIETTIVI DELLA SORVEGLIANZA

Il presente Protocollo aggiorna le attività di sorveglianza previste per la prevenzione ed il controllo delle meningiti (lettere circolari del Ministero della Salute n.400.2/15/5709 del 29 dicembre 1993 e n.400.2/15/3290 del 27 luglio 1994) e delle malattie batteriche invasive causate da meningococco, pneumococco ed emofilo (protocollo scientifico del 2007) in base alle nuove indicazioni fornite dal Ministero della Salute con la Circolare del 9 maggio 2017 “Prevenzione e controllo delle malattie batteriche invasive prevenibili mediante vaccinazione”.

Gli obiettivi del sistema di sorveglianza delle malattie batteriche invasive da meningococco, pneumococco ed emofilo e delle meningiti batteriche sono:

1. monitorare l'andamento temporale e geografico dei casi;
2. descrivere la frequenza dei casi per agente patogeno, regione e fascia di età;
3. descrivere la distribuzione dei sierogruppi/sierotipi circolanti;
4. stimare la quota di queste infezioni invasive prevenibili da vaccino;
5. valutare i casi di fallimento vaccinale.

Il sistema di sorveglianza rappresenta anche un'opportunità per potenziare le capacità diagnostiche dei laboratori di microbiologia e armonizzare le procedure da adottare, supportando i centri di riferimento Regionali, ove presenti, con materiali e protocolli standardizzati.

Indicazioni specifiche sui criteri per la diagnosi di laboratorio per patogeno sono riportate nella Circolare del Ministero della Salute del 9 maggio 2017 [9].

Con questo protocollo si intende migliorare la sorveglianza delle malattie batteriche invasive prevenibili con vaccinazione e delle meningiti batteriche su tutto il territorio nazionale. In alcune Regioni, infatti, sono state rilevate discordanze tra i casi notificati e quelli registrati attraverso altre fonti dati (per esempio SDO) (Dati non riportati).

CONFERMA DI LABORATORIO

La conferma di laboratorio, in considerazione della definizione di caso per ciascun patogeno, insieme alla caratterizzazione microbiologica dei patogeni sotto sorveglianza, è necessaria al fine di ottenere dati affidabili e confrontabili tra le Regioni italiane e un'armonizzazione dei dati di sorveglianza tra i diversi Stati Membri Europei.

Al fine di ridurre la sotto-diagnosi, è importante eseguire più di un metodo diagnostico, includendo anche metodi molecolari o altri test rapidi da applicare direttamente sui campioni clinici, per una corretta diagnosi eziologica. E', tuttavia, sempre raccomandato eseguire anche la coltura da sangue, liquor o altro sito sterile per la determinazione del sierogruppo/sierotipo, la valutazione della sensibilità agli antibiotici e la tipizzazione molecolare. Inoltre, avere a disposizione i ceppi ottenuti dalla coltura è un vantaggio da molti punti di vista, primo tra tutti la possibilità di moltiplicare il ceppo per caratterizzazioni e studi successivi. La possibilità di ottenere una conferma di laboratorio colturale aumenta prelevando gli opportuni campioni clinici non appena possibile, prima della somministrazione degli antibiotici.

Presso l'ISS, Dipartimento Malattie Infettive, vi è il Coordinamento Nazionale delle attività di sorveglianza delle malattie batteriche invasive da *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* e *H. influenzae* e delle meningiti batteriche. In tale sede sono collocati i Laboratori di Riferimento Nazionali per il supporto alla diagnosi e alle caratterizzazioni più avanzate per meningococco, pneumococco ed emofilo e la raccolta nazionale dei dati clinici e microbiologici.

Come raccomandato anche dalla Circolare del 9 maggio 2017, a livello Regionale sarebbe auspicabile l'individuazione di almeno un laboratorio di riferimento, dove sia possibile effettuare la diagnosi eziologica del caso o una sua conferma, ed eventualmente successive caratterizzazioni (es. determinazione del sierogruppo o sierotipo).

In mancanza di un laboratorio di riferimento Regionale, l'ISS può supportare i laboratori periferici che ne facciano richiesta nella diagnosi del caso di malattia batterica invasiva. Inoltre, l'ISS si rende disponibile ad effettuare le tipizzazioni dei ceppi isolati. Il laboratorio nazionale di riferimento dell'ISS invierà la risposta relativa all'informazione diagnostica e/o di tipizzazione del sierotipo/sierogruppo al referente che ha inviato il campione sia tramite le vie brevi, ove necessario, sia tramite posta certificata.

In allegato a questo protocollo sono riportate le indicazioni tecniche per la preparazione e l'invio dei ceppi di meningococco, pneumococco ed emofilo, nonché dei campioni biologici, al laboratorio di riferimento nazionale dell'ISS.

EVENTI SOTTO SORVEGLIANZA E LORO DEFINIZIONE DI CASO

Sono sotto sorveglianza i casi con conferma microbiologica di malattia invasiva da *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* e *H. influenzae* che rispondono alle definizioni di caso adottate dalla Commissione Europea (10), riportate di seguito, e tutte le meningiti da altro agente batterico. Gli eventuali sospetti clinici, che non rispondano alla definizione di caso confermato, non dovranno pertanto essere inseriti nella banca dati della sorveglianza delle malattie batteriche invasive prevenibili con vaccinazione e delle meningiti batteriche.

MALATTIA INVASIVA DA *NEISSERIA MENINGITIDIS*

Definizione del Caso: qualsiasi caso confermato con uno dei sottoelencati criteri di laboratorio

Criteri di Laboratorio

Almeno uno dei seguenti:

- Isolamento di *N. meningitidis* da un sito normalmente sterile o da lesioni cutanee purpuriche
- Rilevamento della presenza di acido nucleico di *N. meningitidis* in un sito normalmente sterile o in lesioni cutanee purpuriche
- Rilevamento di antigeni di *N. meningitidis* nel liquido cerebrospinale
- Rilevamento di diplococchi Gram-negativi nel liquido cerebrospinale mediante microscopia

MALATTIA INVASIVA DA *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

Definizione del Caso: qualsiasi caso confermato con uno dei sottoelencati criteri di laboratorio

Criteri di laboratorio

Almeno uno dei seguenti:

- Isolamento di *S. pneumoniae* da un sito normalmente sterile

- Rilevamento della presenza di acido nucleico di *Streptococcus pneumoniae* in un sito normalmente sterile
- Rilevamento di antigeni di *S. pneumoniae* in un sito normalmente sterile (ad eccezione del sangue)¹

MALATTIA INVASIVA DA *HAEMOPHILUS INFLUENZAE*

Definizione del Caso: qualsiasi caso confermato con uno dei sottoelencati criteri di laboratorio

Criteri di Laboratorio

Almeno uno dei seguenti:

- Isolamento di *H. influenzae* da un sito normalmente sterile
- Rilevamento della presenza di acido nucleico di *H. influenzae* in un sito normalmente sterile

MENINGITI DA ALTRO AGENTE BATTERICO

Definizione del Caso: qualsiasi caso confermato con uno dei sottoelencati criteri di laboratorio

Criteri di Laboratorio:

Almeno uno dei seguenti:

- Isolamento di un agente batterico da liquor
- Rilevamento della presenza di acido nucleico di un agente batterico nel liquor

¹ La rilevazione dell'antigene urinario non rappresenta un criterio per la definizione di malattia invasiva da *Streptococcus pneumoniae*. Infatti questo metodo, che viene utilizzato soprattutto per la diagnosi di polmonite pneumococcica, non discrimina tra polmonite batteriemia, che fa parte delle malattie invasive da pneumococco, e polmonite non batteriemia, che non è considerata una malattia invasiva.

POPOLAZIONE IN STUDIO, FLUSSO DI DATI

Sono inclusi nella sorveglianza tutti i casi diagnosticati in Italia, in persone presenti sul territorio nazionale indipendentemente dalla loro nazionalità, residenza o domicilio.

Ogni caso di malattia batterica invasiva (secondo le definizioni di caso sopraelencate) verrà segnalato dal sanitario che pone diagnosi (medico, microbiologo o direzione sanitaria, secondo l'organizzazione locale) tramite una specifica scheda di segnalazione al Servizio di Igiene Pubblica competente entro 12 ore. E' disponibile un modello cartaceo che può essere utilizzato per la segnalazione al Servizio di Igiene Pubblica competente, che include tutte le informazioni (incluse quelle aggiuntive relative allo stato vaccinale, agli eventuali contatti dei casi di malattia meningococcica e all'esito dell'infezione) che sono necessarie alla ASL per l'inserimento del caso nella piattaforma informatizzata.

La ASL competente verifica la completezza dei dati ed effettua la registrazione del caso sulla piattaforma informatizzata delle Malattie Batteriche Invasive (MaBI, <http://www.iss.it/mabi/>) integrando le eventuali informazioni mancanti. L'accesso è protetto da password e consentito secondo una logica "gerarchica" (la ASL vede i propri dati, la Regione vede i dati di tutte le sue ASL, ISS e Ministero vedono i dati di tutte le Regioni). Le richieste di accesso alla piattaforma MaBI vanno indirizzate a malbattinvasive@iss.it.

Eventuali informazioni disponibili successivamente all'inserimento on-line della scheda verranno registrate sullo stesso record aggiornando la scheda già inserita.

Allo stesso tempo, il sanitario/la struttura che ha osservato e notificato il caso provvederà alla raccolta e all'invio del ceppo isolato e/o del campione clinico in caso di esame colturale negativo per la conferma di laboratorio presso un Laboratorio di riferimento Regionale (laddove presente) e/o al Laboratorio di riferimento Nazionale presso l'ISS (vedi allegato per indicazioni relative all'invio all'ISS)

I dati relativi alla caratterizzazione microbiologica del ceppo verranno inseriti nella piattaforma MaBI dalla ASL competente (in caso la caratterizzazione avvenga in un Laboratorio di riferimento Regionale/Inter-regionale) o dal Laboratorio di riferimento Nazionale, eventualmente integrando le informazioni relative al caso già inserite. I risultati del sierotipo/sierogruppo di meningococco, pneumococco ed emofilo saranno quindi consultabili da parte degli enti autorizzati per quella segnalazione (ASL, Regioni, ISS), nel sito web della piattaforma MaBI.

Le ASL e le Regioni potranno scaricare le notifiche di loro competenza e consultare i risultati delle caratterizzazioni microbiologiche sugli isolati inviati presso il laboratorio di riferimento nazionale presso l'ISS.

DISSEMINAZIONE DEI RISULTATI

I dati della sorveglianza verranno analizzati in termini di numero di segnalazioni per agente eziologico, distribuzione per sierogruppo/sierotipo, sito di isolamento, quadro clinico, fascia di età e Regione/PP.AA e presentati in reports semestrali. I dati consolidati per agente patogeno verranno inseriti in un report annuale in cui verrà stimata l'incidenza per anno, per agente eziologico, fascia di età e Regione/PP.AA e, laddove possibile, la percentuale di casi prevenibili con vaccinazione.

PUNTI DI CONTATTO E SITO WEB

Per la tempestiva segnalazione dei casi sospetti di meningite da qualunque agente batterico e di sepsi da meningococco: malinf@sanita.it; dmi@pec.iss.it

Per problematiche relative alla sorveglianza MaBI, il coordinatore: Paola Stefanelli, paola.stefanelli@iss.it, tel.06 4990 2126; Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità.

Per la piattaforma MaBI, le schede di sorveglianza e l'inserimento dei dati: Maria Grazia Caporali, mariagrazia.caporali@iss.it, tel. 06 4990 4275; Flavia Riccardo, flavia.riccardo@iss.it tel. 06 4990 4275, Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità.

Per *Neisseria meningitidis* e campioni biologici: Paola Stefanelli, paola.stefanelli@iss.it, tel.06 4990 2126; Cecilia Fazio, cecilia.fazio@iss.it, tel. 06 4990 2126 Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Ufficio Campioni, Via Castro Laurenziano 25, 00161 Roma.

Per *Streptococcus pneumoniae* e campioni biologici: Annalisa Pantosti, annalisa.pantosti@iss.it, tel. 06 4990 2852; Romina Camilli, romina.camilli@iss.it, tel. 06 4990 2331, Fabio D'Ambrosio, fabio.dambrosio@iss.it, tel. 06 4990 2331, Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità Ufficio Campioni, Via Castro Laurenziano 25, 00161 Roma.

Per *Haemophilus influenzae* e campioni biologici: Marina Cerquetti, marina.cerquetti@iss.it tel.06 4990 3505/2343; Maria Giufrè, maria.giufre@iss.it, tel.06 4990 3505/2343 Fax: 06 49387112, Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità Ufficio Campioni, Via Castro Laurenziano 25, 00161 Roma.

REFERENZE

1. Tunkel A, Schilder AG. Acute Meningitis. In: Mandell GL, Douglas RM, Bennet JE, editors. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and practice of infectious diseases. Sixth Edition ed. Philadelphia: Elsevier; 2005. p. 1083-126
2. Stefanelli P, Fazio C, Neri A, Ciammaruconi A, Balocchini E, Anselmo A, Azzari C, Rossolini GM, Vacca P, Fortunato A, Palozzi A, Fillo S, Lista F, Moriondo M, Nieddu F, Rezza G. Genome-based study of a spatio-temporal cluster of invasive meningococcal disease due to *Neisseria meningitidis* serogroup C, clonal complex 11. *J Infect*. 2016;73(2):136-44.
3. Giufrè M, Cardines R, Caporali MG, Accogli M, D'Ancona F, Cerquetti M. Ten years of Hib vaccination in Italy: prevalence of non-encapsulated *Haemophilus influenzae* among invasive isolates and the possible impact on antibiotic resistance. *Vaccine*. 2011; 29:3857-62.
4. Giufrè M, Cardines R, Accogli M, Pardini M, Cerquetti M. Identification of *Haemophilus influenzae* clones associated with invasive disease a decade after Introduction of *H. influenzae* serotype b Vaccination in Italy. *Clin Vaccine Immunol*, 2013; 20: 1223-1229.
5. Gherardi G, D'Ambrosio F, Visaggio D, Dicuonzo G, Del Grosso M, Pantosti A. Serotype and clonal evolution of penicillin-nonsusceptible invasive *Streptococcus pneumoniae* in the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine era in Italy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:4965-8.
6. D'Ancona F, Caporali MG, Del Manso M, Giambi C, Camilli R, D'Ambrosio F, Del Grosso M, Iannazzo S, Rizzuto E, Pantosti A. Invasive pneumococcal disease in children and adults in seven Italian regions after the introduction of the conjugate vaccine, 2008-2014. *Epidemiol Prev*. 2015 Jul-Aug;39(4 Suppl 1):134- 138
7. ECDC surveillance report. Annual epidemiological report 2014- vaccine-preventable diseases - invasive bacterial diseases - http://ecdc.europa.eu/en/publications/_layouts/forms/Publication_DispForm.aspx?List=4f55ad51-4aed-4d32-b960-af70113dbb90&ID=1256#sthash.vTVyINb7.dpuf .
8. Rapporto Malattie batteriche invasive (aggiornamento 3 aprile 2017) <http://www.iss.it/mabi/index.php?id=5&tipo=16&lang=1>
9. Circolare del Ministero della Salute del 9 maggio 2017 “Prevenzione e controllo delle malattie batteriche invasive prevenibili mediante vaccinazione” <http://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2017&codLeg=59229&parte=1%20&serie=null>
10. Commissione Europea: Decisione di esecuzione della Commissione dell'8 agosto 2012 recante modifica della decisione 2002/253/CE che stabilisce la definizione dei casi 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. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32012D0506&from=IT>

INDICAZIONI PER L'INVIO DEGLI ISOLATI E DEI CAMPIONI CLINICI

CEPPI DI MENINGOCOCCO ED EMOFILO

Per i ceppi di meningococco e di emofilo isolati da liquor, sangue, o altri siti sterili, è previsto l'invio direttamente, o tramite laboratorio di riferimento Regionale, al laboratorio di riferimento nazionale presso l'ISS, unitamente all'inserimento su web o a copia delle relative schede di segnalazione, per la definitiva tipizzazione genotipica e fenotipica. Sono illustrate le modalità per la spedizione dei campioni ed i recapiti dei referenti.

CEPPI DI PNEUMOCOCCO

Per i ceppi di pneumococco, considerando l'elevato numero di isolati, laddove possibile, sarà utile istituire dei laboratori di riferimento regionali o sovra-regionali ai quali il laboratorio ospedaliero potrà inviare gli isolati di pneumococco per la sierotipizzazione. Il laboratorio di riferimento potrà comunque inviare i ceppi all'ISS in casi dubbi, in caso di sierotipizzazione incompleta o se necessita di conferma. Le Regioni che non avessero identificato un laboratorio di riferimento regionale potranno inviare i ceppi di pneumococco direttamente in ISS. L'invio dei ceppi è richiesto soprattutto per gli isolati da bambini di età inferiore a 5 anni, ma possono essere inviati ceppi isolati da pazienti di qualsiasi età, previo accordo. L'invio dei ceppi deve essere sempre accompagnato da copia delle relative schede di segnalazione. Sono illustrate le modalità per la spedizione dei campioni ed i recapiti dei referenti.

GESTIONE DEI CAMPIONI BIOLOGICI DA SITI STERILI

Al fine di ridurre la sotto-diagnosi, nel caso in cui la diagnosi colturale su un campione da sito sterile risultasse negativa, pur in presenza di segni clinici di infezione batterica invasiva, è importante effettuare una ulteriore ricerca mediante metodi molecolari per la definizione eziologica e la caratterizzazione del patogeno. In caso di mancanza di un laboratorio di riferimento Regionale attrezzato per la diagnosi molecolare, il campione clinico negativo agli esami colturali può essere inviato al laboratorio di riferimento nazionale presso l'ISS, che effettua la ricerca dell'agente eziologico di malattia batterica invasiva con metodi molecolari. In caso di positività, l'ISS informerà il laboratorio e la ASL di competenza.

INDICAZIONI TECNICHE PER LA PREPARAZIONE DEGLI ISOLATI E DEI CAMPIONI CLINICI

Si rende disponibile un corriere prepagato per il ritiro presso i laboratori collaboranti alla sorveglianza, dei ceppi di meningococco, emofilo e pneumococco.

NEISSERIA MENINGITIDIS/HAEMOPHILUS INFLUENZAE

Seminare il ceppo in piastra di agar cioccolato. La coltura deve essere tenuta in incubazione 18-24 ore in atmosfera arricchita di CO₂. A crescita avvenuta, la piastra deve essere immediatamente spedita affinché il ceppo resti vitale.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

E' consigliabile effettuare l'invio dei ceppi su tamponi con terreno di trasporto. Se conservato congelato, il ceppo deve essere seminato su piastra almeno 2 giorni prima della spedizione. La coltura deve essere tenuta in incubazione per non più di 18-20 ore. Il giorno della spedizione prelevare la crescita batterica dalla piastra con il tampone e inserire il tampone nel terreno di trasporto.

Nel caso i tamponi di trasporto non fossero disponibili, inviare due piastre di Agar Sangue per ogni ceppo: una seminata da non più di 24 ore ed una piastra appena seminata ma non incubata (è una riserva in caso di ritardo nell' arrivo della spedizione).

CAMPIONI CLINICI IN CASO DI SOSPETTA MALATTIA BATTERICA

I campioni clinici prelevati da casi di sospetta malattia batterica invasiva saranno inviati in provette chiuse ermeticamente seguendo le modalità di confezionamento e di spedizione indicate di seguito.

MODALITÀ DI CONFEZIONAMENTO E DI SPEDIZIONE

Confezionare il pacco sia per i ceppi batterici che per i campioni clinici utilizzando contenitori adeguati a norma di legge (Circolare n.3 dell'8 maggio 2003 del Ministero della Salute) per l'invio di materiale biologico, categoria B codice UN3373. E' fatto obbligo di utilizzare un triplo imballaggio, formato da un imballo esterno, uno intermedio ed uno interno a tenuta stagna, conformi alle disposizioni vigenti, in modo da impedire la fuoriuscita del contenuto anche in caso di incidente durante il trasporto. Il pacco deve essere provvisto di un'etichetta che riporti sia il mittente (nominativo, indirizzo, telefono, e-mail) sia il destinatario (specificando nome e cognome del contatto per quel patogeno e l'indirizzo in ISS come da lista a pagina 14 di questo protocollo).

Il ceppo o il campione clinico dovrà essere accompagnato da una copia della scheda di segnalazione. Il pacco deve pervenire entro le 24 ore dall'invio, dal lunedì al venerdì (entro le ore 15.00) ai destinatari dell'ISS. Il pacco deve essere trasportato a temperatura ambiente. Se il centro di riferimento Regionale conserva i ceppi congelati, può inviarli direttamente congelati con spedizione periodiche in ghiaccio secco. Questa procedura è sconsigliata per i ceppi di pneumococco.

L'indirizzo di destinazione del pacco è: Nome del referente per singolo patogeno, Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento Malattie Infettive, Ufficio Campioni, Via del Castro Laurenziano 25, 00161 Roma.