



Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

## **RECOMENDACIONES EN EL DIAGNOSTICO DE LABORATORIO DE SARS-CoV2, DE LA SOCIEDAD MEDICA DE LABORATORIO CLÍNICO (SMLC)**

Carolina Prieto, Marcia Guajardo, María Jesús Vial, Carolina Selman, Verónica Bustamante, Marcelo Díaz de Valdés, Juan Carlos Hormazábal, Dona Benadof, Angélica Rivera, Verónica Ramírez, Isabel Briceño

### **1.-ANTECEDENTES**

El Laboratorio clínico es de gran apoyo al diagnóstico, evaluación y monitoreo de casos en sospecha de Covid19

El correcto uso e interpretación de resultados permite realizar un manejo clínico más certero y seguro

El propósito de estas recomendaciones es entregar orientación provisional para las prácticas relacionadas con el diagnóstico de laboratorio del SARS-CoV2, incluyendo bioseguridad en la recolección, transporte, manejo y almacenamiento de muestras sospechosas de contener SARS-CoV2, que causa la enfermedad llamada COVID-19, por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Estas recomendaciones serán actualizadas eventualmente, según surjan nuevos conocimientos de la enfermedad.

### **2.-DEFINICIÓN DE CASOS.**

Según MINSAL al 18 de Marzo 2020

#### **2.1.- Caso Sospechoso**

Paciente con enfermedad respiratoria aguda:

- Que presente fiebre o al menos un signo o síntoma de enfermedad respiratoria, y con historia de viaje o residencia en un país/área o territorio que reporta transmisión local de COVID-19 durante los 14 días previos al inicio de los síntomas.
- Que haya estado en contacto con un caso confirmado o probable de COVID-19 en los 14 días previos al inicio de síntomas.
- Independiente de la historia de viaje o contacto con caso confirmado de COVID-19 y que presenta fiebre (37,8°C) y al menos uno de los siguientes síntomas (odinofagia, tos, mialgias o disnea).
- Con criterios de gravedad (que presente fiebre, tos y dificultad respiratoria) y que requiera hospitalización.

#### **2.2-Caso Probable:**

- Caso sospechoso en que el análisis de laboratorio por PCR para COVID-19 resultó no concluyente.



Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

### **2.3.- Caso Confirmado:**

- Caso sospechoso en que la prueba específica para COVID-19, resultó «positivo».

En el momento epidemiológico actual (fase 4) donde existe circulación viral persistente en la comunidad y la definición de caso sospechoso ya no depende de la validación epidemiológica, sino que se agregan elementos clínicos, existe la posibilidad que cualquier paciente que consulte con síntomas respiratorios esté infectado por Coronavirus, por lo que se debe estandarizar las medidas de bioseguridad y EPP según este nuevo escenario.

### **3.- ETAPA PREANALÍTICA:**

#### **3.1.- Orden Médica:**

Al sospechar un caso de COVID-19 la prueba recomendada para el diagnóstico de infección por SARS-CoV2 es la Reacción en Cadena de Polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR), en muestras clínicas respiratorias superiores o inferiores. También se recomienda investigar otros patógenos respiratorios, con la aplicación de paneles moleculares para otros patógenos en la búsqueda del agente etiológico.

#### **3.2.-Toma de muestras:**

En el caso de toma de muestras con pacientes sospechosos de COVID-19, se recomienda crear identificación especial de estos pacientes, y que estos permanezcan poco tiempo en los centros de salud, esperando el resultado de sus exámenes en su domicilio, si sus síntomas no son graves, o bien esperar en una zona aislada reservada para estos pacientes. Así mismo, se recomienda, tanto para el paciente como para su acompañante, uso de mascarilla mientras permanece en la unidad.

Las muestras respiratorias apropiadas para diagnóstico de SARS CoV2 son hisopado nasofaríngeo, hisopado orofaríngeo, aspirado nasofaríngeo, lavado bronquio alveolar, expectoración, secreción bronquial.

El CDC recomienda la recolección de muestras simultáneas del tracto respiratorio superior (hisopos de nasofaringe y orofaringe) para todos los casos, y del tracto respiratorio inferior cuando sea posible.

Además de secreciones respiratorias, se ha detectado la presencia de ARN del virus en sangre, orina y deposiciones, pero su rol en la transmisión es incierto y pareciera no ser relevante. A la fecha, no se ha detectado la presencia de SARS-CoV-2 en la leche materna, por lo que se sugeriría mantener la lactancia manteniendo todas las precauciones recomendadas.

Procedimiento toma de muestras hisopado nasofaríngeo y orofaríngeo:



Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

- El responsable de la toma de muestras debe ser una enfermera, matrona o tecnólogo médico que trabaje en el centro de salud.
- Debe reunir el material, lavarse las manos y colocarse los elementos de protección personal, EPP (Mascarilla N95, guantes de procedimientos, delantal manga larga desechable o pechera, escudo facial o antiparras). Ver Anexo1
- Informar al paciente sobre el procedimiento, puede ser con el paciente sentado o acostado.

#### Muestra Hisopado Nasofaríngeo:

- Inclinar levemente hacia atrás la cabeza del paciente.
- Introducir hisopo flexible para nasofaringe (no usar otro tipo de hisopo), por el ángulo externo, hasta llegar a la nasofaringe posterior, apoyándose en el tabique nasal.
- Eliminar la secreción visible de las fosas nasales antes de empezar el procedimiento
- Rotar suavemente el hisopo de manera de obtener una buena muestra (3 a 5 segundos)
- Retirar el hisopo suavemente rotando cuidadosamente
- Repetir el procedimiento con el mismo hisopo en el otro orificio nasal
- Retirar el hisopo e introducirlo en el medio MTU. Quebrar el hisopo en el punto que viene marcado en el mismo. Cerrar el frasco.

#### Muestra Hisopado Orofaringeo:

- Colocar al paciente en posición cómoda y con buena iluminación hacia la zona faríngea.
- Solicitar al paciente que pronuncie la letra A.
- Desplazar la lengua hacia abajo (con baja lengua).
- Insertar el hisopo rígido hasta alcanzar la orofaringe, frotar con suavidad cuidando no tocar la lengua. No utilizar hisopos con algodón, alginato o palito de madera.
- Retirar el hisopo e introducirlo en el medio MTU ( o en PBS esteril) .
- Cortar el hisopo de manera que permita cerrar el tubo
- Dejar el hisopo en el medio y cerrar el tubo firmemente
- Rotular la muestra y Registrar el procedimiento
- Eliminar todos los insumos desechables en contenedores amarillos con bolsa amarilla (norma REAS).
- Retirarse los EPP (Ver anexo 2)
- Lavarse las manos.
- Enviar al laboratorio.



Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

### **3.3.-Transporte de muestras:**

- Los formularios o la orden médica deben venir separados de la muestra.
- El funcionario que transportará las muestras debe estar informado que se trata de muestras de caso sospechoso de Coronavirus
- El transporte de muestras que pueden contener 2019-nCoV debe usar un empaque triple y cumplir con normas internacionales relacionadas con el transporte de sustancias infecciosas: "Sustancia biológica, categoría B".
- No se recomienda usar sistemas de transporte neumático por el riesgo de liberación de aerosoles
- Las muestras respiratorias deben transportarse en un medio de transporte viral (MTU) o en su defecto en PBS, en condición refrigerada a 4°C pues es un virus RNA y con ello se evita el riesgo de deterioro de la muestra.

### **4.- ETAPA ANALÍTICA:**

#### **4.1.- Manejo de muestras dentro del laboratorio:**

Según las recomendaciones del CDC, cualquier procedimiento que genere potencialmente aerosoles (por ejemplo alicuotar, vortear o centrifugar tubos abiertos) debe manejarse en gabinete de Bioseguridad.

Los procedimientos que generen aerosoles y se realicen fuera del gabinete de bioseguridad, así como la limpieza de material altamente clínico sospechoso, debe hacerse con el uso de la máscara N95 o equivalente, guantes, pechera y antiparras. Después de que las muestras hayan sido procesadas, las superficies y el equipo deben ser descontaminados con desinfectantes apropiados.

#### **4.1.1.-Los siguientes procedimientos pueden realizarse en instalaciones del Laboratorio de nivel de BSL-2 utilizando prácticas de trabajo estándar:**

- Configuración de placa para el análisis molecular de ácidos nucleicos virales ya extraídos.
- Examen de rutina (visual) de cultivos bacterianos y micóticos.
- Tinción de rutina y análisis microscópico de frotis fijos.
- Empaque final de muestras para su transporte a laboratorios de diagnóstico para pruebas adicionales.
- Muestras inactivadas (muestras en tampón de extracción de ácido nucleico)



Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

- Muestras de suero, plasma o sangre total para medición de pruebas bioquímicas, hematológicas, hormonales, etc, que se introduzcan tapadas a los equipos automatizados

#### **4.1.2.- Los siguientes procedimientos deben realizarse en un Gabinete de Bioseguridad de Clase II:**

- Alicuotar y / o diluir muestras
- Inoculación y siembra de medios de cultivo bacterianos o micológicos.
- Procedimientos de extracción de ácido nucleico con muestras potencialmente infectadas. Preparación y fijación química o térmica de frotis para análisis microscópico

#### **4.2.-Identificación SARS CoV2**

La OMS ha recomendado realizar testeo masivo, ya que las estrategias que combinan el confinamiento precoz y el testeo masivo, son las que han demostrado obtener mejores resultados en disminuir la mortalidad de la enfermedad. Sin embargo existen limitaciones de recursos económicos, baja disponibilidad de reactivos y baja disponibilidad de personal preparado para realizar las pruebas.

La confirmación de casos y su cuarentena es una medida con impacto importante en el aplanamiento de la curva de casos infectados.

##### **4.2.1.- RT-PCR:**

La RT-PCR es la prueba con mayor sensibilidad y considerada confirmatoria del diagnóstico de COVID-19. Los targets virales que son amplificados incluyen los genes N, E, S y RdRP (al menos dos de ellos). La Sensibilidad de la detección de ácidos nucleicos es variable y es clave la toma de la muestra correcta en el momento correcto de la enfermedad.

##### **4.2.2.- Detección de Antígenos:**

La detección de antígenos tiene baja evidencia, por su reciente introducción y por la falta de experiencia de uso. Aun así es un test rápido (resultados en menos de 30 min, vs RT-PCR que demora sobre 4 hrs), tiene un buen valor predictivo positivo, por lo tanto también se debe considerar para el diagnóstico.

En correlación con la RT-PCR, estudios han demostrado que tiene una sensibilidad mayor mientras más copias de virus hay en la misma.

##### **4.2.3.- Detección de Anticuerpos IgM/IgG:**



Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

La detección de anticuerpos es más tardía en aparecer que la detección de antígenos o de ácidos nucleicos. Se han reportado estudios donde se observaron aumentos de anticuerpos desde 10 días luego de la aparición de los síntomas, primero IgM y luego IgG. Es un test rápido (demora menos de 30 min) y tiene buen VPP. La sensibilidad de este tipo de test puede mejorar al utilizarlo como seguimiento serológico por 2 a 4 semanas.

Antes de realizar cualquiera de estos test diagnósticos, es de gran importancia conocer el inicio de los síntomas (figura 1), ya que la PCR se hace negativa a partir del día 8 desde el inicio de los síntomas en muestras nasofaríngeas y a partir de ahí y hasta máximo el día 22 sólo sería positiva en muestras de esputo (vías respiratorias bajas) o heces. A partir del día 7 del inicio de los síntomas se recomienda utilizar como complemento un test de detección de Anticuerpos IgM/IgG, siendo a partir del 7º día, positivo en el 50% pacientes, en el 10º día en el 70% y en el 14º día desde el inicio de los síntomas en el 100% de los pacientes. Por lo tanto el test de Anticuerpos IgM/IgG se debe considerar en pacientes que acuden con enfermedad evolucionada con más de 7 días de síntomas, pacientes con síntomas y PCR negativa, estudios epidemiológicos, de contactos y personal sanitario.

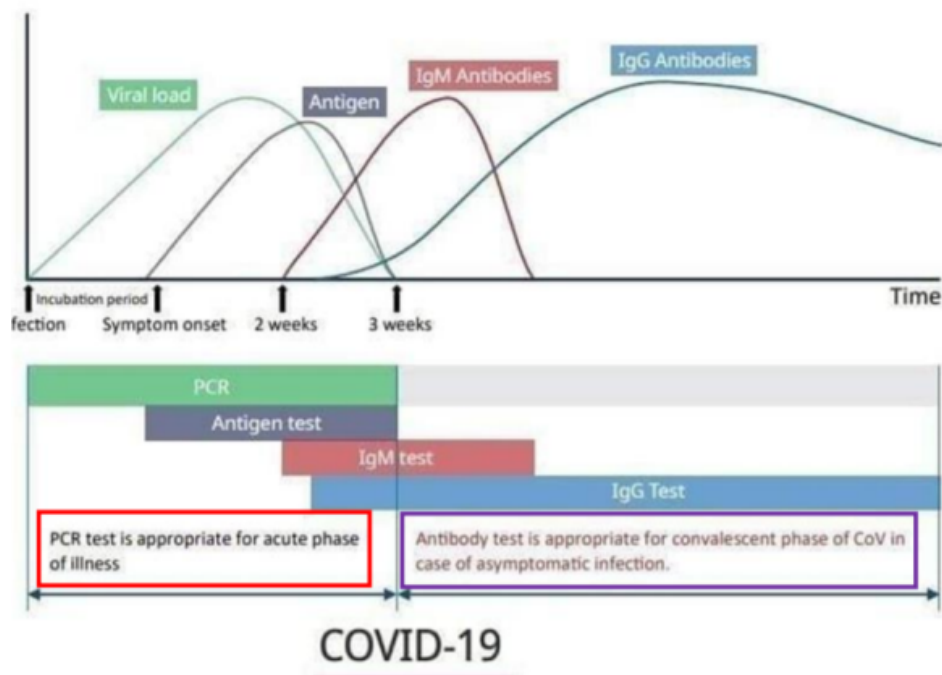


Figura1: Laboratorio específico del SARS CoV2

#### 4.3.- Otros estudios de Laboratorio en Pacientes SARS CoV2+:



Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

Los pacientes hospitalizados con COVID19+, deben ser evaluados en forma sistémica. Es por esto que proponemos los siguientes exámenes de laboratorio como “perfil COVID-19”, para manejar y establecer el pronóstico de los casos hospitalizados.

- **Hemograma:**
  - El recuento de glóbulos blancos generalmente es normal, aunque puede estar aumentado o disminuido.
  - La linfopenia es común y se presenta en un~80% de los pacientes (Guan et al, Yang et al).
  - La trombocitopenia leve es común (pero los recuentos de plaquetas rara vez bajan de los 100.000). Recuentos menores de plaquetas son un signo de mal pronóstico (Ruan et al 3/3).
  
- **Pruebas de coagulación:**
  - Los niveles elevados de dímero-D son comunes en esta enfermedad. El cuadro puede evolucionar con coagulación intravascular diseminada a través del tiempo, lo que se relaciona con peor pronóstico (Tang et al. 2020).
  
- **Parámetros inflamatorios:**
  - Procalcitonina: En pacientes hospitalizados por infección de COVID-19, una elevación de la procalcitonina podría indicar una sobreinfección bacteriana o mal pronóstico.
  - Proteína C reactiva (PCR): La infección por COVID-19 aumenta la PCR. Esta elevación al parecer se relacionaría con la severidad del cuadro y mal pronóstico.
  - VHS: Aumentada
  - IL-6: Aumentada
  - Ferritina: Si está aumentada se asocia a mal pronóstico.
  
- **Perfil Hepático:**
  - Albúmina: Disminuída
  - GOT: Aumentada
  - GPT: Aumentada
  - Bilirrubina: Aumentada
  
- **Gasometría:**
  - pH: Disminuído (acidosis)
  - pO2: Disminuída
  - pCO2 Aumentada
  - Lactato aumentado en paciente en Shock



Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

- PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>: Bajo 300 en casos graves

- Marcadores Cardíacos:

- LDH: aumentada
- CK: total aumentada
- Troponina aumentada, asociada a daño miocárdico, se asocia a mal pronóstico.

- Perfil Renal:

- Creatinina: aumentada
- Urea/BUN: Aumentada, se asocia a mal pronóstico

## 5.- ETAPA post Analítica:

### 5.1.-Validación y confirmación de SARS CoV2

Los laboratorios que se encuentren certificados por el ISP para realizar el informe directo de resultados del SARS CoV2, pueden emitir sus resultados directamente, sin enviar la muestra a confirmación. Los laboratorios que no se encuentren certificados por el ISP para realizar informe directo de SARS CoV2, deben enviar la muestra a confirmación a un laboratorio que se encuentre certificado, usando un empaque triple y cumpliendo con normas internacionales relacionadas con el transporte de sustancias infecciosas: "Sustancia biológica, categoría B", con los formularios separados de las muestras.

Sobre la centrifugación de muestras en general es recomendable que se utilice una tapa de seguridad en las centrifugas y esperar a que la generación de aerosoles sea más segura antes de abrir. Se debe usar mascarilla N95 si existe riesgo de aerosoles o hacer el proceso en un gabinete de bioseguridad clase II.

Anexo 1





Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

## Pasos para ponerse el equipo de protección personal (EPP), incluida la bata

**1** Quítese todos los efectos personales (joyas, reloj, teléfono móvil, bolígrafos, etc.).



**2** Póngase el **traje aséptico** y las **botas de goma**<sup>1</sup> en el vestuario.

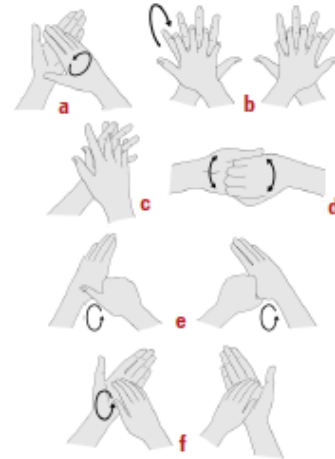


**3** Pase al área limpia que está en la entrada de la unidad de aislamiento.

**4** Haga una inspección visual para cerciorarse de que todos los componentes del EPP sean del tamaño correcto y de una calidad apropiada.

**5** Inicie el procedimiento para ponerse el equipo de protección personal bajo la **orientación y supervisión de un observador capacitado** (colega).

**6** Higienícese las manos.



**7** Póngase **guantes** (guantes de nitrilo para examen).



**8** Póngase una **bata desechable** hecha de una tela resistente a la penetración de sangre u otros humores corporales **O** de agentes patógenos transmitidos por la sangre.



**9** Póngase la **maskarilla facial**.



**10** Póngase una **careta protectora** **O** gafas protectoras.



**11** Póngase equipo para cubrir la **cabeza y el cuello**: gorra quirúrgica que cubra el cuello y los lados de la cabeza (preferiblemente con careta protectora) **O** capucha.



**12** Póngase un **delantal impermeable desechable** (si no hay delantales desechables, use un delantal impermeable reutilizable para trabajo pesado).



**13** Póngase otro par de **guantes** (preferentemente de puño largo) sobre el puño de la bata.



<sup>1</sup> Si no hay botas, use zapatos cerrados (tipo mocasin, sin cordones, que cubran por completo el empeine y el tobillo) y cubiertas para zapatos (antideslizantes y preferentemente impermeables).



Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

Anexo 2:

## Pasos para quitarse el equipo de protección personal, incluida la bata

**1** Quítese el EPP siempre bajo la **orientación y supervisión de un observador capacitado (colega)**. Asegúrese de que haya recipientes para desechos infecciosos en el área para quitarse el equipo a fin de que el EPP pueda desecharse de manera segura. Debe haber recipientes separados para los componentes reutilizables.

**2** Higienícese las manos con los guantes puestos<sup>1</sup>.

**3** Quítese el **delantal inclinándose** hacia adelante, con cuidado para no contaminarse las manos. Al sacarse el delantal desechable, arránqueselo del cuello y enróllelo hacia abajo sin tocar la parte delantera. Después desate el cinturón de la espalda y enróllelo el delantal hacia adelante.



**4** Higienícese las manos con los guantes puestos.

**5** Quítese los **guantes externos** y deséchelos de una manera segura. Use la técnica del paso 17.

**6** Higienícese las manos con los guantes puestos.

**7** Quítese el **equipo que cubra la cabeza y el cuello**, con cuidado para no contaminarse la cara, comenzando por la parte trasera inferior de la capucha y enrrollándola de atrás hacia adelante y de adentro hacia afuera, y deséchela de manera segura.



0



**9** Para sacarse la **bata**, primero desate el nudo y después tire de atrás hacia adelante, enrrollándola de adentro hacia afuera, y deséchela de una manera segura.



**10** Higienícese las manos con los guantes puestos.

**8** Higienícese las manos con los guantes puestos.

**11** Sáquese el **equipo de protección ocular** tirando de la cuerda detrás de la cabeza y deséchelo de una manera segura.



0



**12** Higienícese las manos con los guantes puestos.

**13** Para quitarse la **maskarilla**, en la parte de atrás de la cabeza primero desate la cuerda de abajo y déjela colgando delante. Después desate la cuerda de arriba, también en la parte de atrás de la cabeza, y deseche la maskarilla de una manera segura.

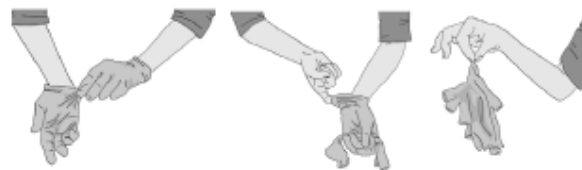


**14** Higienícese las manos con los guantes puestos.

**15** Sáquese las **botas de goma** sin tocarlas (o las cubiertas para zapatos si las tiene puestas). Si va a usar las mismas botas fuera del área de alto riesgo, déjeselas puestas pero limpielas y descontaminelas apropiadamente antes de salir del área para quitarse el EPP<sup>2</sup>.

**16** Higienícese las manos con los guantes puestos.

**17** Quítese los **guantes** cuidadosamente con la técnica apropiada y deséchelos de una manera segura.



**18** Higienícese las manos.

<sup>1</sup> Al trabajar en el área de atención de pacientes, hay que cambiarse los guantes externos antes de pasar de un paciente a otro y antes de salir (cambíelos después de ver al último paciente).

<sup>2</sup> Para descontaminar las botas correctamente, píse dentro de una palangana para la desinfección del calzado con solución de cloro al 0,5% (y quite la suciedad con un cepillo para inodoros si están muy sucias de barro o materia orgánica) y después limpie todos los lados de las botas con solución de cloro al 0,5%. Desinfecte las botas remojándolas en una solución de cloro al 0,5% durante 30 minutos, por lo menos una vez al día, y después enjuáguelas y séquelas.



Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

## **6.-Bibliografía:**

1. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/clinical-management-of-novel-cov.pdf>
2. Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) February 2, 2020, <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/lab-biosafety-guidelines.html>
3. 2019-nCoV acute respiratory disease: handling and processing of laboratory specimens Updated 2 February 2020, <https://www.gov.uk/government/publications/wuhan-novel-coronavirus-guidance-for-clinical-diagnostic-laboratories/wuhan-novel-coronavirus-handling-and-processing-of-laboratory-specimens>
4. <https://www.paho.org/requerimientos-para-uso-de-equipos-de-proteccion-personal-epp-para-el-nuevo-coronavirus-2019-ncov-en-establecimientos-de-salud>
5. <https://sanac.org/index.php/recomendaciones-de-la-sanac-covid-19>
6. <https://www.gov.uk/government/publications/wuhan-novel-coronavirus-guidance-for-clinical-diagnostic-laboratories/wuhan-novel-coronavirus-handling-and-processing-of-laboratory-specimens>
7. Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC): Parte 1: <https://bit.ly/2RYgmdH> y Parte 2: <https://bit.ly/2O7NQFk>.
8. [https://www.who.int/publications-detail/home-care-for-patients-with-suspected-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-presenting-with-mild-symptoms-and-management-of-contacts](https://www.who.int/publications-detail/home-care-for-patients-with-suspected-novel-coronavirus-(ncov)-infection-presenting-with-mild-symptoms-and-management-of-contacts)
9. Lippi, Giuseppe & Plebani, Mario. (2020). Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 10.1515/cclm-2020-0198.
10. Wang, W., Xu, Y., Gao, R., Lu, R., Han, K., Wu, G., & Tan, W. (2020). Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*



Sociedad científica de médicos especialistas en Laboratorio Clínico - Chile

11. Zhang Y, Chen C, Zhu S et al. [Isolation of 2019-nCoV from a stool specimen of a laboratory-confirmed case of the coronavirus disease 2019 (COVID-19)]. *China CDC Weekly*. 2020;2(8):123–4.
12. Zhang W, Du RH, Li B, et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):386-389. doi:10.1080/22221751.2020.1729071
13. Lippi, Giuseppe & Simundic, Ana-Maria & Plebani, Mario. (2020). Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-2019). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 10.1515/cclm-2020-0285.
14. Coronavirus disease (COVID-19) advice for the public. Geneva: World Health Organization; 2020(<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public>)
15. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395:497–506. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5
16. Documento de posicionamiento de la SEIMC sobre el diagnóstico microbiológico de COVID 19
17. Lippi , Plebani. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis.