



COVID-19

REZULTAT

FALS POZITIV

FALS NEGATIV

GHID PRACTIC, ORIENTATIV
PENTRU TESTAREA DE LABORATOR

PREZENTUL GHID ÎNLOCUIEȘTE VERSIUNEA DIN 21.04.2020

Data: 23.04.2020

Dr. Constanța Popa

Președinte al O.B.B.C.S.S.R



Lista modificărilor aduse



Prezenta versiune are următoarele modificări față de versiunea anterioară:

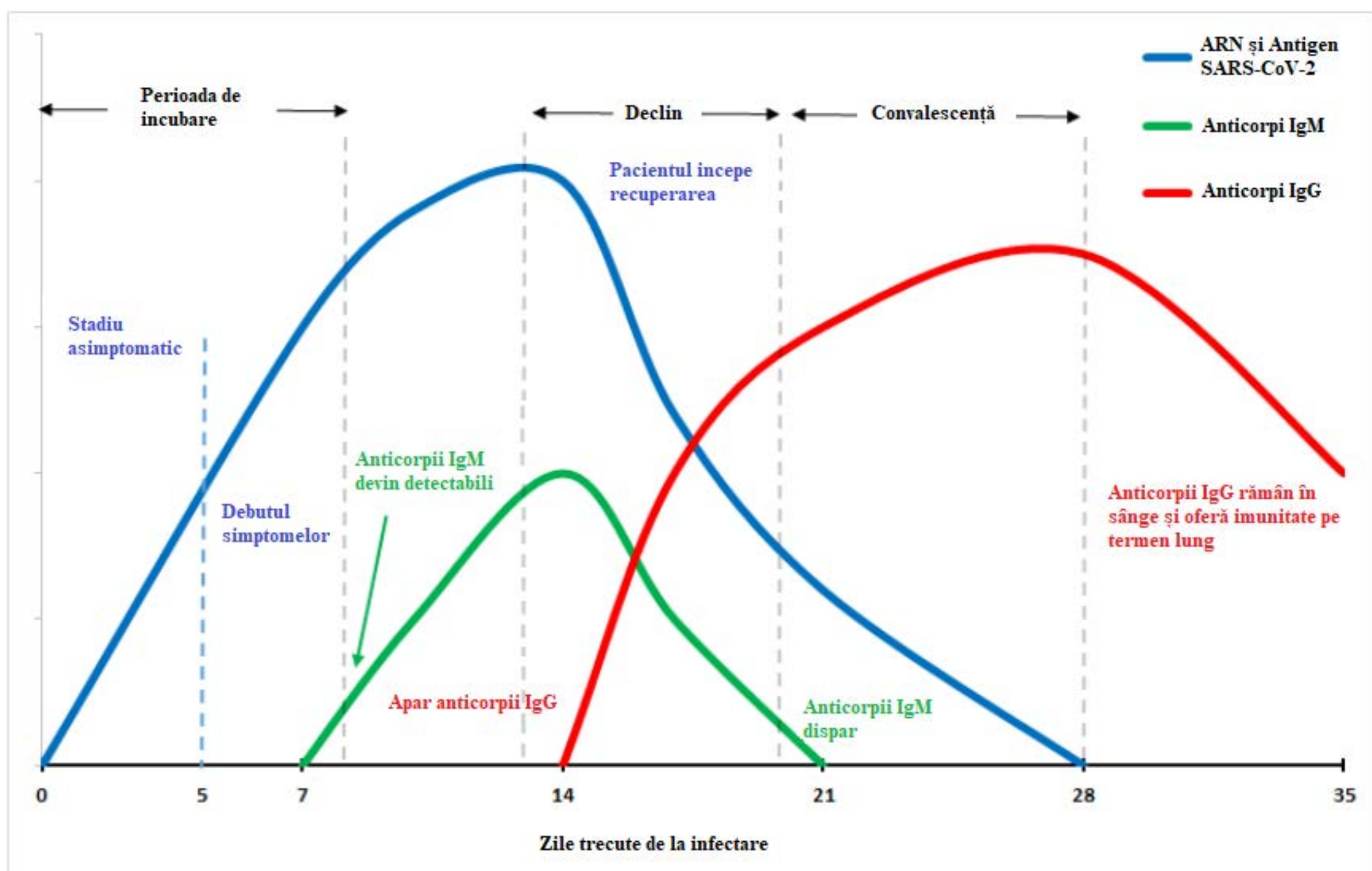


Am adăugat cadrul legislativ privind instruirea biologilor, chimiștilor și biochimistilor pentru depistarea infectării cu virusul SARS-CoV-2 prin metoda rRT-PCR- ORDONANȚA Nr. 129/2000 din 31 august 2000, republicată privind formarea profesională a adulților, care precizează la art.8, alin.3 lit c) "perfecționarea, respectiv specializarea, reprezintă pregătirea profesională care conduce la dezvoltarea sau completarea cunoștințelor, deprinderilor sau competențelor profesionale ale unei persoane care deține deja o calificare, respectiv dezvoltarea competențelor în cadrul aceleiași calificări, dobândirea de competențe noi în aceeași arie ocupațională sau într-o arie ocupațională nouă, dobândirea de competențe fundamentale/cheie sau competențe tehnice noi."



Testarea de laborator pentru COVID-19

NU oricând oriunde oricum de către oricine



Sursa:

<http://documents.worldbank.org/curated/en/145161586536712080/pdf/Purpose-and-Options-for-Testing-for-SARS-Cov2-the-COVID-19-Virus-Considerations-for-World-Bank-Task-Teams-Managing-COVID-19-Fast-Track-Facility-Operations.pdf>

Rezultat teste			Semnificație clinică
PCR	IgM	IgG	
+	-	-	Pacientul ar putea fi în perioada de infecție.
+	+	-	Pacientul ar putea fi în perioada de debut a infecției.
+	+	+	Pacientul se află în stadiul activ al infecției.
+	-	+	Pacientul se află în stadiu tardiv sau recurent al infecției.
-	+	-	Pacientul se află într-un stadiu de debut al infecției. Rezultatele PCR ar putea fi fals negative.
-	-	+	Pacientul a avut o infecție anterioară, dar și-a revenit.
-	+	+	Pacientul se poate afla într-un stadiu de recuperare în urma infecției, sau rezultatele PCR pot fi fals-negative.



"În COVID-19 specialiștii din laborator trebuie să furnizeze medicului clinician sub presiunea **TIMPULUI, RAPID și CORECT**, rezultatul testului de identificare a prezenței virusului SARS-CoV-2 în probele biologice ale pacienților.

Am decis să scriu pentru colegii mei implicați în lupta cu noul coronavirus aceste **RECOMANDĂRI** pentru asigurarea calității rezultatelor analizelor de laborator furnizate în COVID-19, în baza competenței și experienței profesionale pe care o am."



CUPRINS GHID

1. Descoperirea metodei PCR
2. Metodele de testare în diagnosticul de laborator pentru COVID-19
3. Descrierea pe scurt a metodei rRT-PCR
4. Specialiștii care lucrează metoda rRT-PCR
5. Potențiale surse de eroare în cele trei faze ale testării de laborator
6. **RECOMANDĂRI** pentru evitarea potențialelor surse de eroare care pot apărea în faza preanalitică
7. **RECOMANDĂRI** pentru evitarea potențialelor surse de eroare în faza analitică
8. **RECOMANDĂRI** pentru evitarea potențialelor surse de eroare în faza postanalitică
9. Rezultate de laborator **fals POZITIVE** în COVID-19
10. Rezultate de laborator **fals NEGATIVE** în COVID-19
11. Monitorizarea pacienților cu COVID-19 prin alte teste de laborator
 - 11.1 Testările imunoserologice în COVID-19
 - 11.2 Alte teste de laborator în monitorizarea pacienților cu COVID-19

1



Descoperirea metodei PCR



Chimistul licențiat în Chimie, doctor în Biochimie, “molecular biologist” (cu o carieră științifică în Biologie moleculară) american Kary Mullis [1] a descoperit în 1985 metoda PCR, descoperire pentru care în anul 1993 a primit Premiul Nobel pentru Chimie. [1]

Prin metoda PCR se poate detecta orice tip de bacterie, parazit, virus pornind de la ADN sau ARN. [2]

Metoda de testare PCR a devenit un “gold standard” al diagnosticului infecțiilor virale. [2] Metoda de testare PCR funcționează doar prin analiza ADN-ului, iar SARS-CoV-2 este un virus ARN, de aceea sunt necesare enzime care transcriu materialul genetic viral-ARN într-o catenă de ADN complementară (ADNc), care va fi analizată. [2]

2



Metodele de testare în diagnosticul de laborator pentru COVID-19



Conform OMS un caz pozitiv COVID-19 este o persoană care are confirmată infecția cu SARS-CoV-2 printr-un test de laborator [2] deci este **CRUCIAL REZULTATUL RAPID și CORECT** furnizat de laboratorul de analize medicale.

Există două tipuri de teste de laborator în COVID-19 folosite în prezent [2]:

2.1. Testele care identifică prezența virusului SARS-CoV-2 în organism: se bazează pe o tehnică de laborator care există în practică de peste 30 de ani- Polymerase Chain Reaction (PCR). [2]

Realizarea fiecărei testări (run) de identificare a prezenței virusului SARS-CoV-2 în organism durează în jur de 4 ore de când proba ajunge în laborator. [2]

Dacă se adaugă însă și timpul necesar transportului și altor elemente logistice se poate ajunge la un TAT de 2-4 zile pentru furnizarea rezultatelor. [2]

2.2. Testele rapide care identifică anticorpii prin analizarea unei probe de sânge prelevată din deget, putând detecta persoanele care au fost infectate. [2]

În cazul testelor rapide, două tipuri de anticorpi pot fi detectate:

IgM sunt primii anticorpi care apar, și arată faptul că virusul e încă prezent, ei dispar după aproximativ două săptămâni; [2]

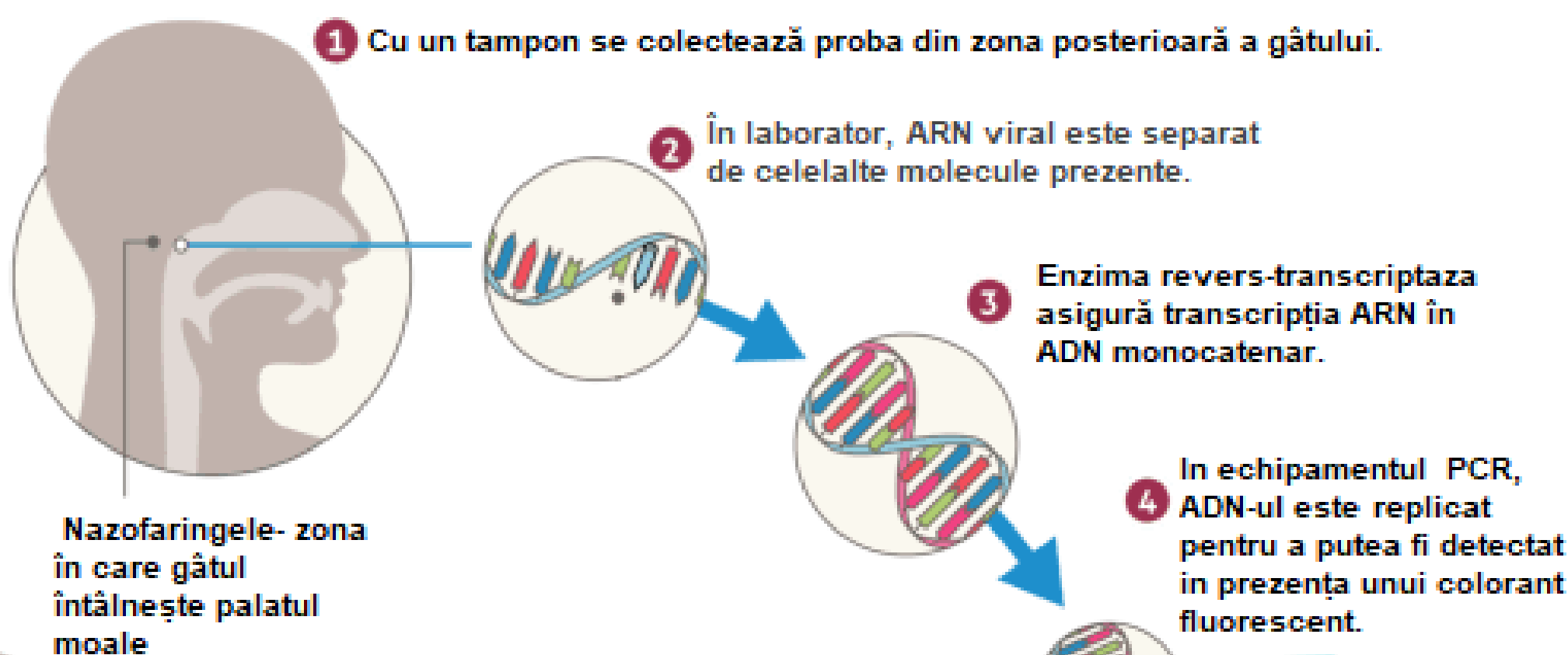
IgG sunt anticorpi care persistă, însă nu se știe cât de mult, la acest moment. Acest test rapid oferă rezultate în câteva minute, nu în câteva ore ca în cazul PCR. [2]

Acestea au o valoare epidemiologică importantă, ne arată numărul total de persoane care au avut boala. [2]

Testele rapide nu au relevanță clinică în fazele inițiale ale infecției. Avantajul lor este că arată numărul de persoane care au fost infectate și permit o detectare a cazurilor care au fost asimptomatice. Determinările statistice capătă acuratețe. Testele serologice permit o determinare mai clară a ratei de mortalitate. [2]

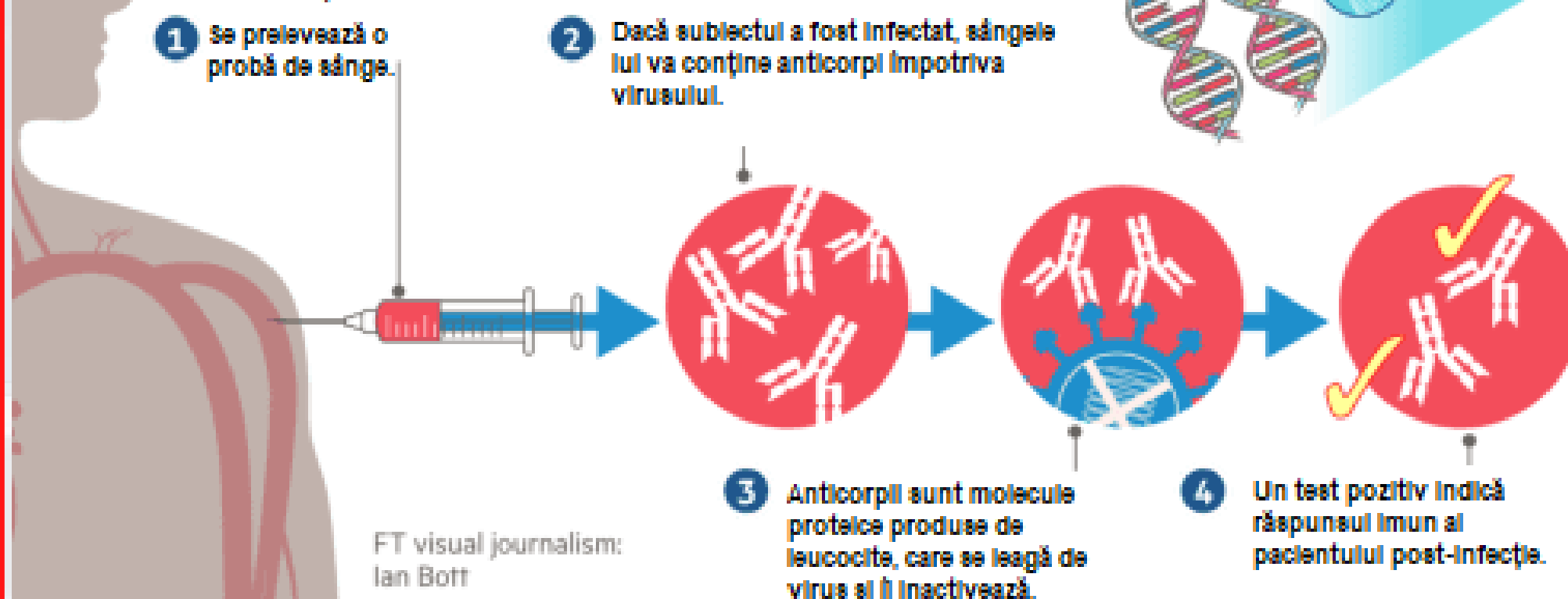
Metode de testare pentru infecția cu Coronavirus

Test PCR antigen pentru detectarea prezenței virusului în organism



Reacția de polimerizare în lanț

Testul de identificare a prezenței anticorpilor pentru detectarea răspunsului imun în stadiul de debut al infecției



FT visual journalism:
Ian Boff
Source: FT research
© FT



Descrierea pe scurt a metodei rRT-PCR



O.M.S. recomandă metoda rRT-PCR pentru depistarea SARS-CoV-2. [2]

Reactivi speciali sunt folosiți pentru a extrage ARN-ul viral din produsul biologic. [2]

O enzimă numită revers transcriptază transcrie ARN-ul noului coronavirus într-o moleculă de ADNc care poate fi replicată astfel încât să poată fi ușor de detectat. [2]

Capacitatea metodei de testare PCR de a detecta secvențele genetice specifice SARS-COV-2 este descrisă pe www.raportuldegarda.ro și prezentată sugestiv și sintetizat în imaginea următoare. [2]

Cum funcționează testarea PCR pentru COVID-19?

Metoda PCR poate detecta chiar și cantități foarte mici de material genetic viral într-un eșantion, prin procesul de amplificare.

- 1 O probă de exsudat nasofaringian este prelevată și prelucrată pentru a izola materialul genetic.
- 2 Mici fragmente de material genetic specific, numite primeri, sunt introduse și se atașează de materialul genetic viral izolat, inițializând amplificarea.

Primerii de legare Duplicare inițială Amplificarea creează milioane de copii
- 3 Markerii fluorescenți legați de copii în timpul PCR sunt eliberați și pot fi detectați atunci când are loc amplificarea.

Rezultat pozitiv	Când există material genetic viral în eșantion, are loc amplificarea, eliberând suficienți markeri fluorescenți pentru a fi detectați.
Rezultat negativ	Dacă nu există material genetic viral în eșantion, amplificarea nu va apărea și nu vor fi detectați markeri fluorescenți.



Specialiștii care lucrează metoda rRT-PCR



ECHIPA de specialiști din laborator este alcătuită din **medici, chimiști, biochimiști, biologi** care împreună **contribuie la actul medical.**

OMS 1301/2007 [3] precizează foarte clar la art.5 că:

1. În laboratorul de analize medicale lucrează NUMAI personal AUTORIZAT (NOTĂ: posesor al Autorizației de Liberă Practică- ALP):

"(1) În laboratorul de analize medicale lucrează numai personal autorizat conform legislației în vigoare, angajat cu normă întreagă sau cu timp de lucru parțial.

(3) În laboratorul de analize medicale își desfășoară activitatea medici cu specialitatea medicină de laborator - laborator clinic, microbiologie, medicină de laborator, alt personal cu studii superioare autorizat să lucreze în domeniul medical- biologi, biochimiști, chimiști și farmaciști, precum și personal mediu sanitar."

2. Biochimiștii, biologii și chimiștii au drept de PARAFARE al buletinelor de analiză NUMAI dacă au Autorizație de Liberă Practică (ALP), asigurare de malpraxis și specialitatea confirmată de Ministrul Sănătății, deci sunt membri ai OBBCSSR cf. art.20, Legea 460/2003 [4]:

"Membrii Ordinului Biochimiștilor, Biologilor și Chimiștilor în sistemul sanitar din România sunt obligați să aplice parafa cuprinzând numele, prenumele, gradul și specialitatea pe toate buletinele pentru analizele pe care le efectuează." **NU au dreptul de PARAFARE a buletinelor de analize medicale** alți biochimiști, biologi și chimiști din cercetare, învățământ U.M.F, A.N.S.V.A.

Un biochimist, biolog și chimist confirmat de Ministerul Sănătății specialist în genetică are:

-diploma de licență în biologie, chimie sau biochimie de min. 3 ani; în timpul studiilor universitare de obținere a diplomei de licență în biologie/ biochimie studiază un număr min. de 224 de ore în disciplina Genetică;

-după caz, diploma de absolvire a unui program de master cu durata de doi ani în domeniul laboratorului de analize medicale; în programul de master "Genetica aplicată și Biotehnologie" studiază un număr de 476 ore de Genetică, în cadrul altor programe de master numărul de ore este variabil de la 84 de ore la programul de master "Managementul calității pentru laboratoarele de analize medicale" la 742 ore la programul de master " Genetica moleculară".

-Medicii studiază în timpul licenței 70 de ore și 120 de ore de Genetică la rezidențiatul în medicina de laborator, total 190 de ore de Genetică.

În timpul specializării de 4 ani cf. Legii 460/2003 biochimiștii, biologii și chimiștii completează cele min. 308 ore și max. 966 de pregătire teoretică în Genetică cu peste 26.144 ore de activitate practică în compartimentul de Genetică al laboratorului de analize medicale.

Gradul de specialist confirmat prin Ordin al Ministrului Sănătății (OMS), ca și în cazul medicilor, este obținut de biochimiștii, biologii și chimiștii din sistemul sanitar prin examen național organizat de către Ministerul Sănătății (MS) ca și pentru medici, în urma promovării examenului național fiind confirmați prin OMS ca și medicii și obțin de la MS certificatul de biochimist, biolog sau chimist SPECIALIST în Genetică.

SURSA:

Registrul UNIC al membrilor O.B.B.C.S.S.R accesat la 16.04.2020, Foile matricole eliberate de facultăți, adeverințele/certIFICATELE eliberate de M.S. de confirmare a gradelor profesionale ale membrilor OBBCSSR de la dosarele profesionale ale membrilor O.B.B.C.S.S.R, Publicația de examen a M.S., Cartea " Specialiștii din laboratoarele de analize medicale".





ERROR

Potențiale surse de eroare în cele trei faze ale testării de laborator



Organizația Mondială a Sănătății a precizat în Ghidul privind testarea de laborator în COVID-19 dat publicității în aprilie 2020 [5] că unul sau mai multe rezultate negative de laborator nu exclud posibilitatea infecției cu virusul SARS-CoV-2.

Factorii care ar putea duce la un rezultat negativ pentru COVID-19 la o persoană infectată cu virusul SARS-CoV-2 [5] :

-  recoltarea incorectă a probei biologice, calitatea slabă a specimenului/probei biologice recoltată de la pacient, care conține puțin material genetic;
-  specimenul/proba biologică a fost colectat/ă târziu sau foarte devreme în cadrul infecției cu virusul SARS-CoV-2.
-  specimenul/proba biologică nu a fost manipulat/ă și transportat/ă în mod corespunzător.
-  motive tehnice inerente testului, de exemplu mutația virusului sau prezența inhibitorilor PCR.

EXTREM DE IMPORTANT PENTRU MEDICII CLINICIENI!

Dacă laboratorul de analize medicale furnizează un rezultat negativ pentru un pacient cu un indice ridicat de suspiciune pentru infecția cu virusul SARS-CoV -2, în special atunci când au fost colectate și testate numai probe biologice din tractul respirator superior, trebuie colectate și testate **OBLIGATORIU** specimene/probe biologice suplimentare, inclusiv din tractul respirator inferior, dacă este posibil.

Din datele studiate existente până în acest moment în literatura de specialitate sunt identificate mai multe potențiale surse de eroare [6] în fiecare fază a etapei de lucru:

pre-analitică

analitică

post-analitică












RECOMANDĂRI pentru evitarea potențialelor surse de eroare care pot apărea în faza preanalitică



IMPORTANT

Fluxul de lucru în laboratorul/compartimentul de Genetică și Biologie moleculară trebuie să fie **UNIDIRECȚIONAL!**

-  **Asigurați spațiul special** pentru recepționarea și înregistrarea probelor biologice.
-  Adecvați **TOATE** echipamentele la scop, întocmiți fișe cu specificații tehnice care să corespundă [6]:
 - numărului estimat de analize medicale solicitate pentru COVID-19;
 - tipului testării de laborator solicitate pentru COVID-19 (rRT-PCR sau teste rapide imunologice);
 - tipului probei biologice recoltate care urmează a fi supusă testării pentru depistarea infectării cu virusul SARS-CoV -2;
 - fazei/procedurii de lucru din laborator;
-  Studiați cu atenție documentele care însoțesc echipamentele, reactivii, consumabilele.
-  Participați și solicitați certificatul care atestă participarea la instruirea privind testarea de laborator pentru depistarea infectării cu virusul SARS-CoV -2.

Cadrul legislativ privind instruirea biologilor chimiștilor și biochimistilor pentru depistarea infectării cu virusul SARS-CoV-2 prin metoda rRT-PCR este ORDONANȚA nr. 129/2000 din 31 august 2000, republicată privind formarea profesională a adulților precizează la art.8, alin.3 lit c) "perfecționarea, respectiv specializarea, reprezintă pregătirea profesională care conduce la dezvoltarea sau completarea cunoștințelor, deprinderilor sau competențelor profesionale ale unei persoane care deține deja o calificare, respectiv dezvoltarea competențelor în cadrul aceleiași calificări, dobândirea de competențe noi în aceeași arie ocupațională sau într-o arie ocupațională nouă, dobândirea de competențe fundamentale/cheie sau competențe tehnice noi."
-  Solicitați managementului de vârf **DECIZIA** prin care sunteți nominalizat privind testarea de laborator pentru depistarea infectării cu virusul SARS-CoV-2, care trebuie menționată în fișa postului actualizată.
-  Solicitați, efectuați și finalizați cu un document (ex. proces verbal semnat atât de către cei care instruiesc cât și de către cei instruiți) instruirea cu reprezentanții firmelor care pun în funcțiune echipamentele de laborator pentru depistarea infectării cu virusul SARS-CoV-2.
-  Decontaminați echipamentele, instrumentele, obiectele, suprafețele, ș.a conform propriilor proceduri de lucru adaptate pandemiei și documentelor de referință internaționale și naționale.
-  Asigurați calibrarea și mentenanța echipamentelor din laborator conform instrucțiunilor producătorului.
-  Realizați un necesar minim estimat periodic și zilnic de consumabile și reactivi încât să nu existe discontinuitate în fluxul de lucru [6].

6



Verificați zilnic stocul de [6]:

- consumabile;

Consumabile critice: vârfurile de pipete sterile cu bariera anti-aerosoli și apa utilizată care trebuie să fie de tip molecular grade, nuclease-free, de calitate precizată în documentele de la producători.

- reactivi.

Reactivii utilizați în lucru trebuie să se afle în termenul de valabilitate, stocați și pregătiți pentru utilizare în conformitate cu indicațiile producătorului [6].



Monitorizați permanent temperatura din frigiderele și congelatoarele unde sunt păstrate/depozitate probele biologice, reactivii și din toate spațiile de lucru care necesită monitorizarea temperaturii.



Asigurați cantitatea și calitatea materialelor de control intern al calității conform:

- indicațiilor producătorilor;
- numărului estimat de analize medicale solicitate pentru COVID-19.



Stocați, pregătiți și utilizați materialele de control intern al calității în conformitate cu indicațiile producătorului;



Asigurați și verificați la recepție calitatea specimenelor/probelor biologice care urmează să fie testate.

Produsele biologice utilizate pentru depistarea SARS-CoV-2 prin metoda rRT-PCR sunt [5]:



Specimen clinic	Rata pozitivizării
Lichid din lavaj bronhoalveolar	93% (14/15)
Spută	72% (72/104)
Exsudat nazal	63% (5/8)
Biopsie din periaj fibrobroncoscopial	46% (6/13)
Exsudat faringian	32% (126/398)
Materii fecale	29% (44/153)
Sânge	1% (3/307)
Urină	0% (0/72)

SURSA: SURSA- I.F.C.C Information Guide on COVID-19 - Monday 20 April updates Published: Thursday, April 16, 2020



Probele biologice trebuie recoltate conform Manualului de recoltare propriu al laboratorului întocmit pe baza documentelor emise de organizațiile și instituțiile naționale și internaționale [6] recomandă strict utilizarea tampoanelor (swab) sintetice și nu acceptă tampoanele de alginat de calciu și tampoanele de bumbac cu ax de lemn care au proprietăți absorbante. [6]

6



Întocmiți instrucțiuni de recoltare a probelor biologice pentru COVID-19.



Difuzăți instrucțiunile pe semnătură, personalului autorizat să recolteze probe biologice în COVID-19.



Instruiți și reinstruiți personalul pentru recoltarea corectă a probelor biologice pentru COVID-19 să:

-respecte tipul recipientului pentru recoltare;

-imerseze tampoanele imediat după prelevarea probei biologice în tuburi sterile conținând 1-3 ml de mediu de transport pentru virusuri; [6]

-identifice corect FIECARE probă biologică;

-transporte în genți frigorifice la laborator [7] probele biologice primare imediat după recoltare conform procedurii de lucru:

-pe pungi de gheață dacă probele biologice urmează a fi refrigerate;

-pe gheață carbonică dacă probele biologice urmează a fi congelate;

-monitorizeze temperatura de transport.



Neasigurarea calității specimenelor/probelor biologice care urmează să fie testate este factorul principal de eroare care influențează calitatea rezultatului testării de laborator pentru depistarea SARS-CoV-2.



Condițiile de respingere de laborator a probelor biologice neconforme sunt descrise în "O.B.B.C.S.S.R- GHID practic orientativ pentru testarea de laborator în COVID-19" [7].



Neasigurarea condițiilor de transport și stocare temporară poate determina rezultate false la depistarea virusului SARS-CoV-2 prin metoda rRT-PCR.



RECOMANDĂRI pentru evitarea potențialelor surse de eroare în faza analitică



Faza analitică se află în totalitate sub controlul specialiștilor din laborator care ar trebui să aibă și să cunoască:

-documentele care însoțesc echipamentele, kit-rile, reactivii, controalele interne, ș.a;

-procedurile de lucru actualizate în contextul pandemiei;

-noțiuni teoretice și practice de la instruirile și reinstruirile periodice conform cu/și pentru respectarea procedurilor de lucru în faza analitică de detectare a virusului SARS-CoV-2.



Asigurați spații de lucru distincte pentru etapele testării în conformitate cu tipul echipamentelor aflate în dotarea laboratorului.



NU înlocuiți și/sau amestecați reactivii proveniți din loturi diferite sau de la producători diferiți;



Păstrați închise sau acoperite cât mai mult timp posibil tuburile de reactivi.

ATENȚIE LA:

- Modul de utilizare a vârfurilor de pipete care trebuie schimbate înaintea fiecărui transfer MANUAL de lichide;
- Folosirea mănușilor de unică folosință **DE TIP POWDER-FREE** (mănuși fără pudră deoarece aceasta poate inhiba PCR), **ÎN PERMANENȚĂ CURATE.**

Permanent trebuie să aveți la îndemână un dezinfectant/decontaminant.

- Menținerea temperaturii în fiecare etapă a testării în conformitate cu indicațiile producătorului kit-ului;
- Efectuarea testării cât mai repede posibil de la momentul recepției probelor biologice în laborator.

Probele biologice decongelate **NU** se recongelează!



Efectuați controlul intern al calității conform instrucțiunilor kit-urilor utilizate de laborator pentru detectia SARS-CoV-2 prin metoda rRT-PCR.

- Controlul intern al calității este **OBLIGATORIU** a fi efectuat și validat conform recomandărilor producătorilor.

Efectuarea controlului intern al calității este utilă pentru, fără a ne limita la:

- depistarea eventualelor contaminări în laborator a probelor biologice;
- verificarea corectitudinii modului de lucru din laborator pentru fiecare serie de probe biologice provenite de la pacienți.

8



RECOMANDĂRI pentru evitarea evitarea potențialelor surse de eroare în faza postanalitică



ASIGURAȚI SPAȚIU CORESPUNZĂTOR pentru toate documentele referitoare la COVID-19: (Politici, Proceduri, Instrucțiuni, Formulare, ș.a).



ASIGURAȚI TRASABILITATEA TUTUROR DOCUMENTELOR de la primirea în laborator a solicitării testării de detectare a virusului SARS-CoV-2 și până la transmiterea rezultatului către autoritățile competente.



Respectați procedura de lucru a laboratorului privind Interpretarea și raportarea rezultatelor.

9

FALSE ALARMS

Rezultate de laborator **fals POZITIVE** în COVID-19



Rezultate **FALS pozitive** pentru COVID-19 pot fi obținute de laborator dacă:

- probele biologice se contaminează la recoltare;

ATENȚIE

La recoltarea probelor biologice pentru **FIECARE pacient** se folosesc mănuși de unică folosință (**NU** se dezinfectează, ci se colectează ca deșeuri potențial periculoase după **FIECARE utilizare**).

9



Probele biologice se contaminează în timpul transportului lor la laborator, de aceea trebuie transportate în recipiente, cutii, lăzi frigorifice pe baza unor proceduri clare și riguros respectate [7].



GHIDUL O.B.B.B.C.S.S.R disponibil public pe www.obbcssr.ro poate fi util.



Probele biologice se contaminează în cadrul laboratorului.

- **FIECARE** recipient cu probă biologică se decontaminează la exterior pentru a evita riscul contaminării încrucișate;
- trebuie respectată procedura de lucru din laborator adaptată pandemiei cu decontaminarea tuturor echipamentelor, a spațiului de lucru, cu utilizarea consumabilelor ș.a.



Etichetarea greșită a probelor sau neasigurarea trasabilității probei biologice în laborator, procese în urma cărora probele biologice nu mai corespund cu rezultatele pacienților [11].

Specialiștii din laborator au un rol important atât prin cunoștințele teoretice dar mai ales prin experiența practică.

10

**FALSE
ALARMS**

Rezultate de laborator **fals NEGATIVE** în COVID-19



Rezultate **FALS negative** pentru COVID-19 pot fi obținute de laborator dacă:



probele biologice recoltate de la pacienți, (ex. exsudatul nazofaringian) nu conțin o cantitate suficientă de ARN viral ceea ce depinde de:

- modul corect de recoltare a probelor biologice de la pacienți (o procedură neplăcută la care este necesară colaborarea pacienților);
- instruirea și corectitudinea recoltării de către personalul instruit pentru a efectua recoltarea în COVID-19;
- timpul scurs de la infectarea cu virusul SARS-CoV-2 în absența/prezența simptomelor care variază extrem de mult de la un pacient la altul.

10



probele biologice nu sunt transportate la laborator în recipiente, cutii, lăzi frigorifice pe baza unor proceduri clare și riguros respectate cu monitorizarea temperaturii de transport (pe pungi de gheață sau pungi de gheață carbonică);



în laborator nu sunt respectate:

- timpul și temperatura de stocare- max. 2 zile la frigider (2-8°C), peste două zile înghețate la -70°C;
- etapele de extracție a ARN-ului viral, sau kit-urile nu respectă specificațiile tehnice solicitate de către specialiștii din laborator: medici, biochimişti, biologi, chimişti.



Specialiștii din laborator au un rol important atât prin cunoștințele teoretice dar mai ales experiența practică. [8]

11



Monitorizarea pacienților cu COVID-19 prin alte teste de laborator



Pe baza experienței practice deja acumulate în lupta cu noul coronavirus se pare că unul din cinci teste de laborator este **FALS negativ** prin testarea rRT-PCR recomandată de Organizația Mondială a Sănătății.



Specialiștii deja propun efectuarea de teste imunologice complementare în funcție de faza de evoluție a bolii COVID-19.

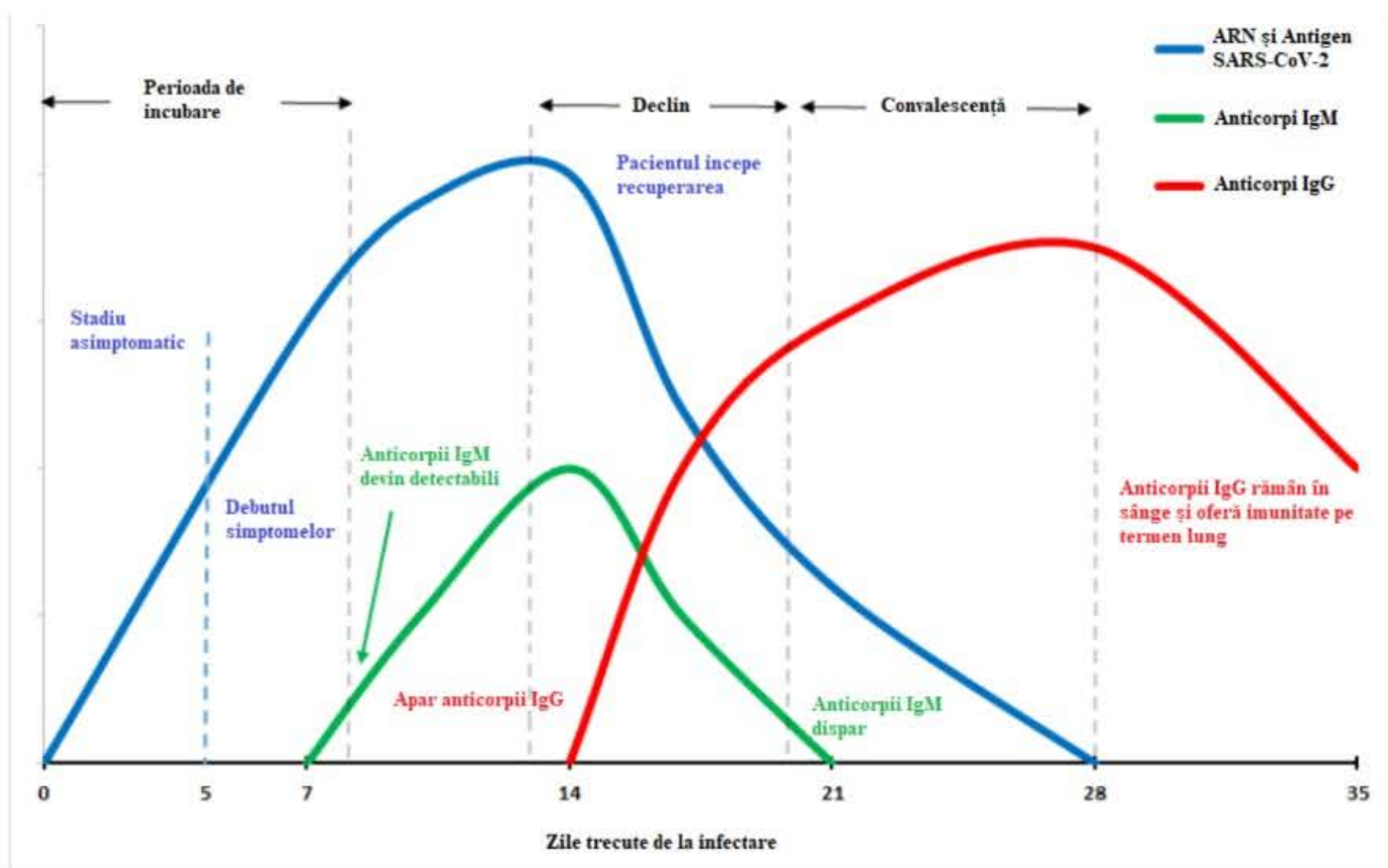


Deși studiile științifice sunt încă în plină desfășurare, se pare că:

- testarea rRT-PCR este utilă pentru diagnosticarea COVID-19 în faza acută a bolii;
- testarea IgM/IgG este utilă pentru diagnosticarea COVID-19 în faza cronică a bolii.



Deoarece timpul exact al infectării unui pacient cu noul coronavirus nu este cunoscut, se pare că cea mai bună soluție de diagnostic în COVID-19 ar putea fi combinarea celor două metode de testare rRT- PCR și IgM/IgG. [8]



Rezultat teste			Semnificație clinică
PCR	IgM	IgG	
+	-	-	Pacientul ar putea fi în perioada de infecție.
+	+	-	Pacientul ar putea fi în perioada de debut a infecției.
+	+	+	Pacientul se află în stadiul activ al infecției.
+	-	+	Pacientul se află într-o stare tardivă sau recurentă a infecției.
-	+	-	Pacientul se află în stadiu tardiv sau recurent al infecției. Rezultatele PCR ar putea fi fals negative
-	-	+	Pacientul a avut o infecție anterioară, dar și-a revenit.
-	+	+	Pacientul se poate afla într-un stadiu de recuperare în urma infecției, sau rezultatele PCR pot fi fals-negative.



Testările imunoserologice pentru identificarea anticorpilor IgM sau IgG produși de către sistemul imunitar al persoanei infectate împotriva virusului SARS-CoV-2 pot să ofere unele avantaje pornind de la faptul că anticorpii, care sunt structuri proteice, au stabilitate mai mare decât ARN-ul. [9]



Probele de sânge necesare testării imunoserologice în COVID-19 sunt mai puțin predispuse la deteriorare în timpul recoltării, transportului sau depozitării decât probele necesare testării de tip rRT-PCR. [9]



De asemenea, alte avantaje ale metodei de testare imunoserologică constau în:

- distribuția mai uniformă a anticorpilor în proba de sânge venos recoltată față de cea a ARN-ului viral în secrețiile nazo-faringiene; [9]
- spre deosebire de testarea rRT-PCR, aceste teste nu pot avea singure valoare diagnostica pentru COVID-19, însă pot să aibă o utilitate bine definită în situațiile în care este necesară testarea la scară largă pentru evaluarea răspunsului imun în populația generală și pentru a identifica eventualii purtători asimptomatici.

Limitările testării imunoserologice [9]



Testarea imunoserologică are însă și ea limitări datorate în principal ritmului de atingere a nivelurilor detectabile de anticorpi în sânge.



Anticorpii împotriva SARS-CoV-2 pot să nu fie detectați mai repede de 3 zile din momentul instalării simptomelor de boală, sau prin extensie, mai repede de 7-10 zile din momentul infectării, pacientul fiind contagios o mare parte a acestui interval de timp. [9]



Spre deosebire de testarea rRT-PCR, aceste teste nu pot fi singure diagnostice pentru COVID-19, însă pot să aibă o utilitate bine definită în situațiile în care este necesară testarea la scară largă pentru evaluarea răspunsului imun general la virus și pentru a identifica eventualii purtători asimptomatici. [9]



În cazul COVID-19 se estimează că procentul persoanelor asimptomatice poate varia între 20%-80% în diferite populații studiate. [9]



Utilizarea combinată a testării rRT-PCT și a testelor imunoserologice poate să aibă avantaje superioare utilizării separate a acestora prin precizarea nu numai a diagnosticului de certitudine dar și a diverselor episoade de evoluție a bolii în care s-ar afla pacientul testat în mod combinat, după cum se poate observa în tabelul de mai jos:

Rezultate teste			Semnificație clinică
rRT-PCR	IgM	IgG	
+	-	-	Pacientul poate fi în "fereastra serologică" a infecției (debut recent)
+	+	-	Pacientul poate fi în etapa precoce a infecției
+	+	+	Pacientul poate fi în etapa activă a infecției
+	-	+	Pacientul poate fi în etapa târzie a infecției
-	+	-	Pacientul poate fi în etapa precoce a infecției. Rezultatul rRT-PCR poate fi fals negativ.
-	-	+	Pacientul poate a avut infecție de care s-a vindecat.
-	+	+	Pacientul poate fi în etapa de vindecare a infecției sau rezultatul rRT-PCR poate fi fals negativ.

Rolul esențial al laboratoarelor clinice în această pandemie se extinde dincolo de diagnosticul etiologic al COVID-19.



Monitorizarea biochimică a pacienților cu COVID-19 prin teste de diagnostic in vitro este esențială pentru evaluarea gravității și evoluției bolii, precum și pentru monitorizarea conduitei terapeutice.



I.F.C.C. a publicat în martie 2020 [10] o listă de teste cu utilitate de diagnostic in-vitro, relevante pentru evoluția nefavorabilă a COVID-19, oferind informații potențial importante despre prognosticul bolii.



I.F.C.C a publicat o listă de teste recomandată bazată pe literatura actuală împreună cu anomaliile majore de laborator asociate testării pacienților adulți cu COVID-19 și potențialele implicații clinice ale acestora.



Testele pentru citokine, în special IL-6, trebuie utilizate, atunci când este posibil, pentru a evalua pacienții aflați în stare gravă.



Important, spre deosebire de adulți, profilul de laborator la pacienții pediatrici cu o boală COVID-19 severă, nu este clar și nu pare a fi în concordanță cu SARS. [10]

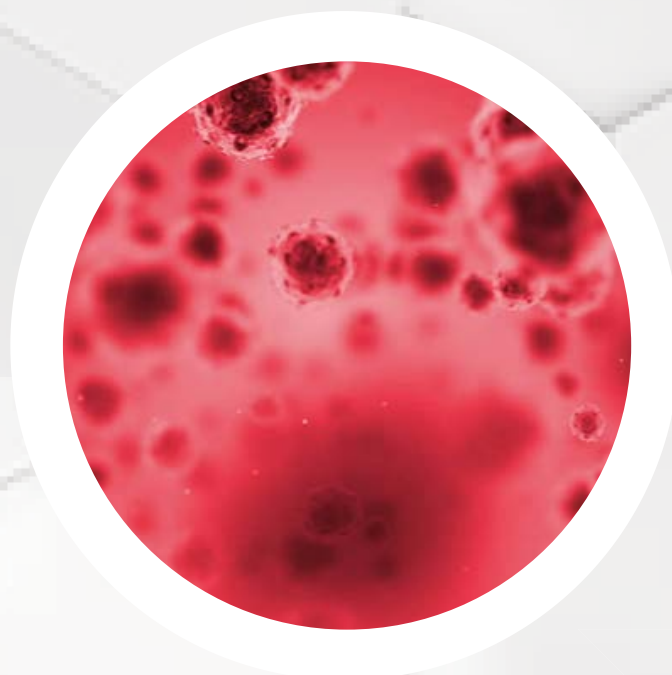
Analiză de laborator	Principalele anomalii de laborator observate la pacienții adulți cu progresie COVID-19 nefavorabilă (modificat de la 1-10)	Potențială semnificație clinică și biologică (Modificat de la 3)
Hemoleucograma cu formula completă	Creșterea globulelor albe din sânge Creșterea numărului de neutrofile Scăderea numărului de limfocite Scăderea numărului de trombocite	Suprainfecție bacteriană Suprainfecție bacteriană Scăderea răspunsului imunologic la virus Coagulopatie (diseminată) de consum
Albumină	Scăzut	Afectarea funcției hepatice
Lactat Dehidrogenază	Creșterea	Leziuni pulmonare și / sau leziuni multiple de organ
Alanina Aminotransferaza	Creșterea	Leziuni hepatice și / sau leziuni multiple de organ
Aspartat aminotransferaza	Creșterea	Leziuni hepatice și / sau leziuni multiple de organ
Bilirubina totală	Creșterea	Leziuni hepatice
Creatinina	Creșterea	Leziuni renale
Troponină cardiacă	Creșterea	Leziuni cardiace
D-dimer	Creșterea	Activarea coagulării sângelui și / sau a coagulopatiei diseminate
Timpul protrombinei	Creșterea	Activarea coagulării sângelui și / sau a coagulopatiei diseminate
Procalcitonina	Creșterea	Suprainfecție bacteriană
Proteina C-reactivă	Creșterea	Infecție virală severă / viremie / sepsis viral
Feritina	Creșterea	Inflamație severă
Citokine (IL-6)	Creșterea	Sindromul furtunii de citokine

SURSA:

GHIDUL FEDERAȚIEI INTERNAȚIONALE DE CHIMIE CLINICĂ ȘI MEDICINĂ DE LABORATOR (I.F.C.C) DE INFORMARE PRIVIND COVID-19 PUBLICAT ÎN 26.03.2020

BIBLIOGRAFIE

- [1] Wikipedia accesată în data de 17.04.2020;
- [2] RAPORTULDEGARDA.RO- Testarea pentru #COVID-19: ce presupune tehnica PCR, ce țări și-au dezvoltat capacitatea proprie de testare și cum este influențată mortalitatea;
- [3] OMS 1301/2007;
- [4] Legea 460/2003;
- [5] WHO Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. Interim guidance. <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-2020011> (Ghidul OMS privind testele de laborator utilizate pentru depistarea noului coronavirus publicat în 19 martie 2020);
- [6] CDC-006-00019, Revision: 03 CDC/DDID/NCIRD/Division of Viral Diseases Effective: 3/30/2020 CDC 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV), Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel;
- [7] O.B.B.C.S.S.R- GHID practic orientativ pentru testarea de laborator în COVID-19;
- [8] www.diazyme.com/covid-19-antibody-tests;
- [9] DOC.RO- Testarea diagnostică în COVID-19: principii și aplicabilitate;
- [10] Ghidul Federației Internaționale de Chimie Clinică și Medicină de Laborator (IFCC) de informare privind COVID-19 publicat în 26.03.2020;
- [11] www.co.monterey.ca.us/home/showdocument?id=16826;
- [12] ORDONANȚA Nr. 129/2000 din 31 august 2000, republicată privind formarea profesională a adulților.





Dr. Constanța Popa

Calificări profesionale

• Licențiat în domeniul Chimie, Specializarea Chimie –Univ.București, Fac. de Chimie
NOTĂ: "Din anul 1977 (în urma prăbușirii la cutremur a clădirii Fac.de Chimie) până în anul 1990 Fac.de Chimie din cadrul Univ.București a fost inclusă în cadrul Inst.Politehnic "Ghe.GHe.Dej" din București, sub denumirea de Fac.de Tehnologie Chimică

- Chimist medical principal specialitatea Biochimie Medicală
- Formator acreditat de MS în Managementul serviciilor paraclinice medico-sanitare
- Competența în Managementul Serviciilor de Sănătate
- Doctor în Medicină
- Lector univ. dr. Univ. Buc. Fac. Biologie, disciplina Managementul Calității pentru laboratoarele de analize medicale
- Specialist European în Medicină de Laborator (EuSpLM)

Funcții/calități actuale:

- Președinte al Ordinului Biochimiștilor, Biologilor și Chimiștilor în sistemul sanitar din România (O.B.B.C.S.S.R);
- Președinte – Manager al Asociației pentru Calitate în Laboratoare (CALILAB);
- Președinte al Comisiei Profesional Științifice Învățământ și Legislație a OBBCSSR;
- Membru a Organizației Europene pentru furnizorii externi de asigurare a calității în medicina de laborator (EQALM);
- Membru al Federației Europene de Chimie Clinică și Medicină de Laborator (EFLM);
- Membru și reprezentatul O.B.B.C.S.S.R la Federația Internațională de Chimie Clinică și Medicina de Laborator (IFCC);
- Evaluator în cadrul Corpului de evaluatori al Comisiei Naționale de Acreditare a Spitalelor (CoNas);
- Redactor Șef al Revistei Romane de Laborator Medical.