

Metodologia de supraveghere a sindromului respirator acut cu noul coronavirus (COVID-19)

Actualizare 18.11.2020

I. Denumirea si incadrarea bolii

Sindromului respirator acut cu noul coronavirus (COVID-19) i-au fost atribuite urmatoarele coduri CIM:

- U07.1 - COVID-19 cu virus identificat = valabil pentru cazurile

CONFIRMATE

- U07.2 - COVID-19 cu virus neidentificat = valabil pentru cazurile SUSPECTE

Codificarea CIM-10 a COVID-19 in functie de tabloul clinic a fost comunicata tuturor directiilor de sanatate publica judetene si a mun.Bucuresti.

Raportarea cazurilor **confirmate** in **Registrul Unic de Boli Transmisibile (RUBT)** si la **CNSISP** se va face ca “*eveniment neobisnuit / nesteptat*”.

II. Fundamentare initiala

2019-nCoV (devenit ulterior **SARS-CoV-2**) este o noua tulpina de coronavirus care nu a fost identificata pana acum la oameni. Izbucnirile de infectii cu coronavirusuri noi in randul oamenilor sunt intotdeauna de importanta pentru sanatatea publica si genereaza ingrijorare.

Primele cazuri din EU/EEA au fost confirmate in *Franta*. ECDC considera ca *este probabila o raspandire viitoare la nivel global*.

Transmiterea inter-umana a fost confirmata, dar este nevoie de mai multe informatii pentru a evalua dimensiunea acestei transmiteri. Tarile EU/EEA ar trebui sa se asigure ca masurile rapide si riguroase de prevenire si control al infectiei sunt aplicate in jurul cazurilor detectate in EU/EEA, pentru a preveni viitoarea transmitere inter-umana sustinuta in comunitate si in unitatile sanitare.

Adaptat dupa ECDC: www.ecdc.europa.eu/en/novel-coronavirus-china

In acest context, este absolut necesara implementarea sistemului de supraveghere a infectiei umane cu noul coronavirus (2019-nCoV-devenit ulterior SARS-CoV-2) in Romania.

III. Scop:

- Cunoasterea situatiei epidemiologice a Sindromului respirator acut cu noul coronavirus (COVID-19) in Romania si recomandarea de masuri / interventii pentru prevenirea aparitiei de cazuri secundare sau a unei epidemii pe teritoriul Romaniei

IV. Obiectiv:

- Stabilirea parametrilor epidemiologici de baza ai infectiei cu SARS-CoV-2:
- Caracteristicile de persoana, loc si timp ale cazurilor;
- Tabloul clinic de baza (semne si simptome);
- Conditii fiziologice si medicale pre-existente;
- Evolutia clinica, rezultatul acesteia si severitatea;
- Expuneri si istoricul de calatorie

Informatiile obtinute prin activitatile de supraveghere vor fi utilizate si pentru evaluarea de risc nationala, precum si in luarea deciziilor in cadrul raspunsului.

V. Definitii de caz pentru Sindromul respirator acut cu noul coronavirus (COVID-19)

Caz suspect

Orice persoană cu debut brusc de **febră ȘI tuse**

SAU

Orice persoană cu debut brusc al **ORICĂROR 3 SAU MAI MULTE** dintre următoarele semne și simptome:

febră, tuse, astenie, cefalee, mialgii, dureri în gât, coriză, dispnee, anorexie / grețuri / vărsături, diaree, status mental alterat, debut recent de anosmie (pierderea mirosului) sau ageuzie (pierderea gustului) in absența unei cauze identificate

SAU

Orice persoana cu **pneumonie, bronhopneumonie +/- pleurezie**

SAU

Orice persoana cu **infecție respiratorie acută severă (SARI)** (febră sau istoric de febră **ȘI** tuse **ȘI** dificultate în respirație (**scurtarea respirației**) **ȘI** care necesită spitalizare peste noapte)

Notă:

Pentru **copiii cu vârsta pana la 16 ani** care prezintă manifestări gastro-intestinale (vărsături, diaree) neasociate cu alimentația, se poate suspecta infecția cu SARS-CoV-2.

Caz probabil

- A. Un pacient care întrunește criteriile clinice de mai sus **ȘI** este contact al unui caz confirmat sau are legătură epidemiologică cu un focar cu cel puțin un caz confirmat

Notă:

În conformitate cu Recomandările de prioritizare a testării pentru COVID-19, toți contacții direcți simptomatici ai cazurilor confirmate trebuie testați.

Clasificarea în caz probabil pentru varianta A. va fi făcută doar în situația în care strategia de testare se modifică.

- B. Un caz suspect cu **imagine pulmonară sugestivă** pentru COVID-19:
- *Rx pulmonară*: opacități neclare, frecvent rotunde, cu distribuție periferică inferioară;
 - *CT pulmonară*: multiple opacități bilaterale cu aspect de sticlă mărunțită, frecvent rotunde, cu distribuție periferică inferioară;
 - *echografie pulmonara*: linii pleurale îngroșate, linii B (multifocale, discrete sau confluențe), tipare de consolidare cu sau fără bronhograme;
- C. Un adult decedat fără o cauză explicabilă, cu insuficiență respiratorie care a precedat decesul ȘI care a fost în contact cu un caz confirmat sau care a avut legătură epidemiologică cu un focar cu cel puțin un caz confirmat

Caz confirmat

O persoană cu confirmare în laborator prin RT-PCR a infecției cu SARS-CoV-2, indiferent de semnele și simptomele clinice.

Contactul direct este definit ca:

- Persoană care locuiește **în aceeași gospodărie** cu un pacient cu COVID-19;
- Persoană care a avut **contact fizic direct** cu un caz de COVID-19 (ex. strângere de mână fără igiena ulterioară a mâinilor);
- Persoană care a avut **contact direct neprotejat cu secreții infecțioase** ale unui caz de COVID-19 (ex. în timpul tusei, atingerea unor batiste cu mâna neprotejată de mănușă);
- Persoană care a avut **contact față în față** cu un caz de COVID-19 la o **distanță mai mică de 2 m** și cu o durată de **minimum 15 minute**;

- Persoană care s-a aflat **în aceeași încăpere** (ex. sala de clasă, sală de ședințe, sală de așteptare din spital) cu un caz de COVID-19, **timp de minimum 15 minute și la o distanță mai mică de 2 m**;
- Persoană din rândul **personalului medico-sanitar** sau **altă persoană care acordă îngrijire directă** unui pacient cu COVID-19 sau o persoană din rândul **personalului de laborator** care manipulează probe recoltate de la un pacient cu COVID-19, fără portul corect al echipamentului de protecție.

Legătura epidemiologică ar fi putut avea loc în perioada de **14 zile anterioare** datei debutului.

Orice persoană care a purtat masca/echipamentul de protecție corespunzător și a respectat distanțarea fizică NU ESTE CONSIDERATĂ CONTACT DIRECT.

Definițiile COVID-19 comunitar sau IAAM

Un caz COVID-19 poate fi de origine **comunitară** sau **asociat asistenței medicale (IAAM)**, în funcție de:

- numărul de zile anterioare datei debutului sau a confirmării în laborator, după data internării într-o unitate sanitară (spital, centru de dializă), centru rezidențial de sedere prelungită (ziua 1);
- argumentele din investigația epidemiologică privind originea comunitară sau IAAM (apartenența cazului la focare de infecții cu una sau alta dintre origini)

Pot exista următoarele situații:

- **Caz COVID-19 comunitar**

- simptome prezente la internare sau debut în primele 48 de ore după internare;
- debut în zilele 3-7 după internare și o suspiciune puternică de transmitere comunitară (apartenența la un focar de cazuri comunitare);

- **Caz COVID-19 asociat asistenței medicale (IAAM)**

- debut după 48 ore de la internare și o suspiciune puternică de transmitere asociată asistenței medicale;
- cazurile la personalul medico-sanitar și auxiliar, dacă nu există argumente puternice în favoarea unei transmiteri comunitare;

Cazurile cu debut în primele 14 zile după externarea dintr-o unitate sanitară pot fi:

- IAAM, dacă debutul are loc în primele 48 de ore după externare;
- cu origine incertă, în cazul debutului la 3-14 zile după externare, dacă nu există argumente puternice în favoarea unei origini comunitare sau IAAM

Atribuirea unei categorii de transmitere sau alteia ar trebui făcută după o evaluare atentă a fiecărui caz în parte.

Deces la pacient confirmat cu COVID-19

Decesul cu COVID-19 este definit ca decesul survenit la un pacient confirmat cu COVID-19, cu excepția situațiilor în care există o altă cauză clară de deces care nu poate fi în relație cu COVID-19 (ex.traumatism, hemoragie acută majoră, etc) și la care nu a existat o perioadă de recuperare completă între boală și momentul decesului.

Decesul la un pacient confirmat cu COVID-19 nu poate fi atribuit unei boli pre-existente (de ex. cancer, afecțiuni hematologice etc.) și COVID-19 trebuie raportată ca și cauza a decesului, **independent de condițiile medicale pre-existente** care se supectează că au favorizat evoluția severă a COVID-19.

COVID-19 trebuie menționată pe certificatul de deces drept cauză a decesului pentru toate persoanele decedate la care COVID-19 a cauzat sau se presupune că a cauzat sau a contribuit la deces.

De asemenea, mentionam ca, potrivit Ordinului MS nr.961/2020 pentru modificarea și completarea Ordinului ministrului sănătății nr. 555/2020 privind aprobarea Planului de măsuri pentru pregătirea spitalelor în contextul epidemiei de coronavirus COVID-19, a Listei spitalelor care asigură asistența medicală pacienților testați pozitiv cu virusul SARS-CoV-2 în faza I și în faza a II-a și a Listei cu spitalele de suport pentru pacienții testați pozitiv sau suspecti cu virusul SARS-CoV-2, cazurile confirmate COVID soldate cu deces la care testele RT-PCR în dinamică din spută/aspirat bronșic sunt negative (2 teste) pot fi considerate deces datorat infecției cu SARS-CoV-2 dacă clinicianul evidențiază semne și simptome înalt sugestive și decesul este corelat cu evoluția clinică determinată de COVID. În situația în care apare necesitatea clarificării cauzei decesului, se indică examene RT-PCR din țesut pulmonar recoltat de către medicul specialist anatomie patologică/medicină legală fără a fi necesară necropsia."

Criterii pentru initierea testării pentru SARS-CoV-2

Confirmarea promptă a **cazului suspect** este necesară pentru a asigura, rapid și eficient, supravegherea epidemiologică a contactilor, implementarea măsurilor de prevenire și control al infecției, precum și colectarea informațiilor epidemiologice și clinice relevante.

Recomandări de prioritizare a testării prin RT-PCR pentru COVID-19:

1. Persoane simptomatice, inclusiv personal medico-sanitar și auxiliar, conform definiției de caz;
2. Persoane cu rezultat pozitiv la testul pentru antigenul SARS-CoV-2;
3. Contacti direcți simptomatici ai cazurilor confirmate;
4. Pacienți **cu maximum 48 de ore înainte** de procedura de transplant (asimptomatici) și donatorii de organe, țesuturi și celule stem hematopietice înainte de donare; pacienți cu transplant de organe, țesuturi și celule stem hematopietice aflați în tratament imunosupresor, înaintea fiecărei internări din perioada de monitorizare post-transplant – 2 teste la 24 de ore interval;

5. Echipele medicale de prelevare a organelor pentru transplant care se deplaseaza de la centrul de transplant in centrele de prelevare – la fiecare 2 saptamani;
6. Pacienți asimptomatici cu imunosupresie în contextul bolii sau indusă medicamentos, **cu maximum 48 de ore înainte** de internarea în spital;

În acest context, termenul de imunosupresie se referă la: chemoterapia citotoxică, agenți biologici cu acțiune prelungită, imunoterapie celulară și doze mari de glucocorticoizi, conform ghidului Societății Americane de Boli Infecțioase (6.05.2020), accesat la <https://www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-diagnostics/>

7. Pacienți oncologici asimptomatici aflați în curs de chimioterapie și/sau radioterapie:
 - Pacienți oncologici asimptomatici aflați în curs de **chimioterapie – cu maximum 48 de ore înainte** de fiecare cura, respectiv de fiecare prezentare la spital pentru monitorizare;
 - Pacienți oncologici asimptomatici aflați în curs de **radioterapie – înainte de prima ședință și apoi la 14 zile, până la terminarea curei;**
8. Pacienți oncologici asimptomatici înainte de intervenții operatorii sau manevre invazive, **cu maxim 48 de ore înaintea intervenției/manoperei;**

Notă:

Cu referire la punctele 6., 7. și 8., în cazul pacienților copii care se internează cu însoțitor, se testează și însoțitorul.

9. Pacienti hemodializați asimptomatici - de 2 ori pe luna;
 - Pacienti hemodializați asimptomatici contactți cu caz confirmat, 2 testări la 6-7 zile interval între ele;
10. Pacienti hemodializați simptomatici;
11. Persoane instituționalizate asimptomatice – de 2 ori pe lună;
12. Personalul de îngrijire din centre rezidențiale – săptămânal;
13. Gravidele asimptomatice care se află în carantină / izolare la domiciliu sau au fost contact direct cu un caz confirmat – în ziua 14, dacă nu au devenit simptomatice;
14. Personal medico-sanitar si auxiliar asimptomatic contact direct cu caz confirmat, în a 6-7 zi de la ultimul contact posibil infectant**;

** În perioada imediată contactului posibil infectant și până la primirea rezultatului de laborator, personalul medico-sanitar și auxiliar își va desfășura activitatea cu respectarea măsurilor de protecție standard.

Cazurile pozitive simptomatice sau asimptomatice din rândul personalului sanitar vor respecta procedurile de izolare impuse și pentru restul persoanelor infectate.

Modificarea contextului epidemiologic poate duce la revizuirea acestor recomandări.

Unitățile medicale pot stabili protocoale de testare pentru personalul medical și/sau pacienți prin tehnici de RT-PCR, suplimentar față de aceste recomandări, care pot fi realizate cu resurse proprii, în laboratoarele pe care le dețin sau în alte laboratoare.

Ministerele cu rețea sanitară proprie pot stabili protocoale de testare pentru personalul propriu, în funcție de specificul activității.

În aceste cazuri, unitățile sanitare își vor efectua propria anchetă epidemiologică și vor adopta măsuri de limitare a infecției, acțiuni ce intră în responsabilitatea directă a managerului.

Raportul anchetei epidemiologice va fi trimis în termen de **24 de ore** direcției de sănătate publică a județului de apartenență a cazului.

Investigații de laborator

Este necesară **recoltarea de probe** conform **Anexei 1** și trimiterea lor către laborator, însoțite de **Formularul de însoțire probe recoltate de la cazul suspect de COVID-19** din **Anexa 2**.

Probele respiratorii recoltate vor fi trimise la unitățile de specialitate care efectuează testare RT-PCR pentru identificarea SARS-CoV-2, menționate în Normele tehnice de realizare a PNS.

Personalul de laborator va respecta cu strictețe precauțiile necesare prevenirii îmbolnăvirilor cu SARS-CoV-2.

Metoda de testare este cea de amplificare a acizilor nucleici (NAAT), precum RT-PCR. Pacienții pot fi testați și pentru alți patogeni respiratori, dar acest lucru nu trebuie să întârzie testarea pentru SARS-CoV-2.

Deoarece coinfecțiile sunt posibile, pacienții care îndeplinesc definiția de caz ar trebui testați pentru SARS-CoV-2 indiferent de prezența unui alt patogen respirator.

Setul minim de probe recomandat a se preleva pentru diagnostic include:

- Probe din tractul respirator **superior** (tampon sau spălătură nazofaringiană și orofaringiană) sunt recomandate pentru testare la debutul infecției, în principal la cazurile asimptomatice sau ușoare. Testarea combinată a probelor nazofaringiene și faringiene crește sensibilitatea detecției virusurilor respiratorii. Astfel, se recomandă utilizarea de *tampoane de Dacron sau poliester, cu tija de plastic* și descărcarea ambelor tampoane de exsudat nazofaringian și faringian, în (aceiași) tub cu mediu de transport pentru virusuri (VTM).

și/sau

- Probe din tractul respirator **inferior** sunt recomandate în stadiile avansate de boală sau la pacienții cu suspiciune înaltă de infecție și

rezultate negative din probele respiratorii superioare. Se pot preleva: spută, dacă este produsă spontan (nu se recomandă sputa indusă din cauza riscului crescut de transmitere prin aerosoli) și/sau aspirat endotraheal sau lavaj bronhoalveolar, prelevate de la pacienții cu afectare respiratorie acută **severă**.

De la **decesele** înregistrate la cazuri suspecte de COVID-19 se vor recolta probe necroptice de plămân care vor fi trimise la laborator pentru diagnostic virologic. Recoltarea nu este, de regulă, necesară pentru cazurile confirmate anterior, pe baza exsudatului nazal, faringian sau a aspiratului traheo-bronșic și nici la cazurile cu rezultat negativ pentru virus SARS-CoV-2 în aceste probe.

Detalii privind recoltarea produselor patologice și testele de laborator se regăsesc în **Anexa 2**.

VI. Tip supraveghere: bazată pe caz, pasiv-activă

VII. Populație: toate persoanele cu rezidență / aflate în vizită în România

VIII. Perioada: permanent

IX. Date de raportare:

- Cele din platforma corona forms, pentru cazuri **confirmate**: nume, prenume, CNP, județul și localitatea de infectare, ocupația (ex. personal medico-sanitar), legătura epidemiologică, data și locul internării, data și locul decesului, comorbidități și complicații;

A se vedea și X. Circuit informațional și feedback informațional

X. Circuit informațional și feedback informațional

Nivelul periferic: spitale

- raportează la DSP **imediat, telefonic, decesele** înregistrate la cazuri **confirmate** cu COVID-19;
- recoltează și testează / trimite probele biologice la laborator, însoțite de formularul de însoțire probe din Anexa 2, document **obligatoriu**;

Nivelul periferic: laboratoare care efectuează investigații pentru COVID-19, prin RT-PCR:

- Pentru toate probele recoltate (la cerere sau conform metodologiei), laboratoarele vor introduce toate datele din formularul prevăzut în anexa nr. 1 a Ord. MS nr. 1.829/2020 pentru aprobarea fluxului informațional utilizat în raportarea datelor referitoare la infecția cu virusul SARS-CoV-2, precum și rezultatele testelor după fiecare tranșă de lucru în aplicația informatică Corona Forms, potrivit procedurii tehnice elaborate de STS, în maximum 24 de ore de la primirea probei la laborator;

- **raportarea testarilor efectuate pentru COVID-19 zilnic**, in intervalul orar 8-9, pentru ziua precedenta, in platforma MS;
- **raportarea testarilor efectuate pentru COVID-19 zilnic**, până la ora 9.00, în cazul laboratoarelor care nu au posibilitatea de raportare direct în platformă, pentru ziua precedentă, la INSP-CNSCBT, către adresa de e-mail raportare_covid@insp.gov.ro;

Asa dupa cum s-a mentionat si in algoritmul de testare, internare si externare, **cazurile de pneumonie si cazurile de SARI fără alta etiologie (ex.gripala)**, din **TOATE** categoriile de varstă și din **TOATE** spitalele vor fi **testate pentru COVID-19**.

La cazurile suspecte/confirmate cu COVID-19 depistate in sentinela SARI se completeaza si Fisa de supraveghere a cazului de SARI (Infecție Respiratorie Acuta Severa).

Nivelul periferic: cabinete de medicina de familie, alte cabinete medicale

- izoleaza si aplica masca pe nas si gura cazului suspect;
- apeleaza 112;
- raporteaza la DSP **imediat, telefonic**, setul minim de date pentru cazul suspect: nume, prenume, CNP, numar telefon, data debutului, simptome (in raport cu definitia de caz), legatura epidemiologica (contact cu caz confirmat), ocupatia (ex. personal medico-sanitar);
- trimite cazul suspect, cu ambulanta, la spital;
- raporteaza **imediat, telefonic**, la DSP, **decesele** înregistrate la cazuri suspecte/confirmate cu COVID-19;

Nivelul local: DSP judeteană / a Mun.Bucuresti (DSP)

- raporteaza **imediat** in platforma STS rezultatul **pozitiv**;
- introduce in maximum **24 de ore** restul de date solicitate pentru cazul nou confirmat in platforma STS;
- declanseaza investigatia epidemiologica la cazul **CONFIRMAT in maximum 24 de ore**;
- raporteaza la CNSCBT, **imediat** dupa depistare, orice **focar cu minimum 3 cazuri**, inclusiv masurile recomandate/implementate;
- declanseaza imediat investigatia epidemiologica pentru clustere;
- raporteaza **imediat, telefonic**, la CNSCBT, **decesele** înregistrate la cazuri suspecte/confirmate cu COVID-19;
- declanseaza imediat investigatia epidemiologica pentru cazul decedat;
- primesc rezultatele testarilor de la laboratoarele cu care se afla in contract;

Nivelul regional: CRSP

- intervine in desfasurarea investigatiei epidemiologice a clusterelor / izbucnirilor si acorda asistenta tehnica la **solicitarea DSP** din teritoriul arondat sau la solicitarea **CNSCBT**;

Nivelul national: CNSCBT

- verifica introducerea in platforma STS, de catre DSP, a datelor si informatiilor referitoare la cazuri confirmate si focare;
- trimite zilnic la MS, la ora 12, raportarea privind **testele efectuate in laboratoare si stocurile de kituri de testare**;
- efectueaza analiza epidemiologica a bazei nationale de date si transmite rezultatul acesteia catre MS-DGAMSP, CRSP si DSP;
- Raporteaza cazurile **confirmate** in TESSy, pe baza informatiilor existente in platforma corona forms;
- Pune la dispozitia biroului IHR din INSP informatiile solicitate de WHO-IHR.

Biroul Punct Focal National pentru RSI (2005):

Pune la dispozitia CNSCBT informatiile actualizate zilnic privind numarul de cazuri si participa la evaluarea de risc nationala.

XI. Masuri de control

Se instituie imediat dupa depistarea cazului suspect de COVID-19, fara asteptarea rezultatelor de laborator !

1) Atitudinea fata de caz :

Un caz este considerat **infectios** cu 2 zile inaintea debutului si inca 14 zile dupa debut.

Sunt necesare urmatoarele:

- **izolarea** cazului suspect si a cazului confirmat;
- aplicarea **precautiunilor de transmitere prin picaturi, prin contact si, dupa caz, aerogena**, precum si a celor **universale, pe tot parcursul internarii**;
- **instruirea personalului** care acorda ingrijire cazului suspect / confirmat de catre medicul epidemiolog de spital si la fiecare schimbare a turei, de catre coordonatorul echipei precedente;
- **cohortarea** cazurilor suspecte si a personalului care le ingrijeste;

2) Atitudinea fata de contactii directi:

Definitia **contactului direct** a fost mentionata la pct. V. Definitiiile de caz pentru Sindromul respirator acut cu noul coronavirus (COVID-19).

Atitudinea fata de acestia va fi cea stabilita prin legislatia in vigoare.

3) Atitudinea fata de clusterelor cu minimum 3 cazuri:

Declansarea investigatiei epidemiologice de catre DSP se va face imediat dupa raportarea clusterului la DSP / dupa identificarea clusterului de catre DSP si dupa raportarea lui, de catre DSP, la CNSCBT.

Depistarea unui cluster necesita investigatie epidemiologica aprofundata efectuata de DSP, eventual cu asistenta tehnica din partea CRSP, la solicitarea DSP sau a CNSCBT.

Informatiile despre *cluster* (DSP, localizarea clusterului – localitate, ce comunitate/ce spital, data de debut a primului caz si al celui mai recent caz din cluster) si *masurile recomandate* vor fi comunicate catre CNSCBT si CRSP, **in ziua depistarii de catre DSP.**

4) Atitudinea fata de persoanele care sosesc dintr-o călătorie internațională

Atitudinea fata de acestea va fi cea stabilita prin legislatia in vigoare.

XII. Analiza epidemiologica recomandata:

- numar de cazuri depistate **zilnic si saptamanal**, pe grupe de varsta, sex, medii si arie geografica: judet / arondare CRSP / nationala;
- numar de cazuri depistate zilnic si saptamanal, in functie de *clasificarea* in suspecte/ probabile/confirmate;
- rata de fatalitate **saptamanala** si rata **cumulata** de fatalitate (cazuri probabile sau confirmate);
- rata de mortalitate **saptamanala** si rata **cumulata** de mortalitate (cazuri probabile sau confirmate);
- rata de atac in caz de epidemii

XIII. Indicatori de evaluare a sistemului de supraveghere:

- % din judete care raporteaza corect (complet si la timp) la CRSP si CNSCBT;
- % din cazurile suspecte/probabile la care investigatia epidemiologica a fost declansata **imediat** de catre medicul epidemiolog;
- % din cazurile suspecte care au fost **confirmate**;
- % din cazurile confirmate cu *sursa de infectie* cunoscuta (cazul *index* confirmat identificat)

Dr.Adriana Pistol
Dr.Odette Popovici
Dr.Teodora Vremeră

PRELEVAREA, TRANSPORTUL ȘI INVESTIGAREA PROBELOR BIOLOGICE PENTRU DIAGNOSTICUL INFECȚIEI cu SARS-CoV-2

De la pacienții care întrunesc criteriile definiției de caz și de la celelalte categorii de persoane menționate în secțiunea “Recomandări de prioritizare a testării pentru COVID-19”, se vor preleva probe respiratorii (Tabel I), după cum urmează:

- Tampon sau spălătură nazofaringiană și orofaringiană la pacienți cu forme clinice medii, ușoare și de la asimptomatici;
- Spută și/sau aspirat endotraheal sau lavaj bronhoalveolar la pacienții cu forme clinice severe, după caz;
- Suplimentar: probe de sânge, materii fecale, probe necroptice

Este recomandată prelevarea unui volum suficient de probă pentru realizarea de teste multiple.

Tabel I. Recomandări privind prelevarea probelor la pacienții simptomatici, precum și la contactii asimptomatici

Tipul probei	Instrument prelevare	Transport și conservare
Tampon nasofaringian și orofaringian	Tampon din Dacron sau poliester cu mediu de transport pentru virusuri (VTM)*	≤12 zile: 2-8°C >12 zile:-70°C (transport pe gheață carbonică)
Lavaj bronho-alveolar	Recipient steril cu VTM**	≤2 zile: 2-8°C >2 zile:-70°C (transport pe gheață carbonică)
Aspirat endotraheal, aspirat sau spalatură nazofaringiană sau nazală	Recipient steril cu VTM**	≤2 zile: 2-8°C >2 zile:-70°C (transport pe gheață carbonică)
Spută	Recipient steril	≤2 zile: 2-8°C >2 zile:-70°C (transport pe gheață carbonică)
Probe de țesut obținute prin biopsie sau necropsie (inclusiv țesut pulmonar)	Recipient steril cu ser fiziologic sau VTM	≤24 ore: 2-8°C >24 ore:-70°C (transport pe gheață carbonică)
Sânge integral	Tuburi recoltare sânge	≤5 zile: 2-8°C >5 zile:-70°C (transport pe gheață carbonică)

* Se va evita înghețarea/dezghetarea repetată a probelor. Dacă nu este posibilă conservarea la temperatura de -70°C, proba se poate menține la -20°C

**Transportul probelor destinate detecției virale se va face în mediu suplimentat cu antifungice și antibiotice (VTM – *viral transport medium*). Dacă nu este disponibil VTM, se pot folosi alte soluții, după validare, precum: PBS (tampon fosfat salin), ser fiziologic, MEM (*minimum essential medium*, cu stocare la +4°C timp de 7-14 zile).

**Dacă nu este disponibil VTM, se poate folosi ser fiziologic, dar în acest caz stabilitatea probei la 2-8°C poate fi diferită de cea menționată în tabel.

*** Probele de materii fecale pot fi prelevate începând din a doua săptămână de boală, în cazurile cu suspiciune clinică înaltă și rezultate negative din probe respiratorii; se vor utiliza metode de extracție și amplificare validate pentru acest tip de probă.

Măsuri de biosiguranță în cursul manipulării probelor:

Personalul medical responsabil cu prelevarea și transportul probelor va respecta recomandările ghidului *Infection prevention and control during health care when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected*

([https://www.who.int/publications-detail/infection-prevention-and-control-during-health-care-when-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected](https://www.who.int/publications-detail/infection-prevention-and-control-during-health-care-when-novel-coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected)).

Toate probele vor fi considerate potențial infecțioase. Se vor lua măsuri suplimentare de precauție în cursul prelevării probelor prin mijloace potențial generatoare de aerosoli (ex. bronhoscopie, aspirație).

Probele care pot fi transportate rapid la laborator pot fi menținute la 2-8°C. În caz contrar este recomandată folosirea mediului de transport pentru virusuri, iar probele pot fi congelate (la -20°C sau ideal la -70°C) și transportate pe gheață carbonică. Se vor evita ciclurile repetate de îngheț/dezgeț.

Vor fi respectate cu strictețe ghidurile de prevenție și control al infecțiilor, precum și regulile naționale și internaționale privind transportul materialelor infecțioase. Personalul care transportă probele trebuie să fie instruit în privința practicilor corecte de manipulare a probelor, precum și a procedurilor de decontaminare. Personalul implicat va utiliza corespunzător echipamentul individual de protecție (PPE). Se va evita utilizarea sistemelor de transport pneumatic al probelor.

Probele vor fi etichetate corespunzător, iar **laboratorul va fi notificat în prealabil**. Pe cererea de analiză se vor menționa datele complete de identificare, data și ora prelevării, tipul probei, analizele solicitate, simptomele clinice și datele anamnestice relevante (vaccinări, antibioterapie, informații epidemiologice, factori de risc)

Probele destinate diagnosticului molecular vor fi manipulate cu respectarea aceluiași măsuri de biosiguranță ca cele aplicabile în cazul diagnosticului molecular de gripă (BSL2). Izolarea virusului presupune, însă, un nivel mai înalt de biosiguranță (minim BSL3). Personalul implicat va utiliza corespunzător echipamentul individual de protecție (PPE).

Se vor respecta:

- ghidurile naționale de biosiguranță în laborator

- recomandările *WHO Laboratory Biosafety Manual - Third Edition*

(https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/)

- *WHO Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19)* <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331138/WHO-WPE-GIH-2020.1-eng.pdf>

- *WHO Infection prevention and control during health care when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected, interim guidance, January 2020*

Transportul probelor la un alt laborator trebuie sa respecte ghidurile naționale, precum și recomandările OMS - *Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019–2020* (<https://www.who.int/ihr/publications/WHO-WHE-CPI-2019.20/en/>) și *WHO interim guidance for laboratory biosafety related to 2019-nCoV*.

Probele sunt considerate neconforme în următoarele situații:

- trimiterea de tampoane fără mediu de transport pentru virusuri;
- trimiterea probei în recipiente necorespunzătoare (deteriorate, cu tubul crăpat sau capacul deschis);
- nerespectarea condițiilor de transport și conservare (timp, temperatură);
- absența etichetei pe eșantionul de analizat;
- absența cererii de analiză;
- cerere de analiză completată necorespunzător, cu datele de identificare a pacientului absente, incomplete, eronate sau indescifrabile.

Diagnosticul de laborator al infecției cu SARS-CoV-2

1. Teste de amplificare a acizilor nucleici (NAAT)

Diagnosticul infecției cu SARS-CoV-2 se bazează pe detecția secvențelor specifice de ARN viral prin teste de amplificare a acizilor nucleici, precum *Real Time RT-PCR* și confirmarea prin secvențiere ori de câte ori este necesar. Țintele genice virale includ: genele N, E, S și RdRP. Extracția acizilor nucleici trebuie să se facă în hotă de biosiguranță în laboratoare de nivel BSL-2. Nu se recomandă tratarea termică a probelor anterior extracției acizilor nucleici.

În cazul utilizării truselor comerciale, interpretarea rezultatelor se face conform instrucțiunilor producătorului.

Ideal, diagnosticul optim presupune detecția a minimum două ținte genice diferite, însă în zonele în care virusul este larg răspândit se poate folosi un algoritm de diagnostic simplificat în care *screening*-ul prin *Real Time RT-PCR* al unei singure ținte discriminatorii este suficient. În acest caz este necesară o strategie de monitorizare a apariției mutațiilor care pot afecta performanțelor testului.

Sistemele complet automate care integrează etapele de prelucrare a probei, extracția ARN, amplificare și raportare rezultat, permit testarea în centre cu o capacitate de laborator limitată și sunt utile pentru diagnosticarea rapidă la locul acordării asistenței medicale.

Interpretarea rezultatelor:

Unul sau mai multe rezultate negative, în special din probe prelevate de la nivelul tractului respirator superior, nu exclud posibilitatea infecției cu SARS-CoV-2. Un rezultat *fals-negativ* poate fi explicat prin:

- prelevare necorespunzătoare, rezultând într-o cantitate redusă de produs patologic (se recomandă includerea unei ținte ADN umane în cadrul testării PCR);
- probă recoltată prea devreme sau prea târziu în cursul infecției;
- probă manipulată și transportată necorespunzător;
- mutații ale virusului;
- prezența inhibitorilor PCR.

Identificarea unui alt patogen nu exclude infecția cu noul coronavirus, rolul co-infecției în patologii nefiind pe deplin cunoscut.

Toate rezultatele testărilor (pozitive sau negative) trebuie comunicate imediat autorităților naționale.

Este necesară o interpretare atentă a rezultatelor PCR slab pozitive, deoarece unele teste pot genera semnale false la valori mari ale Ct.

În cazul unor rezultate discordante sau invalide se recomandă:

- recoltarea unei alte probe;
- secvențierea virusului din proba originală (dacă încărcătura virală este suficient de mare) sau a ampliconului generat de un alt test de amplificare genică decât cel folosit inițial.

Dacă nu este posibilă recoltarea unei alte probe, se repetă extracția ARN din proba originală și se retestează de către personal cu experiență.

Orice rezultat neobișnuit ar trebui confirmat de către un laborator de referință internațional.

2. Secvențierea genomului oferă informații utile pentru înțelegerea originii virusului și a modului de răspândire și poate fi utilizată pentru investigare dinamică a unui focar. Analiza genomului SARS-CoV-2 poate sprijini strategiile de combatere a COVID-19.

Asigurarea calității

Înainte de a introduce în laboratorul de biologie moleculară o nouă metodă, un nou test, noi loturi de reactivi sau personal nou, este necesară validarea sau verificarea pentru a se asigura că sistemul de testare funcționează adecvat.

În cazul sistemelor PCR manuale, mixul de reacție trebuie să includă, pentru fiecare probă, controale interne și, în mod ideal, un control al corectitudinii prelevării probei (țintă genică umană). Suplimentar, fiecare testare prin *Real Time* RT-PCR trebuie să includă control pozitiv și control negativ.

De asemenea, este necesară verificarea calității reactivilor la primire pentru a certifica absența contaminării.

Se recomandă ca laboratoarele să definească limitele de detecție ale testelor utilizate. Trebuie cunoscut modul în care prevalența bolii poate modifica valoarea predictivă a rezultatelor testărilor (odată cu scăderea numărului de cazuri, valoarea predictivă pozitivă va scădea). Interpretarea rezultatelor testării ar trebui să țină cont de: momentul prelevării, tipul probei, caracteristicile testului, datele clinice și datele epidemiologice.

Laboratoarele ar trebui să pună în aplicare măsurile necesare pentru a reduce riscul apariției de rezultate fals-pozitive și să aibă o strategie pentru gestionarea rezultatelor echivoce (recomandări conform documentului OMS *Diagnostic testing for SARS-CoV-2 Annex 4: Suggestions for checklist to reduce possible cases of false positive rRT-PCR results and handling of equivocal results* <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>).

Se recomandă participarea la scheme de control extern de calitate (EQA) sau comparări interlaboratoare.

OMS a recomandat anterior laboratoarelor naționale să verifice calitatea analizelor PCR prin confirmarea rezultatelor testărilor pentru primele 5 eșantioane pozitive și primele 10 eșantioane negative (colectate de la pacienți care se potrivesc definiției cazului) prin trimiterea lor la unul dintre laboratoarele de

referință OMS care furnizează teste de confirmare pentru SARS-CoV-2 (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance>). Consolidarea laboratoarelor naționale de referință și creșterea accesului la schemele EQA pentru SARS-CoV-2 reduce nevoia de a utiliza acest mecanism de confirmare.

Sursa: *WHO Diagnostic testing for SARS-CoV-2 Interim guidance*, 11.09.2020, <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2>

**Formularul de însoțire a probei recoltate de la cazul SUSPECT / CONFIRMAT COVID-19
sau de la alte categorii de persoane**

Tip investigație solicitată detectie SARS-CoV-2 prin RT-PCR

Solicitant probă (DSP/ spital/ laborator/ SAJ, SABIF) _____

Catre laboratorul _____

Proba la cerere **Proba conform metodologiei INSP**

Nume: _____

Prenume: _____

Adresa de rezidenta: _____

Adresa de domiciliu: _____

CNP: | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ | _ |

Varsta: _____

Nr. telefon mobil: _____

Adresa e-mail: _____

Personal medico-sanitar:

- Medic
- Asistent
- Ambulantier
- Infirmier
- Altele

Data recoltării probei: _____

Tipul probei prelevate:

- exsudat nazal / exsudat faringian
- aspirat traheo-bronsic
- fragmente necrotice de pulmon

Data trimiterii probei catre laborator: _____

RECOLTAT / INTOCMIT _____