**PROTOCOLO RECOGIDA DE MUESTRAS POR EL PERSONAL SANITARIO FRENTE AL CORONAVIRUS**

**INTRODUCCIÓN**

El nuevo coronavirus SARS-CoV-2 (2019-NcoV) es un virus respiratorio emergente procedente de animales que se suma a los seis coronavirus previamente descritos en humanos. En su conjunto, los coronavirus son virus esféricos de 100-160 nm de diámetro, con envuelta, y que contienen ARN monocatenario (ssRNA) de polaridad positiva de entre 26 y 32 kilobases de longitud. El cuadro clínico asociado a este virus se denomina COVID-19, y se caracteriza por la presencia de fiebre y síntomas respiratorios como disnea o tos, pudiendo desarrollarse neumonía. El periodo de incubación medio es de 5-6 días, con un rango de 1 a 14 días. El tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta la recuperación es de 2 semanas en caso de infecciones leves, pudiendo alcanzar las 4-6 semanas en casos de mayor gravedad. Su transmisión tiene lugar durante la fase sintomática, siendo sus vías de contagio las gotas respiratorias de más de 5 micrómetros o el contacto directo con pacientes infectados, sus secreciones, o superficies contaminadas. Se ha descrito que el tiempo de supervivencia del virus en superficies inanimadas es de hasta 9 días, disminuyendo este periodo con temperaturas superiores a 30ºC.

Debido a la cantidad de personas afectadas por este virus en España es necesario elaborar un protocolo de actuación para la correcta toma de muestras.

1. **Definición**

Actualmente, el criterio diagnóstico se basa en la realización de una PCR de screening positiva y una PCR de confirmación en un gen alternativo al de screening también positiva. Las muestras clínicas recomendadas para realizar estos análisis son:

* **Tracto Superior. Exudado nasofaríngeo/orofaríngeo** en pacientes ambulatorios. Se recoge en dos escobillones para el análisis de virus con medio de cultivo, uno nasal y otro para garganta. Ambos serán introducidos en el medio de cultivo para virus.
* **Tracto Inferior. Preferentemente lavado broncoalveolar, esputo (si es posible) y/o aspirado endotraqueal** especialmente en pacientes con enfermedad respiratoria grave. Se recogen en recipientes sin necesidad de medio de cultivo.

Adicionalmente, los pacientes diagnosticados o con sospecha de padecer COVID-19 pueden requerir de pruebas diagnósticas adicionales para evaluar su estado de salud, incluyendo los análisis clínicos. Se exponen en el presente documento las recomendaciones de manejo las muestras de laboratorio procedente de este tipo de pacientes.

**2.Objetivos**

El presente documento tiene como objetivo servir de guía de actuación ante la toma de muestras y manejo de pacientes con enfermedad por COVID-19, dentro del propio centro sanitario.

**3.Materiales**

* Usar mascarilla de alta eficacia FFP2 o FFP3.
* Protección ocular ajustada de montura integral o protector facial completo.
* Guantes.
* Batas impermeables de manga larga.
* Escobillones con medios de cultivo
* Recipientes para la recogida de muestra del TRI.

**4.Recursos humanos**

Tanto médicos como enfermeros y auxiliares de enfermería participan en la recogida de muestra.

**5.Desarrollo de la técnica**

**Toma y envío de muestras para diagnóstico de infección por SARS-CoV-2**

 Las muestras recomendadas para el diagnóstico son del tracto respiratorio:

a. Superior: exudado nasofaríngeo y/o orofaríngeo.

b. Inferior: preferentemente lavado broncoalveolar, esputo (si es posible) y/o aspirado endotraqueal, especialmente en pacientes con enfermedad respiratoria grave.

Se considera que con una prueba negativa es suficiente para descartar el caso. Sin embargo, si las pruebas iniciales son negativas en un paciente con una alta sospecha clínica y epidemiológica para SARS-CoV-2 (especialmente cuando solo se han recogido muestras de tracto respiratorio superior o la muestra recogida inicialmente no estaba tomada adecuadamente) se repetirán las pruebas diagnósticas con nuevas muestras del tracto respiratorio.

Si es posible, en los casos confirmados en los que se envíe muestra al CNM, se enviará también pareja de sueros tomadas con al menos 14-30 días de diferencia, recogiéndose el primer suero en la primera semana de enfermedad (fase aguda). Si se recoge solamente una única muestra de suero se debe tomar al menos 14 días después del inicio de los síntomas para poder confirmar la presencia de anticuerpos específicos.

Se recomienda contactar con el CNM previamente al envío de las muestras. Para ello se contactará con el Área de Orientación Diagnóstica. Las muestras deben mantenerse refrigeradas a 4ºC. El envío al CNM debe hacerse también a 4ºC. Las muestras clínicas deben ser tratadas como potencialmente infecciosas y se consideran de categoría B: deben ser tratadas como otras muestras biológicas de este tipo y, si requieren transporte fuera del centro sanitario o domicilio a un laboratorio, serán transportadas en triple embalaje por los procedimientos habituales. En el Anexo 1 se aporta información más detallada sobre el tipo de muestras y el medio de conservación para su transporte.

**6.Observaciones**

Los coronavirus se transmiten principalmente por las gotas respiratorias de más de 5 micras y por el contacto directo con las secreciones de pacientes infectados. Debido a ello, las precauciones para el manejo de los pacientes posibles, para aquellos quecumplen criterios para la realización de la prueba diagnóstica y para los probables o confirmados por SARS-CoV-2 deben incluir las precauciones estándar, precauciones de contacto y precauciones de transmisión por gotas.

Las medidas recomendadas en este momento, que se irán revisando según se disponga de más información sobre la enfermedad y su epidemiológica, son las siguientes:

a) Los centros sanitarios y sociosanitarios deberán establecer de forma rápida si un paciente con Infección Respiratoria Aguda (IRA) cumple los criterios para la realización de la prueba diagnóstica de SARS-CoV-2. Los pacientes con infección respiratoria aguda deberán separarse de otros pacientes, se les pondrá una mascarilla quirúrgica y serán conducidos de forma inmediata a una zona habilitada para su manejo. El personal que les acompañe hasta la zona de aislamiento llevará mascarilla quirúrgica.

b) El personal sanitario que atienda a casos de infección por SARS-CoV-2 o las personas que entren en la habitación de aislamiento (p. ej familiares, personal de limpieza...) deben llevar un equipo de protección individual para la prevención de infección por microorganismos transmitidos por gotas y por contacto que incluya bata, mascarilla (quirúrgica o FFP2 si hay disponibilidad y siempre asegurando la existencia de stoks suficientes para las situaciones en las que su uso esté indicado de forma más priorizada), guantes y protección ocular antisalpicaduras.

c) Los procedimientos que generen aerosoles se deben realizar únicamente si se consideran estrictamente necesarios para el manejo clínico del caso. Estos incluyen procedimientos como la intubación traqueal, el lavado bronco-alveolar,o la ventilación manual y se deberán reducir al mínimo el número de personas en la habitación y todos deben llevar:

 - Una mascarilla autofiltrante FFP2 o FFP3 si hay disponibilidad.

- Protección ocular ajustada de montura integral o protector facial completo.

- Guantes.

- Batas de manga larga (si la bata no es impermeable y se prevé que se produzcan salpicaduras de sangre u otros fluidos corporales, añadir un delantal de plástico).

Si hay disponibilidad, se valorará realizar estos procedimientos en habitaciones de presión negativa.

 d) Se debe cumplir una estricta higiene de manos antes y después del contacto con el paciente y de la retirada del EPI.

 e) Cuando sea necesario realizar el transporte de casos probables o confirmados, se realizará en una ambulancia con la cabina del conductor físicamente separada del área de transporte del paciente. El personal que intervenga en el transporte deberá ser informado previamente y deberá utilizar equipo de protección individual adecuado. Una vez finalizado el transporte se procederá a la desinfección del vehículo y a la gestión de los residuos producidos según se indica más adelante.

f) Los trabajadores sanitarios que recogen muestras clínicas deben llevar el Equipo de Protección Individual adecuado: para la extracción de sangre y toma de muestras que no generan aerosoles seguir las recomendaciones del apartado b, para muestras que generan aerosoles seguir las recomendaciones del apartado c. El manejo de muestras para la realización de analíticas de rutina en el laboratorio (por ejemplo hemograma o bioquímica) se realizará de la forma habitual aplicando las precauciones estándar de control de la infección.

g) Se deben seguir los protocolos de descontaminación, mantenimiento y eliminación de residuos utilizados habitualmente para otro tipo de microorganismos con el riesgo de propagación y mecanismo de transmisión similar. Los residuos se consideran residuos de Clase III o como residuos Biosanitarios Especiales (se considerarán como residuo Biosanitario Especial del Grupo 3, similar a la tuberculosis). Las condiciones de manejo domiciliario de los residuos en los casos posibles se establecen en el procedimiento específico de manejo domiciliario.

h) Se debe realizar la limpieza y desinfección de las superficies con las que ha estado en contacto el paciente y/o sus secreciones. La limpieza y desinfección se realizará con un desinfectante incluido en la política de limpieza y desinfección del centro sanitario. Estos virus se inactivan tras 5 minutos de contacto con desinfectantes de uso por el público en general, como la lejía o con una solución de hipoclorito sódico que contenga 1000 ppm de cloro activo (dilución 1:50 de una lejía con concentración 40-50 gr/litro preparada recientemente). El personal de limpieza utilizará equipo de protección individual adecuado dependiendo del nivel de riesgo que se considere en cada situación.Las condiciones para el manejo de casos posibles se establecen en el procedimiento específico de manejo domiciliario.

 i) Un paciente podría excretar virus en heces y/o orina sin tener resultados positivos en sus muestras respiratorias. No es imprescindible la negativización de estas muestras para el alta, pero debe tenerse en cuenta a la hora de establecer las recomendaciones al alta.

 **7. Bibliografía**

Chen H, Guo J, Wang C, Luo F, Yu X, Zhang W, et al. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. The Lancet [Internet]. 12 de febrero de 2020 [citado 13 de febrero de 2020];0(0). Disponible en: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30360-3/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736%2820%2930360-3/abstract)

Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, Lofy KH, Wiesman J, Bruce H, et al. First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. N Engl J Med [Internet]. 31 de enero de 2020 [citado 6 de febrero de 2020];0(0):null. Disponible en: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001191>

Hung LS. The SARS epidemic in Hong Kong: what lessons have we learned? J R Soc Med [Internet]. agosto de 2003 [citado 6 de febrero de 2020];96(8):374-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC539564/>

Kampf G, Todt D, Pfaender S, Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and its inactivation with biocidal agents. J Hosp Infect. 6 de febrero de 2020;

Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. Last update: July 2019https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/isolation-guidelines-H.pdf

To KK-W, Tsang OT-Y, Chik-Yan Yip C, Chan K-H, Wu T-C, Chan JMC, et al. Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 12 de febrero de 2020

World health Organization. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) [Internet]. 2020. Disponible en: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf

**8.ANEXOS:**

ANEXO 1: TRANSPORTE Y RECOMENDACIONES DE MANEJO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS CON INFECCIÓN O SOSPECHA DE INFECCIÓN POR SARS-COV-2.

1. INSTRUCCIONES PARA EL TRANSPORTE DE MUESTRAS BIOLÓGICAS A OTRO CENTRO DIFERENTE AL LUGAR DE LA TOMA DE MUESTRA

 1. Categorización de la muestra:

Las muestras biológicas procedentes de pacientes infectados o con sospecha de infección por el SARS-CoV-2 son clasificadas como sustancias infecciosas de categoría B (1).

2. Embalaje de las muestras:

Deben ser transportadas a los centros de diagnósticos (Centro Nacional de Microbiología y/o laboratorios de referencia) de acuerdo a la instrucción de embalaje P650 del Acuerdo ADR (2) (3) que se aplica a la norma UN 3373para el embalaje de sustancias peligrosas [la instrucción de embalaje P650 equivale a la instrucción 650 IATA (4)]. La norma UN 3733 establece que la muestra sea transportada en triple envase, robusto y que soporte golpes y cargas habituales del transporte, incluyendo el trasbordo entre vehículos, contenedores y almacén o la manipulación manual o mecánica. Los embalajes se construirán y cerrarán de forma que se evite cualquier fuga de su contenido, en las condiciones normales de transporte, por vibración o por cambios de temperatura, humedad o presión.

Para el transporte por superficie no se establece una cantidad máxima por paquete. Para el transporte aéreo se requiere que:

•La capacidad de los recipientes primarios no supere 1 litro (para líquidos) o la masa límite del embalaje externo (para sólidos)

•El volumen enviado no supere 4 litros o 4 kg por paquete.Estas cantidades excluyen el hielo y el hielo seco cuando sean utilizados para mantener las muestras frías.El triple envase constará de:

1. Recipiente primario estanco

2. Embalaje secundario estanco

3. Embalaje exterior rígido

•En el caso de que se utilice hielo o hielo seco para refrigerar la muestra, éste NUNCA debe ir en el interior del embalaje secundario.

•La información acompañante a las muestras enviadas debe colocarse entre el embalaje secundario y el embalaje exterior, NUNCA en el interior del embalaje secundario.

•Si se cumplen todos los requisitos establecidos en la Instrucción de embalaje/envasado P650, no se establecen requerimientos de transporte adicionales. La Instrucción P650 comprende todos los requisitos necesarios para el envío de sustancias infecciosas de categoría B.

3. Etiquetado:

Independiente del medio de transporte, en cada paquete se expondrá la información siguiente:

- el nombre, la dirección y el número de teléfono del expedidor (remitente, consignador)

- el número de teléfono de una persona responsable e informada acerca del envío

- el nombre, la dirección y el número de teléfono del destinatario (consignatario)

- la designación oficial de transporte «BIOLOGICAL SUBSTANCE, CATEGORY B».

- requisitos relativos a la temperatura de almacenamiento (optativo)

4. Condiciones de los medios de transporte:

No es imprescindible que el transporte de muestras clínicas para la detección del SARS-CoV2 se realice utilizando los servicios de empresas especializadas. Al tratarse de sustancias infecciosas de categoría B lo necesario es cumplir con las siguientes instrucciones:

 •Utilizar el triple envase del tipo UN3373 y un documento externo (formulario, carta de porte) que indique lo que se transporta.

•Las empresas de mensajería o personas que transporten sustancias biológicas de categoría B (UN 3373), están obligadas a cumplir con las normas de transporte de la ADR. Este tipo de embalajes no podrán ir dentro de bolsas de mensajería, dado que las etiquetas normalizadas deben estar a la vista.

•El vehículo debe tener un sistema de anclaje que impida el movimiento del paquete y posibles golpes.

•El personal del vehículo de transporte alternativo debe recibir información de lo que va a transportar, conocer los riesgos y comprometerse a informar en caso de incidentes.

Documentación:

No se requieren documentos con indicación de mercancía peligrosa para las sustancias infecciosas de categoría B.

5. Medio de conservación en función del tipo de muestra:

- Solo necesita medio de conservación el exudado nasofaríngeo/orofaríngeo.

- Todas las muestras se conservan a 4º C.

- Si transcurren más de 72 horas hasta el procesamiento de las muestras respiratorias refrigeradas se recomienda su congelación a -20ºC o, idealmente a -80ºC.