



**Raccomandazioni dell'Associazione Tecnico Scientifica – S.I.T.La.B.
N. 6/20 IT VER**

Considerazioni pratiche da adottare in un Laboratorio durante la pandemia da COVID -19
S.Stanziale (Padova)

Rev. 1.0

SITLaB news

Pubblicato: 28 Marzo 2020

Copyright: © SITLaB

1. Abstract

A severe respiratory disease emerged in the city of Wuhan, Hubei province, China, in December 2019. As of early February 2020, at least 28,088 diagnosed and 24,702 suspected cases have been reported, including at least 564 deaths. Unfortunately, the disease has spread globally. The etiologic agent, a novel coronavirus, now called SARS-CoV-2, was immediately identified and characterized in China. Although we know the presence of unprecedented genetic diversity of viruses in nature, this outbreak further indicates that there is considerable uncertainty in predicting when, where, and how novel disease-causing pathogens emerge. Phylogenetic analyses reveal that SARSCoV-2 is closely related to a group of SARSlike coronaviruses. However, it remains unclear where the virus comes from and how it was transmitted to humans in the first place. Unlike with other zoonotic agents such as hantavirus and arenavirus, thus far we haven't found a SARS virus in animals that is the same as that in humans. Fortunately, SARS virus has not appeared in humans since 2004. In contrast, this new virus seems to have stronger transmission capabilities among people. Compared to the primary virus in humans, we still know less about whether, what, and how the virus has changed and the effect of the changes for their epidemics in humans. Control and prevention of the disease is especially difficult in China and elsewhere if there are infected individuals with no clinical signs. ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Yong-Zhen Zhang Centro della clinica di salute pubblica di Shanghai dell'Università di Fudan e centro cinese per il controllo e la prevenzione delle malattie - Cell 6, 19 marzo 2020, pagine 1034-1036 19 marzo 2020, pagine 1034-1036.

2. Sommario

Una grave malattia respiratoria è emersa nella città di Wuhan, nella provincia di Hubei, in Cina, nel dicembre 2019. All'inizio di febbraio 2020, sono stati segnalati almeno 28.088 casi diagnosticati e 24.702 casi sospetti, tra cui almeno 564 decessi. Sfortunatamente, la malattia si è diffusa a livello globale. L'agente eziologico, un nuovo coronavirus, ora chiamato SARS-CoV-2, è stato immediatamente identificato e caratterizzato in Cina. Sebbene conosciamo la presenza di una diversità genetica senza precedenti di virus in natura, questo focolaio indica inoltre che vi è una notevole incertezza nel prevedere quando, dove e come emergono nuovi agenti patogeni che causano malattie. Le analisi filogenetiche rivelano che la SARS-CoV-2 è strettamente correlata a un gruppo di coronavirus simili alla SARS. Tuttavia, non è ancora chiaro da dove provenga il virus e come sia stato trasmesso all'uomo. A differenza di altri agenti zoonotici come l'hantavirus e l'arenavirus, finora non abbiamo trovato un virus SARS negli animali uguale a quello nell'uomo. Fortunatamente, il virus SARS non è apparso nell'uomo dal 2004. Al contrario, questo nuovo virus sembra avere maggiori capacità di trasmissione tra le persone. Rispetto al virus primario nell'uomo, sappiamo ancora meno se, cosa e come il

virus è cambiato e l'effetto dei cambiamenti per le loro epidemie nell'uomo. Il controllo e la prevenzione della malattia sono particolarmente difficili in Cina e altrove se vi sono individui infetti senza segni clinici.

3. Introduzione

A causa della natura della sua trasmissibilità, gli operatori sanitari ospedalieri e il personale di laboratorio affrontano incertezze con questa infezione emergente. Ci sono timori di contrarre la malattia, oltre alla biosicurezza e alle preoccupazioni ambientali. A livello operativo, i tempi di consegna per i test di routine possono essere influenzati a causa di vincoli di personale. Lo scopo di questo articolo è descrivere sinteticamente le importanti strategie operative, preanalitiche, analitiche e post analitiche per garantire che un agente patogeno infettivo come SARS-CoV-2 sia trattato in modo sicuro all'interno di un ambiente di laboratorio.

4. Fase pre - preanalitica

Una situazione pandemica si verifica nel caso in cui un agente patogeno emergente si diffonda facilmente nella popolazione generale dove non vi è immunità intrinseca. Per valutare la sua gravità per la salute pubblica, l'Italia adotta la "Condizione del sistema di risposta alle epidemie di malattie" dell'Istituto Superiore della Sanità al fine di guidare sistematicamente la necessità di contenimento, tracciabilità dei contatti e screening in base ai rischi di diffusione.

Operativamente all'interno di ospedali e laboratori, è raccomandato di mantenere il distanziamento sociale. Ciò consentirà un minor potenziale di infezione, ma allo stesso tempo consentirà l'esecuzione dei loro compiti in modo indipendente. Gli esempi dovrebbero includere orari dei pasti scaglionati e differimento della raccolta di grandi gruppi. Si consiglia di assumere la semplice temperatura due volte al giorno per consentire l'identificazione precoce dei sintomi di infezione respiratoria acuta. Se qualcuno nel team fosse infettato da COVID-19, le misure di quarantena dovrebbero essere avviate per tutti i contatti stretti.

I piani di continuità aziendale e di emergenza con altri dipartimenti e laboratori dovrebbero essere rafforzati nel caso in cui tutti i team si siano ammalati o siano messi in quarantena. In termini di pianificazione delle risorse umane, le ferie non essenziali per i paesi di crisi dovrebbero essere sospese fino a quando la trasmissione non ha raggiunto il limite o non ha raggiunto un minimo.

Il responsabile del laboratorio dovrebbe tener conto del burn-out e dell'affaticamento psicologico dei tecnici sanitari di laboratorio biomedico e del previsto aumento del carico di lavoro. Durante questo periodo, la formazione può continuare nello spirito dell'apprendimento, ma si consiglia di condurlo tramite servizi di videoconferenza remoti con il cloud computing.

Per evitare che gli infermieri debbano telefonare al laboratorio per ogni singola richiesta, abbiamo escogitato un profilo "campioni urgenti" e un'etichetta urgente è stata posta sul criobox per dare la priorità. Questi sono principalmente per campioni che possono avere un aumento artefatto dei risultati, ad esempio lattato o gas ematico arterioso. Per i campioni che devono essere trasportati in un laboratorio secondario, è necessario considerare anche le linee guida dell'OMS e linee guida del Ministero della salute per il trasporto di campioni infettivi. A tal fine, si raccomanda di utilizzare un "sistema di confezionamento triplo" per contenere una sostanza infettiva, che consiste in un recipiente primario, un secondo imballo a tenuta stagna per proteggere il recipiente primario e un terzo strato esterno di imballo utilizzato per prevenire danni fisici all'imballaggio secondario durante il trasporto.

È importante sottolineare che la comunicazione tempestiva tra operatori sanitari ospedalieri e professionisti di laboratorio è fondamentale per garantire la comprensione e la collaborazione. Questi possono includere la preparazione di un promemoria per informare gli utenti di laboratorio in merito a potenziali ritardi nei tempi di consegna per i test in vista di un aumento del carico di lavoro, alcune limitazioni del menu di test e la fornitura di un servizio telefonico 24 ore su 24 e un indirizzo e-mail di laboratorio per rispondere all'utenza. Si raccomanda un contenitore sterile per i campioni delle vie respiratorie inferiori, ad esempio espettorato, tubo aspirato endotracheale e lavaggio bronco alveolare. Il mezzo di trasporto universale (Copan Diagnostics, Murrieta, California) viene utilizzato per i tamponi rinofaringei e orofaringei, in cui il tampone deve essere immerso completamente entro 3 ml di liquido e tappato strettamente per evitare perdite. Tutti i campioni devono essere etichettati in modo appropriato, e tali guide campione dovrebbero essere visibili a tutti gli utenti del reparto e del pronto soccorso. Raccomandiamo anche una rapida transizione dalla richiesta di carta manuale alla richiesta elettronica di test molecolari COVID-19 al fine di ridurre al minimo il rilascio di campioni senza etichetta.

5. Fase preanalitica

Al fine di fornire pratiche di controllo delle infezioni nel mezzo di un focolaio di COVID-19, dovrebbe essere progettato un protocollo di trasporto robusto per i campioni. Sulla base delle linee guida dell'OMS, tutti i campioni (tamponi, fluidi corporei, sangue, feci) devono essere considerati potenzialmente infettivi e devono essere indossati adeguati dispositivi di protezione individuale (DPI) durante l'ottenimento di campioni dal paziente sospetto o la manipolazione di tali campioni. In genere, questo include un camice monouso, guanti, cuffia, copriscarpe, occhiali protettivi e una maschera respiratore N95. Un respiratore a purificazione d'aria alimentato dovrebbe essere considerato anche nel caso in cui vengano eseguite procedure che generano aerosol come broncoscopia, intubazione endotracheale o centrifugazione. Per quanto riguarda il trasporto, raccomandiamo che i campioni siano ben chiusi e trasportati al laboratorio centrale in sacchetti con chiusura a cerniera a rischio biologico, all'interno di un criobox a prova di perdite con un'etichetta a rischio biologico ben

visibile I campioni devono essere consegnati a mano e non inviati tramite posta pneumatica poiché ciò aumenta il rischio di rottura delle provette e spandimento dei campioni durante il trasporto.

Adeguati spazi di lavorazione e conservazione dei campioni dovrebbero essere preventivamente dedicati alla gestione dei campioni sospetti di COVID-19 per evitare colli di bottiglia da un afflusso di campioni.

6. Fase analitica

L'analisi dei sospetti campioni COVID-19 è impegnativa per una serie di motivi. I campioni di tali pazienti possono apparire in incognito e non identificati al laboratorio e come tali rappresentano un rischio per la salute professionale per i tecnici durante l'analisi. Nonostante le richieste di automazione totale del laboratorio, a causa della complessità della moderna medicina di laboratorio, dei problemi di approvvigionamento e di un ampio menu di test, in ogni laboratorio esiste comunemente una moltitudine di analizzatori. I vari punti di contatto manuali al di fuori del sistema di automazione di laboratorio possono potenziare il rischio di contaminazione o trasmissione poiché il sistema non è "autonomo". Questi possono includere processi come diluizioni dei campioni, aliquote secondarie, esecuzione della centrifugazione e procedure di vortice.

Raccomandiamo di processare tutti i campioni di pazienti COVID-19 sospetti o confermati all'interno di un Laboratorio di sicurezza biologica di classe 2 (BSC), in abbigliamento DPI completo come descritto sopra. Ciò è conforme ai Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie, nonché alle linee guida dell'OMS.

In tal modo, questa pratica consente il contenimento di procedure che possono potenzialmente generare aerosol e goccioline. Esempi di tali attività includono tipicamente l'aliquota o la diluizione di campioni, l'inoculazione di terreni di coltura batterica, l'estrazione di acido nucleico e la fissazione chimica di strisci per analisi microscopiche.

L'estrazione dettagliata dell'acido nucleico, il controllo di qualità e i test rRT-PCR esulano dallo scopo di questo articolo.

Sebbene il BSC sia raccomandato, non è pratico aspettarsi di eseguire qui tutte le procedure manuali.

È necessario eseguire una valutazione completa del rischio al fine di riesaminare tutte le aree del laboratorio che possono essere sensibili alla trasmissione di agenti patogeni infettivi. In particolare, abbiamo osservato che gli operatori nelle aree del banco bagnato hanno beneficiato dell'uso di una protezione antispruzzo e abbiamo ulteriormente migliorato la comunicazione tra gli operatori per caricare potenziali campioni COVID-19 sugli analizzatori.

A seguito di analisi ed elaborazione, raccomandiamo di pulire tutte le superfici, i criobox e le attrezzature con disinfettante

L'OMS raccomanda disinfettanti con comprovata attività contro i virus avvolti, come ipoclorito di sodio 0,1%, un minimo del 62% -71% di etanolo, 0,5% di perossido di idrogeno ammonio o composti fenolici.

La nostra unità pratica un protocollo di decontaminazione che coinvolge la soluzione di ipoclorito 10 000 ppm (1%) in caso di fuoriuscita. La vigilanza nei confronti di questi protocolli è della massima importanza in quanto è stato dimostrato che l'aria, l'ambiente di superficie e i DPI sono comunemente contaminati da SARS-CoV2.

7. Fase post analitica

Si raccomanda di sfruttare gli algoritmi che potenzialmente incorporano caratteristiche cliniche, risultati di laboratorio e risultati radiologici per identificare e stratificare i pazienti con potenziale COVID-19.

Alcuni comuni indici di laboratorio, che sono promettenti, includono un lattato deidrogenasi elevato, un tempo protrombinico prolungato e linfopenia.

Un impulso allo sviluppo di un kit diagnostico rapido per punti di cura COVID-19 sarebbe l'ideale in ambito di cure primarie e dipartimenti di emergenza, riducendo il tempo "ago-cervello" per il processo decisionale e la gestione clinica.

8. Conclusione

Nel loro insieme, rimangono molte domande per questa infezione emergente, ma uno sforzo globale collaborativo per la salute accelererà la nostra ricerca per gestire efficacemente COVID-19. Un riepilogo delle considerazioni di laboratorio all'interno del processo di test è incluso per evidenziare i problemi pertinenti in caso di epidemia. Gli sforzi futuri dovrebbero ruotare attorno a nuovi biomarcatori per stratificare la malattia, studi sulla terapia efficace e potenziale sviluppo di un vaccino. L'adesione alle normative sulla biosicurezza pone un enorme stress per il personale operativo, ma queste misure riducono i rischi per la salute sul lavoro e migliorano l'ambiente di lavoro sicuro in laboratori

Bibliografia

Organizzazione mondiale della sanità Test di laboratorio per il 2019 nuovo coronavirus (2019-nCoV) in sospetti casi umani. Disponibile: <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>

Organizzazione mondiale della sanità Guida alle normative per il trasporto di sostanze infettive 2019-2020 Ginevra: Organizzazione mondiale della sanità, 2019 (OMS / WHE / CPI / 2019.20)

Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie Linee guida provvisorie di biosicurezza di laboratorio per la manipolazione e l'elaborazione dei campioni associati alla malattia di coronavirus 2019 (COVID-19): Disponibile: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>

Organizzazione mondiale della sanità Guida alla biosicurezza di laboratorio relativa al nuovo coronavirus (2019-nCoV), 2020. Disponibile: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/laboratory-biosafety-novel-coronavirus-version-1-1.pdf?sfvrsn=912a9847_2