

PROCEDIMIENTO DE DETECCIÓN DEL NUEVO CORONAVIRUS SARS-CoV-2 EN LA COMUNIDAD DE MADRID

Febrero 2020

Elaborado por los Servicios de Microbiología de los Hospitales 12 de Octubre, La Paz, Ramón y Cajal, Gregorio Marañón y la Dirección General de Salud Pública.

1. INTRODUCCIÓN

Ante la identificación en diciembre de 2019 de un brote de neumonía en China causado por un nuevo Coronavirus (betaCoronavirus) capaz de transmitirse entre humanos, denominado SARS-CoV-2, no se puede descartar que aparezca algún caso importado en España procedente de la zona de riesgo. Todo caso que cumpla los criterios de **caso en investigación** requiere el estudio microbiológico de la infección por SARS-CoV-2 en un laboratorio que disponga de las técnicas específicas para la realización de este diagnóstico mediante PCR.

Con el objeto de reducir el tiempo de respuesta para la confirmación de un caso en investigación, la Comunidad de Madrid propone que los servicios de Microbiología de los Hospitales 12 de Octubre, Ramón y Cajal, La Paz y Gregorio Marañón organicen una red preparada para atender las solicitudes diagnósticas que se hagan desde la Dirección General de Salud Pública.

Todas las muestras deben proceder de pacientes que, tras la evaluación de Salud Pública, cumplan los criterios de caso en investigación. La Dirección General de Salud Pública autorizará el envío de muestras.

Las definiciones utilizadas en este protocolo están incluidas en el Procedimiento de Actuación frente a casos de infección por el nuevo Coronavirus (SARS-CoV-2) adaptado a la Comunidad de Madrid¹.

En el anexo 1 se puede consultar la distribución de los hospitales según derivación de muestras para estudio de infección por SARS-CoV-2.

2. OBJETIVO Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

El objetivo del presente documento es describir el proceso a seguir para el diagnóstico de la infección por el nuevo Coronavirus en los Servicios de Microbiología de los Centros Hospitalarios de la Comunidad de Madrid.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El método diagnóstico se basa en la detección del ARN viral presente en las muestras clínicas de los pacientes infectados. Para ello se utilizará una técnica de RT-PCR en tiempo real que detectará 2 regiones del genoma viral: gen E (genérico de Sarbecovirus: SARS) y gen RdRP (específico de SARS-CoV-2) [procedimiento descrito en Corman VM et al. Detection of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3):pii=2000045].

4. TIPO DE MUESTRA QUE DEBE SER REMITIDO AL SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA

Muestras del tracto respiratorio:

- a. Superior*: exudado nasofaríngeo/orofaríngeo en pacientes ambulatorios.

y

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

**En pacientes pediátricos se contemplará la toma de aspirados nasofaríngeos*

¹ [Procedimiento de actuación frente a casos de infección por el nuevo coronavirus \(SARS-COV2\) adaptado a la Comunidad de Madrid](#)

NOTA:

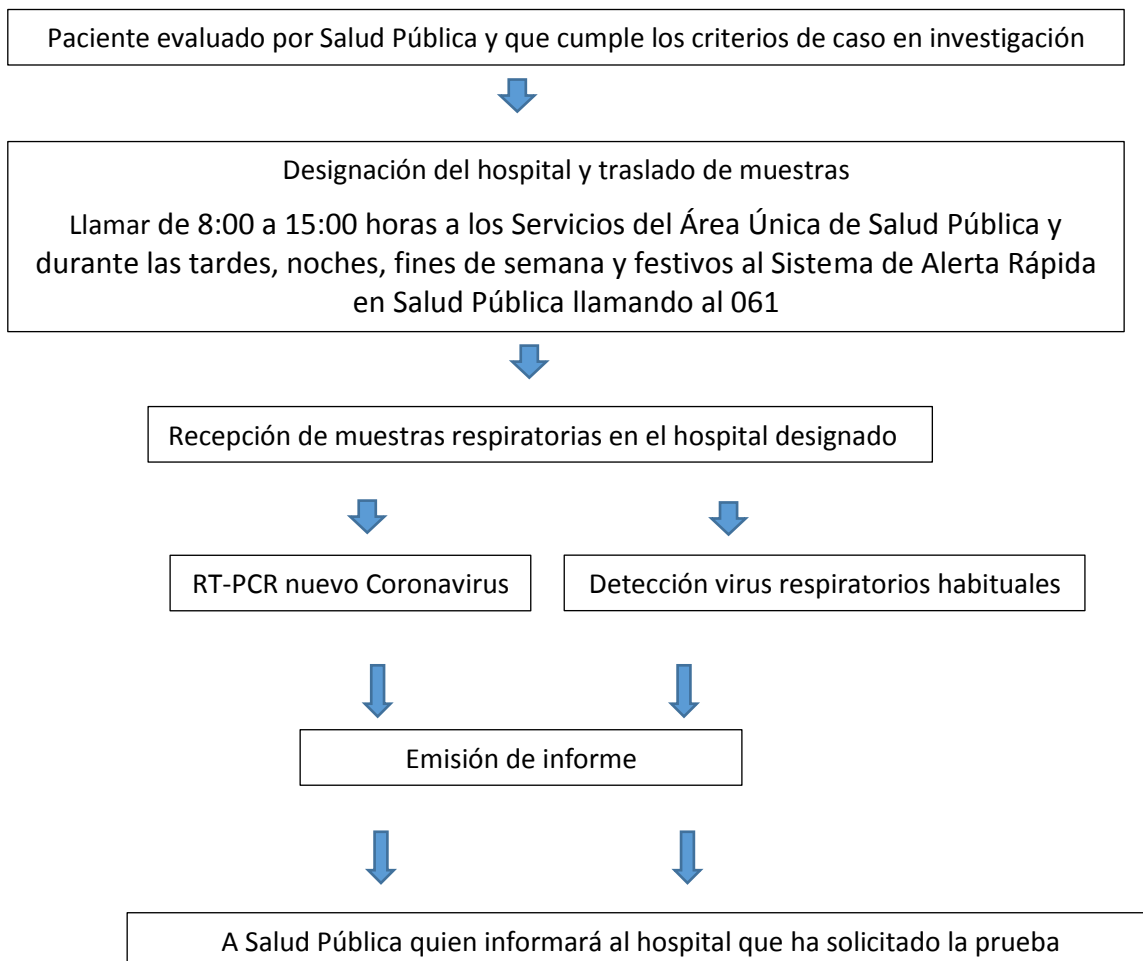
Si un paciente no tiene signos o síntomas de infección del tracto respiratorio inferior o si la toma de muestras del tracto respiratorio inferior está clínicamente indicada, pero no es posible su recolección, se puede optar por estudiar SÓLO las muestras respiratorias de tracto superior.

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 repetirá el diagnóstico con nuevas muestras del tracto respiratorio. Se podrán extraer muestras adicionales como sangre, orina o heces.

5. MATERIALES

Los 4 hospitales designados cuentan con todo el equipamiento necesario para la realización de esta técnica diagnóstica. Así mismo los 4 centros realizan, tanto en rutina como de forma urgente, la detección molecular de los virus respiratorios habituales.

6. PROCEDIMIENTO Y ESQUEMA DE TRABAJO



6.1. Solicitud de la prueba

Cada centro adecuará la solicitud de la determinación del nuevo Coronavirus a su sistema informático (SIL) y a la historia clínica electrónica vigente.

Todas las muestras deben de proceder de pacientes evaluados por Salud Pública y que cumplan los criterios de caso en investigación.

La solicitud se realizará de 8:00 a 15:00 horas a los Servicios del Área Única de Salud Pública y durante las tardes, noches, fines de semana y festivos al Sistema de Alerta Rápida en Salud Pública llamando al 061. Desde Salud Pública se darán las indicaciones oportunas para el transporte de la muestra según el centro.

La asignación para la derivación de muestras, desde los hospitales de la red sanitaria tanto pública como privada, a los hospitales designados para la realización de PCR, se ha realizado siguiendo criterios geográficos y organizativos.

Normas de bioseguridad

Las muestras serán enviadas al laboratorio en un embalaje de bioseguridad categoría B (triple envoltorio). Para el procesamiento de las muestras se utilizarán los equipos de protección individual (bata, mascarilla FFP2, gafas y guantes) recomendados en cada centro por el Servicio de Prevención de Riesgos Laborales. El procesamiento inicial y la inactivación de las muestras se realizará en cabina de seguridad biológica de clase II.

6.2. Recepción de las muestras

Las muestras procedentes del propio centro hospitalario serán remitidas al Servicio de Microbiología de acuerdo a las instrucciones indicadas en el protocolo local de cada Hospital. Y para la recepción de las muestras procedentes de otros Centros Hospitalarios se seguirán las instrucciones de Salud Pública.

6.3. Preparación de las muestras a su llegada al laboratorio designado (debe realizarse en cabina de seguridad biológica tipo II)

- Los exudados nasofaríngeos serán vorteados
- Los aspirados nasofaríngeos y los LBAs serán diluidos en una proporción 1:1 con medio de dilución (UTM)
- Las secreciones respiratorias (esputos, aspirados) serán homogeneizadas siguiendo los protocolos habituales para el procesamiento de este tipo de muestras en cada Centro
- Antes de proceder a la extracción las muestras serán **INACTIVADAS**, realizando un proceso de lisis con tal fin (utilización de reactivos comerciales que contengan isotiocianato de guanidina a concentraciones adecuadas)
- Se utilizarán las plataformas de extracción disponibles en cada Centro, y que ya se vienen utilizando para la obtención del material genómico de otros virus respiratorios
- Como ya se ha indicado todos los Centros realizarán la detección simultánea de dos regiones del genoma: gen E y gen RdRP
- El tiempo de respuesta estimado desde la recepción de la muestra es inferior a 4 horas.

6.4. Emisión de informes e interpretación de los resultados

En el informe de resultados que se emita debe incluirse la confirmación del caso (amplificación de las 2 regiones del genoma viral)

Resultado: Detección POSITIVA del Nuevo Coronavirus SARS-CoV-2

Resultado: Detección NEGATIVA del Nuevo Coronavirus SARS-CoV-2

Resultado*: Se solicita una nueva muestra para realizar la detección de SARS-CoV-2*

**En caso de amplificación de una sola diana. En este último caso debe solicitarse la obtención de otra muestra, preferentemente del tracto respiratorio inferior.*

Cada uno de los centros designados emitirá el informe de resultados de la determinación del nuevo Coronavirus según su sistema informático (SIL) o en otro formato que considere oportuno.

El resultado se enviará a Salud Pública por correo electrónico y mediante llamada telefónica. Una vez recibido el informe de resultados, Salud Pública informará del mismo al Hospital que ha solicitado la prueba. El Centro que envíe la muestra a cualquiera de los Hospitales de referencia debe indicar correo electrónico y teléfono de contacto junto a los datos básicos del paciente en investigación para poder realizar el registro informático de la petición y de sus resultados. Los datos de filiación del paciente incluirán el CIPA si lo tiene.

7. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

La técnica de amplificación debe incluir controles internos que garanticen la eficacia tanto del proceso de extracción de ácidos nucleicos como de amplificación.

Para el aseguramiento externo de la calidad las muestras evaluadas serán remitidas al Centro Nacional de Microbiología para su posterior evaluación.

ANEXO. Datos de contacto con la Dirección General de Salud Pública

Servicios del Área Única de Salud Pública

| |
|--|
| Servicio del Área Única de Salud Pública-1,4,7 |
| Servicio del Área Única de Salud Pública-2 |
| Servicio del Área Única de Salud Pública-3 |
| Servicio del Área Única de Salud Pública-5 |
| Servicio del Área Única de Salud Pública-6 |
| Servicio del Área Única de Salud Pública-8 |
| Servicio del Área Única de Salud Pública-9 |
| Servicio del Área Única de Salud Pública-10 |
| Servicio del Área Única de Salud Pública-11 |

Tabla resumen direcciones postales y teléfonos

| | Dirección | Teléfono | Fax |
|--------------------------------------|--|--------------|---------------|
| AREA ÚNICA DE SALUD PÚBLICA 1 | C/ Cincovillas, 5 (28051 MADRID) | 91 494 24 79 | 91 494 07 19 |
| AREA ÚNICA DE SALUD PÚBLICA 2 | C/ Océano Pacífico, 3 (28821 COSLADA) | 91 672 32 18 | 91 673 85 15 |
| AREA ÚNICA DE SALUD PÚBLICA 3 | Avda. Reyes Magos, s/n (28806 ALCALÁ DE HENARES) | 91 880 60 07 | 91 882 84 06 |
| AREA ÚNICA DE SALUD PÚBLICA 4 | C/ Cincovillas, 5 (28051 MADRID) | 91 494 24 79 | 91 494 07 19 |
| AREA ÚNICA DE SALUD PÚBLICA 5 | C/ Blas de Otero 13 – 3ª planta (28100 ALCOBENDAS) | 91 490 41 10 | 91 661 42 96 |
| AREA ÚNICA DE SALUD PÚBLICA 6 | C/ Aristóteles, 3 (28230 LAS ROZAS DE MADRID) | 91 227 69 00 | 91/ 204 38 26 |
| AREA ÚNICA DE SALUD PÚBLICA 7 | C/ Cincovillas, 5 (28051 MADRID) | 91 494 24 79 | 91 494 07 19 |
| AREA ÚNICA DE SALUD PÚBLICA 8 | C/ Alonso Cano 8 (28933 MÓSTOLES) | 91 621 10 40 | 91/ 811 32 56 |
| AREA ÚNICA DE SALUD PÚBLICA 9 | Avda. Portugal 2 - 1ª planta (28916 LEGANÉS) | 91 248 49 00 | 91/ 686 38 11 |
| AREA ÚNICA DE SALUD PÚBLICA 10 | C/ Alberto Palacios 22 (28021 MADRID) | 91 696 41 66 | 91/ 696 63 51 |
| AREA ÚNICA DE SALUD PÚBLICA 11 | C/ Alberto Palacios 22 (28021 MADRID) | 91 710 96 67 | 91/ 798 01 32 |
| | | | |
| Servicio de Epidemiología | C/ San Martín de Porres 6 – 1ª planta (28035 MADRID) | 91 370 08 88 | 91 370 08 83 |
| Servicio de Alertas en Salud Pública | C/ San Martín de Porres 6 – 1ª planta (28035 MADRID) | 91 370 08 03 | 91 370 08 09 |