


Recomendaciones para el procesamiento de muestras y necropsias en anatomía patológica ante la pandemia de la COVID-19

Recommendations for the management of samples and necropsies in pathological anatomy during the covid19 pandemic

Nery Romero ^{1,a}, Himelda Chávez ^{1,a}, Milagros Abad ^{1,a}, Grisnery Maquera ^{1,b}, José L Arenas ^{1,a}, Hugo Castro ^{1,a}, Carlos Barrionuevo ^{1,c}, Sandro Casavilca-Zambrano ^{1,a}, Miriam Soria ^{1,a}, Judith Vidal ^{1,a}, Alejandro Yábar ^{1,b}, Luz Rosas ^{1,a}, Edith Paz ^{1,c}

Filiación y grado académico

¹ Asociación Peruana de Patólogos, Lima, Perú.

^a Médico Patólogo

^b Médico Anatomopatológico

^c Médico Cirujano

ORCID iD de Nery Romero

<https://orcid.org/0000-0002-0081-5520>

ORCID iD de Himelda Chavez Torres

<https://orcid.org/0000-0003-4519-4745>

ORCID iD de Milagros Abad Licham

<https://orcid.org/0000-0002-3530-6937>

ORCID iD de Grisnery Maquera

<https://orcid.org/0000-0002-9248-9354>

ORCID iD de José Luis Arenas Gamio

<https://orcid.org/0000-0002-2679-6778>

ORCID iD de Hugo Castro

<https://orcid.org/0000-0003-3378-1344>

ORCID iD de Carlos Barrionuevo

<https://orcid.org/0000-0003-2474-914X>

ORCID iD de Sandro Casavilca-Zambrano

<https://orcid.org/0000-0001-8406-739X>

ORCID iD de Miriam Soria

<https://orcid.org/0000-0002-6525-7048>

ORCID iD de Judith Vidal

<https://orcid.org/0000-0002-2939-8484>

ORCID iD de Alejandro Yábar

<https://orcid.org/0000-0003-2394-0575>

ORCID iD de Luz Rosas

<https://orcid.org/0000-0002-8420-4283>

ORCID iD de Edith Paz

<https://orcid.org/0000-0003-2740-0867>

Contribución de los autores

Todos los autores contribuyeron en el diseño, ejecución, redacción y revisión del artículo.

Fuentes de financiamiento

La investigación fue realizada con recursos propios.

Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Recibido: 21-07-2021

Arbitrado por pares

Aceptado: 01-10-2021

Citar como

Romero N, Chavez H, Abad M, Maquera G, Arenas JL, Castro H, et al. Recomendaciones para el procesamiento de muestras y necropsias en anatomía patológica ante la pandemia de la COVID-19. Rev Peru Cienc Salud. 2021; 3(4): 278-87. doi: <https://doi.org/10.37711/rpcs.2021.3.4.356>

Correspondencia

Nery Romero Rojas

Dirección: Octavio Paz 193 – Lima 34

Cel.: +51-989506821

Email: neryromerorojas@gmail.com

RESUMEN

Objetivo. Presentar un soporte teórico a tomar en cuenta en la ejecución segura del trabajo en el laboratorio de anatomía patológica durante la pandemia de la COVID-19. **Métodos.** Se revisó el material bibliográfico pertinente publicado por la OMS, prestigiosas instituciones internacionales especializadas y las nacionales sobre la bioseguridad en esta pandemia. **Resultados.** Este documento contiene el marco teórico de bioseguridad para la ejecución de los diversos procedimientos en el laboratorio de anatomía patológica del Perú, en este escenario de pandemia por SARS-Cov2. **Conclusiones.** Los conocimientos sobre la pandemia COVID-19 y su agente causal sorprenden constantemente a la comunidad científica, razón por la cual su actualización y difusión debe ser permanente.

Palabras clave: recomendaciones, bioseguridad, manejo de especímenes (fuente: DeCS-BIREME).

ABSTRACT

Objective. Present a theoretical support to take into account in the safe execution of the work in the laboratory of pathological anatomy during the COVID19 pandemic. **Methods.** We reviewed the relevant bibliographic material published by WHO, prestigious specialized international institutions and national ones on biosafety in this pandemic. **Results.** This document contains the biosafety theoretical framework for the execution of the various procedures in the laboratory of pathological anatomy in Peru, in this scenario of SARS-Cov2 pandemic. **Conclusions.** Knowledge about the COVID-19 pandemic and its causative agent constantly surprises the scientific community, it is the reason why its updating and its dissemination must be permanent.

Keywords: recommendations, biosafety, samples processing (source: MeSH NLM).

INTRODUCCIÓN

El Coronavirus 2019 (COVID-19) producida por el SARS-CoV2, comenzó en Wuhan, China, a fines de 2019, se diseminó por todo el mundo y, el 11 de marzo del 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo declaró una emergencia de Salud Pública mundial ⁽¹⁾.

Ante este escenario, la Unidad Prestadora de Servicios de Salud (UPSS) de anatomía patológica de nuestro país debe continuar proporcionando servicios esenciales para la atención del paciente, realizar los exámenes de manera segura, evitar situaciones de alto riesgo y proteger a los trabajadores de la salud.

La Asociación Peruana de Patólogos (APP) basándose en las publicaciones de la OMS ⁽²⁻⁶⁾, sociedades científicas internacionales ⁽⁷⁻¹⁰⁾ y del Ministerio de Salud (MINSA) del Perú ⁽¹¹⁻¹⁴⁾, emite este documento con el objetivo de brindar recomendaciones de medidas de bioseguridad a tomar en cuenta en el funcionamiento de la UPSS de Anatomía Patológica y continuar ofreciendo un servicio adecuado, oportuno, de calidad y seguro.

Debemos indicar que el presente documento se actualizará periódicamente de acuerdo a información científica válida y confiable sobre la COVID-19 y la situación epidemiológica mundial.

Consideraciones generales

La enfermedad

La COVID-19 es una enfermedad sistémica causada por el coronavirus SARS-CoV-2 cuya presentación clínica varía, desde un leve resfriado hasta un síndrome de distrés respiratorio del adulto (SDRA) ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾, sepsis, daño multiorgánico y muerte. El riesgo de morir aumenta con la edad y la presencia de comorbilidades ⁽¹⁶⁾ como la diabetes mellitus, hipertensión arterial u obesidad. La transmisión se produce de persona a persona a través de las gotitas respiratorias infectadas o gotitas de Flügge ⁽¹⁶⁾.

El SARS-CoV-2 es un virus ARN de hebra simple. La infección se desencadena por la unión de la proteína espiga del virus a la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), la cual ha sido considerada un receptor funcional para coronavirus. El ACE2 se encuentra en los neumocitos 2 del alveolo pulmonar y en diversas células del organismo ⁽¹⁶⁾. El SARS-Cov-2 induce en casos graves una tormenta de citocinas que finalmente conduce a la activación de la cascada de coagulación provocando fenómenos trombóticos y elevadas cantidades de citocinas proinflamatorias en el suero, que se asocian a la inflamación y al extenso daño pulmonar.

La bioseguridad

La bioseguridad es un conjunto de medidas probadamente eficaces para evitar la adquisición accidental de infecciones con patógenos contenidos en muestras o especímenes, así como los riesgos relacionados con la exposición a agentes químicos, físicos o mecánicos a los que está expuesto el personal de salud ⁽⁴⁾.

El pilar de la práctica de la bioseguridad es la evaluación del riesgo. Los microorganismos infecciosos han sido clasificados por grupos de riesgo ⁽⁴⁾ tomando en cuenta cuatro elementos: 1) el agente es patogénico para los humanos, 2) el agente es un peligro para los trabajadores, 3) el agente es transmisible a la comunidad y 4) existe un tratamiento efectivo o profilaxis disponible. Tomando en cuenta estos elementos, los grupos de riesgo de los microorganismos son 1, 2, 3 y 4 (ver Tabla 1). El Comité Asesor sobre Patógenos Peligrosos (ACDP) de Inglaterra acordó clasificar al SARS-CoV-2 como patógeno de riesgo grupo 3 (HG3 por sus siglas en inglés).

Estrategias en la bioseguridad ante el COVID-19

La estrategia de bioseguridad para la infección por COVID-19, según la OMS, incluye una combinación de educación permanente y suministro logístico para la protección ambiental y del personal de la Unidad ⁽⁵⁾.

La educación permanente implica mantenerse actualizado en el conocimiento científico relacionado con la pandemia de la COVID-19 en función de la evolución de la situación epidemiológica y las evidencias científicas válidas sobre el SARS-Cov19 y disipar los conceptos erróneos. El suministro logístico debe asegurar la implementación de un entorno seguro para el personal que labora, donde se puedan realizar los exámenes anatomopatológicos de calidad.

Tabla 1. Grupos de riesgo de los Microorganismos

Grupo de riesgo	Descripción
1	No es probable que produzca enfermedades en los seres humanos.
2	Puede conducir a enfermedades humanas y riesgo para los empleados, pero no es probable que se propague a otros seres humanos. La profilaxis y/o el tratamiento son generalmente accesibles
3	Puede conducir a enfermedades humanas graves y puede ser un riesgo significativo para empleados. Puede propagarse a otros humanos. La profilaxis y/o el tratamiento son generalmente accesibles
4	Conduce a enfermedades humanas graves y representa un riesgo significativo para los empleados. Es probable que se propague a otros seres humanos. Por lo general, no se puede acceder a profilaxis ni tratamiento

Fuente: OMS y Comité Asesor sobre Patógenos Peligrosos (ACDP por sus siglas en inglés) de Inglaterra.

Todo trabajador del laboratorio que presente sintomatología sospechosa de la COVID-19 no debe presentarse a trabajar, debe buscar atención médica e informar los resultados de las pruebas realizadas a la Unidad local de Salud Ocupacional. Todos los trabajadores del servicio deben seguir prácticas de reducción de riesgos, como el distanciamiento espacial no menor de 1.5 m, la higiene de las manos al inicio y final de cada actividad, la limpieza y desinfección del ambiente y el uso de equipos de protección personal (EPP) adecuados a su función.

Las medidas de bioseguridad deben estar escritas, ser de conocimiento de todo el personal y monitorear su cumplimiento estricto. En el escenario actual, el área de anatomía patológica, debe considerar toda muestra o espécimen como potencialmente infeccioso. Aunque existen muchas herramientas para evaluar el riesgo que presenta un procedimiento, el componente más importante es el juicio profesional ⁽³⁾. Una vez terminadas las evaluaciones del riesgo deben ser consultadas y revisadas periódicamente en las publicaciones científicas. Las reuniones de gestión y capacitación se realizarán por vía virtual. Se tratará de programar horarios escalonados a fin de cumplir con el aforo permitido durante esta pandemia. Continuar entregando un servicio de calidad en un ambiente seguro requiere liderazgo y evaluación permanente de las jefaturas.

La unidad de anatomía patológica

La anatomía patológica es la especialidad médica que se encarga del estudio de las enfermedades mediante

la aplicación de técnicas morfológicas y moleculares en muestras tisulares, celulares y necropsias. A continuación, desarrollaremos los componentes de la bioseguridad a tomar en cuenta.

El ambiente

El laboratorio de la Anatomía Patológica debe presentar una adecuada ventilación, iluminación, limpieza y la aplicación de desinfectantes con actividad comprobada contra el virus. Todas las superficies de la unidad, deben ser desinfectadas de manera efectiva. De acuerdo con las recomendaciones de la OMS y otros estudios, los siguientes desinfectantes se consideran eficaces para este virus (ver Tabla 2).

Se recomienda que las oficinas de los patólogos o el área de lectura sean en la medida de lo posible personales o de a dos para evitar el hacinamiento y respetar la distancia social mínima de 1.5 m. Se elaborarán horarios escalonados si el ambiente de trabajo es pequeño.

Los procedimientos de riesgo

Los procedimientos al manipular las muestras son categorizados en alto riesgo y bajo riesgo según el potencial de producir infección. Las muestras frescas son de alto riesgo y las muestras fijadas son de bajo riesgo debido a que las sustancias fijadoras inactivan la Covid19.

El transporte y recepción de muestras

El personal que transporta los especímenes debe estar capacitado en prácticas de manipulación seguras y

Tabla 2. Desinfectantes eficaces para el virus SARS-CoV-2

Desinfectante	Concentración	Tiempo de contacto	Utilización
Etanol	70 %	1 min	Desinfección general de superficies
Hipoclorito sódico (lejía)	0,1 % (1,000 ppm)	10 min	Desinfección general de superficies
Hipoclorito sódico (lejía)	1 % (10,000 ppm)	10 min	Desinfección de vertidos o líquidos con carga orgánica ⁽¹⁾
Amonios cuaternarios	Conforme a instrucciones del fabricante	Conforme a instrucciones del fabricante	
Peróxido de hidrógeno-ácido peracético Conforme a instrucciones del fabricante	Conforme a instrucciones del fabricante	Conforme a instrucciones del fabricante	Desinfección general de superficie y vertidos o líquidos con carga orgánica ⁽¹⁾
Virkon ^{TM(2)}	1 % (10 gr,1l)	10 min	
Perasafe TM	1,62 % (16,2 gr, 1l)	10 min	

⁽¹⁾ Vertidos o líquidos con carga orgánica ⁽²⁾ En la desinfección con Virkon TM se recomienda un lavado posterior con etanol o agua destilada. Fuente: Asociación Española de Bioseguridad. Gestión del riesgo biológico en laboratorios que manipulen muestras con COVID-19 2020.

procedimientos de descontaminación de derrames ⁽⁶⁾. Se dará órdenes escritas acerca de cómo manipular los especímenes y como proceder cuando se produzcan derrames ⁽¹⁸⁾.

Para el transporte y recepción de las muestras, éstas se colocarán en dos bolsas de plástico a prueba de fugas ⁽⁵⁾ (selladas); la bolsa interna llevará la etiqueta con datos de la muestra y del paciente y el formulario de solicitud no envolverá la muestra ni estará dentro de los contenedores. Las muestras de pacientes con sospecha o infección confirmada por SARSCoV-2 no deben enviarse por tubo neumático ⁽⁵⁾. El ambiente de recepción debe tener una señal y estar separada del laboratorio.

El procesamiento

La OMS recomienda usar una cabina de bioseguridad de Clase II (CBS), cada vez que se manipule cualquier material biológico no inactivado o se realice un procedimiento que tenga el potencial de generar aerosoles de partículas finas o gotitas al procesar las muestras de alto riesgo ⁽⁵⁾. Todos los accidentes que ocurran al manipular los especímenes se comunicarán al supervisor del laboratorio y se llevará un registro escrito de ellos; no se colocará ningún material en la boca, no se pasará la lengua por las etiquetas, ni se pipeteará. Las muestras frescas que se manipulen se fijarán de manera inmediata en alcohol al 96% o formol según la técnica específica. La lectura microscópica de los casos no constituye riesgo ⁽¹⁸⁾.

La protección del personal

Serán reforzadas las medidas ya expresadas y será usado un equipo de protección personal (EPP) apropiado ⁽⁵⁾ y

de acuerdo a la función que se realice ⁽⁶⁾ (ver Figura 1). El equipo de protección personal (EPP) está constituido por lo siguiente:

Protectores respiratorios. Las mascarillas; existen varios tipos de acuerdo al tamaño de las partículas que filtra (ver Tabla 3). Según recomendaciones de la OMS, las mascarillas FFP2, N95 y FFP3, serían las más indicadas para el personal que tiene contacto directo con los pacientes, muestras y especímenes con COVID-19 positivos o sospechosas.

Vestimenta. Constituída por traje quirúrgico (chaqueta y pantalón), bata quirúrgica desechable que cubra todo el cuerpo, incluyendo los antebrazos y delantal de plástico impermeable para necropsias o macroscopía.

Protector de manos. Guantes quirúrgicos. Doble guantes para necropsias.

Protector facial. Visor o pantalla facial transparente, uso en las áreas de recepción, procesamiento de muestras de alto riesgo y necropsias.

Protectores para ojos. Lentes de seguridad.

Protector del cabello. Gorro “quirúrgico” de polipropileno y casco para necropsias.

Protector de calzado. Botas o protectores de calzado; botas altas de goma con puntera protegida y refuerzo dorsal para necropsias.

Tabla 3. Protección de la vía respiratoria

Tipo	Características
Protección natural (sin mascarilla)	Filtra partículas de hasta 10 micras (10 000 nm)
Mascarilla de Polipropileno (“quirúrgica”)	Filtra el aire que se exhala, contiene agentes, partículas, bacterias o virus: hasta 2 micras (2 000 nm) (>5 µm)
Mascarilla FFP2	Eficacia de filtración: hasta el ≥ 92 % de las 0,3 micras (300 nm). Con certificación (EN 149-2001)
Mascarilla N95	Eficacia de filtración: hasta ≥ 95 % EF de las 0,3 micras (300 nm). Con certificación (NIOSH)
Mascarilla FFP3	Eficacia de filtración: hasta el 98 % EF de partículas hasta 0,023 micras (23 nm). Con certificación (EN 149 de 2001)
Mascarilla KN ₉₅	Eficacia de filtración: Hasta el ≥ 95% % EF de las 0,3 micras (300 nm). Con certificación (GB2626-2006)
Máscara facial	Con filtro de seguridad biológica

% EF = Eficacia de Filtración Mínima = % de filtración mínima de partículas aéreas con tamaño ≥ 0,3 µm. FFP: Filtering Face Piece. N: no filtra aceites 95: 95 %. Fuente: *Technical Bulletin February 2021. Revision 6 Comparison of FFP2, KN95, and N95 Filtering Facepiece Respirator Classes*. Uso de mascarillas quirúrgicas y máscaras FFP -Guía de la SOGAMP (Sociedad Galega de Medicina Preventiva), octubre 2015.

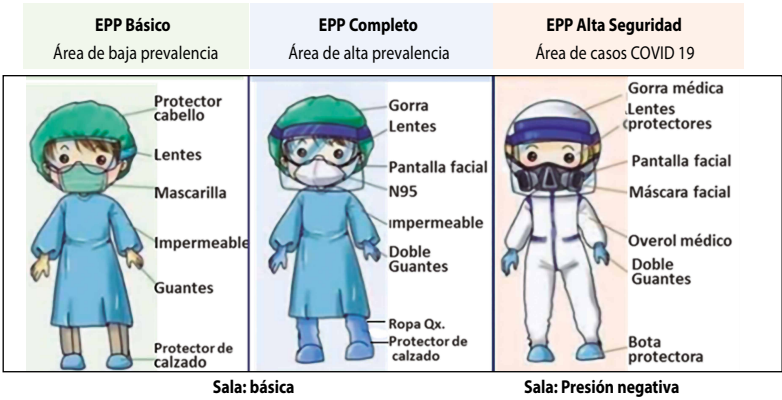


Figura 1. Equipo de Protección Personal

Existen tres tipos de EPP, el Básico, el Completo y de Alta Seguridad (ver Figura 1).

No está permitido salir con el EPP fuera del área de trabajo. Una vez utilizados, se eliminarán en un recipiente que contenga una bolsa especial de plástico, así mismo, se debe evitar el uso de relojes y joyas durante la labor.

Manejo de residuos

Los residuos sólidos, así como la ropa sucia, se depositarán en bolsas rojas y éstas en recipientes etiquetados como residuos biocontaminados, los cuales se eliminarán siguiendo los protocolos de bioseguridad de cada laboratorio según lo estipula la RM N° 373-2010-MINSA (14) al respecto. Las muestras de tejidos fijados en formol son de bajo riesgo y se procederá según la norma pertinente. Los residuos de las muestras citológicas deben eliminarse inmediatamente en un área especialmente designada para muestras de alto riesgo y ser etiquetados como “COVID-19” según el caso. No deben almacenarse los líquidos restantes.

Citopatología

La citopatología en pacientes sospechosos o conocidos para la COVID-19 se pueden utilizar para ayudar a determinar los procesos de enfermedades coexistentes.

Las muestras en citopatología según el nivel de riesgo de infectividad son variadas¹; pueden ser de alto riesgo o bajo riesgo (ver Tabla 4).

En la recepción de muestras, el uso de la EPP, cuidado del ambiente y otros se procederá según lo indicado en los rubros II y III.

Precauciones en el procesamiento citopatológico

La biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF), el control citológico in situ y la evaluación rápida in situ

(ROSE) son procedimientos especiales en citopatología considerados de alto riesgo (1) debido a la cercanía con el paciente al realizar el procedimiento y la posibilidad de generar partículas de aerosol al expulsar la muestra, por ello deberá ser realizado por el citopatólogo con experiencia y limitarse a los casos en que el diagnóstico del citopatólogo efectuará un cambio en el manejo o en el diagnóstico (8). En la sala de procedimiento debe limitarse al mínimo el número de operadores. El Citopatólogo deberá usar un EPP completo (ver Figura 2). La formación del bloque celular será inmediata en la misma jeringa aspirando alcohol de 96 % o formol neutro al 10 % y se mantendrá dichas muestras en fijación por 24 horas antes de su procesamiento.

Tabla 4. Niveles de riesgo según tipo de muestra citológica

Nivel de riesgo	Tipo de muestra
Alto Riesgo	Esputo
	Lavado bronquial o lavado bronquioloalveolar (LBA)
	Cepillado bronquial
	Aspirado bronquial
	Punción pulmonar
	Biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF)
	BAAF guiado por ecobroncoscopía (EBUS) o ecoendoscopia
	Aspiración transbronquial con aguja (TBNA por sus siglas en inglés)
	Sangre
	Secreción conjuntival
	Improntas de tejidos
	Líquido pleural
	Líquido ascítico
	Líquido pericárdico
	Líquido cefalorraquídeo (LCR)
Bajo Riesgo	Orina
	Heces
	Frotis cérvico-vaginal



Figura 2. Procesamiento de alto riesgo: BAAF y ROSE

Patología quirúrgica

Las muestras que se recepcionan en el área de patología quirúrgica son especímenes quirúrgicos y biopsias. Todas estas muestras inmediatamente obtenidas deben ser fijadas en formol para ser transportadas en estas condiciones. Se debe informar para su corrección si se recibiera una muestra sin formol o a una concentración inadecuada, con envase sin tapa, con rotura o derrame, con orden sucia, etc.

Las muestras de pacientes con COVID-19 fijadas en formol al 10 % son consideradas muestras de bajo riesgo; la formalina disminuye significativamente la infectividad del virus a las 24 horas. En el procesamiento técnico, la infiltración de parafina en los tejidos, a una temperatura entre 60-65 °C durante 2 horas o más, inactiva el virus ⁽¹⁹⁾ (ver Tabla 5).

Las muestras en fresco por consideraciones específicas serán procesadas preferentemente en una cabina de

Tabla 5. Estabilidad del SARS-CoV-2 a diferentes temperaturas

Tiempo	Título viral* (Log TCID50/ml)									
	4 °C		22 °C		37 °C		56° C		76 °C	
	Prom	DS	Prom	DS	Prom	DS	Prom	DS	Prom	DS
1 min	NR	NR	6,51	0,27	NR	NR	6,65	0,1	5,34	0,17
5 min	NR	NR	6,70	0,15	NR	NR	4,62	0,44	U	-
10 min	NR	NR	6,63	0,07	NR	NR	3,84	0,32	U	-
30 min	6,51	0,27	6,52	0,28	6,57	6,54	U	-	U	-
1 hora	6,57	0,32	6,33	0,21	6,76	6,23	U	-	U	-
3 horas	6,66	0,16	6,68	0,46	6,36	6,26	U	-	U	-
6 horas	6,67	0,02	6,54	0,32	5,99	5,83	U	-	U	-
12 horas	6,58	0,21	6,23	0,05	5,28	4,99	U	-	U	-
1 día	6,72	0,13	6,26	0,05	3,23	3,48	U	-	U	-
2 días	6,42	0,37	5,83	0,28	U	-	U	-	U	-
4 días	6,32	0,27	4,99	0,18	U	-	U	-	U	-
7 días	6,65	0,05	3,48	0,24	U	-	U	-	U	-
14 días	6,04	0,18	U	-	U	-	U	-	U	-

Nota. TCID = dosis infecciosa de cultivo de tejido *Los títulos virales usaron células Vero-E6.
Prom = promedio DS = desviación estándar NR = no realizado U = Indetectable
Fuente: Chin et al. (2020)

bioseguridad clase II ⁽⁵⁾ y serán procesadas por un patólogo con experiencia. La orden de solicitud y la muestra deberán llevar de manera sobresaliente sendas etiquetas "COVID-19". El personal procederá de acuerdo a lo señalado en los rubros II y III en relación a las medidas de bioseguridad, uso del EPP, transporte, recepción y procesamiento y la jefatura deberá monitorear el mantenimiento de las prácticas de reducción de riesgo.

Estudio de fetos y de placentas

Los fetos con sus respectivas placentas deben trasladarse y recepcionarse cubiertas totalmente con formol; en estas condiciones representan muestras de bajo riesgo. Deberán permanecer fijadas en formol durante 24 horas.

El feto, la placenta y la hoja de solicitud correctamente escrita llevarán de forma muy visible una etiqueta de "COVID-19" en los casos positivos.

Estudio intraoperatorio

Los estudios intraoperatorios (EIO) son la biopsia por congelación y la citología Intraoperatoria que, por contener muestras en fresco, son consideradas de alto riesgo.

Se tomará en cuenta las recomendaciones generales expresadas en los rubros II y III como medidas de bioseguridad. No se recomienda realizar la descripción macroscópica durante el EIO. La muestra restante se colocará en formol al 10 % en su mismo envase hermético.

Inmunohistoquímica

En los laboratorios de IHQ se reciben muestras de tejido embebido en parafina para ser procesados de acuerdo a las diversas técnicas conocidas, ya sea en forma manual o automatizada. Estos bloques se confeccionan en los laboratorios de histopatología. Se considera que el bloque de tejido fijado con formalina y embebido en parafina no tendría riesgo de infectividad para el SARS-CoV-2.

Citogenética y patología molecular

En los laboratorios de citogenética y patología molecular se reciben muestras como sangre fresca, médula ósea, piel, vellosidades coriales, líquidos, secreciones corporales y otras muestras, consideradas de alto riesgo. Actualmente no existe evidencia científica de la transmisión de la COVID-19 por sangre y considerando en este escenario toda muestra como potencialmente infectante, exponemos las siguientes recomendaciones con el objetivo de minimizar los riesgos. Al respecto se

seguirá las recomendaciones consignadas en los rubros II y III en relación al ambiente, EPP y otros.

Los procesamiento citogenéticos y moleculares deben realizarse en cabinas de bioseguridad de clase II. Al usar la centrifuga, se recomienda esperar su apertura al menos 10 minutos; para la limpieza del interior de los equipos se usarán también las sustancias desinfectantes (ver Tabla 2). El procesamiento de las muestras de Patología Molecular seguirá las recomendaciones del manual de cada equipo en las diferentes técnicas moleculares. El manejo de los residuos líquidos se realizará de acuerdo a las disposiciones de cada laboratorio. Evitar el uso de autoclave en grandes volúmenes por generar aerosoles.

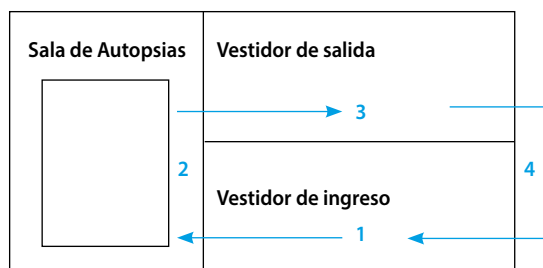
Citometría de flujo

El laboratorio de citometría de flujo usa una técnica biofísica que permite obtener información sobre poblaciones celulares a partir de un estudio individualizado de un gran número de células obtenidas de la sangre periférica, aspirado de médula ósea, líquido cefalorraquídeo, biopsia por aspiración con aguja fina de ganglio y otras muestras biológicas, en el marco de la pandemia infecciosa de la COVID-19 se continuará con la recepción de ellas considerándolas como sospechosas. Las muestras que se reciben son frescas y se consideran de alto riesgo. El laboratorio no recibe muestras para estudio específico del virus como hisopados o similares. El diseño y funcionamiento del ambiente se ajustará a los estipulados de forma general. Se llevarán a cabo todas las medidas de protección descritas en los rubros II y III.

Se realizará la manipulación mínima de los contenedores para determinar la correcta rotulación de los tubos y la concordancia con las órdenes; éstos deberán ser desinfectados al momento de la recepción previo al ingreso al laboratorio y de considerarse pertinente se realizará la desinfección de tubos antes de iniciar su procesamiento. La limpieza de los citómetros se realizará según protocolo y las instrucciones del fabricante asegurando además la desinfección, tanto de la cámara de flujo como de la aguja de aspiración de muestras.

Necropsias

El Ministerio de Salud en nuestro país ha publicado la RM 100-2020 ⁽¹²⁾ que aprueba la Directiva Sanitaria 087-MINSA/2020 ⁽¹¹⁾, sobre el Manejo de cadáveres por COVID-19 y la RM 171-2020 MINSA ⁽¹³⁾, en el numeral 7 textualmente indica "Para el caso de pacientes fallecidos por COVID-19, o caso sospechoso de haber fallecido por COVID 19, no procede la realización de la necropsia del cadáver; se exceptúa cuando el Ministerio Público evidencia un acto criminal en el cadáver".



Fuente: Ministerio de Sanidad SEAP. Procedimiento en el manejo de cadáveres COVID-19.

Figura 3. Desplazamiento recomendado del equipo que emprende una necropsia

La necropsia, en las enfermedades emergentes infecciosas como la COVID19 es de gran utilidad ⁽²⁰⁾ porque brinda información sobre los patrones de daño tisular, el compromiso sistémico, la fisiopatología y las causas de muerte ⁽²¹⁾; información valiosa que guiará la terapia tal como sucedió con las primeras autopsias realizadas en EEUU ^(22,23), Italia ⁽²⁴⁾, Alemania ⁽²⁵⁻²⁷⁾ y España. El Comité de Autopsias del Colegio Americano de Patólogos ⁽⁹⁾ recomienda que cada departamento de patología debería crear su propia política escrita con respecto a las necropsias durante la pandemia de la COVID-19 en conjunto con su administración hospitalaria. Aunque no hay evidencia sólida hasta la fecha del riesgo de infección a partir de cadáveres infectados por la COVID19, de acuerdo a lo observado para otros virus respiratorios y por el principio de precaución ⁽¹⁶⁾, se considera que estos cadáveres podrían suponer un alto riesgo de infección para el personal en contacto con ellos.

Si en el Perú se permitiera realizar las necropsias clínicas, estas serían las siguientes recomendaciones al respecto ⁽¹⁶⁾:

- 1) Realizarán necropsias los patólogos capacitados en medidas de bioseguridad con un EPP de alta seguridad (ver figura 1) y en instalaciones adecuadas,
- 2) La sala de necropsias deberá estar certificada y acreditada con un nivel de bioseguridad BSL-3; dotada de presión negativa, filtros HEPA y ventilación con una capacidad de renovación de 6-12 por hora y deberá contar con una sala previa, cuyo diseño y desplazamiento ⁽⁸⁾ será bien definido (ver Figura 3). Durante el procesamiento solo participarán el proceptor, el técnico y un asistente limpio para el registro, no se permitirá personal adicional.
- 4) Se elaborará un listado del personal que participó de la necropsia y se vigilará cualquier síntoma sospechoso de COVID-19 en los 14 días posteriores a la última exposición ⁽¹⁶⁾.

Todo el instrumental, debe estar preparado previamente, los recipientes debidamente etiquetados, no se obtendrá ningún instrumento ni material luego de iniciada la necropsia, las agujas deben estar envainadas

antes de iniciar la necropsia no durante el proceso, se usará tijeras y cuchillas PM40 con puntas romas, los objetos punzantes deben mantenerse al mínimo y se debe conocer su paradero en todo momento. No se usará el rociado de agua a alta presión y los órganos no fijados serán cortados con una esponja. El estudio de las cavidades deberá ser realizado por un operador a la vez y se usará una sierra manual para cortar el cráneo, no la sierra eléctrica; se debe evitar salpicaduras al retirar, manipular o lavar los órganos, las muestras deben fijarse con formol al 10 % y cubrirlas en la proporción habitual durante un tiempo mínimo de 24 horas; se transportará el cadáver en una camilla exclusiva. Es aconsejable disponer de una lista de verificación ⁽⁸⁾.

Banco de tejidos (biobanco)

El Banco de Tejidos o Biobanco es una unidad cuya función principal es, conservar las muestras biológicas de pacientes durante su proceso de diagnóstico y tratamiento, siguiendo protocolos. Estas muestras son consideradas de alto riesgo y, por ello, seguirán las recomendaciones de bioseguridad para tales especímenes ⁽¹⁰⁾. El área de recepción de muestras será lo más cercana posible a la puerta de acceso a sus instalaciones y visiblemente señalada. El transporte interno de muestras deberá realizarse en contenedores homologados para esta finalidad, evitando contenedores plásticos. Además, el personal usará EPP adecuado a su función (ver Figura 1). Los procedimientos deberán realizarse en una cámara de bioseguridad (BSC) de clase II. Deberán usarse dispositivos de contención física como rotores sellados o cubetas con tapas de seguridad; los rotores tienen que ser cargados y descargados dentro de la cabina de bioseguridad ^(7,28).

Microscopía electrónica

Un microscopio electrónico, para formar imágenes de objetos diminutos, usa electrones en lugar de fotones o luz visible; además, su aplicación se ha convertido en un método de primera línea para el diagnóstico de enfermedades.

Se debe coordinar previamente para la entrega del kit de fijación adecuado. La muestra de los tejidos es inmediatamente fijada en glutaraldehído al 2,5% por 48 horas a 4 °C. La penetración del fijador es de 1,5 mm/h. a temperatura ambiente. El glutaraldehído inactiva al virus, por ello estas muestras son de bajo riesgo ⁽⁷⁾.

La muestra debe transportarse en una caja térmica sellada con unidades refrigerantes ice pack para mantener

una temperatura alrededor de los 4 °C. La solicitud debidamente escrita debe ser rotulada como "COVID-19" con gran visibilidad si fuera el caso. El personal que procesa las muestras para el estudio ultra estructural debe portar un EPP adecuado (ver Figura 1).

REFERENCIAS

- Chen CC, Chi CY. Biosafety in the Preparation and Processing of Cytology Specimens with Potential Coronavirus (COVID-19) Infection: Perspectives from Taiwan. *Cancer Cytopathology* 2020 Disponible en: doi: 10.1002/cncy.22280
- Organización Mundial de la Salud, OMS/ Organización Panamericana de la Salud, OPS: Directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para el manejo y transporte de muestras asociadas al nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV) [Internet] [Consultado 2020 Ene 28] Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51896>
- Organización Mundial de la Salud, OMS. Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas 2019-2020 [Internet] [Consultado 2020 Ene 28] Disponible en: <https://www.who.int/ihr/publications/WHO-WHE-CPI-2019.20/es>
- Organización Mundial de la Salud, OMS. Manual de Bioseguridad del Laboratorio. 3ª ed. Ginebra. 2005.
- Organización Mundial de la Salud, OMS/ Organización Panamericana de la Salud, OPS: Directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para el manejo y transporte de muestras asociadas al nuevo coronavirus 2019 (2019-nCoV) [Internet] [Consultado 2020 Ene 28] Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51896>
- World Health Organization, WHO. Infection prevention and control during health care when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected: interim guidance. World Health Organization. (2020); 25 January 2020. [Internet] <https://apps.who.int/iris/handle/10665/330674>
- Public Health England. COVID-19: guidance for sampling and for diagnostic laboratories [Internet] Disponible en: <https://www.gov.uk/government/publications/wuhan-novel-coronavirus-guidance-for-clinical-diagnostic-laboratories>
- Sociedad Española de Anatomía Patológica, International Academy of Pathology. Medidas de seguridad durante la epidemia por COVID19 en un Servicio de Patología [Internet] Disponible en: https://www.seap.es/web/guest/actualidad/-/asset_publisher/cE93/content/medidas-de-seguridad-durante-la-epidemia-por-covid-19-en-un-servicio-de-patologia?inheritRedirect=true
- College of American Pathologists. COVID-19 Autopsy Guideline Statement from the CAP Autopsy Committee [Internet] [Consultado 2020 May 8] Disponible en: <https://documents.cap.org/documents/COVID-Autopsy-Statement-05may2020.pdf>
- Asociación Española de BioSeguridad (AEBIOS). Gestión del riesgo biológico en laboratorios que manipulen muestras con SARS-CoV-2 (COVID-19) [Internet] Disponible en: https://redbiobancos.es/wp-content/uploads/ANEXO_II_Gest-Biorisk-labs-SARS-CoV-2_12042020.pdf
- Ministerio de Salud-MINSA Directiva Sanitaria 087-MINSA/2020, sobre el Manejo de cadáveres por COVID-19 [Internet] Disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/Orientacion/DIRECTIVA_SANITARIA_087-2020-DIGESA-MINSA_PARA_EL_MANEJO_DE_CADAVERES_POR_COVID_19_CONSOLIDADO_ACTUALIZADO.pdf
- Perú. Ministerio de Salud. RM-100-2020-MINSA Aprueban la Directiva Sanitaria N.º 087-MINSA/2020/DIGESA, Directiva Sanitaria para el manejo de cadáveres por COVID-19. El Peruano, 15326 (Mar. 23 2020).
- Perú. Ministerio de Salud. Resolución Ministerial N.º 171-2020-MINSA. Directiva Sanitaria para el manejo de cadáveres por COVID-19. Lima: El Ministerio; 2020.
- Perú. Ministerio de Salud. RM N.º 373-2010-MINSA, que aprueba el Documento Técnico "Plan Nacional de Gestión de Residuos Sólidos en Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo 2010-2012". Lima: El Ministerio; 2010.
- Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, Mehra MR, Schuepbach RA, Ruschitzka F, Moch H. Endothelial cell infection and endothelitis in COVID-19. *Lancet* 2020; 395(10234):1417-18. DOI:10.1016/S0140-6736(20) 30937-5
- Bañon-Gonzalez R, Carnicero-Caceres S, Suarez-Mier MP, Díaz FJ. Autopsias en casos sospechosos de SARS-CoV-2 [Autopsies of suspected SARS-CoV-2 cases]. *Revista Española De Medicina Legal*. 2020 July-September;46(3):93-100. Spanish. doi: 10.1016/j.reml.2020.05.002. Epub 2020 May 11. PMID: PMC7211634.
- Menter T, Haslbauer JD, Nienhold R, Savic S, Hopfer H, Deigendesch N, et al. Postmortem examination of COVID-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings in lungs and other organs suggesting vascular dysfunction. *Histopatología* 2020 ; 77 : 198 – 209 Epub 4 may 2020 <https://doi.org/10.1111/his.14134>
- Henwood AF. Coronavirus disinfection in histopathology. *Journal of Histotechnology* DOI: 10.1080/101478885.2020.1734718
- Chin AWH, Chu JS, Perera MRA, Hui K, Yen HL, Chan M, Peiris M, Poon L. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *The Lancet Microbe*
- Sapino A, Facchetti F, Bonoldi E, Gianatti A, Barbareschi M; Società Italiana di Anatomia Patologica e Citologia - SIAPEC. The autopsy debate during the COVID-19 emergency: the Italian experience. *Virchows Arch*. 2020 Jun;476(6):821-823. doi: 10.1007/s00428-020-02828-2. PMID: 32350596; PMCID: PMC7190281.
- Sociedad Española de Anatomía Patológica. Nota de Prensa en relación a comentarios que se han realizado en medios públicos sobre la realización de autopsias en pacientes COVID-19 [Internet] Disponible en: https://www.seap.es/actualidad/-/asset_publisher/cE93/content/nota-de-Prensa-en-relacion-a-comentarios-que-se-han-realizado-en-medios-publicos-sobre-la-realizacion-de-autopsias-en-pacientes-covid-19
- Lisa M Barton, MD, PhD, Eric J Duval, DO, Edana Stroberg, DO, Subha Ghosh, MD, Sanjay Mukhopadhyay, MD, COVID-19 Autopsies, Oklahoma, EE. UU., *American Journal of Clinical Pathology*, Volumen 153, Número 6, Junio de 2020, páginas 725-733, <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaa062>
- Fox SE, Akmatbekov A, Harbert JL, Li G, Quincy Brown J, Vander Heide RS. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans. *Lancet Respir Med*. 2020 Jul;8(7):681-686. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30243-

5. Epub 2020 May 27. PMID: 32473124; PMCID: PMC7255143.
24. Carsana L, Sonzogni A, Nasr A, Rossi RS, Pellegrinelli A, Zerbi P, Rech R, Colombo R, Antinori S, Corbellino M, Galli M, Catena E, Tosoni A, Gianatti A, Nebuloni M. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2020 Oct;20(10):1135-1140. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30434-5. Epub 2020 Jun 8. PMID: 32526193; PMCID: PMC7279758.
25. Edler C, Schröder AS, Aepfelbacher M, Fitzek A, Heine-mann A, Heinrich F, Klein A, Langenwalder F, Lütge-hetmann M, Meißner K, Püschel K, Schädler J, Steurer S, Mushumba H, Sperhake JP. Dying with SARS-CoV-2 infection-an autopsy study of the first consecutive 80 cases in Hamburg, Germany. *Int J Legal Med.* 2020 Jul;134(4):1275-1284. doi: 10.1007/s00414-020-02317-w. Epub 2020 Jun 4. Erratum in: *Int J Legal Med.* 2020 Sep;134(5):1977. PMID: 32500199; PMCID: PMC7271136.
26. Schaller T, Hirschbühl K, Burkhardt K, et al. Postmortem Examination of Patients With COVID-19. *JAMA.* 2020; 323 (24): 2518–2520. Disponible en: doi: 10.1001/jama.2020.8907
27. Wichmann D. Autopsy Findings and Venous Thromboembolism in Patients With COVID-19. *Ann Intern Med.* 2020 Dec 15;173(12):1030. doi: 10.7326/L20-1206. PMID: 33316197.
28. Red Nacional de Biobancos de España. Guía de la Red Nacional de Biobancos para el manejo de muestras humanas en investigación biomédica. Recomendaciones ante la pandemia de COVID-19 [Internet] Disponible en: https://redbiobancos.es/wp-content/uploads/20200412_Gu%C3%ADa-RNBB-Bioseguridad-COVID-19-vfinal-3_revISCIII.pdf