

IFCC preporuke za biohemijske laboratorije o COVID-19

<https://www.ifcc.org/ifcc-news/2020-03-26-ifcc-information-guide-on-covid-19/>

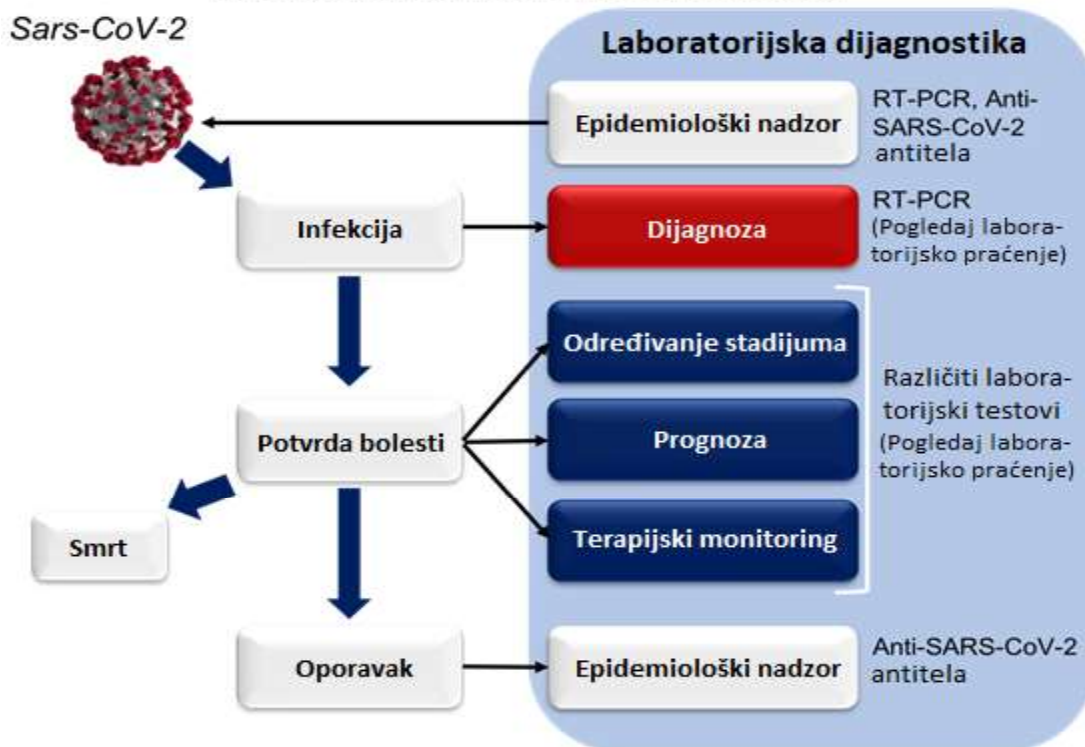
Originalni tekst objavljen: četvrtak, 26. marta 2020.

Tekst na srpski jezik prevele i priredile: Prof. Nataša Bogavac-Stanojević, prof. Aleksandra Zeljković, prof. Aleksandra Stefanović, prof. Jelena Vekić, prof. Ana Ninić, asist. dr Tamara Gojković i prof. Jelena Kotur-Stevuljević: 30. Marta 2020.

Korona-virusna bolest 2019 (COVID-19) je pandemija nastala zbog teškog akutnog respiratornog sindroma izazvanog koronavirusom 2 (SARS-CoV-2). Kako se broj osoba zaraženih COVID-19 i dalje globalno povećava i kako su zdravstveni sistemi pod sve većim opterećenjem, jasno je da kliničke laboratorije imaju suštinsku ulogu u ovoj krizi, doprinoseći skriningu, dijagnozi, nadgledanju i lečenju pacijenata, kao i u epidemiološkom smislu tj. oporavku i preživljavanju pacijenata. Ovaj vodič ima za cilj da pruži pregled relevantnih, dostupnih informacija o laboratorijskom skriningu, protokolima ispitivanja, dijagnozi i drugim opštim informacijama o COVID-19 za laboratorijske stručnjake, uključujući linkove do korisnih resursa i trenutno preporučenih smernica. Dostupne nove smernice i literatura, će se stalno ažurirati.

Značajna uloga laboratorijske medicine kod COVID-19 infekcije

(Modifikovano iz: Lippi et al, PMID: 32191623)



Opšte informacije:

U nastavku teksta prikazani su linkovi do korisnih veb stranica i smernica koje su sastavili laboratorijski i klinički stručnjaci iz celog sveta:

American Association for Clinical Chemistry: [COVID-19 Resources for Labs](#)

British Medical Journal: [COVID-19 Best Practice Guideline](#)

Center for Disease Control: [Information for Laboratories](#)

European Centre for Disease Prevention and Control: [COVID-19 Resources](#)

World Health Organization: [COVID-19 Technical Guidance for National Laboratories](#)

Zhejiang University School of Medicine: [Handbook of COVID-19 Prevention and Treatment](#)

Skrining pacijenata

Prema preporukama Svetske zdravstvene organizacije (SZO) za nadzor COVID-19 infekcije u humanoj populaciji, postoje dva glavna faktora koja treba uzeti u obzir prilikom pregleda pacijenata:

- Epidemiološka istorija
- Klinička slika

1. **Epidemiološka istorija:** Da li je u poslednjih 14 dana od pojave simptoma, pacijent putovao ili boravio u područjima gde je potvrđena epidemija ili bio u kontaktu sa potvrđenim slučajem ili slučajem za koji se sumnja da je COVID-19 pozitivan?

2. **Klinička slika:** Da li ima akutne respiratorne tegobe, praćene groznicom i barem jednim respiratornim znakom/simptomom, poput kašlja ili nedostatka daha?

Suspektni slučajevi se definišu kao:

- Pacijent sa akutnim respiratornim tegobama I pozitivnom epidemiološkom istorijom ILI
- Pacijent sa teškim akutnim respiratornim tegobama (kao gore opisanim, koje zahtevaju hospitalizaciju), bez druge dijagnoze koja bi u potpunosti objasnila kliničke znake/simptome.

Dijagnostičko testiranje: analitički i klinički aspekti

Nakon potvrde da postoji osoba za koju se sumnja da je zaražena korona virusom, uzorak treba uzeti i testirati u što kraćem vremenu. Preporuke za rukovanje uzorcima daje Centar za kontrolu

i prevenciju bolesti (engl. *Centers for Disease Control and Prevention, CDC*) “*Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019*”. Prema ovim preporukama, za inicijalno testiranje treba uzeti uzorak iz gornjeg dela respiratornog trakta. Moguće je uzeti sledeće vrste bakterioloških uzoraka: nazofaringealni uzorak (uzorak izbora), orofaringealni uzorak, uzorak iz nosne šupljine, i uzorak iz nižih delova nosne šupljine, nozdrva. Uzorak iz donjeg dela respiratornog trakta je takođe preporučan od CDC, ako je takav uzorak dostupan.

Test amplifikacije nukleinskih kiselina

PCR reakcija u realnom vremenu kojoj prethodi reverzna transkripcija (rRT-PCR) je trenutni zlatni standard za dijagnozu suspektih COVID-19 slučajeva. rRT-PCR je reakcija amplifikacije nukleinskih kiselina koja detektuje jedinstvenu sekvencu virusa koji uzrokuje COVID-19 (SARS-CoV-2) u uzorcima respiratornog trakta. Virusni geni koji su u fokusu ove analize su N, E, S i RdRP geni (WHO, *Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases*). Validirana dijagnostička procedura za detekciju SARS-CoV-2 je nedavno publikovana u radu Cormana i kolega ([PMID: 31992387](#)) i prema toj proceduri redosled analiza je sledeći:

- a. Prva linija skrininga: E gen,
- b. Konfirmatorni skrining: RdRP gen i
- c. Dodatni konfirmatorni skrining: N gen.

U tabeli su prikazani kriterijumi na koje laboratorija treba da obrati pažnju u odnosu na oblast iz koje dolaze uzorci:

Pacijent potiče iz oblasti:	Kriterijumi za potvrdu
Oblast sa potvrđenim prisustvom COVID-19	<ul style="list-style-type: none"> • Pozitivan test amplifikacije nukleinskih kiselina za jedan diskriminatorni ciljani gen u SARS-CoV-2 genomu
Oblast bez potvrđenog prisustva COVID-19	<ul style="list-style-type: none"> • Pozitivan rezultat za najmanje dva različita ciljna gena, od kojih je jedan specifičan za SARS-CoV-2 virus • Pozitivan rezultat rRT-PCR za β-korona virus i identifikacija SARS-CoV-2 virusa parcijalnim ili potpunim sekvenciranjem genoma (napomena: ciljna sekvencija mora biti veća ili različita od produkta amplifikacije)

U slučaju kada se dobije negativan rezultat kod pacijenata sa kliničkom slikom koja jasno ukazuje na infekciju COVID 19, preporuka je da se test ponovi. Ako se utvrdi negativan rezultat analiziranjem samo jednog uzorka iz gornjeg respiratornog trakta, potrebno je nakon toga testirati i uzorak iz donjeg dela respiratornog trakta. Dodatni uzorci koji se mogu testirati su krv i feces (WHO, *Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases*).

Trenutno dostupni analitički testovi

Trenutno se razvijaju i optimizuju ne samo komercijalni testovi, već i testovi u pojedinačnim laboratorijama. U nastavku je prikazan kratak pregled nekoliko trenutno dostupnih protokola uvedenih u pojedinim laboratorijama (dostupno preko SZO):

1. Specifični prajmeri i probe za detekciju novog korona virusa 2019 (Kina – Nacionalni institut za kontrolu i prevenciju virusnih bolesti):

[China CDC Primers and probes for detection 2019-nCoV \(24 January 2020\)](#)

Preporučuje se upotreba otvorenog okvira za detekciju za novi coronavirus 1AB (Open Reading Frame, ORF1ab) i nukleokapsidni protein (Nukleoprotein, N) upotrebom sledećih prajmera i proba njihovih genskih regiona.

Za ciljnu sekvencu (ORF1ab):

Nizvodni prajmer - Forward primer (F): CCCTGTGGGTTTTACTTAA

Uzvodni prajmer - Reverse primer (R): ACGATTGTGCATCAGCTGA

Fluorescentna proba (P): 5'-FAM-CCGTCTGCGGTATGTGGAAAGGTTATGG-BHQ1-3 '

Za ciljnu sekvencu (N):

Nizvodni prajmer - Forward primer (F): GGGGAACTTCTCCTGCTAGAAT

Uzvodni prajmer - Reverse primer (R): CAGACATTTTGCTCTCAAGCTG

Fluorescentna proba (P): 5'-FAM-TTGCTGCTGCTTGACAGATT-TAMRA-3 '

Ekstrakciju nukleinskih kiselina i qRT-PCR izvršiti prema odgovarajućim uputstvima proizvođača.

Analiza rezultata:

Negativan: Ct nije očitano ili Ct veći od 40.

Pozitivan: Vrednost Ct <37 se može prijaviti kao pozitivna.

Za Ct vrednosti između 37 i 40 se preporučuje da se ponovi test i ako je u ponovljenom testu

Ct <40 i kriva amplifikacije ima jasan plato, uzorak na COVID-19 je pozitivan.

2. Dijagnostički test za detekciju korona virusa 2019 iz Vuhana korišćenjem qRT-PCR – Charité, Berlin, Nemačka

[Diagnostic detection of Wuhan coronavirus 2019 by real-time RT-PCR – Charité, Berlin Germany \(17 January 2020\)](#)

Skrining test: **test na E gen** (E gen dele svi β koronavirusi).

Konfirmatorni test: **test na RdRp** (RNK-zavisna RNK polimeraza), RdRp gen je specifičan za SARS-CoV-2 nalazi se na ORF1ab regionu.

E gen

Nizvodni prajmer (E_Sarbeco_F1) ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT

Uzvodni prajmer (E_Sarbeco_R2)

Fluorescentna proba (E_Sarbeco_P1) FAM-ACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG-BBQ

RdRPGene

Nizvodni prajmer (SARSr-F2): GTGARATGGTCATGTGTGGCGG

Uzvodni prajmer (SARSr-R1): CARATGTTAAASACTATTAGCATA

Fluorescentna proba (SARSr-P1): FAM-CAGGTGGAACCTCATCAGGAGATGC-BBQ (specifična za 2019-nCoV, ne detektuje SARSCoV)

Fluorescentna proba (SARSr-P2): FAMCCAGGTGGWACRTCATCMGGTGATGC-BBQ (2019-nCoV, SARS-CoV i bat-SARS-povezane CoV viruse)

Sva ispitivanja su izvršena pod istim uslovima. Korišćeni prajmeri i probe su bili optimizovanih koncentracija. Reakciona smeša zapremine 25µL sadrži 5 µL rastvora RNA, 12,5 µL 2 X koncentrovanog pufera sa *Superscript III* reverznom transkriptazom i *Platinum Taq* polimerazom (Invitrogen) primenom *one-step* qRT-PCR protokola. Sve oligonukleotide je

sintetisao i obezbedio Tib-Molbiol, Berlin. Temperaturni ciklusi su bili sledeći: 55°C tokom 10 minuta za reverznu transkripciju, 95°C tokom 3 min i zatim 45 ciklusa na 95°C tokom 15s i 58°C tokom 30s.

Svi testovi mogu koristiti SARS-CoVRNK kao pozitivnu kontrolu. SintetisanaRNK pozitivna kontrola za 2019-nCoV E test gena je dostupan putem EVAg organisation (<https://www.european-virus-archive.com/>).

3. Detekcija 2019-nCoV humanim uzorcima primenom qRT-PCR – Univerzitet u Hong Kongu

[Detection of 2019 novel coronavirus \(2019-nCoV\) in suspected human cases by RT-PCR – Hong Kong University \(23 January 2020\)](#)

Dva jednostepena qRT-PCR testa su korišćena za detekciju korona virusa podvrste *Sarbecovirus* koji uključuje 2019-nCoV, SARS-CoV i SARS otkriven kod slepog miša. Virusna RNK izolovana iz SARS-CoV može se koristiti kao pozitivna kontrola. Pošto je SARS eradican kod ljudi, sve suspektne uzorke koji su pozitivni u qRT-PCR analizama treba smatrati inficiranim 2019-nCoV. qRT-PCR N gena se preporučuje kao skrining test i Orf1b test kao konfirmatorni. U slučaju pozitivnog rezultata PCR-a, analiza sekvenci amplikona će dodatno pomoći da se potvrdi rezultat i napravi razlika između SARS-CoV i 2019-nCoV. Ako je pozitivan rezultat testa za N gen, a negativan test za Orf1b gen treba ga smatrati neodređenim i preporuka je da se taj uzorak analizira u referentnoj laboratoriji SZO dodatnim testovima.

Sekvence:

Test 1 (ORF1b-nsp14)

Nizvodni prajmer (HKU-ORF1b-nsp14F): 5'-TGGGGYTTTACRGGTAACCT-3'

Uzvodni prajmer (HKU-ORF1b-nsp14R): 5'-AACRCGCTTAACAAAGCACTC-3'

Proba (HKU-ORF1b-nsp141P): 5'-FAM-TAGTTGTGATGCWATCATGACTAG-TAMRA-3'

Test 2 (N)

Nizvodni prajmer (HKU-NF): 5'-TAATCAGACAAGGAACTGATTA-3'

Uzvodni prajmer (HKU-NR): 5'-CGAAGGTGTGACTTCCATG-3'

Proba (HKU-NP): 5'-FAM-GCAAATTGTGCAATTTGCGG-TAMRA-3'

4. Dijagnostička detekcija novog koronavirusa 2019 qRT-PCR, Odeljenje medicinskih nauka, Ministarstvo za javno zdravlje, Tajland

[PCR and sequencing protocol for 2019-nCoV - Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand \(Updated 28 January 2020\)](#)

5. Protokoli za PCR i sekvenciranje 2019-nCoV – Nacionalni Institut za infektivne bolesti Japana

[PCR and sequencing protocols for 2019-nCoV- National Institute of Infectious Diseases Japan](#) (24 January 2020)

6. USA CDC RT-PCR panel za detekciju 2019-Coronavirus

[US CDC Real-Time RT-PCR Panel for Detection 2019-Novel Coronavirus](#) (28 January 2020)

[US CDC panel primer and probes– U.S. CDC, USA](#) (28 January 2020)

7. RT-PCR testovi za detekciju SARS-CoV-2 Institut Paster Pariz, Francuska

[Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2 Institut Pasteur, Paris](#) (2 March 2020)

***Postoji niz preanalitičkih i analitičkih problema koji mogu uticati na dijagnostičko testiranje prisustva COVID-19. Neki preanalitički faktori uključuju nepravilno prikupljanje, rukovanje, transport i upotrebu briseva, kao i prikupljanje neadekvatnog materijala, interferirajućih materija i kontaminaciju uzoraka. Čest analitički problem je testiranje izvan dijagnostičkog opsega, a dodatno i problem aktivne virusne rekombinacije i neadekvatno validiranih testova (Lippi i sar., [PMID: 31992387](#))

Dodatni izvori/publikacije za COVID-19: Serološko testiranje i virološko sekvenciranje

John Hopkin's Center for Health Security: [Serology Testing for COVID-19](#)

Serološki testovi su zasnovani na određivanju prisustva antitela na specifične komponente patogena (antigene) u serumu pacijenta. Ovaj tip testova se koristi za dijagnozu virusnog oboljenja, kao i za ispitivanje imunskog odgovora pacijenta na prisustvo patogena.

Tipovi seroloških testova:

- Testovi neutralizacije
- Imunofluorescentni testovi (IFA)
- Enzimski imunoadsorpcioni testovi (ELISA)
- Western blot testovi

COVID-19 – detekcija i serologija

Trenutno ne postoje serološki testovi za detekciju virusa uzročnika COVID-19. Preporuke su zasnovane na PCR tehnikama za dijagnozu infekcije na osnovu prisustva virusne RNK. Serološki testovi za detekciju COVID-19 bi skratili vreme postavljanja dijagnoze i omogućili testiranje aktivnog imunskog odgovora organizma pacijenta na infekciju.

Dva potencijalna serološka testa za COVID-19 bi bila:

- 1) Test za detekciju prisustva proteina virusa (Western blot)
- 2) ELISA test za detekciju antitela pacijenta na virus

Istraživači i kompanije koje se bave proizvodnjom seroloških testova intenzivno rade na pripremi antitela i antigena za COVID-19.

WHO: [Laboratory testing for coronavirus disease 2019 \(COVID-19\) in suspected human cases](#)

Svetska zdravstvena organizacija je dala preporuke za laboratorijsko testiranje pacijenata za COVID-19 u kojima ističe značaj seroloških testova za dijagnozu i praćenje imunološkog odgovora pacijenta na infekciju, posebno u slučajevima gde su PCR rezultati testa negativni a klinička slika ukazuje na prisustvo infekcije. Preporuka je uzorkovanje krvi i izdvajanje seruma u akutnoj fazi bolesti, kao i u fazi oporavka pacijenta, pre potpunog izlečenja. Intenzivno se radi na razvoju seroloških testova za COVID-19.

Virološko sekvenciranje

Preporučuje se virološko sekvenciranje kao konfirmacioni test na COVID-19 i kao mogućnost praćenja mutacija virusnog genoma.

Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, Sun R, Wang Y, Hu B, Chen W, Zhang Y. Development and Clinical Application of A Rapid IgM-IgG Combined Antibody Test for SARS-CoV-2 Infection Diagnosis. Journal of medical virology. 2020 Feb 27. **PMID:** [32104917](#)

Glavni nedostatak PCR testova za detekciju COVID-19 jeste značajan procenat lažno negativnih rezultata. Li i saradnici su razvili brzi i jednostavan kombinovani serološki test za detekciju IgM - IgG antitela na SARS-CoV-2 virus. Radi se o jednostavnom *point-of-care* testu koji daje rezultate u roku od 15 minuta. Osetljivost testa je 88,66%, a specifičnost 90,63%. Autori predlažu upotrebu ovog testa za brzi skrining pacijenata sa i bez simptoma prisustva virusne infekcije COVID-19.

Meyer B, Drosten C, Müller MA. Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls. Virus research. 2014 Dec 19;194:175-83. **PMID:** [24670324](#)

Autori daju pregled studija koje su se bavile serološkim testovima za dokazivanje infekcija SARS i MERS koronavirusima (CoV). Dat je uporedni prikaz dijagnostičke tačnosti različitih seroloških testova i ukazano na probleme koji se mogu javiti prilikom razvoja novih seroloških testova za dokazivanje COVID-19.

Vodič za sprovođenje biološke bezbednosti u biohemijским laboratorijama

Biohemijske laboratorije koje rade sa uzorcima biološkog materijala za koje se sumnja da su pozitivni na virus izazivač COVID-19 trebalo bi da prate preporuke za sprovođenje biološke bezbednosti. Vodič Svetske zdravstvene organizacije o sprovođenju laboratorijske biološke bezbednosti vezano za COVID-19 je ažuriran 19.3.2020. Najznačajnije smernice su:

- Sve laboratorijske procedure moraju se obavljati uz obaveznu procenu rizika, isključivo od strane adekvatno edukovanog osoblja, uz strogo pridržavanje relevantnih protokola rada u svim fazama laboratorijskog rada.
- Obrada potencijalno infektivnog biološkog materijala mora se obavljati u posebnoj laboratorijskoj jedinici koja ispunjava kriterijume za obezbeđivanje biološke bezbednosti.
- Dijagnostičke laboratorijske tehnike (kao što su sekvenciranje, test amplifikacije nukleinskih kiselina) treba izvoditi uz poštovanje protokola koji zadovoljavaju kriterijume nivoa 2 biološke bezbednosti (engl. *Biological safety level 2*, BSL-2).
- Laboratorijske procedure u kojima dolazi do replikacije virusa (na primer, ispitivanje kulture virusa, izolacija virusa, testovi neutralizacije) treba izvoditi u izolovanim laboratorijskim jedinicama sa kontrolisanim i usmerenim tokom vazduha nivoa 3 biološke bezbednosti (BSL-3).
- Preporučuje se upotreba dezinfekcionih sredstava sa dokazanom antimikrobnim delovanjem na patogen (na primer: hipohlorit, alkohol, vodonik-peroksid, kvaternarne amonijumove soli, derivati fenola)
- Biološki materijal dobijen od pacijenata sa suspektnim ili dokazanim prisustvom patogena treba transportovati kao UN3373, “Biological Substance Category B”

Dodatni vodiči/preporuke za biološku bezbednost uključuju:

Center for Disease Control: [Biosafety Frequently Asked Questions](#)

Health Canada: [COVID-19 BioSafety Advisory](#)

Preporuke date od strane Agencije za javno zdravlje Kanade vezane za obezbeđivanje biološke bezbednosti u kliničkim, dijagnostičkim i istraživačkim laboratorijama pri radu sa biološkim materijalom kontaminiranim SARS-CoV-2 virusom. Preporuke su zasnovane na trenutno

dostupnim naučnim dokazima i podložne su preispitivanju i promenama. Centar za biološku bezbednost je SARS-CoV-2 klasifikovao kao humani patogen rizične grupe 3.

Public Health England: [Safe handling and processing for COVID-19 samples in laboratories](#)

Ovaj vodič je namenjen proceni i smanjenju rizika po zdravlje laboratorijskih radnika koji rade sa biološkim materijalom kontaminiranim SARS-CoV-2 virusom. Date su privremene smernice za laboratorijski rad koje su specifične za laboratorijsku, dijagnostičku praksu u Engleskoj i shodno tome mogu se razlikovati od smernica i preporuka koje daju autoritativna tela u drugim zemljama. Preporuke su vezane isključivo za laboratorijsku dijagnostiku i ne odnose se na laboratorijske procedure vezane za izolovanje virusa, replikaciju virusa ili radu sa eksperimentalnim životinjama kontaminiranim SARS-CoV-2 virusom. Date preporuke se mogu menjati u skladu sa dobijanjem novih naučnih podataka.

Laboratorijsko praćenje pacijenata sa COVID-19

Kliničko-biohemijske laboratorije imaju suštinsku ulogu u ovoj pandemiji, koja se ne odnosi samo na dijagnostiku COVID-19, već i na praćenje promena biohemijskih parametara u cilju procene stepena težine bolesti i njene progresije, kao i za praćenje efekata terapijskih intervencija. Rezultati nekoliko rutinskih biohemijskih analiza mogu ukazati na progresiju COVID-19 i nepovoljan ishod, pružajući na taj način potencijalno važne prognostičke informacije. Na osnovu raspoloživih literaturnih podataka formirana je **lista preporučenih laboratorijskih testova**, koja se nalazi u priloženoj tabeli, gde su takođe date i očekivane promene navedenih parametara kod odraslih pacijenata sa COVID-19, kao i potencijalne kliničke indikacije za njihovu primenu (1-10). Novi dokazi ukazuju da su pacijenti sa teškim oblikom COVID-19 pod rizikom za razvoj sindroma „**citokinske oluje**“ (hipersekreција proinflatornih citokina), te bi stoga trebalo odrediti i koncentracije citokina, posebno IL-6, kad god je to moguće.

Važno je istaći da, za razliku od odraslih pacijenata, rezultati laboratorijskih analiza kod teških pedijatrijskih pacijenata sa COVID-19 nisu konzistentni, niti odgovaraju nalazima pedijatrijskih pacijenata sa SARS infekcijom. Na osnovu raspoloživih podataka, broj limfocita i koncentracija C-reaktivnog proteina mogu da ukažu na tešku infekciju, a prokalcitonin na udruženu bakterijsku infekciju, te se ove analize i preporučuju (2).

Lista preporučenih laboratorijskih testova (Preuzeto, uz modifikacije, iz referenci 1-10):

Laboratorijski test	Glavna odstupanja uočena kod odraslih pacijanata sa nepovoljnim ishodom COVID-19	Potencijalni klinički značaj
Kompletna krvna slika	Povišen broj leukocita Povišen broj neutrofila Snižen broj limfocita Snižen broj trombocita	Bakterijska (super)infekcija Bakterijska (super)infekcija Smanjen imunološki odgovor na virusnu infekciju Potrošna (diseminovana) koagulopatija
Albumin	Snižen	Poremećena funkcija jetre
Laktat-dehidrogenaza	Povišena	Oštećenje pluća i/ili drugih organa
Alalnin-aminottransferaza	Povišena	Oštećenje jetre i/ili drugih organa
Alspartat-aminottransferaza	Povišena	Oštećenje jetre i/ili drugih organa
Ukupan bilirubin	Povišen	Oštećenje jetre
Kreatinin	Povišen	Oštećenje bubrega
Srčani troponin	Povišen	Oštećenje srca
D-dimer	Povišen	Aktivacija koagulacije i/ili potrošna koagulopatija
Protrombinsko vreme	Povišeno	Aktivacija koagulacije i/ili potrošna koagulopatija
Prokalcitonin	Povišen	Bakterijska (super)infekcija
C-reaktivni protein	Povišen	Teška virusna infekcija/viremija/sepsa
Feritin	Povišen	Visok stepen inflamacije
Citokini (IL-6)	Povišen	Sindrom citokinske oluje

Literatura:

1. Fan BE, Chong VC, Chan SS, Lim GH, Lim KG, Tan GB, Mucheli SS, Kuperan P, Ong KH. Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *American journal of hematology*. 2020 Mar 4. PMID: 32129508
2. Henry BM, Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in children with novel coronavirus disease 2019. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2020 Mar 16. PMID: 32172227
3. Lippi G, Plebani M. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2020 Mar 19. PMID: 32191623
4. Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2020 Mar 3. PMID: 32119647
5. Lippi G, Plebani M. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2020 Mar 4. PMID: 32145275
6. Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. *Clinica Chimica Acta*. 2020 Mar 13. PMID: 32178975
7. Lippi G, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. *Progress in cardiovascular diseases*. 2020 Mar 10. PMID: 32169400
8. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*. 2020 Mar 16. PMID: 32192578
9. Rodríguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, Alvarado-Arnez LE, Bonilla-Aldana DK, Franco-Paredes C, Henao-Martinez AF, Paniz-Mondolfi A. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2020 Mar 13:101623. PMID: 32179124
10. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Medicine*. 2020 Mar 3:1-3. PMID: 32125452

Kratak pregled najznačajnijih publikovanih rezultata u oblasti kliničko-laboratorijske obrade pacijenata sa COVID-19

1. *Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2020 Mar 3. PMID: 32119647*

Pregled standardnih laboratorijskih rezultata ukazao je da se kod pacijenata sa COVID-19 najčešće viđaju sledeće abnormalnosti: limfopenija (35-75% slučajeva), povišena koncentracija CRP (75-93% slučajeva), aktivnost LDH (27-92% slučajeva), brzina sedimentacije eritrocita (do 85% slučajeva) i D-dimer (36-43%), a niske koncentracije serumskog albumina (50-98% slučajeva) i hemoglobina (41-50% slučajeva). Osim toga, brojni laboratorijski parametri imaju potencijal za predviđanje razvoja komplikacija i neželjenog ishoda bolesti (uključujući pored prethodno spomenutih: povišene leukocite, neutrofile, aktivnosti ALT, AST, koncentracije bilirubina, kreatinina, kardijačnog troponina, prokalcitonina i povišeno protrombinsko vreme).

2. *Fan BE, Chong VC, Chan SS, Lim GH, Lim KG, Tan GB, Mucheli SS, Kuperan P, Ong KH. Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. American journal of hematology. 2020 Mar 4. PMID: 32129508*

Limfopenija i povišena aktivnost laktat-dehidrogenaze (LDH) karakteristični su laboratorijski nalazi pacijenata sa težom formom COVID-19 infekcije. Izraženija limfopenija i više aktivnosti LDH sreću se kod pacijenata koji zahtevaju zbrinjavanje u jedinicama intenzivne nege. Ovi parametri mogu biti korisni za procenu neophodnosti hitnog zbrinjavanja pacijenata. Takođe, u toku hospitalizacije pacijenata u jedinicama intenzivne medicinske nege uočen je razvoj neutrofilije. Kod starijih pacijenata laboratorijski nalaz limfopenije i povišena aktivnost LDH na prijemu u bolnicu sreću se češće kod pacijenata sa težom formom bolesti koja se zbrinjava u jedinicama intenzivne nege.

3. *Henry BM, Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in children with novel coronavirus disease 2019. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM). 2020 Mar 16. PMID: 32172227*

Za razliku od odraslih osoba, COVID-19 retko izaziva ozbiljne kliničke ishode kod dece. Od ukupnog broja laboratorijski potvrđenih slučajeva COVID-19 u Kini, samo 2,1% su činili mladi od 19 godina. Ipak, u 2,5% pedijatrijskih slučajeva zabeležen je razvoj ozbiljnijih komplikacija, a prijavljeni su i smrtni ishodi kod dece i adolescenata. Iako su klinički podaci slabije dostupni i najčešće potiču iz pojedinačnih prikaza slučaja, može se uočiti da se kod dece ređe sreću abnormalnosti hematoloških laboratorijskih parametara. Normalan broj leukocita bio je prisutan kod 69,9% slučajeva, u 15,2% slučajeva bio je prisutan povišen, a u 15,2% snižen broj leukocita. Normalan broj neutrofila dominantno je bio prisutan kod dece, a samo u 10,6% slučajeva su uočena odstupanja, bilo u smislu povišenja, ili sniženja broja neutrofila.

Kod samo 3% slučajeva (n=2) uočena je limfopenija. Ovo je potencijalno značajan rezultat, budući da je prijavljeno da je limfopenija prisutna kod 80% odraslih pacijenata sa COVID-19 u kritičnom stanju. Izostanak limfopenije mogao bi barem delimično biti odgovoran za retku pojavu teškog oblika bolesti kod dece (treba napomenuti da je limfopenija bila tipična za pacijente sa SARS i MERS infekcijama).

Povećana koncentracija CRP bila je uočena kod 13,6%, a prokalcitonina kod 10,6% slučajeva, i to uglavnom kod dece-pacijenata sa težim tokom bolesti. Povišen IL-6 takođe je prijavljen u slučaju pedijatrijskog pacijenta sa teškom COVID-19 infekcijom, i to u prvih pet dana hospitalizacije.

Preporuka za kliničke laboratorije je da je kod dece sa COVID-19 poželjno pratiti broj limfocita i koncentraciju CRP, kao znake težeg oblika bolesti, a prokalcitonina kao markera potencijalne udružene bakterijske infekcije. IL-6 je potencijalni prognostički indikator toka bolesti.

4. *Lippi G, Plebani M. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2020 Mar 4. PMID: 32145275*

Meta analiza publikovanih studija iz ove oblasti pokazala je da su povećane koncentracije prokalcitonina povezane sa gotovo 5 puta većim rizikom za nastanak teške COVID-19 infekcije, što najverovatnije ukazuje na paralelno prisutnu bakterijsku superinfekciju.

5. *Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. Clinica Chimica Acta. 2020 Mar 13. PMID: 32178975*

Meta analize upućuju na zaključak da je kod pacijenata sa težom formom COVID-19 prisutan niži broj trombocita. Ispitivanja u odnosu na mortalitet su pokazala da je trombocitopenija udružena sa povišenim mortalitetom.

6. *Lippi G, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. Progress in cardiovascular diseases. 2020 Mar 10. PMID: 32169400*

Prema rezultatima meta analize, povećane koncentracije kardijačnog troponina I (TnI) iznad 99-og percentila referentnog intervala se sreću kod samo 8-12% slučajeva infekcije COVID-19. Međutim, kardijačni TnI je značajno viši kod pacijenata sa teškom formom bolesti. U tom smislu, određivanje markera oštećenja miokarda na početku i u toku hospitalizacije pacijenata sa COVID-19 može biti od koristi u identifikaciji pacijenata sa mogućim kardijačnim oštećenjem, što omogućava pravovremeno prepoznavanje eventualne progresije bolesti ka težoj kliničkoj slici.

7. *Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. The Lancet. 2020 Mar 16. PMID: 32192578*

Neki od raspoloživih podataka ukazuju da uzrok povišenog mortaliteta u COVID-19 infekciji može biti hiperinflamatorni sindrom (citokinska oluja sa multiplim otkazivanjem organa), što bi eventualno moglo da ukaže na potrebu za uvođenjem imunosupresiva u terapiju. Ovi podaci sugerišu potrebu da se kod svih pacijenata sa teškim oblikom COVID-19 vrši laboratorijska procena hiperinflamatornog sindroma (koncentracija feritina, broj trombocita, brzina sedimentacije eritrocita...). Takođe, razvijeni su i “score” sistemi za evaluaciju hiperinflamatornog stanja i neki od njih su dostupni online.

8. *Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. Intensive Care Medicine. 2020 Mar 3:1-3. PMID: 32125452*

Ispitivanje kliničkih i laboratorijskih prediktora smrtnog ishoda kod infekcije COVID-19 ukazalo je na to da su starija životna dob, prisustvo komorbiditeta i sekundarna infekcija najznačajniji klinički prediktori fatalnog ishoda. Kada su u pitanju laboratorijski markeri, najznačajnijih laboratorijski parametri koji bi mogli da se dovedu u vezu sa povišenim mortalitetom su povišen kardijačni troponin, miogloblin, CRP i IL-6. Osim toga, između umrlih i preživelih pacijenata bile su prisutne razlike i u: broju leukocita, limfocita, trombocita, te koncentracijama albumina, ukupnog bilirubina, ureje i kreatinina.

U okviru ovog edukativnog teksta sa IFCC sajta dati su i linkovi za 4 webinaru sa slobodnim pristupom koji mogu biti korisni i interesantni za zdravstvene radnike u biohemijskim laboratorijama:

1. **Free Course on COVID-19 from AACC Learning Lab:** AACC developed this content with leading scientists as part of AACC Learning Lab on NEJM Knowledge+. The free course covers COVID-19 transmission, complications, diagnosis, and more.

AACC (engl. American Association of Clinical Chemistry) – online kurs o COVID-19 infekciji – vodeći naučnici iz oblasti kliničke hemije su sastavili kurs koji traje 20 minuta i u kome se kroz 20 slajdova sa kratkim objašnjenjima daje teorijski uvod a zatim se kroz naredni slajd sa pitanjem proverava stečeno znanje iz ove oblasti a vezano za prenošenje infekcije, epidemiologiju bolesti, komplikacije bolesti, dijagnozu uključujući i laboratorijske nalaze itd.

2. **Free AACC Laboratory Pearl on COVID-19:** The Pearl by Dr. Lippi reveals potential origins for the virus, how it attacks the body, it's symptoms, and associated laboratory abnormalities.

Prof. Lippi (Direktor Laboratorije za kliničku hemiju i hematologiju Univerzitetske bolnice u Veroni, Italija i redovni profesor kliničke biohemije i kliničke molekularne biologije) u prezentaciji koja se sastoji od 17 slajdova objašnjava moguće poreklo virusa, njegovo delovanje na organizam, simptome bolesti i opisuje promene laboratorijskih parametara.

3. **Free AACC Clinical Chemistry Podcast - Why Clinical Labs Are Essential to Containing COVID-19:** Dr. Matthew Binnicker gives an update on the coronavirus outbreak and discusses what is needed to bring this global epidemic under control.

Dr. Matthew Binnicker (Direktor Kliničke virologije i zamenik šefa prakse na odeljenju laboratorijske medicine i patologije Mejo klinike) – objašnjava ulogu kliničkih laboratorija u borbi sa COVID-19 infekcijom i šta je potrebno da bi se ova globalna epidemija stavila pod kontrolu.

4. **Free AACC Clinical Chemistry Podcast - Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus:** Dr. Leo Poon of the University of Hong Kong gives expert insight into the 2019 novel coronavirus, and discusses the new molecular diagnostic assays his team has developed to detect and quantify this virus.

Dr. Leo Poon (Škola javnog zdravlja, Li Ka Shing Medicinskog fakulteta Univerziteta u Hong Kongu) daje svoje ekspertske mišljenje o novom korona virusu i razmatra nove molekularne dijagnostičke testove koje je razvio njegov tim sa ciljem detekcije i kvantifikacije ovog virusa.