

**AUDIZIONE INFORMALE SUL RICORSO AI TEST E AL TRACCIAMENTO PER IL CONTENIMENTO DELLA PANDEMIA**

Gentile Presidente,  
Gentili Senatori,

vorrei innanzitutto sottolineare il Valore della Medicina di Laboratorio dimostrato durante questa Pandemia. L'auspicio è che la presenza massiva della Medicina di Laboratorio nell'intero percorso della malattia Covid-19 e della sua prevenzione, possa finalmente cambiare il paradigma con la quale la nostra Disciplina viene valutata, da Costo/Volume a Valore/Benefici.

Mai come in questa occasione sono crollate le barriere tra le diverse branche della Medicina di Laboratorio, basti pensare alla Biochimica Clinica, alla Virologia, alla Biologia molecolare, tutte impiegate diffusamente ed in modo sinergico tra loro. Questo avrà ricadute importanti anche nel futuro post-Covid in termini organizzativi, manageriali e dal punto di vista scientifico-educazionale. La Medicina di Laboratorio accompagna il cittadino e il paziente Covid-19 durante tutto il processo di screening, diagnosi, follow up, fino all'outcome della malattia.

Numerose sono ormai le analisi cliniche che permettono di stratificare i pazienti in base alla gravità della malattia apportando un significativo ausilio nella gestione dell'emergenza ospedaliera, nonché di monitorizzare il decorso e suggerire al clinico le azioni necessarie.

Oggi tuttavia ci concentreremo sullo screening della malattia Covid-19.

In questo contesto, prima di tutto va considerato che non esiste un test perfetto, ma possiamo ricorrere al test giusto, al tempo giusto, al paziente giusto, nel modo giusto.

**IL TEST GIUSTO**

La scelta del test giusto nello screening e diagnosi del Covid-19 presenta almeno tre livelli di complessità:

Il primo livello di complessità è rappresentato dalle differenze tra i diversi marcatori che possiamo studiare ed in particolare :

1. l'acido nucleico virale (RNA o test molecolare);
2. gli anticorpi diretti contro le proteine virali (test sierologico)
3. le proteine del virus (test antigene).

A loro volta tutti e tre le tipologie di marcatore possono essere dosate con metodiche tradizionali che impiegano circa dalle 2 alle 4 ore per eseguire il dosaggio e metodiche cosiddette rapide che impiegano dai 15 minuti ad 1 ora e che possono essere eseguite in prossimità del paziente (Point Of Care Testing).

In linea generale le analisi tradizionali eseguite in un Laboratorio clinico risultano più affidabili e tracciabili.

AD OGGI IL TEST MOLECOLARE CHE DOSA L'RNA VIRALE E' CONSIDERATO IL GOLD STANDARD. E' possibile eseguirlo anche in pooling in condizioni a bassa Prevalenza, ovvero miscelare aliquote di 5-10 individui diversi ed eseguire il dosaggio. Se questo pool risulta positivo, vengono ri-dosati singolarmente tutti i campioni appartenenti al pool stesso.

Questa metodica molto conveniente dal punto di vista economico ed in grado di ridurre la pressione sui Laboratori clinici, è poco utilizzata nel nostro Paese.

SI CONSIGLIA PERTANTO LA DIFFUSIONE NEL PAESE DEL TEST MOLECOLARE IN POOLING.

A breve saranno utili test molecolari o antigene, tradizionali o rapidi in grado di fare una diagnosi differenziale tra l'infezione da SARS-CoV-2 e l'infezione da virus influenzali e altri germi respiratori essendo l'inverno la stagione a più alta incidenza di polmoniti virali e batteriche.

Un secondo livello di complessità è rappresentato dallo spettro di molecole che vengono studiate con le diverse metodiche in commercio. Per il test molecolare c'è la possibilità di studiare l'RNA di vari geni virali: gene E, gene N, gene RdRp, gene S, regione ORF1ab. Questi vengono studiati in varie aggregazioni tra loro in kit diagnostici prodotti dalle varie Aziende IVD.

Lo stesso accade per gli anticorpi anti SARS-CoV-2 che possono essere di tipo IgM, IgG e IgA e che possono essere rivolti verso una o più delle proteine virali a seconda del kit diagnostico.

**MOLTO IMPORTANTE IN QUESTO CASO LA DISTINZIONE TRA LA PROTEINA DEL NUCLEOCAPSIDE (N) E LA PROTEINA SPIKE (S) O ALCUNE SUE SUBUNITA' (S1, RBD). INFATTI LA PROTEINA SPIKE SEMBRA ESSERE MAGGIORMENTE CORRELATA CON L'ATTIVITA' NEUTRALIZZANTE DEGLI ANTICORPI E RAPPRESENTA IL TARGET GENERALMENTE UTILIZZATO DAI VACCINI CHE SARANNO A BREVE A DISPOSIZIONE.**

Un terzo livello di complessità è l'enorme numero di test diagnostici prodotti dalle Aziende IVD e distribuiti in Italia da Agenzie di vendita. Questi kit diagnostici hanno ricevuto la marcatura CE che purtroppo si basa principalmente su un'autovalutazione e un'autodichiarazione da parte del produttore del test, comprese le dichiarazioni sulle prestazioni del test.

Le informazioni indipendenti sulla prestazione clinica di questi test in termini di Sensibilità e Specificità diagnostiche sono spesso limitate, eppure questo è fondamentale per una corretta interpretazione dei risultati.

PER QUESTO L'EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL HA RACCOMANDATO PAGLI STATI MEMBRI DI EFFETTUARE STUDI DI CONVALIDA PRIMA DI INTRODURRE I DISPOSITIVI NELLA PRATICA CLINICA.

Purtroppo questo, causa procedure di emergenza, viene fatto limitatamente e a macchia di leopardo nelle varie Regioni.

**IL PARAMETRO PIU' IMPORTANTE DA PRENDERE IN CONSIDERAZIONE NEL GIUDICARE L'OPPORTUNITA' DI UTILIZZARE UN TEST DI LABORATORIO E' IL VALORE PREDITTIVO POSITIVO.**

Il Valore Predittivo Positivo misura il valore aggiunto fornito dal test diagnostico o meglio ancora la probabilità che il test sia positivo (patologico) in una persona affetta dalla malattia in considerazione.

Il Valore Predittivo Positivo non dipende soltanto dalla Sensibilità e della Specificità, ma anche e soprattutto dalla Prevalenza della malattia.

All'aumentare della Prevalenza della malattia aumenta il Valore Predittivo Positivo. Vedi tabella :

Cohort	Predict probability (prevalence)	Sensitivity	Specificity	Cases	Non-cases	True positive (TP)	False negative (FN)	True negative (TN)	False positive (FP)	PPV	NPV
<b>High performance</b>											
1,000	2.0%	95%	98%	20	980	19	1	960	20	49.2%	100%
1,000	5.0%	95%	98%	50	950	48	2	931	19	71.4%	100%
1,000	10.0%	95%	98%	100	900	95	5	882	18	84.1%	99%
1,000	30.0%	95%	98%	300	700	285	15	686	14	95%	98%
<b>Mid performance</b>											
1,000	2.0%	85%	90%	20	980	17	3	882	98	14.8%	100%
1,000	5.0%	85%	90%	50	950	43	8	855	95	30.9%	99%
1,000	10.0%	85%	90%	100	900	85	15	810	90	48.6%	98%
1,000	30.0%	85%	90%	300	700	255	45	630	70	78%	93%
<b>Low performance</b>											
1,000	2.0%	75%	85%	20	980	15	5	833	147	9.3%	99%
1,000	5.0%	75%	85%	50	950	38	13	808	143	20.8%	98%
1,000	10.0%	75%	85%	100	900	75	25	765	135	35.7%	97%
1,000	30.0%	75%	85%	300	700	225	75	595	105	68%	89%

D'altra parte, data una determinata Prevalenza, il Valore Predittivo Positivo aumenterà all'aumentare della Sensibilità e Specificità diagnostica del test.

Il numero dei contagi per 100.000 abitanti ad oggi è calcolato con un bias statistico perché i tamponi non vengono fatti ad una popolazione scelta su base epidemiologica, ma piuttosto a contatti o personale sanitario oppure nelle scuole, quindi in contesti specifici. Lo studio epidemiologico di Maggio 2020 andrebbe ripetuto per conoscere la vera prevalenza della malattia Covid-19 in tutte le Regioni. Questo sarebbe utile anche per prendere decisioni di carattere regionale nella campagna vaccinale.

In questo contesto si possono suggerire alcune azioni:

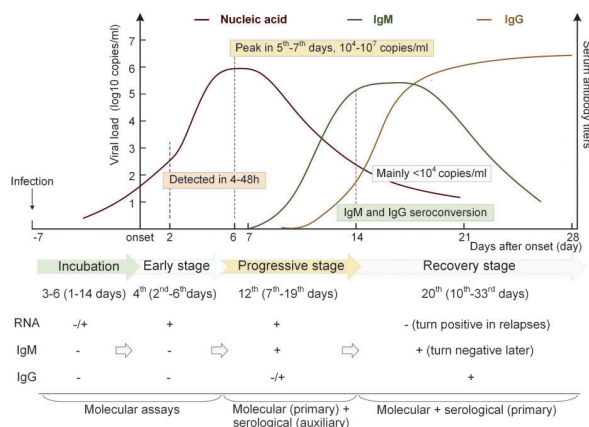
- ESEGUIRE VERIFICHE DEI DATI FORNITI DALLE AZIENDE (MOLTO SPESSO DISCORDANTI DALLE VERIFICHE SUL CAMPO) E VALUTAZIONI CLINICHE FATTE A LIVELLO NAZIONALE (ECDC 19 NOV. 2020)
- NELLA SCELTA DEL TEST DA UTILIZZARE, PRENDERE IN CONSIDERAZIONE ANCHE LA PREVALENZA E CONSIDERARE LA SENSIBILITA' E LA SPECIFICITA' DIAGNOSTICHE VALIDATE, NON SOLTANTO QUELLE DICHIARATE
- DARE MAGGIORE EVIDENZA E TRASPARENZA ALLE VERIFICHE E VALIDAZIONI FATTE
- ESEGUIRE LE VERIFICHE E LE VALIDAZIONI IN STUDI MULTICENTRICI (MAGGIORE NUMEROSITA' DEI CAMPIONI IN STUDIO; MAGGIORE VELOCITA' E OGGETTIVITA')
- UTILIZZARE UN PROTOCOLLO UNICO DI VALUTAZIONE A LIVELLO NAZIONALE (ES. ALMENO 100 POS E 100 NEG SCELTI IN BASE «ALL'UTILITA' TEMPORALE DEL TEST», INDICAZIONI ECDC)

Ai fini della verifica e validazione clinica ci si può informare sui seguenti siti web:

- <https://open.fda.gov/apis/device/covid19serology/>
- <https://www.fda.gov/medical-devices/emergency-use-authorizations-medical-devices/coronavirus-disease-2019>
- <https://www.finddx.org/covid-19/>

## AL TEMPO GIUSTO

Nella richiesta ed esecuzione di un test di laboratorio è importante conoscere la cinetica dell'analita durante le diverse fasi della malattia.



Oggi sappiamo che l'RNA è la molecola che appare più precocemente nel tampone naso-faringeo durante la fase di incubazione dopo alcuni giorni dal contagio, seguita dall'Antigene che tuttavia richiede una carica virale moderatamente alta o alta per poter essere dosato, poi dagli gli Anticorpi di classe IgM che compaiono dopo circa una settimana dall'inizio della sintomatologia ed infine gli

Anticorpi di classe IgG che compaiono a circa 2 settimane dall'inizio della sintomatologia clinica. In genere l'RNA non è più dosabile dopo tre settimane, le IgM sieriche dopo 4 settimane mentre le IgG persistono in circolo almeno per 4-6 mesi.

**RICHIEDERE IL DOSAGGIO DI UN ANALITA AL DI FUORI DELLA SUA FINESTRA DIAGNOSTICA SIGNIFICA AVERE UN DATO ERRATO E CREARE INUTILE PRESSIONE SUI LABORATORI CLINICI.**

### AL PAZIENTE GIUSTO

Si tratta di saper indicare quale test fare ad un cittadino che si sottoponga volontariamente al test (es. viaggio, partecipazione a meeting, turismo, ecc...), a un contatto, ad un contatto stretto, ad un paziente asintomatico, paucisintomatico, sintomatico; quale test fare in contesti diversi (carceri, comunità religiose, RSA, scuola, lavoro, drive in, centri di accoglienza, ecc...).

**NON SI DEVE QUINDI GENERALIZZARE, L' IDEALE SAREBBE AVERE UN APPROCCIO UNITARIO NEL PAESE PER OGNI SITUAZIONE COME DESCRITTO NEL DOCUMENTO ISS "nota tecnica ad interim dell'ISS aggiornata al 23 Ottobre 2020"**

In questo documento, ognuno dei test descritti ha un utilizzo di prima scelta o un utilizzo alternativo alla prima scelta. Considerata la rapidità dell'evoluzione tecnologica nell'ambito della medicina di laboratorio, queste regole vanno aggiornate regolarmente.

Vorrei segnalare il fatto, che un gruppo di Direttori di Laboratori Clinici italiani pubblici e privati, ospedalieri ed universitari si sono riuniti spontaneamente, a causa della Pandemia, in un Forum che ha elaborato un documento che sottopongo in allegato alla vostra attenzione e che prende in considerazione nel dettaglio quanto già detto.

### NEL MODO GIUSTO

Il prelievo con tampone naso-faringeo se mal eseguito può essere causa di Falsi Negativi anche nel caso si utilizzi una metodica gold standard come il test molecolare.

**IL TAMPONE NASO FARINGEO DOVREBBE ESSERE SEMPRE ESEGUITO DA PERSONALE PROFESSIONALE O DA PERSONE ADEGUATAMENTE FORMATE SPECIE NEL CASO DELL'AUTOCAMPIONAMENTO.**

Non tutte le matrici biologiche hanno la stessa concentrazione del virus, in uno spettro dalla maggiore alla minore concentrazione avremo:

**BAL (Liquido di Lavaggio Bronco-alveolare) > ESPETTORATO>TAMPONE NASO-FARINGEO>SALIVA DEL RETROFARINGEO>SALIVA.**

**LA SCELTA DI UNA NUOVA MATRICE BIOLOGICA DEVE COMPORTARE UNA NUOVA VERIFICA ED UNA NUOVA VALIDAZIONE CLINICA DEI TEST DI LABORATORIO PRECEDENTEMENTE UTILIZZATI SU UN'ALTRA MATRICE.**

### LE PROSPETTIVE

Lo sviluppo tecnologico e metodologico della Medicina di Laboratorio durante la Pandemia è stato dirimpente.

Sono crollate altre barriere tra molte Discipline allo scopo di raggiungere l'obiettivo di implementare una diagnostica facilmente eseguibile su larga scala ed economica: Biochimica, Biologia, Fisica, Chimica, Statistica, Data Science, Ingegneria Elettronica. I risultati di queste interazioni hanno condotto all'applicazione al Covid-19 di nuove tecnologie in fase di sperimentazione avanzata o addirittura di sviluppo: nuove metodiche di Biologia Molecolare (CRISPR-SHERLOCK), Volatologica, Sensoristica Elettrochimica, Algoritmica, applicazioni di Maching Learning e Deep Learning.

Purtroppo, nonostante le prestigiose competenze dei Ricercatori italiani, non c'è stato nel nostro Paese un investimento in Ricerca all'altezza della problematica Covid-19.

## CONCLUSIONI

Si suggerisce di:

- CONSULTARE ANCHE LA MEDICINA DI LABORATORIO NEI VARI ORGANISMI TECNICO-SCIENTIFICI
- LA TRASPARENZA E LA COLLEGIALITA' NELLE VERIFICHE E VALIDAZIONI DEI TEST (NON CONSIDERARE SOLTANTO LE DICHIARAZIONI DEI FORNITORI NECESSARIE PER OTTENERE IL CE-IVD)
- ARMONIZZARE SU SCALA NAZIONALE L'APPROCCIO DIAGNOSTICO E LE MODALITA' DI UTILIZZO E REFERTAZIONE DEI DIVERSI TEST DI LABORATORIO
- DIFFERENZIARE L'APPROCCIO DIAGNOSTICO IN BASE ALLA PREVALENZA DELLA MALATTIA
- FINANZIARE LA RICERCA ITALIANA SU COVID-19
- CREARE SINERGIE TRA AZIENDE IVD, UNIVERSITA', RETE OSPEDALIERA E CENTRI DI RICERCA
- RENDERE POSSIBILE LA EVOLUZIONE/RIVOLUZIONE DELL'INTELLIGENZA ARTIFICIALE NELLA SANITA' DEL POST-COVID ATTRAVERSO IL POTENZIAMENTO DELLA DIGITALIZZAZIONE, DELLA CONNETTIVITA' E DELLA CONDIVISIBILITA' DEI DATI.

Grazie per la cortese attenzione,  
Cordiali saluti,

Prof. Sergio Bernardini

Roma, 3 Dicembre 2020