

## *Covid-19: ora è battaglia sui test della discordia*

di **Giuseppina Viberti**

Se ne parla da mesi, ma negli ultimi giorni l'attenzione dell'opinione pubblica sui test per individuare Covid-19 è diventata quasi maniacale. Un'attenzione che se incontrollata, inevitabilmente finisce per sprofondare nella confusione e per effetto di trascinamento anche nella paura. Ragioni sufficienti per fare un minimo di chiarezza sull'oggetto e comprendere quali sono le differenze sostanziali tra un test e l'altro. Mettiamo quindi sotto la lente di ingrandimento ciò che ci offre la scienza.

### **Test in biologia molecolare**

È il più affidabile per la diagnosi ed è il riferimento. Viene eseguito dal materiale prelevato con un tampone naso/orofaringeo e analizzato con sistemi in biologia molecolare (PCR-Real Time) per l'amplificazione dei geni virali maggiormente espressi dal virus durante l'infezione. L'analisi può essere effettuata in laboratori analisi specializzati e dotati di personale qualificato nel rispetto delle norme di sicurezza (laboratori BLS 2). Richiede da 2 a 4 ore per l'esecuzione (estrazione dell'RNA, amplificazione e rilevazione del virus); ai tempi di esecuzione si devono aggiungere quelli tempi per l'accettazione informatica dei test, la preparazione strumentale, i controlli e successivamente la valutazione delle curve di amplificazione e la refertazione. Qualora qualche campione risultasse "indeterminato", è necessario ripetere l'esame e quindi, in questo caso, il referto arriva in non meno di dieci ore. Questi strumenti, prodotti da varie ditte, possono analizzare da 200 a 800 test al giorno, sulla base delle loro caratteristiche strutturali.

Quali sono le criticità? L'esecuzione del tampone deve essere fatta correttamente (non è come eseguire il normale tampone faringeo per valutare se il bambino ha lo streptococco sulle tonsille); il virus ha un periodo di incubazione da 2 a 14 gg e quindi se il paziente è nella "fase finestra", il soggetto risulta negativo ma potrebbe diventare positivo, per esempio, 2 giorni dopo. Ci sono stati dei casi di soggetti con polmonite grave e tampone negativo in quanto il virus era già progredito nei polmoni e solo con la ricerca del virus dal broncoaspirato è stato possibile rilevarne la presenza.

I costi sono molto elevati (in media 30 euro per test di reagenti, a cui si devono aggiungere i costi per il personale qualificato (tecnici di laboratorio e dirigenti) e i costi aggiuntivi (stanze dedicate, meglio se a pressione negativa, smaltimento dei rifiuti, sanificazione degli ambienti ripetuta, ecc.).

### **Test antigenico**

È basato sulla ricerca nel tampone orofaringeo, delle proteine virali. I tempi di esecuzione sono ridotti in quanto è un test immunocromatografico su card, che non richiede una tecnologia complessa e ha tempi di risposta molto più rapidi (da 15 a 30 minuti). Inoltre, offre l'opportunità di effettuare screening di massa in presenza di basso tasso di infezione. La sensibilità e specificità di questi test è decisamente migliorata (in media superiore all'85%) ed esistono sistemi che consentono di analizzare contemporaneamente fino a 5-6 card con una lettura automatizzata del risultato e non visiva dipendente dall'operatore. L'uso di questi test antigenici consente di intercettare dei soggetti contagiati con alte cariche virali asintomatici. Criticità. In presenza di bassa carica virale possono dare dei risultati "falsi negativi", ma non è ancora chiaro in letteratura se questi soggetti sono infettanti oppure no. I risultati positivi con il test su card devono essere confermati in biologia molecolare; anche con l'uso delle card vale il presupposto del "periodo finestra" descritto prima.

Pur non necessitando di strumentazione particolarmente complessa, la lettura "visiva" del risultato sulla card richiede del personale addestrato; in effetti, sarebbe opportuno utilizzare i sistemi che forniscono degli strumenti di lettura delle card. In commercio esistono numerose ditte che commercializzano questi prodotti (quasi tutti di provenienza cinese o sud coreana); è necessario scegliere bene il prodotto e non basarsi solo sul prezzo. Il costo di questi test è variabile (da 5 a 15 euro a test) e dipende da tanti fattori che devono essere valutati per fare la scelta migliore.

### **Test salivari**

Rappresentano l'ultima novità del mercato. Esistono test di tipo molecolare e antigenico; la saliva è un materiale biologico che richiede un pre-trattamento per poter essere analizzato sugli strumenti di laboratorio per le sue caratteristiche di densità diverse fra i vari soggetti e quindi si presta pochissimo alle analisi in biologia molecolare sugli strumenti di laboratorio, così come per i test antigenici. Quindi non si prestano, per ora, a screening di massa.

### **Anticorpi IgG e IgM e Anticorpi totali (IgG+IgM)**

I test sierologici rappresentano un capitolo solo parzialmente esplorato in quanto hanno ancora alcune criticità da risolvere. Su tutte l'inesistenza, ancora a livello OMS, di uno standard universale da fornire a tutti i produttori per creare kit confrontabili fra di loro e quindi ogni produttore costruisce i kit con i suoi standard sviluppati nei rispettivi centri di ricerca. Per essere chiari: se si eseguono test con la ditta A si possono solo confrontare nel tempo con quelli della ditta A. Oggi nessuna ditta è in grado di quantificare i test anticorpali; il risultato è qualitativo (IgG positive oppure negative); le IgM sono ancora poco conosciute: è certo che nella prima fase dell'infezione il soggetto produce IgM (anticorpi della fase acuta), ma non è ancora chiaro per quanto tempo restano positive dopo la comparsa delle IgG e se queste ultime durano nel tempo e danno immunità permanente oppure no (ipotesi forse più probabile, quindi il soggetto si potrebbe reinfettare). È necessario fare molti test sulla popolazione nel tempo per seguire l'andamento della malattia. Un'altra criticità è legata alle ditte: alcune producono kit separati per IgG e IgM

(soluzione a mio parere più efficiente); altre producono kit di “anticorpi totali” IgG+IgM che non distinguono i due anticorpi. Mancano ancora delle indicazioni internazionali chiare ai produttori.

### **Considerazioni finali**

Nell’attuale situazione epidemiologica italiana, sarebbe utile eseguire i test antigenici rapidi come screening della popolazione (scuole, aeroporti, ospedali, RSA, caserme, dipendenti della sanità, MMG, ecc) e confermare i risultati positivi in biologia molecolare. In seconda battuta, sarebbe importante eseguire la ricerca degli anticorpi IgG e IgM per l’analisi epidemiologica della popolazione e fare il tampone in biologia molecolare a tutti i soggetti che risultano IgM positivi. In questo modo si ridurrebbe la pressione nei laboratori analisi (che devono eseguire anche tutte le altre attività diagnostiche) e si ridurrebbero significativamente i costi. Costi che non sono dati solo dai tamponi, dai reagenti e dagli strumenti, ma da tutto il personale necessario e dai costi correlati.

In base alle ultime indicazioni (DPCM 26.04.2020) il Piemonte deve fare 250 tamponi/die ogni 100.000 abitanti (Piemonte 4.413.000 abitanti) e quindi il fabbisogno è di 11.000 tamponi/die che oggi non si è in grado di eseguire e quindi l’attività va implementata (vedere nota prot.n.2020/0142896 del 25.09.2020 del DIRMEI). Calcolando un costo di 30 euro/test, servono 330.000 euro al giorno per i soli reagenti. E su questo tema (delicato) si apre un nuovo capitolo: solo i reagenti marcati CE-IVD, certificati e garantiti, possono essere utilizzati per fare diagnosi e screening; i reagenti prodotti “home made” non sono vietati, ma non assicurano una tracciabilità e un livello di sicurezza come quelli prodotti dalle ditte. Il laboratorio che produce test diagnostici “home made” esegue degli esami autogarantiti, priva di quella validità che deriva dall’essere produttore autorizzato, quindi dal punto di vista medico-legale si assume tutta la responsabilità. Chiaramente costano poco (vedere il prof. Crisanti che afferma che i suoi reagenti home made costano 2.5 euro a test!), ma non sono marcati CE-IVD e quindi quale garanzia hanno per il paziente? Per la ricerca vanno bene in quanto è lo sperimentatore che garantisce il risultato della ricerca ma ci sono molti dubbi sull’uso diagnostico.

Infine la battaglia finale si sta giocando sui “sistemi in biologia molecolare rapida” che forniscono il risultato in 40-50 minuti. Appena sono usciti sul mercato c’è stato un accaparramento di questi strumenti (eseguono da uno a 8 test contemporaneamente) da utilizzare per il personale sanitario, prevalentemente in quanto ora a tutti viene eseguito il tampone indipendentemente dalla situazione clinica e dal problema per cui si presenta allo stesso. La produzione è quasi tutta americana e quindi non viene distribuito più nulla in Europa; inoltre l’OMS ha contingentato la distribuzione verso i Paesi maggiormente colpiti (India, Sud America, USA) e ciò complica ancora di più la situazione. Ora stanno comparando sul mercato dei prodotti europei che potrebbero coprire le richieste di questo tipo, “test rapidi in biologia molecolare”, per cui si è iniziata la corsa all’acquisizione.

La conclusione di questa disamina non è allegra. La confusione regna sovrana fra ciò che serve per fare “screening” (test antigenici di buona qualità), ciò che si deve fare per la “diagnosi” (biologia molecolare) e ciò che serve per l’“epidemiologia”(anticorpi IgG e IgM). Morale: la

tensione fra gli operatori, le direzioni aziendali e i cittadini rimane massima. E i costi sono molto elevati in una situazione epidemiologica che non è certamente quella di marzo con problemi organizzativi di non facile soluzione.