

Test rapidi per COVID-19: un'esperienza nelle cure primarie

Aurelio Sessa¹, Giovanna Scienza¹, Gianni Clerici¹, Mauro Pizzi¹,
Maria Cristina Della Rosa², Ester Poncato³, Lucas Gutierrez⁴

¹ Medico di Medicina Generale, SIMG, Varese e Como; ² Dipartimento delle Cure Primarie, ATS Insubria Varese e Como; ³ Direzione Socio-Sanitaria, ATS Insubria Varese e Como; ⁴ Direzione Generale ATS Insubria, Varese e Como

Summary

The outbreak of the novel coronavirus disease (COVID-19) quickly spread all over the world. Although the virus (SARS-COV-2) nucleic acid RT-PCR test is the standard method for diagnosis of COVID infection, the real time PCR test has some limitations. A simple point-of-care test can detect IgM and/or IgG antibodies against SARS-COV-2 virus in human blood within 15 minutes. This point-of-care test was applied in 518 patients and subjects divided in eight different cohorts. The test is easy to use and can be applied for rapid screening of SARS-COV-2 carriers in symptomatic and asymptomatic subjects in the general practice setting.

Premessa

COVID-19 (*CO*rona *V*irus *D*isease) è una malattia infettiva causata dal coronavirus SARS-COV-2 recentemente identificato e responsabile della pandemia che attualmente ha coinvolto 215 Paesi e aree geografiche nel mondo ¹ con oltre 18.2 milioni di persone colpite e più di 692 mila morti (3 agosto 2020). I sintomi più comuni di COVID-19 sono febbre, tosse secca, astenia, mal di gola, mal di testa e dispnea. Alcuni pazienti riferiscono dolori muscolari, brividi, nausea, diarrea, perdita di gusto e/o dell'olfatto ². Questi sintomi iniziano gradualmente e sono lievi nella maggior parte dei casi. Ci sono inoltre individui che pur infettandosi non sviluppano alcun sintomo. La maggior parte delle persone (80% circa) guarisce dalla malattia senza alcun trattamento specifico e con il solo uso di farmaci sintomatici. Circa il

20% delle persone infette si ammala gravemente e sviluppa sintomi respiratori importanti e il 3% presenta una situazione critica tale da ricovero presso le Unità di Terapia Intensiva. Gli anziani e i pazienti portatori di patologie croniche hanno maggiori probabilità di sviluppare una malattia con un andamento più severo. In circa il 96% dei casi i decessi sono avvenuti in pazienti portatori di una o più patologie croniche ³. In Italia il numero di decessi è del 14,2% (35.171 casi su 248.000 notificati al 3 agosto 2020) e sono oltre 27 mila gli operatori sanitari infettati (11,9% di tutti i positivi) e 163 i medici deceduti ⁴. Si stima che il periodo di incubazione vada da pochi giorni fino a 14 giorni con una media di 5,2 giorni ^{5,6} durante i quali le persone potrebbero essere già infette e quindi potenzialmente infettanti, senza mostrare evidenti sintomi di malattia.

Diagnostica

Al momento attuale il tampone effettuato nelle vie respiratorie (nasale e faringeo) per la ricerca dell'RNA virale con metodiche di biologia molecolare (rRT-PCR) (*Real Time-Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*), è considerato il *gold standard* per fare diagnosi di infezione da COVID-19 ⁷ ma il test per il suo processo necessita di tempo, operatori e luoghi specializzati che comportano un limite nella vita reale quando una rapidità di risposta può essere utile nella fase gestionale e di intervento sui pazienti. Va anche aggiunto il fatto che sono stati riportati casi di falsi negativi ⁸ anche se ciò non viene menzionato nel documento ufficiale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità sui test di laboratorio ⁹, dovuti presumibilmente alla bassa carica virale. Per questo motivo si è sviluppata la possibilità

Conflitto di interessi

Aurelio Sessa, Giovanna Scienza, Gianni Clerici, Mauro Pizzi, Maria Cristina Della Rosa, Ester Poncato e Lucas Gutierrez dichiarano nessun conflitto di interessi.

How to cite this article: Sessa A, Scienza G, Clerici G, et al. Test rapidi per COVID-19: un'esperienza nelle cure primarie. Rivista SIMG 2020;27(3):20-24.

© Copyright by Società Italiana di Medicina Generale e delle Cure Primarie



L'articolo è open access e divulgato sulla base della licenza CC-BY-NC-ND (Creative Commons Attribuzione – Non commerciale – Non opere derivate 4.0 Internazionale). L'articolo può essere usato indicando la menzione di paternità adeguata e la licenza; solo a scopi non commerciali; solo in originale. Per ulteriori informazioni: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.it>

di un dosaggio sierologico in grado di suddividere i soggetti COVID-19 positivi dai soggetti negativi ¹⁰.

Nell'ambito dei test *point-of-care*, il test rapido COVID-19 IgM/IgG è un test diagnostico *in vitro* per la determinazione qualitativa degli anticorpi IgM e IgG anti COVID-19 nel sangue umano intero (prelevato da vena o dal polpastrello del dito) nel siero o nel plasma.

Le IgM anti-COVID-19 sono gli anticorpi che compaiono per primi nel siero dei pazienti dopo una prima esposizione all'antigene (solitamente entro i primi 10 giorni) e quindi la loro presenza indica una infezione recente. Queste rappresentano la prima linea di difesa nei confronti dell'infezione prima di generare le IgG ad alta affinità per l'immunità a lungo termine ¹¹. Le IgG anti-COVID-19 cominciano a formarsi dopo 15 giorni dall'esposizione primaria all'antigene. (Fig. 1A, B) ¹².

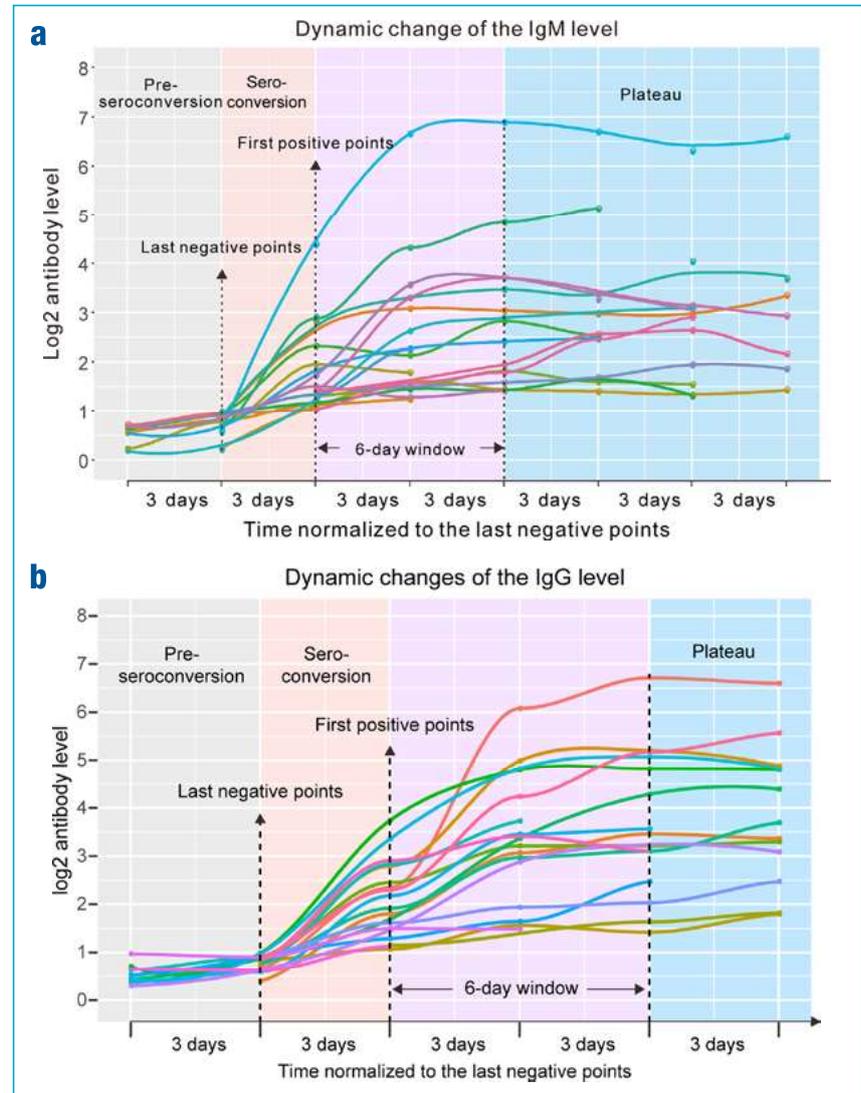
Il test si basa sulla tecnologia di *immunoassay*. La tavoletta del test presenta una membrana di nitrocellulosa dotata di due bande di rilevazione (una per le IgM e una per le IgG) e una banda di controllo di qualità (banda C). La banda per IgM e per le IgG, rivestite rispettivamente con anticorpi monoclonali IgM e IgG di ratto anti-uomo rileva gli anticorpi IgM e IgG anti-COVID-19. La banda C è rivestita di anticorpi per il controllo di qualità.

Quando il campione di sangue/siero/plasma viene immerso nel pozzetto del dispositivo, il campione comincia a scorrere lungo il dispositivo. Se il campione immerso contiene gli anticorpi IgM, questi si legheranno all'antigene virale marcato formando un complesso *sandwich* con l'anticorpo monoclonale IgM anti-uomo rivestito sulla banda IgM che apparirà rossa violacea indicando che l'anticorpo COVID-19 IgM è positivo. Allo stesso modo accade, colorando la banda IgG se il campione contiene anticorpi IgG. Se entrambe le bande non si coloreranno, il risultato del test è considerato negativo. Il test contiene anche la banda C per il controllo di qualità: perché il test sia valido la banda C dovrà comparire comunque sia che appaiano una o entrambe le due bande o che non appaiano (Fig. 2).

Il test utilizzato per lo studio è fabbricato dalla *VIVACHEK Laboratories Inc.*, Hangzhou

FIGURA 1.

Dinamica degli anticorpi anti-COVID-19 IgM (a) e IgG (b) dopo esposizione virale (da Long et al., 2020, per gentile concessione dell'Autore) ¹².



(Cina) e ha come mandatario la *Lotus NL B.V.* (The Netherland) e viene commercializzato con il nome *VIVADIAG™ COVID-test*. Secondo quanto riportato nella documentazione che accompagna il test rapido la sensibilità relativa (confrontati con RT-PCR) è dell'81,25% per IgG e IgM dal 4° al 10° giorno dall'infezione (su 80 campioni) e del 97,1% dall'11° al 24° giorno (su 70 campioni) mentre la specificità relativa è del 100% (su 50 campioni).

Sempre secondo la scheda che accompagna il prodotto, non è stata osservata

alcuna reattività crociata con campioni positivi per *Influenzavirus* tipo A e B, Virus Respiratorio Sinciziale, *Adenovirus*, Antigene di Superficie dell'epatite B, dell'epatite C, *T. pallidum*, *H. pylori* e HIV.

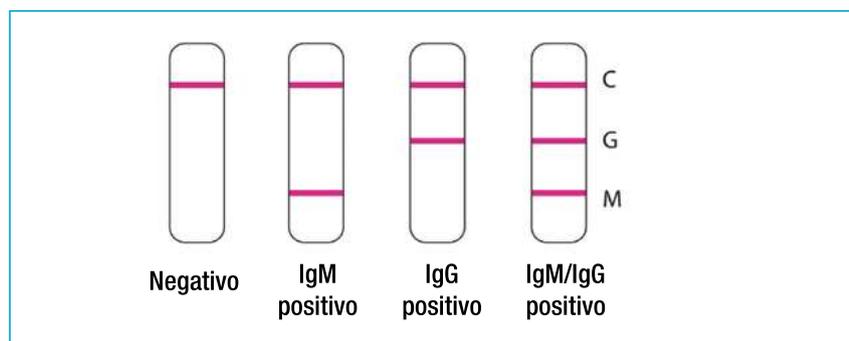
Metodologia

In seguito a una donazione da parte di una Associazione all'ATS Insubria si è proceduto a scegliere delle coorti di popolazione da testare con i test sierologici.

La scelta si è orientata su un gruppo di Medici di Medicina Generale (MMG) (defi-

FIGURA 2.

Illustrazione schematica del test rapido SARS-COV-2 IgM-IgG (da Li Z, et al., 2020, mod.)¹⁰.



nita coorte 1) e il rispettivo personale di studio (coorte 2), su un gruppo di controllo formato da persone che non hanno avuto alcuna sintomatologia riconducibile a una infezione respiratoria nei 60 giorni precedenti (coorte 7), un gruppo di pazienti che avevano avuto una infezione delle vie respiratorie a lenta risoluzione (tra 4 e 10 giorni) (coorte 4), un gruppo di pazienti con sintomatologia che è durata oltre i 10 giorni ma che non presentavano un quadro clinico tale da richiedere un riscontro diagnostico di *imaging* in quanto non avevano problemi di desaturazione ossimetrica al monitoraggio domiciliare (coorte 5). Un altro gruppo era formato da pazienti con diagnosi di polmonite interstiziale (confermata alla TAC polmonare) (coorte 3) e infine un gruppo formato dai familiari e conviventi (definiti come contatti stretti) dei pazienti del gruppo con infezione delle vie respiratorie a lenta risoluzione e dei pazienti con polmonite interstiziale (coorte 6). È stata creata inoltre una piccola coorte di pazienti (n = 6) che all'indagine TAC non hanno dimostrato una polmonite interstiziale ma polmoniti acquisite di comunità (coorte 8).

I test sono stati eseguiti nell'arco di 20 giorni (dal 1 al 20 aprile 2020).

I risultati sono espressi come percentuali sul totale delle categorie, come medie, deviazioni standard e range dei valori.

Risultati

Sono stati eseguiti complessivamente 518 test sierologici e i risultati per coorti

sono esposti nella Tabella I.

Contatti

È stato chiesto a ciascuna persona se, nei 60 giorni precedenti al test, ci fossero stati contatti stretti con persone che hanno avuto una infezione delle vie respiratorie riconducibili a COVID. 302 (pari al 58,3%) ha affermato di averlo avuto o al domicilio o sul posto di lavoro (Tab. II).

Durata dei sintomi

Al momento dell'esecuzione del test dia-

gnostico è stato chiesto ai pazienti dei gruppi 3, 4 e 5 (rispettivamente con diagnosi di polmonite interstiziale e coloro che avevano avuto un quadro di infezione delle vie respiratorie a lenta risoluzione, di riferire la durata dei sintomi (in giorni) dall'esordio alla guarigione (Tab. III).

Discussione

I test sierologici rapidi, eseguiti in un momento della fase emergenziale in cui, in Regione Lombardia, la possibilità di eseguire un tampone diagnostico poteva avvenire solo in caso di ricovero ospedaliero, ha permesso ai MMG di avere da una parte conferme su ipotesi di diagnosi clinica riconducibile a infezione COVID e d'altro canto di aver potuto identificare soggetti che, pur non avendo presentato una sintomatologia, sono risultati positivi al test sierologico. La possibilità di confondere un'infezione da COVID con una influenza clinica risultava essere di bassa probabilità in quanto nelle settimane di esecuzione dei test la curva d'incidenza dell'influenza era di 1,12, 0,88 e 0,56 casi per 1.000 abitanti (rispettivamente nella 14°, 15° e 16° settimana dell'anno) (in Lombardia mediamente

TABELLA I.

Tipologia delle coorti, numerosità e risultati del test rapido.

| | Coorti | N | Fn (%) | IgM+ | IgG+ | % |
|---|---|------------|-----------|------------|------------|-------------|
| 1 | MMG | 93 | 15 (16) | 7 | 9 | 9,7 |
| 2 | Personale di studio MMG | 42 | 42 (100) | 0 | 0 | 0,0 |
| 3 | Pazienti con polmonite interstiziale trattati a domicilio | 30 | 14 (46,6) | 30 | 30 | 100,0 |
| 4 | Pazienti con infezione delle vie respiratorie a lenta risoluzione (4-9 gg) | 38 | 16 (42) | 21 | 21 | 55,3 |
| 5 | Pazienti con infezione delle vie respiratorie a lenta risoluzione (≥ 10 giorni) | 111 | 65 (58,6) | 57 | 57 | 51,3 |
| 6 | Conviventi dei pazienti gruppi 3, 4 e 5 | 135 | 75 (55,5) | 43 | 44 | 32,6 |
| 7 | Controlli (assenza di sintomi respiratori nei 60 giorni precedenti al test) | 63 | 18 (28,6) | 4 | 4 | 6,3 |
| 8 | Pazienti con diagnosi di polmonite non-interstiziale (polmonite lobare) | 6 | 3 (50) | 0 | 0 | 0,0 |
| | Totale | 518 | | 162 | 165 | 31,8 |

Fn: falso negativo.

TABELLA II.**Contatti stretti riferiti dai soggetti testati.**

| | Coorti | N | Contatti | % |
|--------|--|-----|----------|-------|
| 1 | Medici di Medicina Generale | 93 | 42 | 45,1 |
| 2 | Personale di studio MMG | 42 | 11 | 26,2 |
| 3 | Pazienti con polmonite interstiziale trattati a domicilio | 30 | 24 | 80,0 |
| 4 | Pazienti con infezione delle vie respiratorie a lenta risoluzione (4-9 gg) | 38 | 10 | 26,3 |
| 5 | Pazienti con infezione delle vie respiratorie a lenta risoluzione (\geq 10 giorni) | 111 | 53 | 47,7 |
| 6 | Conviventi dei pazienti gruppi 3, 4 e 5 | 135 | 135 | 100,0 |
| 7 | Controlli (persone che non hanno avuto sintomi respiratori nei 60 giorni precedenti al test sierologico) | 63 | 23 | 36,5 |
| 8 | Pazienti con diagnosi di polmonite non-interstiziale (polmonite lobare) | 6 | 4 | 66,6 |
| Totale | | 518 | 302 | 58,3 |

TABELLA III.**Durata dei sintomi dichiarati dai pazienti sintomatici dall'insorgenza alla guarigione.**

| Coorte | N. | Durata dei sintomi in giorni (DS) | Range |
|----------|-----|-----------------------------------|-------|
| Coorte 3 | 30 | 17,5 (7,76) | 5-36 |
| Coorte 4 | 38 | 5,8 (1,49) | 4-10 |
| Coorte 5 | 111 | 15,97 (7,78) | 10-45 |

DS: deviazione standard.

0,92/1000)¹³ e pertanto una sintomatologia respiratoria caratterizzata da febbre, tosse e astenia poteva essere ragionevolmente ricondotta a infezione da COVID.

La scelta di suddividere in coorti i soggetti e i pazienti da sottoporre al test sierologico è nata innanzitutto dalla considerazione di avere un riscontro oggettivo a una ipotesi clinica di un quadro suggestivo per infezione da COVID e questo è stato il motivo che ha portato la scelta verso pazienti per i quali avevamo un riscontro diagnostico, a elevata sensibilità come la TAC del torace suggestiva per polmonite interstiziale, tipica di COVID. Infatti tutti i 30 pazienti con questa diagnosi radiologica sono risultati positivi al test sierologico. Nessuno dei pazienti, invece, della piccola coorte con un quadro radiologico di polmonite lobare è risultato

positivo al test sierologico, pur avendo avuto nei due terzi dei casi, un contatto stretto con pazienti COVID positivi.

Le altri due coorti che abbiamo definito come infezioni delle vie respiratorie a lenta risoluzione hanno dimostrato una positività al test sierologico in oltre il 50% dei casi dimostrando che la maggior parte di questi pazienti è stata affetta da COVID, indipendentemente dalla durata media della sintomatologia.

La coorte dei MMG è risultata positiva al test sierologico nel 9,7% (9/93) dimostrando come la categoria dei Medici di Famiglia sia oggettivamente a rischio di contrarre l'infezione nonostante le misure di protezione messe in atto nel momento in cui l'infezione cominciava a diffondersi (fine febbraio). La possibile infezione non è passata inosservata perché 10 di loro hanno dichiarato di avere avuto una sintomatologia delle alte vie respiratorie (mal di gola e tosse) non tali da precludere la loro attività professionale che è sempre comunque continuata, con il rischio oggettivo di essere loro stessi veicolo di veicolo dell'infezione.

La coorte del personale di studio è risultata quella più protetta perché nessuna unità è risultata positiva al test sierologico e nessuno ha dichiarato di avere sintomatologia respiratoria. Il basso afflusso di pazienti in ambulatorio e i dispositivi di protezione attuati negli ambulatori dei MMG che hanno partecipato a questa indagine, ha fatto sì che non ci fossero stati casi di infezione.

La coorte di controllo, ossia soggetti che non hanno avuto alcuna sintomatologia respiratoria nei 60 giorni precedenti al test, ha dato una positività al test nel 6,3% (4/63). Questa coorte ha riferito comunque di avere avuto contatti con soggetti risultati poi positivi. Questo dato conferma che una fetta importante della popolazione ha avuto contatto con il COVID sviluppando una sierologia specifica in una zona geografica (Como e Varese) che ha avuto una incidenza di infezione pari al 2 per mille. Questa quota "invisibile" di soggetti può essere ragionevolmente molto più elevata nelle provincie dove l'incidenza dell'infezione da COVID-19 è stata fino a 10-12 casi per 1.000 abitanti (Cremona, Bergamo e Brescia).

Secondo i dati riportati dall'azienda produttrice il test sierologico che è stato usato in questa indagine presenta una sensibilità media relativa dell'88,6% e una specificità media relativa del 90,63% anche se questi valori riportati sembrano essere sopravvalutati rispetto a una indagine indipendente¹⁴ svolta in un setting ospedaliero. Un limite generale è che ci possono essere dei risultati falsamente positivi o falsamente negativi dovuti principalmente alle basse concentrazioni degli anticorpi IgM e IgG, inferiori alla capacità di rilevazione. Il test è risultato di facile esecuzione, rapido nella risposta e può rientrare tra i presidi di *point-of-care* test nella pratica del MMG.

Conclusioni

Il test è risultato di facile esecuzione, rapido nella risposta e può rientrare tra i presidi di *point-of-care* test nella pratica del MMG.

Al momento della stesura di questo articolo sono in corso i test diagnostici (tamponi e sierologici quantitativi) per tutti i pazienti risultati positivi al test rapido, come previsto dalle recenti disposizioni regionali. La raccomandazione, valida per tutti i test rapidi, è il loro utilizzo nell'ambito di una integrazione dei dati clinico-anamnestici che ciascun medico deve rilevare nei confronti di ogni paziente che deve essere sottoposto al test.

Medici partecipanti allo studio

Enrico Alberti, Massimo Barbara, Erminio Bernasconi, Mario Bernasconi, Paola Bianchi, Maria Grazia Bogò, Giuseppe Borghi, Arnaldo Butti, Mauro Calzolari, Daniela Canini, Marco Castelli, Vincenzo Carcaterra, Chiara Annamaria Carugo, Laura Catania, Annunziata Ciani, Fausta Civettini, Chiara Civitelli, Gianni Clerici, Mauro Colombo, Elio De Lorenzis, Chiara Ferrari, Monica Ferrario, Carla Franchi, Gianmatteo Garozzo, Attilio Giossi, Clemente Lino Guffanti, Marzio Gusmaroli, Gaetano Iannone, Paolo Laface, Adriano Lamperti, Francesca Licordari, Maddalena Malgrati, Maria Raffaella Manna, Alessio Marinini, Massimo Monti, Maria Luisa Monticelli, Maria Giovanna Pagani, Daniela Papaccioli, Nicoletta Parente, Margherita Persicalli, Enrico Pessina, Luigi Eugenio Pina,

Morena Porretti, Paolo Prosdocimi, Cristina Rumi, Giulio Saibene, Carmen Sampietro, Giovanna Scienza, Aurelio Sessa, Fabio Sprafico, Angelo Supino, Maurizio Testorelli, Roberto Zaffaroni, Antonio Zammarelli, Bruna Zanardini, Romano Zuccoli.

Bibliografia e sitografia

- 1 www.who.int/emergencies/disease/novel-coronavirus-2019
- 2 Lai CC, Liu YH, Wang C-Y, et al. Asymptomatic carrier state, acute respiratory disease and pneumonia due to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): facts and myths. *J Microbiol Immunol Infect* 2020;53:404-12. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.02.2012>
- 3 www.salute.gov.it/portale/coronavirus
- 4 <https://portale.fnomceo.it>
- 5 Li Q, Guan X, Wu P, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus infected pneumonia. *N Engl J Med* 2020;382:1199-207. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa20011316>
- 6 Backer JA, Klinkenberg D, Wallinga J. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20-28 January 2020. *Euro Surveill* 2020;25(5). <https://doi.org/10.2807/1560-7917>
- 7 Binnicker MJ. Emergence of a novel coronavirus disease (COVID-19) and the importance of diagnostic testing: why partnership between clinical laboratories, public health agencies, and industry is essential to control the outbreak. *Clin Chem Clin Chem* 2020;66:664-6. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa071>
- 8 Gallagher J. Are Coronavirus tests flawed? BBC News 2020, 13 febbraio. www.bbc.com/news/health-51491763
- 9 WHO. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance, 19 March 2020.
- 10 Li Z, Yi Y, Luo X, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combine antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol* 2020;10.1002/jmv.25727. <https://doi.org/10.1002/jmv.25727>
- 11 Racine R, Winslow GM. IgM in microbial infections: taken for granted? *Immunol Lett* 2009;125:79-85.
- 12 Long QX, Liu BZ, Deng HJ, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med* 2020;26:845-8. <https://doi.org/10.1038/s41591-020.0897-1>
- 13 www.old.iss.it/site/RMI/influnet/pagine/rapportoinflunet.aspx
- 14 Cassaniti I, Novazzi F, Giardina F, et al. Performance of VivaDiag CO-19 IgM/IgG Rapid Test is inadequate for diagnosis of COVID-19 in acute patients referring to emergency room department. *J Med Virology* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25800>