Speciale-Riport

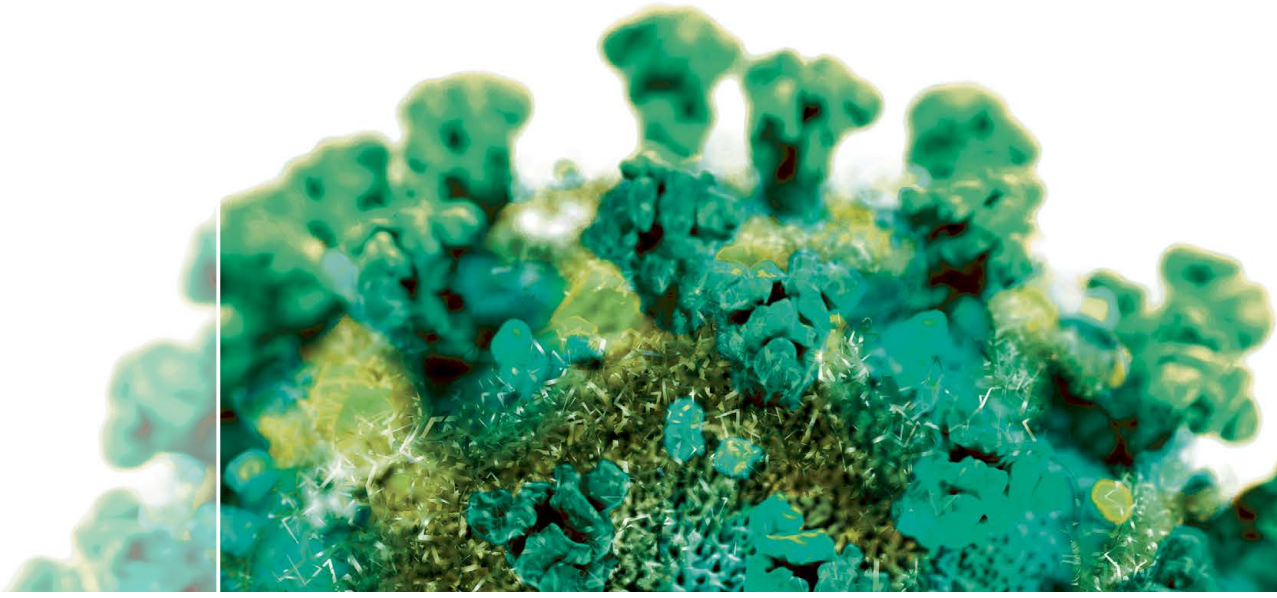
91

COVID-19

Esperienze e conoscenze aggiornate

Inverno 2021

3 Editoriale **4** Stima della probabilità di pre-test COVID-19 **6** Campioni di sangue intero per il test anticorpale **8** «Un corona test pronto uso» – Testimonianza **9** Prevalenza degli anticorpi SARS-CoV-2 nel personale ospedaliero – risultati di uno studio prospettico di coorte **10** Sviluppo di un kit specifico per la raccolta della saliva per l'analisi virale **12** Diagnosi precoce di COVID-19 mediante il bracciale sensoriale **14** Sviluppo di un tampone nasofaringeo stampato in 3D **16** Test rapidi dell'antigene SARS-CoV-2: caratteristiche operative del test **19** Test anticorpali sierologici con metodo immunoenzimatico in chemiluminescenza (CLIA) **20** L'incidenza dei pazienti non-responder alla sierologia e risultati RT-PCR falsi negativi **22** Cross-immunità di SARS-CoV-2 con altri coronavirus patogeni umani **23** CoviLab Dr Risch **25** La cinetica degli anticorpi nelle infezioni da COVID-19 **26** CoviSense: un algoritmo di test ortogonale per il rilevamento degli anticorpi anti-SARS-CoV-2 **28** COVID-19 ed autoimmunità **29** Gruppi sanguigni e infezione da COVID-19 **31** Fornire un'assistenza efficace ai pazienti grazie al supporto informatico in un centro di test COVID-19 **32** Tracciamento digitale dei contatti tramite l'app SwissCOVID **34** Il tracciamento dei contatti nel Liechtenstein **36** Safe-Mountain e Safe-Jazzhaus: procedure per l'allestimento in sicurezza di eventi culturali e manifestazioni sportive durante la pandemia di COVID-19



Ematologia · Chimica clinica · Immunologia clinica · Microbiologia medica · Genetica medica

labormedizinisches zentrum
centre des laboratoires médicaux
centro medicina di laboratorio

Dr Risch

Colophon

Responsabili per il contenuto della presente edizione:
Dr. sc. nat. Gert Risch
Prof. Dr. med. Lorenz Risch, MPH, MHA
Dr. med. Martin Risch, MHA

Autrici & autori

MMed Rita-Christiane Baron
Dr. med. Siliva Dehler, MPH
Prof. Dr. med. Joachim Fischer, MSc
Prof. Dr. med. Lukas Flatz
Dr. rer. nat. Christoph Gassner
Kirsten Grossmann, MSc
Dr. med. Omar Hasan Ali
Dr. sc. nat. ETH Mauro Imperiali, MAS
Dr. Christian Kahlert
Dipl. med. Marc Kovac
Dr. med. Matthias Paprotny
Prof. Dr. sc. ETH Mathias Payer
Mag. iur. Stefan Rüdisser
MMed Anna Schaffner
Marco Schmid
Michael Stettler
Dipl. med. Sarah L. Thiel
Dr. Daniel Wallerstorfer, BSc
Dipl. med. Myriam Weber
Dr. scient. med. Nadia Wohlwend, MSc

Layout / protettazione

IDconnect design solutions · id-connect.com
centro medicina di laboratorio Dr Risch · Marketing · Vaduz

Risch.ch

Aarau · Barmelweid · Berna · Bienne · Brugg · Buchs* · Crissier · Delémont · Friburgo
Liebefeld* · Pregassona · Sciaffusa* · Soletta · San Gallo · Vaduz* · Zurigo-Nord

SN EN ISO/IEC 17025:2018
ISO/IEC 17025:2017
accreditato dal SAS*

Swiss Climate
Klimaneutral gedruckt
SC2018061802 • www.swissclimate.ch

COVID-19 e servizi di eccellenza

Cara lettrice, caro lettore

COVID-19 ha cambiato, in modo repentino e radicale, la vita quotidiana di tutto il mondo. Per contrastare il sovraccarico delle strutture mediche, sono state adottate delle misure drastiche per contenere la pandemia. La comunità internazionale è entrata in una modalità di crisi, che richiede enormi sforzi a governi, aziende, alle comunità e ai singoli individui. Sembra di dover compiere una maratona da mezzofondista. Ciò che però spesso il mezzofondista sottovaluta, sono i dolori muscolari durante la gara e nell'immediato dopo gara.

La prima ondata pandemica, soprattutto nell'Europa germanofona, è stata superata con successo, grazie al rigido e tempestivo lockdown imposto dalle autorità. Nel Liechtenstein sono trascorsi 52 giorni dalla notifica del primo contagio fino all'ultimo caso di paziente contagiato, 52 giorni in cui la vita sociale si è fermata, gli ambulatori medici sono stati chiusi e gli ospedali mantenuti disponibili per ospitare i pazienti affetti da COVID-19. Un periodo un po' più tranquillo, nell'estate del 2020, ha contribuito ad acquisire conoscenze, a progettare strategie e a continuare i preparativi in vista della seconda ondata.

Diversi attori interessati hanno profuso sforzi immani per fronteggiare la pandemia, occupandosi ad es. della riorganizzazione di strutture ospedaliere e ambulatoriali, del tracciamento dei contatti, della creazione di linee di assistenza telefonica, delle corsie di test, dei sistemi di notifica, della fornitura di materiali innovativi per la raccolta di campioni, della messa a disposizione di test, dei sistemi di digitalizzazione o della rapida realizzazione di progetti di ricerca. Nonostante le enormi sollecitazioni, il grado di collaborazione interdisciplinare e interistituzionale che ne è emerso è stato – e continua ad essere – straordinario e arricchente dal punto di vista umano. Siamo particolarmente lieti che, da queste collaborazioni, siano nate 5 dissertazioni di colleghi medici, il brevetto di un prodotto a marchio CE da lanciare sul mercato e nuove soluzioni di digitalizzazione.

Mai prima d'ora il gruppo CML Dr Risch ha svolto un ruolo così centrale nella vita pubblica. I media riportano quotidianamente il numero di test effettuati e il tasso di positività. In quanto pionieri, ci è stato chiesto di incrementare fortemente la capacità diagnostica, ad es. dei test RT- PCR. Si è trattato nel contempo di affinare e documentare al meglio la precisione degli strumenti diagnostici.

È per noi un piacere informarvi, con la presente edizione di Speciale Riport, sulle attività e sulle cognizioni acquisite sul tema COVID-19. La pubblicazione offre interessanti spunti informativi su tematiche dei nostri partner del settore sanitario, nonché su temi da noi sviluppati, che siamo stati lieti di poter approfondire con la collaborazione di altri attori del sistema sanitario. Questo contempla tutti gli aspetti riscontrati nelle fasi evolutive della pandemia. Ci teniamo così a fornirvi, oltre alle informazioni dettagliate, le conoscenze acquisite nell'applicazione dei test. Siamo fermamente convinti che una solida medicina di laboratorio dovrebbe sostenere in modo ottimale le azioni intraprese a favore della salute pubblica e individuale. Insieme siamo in grado di superare questa maratona per approdare, il più presto possibile, a una situazione che releghi il COVID-19 in secondo piano dal punto di vista medico – una situazione storicamente definita come «banco di prova», che alla fine l'umanità avrà saputo superare con successo. Mantenetevi in salute!

Vi facciamo i migliori auguri per il nuovo anno.

Cordiali saluti

Dr. med. Martin Risch, MHA

Dr. sc. nat. Gert Risch

Prof. Dr. med. Lorenz Risch, MPH, MHA

Stima della probabilità di pre-test COVID-19

Dipl. med. Sarah L. Thiel · Dr. med. Matthias Paprotny **È dall'inizio della pandemia COVID-19 che ci chiediamo: «Chi testare, quando farlo e quale metodo adottare?» All'inizio il virus SARS-CoV-2 poteva essere individuato unicamente tramite PCR, poi col passare del tempo il rilevamento degli anticorpi è diventato sempre più interessante. Nel corso di uno studio sulla rielaborazione epidemiologica della prima ondata di COVID-19 nel Liechtenstein, abbiamo ricercato se il test sierologico, volto all'individuazione del virus COVID-19, fosse utile e per quali pazienti.**

Il test RT-PCR (reverse transcriptase real-time polymerase chain reaction) tramite il tampone nasofaringeo, resta tuttora il gold standard per rilevare un'infezione acuta da SARS-CoV-2. Dall'inizio della pandemia COVID-19, i criteri di indicazione per il tampone nasofaringeo sono stati costantemente aggiornati: all'inizio venivano sottoposte al tampone soltanto le persone provenienti dalle aree a rischio o entrate in contatto con un paziente infetto confermato, che presentavano sintomi specifici quali tosse o febbre. Questo perché in quel momento era molto più probabile, che i pazienti con sintomi di infezione delle vie aeree superiori fossero soggetti a influenza stagionale e non all'infezione da COVID-19. La probabilità di pre-test nella popolazione locale, perciò, era bassa. Poiché tuttavia la pandemia continuava a diffondersi in Europa, i criteri di inclusione al test sono stati estesi, oltre che agli operatori sanitari sintomatici, anche ai pazienti sintomatici necessitanti di ricovero ospedaliero, affetti da polmonite bilaterale o appartenenti a gruppi a rischio (età >65 anni o pazienti con patologie pregresse, quali cancro, malattie cardiache o polmonari). A causa del rapido aumento di nuovi casi nel Liechtenstein, il 13 marzo 2020 si è deciso di testare un'ampia fetta di popolazione, e cioè tutti i pazienti che manifestavano sintomi sospetti di COVID-19. Tra questi figurano, ad esempio, i sintomi di infezione delle vie aeree superiori, la sensazione di malessere generale e la febbre, ma anche la perdita dell'olfatto o del gusto[1]. Nonostante la perdita dell'olfatto e del gusto possa manifestarsi anche in caso di influenza stagionale, gli studi hanno dimostrato che si tratta di sintomi altamente specifici di COVID-19[2].

Main findings

- Il test anticorpale identifica circa il 50 % in più di pazienti affetti da COVID-19 nella cerchia di conoscenti.
- Circa il 25 % delle persone infette presenta un decorso asintomatico.
- La fonte di contagio era nota solo nel 60 % dei casi.

Le probabilità di pre-test per i pazienti possono essere stimate come segue:

Popolazione generale (non specificato)	tasso di positività attuale (cfr. criteri del test)
Contatti ravvicinati sul posto di lavoro (senza conoscenza dei sintomi)	13 %
Contatti familiari (con isolamento)	10 %
Contatti familiari (non specificato)	33 %
Contatti familiari (senza isolamento in casa)	50 %

Il 24 aprile del 2020 – 52 giorni dopo aver diagnosticato il primo caso di COVID-19 nel Liechtenstein – è stato confermato l'ultimo caso della prima ondata pandemica. A partire dal 27 aprile 2020 le misure anti-pandemia, adottate fino a quel momento per ridurre al minimo il contagio, sono state gradualmente allentate. Dopo una settimana senza nuovi casi di COVID-19, abbiamo avviato il nostro studio sulla rielaborazione epidemiologica della prima ondata pandemica, invitando tutti i pazienti COVID-19, diagnosticati con il test RT-PCR nel Liechtenstein, a sottoporsi a un esame di follow-up con prelievo di sangue per individuare gli anticorpi contro il virus della SARS CoV-2. A quel momento nessuno era in grado di sapere se – e per quanto tempo – gli anticorpi sarebbero stati rilevabili dopo uninfezione da COVID-19. La questione ci interessava in particolare per il tasso di diffusione effettivo nel Liechtenstein.

A causa del costante aggiornamento dei criteri di idoneità per l'esecuzione del tampone nasofaringeo, è altamente probabile che alcuni pazienti, positivi all'infezione da COVID-19, ma che non soddisfacevano i criteri del test, non siano stati testati. Non sono state sottoposte al test, inoltre, tutte le persone asintomatiche, ad eccezione dei collaboratori della Liechtensteinische Alters- und Krankenhilfe (LAK), della

Lebenshilfe Balzers e della Familienhilfe (Aiuto alla famiglia) che, a partire dal 15 aprile 2020, sono stati periodicamente testati per la SARS-CoV-2 mediante il test RT-PCR. Abbiamo invitato le persone, che avevano avuto contatti stretti con i pazienti affetti da COVID-19 (contatti familiari, contatti sul posto di lavoro) a sottoporsi a un prelievo di sangue per il rilevamento degli anticorpi. I pazienti erano stati in stretto contatto con queste persone nei giorni precedenti o al momento dell'insorgenza dei sintomi, sia nel tempo libero che sul posto di lavoro. Le persone entrate in contatto con i pazienti positivi sono state interrogate anche sui sintomi da COVID-19.

Hanno partecipato allo studio 90 pazienti su 95 casi confermati dal test RT-PCR (82 cittadini del Liechtenstein e 13 cittadini svizzeri e austriaci impiegati nel Liechtenstein). Sono stati reclutati, inoltre, 170 contatti familiari (109 persone della sfera privata e 61 colleghi di lavoro). Sono stati riscontrati gli anticorpi contro l'infezione da SARS-CoV-2 in 35 contatti familiari privati (32 %, intervallo di confidenza 95 %, CI, 24 - 41%) e in 8 contatti con colleghi di lavoro (13 %, 95 % CI 7 - 24 %). Nel complesso 11 (26 %, 95 % CI 15 - 40 %) di questi 43 pazienti COVID-19 identificati sono risultati asintomatici. Il rilevamento degli anticorpi ha fatto aumentare il numero dei casi di infezione da COVID-19 nel Liechtenstein del 48 % (95 % CI 38 - 58 %).

Per quanto riguarda le modalità di contagio, solo il 60 % ca. dei pazienti diagnosticati mediante il test RT-PCR è stato in grado di ricordare la fonte di infezione, ossia il contatto con un caso confermato o la permanenza in un'area a rischio. Il tasso di anticorpi positivi è stato più elevato tra i contatti familiari che non tra i contatti stretti tra colleghi di lavoro. Dei 35 contatti familiari con pazienti COVID-19 confermati, solo 7 (20 %, 95 % CI 10 - 36 %) si erano attenuti alle misure di isolamento raccomandate dallUfficio della sanità pubblica. I contatti familiari senza COVID-19 erano significativamente di più (55 / 74, 74 %, 95 % CI 63 - 83; $p < 0.001$). La probabilità complessiva di contagio tra i contatti familiari con COVID-19 è stata perciò di ca. un terzo (35 / 109, 32 %, 95 % CI 24 - 41). Se in famiglia erano state adottate delle misure di isolamento, la probabilità di infezione è risultata del 10 % ca. (7 / 67, 95 % CI 5 - 20). Se in famiglia non erano state adottate delle misure di isolamento, le probabilità di contagio sono state del 50% ca. (28 / 57, 95 % CI 37 - 62).

In conclusione, si può affermare che il rilevamento di anticorpi nella fase acuta della malattia gioca solo un ruolo marginale, ma dal punto di vista epidemiologico è estremamente interessante e costituisce uno strumento prezioso per valutare il tasso di diffusione della malattia. Le conoscenze acquisite in questo studio sono di grande utilità per la stima delle probabilità di pretest dei pazienti, il che consente una solida interpretazione dei risultati dell'infezione da SARS-CoV-2.

Referenze

1 Thiel SL, Weber MC, Risch L, Wohlwend N, Lung T, Hillmann D, Ritzler M, Risch M, Kohler P, Vernazza P, Kahlert CR, Fleisch F, Cusini A, Karajan TV, Copeland S, Paprotny M. Flattening the curve in 52 days: characterisation of the COVID-19-pandemic in the Principality of Liechtenstein - an observational study. Swiss Med Wkly. 2020 Oct 16;150:w20361

2 Makaronidis J, Mok J, Balogun N, Magee CG, Omar RZ, Carnemolla A, Batterham RL. Seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies in people with an acute loss in their sense of smell and/or taste in a community-based population in London, UK: An observational cohort study. PLoS Med. 2020 Oct 1;17(10):e1003358.

Corrispondenza
Dipl. med. Sarah L. Thiel
Ospedale cantonale dei Grigioni
sarah.thiel@ksgr.ch

Dr. med. Matthias Paprotny
Ospedale del Liechtenstein
matthias.paprotny@landesspital.li

Campioni di sangue intero per il test anticorpale

Dipl. med. Marc Kovac **Per individuare un'infezione da SARS-Cov-2 la medicina di laboratorio dispone attualmente di due metodi collaudati: il primo è il test RT-PCR, il tampone nasofaringeo, utilizzato per diagnosticare un'infezione acuta; il secondo è il test sierologico, volto alla rilevazione di anticorpi al fine di individuare un'infezione pregressa. I test per la ricerca di anticorpi anti-SARS-Cov-2 sono utilizzati principalmente per gli studi di prevalenza nella sanità pubblica, per la ricerca di donatori di plasma destinato ai pazienti gravi o per quei pazienti che, nonostante il sospetto clinico di COVID-19, non possono essere identificati con il test RT-PCR [1].**

Sono ora disponibili in commercio vari test per la rilevazione anticorpale. I processi automatizzati CLIA (saggio immunoenzimatico in chemiluminescenza) ed ELISA (saggio immuno-assorbente legato ad un enzima), nonché i test rapidi (immunodosaggio a flusso laterale, LFIA) svolgono un ruolo centrale [1]. I vantaggi del test rapido sono la disponibilità dei risultati entro pochi minuti, lintervento sul posto (Point-of-Care-Testing) e l'utilizzo di pochi microlitri di sangue intero capillare, il tutto – però – a scapito della precisione diagnostica. CLIA ed ELISA sono più precisi e sensibili e sono in grado di fornire anche un'indicazione quantitativa sulla presenza di anticorpi. Le procedure automatizzate venivano eseguite finora solo con il plasma o con il siero, per questo motivo nel nostro studio abbiamo analizzato l'uso di sangue intero per la ricerca di anticorpi tramite CLIA ed ELISA. Abbiamo confrontato i risultati degli anticorpi sierici con quelli degli anticorpi del sangue intero degli stessi pazienti [2].

Risultati

Nel complesso disponevamo dei campioni di sangue sierico e di sangue intero di 223 pazienti di età media di 40 anni, di cui 113 sono risultati positivi all'infezione da SARS-Cov-2. Abbiamo osservato una stretta correlazione tra i risultati del siero e quelli del sangue intero con EDTA. La correlazione tra i valori sierici ed ematici è risultata comparabile per tutti e 3 i formati di test analizzati (anticorpi totali ECLIA, IgG e IgA ELISA), soprattutto quando i risultati del sangue intero erano stati corretti per l'ematocrito. Anche la sensibilità e la specificità diagnostica dei campioni di sangue intero erano almeno pari a quelle del siero (vedi tabella). Un altro studio ha dimostrato che le concentrazioni di anticorpi nel sangue intero da prelievo venoso sono paragonabili a quelli del sangue capillare [3].

	Siero		Sangue intero dopo la correzione dell'ematocrito	
	Sensibilità % [95 % CI]	Specificità % [95 % CI]	Sensibilità % [95 % CI]	Specificità % [95 % CI]
IgG ELISA	88 % [80, 93] (97 / 110)	99 % [95, 99.8] (112 / 113)	93 % [86, 96] (102 / 110)	97 % [93, 99] (110 / 113)
IgA ELISA	78 % [70, 85] (86 / 110)	93 % [87, 96] (105 / 113)	84 % [76, 89] (92 / 110)	89 % [81, 93] (100 / 113)
ECLIA	97 % [92, 99] (107 / 110)	100 % [97, 100] (113 / 113)	96 % [91, 99] (106 / 110)	99 % [95, 99.8] (112 / 113)

Fig. 1: Sensibilità e specificità diagnostiche delle IgG e delle IgA nei test ELISA e ECLIA per la diagnosi di COVID-19. Cut-off per ELISA: S / C > 1.1. Cut-off per ECLIA: COI > 1.

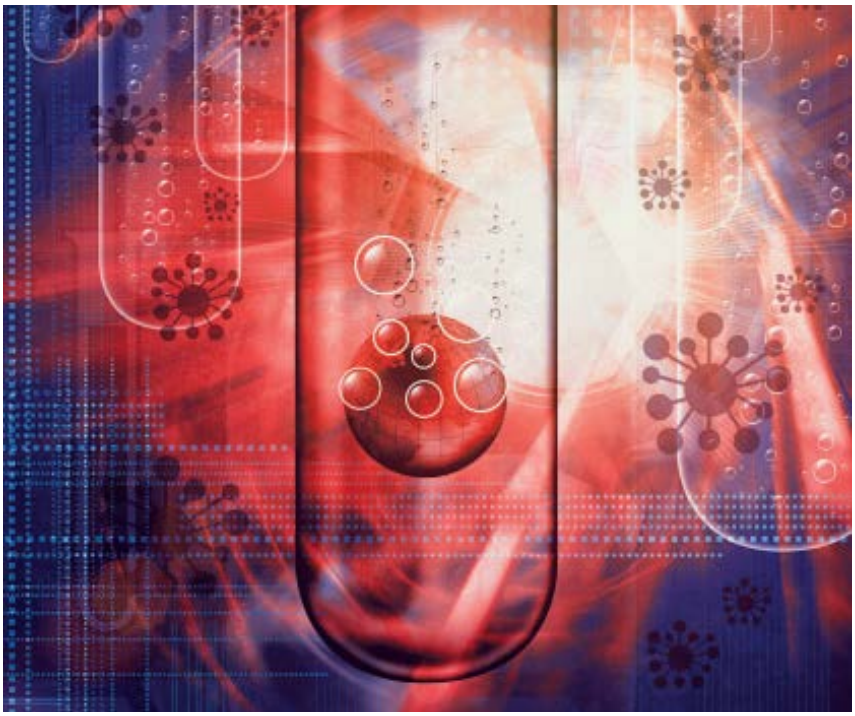
Main findings

- Con il test sierologico ECLIA la misurazione di anticorpi anti-SARS-CoV-2 tra campioni di sangue intero e siero è comparabile.
- Con il test sierologico ECLIA la misurazione di anticorpi anti-SARS-CoV-2 tra sangue intero capillare e venoso è comparabile.
- Con il test ECLIA è stato possibile stabilire un processo automatizzato per la determinazione affidabile degli anticorpi da prelievo di sangue intero capillare.

Conclusione

Nei risultati di tutti e tre i metodi utilizzati nel nostro studio non abbiamo riscontrato delle differenze significative tra sangue intero e siero. Dal momento che il prelievo di sangue capillare consiste al massimo in 250 microlitri di sangue, la centrifugazione per la separazione del plasma consentirebbe l'uso di CLIA ed ELISA solo in quantità elevate. Il sangue intero senza centrifugazione fornisce, tuttavia, una maggior quantità di materiale campione per l'elaborazione automatizzata. L'uso di sangue intero è stato finora convalidato solo per i test rapidi non automatizzati, che hanno proprietà diagnostiche inferiori a quelle di ELISA e di ECLIA.

Il nostro studio ha dimostrato che il sangue intero può essere utilizzato in modo affidabile anche per processi automatizzati quali ECLIA ed ELISA. Siamo riusciti a dimo-



strare, inoltre, che il sangue intero capillare e quello venoso forniscono buoni risultati di comparabilità per SARS-CoV-2. Il prelievo di sangue capillare è considerato più facile da eseguire rispetto al prelievo di sangue venoso e può essere utilizzato in un ambito più ampio. Il nostro lavoro, perciò, ha gettato le basi per un'eventuale applicazione su ampia scala del test per gli anticorpi anti-SARS-CoV-2 nel sangue intero capillare.

Referenze

1 Kovac M, Risch L, Thiel S, Weber M, Grossmann K, Wohlwend N, Lung T, Hillmann D, Ritzler M, Bigler S, Ferrara F, Bodmer T, Egli K, Imperiali M, Heer S, Salimi Y, Renz H, Kohler P, Vernazza P, Kahlert CR, Paprotny M, Risch M. EDTA-Anticoagulated Whole Blood for SARS-CoV-2-Antibody Testing by Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA) and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Diagnostics. 2020 Aug 14;10(8):593.

2 Risch M, Kovac M, Risch C, Hillmann D, Ritzler M, Wohlwend N, Lung T, Allmann M, Seger C, Risch L. An anti-nucleocapsid antigen SARS-CoV-2 total antibody assay finds comparable results in EDTA-anticoagulated whole blood obtained from capillary and venous blood sampling. Data. 2020; 5: 105.

3 Ghaffari, A.; Meurant, R.; Ardakani, A. COVID-19-Serological Tests: How Well Do They Actually Perform? Diagnostics 2020;10:453.

Corrispondenza
Dipl. med. Marc Kovac
gruppo CML Dr Risch
marc.kovac@risch.ch

«Un corona test pronto uso» – Testimonianza

Mag. iur. Stefan Rüdisser **«Realizzare un centro di tamponi drive-through entro la fine di marzo»: è stato un incarico ambizioso, quello assegnato il 16 marzo all'Ordine dei medici dallo staff «pandemia». Un breve giro di orizzonte sulla fattibilità in tempi nei quali oggi è già ieri.**

All'inizio di marzo, il sistema di campionamento per SARS-CoV-2 («coronavirus») presso il Landesspital (l'ospedale regionale) è diventato insostenibile nell'arco di poche settimane, a causa del massiccio aumento del numero di test. È stato necessario ricorrere a una soluzione alternativa, che doveva soddisfare una serie di criteri di base: il campionamento centralizzato e facilmente accessibile, il risparmio delle risorse materiali, la riduzione al minimo del potenziale di contagio. L'Ordine dei medici è stato selezionato come gestore del centro di tamponi, in quanto ha fornito le fonti migliori per il reclutamento del personale specializzato necessario. Nonostante si stessero già progettando o adottando altrove delle soluzioni drive-through, L'Ordine dei medici ha dovuto affrontare una serie di ostacoli infrastrutturali, amministrativi, organizzativi e di personale, che hanno dovuto essere risolti praticamente nell'arco di una notte.

Sfida I: il personale

All'inizio il centro di test è stato gestito per dieci ore al giorno, sette giorni su sette da un team di tre persone, il che ha significato una manodopera di 30 ore al giorno, risp. 210 ore settimanali. Il personale è stato reclutato tra gli studenti di medicina e gli assistenti di studio medico. Il lockdown, dannoso per l'economia e la società, si è tuttavia rivelato un colpo di fortuna, in quanto senza le università chiuse e gli studi medici, anch'essi praticamente chiusi, non sarebbe stato possibile reperire le risorse necessarie. Anche se all'inizio dell'estate si sono potuti ridurre gli orari di attività a causa del numero di test in calo, il reclutamento continuo di personale resta una sfida costante e quotidiana. L'aumento del numero di casi in autunno ha comportato un nuovo prolungamento degli orari di attività, una tendenza che potrebbe consolidarsi d'inverno.

Sfida II: il materiale protettivo

Quando la pandemia ha riguadagnato slancio a livello globale, ha causato una carenza di risorse senza precedenti. L'approvvigionamento di materiale protettivo ha rappresentato un onere gigantesco, che è stato assunto dal paese del Liechtenstein, ma che ha influito pesantemente sul centro di tamponi, che ha dovuto adeguare l'operatività al massimo risparmio delle risorse.

Sfida III: il materiale di test

Il centro di tamponi non ha dovuto procurarsi il materiale di test, che è stato fornito dal Centro medicina di laboratorio Dr Risch. Nonostante questo, la carenza di risorse si è fatta sentire e, oltre ai cambiamenti quasi quotidiani dei tipi di bastoncini tampone, si è rivelata anche con la scarsità dei set di test forniti quotidianamente.

Sfida IV: le dimensioni spaziali

Poiché il centro di test è ubicato in un parcheggio pubblico sotterraneo, sono stati fissati dei limiti spaziali, perciò lo spazio è limitato. Per evitare il caos del traffico, a causa della mancata possibilità di espansione spaziale, l'aumento del numero dei tamponi dev'essere controllato dal fattore tempo. Attualmente sono in fase di valutazione l'estensione degli orari di attività, l'introduzione di un sistema di triage della hotline coronavirus e/o delle misure di ottimizzazione dell'efficienza (digitalizzazione, ottimizzazione dei processi).

Drive-through: il gold standard

Il funzionamento di un centro di tamponi drive-through è certamente molto più dispendioso, in termini di personale, rispetto al campionamento decentralizzato, ad es. negli studi medici. Per quanto attiene la protezione dalle infezioni, tuttavia, un centro di test può essere definito il gold standard, poiché concentra il rischio di infezione in un unico luogo, invece di esporre luoghi diversi a un inutile rischio residuo che, nonostante il rispetto rigoroso di un piano di protezione, non può essere del tutto escluso. Inoltre, la qualità del sistema di tamponi è favorita dalla grande esperienza, ciò che riduce significativamente i falsi negativi.

In prospettiva

Il numero di casi nel Liechtenstein e nei paesi limitrofi è di nuovo in forte aumento, la cosiddetta seconda ondata prende velocità. Come previsto dagli esperti in primavera, la nuova seconda ondata sembra durare più a lungo. L'ampiezza dei contagi, perciò, non è solo breve e acuta, ma si protrae nel tempo e nella persistenza. La sfida dell'autunno/inverno sembra chiara: tutto è organizzato, ma diventa problematico l'approvvigionamento delle risorse (personale, materiali di consumo, materiale di test). Dal punto di vista dell'Ordine dei medici è senz'altro opportuno mantenere un sano ottimismo per affrontare in modo adeguato questa sfida insieme ai partner del sistema sanitario.

Main findings

- Il centro di tamponi drive-through è il gold standard in materia di protezione dalle infezioni.
- La qualità è ottimale grazie alla grande esperienza.
- Razionalizzare i processi per contrastare i limiti spaziali.
- La gestione delle risorse è la chiave del successo.

Corrispondenza
Mag. iur. Stefan Rüdisser
Ordine dei medici del Liechtenstein
office@aerztekammer.li

Prevalenza degli anticorpi SARS-CoV-2 nel personale ospedaliero: i risultati di uno studio prospettico di coorte

Dr. med. Christian Kahlert **Il personale ospedaliero assiste i pazienti affetti da COVID-19 ed è esposto al fuoco incrociato dell'attuale pandemia causata dal nuovo coronavirus SARS-CoV-2.**

Main findings

- Nella primavera del 2020, la sieropositività di questo studio di coorte prospettica di 1012 dipendenti ospedalieri svizzeri era dell 1 %.
- Il valore predittivo positivo del saggio immunologico a flusso laterale è stato del 64 % per le IgG e soltanto del 13 % per le IgM.
- L'anamnesi della febbre e della mialgia ha differenziato nel modo più efficace i partecipanti sieropositivi da quelli sieronegativi.
- Spesso il personale ospedaliero risultato positivo non indossava la mascherina.

Non tutti i pazienti affetti da COVID-19 mostrano i sintomi tipici dell'infezione causata dalla SARS-CoV-2, quali febbre, tosse, disturbi del gusto e dell'olfatto o debolezza muscolare. Il test specifico degli anticorpi rende più probabile l'identificazione della maggior parte del personale ospedaliero che presenta un'infezione da virus rispetto al rilevamento diretto del virus (PCR, test dell'antigene). Un personale ospedaliero in buona salute è una condizione irrinunciabile per poter fronteggiare l'attuale emergenza pandemica. È perciò fondamentale conoscere l'esposizione al rischio e adottare delle misure di protezione efficaci. Al tempo stesso, il monitoraggio dell'incidenza delle infezioni tra il personale ospedaliero costituisce una sorta di controllo costante sulla diffusione del virus SARS-CoV-2 nella popolazione.

L'obiettivo prefissato dallo studio prospettico di coorte era quello di rilevare, tra il personale ospedaliero, la sieropositività alla SARS-CoV-2, di identificare le esposizioni al rischio e di descrivere lo spettro dei sintomi da COVID-19.

In primavera, oltre 1'000 collaboratori dell'ospedale cantonale di San Gallo e dell'ospedale pediatrico della Svizzera orientale sono stati reclutati tramite un'inserzione su Intranet. Il breve filmato forniva istruzioni ai partecipanti sugli obiettivi e sul programma dello studio. Fino allautunno successivo, i partecipanti hanno subito un prelievo ogni 2 settimane. La maggior parte dei prelievi è avvenuta in modo indipendente mediante un prelievo capillare su carta filtro, che in seguito è stato spedito. I questionari proposti su Internet hanno consentito di raccogliere ulteriori informazioni sui comportamenti a rischio, compresi i contatti con persone o pazienti affetti da COVID-19, e le misure di protezione adottate. È stato inoltre possibile registrare i risultati dei propri tamponi. Gli SMS giornalieri, infine, hanno documentato i sintomi patologici da COVID-19 esistenti, rammentando la necessità di effettuare il tampone.

In questa prima analisi dei numerosi campioni e dati dello studio appena completato, i campioni di sangue venoso di tutti i partecipanti sono stati analizzati al momento del reclutamento nello studio, a fine marzo/inizio aprile 2020, con 3 diversi test anticorpali. Sono stati utilizzati un saggio a flusso laterale (LFIA, Sugentech, Corea), un test immunologico di microparticelle chemiluminescenti (CMIA, Abbott Diagnostics, USA) e un test immunologico in elettro-chemiluminescenza (ECLIA, Roche Diagnostics, Svizzera). Quasi il 6 % dei soggetti partecipanti allo studio ha mostrato la presenza di anticorpi IgG o IgM. I partecipanti sono stati riconvocati dopo 4 settimane per confermare i risultati e/o documentare la sieroconversione. Quest'analisi di follow-up ha confermato che l 1 % dei soggetti è risultato positivo alle IgG in almeno 2 diversi test utilizzando la stessa analisi. Si noti in particolare, che il segnale IgM del test LFIA utilizzato ha dato luogo a molti segnali falsi positivi.

L'analisi dei sintomi patologici ha mostrato febbre e dolori muscolari molto più marcati nei 10 soggetti positivi confermati del personale ospedaliero rispetto ai sieronegativi. I fattori di rischio per la sieropositività sono stati i contatti con i pazienti, tenendo conto che il personale ospedaliero risultato positivo spesso non indossava la mascherina (8/642, 1.2 %; con la mascherina sono risultati positivi solo 2/370 0.5 %, p = .009).

In questo studio di coorte prospettica di 1012 dipendenti ospedalieri svizzeri, sono stati utilizzati tre diversi saggi per analizzare il siero alla ricerca degli anticorpi SARS-CoV-2. La sieropositività è stata dell 1 %; il valore predittivo positivo del saggio immunologico a flusso laterale è stato del 64 % (IgG) e del 13 % (IgM). L'anamnesi della febbre e della mialgia ha differenziato in modo efficace i sieropositivi dai sieronegativi.

Referenze

Kohler PP, Kahlert CR, Sumer J, Flury D, Güsewell S, Leal-Neto OB, Notter J, Albrich WC, Babouee Flury B, McGeer A, Kuster S, Risch L, Schlegel M, Vernazza P. Prevalence of SARS-CoV-2 antibodies among Swiss hospital workers: Results of a prospective cohort study. Infect Control Hosp Epidemiol. 2020 Oct 8:1-5. doi: 10.1017/ice.2020.1244. PMID: 33028454.

Corrispondenza
Dr. med. Christian Kahlert
Ospedale pediatrico della Svizzera orientale
Ospedale cantonale di San Gallo
christian.kahlert@kssg.ch

Sviluppo di un kit specifico per la raccolta della saliva per l'analisi virale

Dr. Daniel Wallerstorfer, BSc **La preanalitica per l'identificazione del virus contribuisce a stabilire l'attendibilità del risultato di un test. L'esecuzione di un tampone rinofaringeo è dispendiosa e viene percepita come una procedura sgradevole. Inoltre, per diversi motivi, non sempre è possibile effettuare un tampone rinofaringeo. I tamponi orofaringei hanno un'attendibilità diagnostica inferiore rispetto ai tamponi rinofaringei. Questo contributo si occupa di un dispositivo con marcatura CE per la raccolta di saliva per l'analitica del virus.**

La saliva invece del tampone?

Pubblicazioni sempre più numerose dimostrano che la raccolta della saliva è un metodo valido per SARS-COV-2. In 10 studi condotti su 1'800 pazienti COVID, il tampone rinofaringeo per uso professionale è stato confrontato con la raccolta di saliva: è stato dimostrato che la carica virale nella saliva era almeno pari a quella del tampone. In due pubblicazioni il campione di saliva è risultato ancora più sensibile del tampone professionale [1-10]. Poiché la raccolta della saliva sembra fornire risultati equivalenti, è un metodo molto più gradevole per il paziente e non richiede personale specializzato per la raccolta, Novogenia ha deciso di sviluppare un kit di prelievo certificato CE-IVD per la diagnostica SARS-COV-2.

Mentre in certi pazienti la raccolta di 2-5 ml di saliva richiede diversi minuti di tempo e la viscosità della saliva pura in laboratorio è causa di problemi di lavorazione, la raccolta tramite gargarismi è un metodo riconosciuto per ottenere dei campioni affidabili ai fini diagnostici. Di solito si utilizza una soluzione NaCl, cioè dell'acqua salata: per 60 secondi si fanno i gargarismi nel tratto posteriore della gola per poi trasferire la soluzione in una provetta di raccolta, che in seguito viene fornita – refrigerata – al laboratorio per l'analisi.

I problemi con i campioni da gargarismi della gola

Problema 1: Stabilità

Se è facile raccogliere in un recipiente la saliva o la soluzione salina con i gargarismi, tale campione è molto instabile a temperatura ambiente. Senza un metodo di conservazione, i microrganismi contenuti nella soluzione si moltiplicano rapidamente e qualsiasi traccia del virus sparisce in poche ore. I campioni, perciò, devono essere refrigerati e analizzati il più presto possibile. L'impiego di sali conservanti nella soluzione di gargarismi non è indicato, a causa della loro tossicità.

Problema 2: Infettività

Poiché la soluzione salina, utilizzata per fare i gargarismi, mantiene in vita il virus, i campioni da gargarismi della gola sono considerati altamente contagiosi e rappresentano un rischio per il trasporto e per il personale di laboratorio.

Problema 3: Trasporto refrigerato

Poiché i campioni si decompongono molto rapidamente in acqua salata, è necessario il trasporto refrigerato al laboratorio. La maggior parte dei corrieri non può effettuare il trasporto senza interruzione della catena del freddo, il che rende il trasporto molto complesso e costoso.

Un nuovo sviluppo

Per superare questi problemi, Novogenia Sagl, in collaborazione con Procomcure Biotech, ha sviluppato un nuovo sistema e lo ha lanciato sul mercato come dispositivo medico «Gurgel/Gargle Set v2.0». Invece di una soluzione salina, che può lasciare un retrogusto sgradevole per diverse ore, si fanno i gargarismi per 10 secondi con 2 ml di acqua pura. Il liquido viene quindi trasferito attraverso un imbuto in una provetta di raccolta. La particolarità è che i sali stabilizzanti, altrimenti tossici, sono immobilizzati nella provetta e si sciolgono lentamente nella soluzione dei gargarismi, ciò che disattiva i virus e soprattutto stabilizza l'RNA virale. Il campione, perciò, diventa completamente innocuo, può essere inviato per posta convenzionale e trasportato in laboratorio senza refrigerazione.

Durante la convalida del kit è risultato che anche piccole quantità di RNA virale restano stabili per 3 giorni a 0°, restano stabili dopo ripetuti congelamenti e scongelamenti, ma restano stabili anche a 45 °C. A temperatura ambiente l'RNA virale resta stabile per 13 giorni. I campioni possono quindi essere trasportati d'inverno, ma anche lasciati d'estate, per diversi giorni, nell'automobile a temperatura torrida, senza che questo alteri il risultato. In un confronto interno tra un tampone nasofaringeo per uso professionale e una raccolta di saliva, è stata rilevata una carica virale 16 volte superiore nel campione da gargarismi della gola (misurazione del valore CT).

Stato

Il nuovo kit di prelievo è il primo dispositivo medico certificato CE-IVD autorizzato per uso personale per SARS-COV-2 e per altre malattie virali. La domanda di brevetto è già stata depositata; in Austria il kit è già impiegato su vasta scala.

Main findings

- La saliva costituisce un'alternativa interessante per rilevare il virus SARS-CoV-2.
- È disponibile un kit con marchio CE per raccogliere la saliva mediante risciacquo con H2O e per rilevare il virus SARS-CoV-2.
- I materiali così prelevati sono stabili.
- Sembra raccomandabile l'esecuzione di un controllo interno sul materiale cellulare umano per valutare la qualità del materiale.

Referenze

1 Wu J, Liu J, Li S, Peng Z, Xiao Z, Wang X, Yan R, Luo J. Detection and analysis of nucleic acid in various biological samples of COVID-19 patients. Travel Med Infect Dis. 2020;37:101673.

2 Pasomsub E, Watcharananan SP, Boonyawat K, Janchompoo P, Wongtabtim G, Suksuwan W, Sungkanuparph S, Phuphuakrat A. Saliva sample as a non-invasive specimen for the diagnosis of coronavirus disease 2019: a cross-sectional study. Clin Microbiol Infect. 2020:S1198-743X(20)30278-0.

3 To KKW, Yip CCY, Lai CYW, Wong CKH, Ho DTY, Pang PKP, Ng ACK, Leung KH, Poon RWS, Chan KH, Cheng VCC, Hung IFN, Yuen KY. Saliva as a diagnostic specimen for testing respiratory virus by a point-of-care molecular assay: a diagnostic validity study. Clin Microbiol Infect. 2019;25:372-378.

4 Wyllie AL, Fournier J, Casanovas-Massana A, Campbell M, Tokuyama M, Vijayakumar P, Warren JL, Geng B, Muenker MC, Moore AJ, Vogels CBF, Petrone ME, Ott IM, Lu P, Venkataraman A, Lu-Culligan A, Klein J, Earnest R, Simonov M, Datta R, Handoko R, Naushad N, Sewanan LR, Valdez J, White EB, Lapidus S, Kalinich CC, Jiang X, Kim DJ, Kudo E, Linehan M, Mao T, Moriyama M, Oh JE, Park A, Silva J, Song E, Takahashi T, Taura M, Weizman OE, Wong P, Yang Y, Bermejo S, Odio CD, Omer SB, Dela Cruz CS, Farhadian S, Martinello RA, Iwasaki A, Grubaugh ND, Ko AI. Saliva or Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of SARS-CoV-2. N Engl J Med. 2020;383:1283-1286.

5 Byrne RL, Kay GA, Kontogianni K, Aljayyoussi G, Brown L, Collins AM, Cuevas LE, Ferreira DM, Fraser AJ, Garrod G, Hill H, Hughes GL, Menzies S, Mitsi E, Owen SI, Patterson EI, Williams CT, Hyder-Wright A, Adams ER, Cubas-Atienzar AI. Saliva Alternative to Upper Respiratory Swabs for SARS-CoV-2 Diagnosis. Emerg Infect Dis. 2020;26:2770-2771.

6 Williams E, Bond K, Zhang B, Putland M, Williamson DA. Saliva as a Noninvasive Specimen for Detection of SARS-CoV-2. J Clin Microbiol. 2020;58:e00776-20.

7 Cheuk S, Wong Y, Tse H, Siu HK, Kwong TS, Chu MY, Yau FYS, Cheung IYY, Tse CWS, Poon KC, Cheung KC, Wu TC, Chan JWM, Cheuk W, Lung DC. Posterior oropharyngeal saliva for the detection of SARS-CoV-2. Clin Infect Dis. 2020:ciaa797.

8 To KK, Tsang OT, Yip CC, Chan KH, Wu TC, Chan JM, Leung WS, Chik TS, Choi CY, Kandamby DH, Lung DC, Tam AR, Poon RW, Fung AY, Hung IF, Cheng VC, Chan JF, Yuen KY. Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva. Clin Infect Dis. 2020;71:841-843.

9 Azzi L, Carcano G, Gianfagna F, Grossi P, Gasperina DD, Genoni A, Fasano M, Sessa F, Tettamanti L, Carinci F, Maurino V, Rossi A, Tagliabue A, Baj A. Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. J Infect. 2020 Jul;81(1):e45-e50.

10 Jamal AJ, Mozafarihashjin M, Coomes E, Powis J, Li AX, Paterson A, Anceva-Sami S, Barati S, Crowl G, Faheem A, Farooqi L, Khan S, Prost K, Poutanen S, Taylor M, Yip L, Zhong XZ, McGeer AJ, Mubareka S; Toronto Invasive Bacterial Diseases Network COVID-19 Investigators. Sensitivity of nasopharyngeal swabs and saliva for the detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Clin Infect Dis. 2020:ciaa848.

Corrispondenza
Dr. Daniel Wallerstorfer, BSc
Novogenia Sagl
office@novogenia.com

Diagnosi precoce di COVID-19 mediante il bracciale sensoriale

Kirsten Grossmann, MSc **In uno studio di coorte nazionale COVI-GAPP[1] nel Principato del Liechtenstein un bracciale sensoriale, sviluppato come rilevatore della fertilità, viene valutato per la diagnosi precoce dell'infezione da COVID-19. Il bracciale si indossa di notte, durante il sonno, e misura i parametri fisiologici rilevanti per COVID-19. Tali parametri formano un algoritmo in grado di indicare la presenza dell'infezione da COVID-19 prima dell'insorgenza dei sintomi.**

Main findings

- Obiettivo: lo sviluppo di un algoritmo per la diagnosi precoce di COVID-19 mediante l'utilizzo di un rilevatore di fertilità.
- Informazioni sul bracciale sensoriale Ava: **www.avawomen.com**
- Informazioni sullo studio COVI-GAPP: **www.covi-gapp.li**
- Informazioni sullo studio GAPP: **www.blutdruck.li**
- I parametri misurati sono in grado di prevedere l'infezione da COVID-19 prima dell'insorgenza dei sintomi.

Così funziona il bracciale Ava

Il bracciale Ava è stato progettato per aiutare le donne nella pianificazione di una gravidanza. Le misurazioni sensoriali di vari parametri vengono utilizzate per identificare i giorni più fertili per il concepimento [2]. Il bracciale Ava è dotato dei cosiddetti sensori di tecnologia «wearable», e cioè indossabile. Tali sensori sono inseriti in fasce per la testa, fasce toraciche, orologi da polso, oppure sono integrati negli indumenti. I sensori sono in grado di monitorare i parametri fisiologici nel tempo e riconoscere come si sviluppano i dati nei modelli personalizzati [3].

Il bracciale, che viene indossato la sera e portato di notte, si sincronizza al mattino con l'applicazione Ava via Bluetooth sullo smartphone. Il braccialetto è in grado di rilevare i sintomi cardinali di un'infezione da COVID-19 (ad es. febbre, tosse, problemi polmonari) e di monitorare i cambiamenti nel tempo. Durante il sonno vengono misurati i parametri fisiologici: temperatura della pelle, polso a riposo, variabilità della frequenza cardiaca, circolazione sanguigna e frequenza respiratoria. Grazie all'accelerometro incorporato, inoltre, il bracciale traccia i movimenti durante il sonno. Questo segnale può essere utilizzato per misurare la quantità (durata) e la qualità del sonno (percentuale di sonno combinato profondo e REM).

Il bracciale Ava misura più parametri di un «indossabile» tradizionale ed è registrato come dispositivo medico certificato CE. Per maggiori informazioni consultare il sito: **www.avawomen.com**.

Lo studio COVI-GAPP

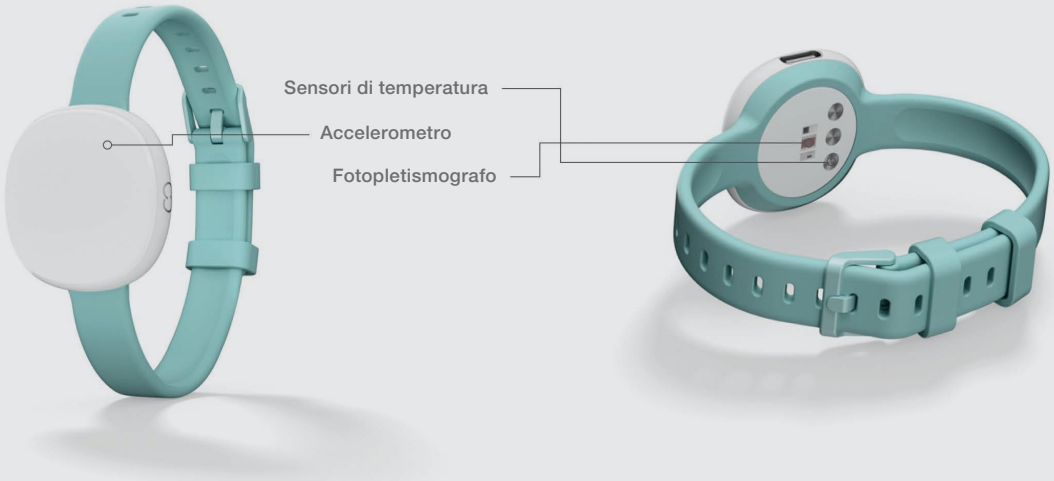
Il bracciale sensoriale viene valutato nell'ambito dello studio di coorte nazionale COVI-GAPP (n = 1'156): **www.covi-gapp.li**. In una prima fase sono stati reclutati i soggetti dello studio prospettico di osservazione GAPP **(www.blutdruck.li)**. In una seconda fase saranno inclusi altri partecipanti. Tutti i partecipanti ricevono un bracciale e, tramite l'applicazione Ava, forniscono informazioni quotidiane sulla propria salute. Vengono rilevati i sintomi manifesti, quali febbre, perdita del gusto e/o dell'olfatto. Vengono segnalate, inoltre, le sostanze dannose assunte, ad es. gli alcolici o i farmaci. All'inizio dello studio, inoltre, tutti i soggetti vengono sottoposti a un test anticorpale SARS-CoV-2 e in seguito testati di nuovo nel corso dello studio.

L'obiettivo dello studio è quello di sviluppare, mediante le misurazioni sensoriali dei parametri, un algoritmo in grado di identificare i sintomi rilevanti per COVID-19 prima che diventino sintomatici.

In prospettiva

I soggetti affetti da COVID-19 sono contagiosi prima dell'insorgenza dei sintomi. Un bracciale sensoriale, che rileva i sintomi prima che si manifestino, consentirebbe l'isolamento precoce, l'analisi di laboratorio tempestiva e il monitoraggio medico dei pazienti infetti. La diagnosi precoce è molto importante per contenere la diffusione del virus e dunque per proteggere il sistema sanitario. Insieme alle norme di comportamento già in vigore (distanziamento sociale, misure igieniche adeguate, test di laboratorio precoci), l'uso di questo «indossabile» può contribuire a lottare contro la pandemia del coronavirus.

Fig. 1: Il bracciale sensoriale



1. Sensore di temperatura

Misurazione della temperatura al polso

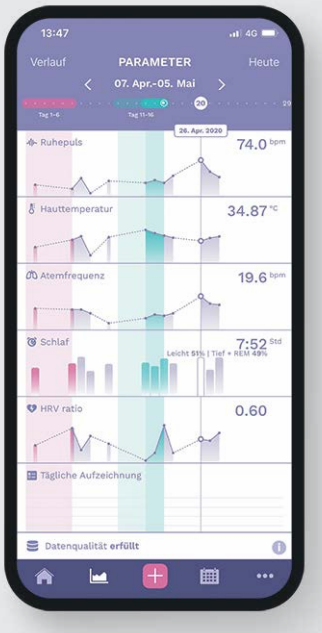
2. Accelerometro

Misurazione del movimento e determinazione della fase di sonno

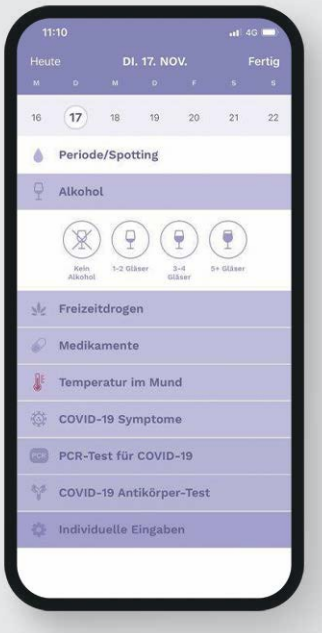
3. Fotopletismografo

Misurazione della variabilità della frequenza cardiaca, della frequenza cardiaca, della frequenza respiratoria e della perfusione cutanea

Fig. 2: I parametri vitali misurati



Rilevamento dei fattori di disturbo



Referenze

1 Risch L, Conen D, Aeschbacher S, Grossmann K RM. Defining the role of a fertility bracelet for early recognition and monitoring of COVID-19 in Liechtenstein: an observational study (COVI-GAPP). 10. April 2020; https://doi.org/10.1186/ISRCTN51255782 (Zugriff am 11.10.2020)

2 Goodale BM, Shilaih M, Falco L, Dammeier F, Hamvas G, Leeners B. Wearable sensors reveal menses-driven changes in physiology and enable prediction of the fertile window: Observational study. J Med Internet Res. 2019;21(4). doi:10.2196/13404

3 Piwek L, Ellis DA, Andrews S, Joinson A. The Rise of Consumer Health Wearables: Promises and Barriers. PLoS Med. 2016;13(2):1-9. doi:10.1371/journal.pmed.1001953

Corrispondenza
Kirsten Grossmann, MSc
Studio COVI-GAPP
kirsten.grossmann@risch.ch

Sviluppo di un tampone rinofaringeo stampato in 3D

Marco Schmid **Nessuno era adeguatamente preparato alla pandemia da COVID-19. Anche la gestione dei test di laboratorio è stata pesantemente condizionata dalla carenza di materiale. Se all'inizio della prima ondata pandemica il problema principale era costituito dai reagenti per i test, si è giunti in tempi brevi alla carenza di risorse materiali per l'esecuzione dei tamponi.**

Coobx è un'azienda con sede nel Liechtenstein, specializzata nella produzione di macchine da stampa in 3D per la produzione di additivi, con particolare focus sulla tecnologia medica. Il gruppo CML Dr Risch ha contribuito in modo significativo allo sviluppo di una collaborazione per la produzione di tamponi nasofaringei con la stampante in 3D.

Lobiettivo dello sviluppo era quello di trovare il materiale adatto (fotopolimeri uretanici reattivi della BASF) e di progettare la geometria del puntale del tampone in modo tale da disporre della superficie maggiore possibile e al tempo stesso di avere un supporto che consentisse una manipolazione flessibile. È stato inoltre necessario pianificare un punto di rottura prestabilito per inserire il tampone in una soluzione adeguata che permettesse, tra laltro, di individuare in modo affidabile la presenza del virus.

Dopo aver sperimentato diversi prototipi, l'obiettivo è stato quello di constatare l'assorbimento efficace del materiale cellulare. Il nome del prodotto è stato trovato in modo rapido (ZIPs-wab/3D-SwabAX). Rilevando la quantità di mRNA della beta-actina, è stato dimostrato che dal tampone rinofaringeo è possibile ottenere un volume di campione pari a quello del tampone convenzionale. Anche l'assorbimento quantitativo del virus nel puntale del tampone è stato equivalente a quello del tampone floccato. Si trattava, inoltre, di ottimizzare il comfort dei pazienti durante il prelievo dei campioni. Alla fine è stato progettato un prodotto, che non presentava alcuna differenza di comfort rispetto al prelievo del campione con un tampone floccato.

Le specifiche delle nostre valutazioni coincidono con quelle descritte per i prodotti alternativi dei tamponi rinofaringei stampati in 3D [1-5]. Nel complesso per coordinare

Fig. 1: Tampone rinofaringeo con puntale del tampone, punto di frattura e supporto

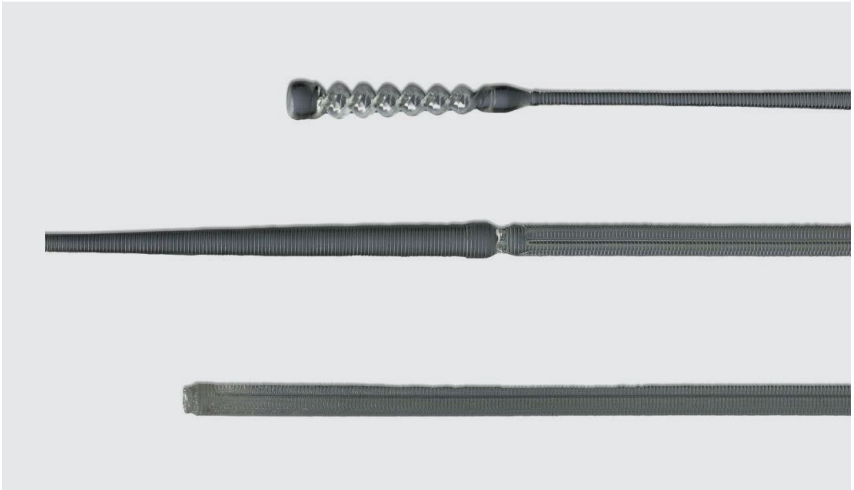


Fig. 2: Linea di produzione per la stampa in 3D ad alto rendimento con tecnologia LIFT

Main findings

- La fornitura di tamponi rinofaringei costituisce uno dei maggiori ostacoli alla prestazione di un'ampia gamma di cure mediche di laboratorio per l'analitica SARS-CoV-2.
- In collaborazione con il gruppo CML Dr Risch, la società Coobx è riuscita a sviluppare un tampone rinofaringeo stampato in 3D.
- Le caratteristiche del tampone rinofaringeo ZIPswab/3D-SwabAX, disponibile dal gennaio del 2021, sono le stesse rispetto a quelle del tampone convenzionale.
- Attualmente il tampone rinofaringeo ZIPswab/3D-SwabAX viene prodotto in quantità rilevanti, facilmente scalabili.

il processo di sviluppo del prodotto sono stati eseguiti 20 processi iterativi. Il prodotto, fabbricato con un materiale a marchio CE, è stato a sua volta registrato come dispositivo medico di classe 1.

Coobx è in grado di fabbricare il prodotto ZIPswab/3D- SwabAX in grandi quantità. Attualmente è possibile produrre circa 5'000 tamponi all'ora. Se necessario, la scalabilità a grandi quantità – e cioè la capacità del sistema di gestire volumi di elaborazione crescenti – è possibile in modo rapido e semplice grazie al fatto che è la Coobx stessa a produrre le macchine da stampa in 3D. Axon Lab è un partner di distribuzione che, a partire dal gennaio del 2021, metterà i tamponi a disposizione dell'intera Europa. In realtà la società Coobx è in grado di fornire l'intera linea di produzione per la produzione dei tamponi, consentendo così la produzione, a livello locale, di grandi quantità di tamponi rinofaringei in tutto il mondo. In questa pandemia la produzione locale si è dimostrata il metodo migliore per garantire il rifornimento di materiale medico. Troppo spesso i problemi della catena di approvvigionamento hanno determinato la carenza di un'ampia varietà di beni (di provenienza dalla Cina, ad es.).

Per concludere, lo sviluppo del tampone ZIPswab/3D-SwabAX è un ottimo esempio di come una stretta cooperazione interdisciplinare tra partner collaborativi possa fornire in tempi brevi un contributo rilevante alla sicurezza dell'approvvigionamento in una situazione di crisi.

Referenze

1 Decker SJ, Goldstein TA, Ford JM, Teng MN, Pugliese RS, Berry GJ, Pettengill M, Silbert S, Hazelton TR, Wilson JW, Shine K, Wang ZX, Hutchinson M, Castagnaro J, Bloom OE, Breining DA, Goldsmith BM, Sinnott JT, O'Donnell DG, Crawford JM, Lockwood CJ, Kim K. 3D Printed Alternative to the Standard Synthetic Flocked Nasopharyngeal Swabs Used for COVID-19 testing. Clin Infect Dis. 2020:ciaa1366.

2 Williams E, Bond K, Isles N, Chong B, Johnson D, Druce J, Hoang T, Ballard SA, Hall V, Muhi S, Buising KL, Lim S, Strugnell D, Catton M, Irving LB, Howden BP, Bert E, Williamson DA. Pandemic printing: a novel 3D-printed swab for detecting SARS-CoV-2. Med J Aust. 2020;213:276-279.

3 Callahan CJ, Lee R, Zulauf KE, Tamburello L, Smith KP, Previtera J, Cheng A, Green A, Abdul Azim A, Yano A, Doraiswami N, Kirby JE, Arnaout RA. Open Development and Clinical Validation of Multiple 3D-Printed Nasopharyngeal Collection Swabs: Rapid Resolution of a Critical COVID-19 Testing Bottleneck. J Clin Microbiol. 2020;58:e00876-20.

4 Alghounaim M, Almazeedi S, Al Youha S, Papenburg J, Alowaish O, AbdulHussain G, Al-Shemali R, Albuloushi A, Alzabin S, Al-Wogayan K, Al-Mutawa Y, Al-Sabah S. Low-Cost Polyester-Tipped Three-Dimensionally Printed Nasopharyngeal Swab for the Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). J Clin Microbiol. 2020;58:e01668-20.

5 Rybicki FJ. 3D Printing in Medicine: COVID-19 Testing with 3D Printed Nasopharyngeal Swabs. Clin Infect Dis. 2020:ciaa1437. PMID: 32949233.

Corrispondenza
Marco Schmid
Coobx · Balzers
marco.schmid@coobx.com

Test rapidi dell'antigene SARS-CoV2: le caratteristiche operative dei test

Dr. sc. nat. ETH Mauro Imperiali, MAS · Prof. Dr. med. Lorenz Risch, MPH, MHA

I saggi immunocromatografici a flusso laterale per SARS-CoV-2 sono ora disponibili. In determinate situazioni essi contribuiscono a chiarimenti più rapidi rispetto ai tradizionali test RT-PCR. L'introduzione dei test, tuttavia, ha suscitato reazioni contrastanti. Lo scopo del presente articolo è quello di contribuire a una migliore classificazione delle caratteristiche operative dei test antigenici rapidi.

Uno dei determinanti virologici della trasmissione di COVID-19 è la carica virale, che può essere rilevata nel tampone nasofaringeo. La viremia può essere valutata con un cosiddetto marker surrogato, il valore Ct (sinonimo: valore Cp). Nella reazione a catena della polimerasi (PCR), il valore Ct descrive il ciclo di amplificazione, in cui un campione può essere chiaramente letto come positivo. Più è basso il valore, più il virus è presente nel campione. Con un'amplificazione ideale mediante PCR, un'unità del valore Ct inferiore corrisponde ad un dimezzamento della carica virale. Un campione con un valore Ct di 25, perciò, contiene circa 32 (2^5) volte più virus di un campione con un valore Ct di 30. I valori Ct possono essere utilizzati unicamente a titolo orientativo e la loro comparabilità è limitata.

Al momento attuale, i dati epidemiologici disponibili non sono sufficienti per determinare l'infettività dei soggetti attraverso i valori Ct del tampone nasofaringeo. In via approssimativa, tuttavia, sono stati effettuati dei test in vitro per accertare fino a quale valore Ct il virus SARS-CoV-2 possa essere coltivato sulle cellule. Si è constatato che, con un valore Ct di 25, il virus era coltivabile nel 70 % dei casi, con un valore Ct di 30 era coltivabile nel 20 % dei casi, mentre con un valore Ct di 35 era coltivabile in meno del 3 % dei casi[1]. Di conseguenza, i soggetti con un valore Ct superiore a 35 non sono considerati contagiosi.

Con valori Ct inferiori a 25, i migliori formati dei test antigenici rapidi sono stati in grado di rilevare l'infezione sulle nostre mani. Con valori Ct più elevati, la sensibilità del test è insufficiente al rilevamento del virus. Se rappresentiamo i valori Ct, rilevati complessivamente nei pazienti infetti fino alla fine di settembre del 2020 presso il CML Dr Risch per il gene E di SARS-CoV2 – riassunti nella Fig. 1 – constatiamo che un quarto dei campioni di SARS-CoV2 ha un valore Ct superiore a 25. Si può quindi desumere che la sensibilità dei test antigenici si aggiri attorno al 75 - 80 % della PCR. Partendo dal presupposto che il test RT-PCR per il rilevamento di COVID-19 abbia una sensibilità dell 87 % ca.[2] , i test rapidi per lindividuazione di COVID-19 dovrebbero avere una sensibilità del 70 - 75 % ca.[3,4]. La specificità dei test antigenici per i formati standard è stata descritta del 99.3 % ca.[3,4].

Questo consente di calcolare i valori predittivi negativi e positivi per tutte le possibili probabilità di pre-test, come mostrato nella Fig. 2.

La strategia di test COVID-19 della Confederazione prevede il test antigenico rapido per i pazienti ambulatoriali sintomatici che presentano sintomi per non più di 3 giorni[5-8]. Questo è il lasso di tempo, in cui la maggior parte dei virus viene rilevata nei pazienti COVID-19, ovvero la probabilità di pre-test è elevata (> 15 %), soprattutto in tempi di tasso di positività elevato. In tale situazione, si può ipotizzare un risultato positivo con una probabilità di contrarre l'infezione pari ad almeno il 95 %. Nei soggetti asintomatici, che non soddisfano i criteri di campionamento della Confederazione (bassa probabilità di pre-test < 10 %), un risultato positivo del test antigenico rapido ha un valore predittivo positivo del 50 - 90 %[9]. Secondo quanto raccomandato dalla Confederazione, in questi casi è necessario confermare il test con RT-PCR[5]. Le singole normative cantonali possono derogare. Sulla base di un Health Technology Assessments, la strategia di

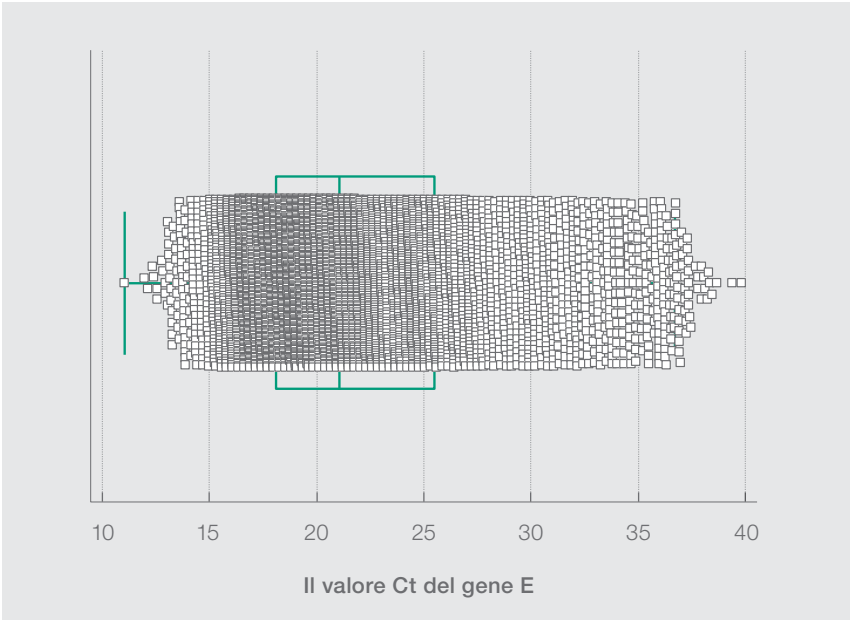


Fig. 1: Valori Ct dei soggetti risultati positivi nel gruppo CML Dr Risch. Il box-plot riporta i valori di mediana, il 25° e il 75° percentile.

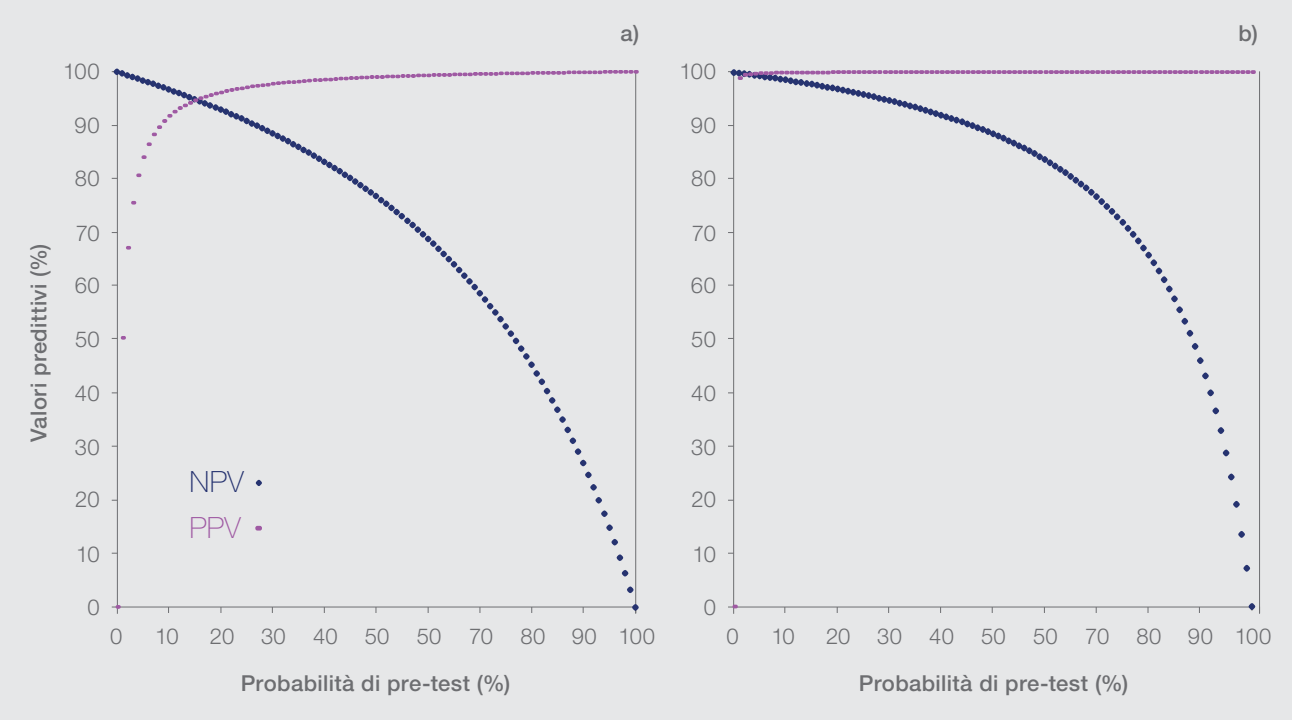


Fig. 2: Valori predittivi positivi (PPV) e negativi (NPV) per a.) test antigenici rapidi in funzione della probabilità di pre-test (sensibilità 70 %, specificità 99.3 %). A confronto i PPV e i NPV per PCR: sensibilità 87 %, specificità 99.99 %.

sperimentazione francese prevede lutilizzo di un test antigenico su soggetti sintomatici, in particolare se i risultati della RT-PCR non sono disponibili entro le 48 ore; non è raccomandato alcun test antigenico rapido per i soggetti asintomatici [10].

Il valore predittivo negativo (NPV) è inferiore al 95 % con un'alta probabilità di pre-test >15 %. Il NPV diminuisce con l'aumentare della probabilità di pre-test. Secondo la strategia di test della Confederazione, perciò, in caso di test antigenico rapido negativo, il test RT-PCR devessere eseguito se esiste un'elevata probabilità di pre-test (ad es. sintomi tipici in seguito all'esposizione con un paziente confermato), aggravamento dei sintomi o comparsa di nuovi sintomi o persistenza degli stessi (nessun miglioramento) per ≥2 giorni [5]. I pazienti che presentano sintomi per almeno 4 giorni, i pazienti ospedalizzati, gli operatori sanitari e le persone a rischio dovrebbero essere testati direttamente con la RT-PCR piuttosto che con il test antigenico [5,10,11]. Questo contribuirà a ridurre al minimo le conseguenze di eventuali falsi negativi.

Quello che al momento è ancora necessario chiarire è se i test antigenici superino costantemente i test RT-PCR per quanto attiene l'individuazione dellinfezione da COVID-19 [12]. Se i test RT-PCR sono solo qualitativi, cioè senza valori Ct, è probabile che lo siano soprattutto in caso di valori Ct elevati (>33). Questo vale per il 5 % ca. dei pazienti COVID-19 confermati dal laboratorio. Per i valori Ct <25 non sono previste differenze in tal senso (circa il 75 % dei pazienti COVID-19 confermati). Al momento non mi sembra ancora del tutto chiaro, se i soggetti con un valore Ct tra 25 e 33 non siano effettivamente contagiosi. Lo studio di Jafaar nellambito degli esperimenti di coltura cellulare parte dal presupposto che il virus sia trasmissibile nel 10 - 70 % dei casi [1].

Main findings

- I test antigenici per SARS-CoV-2 possiedono diverse caratteristiche diagnostiche a seconda del formato del test.
- I test rapidi antigenici per diagnosticare la presenza di un'infezione da SARS-CoV-2 presentano una ridotta sensibilità e specificità rispetto ai test RT-PCR.
- I test rapidi antigenici hanno il potenziale per diagnosticare in modo più puntuale l'infettività dei soggetti affetti da SARS-CoV-2 rispetto ai test RT-PCR senza l'indicazione dei valori Ct.
- Al momento resta aperta la questione se e quanti pazienti con test rapido antigenico negativo e test RT-PCR positivo possano risultare comunque contagiosi.
- Per l'impiego dei test rapidi antigenici trovano applicazione le indicazioni dell'UFSP.

Attualmente, sulle piattaforme di immunodosaggio automatizzate, sono disponibili i test antigenici sensibili, che tuttavia necessitano di convalida. Per quanto attiene la sensibilità, tali test sembrano essere superiori ai test antigenici rapidi e potrebbero essere utilizzati su una scala molto più ampia rispetto a quella RT-PCR. Uno svantaggio dei test potrebbe consistere nel fatto che, a causa di una fase di inattivazione del campione, essi richiedono più tempo per la loro esecuzione rispetto ai test rapidi (e sono leggermente più brevi rispetto al test RT-PCR, a seconda del caso) anche se i risultati – in modo analogo al valore TSH – possono essere disponibili per i campioni di routine entro mezza giornata. Daltro canto, i test potrebbero avere il vantaggio di chiudere la finestra dei valori Ct di 25 - 30, lasciata aperta dai test antigenici rapidi.

Referenze

1 Jaafar R, Aherfi S, Wurtz N, et al. Correlation Between 3790 Quantitative polymerase chain reaction–Positives Samples and Positive Cell Cultures, Including 1941 Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Isolates. Clin Infect Dis. 2020 Sep 28;ciaa1491. PMID: 32986798.

2 Baron RC, Risch L, Weber M, et al. Frequency of serological non-responders and false-negative RT-PCR results in SARS-CoV-2 testing: a population-based study. Clin Chem Lab Med. 2020 Aug 31;58:2131-2140.

3 Corman VM, Haage VC, Bleicker T, et al. Comparison of seven commercial SARS-CoV-2 rapid Point-of-Care Antigen tests. medRxiv 2020:2020.11.12.20230292.

4 Krüger LJ, Gaeddert M, Köppel L, et al. Evaluation of the accuracy, ease of use and limit of detection of novel, rapid, antigen-detecting point-of-care diagnostics for SARS-CoV-2. medRxiv 2020:2020.10.01.20203836.

5 Bundesamt für Gesundheit. COVID-19: Empfehlungen zur Diagnose im ambulanten Bereich. Integration der Antigen-Schnelltests in die Teststrategie. 2020. (Accessed 21.11.2020, at https://www.bag.admin.ch/dam/bag/de/dokumente/mt/k-und-i/aktuelle-ausbrueche-pandemien/2019-nCoV/empfehlungen-zur-diagnose-im-ambulanten-bereich-integration-antigen-schnelltests.pdf.download.pdf/Empfehlungen%20zur%20Diagnose%20im%20ambulanten%20Bereich%20-%20Integration%20der%20Antigen-Schnelltests%20in%20die%20Teststrategie_DE.pdf.)

6 Bundesamt für Gesundheit. COVID-19: Empfehlungen zur Diagnose im ambulanten Bereich. 2020. (Accessed 21-11-2020, at https://www.bag.admin.ch/dam/bag/de/dokumente/mt/k-und-i/aktuelle-ausbrueche-pandemien/2019-nCoV/empfehlungen-zur-diagnose-von-covid-19.pdf.download.pdf/Empfehlungen_zur_Diagnose_von_COVID-19.pdf.)

7 Swissmedic. Merkblatt zur aktuellen COVID-19 Testung in der Schweiz. 2020. (Accessed 21.11.2020, at https://www.bag.admin.ch/dam/bag/de/dokumente/mt/k-und-i/aktuelle-ausbrueche-pandemien/2019-nCoV/merkblatt-swissmedic-covid-19-testung.pdf.download.pdf/Merkblatt_zur_aktuellen_COVID-19_Testung_in_der_Schweiz_Swissmedic_BAG.pdf.)

8 Bundesamt für Gesundheit. FaktenblattNeue Krankheit COVID-19 (Coronavirus):Regelung der Kostenübernahme der Analyse auf SARS-CoV-2 und der damit verbundenen Leistungen. 2020. (Accessed 21.11.2020, at https://www.bag.admin.ch/dam/bag/de/dokumente/kuv-leistungen/leistungen-und-tarife/Analysenliste/faktenblatt-coronavirus-verguetunganalyse.pdf.download.pdf/Faktenblatt_Coronavirus%E2%80%93Kostenuebernahme_der_Analyse_und_der_medizinischen_Leistungen.pdf.)

9 Bundesamt für Gesundheit. Neues Coronavirus (COVID-19) Verdachts-, Beprobungs-und Meldekriterien vom 28.10.2020. 2020. (Accessed 21.11.2020, at https://www.bag.admin.ch/dam/bag/de/dokumente/mt/msys/covid-19-verdachts-meldekriterien.pdf.download.pdf/Verdachts_Beprobungs_und_Meldekriterien.pdf.)

10 Haute Autorité de Santé. Revue rapide sur les testsde détectionantigéniquedu virus SARS-CoV-2. 2020. (Accessed 23.11.2020, at https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-10/synthese_tests_antigeniques_vd.pdf.)

11 Bundesamt für Gesundheit. Kategorien besonders gefährdeter Personen. 2020. (Accessed 21.11.2020, at https://www.bag.admin.ch/dam/bag/de/dokumente/mt/k-und-i/aktuelle-ausbrueche-pandemien/2019-nCoV/kategorien-besonders-gefaehrdete-personen.pdf.download.pdf/Liste-besonders-gef%C3%A4hrdeter-Personen_Anhang-6_ab%2024.06.2020_DE.pdf.)

12 Autor ist Vernazza P. COVID-19: Antigentest schlechter als PCR – wirklich?, 2020. (Accessed 21.11.2020, at https://infekt.ch/2020/10/covid-19-Antigentest-schlechter-als-pcr-wirklich/.)

Corrispondenza

Dr. sc. nat. ETH Mauro Imperiali, MAS
gruppo CML Dr Risch
mauro.imperiali@risch.ch

Prof. Dr. med. Lorenz Risch, MPH, MHA
gruppo CML Dr Risch
lorenz.risch@risch.ch

Test anticorpali sierologici con metodo immunoenzimatico in chemiluminescenza (CLIA)

Dipl. med. Myriam Weber · Dr. med. Matthias Paprotny **I test sierologici erano e sono tuttora importanti per ottenere ulteriori informazioni sui sintomi, sul decorso e sull'incidenza di COVID-19. Si assiste, inoltre, a una richiesta crescente da parte dei pazienti e dei loro congiunti, che desiderano sapere se hanno contratto un'infezione da COVID-19, ad es. in caso di contatti domestici asintomatici o se non è stato possibile eseguire il test RT-PCR durante la fase acuta.**

I saggi di flusso laterale sono stati facilmente reperibili sin dall'inizio della pandemia COVID-19, potevano essere eseguiti senza la necessità di apparecchiature specialistiche, ma presentavano caratteristiche di test non ottimali, in particolare al di fuori di un algoritmo di test ortogonale. Subito dopo i saggi di flusso laterale, sono stati reperibili i formati di test ELISA, che però hanno presentato alcuni inconvenienti, in particolare per quanto attiene la disponibilità nel corso della prima ondata e la complessa lavorazione. In seguito sono giunti sul mercato i test immunoenzimatici in chemiluminescenza (CLIA), che hanno consentito di ottenere le migliori proprietà diagnostiche, una buona disponibilità dei materiali di test e un'attività continuativa di produzione in laboratorio. I vari CLIA testano gli anticorpi diretti contro gli antigeni specifici del virus: ad es. l'antigene del nucleocapside (N), presente all'interno del virus, nonché le due sub-unità della proteina spike, che si trova sulla superficie del virus e funge da aggancio alla cellula umana. La proteina del picco è composta dalle sub-unità S1 e S2, con il cosiddetto dominio di legame del recettore (RBD) che si trova nella sub-unità S1.

	ECLIA	CLIA	CMIA
Produttore	Roche Diagnostics	DiaSorin	Abbott Diagnostics
Specificità del test	Anticorpi totali diretti contro l'antigene del nucleocapside	IgG contro gli antigeni S1/S2	IgG contro l'antigene del nucleocapside
Cut-off di positività	>0.9	>15	>=1.4
Sensitività (95 % CI)	96 % [91.98]	90 % [84.94]	93 % [88.96]
Specificità (95 % CI)	99.9 % [99.5, 99.98]	99.7 % [99.3, 99.9]	99.5 % [98.9, 99.8]

In unampia valutazione sono stati confrontati tra loro 3 diversi formati del saggio CLIA [1]. I test sono stati valutati su grandi collettivi di pazienti confermati positivi all'infezione da COVID-19 (n = 145) e di pazienti non affetti dall'infezione da COVID-19 (n = 1193).

È stato dimostrato che i singoli saggi presentano caratteristiche comparabili nel rilevamento del COVID-19 circa 6 settimane dopo linsorgenza dei sintomi. È risultato, inoltre, che i test hanno dei cut-off diversi e che, per un'eventuale valutazione del decorso patologico, occorre sempre utilizzare i risultati degli stessi test. Le caratteristiche del test sono riassunte nella tabella riportata sopra.

È stato possibile escludere del tutto – in particolare per il saggio ECLIA – la cross-reattività, come sarebbe immaginabile dopo l'infezione causata da altri coronavirus del raffreddore, dal virus di Epstein Barr e dal citomegalovirus. La sensitività dei test sierologici dipende in particolare dal momento della misurazione durante il decorso patologico. È stato dimostrato, ad es., che i titoli anticorpali delle IgG con il tempo diminuiscono [2]; di conseguenza anche la sensitività a questi test diminuisce se non viene apportata alcuna modifica ai cut-off.

I valori di cut-off selezionati dal produttore sono relativamente elevati. È stato dimostrato che, dimezzando il valore di cut-off, è ancora possibile rilevare buone

Main findings

- CLIA rappresenta una tecnologia facilmente disponibile per la misurazione degli anticorpi anti SARS-CoV-2.
- La cross-reattività con gli anticorpi contro lEBV, il CMV e i coronavirus comuni si manifesta in proporzioni diverse.
- Con i saggi ECLIA non sono state osservate delle cross-reazioni.
- Per linterpretazione differenziata dei risultati sierologici della SARS-CoV-2 si raccomanda lintroduzione di una zona grigia.
- Al fine di una corretta valutazione del decorso patologico, è necessario confrontare tra loro i risultati dello stesso formato di test.

L'incidenza dei pazienti non-responder alla sierologia e risultati PCR falsi negativi nei test SARS-CoV-2

caratteristiche diagnostiche. Questo dovrebbe portare all'introduzione di zone grigie nell'utilizzo dei saggi CLIA. In un algoritmo di test ortogonale, che confermi il risultato di un secondo test indipendente, è possibile ottenere dei valori predittivi elevati anche con dei risultati nella zona grigia.

MMed Rita-Christiane Baron **Sono diversi, i fattori che possono causare dei risultati dei test COVID-19 falsi negativi. Dei risultati di test RT-PCR falsi negativi possono verificarsi, ad esempio, a causa di una carica virale bassa, di un campionamento al di fuori della finestra diagnostica, di un prelievo errato del tampone nasofaringeo, nonché dal basso rilascio del virus nella regione anatomica di campionamento.**

I test anticorpali, ad esempio, possono fornire dei risultati falsi negativi in caso di misurazione prematura. In questo contesto va ricordato che la valenza degli anticorpi è molto bassa nella malattia acuta da COVID-19, così come per l'escluione dellinfezione da COVID-19.

L'obiettivo di questo studio era quello di valutare l'incidenza di risultati falsi negativi nei test PCR e di sierologia negativa dopo l'infezione da COVID-19 nel Principato del Liechtenstein e in Svizzera.

In uno studio condotto a livello nazionale – che includeva tutti i casi di pazienti COVID-19 della prima ondata, nonché i loro contatti familiari e lavorativi – i pazienti che presentavano sintomi clinici di COVID-19, ma con risultato negativo al test RT-PCR, sono stati sottoposti a follow-up sierologici con sette test anticorpali.

Nello studio sono state inclusi nel complesso 85 pazienti, a cui era stato diagnosticato il COVID-19 nel Liechtenstein durante la prima ondata. Questo rappresenta circa il 90 % di tutti i casi diagnosticati nel Liechtenstein nel corso della prima ondata pandemica. Anche i soggetti sintomatici, che hanno avuto stretti contatti sia in famiglia che sul lavoro (n = 66), ma che presentavano un risultato negativo al test RT-PCR, sono stati analizzati per l'individuazione degli anticorpi e inclusi nell'analisi.

I risultati hanno mostrato che in 3 degli 85 pazienti sintomatici con test PCR positivo (4 %), nessuno dei test utilizzati è stato in grado di rilevare gli anticorpi, ciò che è stato confermato anche dopo ripetuti prelievi di sangue. Su 66 soggetti con il test iniziale PCR negativo, considerati alla stregua di «persone di contatto», 12 soggetti (18 %) presentavano un test anticorpale positivo. 4 di questi 12 soggetti presentavano, inoltre, sintomi clinici e un risultato positivo del test PCR ripetuto di nuovo dopo 5, 10, 13 e 31 giorni. È interessante osservare che i pazienti con RT-PCR positiva, ma senza risposta anticorpale, hanno avuto una durata della malattia significativamente più lunga e più sintomi clinici rispetto ai pazienti COVID-19 con anticorpi rilevabili.

In una coorte di validazione di pazienti svizzeri, che presentavano campioni clinici di routine RT-PCR con risultati sierologici disponibili, è stato possibile confermare la frequenza dei risultati RT-PCR falsi negativi, risp. dei non-responder

Main findings

- 1 paziente su 25 non sviluppa anticorpi contro il virus COVID-19.
- I pazienti affetti da COVID-19 con sierologia negativa tendono a prolungare la durata della malattia e a manifestare più sintomi.
- I test RT-PCR per il virus COVID-19 hanno una specificità molto elevata (> 99.9 %).
- Con una probabilità di pre-test del 30 %, circa il 4 % dei pazienti testati ha riportato un risultato falso negativo.

Referenze

1 Weber MC, Risch M, Thiel SL, Grossmann K, Nigg S, Wohlwend N, Lung T, Hillmann D, Ritzler M, Ferrara F, Bigler S, Egli K, Bodmer T, Imperiali M, Salimi Y, Fleisch F, Cusini A, Heer S, Renz H, Paprotny M, Kohler M, Vernazza P, Risch L, Kahlert CR. Characteristics of three different chemiluminescence assays for testing for SARS-CoV-2 antibodies. Medrxiv 2020;. 2020.11.05.20225003.

2 Schaffner A, Risch L, Weber M, Thiel S, Jüngert K, Pichler M, Wohlwend N, Hillmann D, Lung T, Ritzler M, Copeland S, Renz H, Paprotny M, Risch M. Sustained SARS-CoV-2 nucleocapsid antibody levels in nonsevere COVID-19: a population-based study. Clin Chem Lab Med 2020; doi: 10.1515/cclm-2020-1347.

Corrispondenza
Dipl. med. Myriam Weber
Ospedale pediatrico di Zurigo
myriam.weber@kispi.uzh.ch

Dr. med. Matthias Paprotny
Ospedale del Liechtenstein
matthias.paprotny@landesspital.li

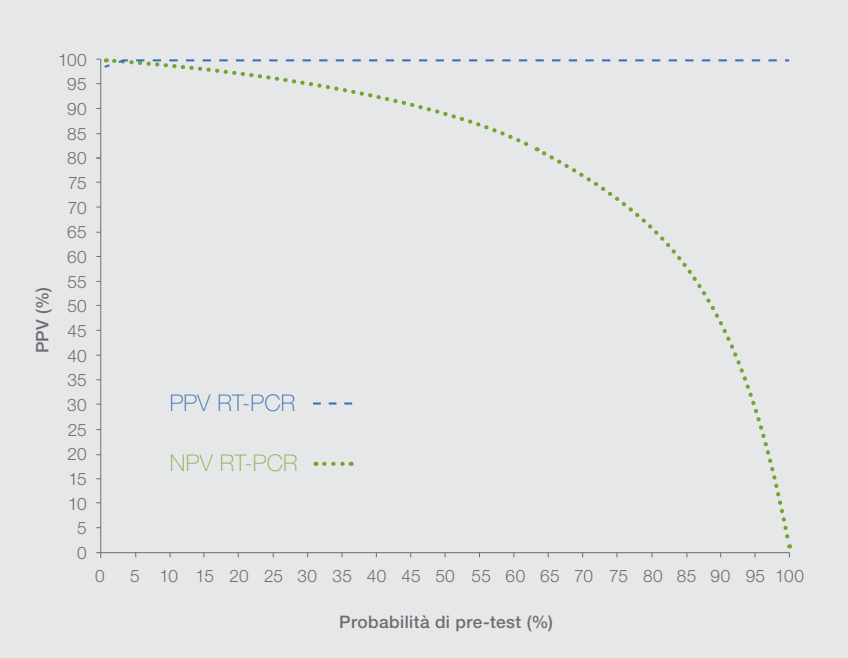


Fig. 1: Valori predittivi negativi (NPV) e positivi (PPV) per il test RT-PCR per la SARS-CoV-2 ai fini dell'individuazione e dell'esclusione dell'infezione da COVID-19.

sierologici: nel 3 % dei 66 pazienti affetti da COVID-19 non è stato rilevato alcun anticorpo in nessuno dei test sierologici eseguiti dopo almeno 3 settimane dal test PCR positivo. Una risposta anticorpale positiva confermata è stata riscontrata nel 10 % dei 155 casi di RT-PCR inizialmente negativa. Poiché i risultati delle due coorti non differiscono a livello statistico, si può ipotizzare, in un'analisi cumulativa, che il 3 % (5 / 155 pazienti) fosse un non-responder sierologico, mentre il test RT-PCR presentava un falso negativo nel 13 % ca. dei pazienti (28 / 220 pazienti). In base ai risultati interni di ca. 8000 campioni prelevati da persone sicuramente negative al virus COVID-19, sappiamo che la non specificità del test RT-PCR è pari ad almeno lo 0.1 per mille. Come illustrato nella figura 1, è possibile ottenere dei valori predittivi positivi e negativi in funzione della probabilità di pre-test. Il grafico mostra che, fino a una probabilità di pre-test del 30 %, si può ipotizzare un NPV del 95 % e oltre, fino al 20 % un NPV del 97 % e oltre, e nel 10 % un NPV del 99 % e oltre. In caso di basse probabilità di pre-test dell 1 %, il valore predittivo positivo è già del 99 % e aumenta ulteriormente con l'aumentare della probabilità di pre-test.

Conclusione: un test RT-PCR positivo indica con ogni probabilità una malattia anche nei soggetti asintomatici con bassa probabilità di pre-test. Con il test RT-PCR, su 100'000 persone sintomatiche con un'elevata probabilità di pre-test (ad es. il 30 %), si perdono ca. 3'900 persone.

Corrispondenza
MMed Rita-Christiane Baron
Clinica Waldhaus · Coira
rch.baron@gmail.com

Referenze

Baron RC, Risch L, Weber M, Thiel S, Grossmann K, Wohlwend N, Lung T, Hillmann D, Ritzler M, Bigler S, Egli K, Ferrara F, Bodmer T, Imperiali M, Heer S, Renz H, Flatz L, Kohler P, Vernazza P, Kahlert CR, Paprotny M, Risch M. Frequency of serological non-responders and false-negative RT-PCR results in SARS-CoV-2-testing: a population-based study. Clin Chem Lab Med. 2020;58:2131-2140.

Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase polymerase chain reaction-Based SARS-CoV-2-Tests by Time Since Exposure. Ann Intern Med. 2020 Aug 18;173:262-267.

Cross-immunità di SARS-CoV-2 con altri coronavirus patogeni umani

Dipl. med. Myriam Weber **Il grado di relazione genetica e di risposta immunitaria con i coronavirus patogeni umani fornisce un'immunità parziale o crociata.**

Main findings
· Esistono 7 coronavirus umani patogeni (SARS-CoV-1, SARS-CoV-2, MERS, 4 ceppi di coronavirus del comune raffreddore).
· Questi presentano una struttura simile, compresa la proteina spike.
· Gli anticorpi hanno, in particolare, un effetto neutralizzante contro la proteina spike.
· Tra i 7 coronavirus umani patogeni sono state osservate delle cross-reazioni
· Gli anticorpi a reazione crociata possono influenzare positivamente il decorso patologico.
· Non esistono prove attendibili di anticorpi cross-reattivi.

Attualmente sono sette, i coronavirus conosciuti patogeni per l'uomo: essi causano da raffreddori lievi fino a malattie respiratorie acute, quest'ultime causate principalmente dal virus SARS-CoV-1, MERS-CoV e dall'attuale SARS-CoV-2. I coronavirus meno patogeni, cioè i virus del raffreddore, sono molto comuni nei climi temperati e si chiamano OC43-CoV, HKU1-CoV, 229E-CoV e NL63-CoV [1].

Questi coronavirus geneticamente correlati vengono combattuti grazie alla risposta immunitaria, che può essere non specifica o specifica. In questa sede ci occuperemo unicamente della risposta immunitaria specifica, chiamata anche adattativa o acquisita. Da un lato le cellule T CD8+ reagiscono in modo citotossico legando i recettori delle cellule T (TCR) alla molecola MHC dell'antigene del virus, dall'altro le cellule T CD4 attivano le cellule B, che producono anticorpi specifici. I recettori TCR, inoltre, sono in grado di riconoscere oltre un milione di peptidi associati a un MHC (di cui è composto).

Questo è alla base dello sviluppo di una reazione crociata e del riconoscimento di diversi antigeni [2]. È frequente la reattività crociata dei peptidi derivanti da sequenze omologhe; si verifica tuttavia anche con sequenze non omologhe [3]. La reattività crociata TCR di peptidi della stessa lunghezza è mediata da molecole MHC di classe I, mentre le sequenze peptidiche non omologhe vengono riconosciute dal dominio di legame del recettore [1].

Per meglio comprendere i possibili bersagli del sistema immunitario, spieghiamo brevemente la struttura dei coronavirus. Le proteine spike «trimeriche» (proteine S o proteine del picco) si trovano sulla superficie del virus sferico. La proteina spike è costituita da una glicoproteina S – formata da due subunità funzionali (S1 e S2) – dal dominio di legame del recettore (RBD) e dalla proteina di fusione. Sulla superficie del virus sono presenti anche glicoproteine di membrana M e la proteina transmembrana dell'envelope (o proteina E). All'interno del virus, l'RNA virale è associato a una proteina N nucleocapside [1].

I sette coronavirus patogeni per luomo condividono una significativa omologia genetica sequenziale e, di conseguenza, anche una possibile immunità crociata [3]. Più simili tra loro i coronavirus, più è probabile che si verifichi un'immunità parziale. In particolare, le proteine S, M, E e N di SARS-CoV-1 e SARS-CoV-2 mostrano una stretta somiglianza genetica [4].

È stato dimostrato che gli anticorpi diretti contro l'antigene del nucleocapside e il dominio legante il recettore della proteina spike (RBD) sono fortemente correlati al titolo di neutralizzazione del virus. «Reazione crociata» significa che gli anticorpi contro il virus SARS-CoV-1 si attaccano all'antigene di SARS-CoV-2 e neutralizzano la propagazione del virus. Vari studi dimostrano che il plasma dei pazienti affetti da COVID-19 hanno una reazione crociata con il dominio di legame del recettore della proteina spike (RBD) di SARS-CoV-1 [5,6]. In soggetti sani, inoltre, che non sono mai entrati in contatto con il virus SARS-COV-2, ma che hanno avuto contatti pregressi con i coronavirus meno patogeni OC43-COV e NL63- COV, è stata riscontrata una risposta delle cellule T reattive SARS-COV-2 [7].

Inoltre, è stato descritto che i pazienti guariti dall'infezione SARS-CoV-1 presentano, fino a 11 anni dopo aver contratto l'infezione, una risposta immunitaria delle cellule della memoria contro le proteine S, M e N del virus [1]. Questo può comportare una risposta immunitaria a lungo termine contro le proteine virali strutturate in modo omologo [1]. È possibile che la cross-immunità abbia un effetto positivo sul decorso della malattia COVID-19, anche se difficilmente potrà prevenire l'infezione. Per poter stabilire la durata di un'ipotetica protezione parziale sarà necessario svolgere ulteriori ricerche.

L'omologia tra i virus, la risposta immunologica e la possibile immunità parziale o crociata forniscono agli scienziati la possibilità di svolgere ulteriori ricerche, in particolare sulla vaccinazione o sull'uso terapeutico degli anticorpi.

CoviLab Dr Risch

Referenze

1 Yaqinuddin A. Cross-immunity between respiratory coronaviruses may limit COVID-19-fatalities. Medical Hypotheses. 2020 Nov 1;144:110049.
2 Wooldridge L, Ekeruche-Makinde J, van den Berg HA, Skowera A, Miles JJ, Tan MP, Dolton G, Clement M, Llewellyn-Lacey S, Price DA, Peakman M, Sewell AK. A Single Autoimmune T Cell Receptor Recognizes More Than a Million Different Peptides. J Biol Chem. 2012;287:1168–77.
3 Nilges K, Höhn H, Pilch H, Neukirch C, Freitag K, Talbot PJ, Maeurer MJ. Human papillomavirus type 16 E7 peptide-directed CD8+ T cells from patients with cervical cancer are cross-reactive with the coronavirus NS2 protein. Journal of Virology. 2003;77:5464–74.
4 Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, Meng J, Zhu Z, Zhang Z, Wang J, Sheng J, Quan L, Xia Z, Tan W, Cheng G, Jiang T. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. Cell Host Microbe. 2020;27:325–8.
5 Guo L, Ren L, Yang S, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). Clin Infect Dis. 2020;71:778-785. doi:10.1093/cid/ciaa310.
6 To KK, Tsang OT, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, Yip CC, Cai JP, Chan JM, Chik TS, Lau DP, Choi CY, Chen LL, Chan WM, Chan KH, Ip JD, Ng AC, Poon RW, Luo CT, Cheng VC, Chan JF, Hung IF, Chen Z, Chen H, Yuen KY. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. Lancet Infect Dis. 2020;20:565-574. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1.
7 Ma Z, Li P, Ikram A, Pan Q. Does Cross-neutralization of SARS-CoV-2 Only Relate to High Pathogenic Coronaviruses? Trends in Immunology. 2020;41:851–3.

Corrispondenza
Dipl. med. Myriam Weber
Ospedale pediatrico di Zurigo
myriam.weber@kispi.uzh.ch

Dr. scient. med. Nadia Wohlwend, MSc · Dr. med. Martin Risch, MHA **La gestione della pandemia di COVID-19 costituisce una sfida ardua per i laboratori: è stata necessaria la messa a punto, in tempi brevi, di nuovi metodi diagnostici, ma anche di nuovi processi, nonché la concezione di nuovi test diagnostici, ciò che ha comportato l'adozione di nuove tecnologie organizzative e digitali. Riportiamo di seguito una breve rassegna.**

Definizione dei metodi: in prospettiva

La pandemia non ha tenuto in considerazione gli orari canonici dei laboratori medici. Essendo uno dei laboratori svizzeri di punta, nel febbraio del 2020 abbiamo sviluppato e potenziato le capacità analitiche, ciò che ha comportato la valutazione graduale di vari formati di test mediante RT-PCR, di test anticorpali e di test antigenici con i più diversi materiali di prelievo, nonché l'introduzione di tali test nella routine quotidiana. Un processo, che ha comportato un'approfondita verifica scientifica delle varie questioni diagnostiche, al fine di fornire le migliori diagnosi possibili.

Rete di assistenza sull'intero territorio nazionale

L'obiettivo del servizio centralizzato, garantito dalle 3 importanti unità laboratoriali di Berna, Buchs (SG) e Pregassona, è stato quello di fornire un sistema ottimale di assistenza decentralizzata per le analisi di SARS-CoV-2. Tale risultato è stato possibile grazie all'introduzione di diverse piattaforme analitiche di Roche Diagnostics, BD, Thermo Fisher, NeuMoDx, Qiagen, BioMerieux e Cepheid. Si è fatto ricorso, inoltre, a numerose soluzioni automatizzate di supporto, ad es. della ditta Hamilton. In tale contesto, vale la pena di menzionare il sostegno fornito dalle autorità, che ha avuto un impatto molto favorevole sull'attuazione dellintero processo. Grazie a questo sistema, nei periodi di punta è stato possibile aumentare le quantità di test RT-PCR a oltre 4'000 al giorno, garantendo nella maggior parte dei casi un tempo di refertazione inferiore alle 24 ore dall'ingresso dei prelievi in laboratorio, nonostante in certi giorni i tempi di attesa si fossero prolungati.

L'incremento delle capacità di test è pianificato in modo tale che, a partire dal gennaio del 2021, il gruppo CML Dr Risch è in grado di trattare fino a 10'000 campioni al giorno.

Istituzione del team COVID-19

L'incremento dei servizi ha comportato un potenziamento di personale di oltre il 30 % in tutte le unità funzionali (amministrazione, analitica, accademici, logistica, informatica). Siamo molto grati che il team abbia colto la sfida di potenziare le capacità analitiche per i test COVID-19, anche se tale sfida si è rivelata tuttaltro che facile.

Approntamento di laboratori propri

È emersa ben presto l'evidenza che il flusso di campioni e di informazioni delle nuove attività laboratoriali doveva essere organizzato parallelamente alla struttura laboratoriale già esistente, a garanzia che l'elevato volume di analisi di COVID-19 non interferisse con le altre operazioni di laboratorio. Le attività laboratoriali destinate a COVID-19 dovrebbero incidere il meno possibile sulla normale assistenza fornita ai pazienti. Questo ha comportato, ad es., l'ampliamento di un laboratorio separato, destinato alle analisi di COVID-19, nella sede di Buchs SG: il CoviLab Dr Risch.

Adozione di soluzioni informatiche proprie

Per poter adottare misure tempestive durante la pandemia, è stato importante includere i pazienti nella trasmissione dei risultati tramite SMS e per posta elettronica, conformemente ai requisiti di protezione dei dati. È stato inoltre necessario fornire le notifiche alle autorità federali e cantonali in tempi stretti e in formati speciali. Si è trattato, inoltre, di dotare le corsie di test con soluzioni informatiche che consentissero di fornire unassistenza efficiente a un numero elevato di pazienti. Questo include, ad es., l'istituzione di un portale che fornisce un supporto di informazione telefonica efficace ai pazienti, a cui è stata diagnosticata l'infezione da COVID-19.

Grazie all'adozione di tali misure sarà possibile affrontare le ulteriori sfide poste dalla seconda ondata, anche per prepararsi in modo efficace, dal punto di vista delle attività laboratoriali, ad affrontare la terza ondata pandemica.

Corrispondenza
Dr. scient. med. Nadia Wohlwend, MSc
gruppo CML Dr Risch
nadia.wohlwend@risch.ch

Dr. med. Martin Risch, MHA
gruppo CML Dr Risch
martin.risch@risch.ch

La cinetica degli anticorpi nelle infezioni da COVID-19

MMed Anna Schaffner · Dr. med. Matthias Paprotny **L'Ospedale del Liechtenstein e il Centro medicina di laboratorio Dr Risch, hanno collaborato alla conduzione di uno studio sulla cinetica degli anticorpi, e cioè le diverse fasi nella sintesi di anticorpi, dopo un'infezione da COVID-19[1]. L'obiettivo di questo studio era quello di confrontare i titoli anticorpali con i vari antigeni bersaglio in un arco temporale medio di 140 giorni. Nello studio la cinetica anticorpale è risultata diversa a dipendenza dell'antigene bersaglio, con una durata stabile del titolo anticorpale totale contro l'antigene SARS-CoV-2 N fino a cinque mesi dopo l'infezione.**

Nellambito dell'attuale pandemia COVID-19, ci si è posti il problema dei test sierologici per quanto attiene la durata della rilevazione di anticorpi e i potenziali benefici e le future applicazioni dei test anticorpali. Al momento attuale non è ancora del tutto chiaro, per quanto tempo siano rilevabili gli anticorpi contro il virus SARS-CoV-2; esistono degli studi che indicano un rapido calo dei titoli anticorpali[2]. A tale proposito, nell'agosto del 2020 è stato eseguito un nuovo test sierologico degli anticorpi sui pazienti del Principato del Liechtenstein, contagiati nella prima ondata di COVID-19 della primavera 2020.

Test sierologico degli anticorpi

La diagnostica PCR è volta all'individuazione di un'infezione acuta, mentre la misurazione di anticorpi può essere effettuata solo dopo tre o quattro settimane ca. dopo la malattia. Gli anticorpi vengono utilizzati per individuare un'infezione pregressa, eventualmente anche nei soggetti asintomatici. Esistono test per la rilevazione di diversi isotipi anticorpali (IgM, IgA, IgG), che a loro volta sono diretti contro gli antigeni bersaglio specifici, ovvero gli antigeni nucleocapsidici (antigene N) e la proteina spike (proteina S o proteina di picco).

Studio sulla cinetica degli anticorpi

Nel marzo e nell'aprile del 2020, nel Principato del Liechtenstein sono stati registrati in totale 95 casi di COVID-19 positivi alla PCR; tra questi, 82 pazienti si sono resi disponibili per due follow-up, ciò che corrisponde all'86% dei casi positivi di COVID-19. Tutti i pazienti hanno avuto un decorso patologico di grado lieve a medio e si sono presentati in media dopo 48, risp. 140 giorni dall'insorgenza dei sintomi.

Il secondo follow-up ha evidenziato una differenza significativa nella cinetica anticorpale in funzione dell'antigene bersaglio e degli isotipi anticorpali. Rispetto al primo follow-up, gli anticorpi IgG e IgA contro la proteina SARS-CoV-2 S sono diminuiti in modo significativo, come già dimostrato in uno studio del luglio 2020[1]. Non è stata tuttavia osservata una cinetica significativa, e dunque una durata stabile, degli anticorpi totali contro l'antigene SARS-CoV-2 N. Con sorpresa, è stata rilevata una riduzione significativa degli anticorpi IgG contro l'antigene N, il che fa presumere che la persistente rilevazione totale degli anticorpi contro l'antigene N sia indotta da altri isotipi anticorpali. Tale ipotesi, tuttavia, dovrebbe essere ulteriormente suffragata da studi ulteriori.

Main findings

- La cinetica anticorpale SARS-CoV-2 varia a dipendenza dell'antigene bersaglio e degli isotopi.
- Entro 5 mesi si riscontra un calo degli anticorpi IgG e IgA contro le proteine spike.
- Nell'arco di 5 mesi si riducono anche gli anticorpi IgG contro l'antigene N.
- Gli anticorpi totali contro l'antigene SARS-CoV-2 N mostrano titoli anticorpali stabili per 5 mesi.
- Il titolo anticorpale totale è più significativo, in particolare se si sospetta un'infezione pregressa da COVID-19.
- Non è ancora chiaro, se una risposta anticorpale persistente stia ad indicare un'immunità protettiva duratura o soltanto un'infezione pregressa.

La questione dell'immunità dopo l'infezione da COVID-19 e la durata dei titoli anticorpali oltre i 5 mesi dall'insorgenza dei sintomi restano tuttora da chiarire e richiedono studi ulteriori. In sintesi, il titolo anticorpale totale contro lantigene N è indicato per rilevare un'infezione da COVID-19, di grado lieve a medio, fino ad almeno 5 mesi dopo l'insorgenza dei sintomi. A nostro avviso, nella sierologia della SARS-CoV-2 si rivela particolarmente importante, in ambito epidemiologico, l'individuazione combinata di diversi isotopi immunoglobulinici (in attesa, tra l'altro, di fare chiarezza sull'immunità protettiva indotta dagli anticorpi).

Referenze

1 Schaffner A, Risch L, Weber M, Thiel S, Jüngert K, Pichler M, Wohlwend N, Hillmann D, Lung T, Ritzler M, Copeland S, Renz H, Paprotny M, Risch M. Sustained SARS-CoV-2 nucleocapsid antibody levels in nonsevere COVID-19: a population-based study. Clin Chem Lab Med 2020; doi: 10.1515/cclm-2020-1347.

2 Ibarrondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, et al. Rapid Decay of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Persons with Mild Covid-19. N Engl J Med 2020. Schaffner A, Risch L, Aeschbacher S, Risch C, Weber MC, Thiel SL, Jüngert K, Pichler M, Grossmann K, Wohlwend N, Lung T, Hillmann D, Bigler S, Bodmer T, Imperiali M, Renz H, Kohler P, Vernazza P, Kahlert CR, Twerenbold R, Paprotny M, Conen D, Risch M. Characterization of a quantitative pan-immunoglobulin assay measuring antibodies directed against the receptor binding domain of the SARS-CoV-2 spike protein in a population based setting. J Clin Med 2020; 9(12);3989.

Corrispondenza
MMed Anna Schaffner
Ospedale del Liechtenstein
anna.schaffner@landesspital.li

Dr. med. Matthias Paprotny
Ospedale del Liechtenstein
matthias.paprotny@landesspital.li

CoviSense: un algoritmo di test ortogonale per lindividuazione degli anticorpi SARS-CoV-2

Dr. med. Martin Risch, MHA **I test sierologici per l'individuazione degli anticorpi SARS-CoV-2 consentono la diagnosi di un'infezione pregressa da COVID-19. Questo può rivelarsi importante per chiarire, nell'ambito di studi epidemiologici, i casi di decorso asintomatico e di rischio patologico elevato oppure i casi clinicamente suggestivi con risultati falsi negativi di PCR.**

I test sierologici misurati con piattaforme automatizzate sensibili sono in grado di indicare un'infezione pregressa da SARS-CoV-2 con una sensibilità del 95 % ca. e una specificità superiore al 99 % [1,2]. Nonostante questo consenta di riconoscere in modo affidabile anche i decorsi asintomatici, i pazienti che presentano dei sintomi tendono ad avere titoli anticorpali più elevati [3].

Se, in caso di infezione pregressa da COVID-19, viene eseguito un unico test anticorpale in assenza o con una bassa probabilità di pre-test, i titoli anticorpali positivi possono indicare un risultato falso positivo. Questo comporta il rischio che i pazienti si sentano al sicuro e trascurino le misure di protezione, quali il distanziamento sociale, l'uso della mascherina e l'igiene delle mani.

Per questo motivo diversi enti, tra cui la Food and Drug Administration (FDA) statunitense, raccomandano di confermare i risultati positivi con un secondo test indipendente [4,5], che consente di ottenere dei risultati con un grado di certezza molto elevato, in merito all'esistenza di una malattia pregressa da COVID-19. Sin dall'inizio della pandemia, questo ha consentito di ottenere, grazie a singoli test diagnostici subottimali, delle informazioni affidabili sui pazienti sintomatici, che non hanno avuto accesso al test RT-PCR [6].

La nostra cooperativa di ricerca, che ha condotto studi propri, è riuscita a caratterizzare in modo approfondito diversi test sierologici per lindividuazione del virus SARS-CoV-2 [3-8]. I formati dei test si distinguono soprattutto per la sensibilità e la specificità e mostrano differenze significative nella cinetica dei titoli anticorpali nel periodo successivo al superamento della malattia. Siamo inoltre stati in grado di dimostrare che, anche dei valori di cut-off più bassi rispetto a quelli specificati dai produttori, che si trovano in una zona grigia, possono indicare, con un'affidabilità relativamente elevata, la presenza una malattia pregressa.

Siamo in seguito riusciti a selezionare 2 formati di test particolarmente adatti, che nei nostri grandi studi di valutazione hanno dimostrato di possedere le

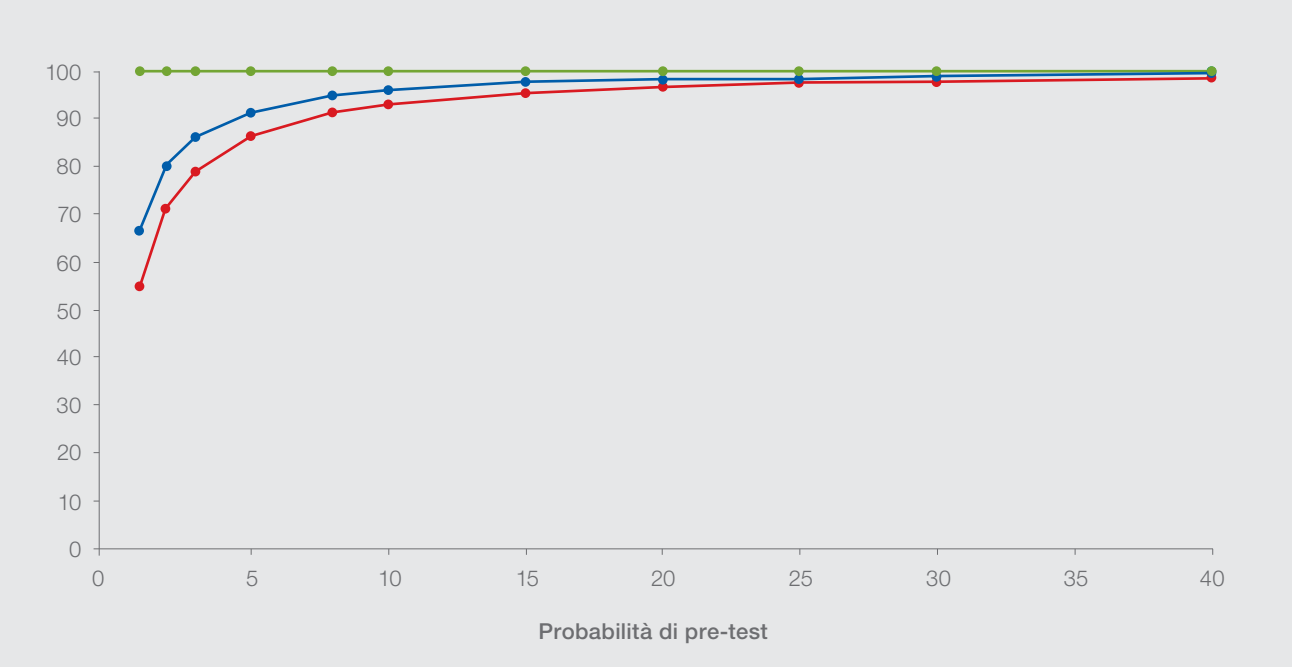


Fig. 1: Valori predittivi positivi dell'algoritmo CoviSense in funzione delle probabilità di pre-test (prevalenza) in caso di paziente asintomatico affetto da COVID-19. In rosso i valori predittivi per gli anticorpi anti-SARS-CoV-2 diretti contro l'antigene del nucleocapside, mentre in blu i valori predittivi per gli anticorpi anti-SARS-CoV-2 diretti contro il dominio di legame del recettore S1. I valori predittivi positivi dell'algoritmo CoviSense sono visibili sulla curva verde.

Main findings

- Gli anticorpi consentono l'individuazione affidabile di un'infezione pregressa da COVID-19.
- In particolare, l'algoritmo di test ortogonale rafforza la diagnosi di rilevamento di anticorpi positivi.
- L'algoritmo CoviSense consente di fornire indicazioni chiare sulla probabilità di post-test.
- Anche per i risultati del primo test, che si trovano nella zona grigia, è possible fornire una dichiarazione diagnostica con un elevato grado di certezza.

migliori proprietà diagnostiche. È stato inoltre dimostrato che, nei formati di test da noi utilizzati, gli anticorpi restano rilevabili a livello elevato per almeno sei mesi dopo l'infezione. I due test, inoltre, consentono anche la valutazione diagnostica dei risultati della zona grigia.

La combinazione dei due formati di test ha creato l'algoritmo CoviSense, che è in grado di fornire un'indicazione affidabile dei valori predittivi per i risultati positivi e negativi in base al livello del titolo anticorpale per determinate probabilità di pre-test. Questo algoritmo consente, inoltre, di valutare i risultati della zona grigia e, nella maggior parte dei casi, di attribuire un'alta probabilità di post-test. Per i titoli anticorpali positivi, inoltre, può essere fornita un'indicazione quantitativa del livello degli anticorpi diretti contro il dominio di legame del recettore della proteina spike virale (anti-SARS-CoV-2-S1-RBD). Tali anticorpi sono strettamente correlati alla capacità di neutralizzazione del siero contro SARS-CoV-2.

La fig. 1 mostra come l'algoritmo CoviSense sia in grado di modificare i valori predittivi, il risultato positivo del primo test con quello del secondo test, migliorando così in modo significativo la valenza diagnostica. I valori predittivi dipendono dai risultati dei test. L'algoritmo CoviSense può essere utilizzato anche per altre diverse combinazioni di formati di test.

Va detto infine in questa sede che il rilevamento di anticorpi specifici può solo determinare se in passato il paziente ha avuto uninfezione pregressa da COVID-19. Al momento attuale il rilevamento di anticorpi non consente di stabilire se esista un'immunità protettiva contro future infezioni.

Referenze

1 Weber MC, Risch M, Thiel SL, Grossmann K, Nigg S, Wohlwend N, Lung T, Hillmann D, Ritzler M, Ferrara F, Bigler S, Egli K, Bodmer T, Imperiali M, Salimi Y, Fleisch F, Cusini A, Heer S, Renz H, Paprotny M, Kohler M, Vernazza P, Risch L, Kahlert CR. Characteristics of three different chemiluminescence assays for testing for SARS-CoV-2-antibodies. medRxiv 2020:2020.11.05.20225003.

2 Kovac M, Risch L, Thiel S, Weber M, Grossmann K, Wohlwend N, Lung T, Hillmann D, Ritzler M, Bigler S, Ferrara F, Bodmer T, Egli K, Imperiali M, Heer S, Salimi Y, Renz H, Kohler P, Vernazza P, Kahlert CR, Paprotny M, Risch M. EDTA-Anticoagulated Whole Blood for SARS-CoV-2 Antibody Testing by Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA) and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Diagnostics 2020;10.

3 Schaffner A, Risch L, Aeschbacher S, Risch C, Weber MC, Thiel SL, Jüngert K, Pichler M, Grossmann K, Wohlwend N, Lung T, Hillmann D, Bigler S, Bodmer T, Imperiali M, Renz H, Kohler P, Vernazza P, Kahlert CR, Twerenbold R, Paprotny M, Conen D, Risch M. Characterization of a quantitative pan-immunoglobulin assay measuring antibodies directed against the receptor binding domain of the SARS-CoV-2 spike protein in a population based setting. J Clin Med 2020; 9(12);3989

4 U.S. Food and Drug Administration. EUA authorized serology test performance. . 2020. (Accessed 11.7.2020, 2020, at https://www.fda.gov/medical-devices/emergency-situations-medical-devices/eua-authorized-serology-test-performance.)

5 Centers for Disease Prevention and Control. Interim Guidelines for COVID-19-Antibody Testing., 2020. (Accessed 30.10.2020, 2020, at https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html.)

6 Risch M, Weber M, Thiel S, Grossmann K, Wohlwend N, Lung T, Hillmann D, Ritzler M, Ferrara F, Bigler S, Egli K, Bodmer T, Imperiali M, Salimi Y, Fleisch F, Cusini A, Renz H, Kohler P, Vernazza P, Kahlert CR, Paprotny M, Risch L. Temporal Course of SARS-CoV-2-Antibody Positivity in Patients with COVID-19 following the First Clinical Presentation. Biomed Res Int 2020;2020:9878453.

7 Weber MC, Risch M, Thiel SL, Grossmann K, Nigg S, Wohlwend N, Lung T, Hillmann D, Ritzler M, Ferrara F, Bigler S, Egli K, Bodmer T, Imperiali M, Salimi Y, Fleisch F, Cusini A, Heer S, Renz H, Paprotny M, Kohler M, Vernazza P, Risch L, Kahlert CR. Characteristics of three different chemiluminescence assays for testing for SARS-CoV-2 antibodies. Dis Markers; In press.

8 Schaffner A, Risch L, Weber M, Thiel S, Jüngert K, Pichler M, Wohlwend N, Hillmann D, Lung T, Ritzler M, Copeland S, Renz H, Paprotny M, Risch M. Sustained SARS-CoV-2 nucleocapsid antibody levels in nonsevere COVID-19: a population-based study. Clin Chem Lab Med 2020; doi: 10.1515/cclm-2020-1347.

Corrispondenza
Dr. med. Martin Risch, MHA
gruppo CML Dr Risch
martin.risch@risch.ch

COVID-19 e autoimmunità

Dott. med. Omar Hasan Ali · Prof. dott. med. Lukas Flatz **Come se non bastasse sviluppare polmonare acuta nei pazienti con decorso grave di COVID-19, molti pazienti ospedalizzati sono colpiti anche da trombosi. Inoltre, e paradossalmente, i corticosteroidi immunosoppressori si sono dimostrati efficaci in caso di decorso severo della malattia. Una spiegazione potrebbe essere la risposta autoimmune provocata dal virus, un tema su cui sta indagando un team internazionale del Liechtenstein e della Svizzera.**

Dopo SARS-CoV-1 e MERS, l'infezione da SARS-CoV-2 è la terza malattia grave da coronavirus che si propaga dall'animale all'uomo. Le complicanze indotte dall'infezione sono insolite per un coronavirus: oltre all'insufficienza polmonare, la trombosi si manifesta in un terzo dei pazienti ospedalizzati, nonostante la profilassi adeguata, come confermato da numerosi rapporti clinici e patologici [1]. È interessante notare come il quadro clinico sia simile a quello di una malattia autoimmune già nota a livello clinico: la sindrome da anticorpi antifosfolipidi (APS). In questo caso un agente patogeno scatena un'infezione, che induce la produzione spontanea di autoanticorpi contro le proteine della cascata di coagulazione, che favoriscono l'insorgenza della trombosi. In genere, quando si sospetta tale sindrome, il medico cerca gli anticorpi antifosfolipidi IgM e IgG (anticorpi aPL), trascurando invece gli anticorpi IgA.

Ipotesi

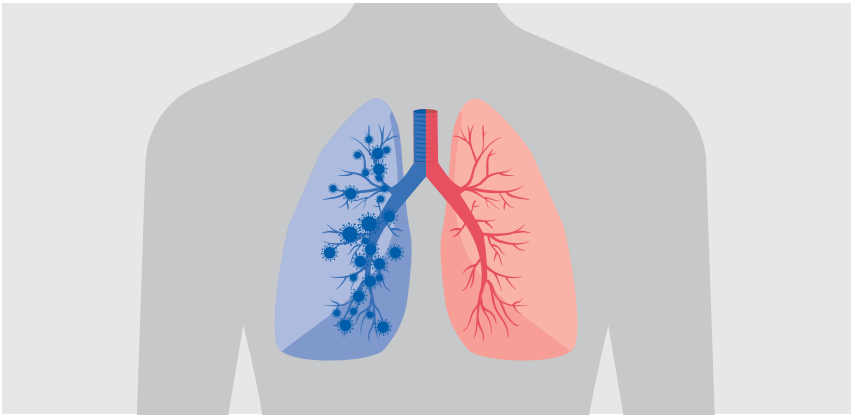
Il virus SARS-CoV-2 si trasmette principalmente tramite gli aerosol biologici e penetra nelle cellule, soprattutto del tratto respiratorio, attraverso l'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE-2). Questo induce una risposta immunitaria primaria nelle mucose, si tratta soprattutto delle immunoglobuline A (IgA). Sappiamo da altre infezioni delle vie respiratorie, che la risposta immunitaria primaria può provocare un fenomeno autoimmune: è possibile che un antigene prodotto dalla distruzione cellulare costituisca un nuovo bersaglio del sistema immunitario. Nel caso dell'APS i fattori scatenanti più comuni sono, oltre al lupus eritematoso (collagenosi autoimmune), la tubercolosi e le infezioni virali delle vie respiratorie. Quest'estate sono stati condotti diversi studi, che non hanno riscontrato la presenza di APS nei pazienti affetti da COVID-19. In questi studi sono state ricercate soprattutto le gammaglobuline IgG e IgM, ma non le IgA, nonostante svolgano un ruolo importante nella risposta immunitaria delle mucose.

Il disegno dello studio

Per studiare il ruolo delle IgA nei pazienti affetti da grave infezione da COVID-19, abbiamo realizzato – nel mese di aprile – uno studio internazionale multicentrico, in cui abbiamo analizzato retrospettivamente il sangue di 64 pazienti alla ricerca di immunoglobuline e di anticorpi aPL. A tale scopo, nello studio sono state incluse una coorte di pazienti con decorso patologico lieve e due coorti indipendenti con decorso patologico grave. La raccolta e l'analisi dei dati sono state possibili solo grazie alla collaborazione, molto rapida e professionale, del centro medicina di laboratorio Dr Risch, del Landesspital Liechtenstein (LLS), dellOspedale cantonale di San Gallo (KSSG) e dellOspedale universitario di Zurigo (USZ).

Main findings

- La gravità dell'infezione da COVID-19 è associata a livelli significativamente più elevati di IgA totali e di anticorpi antifosfolipidi IgA.
- Questa associazione non si manifesta con gli anticorpi IgG e IgM.
- Questo è indice di una forte risposta immunitaria antivirale nell'area polmonare, che si trasforma in seguito in una reazione autoimmune.
- L'aumento degli anticorpi antifosfolipidi IgA potrebbe svolgere un ruolo importante nella formazione di una trombosi nei pazienti affetti da COVID-19.



Risultati e interpretazione

Com'era prevedibile, i pazienti più anziani, e in particolare gli uomini, sono stati colpiti da decorsi patologici severi. È interessante notare che, in entrambe le coorti di pazienti gravemente ammalati, è stato osservato un aumento molto significativo degli anticorpi IgA-aPL rispetto ai pazienti con decorso lieve, indipendentemente dall'età e dal sesso. Anche le IgA totali erano aumentate in modo significativo, una differenza che non era stata riscontrata per le IgG totali, nonché per gli anticorpi delle classi IgG e IgM [2]. Si presume

Gruppi sanguigni e infezione da COVID-19

quindi che l'infezione da SARS-CoV-2 nei pazienti ad alto rischio induca una massiccia risposta antivirale a livello polmonare, che a sua volta si trasforma in una risposta autoimmune. Questo è supportato anche dal fatto che il desametasone, un immunosoppressore ad ampio spettro, offre un beneficio terapeutico significativo per i pazienti con gravi decorsi patologici[3].

Il nostro studio mostra, in modo sistematico, che la risposta autoimmune indotta da COVID-19 potrebbe esacerbare l'infezione in presenza di anticorpi antifosfolipidi. Sarà ora necessario condurre studi ulteriori per capire i meccanismi esatti e il loro effetto sulla gestione clinica dei pazienti.

Referenze

1 Klok FA, Kruip M, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers DAMPJ, Kant KM, Kaptein FHJ, van Paassen J, Stals MAM, Huisman MV, Endeman H Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. Thromb Res 2020; 191:145-7.

2 Hasan Ali O, Bomze D, Risch L, Brugger SD, Paprotny M, Weber M, Thiel S, Kern L, Albrich WC, Kohler P, Kahlert CR, Vernazza P, Bühler PK, Schüpbach RA, Gómez-Mejia A, Popa AM, Bergthaler A, Penninger JM, Flatz L Severe Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) is Associated With Elevated Serum Immunoglobulin (Ig) A and Antiphospholipid IgA Antibodies. Clin Infect Dis. 2020 Sep 30:ciaa1496.

3 RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, Linsell L, Staplin N, Brightling C, Ustianowski A, Elmahi E, Prudon B, Green C, Felton T, Chadwick D, Rege K, Fegan C, Chappell LC, Faust SN, Jaki T, Jeffery K, Montgomery A, Rowan K, Juszczak E, Baillie JK, Haynes R, Landray MJ. Dexamethasone in Hospitalized Patients with COVID-19 - Preliminary Report. N Engl J Med. 2020 Jul 17:NEJMoa2021436. PMID: 32678530.

Corrispondenza

Dott. med. Omar Hasan Ali
Laboratorio Penninger della University of British Columbia, Vancouver, Canada
omar.hasanali@kssg.ch

Prof. dott. med. Lukas Flatz
Ospedale cantonale, San Gallo &
Clinica dermatologica universitaria, Tubinga
lukas.flatz@kssg.ch

Prof. Dr. rer. nat. Christoph Gassner **Esistono differenze significative nel comportamento patologico dei pazienti affetti dalla sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 (SARS-CoV-2), il virus che causa l'infezione da coronavirus 2019 (COVID-19). Tali differenze sono dovute all'ambiente, allo stile di vita di ciascun individuo e alla variabilità individuale dei geni. Lo studio di COVID-19 sulla genetica dei pazienti infetti è un esempio straordinario della «medicina di precisione».**

Main findings

- È stato condotto un «Genome Wide Association Study» (studio di associazione genome-wide) su 1'610 pazienti affetti da COVID-19 e decorso patologico grave dell'infezione (definito «insufficienza respiratoria») e 2'205 partecipanti di controllo.
- Sul locus 3p21.31 (rs11385942) è stato osservato il segnale di associazione tra l'infezione da COVID-19 con decorso patologico grave e il gene SLC6A20, il cui prodotto genico interagisce a livello funzionale con ACE2, il recettore di superficie per il virus SARS-CoV-2.
- Sul locus 9q34.2 (rs657152) è stato osservato il segnale di associazione tra l'infezione da COVID-19 con decorso patologico severo e il locus del gruppo sanguigno ABO. C'è un rischio più elevato di infezione da COVID-19 con decorso patologico grave per i portatori del gruppo sanguigno A (odds ratio, 1.45) e un effetto protettivo per i portatori del gruppo O (odds ratio, 0.65).

La Society of Blood Transfusion (ISBT) riconosce nel complesso 41 sistemi di gruppi sanguigni, compresi i più conosciuti ABO (ISBT 001) e Rh (ISBT 004). Tra questi sono annoverati i sistemi, ordinati cronologicamente dopo la loro scoperta, MNS (ISBT 002), P (003), Kell (006), Lewis (007) e Duffy (008) e fino al sistema più recente, MAM (041), descritto nel 2020[1].

Esistono numerose pubblicazioni, che cercano di correlare i gruppi sanguigni alle malattie. Rispetto ai pazienti del gruppo sanguigno O, le persone del gruppo A non presentano soltanto un rischio significativamente più elevato di sviluppare alcuni tipi di cancro, ma presentano anche un'alta vulnerabilità alla malaria. Ci sono inoltre dei rapporti, che hanno solide basi scientifiche, che associano il morbo di Crohn all'antigene di Lewis. Il Plasmodium vivax penetra negli eritrociti, infettando i pazienti solo in presenza di una proteina chiamata Duffy, il parvovirus B19 si attacca solo alle cellule epiteliali portatrici degli antigeni del gruppo sanguigno P e lantigene del gruppo sanguigno ad alta frequenza AnWJ è il recettore dell'Haemophilus influenzae.

A metà ottobre del 2020, utilizzando i termini di ricerca «COVID-19 e ABO», sono state trovate 70 pubblicazioni su PubMed e 103 risultati sul server medRXiv per i prestampa. Già allinizio di marzo del 2020, studi non genetici provenienti dalla Cina avevano messo in evidenza il coinvolgimento dei gruppi sanguigni ABO nella vulnerabilità all'infezione da COVID-19[2]. Praticamente in concomitanza, una donazione spontanea di denaro da parte del norvegese Stein Erik Hagen ha consentito ai ricercatori dell'Università Christian-Albrechts di Kiel, dellOspedale universitario Rikshospitalet di Oslo, di numerose altre istituzioni e, tra gli altri all'autore del presente contributo, di condurre un «Genome Wide Association Study» (studio di associazione genome-wide, GWAS). I risultati sono stati pubblicati a metà giugno sul New England Journal of Medicine[3]. Negli

epicentri italiani e spagnoli della pandemia da SARS-CoV-2, 1'610 pazienti affetti da COVID-19 con decorso patologico grave (definito con «insufficienza respiratoria») sono stati selezionati insieme a 2205 soggetti di controllo e ognuno di loro è stato comparato con oltre 8 milioni di marcatori genetici cromosomici. Sul locus 3p21.31 (rs11385942) e 9q34.2 (rs657152) sono state individuate associazioni genomiche di COVID-19 con decorso patologico severo. Talvolta, il segnale sul cromosoma 3 è indicativo del gene SLC6A20, il cui prodotto genico SIT1 interagisce a livello funzionale con ACE2, il recettore di superficie per il virus SARS-CoV-2.

Il segnale su 9q34.2 coincideva con il locus del gruppo sanguigno ABO e l'analisi genetica mostrava un rischio più elevato di COVID-19 con decorso patologico grave per i portatori del gruppo sanguigno A (odds ratio, 1.45; 95 % CI, 1.20 a 1.75; $P = 1.48 \times 10\text{-}4$) e un effetto protettivo per i portatori del gruppo sanguigno O (Odds Ratio, 0.65; 95 % CI, 0.53 bis 0.79; $P = 1.06 \times 10\text{-}5$). I meccanismi biologici alla base di tali risultati possono essere correlati al gruppo ABO in quanto tale (ad es. gli anticorpi neutralizzanti le proteine di superficie del SARS-CoV-2) oppure ad altri effetti biologici, tra cui la riduzione del 25 % del fattore von Willebrand nei pazienti con gruppo sanguigno O [4]. Al momento, non è ancora chiaro quale sia l'effetto evolutivo sull'infezione da COVID-19 del gruppo sanguigno B e – in linea di principio – anche di altri sistemi sanguigni, ad es. del sistema Rh. Tenuta in debita considerazione la distribuzione dei vari gruppi sanguigni del sistema ABO nei diversi gruppi etnici, l'associazione osservata può influenzare fortemente la cinetica della pandemia.

Per concludere, un aneddoto per descrivere le osservazioni formulate: l'autore del presente articolo ha incontrato una coppia di coniugi del Vorarlberg durante un'escursione in bicicletta, entrambi di ca. 60 anni. Il marito, contagiato in marzo dall'infezione da SARS-CoV-2 durante la pratica dello sci, ha perso 14 chili di peso, accusando stanchezza e spossatezza per molte settimane. La moglie invece, che viveva sotto lo stesso tesso, non è stata contagiata. Ho chiesto a entrambi il gruppo sanguigno: lui ha risposto «A positivo» e lei «O positivo».

Referenze

1 Thornton N, Karamatic Crew V, Tilley L et al. Disruption of the tumour-associated EMP3 enhances erythroid proliferation and causes the MAM-negative phenotype. Nat Commun. 2020 Jul 16;11(1):3569. doi: 10.1038/s41467-020-17060-4.

2 Li J, Wang X, Chen J et al. Association between ABO blood groups and risk of SARS-CoV-2 pneumonia. Br J Haematol. 2020 Jul;190(1):24-27. doi: 10.1111/bjh.16797.

3 Ellinghaus D, Degenhardt F, Bujanda L et al. Genomewide Association Study of Severe Covid-19 with Respiratory Failure. N Engl J Med. 2020 Jun 17:NEJMoa2020283. doi: 10.1056/NEJMoa2020283.

4 Franchini M, Crestani S, Frattini F et al. ABO blood group and von Willebrand factor: biological implications. Clin Chem Lab Med. 2014 Sep;52(9):1273-6. doi: 10.1515/cclm-2014-0564.

Corrispondenza
Prof. Dr. rer. nat. Christoph Gassner
Università privata del Liechtenstein
christoph.gassner@ufl.li

Fornire un’assistenza efficace ai pazienti grazie al supporto informatico in un centro di test COVID-19

Michael Stettler **Nella primavera del 2020, le condizioni dettate dalla prima ondata di infezione da COVID-19 hanno indotto uno studio medico di gruppo a prendere molte decisioni e ad adottare molti processi nel rispetto delle norme ufficiali e sulla base dei processi esistenti. L’annuncio della strategia di test globale, adottata dal Consiglio federale il 24 giugno 2020 sull’intero territorio nazionale, ha consentito di prepararsi in modo specifico per far fronte alla seconda ondata ed è stata utilizzata da Localmed Biel AG per ottimizzare i processi. Il CML Dr Risch ha fornito un prezioso contributo a tale processo, mettendo a punto una soluzione per la trasmissione automatica dei risultati dei test e il riepilogo dei risultati disponibili.**

La ripetuta modifica delle direttive dei processi durante la prima ondata della pandemia COVID-19 ha messo in difficoltà i fornitori di prestazioni dell’assistenza sanitaria ambulatoriale di base. Le informazioni hanno dovuto essere presentate in modo pertinente e le misure igieniche di protezione hanno dovuto essere costantemente incrementate. Oltre alle preoccupazioni per la salute dei collaboratori, il divieto delle consultazioni facoltative ha creato molta incertezza economica.

Ma una crisi offre sempre delle opportunità: grazie a un team impegnato, in particolare agli assistenti di studio medico, è stato possibile un ampliamento costante, in termini di spazi, dell’offerta dei servizi di test e di cura per i pazienti dello studio medico di gruppo, e in seguito per l’intera regione. Nel corso degli interventi prestati nei fine settimana, le strutture dello studio medico di gruppo sono state adattate alle nuove condizioni quadro e, in mancanza di alternative migliori, è stata istituita nella regione un’area separata per i test PCR e per le consultazioni mediche per i casi sospetti di COVID. In questa prima fase della pandemia, la prontezza operativa del team è stata eccezionale e ha potuto fungere da base oltremodo positiva.

All’inizio, tuttavia, molti processi si basavano sulle cure prestate ai singoli pazienti e sul trattamento dei singoli casi clinici che, secondo la strategia di test adottata dal Consiglio federale nella primavera del 2020, costituivano anche la maggior parte dei soggetti testati. Già a partire dall’estate, tuttavia, l’efficacia di tali processi si è rivelata insufficiente per attuare la strategia di test a livello nazionale.

I mesi estivi, relativamente tranquilli, sono stati utilizzati per adattare in modo adeguato i processi di test dei casi sospetti di COVID-19. L’obiettivo principale era quello di alleviare i team degli assistenti di studio medico, le cui risorse venivano impiegate per fissare gli appuntamenti, per registrare le voci amministrative, per trasmettere le richieste di analisi di laboratorio e i risultati dei test, nonché per fatturare le prestazioni. Tutti processi di lavoro che, con il numero crescente di tamponi rinofaringei, erano aumentati a dismisura, ma che presentavano un grande potenziale di digitalizzazione. La ricerca di un partner che potesse aiutare a digitalizzare tutti i processi – idealmente entro 2 mesi – è stata purtroppo un’impresa senza speranza.

Il CML Dr Risch ha tuttavia consentito lo sviluppo di una soluzione per tutti i processi di ordinazione e di trasmissione, ciò che ha creato un notevole sollievo al team degli assistenti di studio medico. Grazie al formulario d’iscrizione online, sviluppato con un altro partner, è stato possibile registrare e verificare il numero di cellulare e l’indirizzo di posta elettronica secondo le norme sulla protezione dei dati. Ora tali dati sono stati aggiunti al formulario LabOrder esistente. In seguito, il CML Dr Risch ha attivato direttamente un’e-mail per la trasmissione dei risultati non appena questultimi erano disponibili, risultati che potevano essere consultati in un doppio processo di login mediante un’autenticazione unica da parte dei pazienti direttamente tramite e-mail e con l’invio di una password tramite SMS.

Il personale di assistenza dello studio medico, che in precedenza era tenuto a trasmettere ogni referto per telefono, ha potuto così concentrarsi sull’istruzione dei pazienti risultati positivi al test. A tale scopo, il CML Dr Risch ha predisposto una piattaforma (vedi figura 1), che si avvale di un semplice linguaggio gestuale per indicare i pazienti da contattare e consente una gestione semplice dei casi. Nelle ultime settimane il centro di test ha registrato un vertiginoso aumento del numero di casi. Grazie alla soluzione già approntata dal gruppo CML Dr Risch, è stato possibile mantenere in qualunque momento la qualità e il coordinamento dei processi.

Corrispondenza
Michael Stettler · Localmed Biel SA
michael.stettler@szb-chb.ch

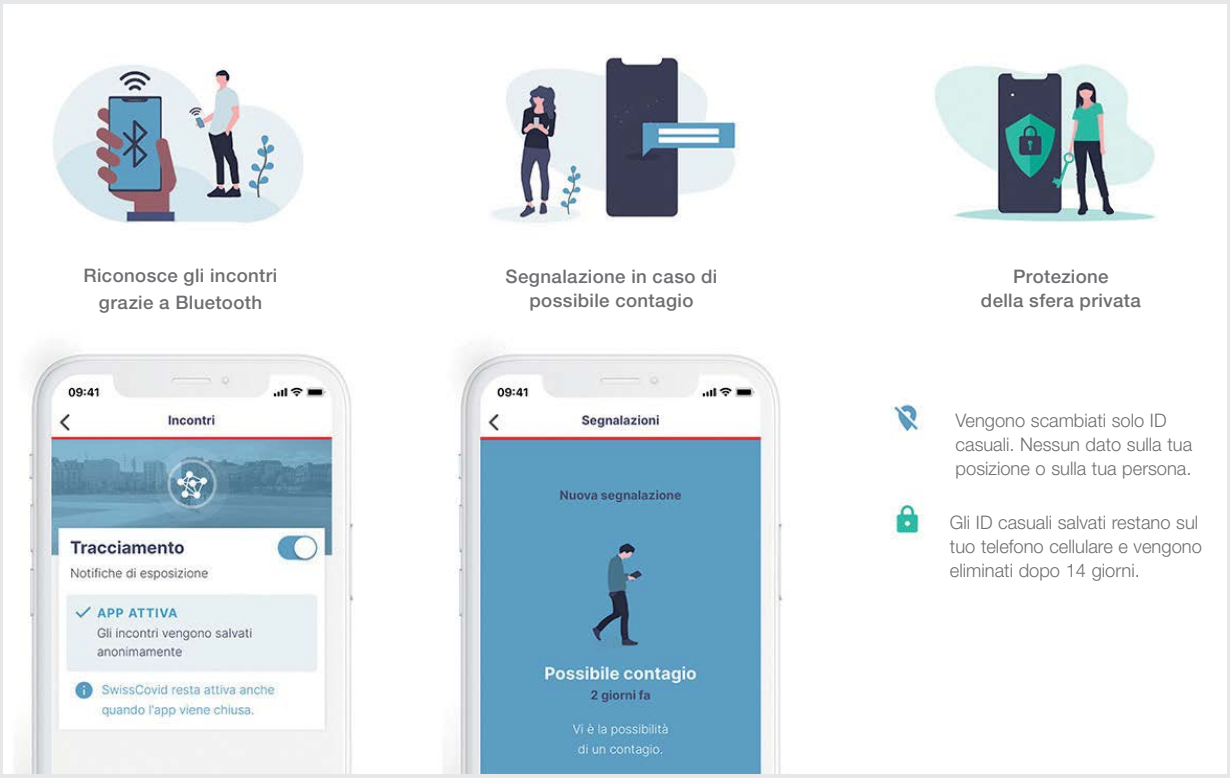
Riepilogo dei risultati del test PCR per COVID-19

Stato del referto	Materiale MB	Cognome	Nome	Data di nascita	Sesso	Medico prescrivente	Data del referto	Data del prelievo	Provenienza del referto
Referto finale	Tampone rinofaringeo				Maschio	Centro test coronavirus	ieri 21:28	30.10.2020 14:36	CML
Referto finale	Tampone rinofaringeo				Maschio	Centro test coronavirus	ieri 21:28	30.10.2020 14:55	CML
Referto finale	Tampone rinofaringeo				Femmina	Centro test coronavirus	ieri 19:00	30.10.2020 11:27	CML

Tracciamento digitale dei contatti tramite l'app SwissCOVID

Prof. Dr. sc. ETH Mathias Payer **La rapida diffusione del virus COVID-19 ha spinto il classico tracciamento dei contatti ai suoi limiti. Grazie al tracciamento digitale dei contatti tramite l'app SwissCOVID, ad esempio, è possibile completare la localizzazione dei contatti classica: da un lato vengono registrati i contatti che altrimenti andrebbero persi e dall'altro i contatti vengono avvertiti con celerità. È così possibile contenere il virus proteggendo la sfera privata dei singoli utenti.**

Tracciamento digitale App SwissCOVID



Il tracciamento dei contatti

Un tracciamento dei contatti efficace è essenziale nella lotta contro il virus COVID-19, poiché i pazienti affetti da tale infezione sono contagiosi per diversi giorni prima che si manifestino i sintomi. La Svizzera segue la cosiddetta strategia TTIQ:

- **TEST:** i pazienti vengono sottoposti a test approfonditi.
- **TRACCIAMENTO:** ha luogo il tracciamento dei contatti dei pazienti risultati positivi al test.
- **ISOLAMENTO:** i pazienti positivi al COVID-19 vengono isolati
- **QUARANTENA:** le persone che hanno avuto contatto con i pazienti risultati positivi al COVID-19 devono andare in quarantena.

Il tracciamento classico dei contatti, purtroppo, ha i suoi limiti: si perdono, ad es., i contatti casuali con il vicino sui mezzi di trasporto pubblico o al ristorante. La tracciatura digitale rileva tali contatti e completa la tracciatura classica, avvisando tali contatti in tempi brevi.

Tracciamento digitale dei contatti con la protezione della sfera privata

Nel mese di marzo abbiamo avviato un progetto di tracciamento digitale dei contatti presso il Politecnico di Losanna, che si avvale del Bluetooth per tenere traccia dei contatti, pur tutelando la sfera privata. Ben presto il nostro team è stato affiancato

Main findings

- Il tracciamento digitale dei contatti integra il metodo di tracciamento tradizionale e costituisce una parte importante della strategia svizzera TTIQ.
- L'app consente di registrare i contatti non sociali e di avvisare in modo rapido tutti i contatti.
- I primi studi dimostrano che l'app funziona e che i contatti esposti al rischio vengono avvertiti in modo efficace.

da un folto gruppo di ricercatori provenienti da tutta Europa e il 3 aprile siamo stati in grado di presentare il protocollo DP3T (Digital Privacy-Preserving Proximity Tracing). Molte delle nostre idee sono state riprese da Apple e da Google e inserite in un'interfaccia per il rilevamento digitale dei contatti in iOS e Android. Tale interfaccia funge ora da base per la maggior parte delle applicazioni COVID-19. **Il protocollo funziona nel modo seguente:**

1. **Advertisement:** ogni telefono cellulare partecipante genera ogni giorno degli ID casuali che vengono inviati tramite Bluetooth nell'ambiente circostante. L'ID inviato cambia al più tardi ogni 15 minuti per proteggere l'utente da eventuali intercettazioni.
2. **Ricezione:** Jogni cellulare riceve gli ID trasmessi nelle vicinanze e li memorizza a livello locale. Gli ID ricevuti sono anonimi, impedendo così di risalire ai singoli utenti.
3. **Diagnosi positiva:** dopo un test COVID-19 positivo, l'utente riceve – su richiesta – un codice unico, che gli consente di mettere i propri ID a disposizione di tutti gli altri utenti
4. Ogni telefono cellulare verifica se ha avuto luogo un contatto utilizzando gli ID memorizzati a livello locale e le liste di contatto pubblicate. In caso affermativo, viene visualizzato un avviso con il numero di telefono della hotline.

Poiché il tracciamento digitale dei contatti e il calcolo dei rischi ha luogo esclusivamente a livello locale, la sfera privata degli utenti è tutelata al massimo e sia i dati personali, che i dati di localizzazione non sono accessibili. Ogni utente decide se condividere i dati dopo un test positivo o in che modo reagire ad una comunicazione di contatto.

Le esperienze con SwissCOVID

Grazie alla collaborazione di diversi membri del nostro team con la task force COVID Svizzera, l'app SwissCOVID ha potuto essere sviluppata in tempi brevi. Il 10 aprile abbiamo iniziato con i primi test reali dell'app ed entro la metà di maggio abbiamo sviluppato una prima versione stabile, che abbiamo testato su larga scala. Il 27 maggio siamo passati a un grande beta privato e il 26 giugno l'app SwissCOVID è stata pubblicata.

Entro il 10 settembre l'app SwissCOVID è stata scaricata 2.36 milioni di volte con 1.62 milioni di utenti attivi (il 18.9 % della popolazione svizzera). Tra il 23 luglio e il 10 di settembre sono stati condivisi i dati di 1'645 utenti risultati positivi (il 13.2 % di tutti gli utenti positivi). A causa del protocollo decentralizzato, il numero esatto degli avvisi visualizzati non è noto, ma la hotline ha registrato 1'695 chiamate di avviso. Tali cifre dimostrano che l'app funziona e che i contatti vengono avvertiti in modo rapido e affidabile. Con un più ampio sostegno da parte della popolazione, l'utilità dellapp continuerà a crescere.

Referenze

Salathé M, Althaus CL, Anderegg N, Antonioli D, Ballouz T, Bugnion E, čapkun S, Jackson D, Kim S-I, Larus JR, Low N, Lueks W, Menges D, Moullet C, Payer M, Riou J, Stadler T, Troncoso C, Vayena E, von Wyl V. Early Evidence of Effectiveness of Digital Contact Tracing for SARS-CoV-2 in Switzerland. medRxiv 2020:2020.09.07.20189274.

Troncoso C, Payer M, Hubaux JP, Salathé M, Larus J, Bugnion E, Lueks W, Stadler T, Pyrgelis A, Antonioli D, Barman L, Chatel S, Paterson K, čapkun S, Basin D, Beutel J, Jackson D, Roeschlin M, Leu P, Preneel B, Smart N, Abidin A, Gürses S, Veale M, Cremers C, Backes M, Tippenhauer NO, Binns R, Cattuto C, Barrat A, Fiore D, Barbosa M, Oliveira R, Pereira P. Decentralized Privacy-Preserving Proximity Tracing. 2020; arXiv:2005.12273.

I dati sempre aggiornati sul COVID-19
https://www.covid19.admin.ch/it/overview
Informazioni dell'UFSP sull'applicazione SwissCOVID
https://bag-coronavirus.ch/swisscovid-app/

Corrispondenza
Prof. Dr. sc. ETH Mathias Payer
Politecnico federale di Losanna
mathias.payer@epfl.ch
@gannimo su Twitter

Il tracciamento dei contatti nel Liechtenstein

Manuel Hug ha parlato con la Dr. med. Silvia Dehler, MPH **Il lavoro del medico ufficiale del Principato del Liechtenstein, Silvia Dehler, e del suo team di tracciamento dei contatti inizia non appena il lavoro del gruppo CML Dr Risch è terminato. Non appena i casi di pazienti positivi vengono rilevati in laboratorio, l'informazione viene trasmessa all'ufficio della sanità pubblica. Poco dopo il paziente infetto riceve la prima telefonata da una collaboratrice o un collaboratore del servizio di contact tracing. Lo scambio telefonico giornaliero ha luogo fino al termine del periodo di isolamento. Nell'intervista concessa a Riport, Silvia Dehler illustra il lavoro quotidiano e le esperienze fatte negli ultimi mesi.**

Riport Manuel Hug
Per cominciare, una domanda personale: come vive la situazione attuale, in cui il contact tracing ha ormai raggiunto i suoi limiti?

Dr. med. Silvia Dehler:
Sono l'unico medico specialista in servizio e perciò sono fortemente sollecitata, ma ricevo un grande supporto, perché lavoriamo in team. Questo mi dà la forza di guardare avanti in questi tempi difficili.

Quante persone sono attive sul campo?

All'inizio del servizio di contact tracing il team era composto da 19 persone. Ora il team è in crescita costante, spesso si iscrivono nuove persone e questo ci riempie di gratitudine.

Chi sono i collaboratori del contact tracing del Principato del Liechtenstein e quali sono le loro competenze?

Allinizio della pandemia si trattava soprattutto del team di unità di crisi del paese. Il team è composto da persone che forniscono il loro aiuto, ad es., qualora si verifichi un incidente e le persone coinvolte abbiano bisogno di assistenza. I collaboratori del contact tracing devono essere in grado di rispondere alle esigenze della gente, devono sviluppare velocemente un feeling verso l'altra persona, ma non hanno seguito una formazione apposita per il servizio di contact tracing. Spesso hanno un background professionale nel lavoro sociale, sono collaboratori di Spitex, hanno esperienza di coaching o lavorano come terapisti. Si tratta perlopiù di lavoratori indipendenti o di impiegati a tempo parziale.

Come scoprono, i collaboratori del contac tracing, dove si è infettato un paziente?

Svolgendo un'indagine accurata e abile. All'inizio della pandemia era tutto molto più semplice: se qualcuno rientrava da un'area a rischio, ad es. la Spagna, la fonte di contagio era abbastanza ovvia. Nel frattempo tutto è diventato più complesso, anche se di solito riusciamo a scoprire la causa di contagio. Talvolta è riconducibile a un matrimonio, alla visita ad un club o a un festeggiamento. Nuovi casi si registrano anche grazie all'applicazione SwissCOVID.

Quali sono i luoghi di contagio più frequenti?

Il contagio si manifesta sempre dove non viene mantenuto il distanziamento sociale. Spesso, sul posto di lavoro viene adottato un piano di protezione, che però viene rispettato soprattutto durante l'esercizio della professione. Non appena arriva la pausa, si sta seduti vicini in caffetteria, oppure si usa un'auto in comune per recarsi a pranzo. Mi viene in mente un caso: diverse persone si sono contagiate recandosi presso un cliente con la stessa macchina. In autunno ci sono stati diversi casi di contagio per aver partecipato a una festa o per essere andati al ristorante in compagnia. A questo si aggiungono vari luoghi di contagio, ad es. un viaggio in automobile, durante il quale nessuno indossa la mascherina.

Vi rivolgete a tutti i pazienti oppure i pazienti vi contattano anche di loro iniziativa?

I risultati di laboratorio del gruppo CML Dr Risch arrivano 24 ore su 24. Ogni paziente positivo viene assegnato a un collaboratore del contact tracing, che lo contatta il giorno stesso. Può anche succedere che dei pazienti positivi ci contattino, ma la maggior parte delle volte siamo più veloci di loro. L'eccezione è costituita da persone che eseguono il test all'estero. Non sempre questi risultati ci arrivano, quindi è utile che i pazienti ci contattino di propria iniziativa.

«I risultati di laboratorio arrivano 24 ore su 24. I pazienti positivi vengono contattati il giorno stesso.»

«Quanto si interrogano i pazienti, molti ammettono di aver avuto un leggero raschio in gola. Tutti sintomi che, spesso, vengono sottovalutati. »

È possibile rifiutarsi di fornire i propri dati personali? Per questioni di sfera privata ad esempio?
No, perché l'infezione da COVID-19 è soggetta a notifica. I cittadini, tuttavia, devono sapere che tutti i collaboratori del contact tracing sono tenuti al segreto professionale. I dati di contatto non vengono trasmessi a terzi, nemmeno ad altre autorità o ad altri uffici pubblici.

Come vi comportate nei confronti degli scettici del coronavirus?
Con i pazienti positivi non abbiamo avuto questi problemi, tuttavia è capitato che alcune persone di contatto non abbiano collaborato. In questo caso cerchiamo di convincerle. Poiché sia la quarantena che l'isolamento sono imposti dalle autorità, è possibile comminare una pena pecuniaria, in un caso abbiamo dovuto sporgere denuncia. Ma si tratta di casi rari, i cittadini di questo paese sono molto collaborativi.

Siete in grado di fornire dati demografici per i casi di COVID-19?
Allinizio della seconda ondata – alla fine dell'estate – si sono ammalati alcuni giovani di età intorno ai 20 anni. Nel frattempo sono state colpite tutte le fasce detà, dagli adulti agli anziani. Anche tra i bambini e gli adolescenti si sono verificati dei casi di infezione: il virus è entrato negli asili, nelle scuole, nelle case per anziani e di cura.

Quando vengono ricoverati i pazienti? Chi decide quando è opportuno farlo?
I collaboratori del contac tracing telefonano tutti i giorni alle persone in isolamento. Non appena la situazione di un paziente si aggrava, mi contattano e il paziente viene mandato in clinica o all'ospedale per un accertamento. I medici curanti o quelli ospedalieri dispongono dell'esperienza e del know-how necessari per decidere la procedura da adottare.

Quanti pazienti hanno dovuto essere ricoverati in ospedale?
Con l'aumento del numero di casi è aumentato anche il numero dei ricoveri ospedalieri. Purtroppo abbiamo avuto anche dei casi di decesso.

Grazie al contatto quotidiano siete sempre informati. Quante persone in isolamento manifestano dei sintomi?
Poiché il test viene raccomandato solo in presenza dei sintomi, la maggior parte dei pazienti testati è positivo. Ci sono tuttavia dei casi, ad esempio tra gli atleti professionisti, che devono sottoporsi al test per adempiere a determinati requisiti e che poi risultano positivi pur essendo asintomatici. Quando alla fine il paziente viene interrogato, afferma di aver avuto un leggero raschio in gola. Questi sintomi vengono spesso sottovalutati.

Che esperienze fanno i collaboratori del servizio di contact tracing?
I collaboratori del contact tracing fanno delle esperienze molto personalizzate, poiché ognuno si occupa di un paziente dall'inizio alla fine della malattia. Nasce spesso una specie di relazione. Proprio qui nel Liechtenstein si passa velocemente al «tu», forse ci si conosce già. Riceviamo spesso dei buoni feedback. Alla fine diamo l'ordine formale di fine isolamento o di fine quarantena, ciò che spesso comporta la scrittura di mail di ringraziamento e, occasionalmente, anche l'invio di fiori. La nostra esperienze è stata molto positiva e vogliamo proseguire con il contact tracing, anche se non sappiamo bene cosa potremo aspettarci.

In merito alla persona

Dal mese di aprile del 2020, il dr. med. Silvia Dehler esercita la funzione di responsabile della salute pubblica del Liechtenstein. Il suo lavoro contempla anche la direzione del team di contact tracing. In un primo tempo ha svolto da sola tutte le attività di contact tracing. Nel frattempo gestisce un team composto da oltre 30, tra collaboratrici e collaboratori, e accompagna numerosi cittadini del Liechtenstein nel decorso della malattia da coronavirus.

Corrispondenza
Dr. med. Siliva Dehler, MPH
Medico ufficiale del Principato del Liechtenstein
silvia.dehler@llv.li

Manuel Hug
Corporate Communications Manager
gruppo CML Dr Risch
manuel.hug@risch.ch

Safe-Mountain e Safe-Jazzhaus: procedure per l'allestimento in sicurezza di eventi culturali e manifestazioni sportive durante la pandemia di COVID-19

Prof. Dr. med. Joachim E. Fischer, MSc **La seconda ondata di COVID-19 impone alla politica l'adozione di una «strategia invece della pandemia». Ma come può, una tale strategia – frutto della combinazione di provvedimenti, inclusa l'effettuazione di test ripetuti e mirati per i lavoratori dipendenti asintomatici – contribuire al contenimento della pandemia in una determinata regione? E qual è il ruolo delle misure introdotte per i comprensori sciistici o per gli eventi culturali?**

Main findings

- Safe-Mountain è un piano che abbina efficaci misure di sanità pubblica a strategie di test mirate in funzione del livello di rischio per interrompere la catena di trasmissione del contagio.
- Safe-Mountain prende atto del fatto che in questo periodo non tutti possono o vogliono comportarsi in maniera ragionevole e ne tiene conto nell'ottica dell'elaborazione di un piano globale di sanità pubblica che sia realistico.

Questi non sono certo tempi facili per i politici. I comprensori sciistici devono rimanere aperti nel periodo natalizio? Possono continuare a svolgersi, gli eventi culturali? Virologi e scienziati se la passano decisamente meglio. Nel frattempo, hanno imparato molto sull'elevata efficacia delle mascherine [1]. Sanno quanto sia relativa la «distanza di sicurezza» di 1.5 metri [2]. Conoscono i motivi per cui negli studi clinici i test rapidi mostrano una sensibilità di oltre il 90 %, mentre nella realtà spesso si lasciano sfuggire un contagiato su due [3, 4]. Va detto che anche i medici di laboratorio non hanno reso più semplice alla politica il compito di lanciare strategie di test efficaci attraverso le autorità sanitarie. La diagnostica in grande stile impone la creazione di competenze in tempi rapidi, con tutt'altre risorse e procedure rispetto agli scarsi test estivi effettuati nella speranza che il COVID-19 sparisse in fretta dalla circolazione. Non siamo bravi quanto i cinesi, che sono in grado di costruire un megaospedale a Wuhan in soli 10 giorni. Ora ci ritroviamo con cifre di contagio tra la popolazione, che fanno sembrare positiva perfino la situazione negli USA. Ora il virus circola ovunque, in ogni singolo villaggio. E chi lascia salire sulle vette 10'000 sciatori, sa bene che tra questi ci saranno almeno 100 contagiati asintomatici, che si sentono bene e non sanno di essere dei potenziali cannoni virali tra la folla di sciatori, diffondendo il contagio esattamente come i cannoni di innevamento sparano in giro la neve [5]. Con questi super «infettatori» non basta più neppure stare all'aria fresca.

Cosa fare quindi? Un timido tentativo di lockdown e una nuova vampata di COVID-19, come gli incendi di quest'anno nel bush australiano? Chiusura totale come in Nuova Zelanda? Purtroppo la Svizzera non è circondata dall'acqua ma da frontiere aperte [6]. Riteniamo che test strategici e un'apertura mirata in un'ottica regionale possano rappresentare una possibile soluzione basata sulle seguenti premesse realistiche: dopo mesi di clausura forzata tutti vogliono uscire di nuovo – e se a Zurigo il sole è coperto da una fitta coltre di nebbia, andranno tutti in montagna – indipendentemente da quanti sciatori siano autorizzati a farlo secondo il Consiglio federale. Perlomeno tutti quelli che possiedono una casa di vacanza a Lenzerheide, Arosa, Davos o Flims. La questione è quindi come saranno aperte ai visitatori queste esperienze di libertà ancora «in fase di definizione», che al tempo stesso rinnovano la speranza di un ritorno alla normalità. Pensiamo debba trattarsi di un'efficiente combinazione tra misure tecniche, organizzative e personali e un'offerta di test su larga scala [6-8]. Riteniamo, inoltre, che non si possa fare affidamento sulla ragionevolezza di tutti. Ci sarà almeno un 5 %, o più probabilmente un 20 %, di popolazione che, in un modo o nell'altro, si farà beffe di direttive sanitarie sensate, che negherà l'esistenza del Coronavirus e si preoccuperà soltanto del proprio tornaconto personale. Una volta il controllo sociale esercitato dalla comunità di appartenenza fungeva da freno per questi soggetti. Oggi – nell'era di Instagram, Tinder, TikTok e WhatsApp – funziona tutto in modo diverso.

Che fare dunque? Iniziamo dai test: l'attuale procedura del tampone rinofaringeo con test RT-PCR va ben oltre la semplice sfida nellambito della medicina di laboratorio. Per effettuare il prelievo serve personale medico equipaggiato con le tute di protezione. La procedura comporta sempre una certa percentuale di rischio di lesione della mucosa nasale e chi decide di sottoporsi volontariamente a una tale procedura lo fa solo dietro compenso degno di una star del calcio [9]. Ma oggi sappiamo che il risultato negativo del test vale solo per un giorno, al massimo per 24 ore. Infatti, nell'arco di 24 ore il virus si moltiplica di diecimila volte, se non interviene il sistema immunitario. Rientra dunque perfettamente nella logica il fatto che, a settembre, a bordo del volo Emirates EK448 diretto in Nuova Zelanda una coppia svizzera sia riuscita a contagiare altri 4 passeggeri, sebbene fosse risultata negativa al test RT-PCR solo 3 giorni prima della partenza. Il tampone vale solo per 24 ore [10-12]. E basta. A rigor di logica tutti dovrebbero sottoporsi al tampone ogni giorno, o perlomeno ogni 2 giorni. Non serve una laurea in economia sanitaria per capire che questo sistema non può funzionare, perlomeno finché non sarà disponibile un chewing gum dal costo di un franco, che si mastica al mattino appena alzati e si illumina di rosso fluorescente in caso di positività al SARS-CoV-2.

Eppure, non abbiamo smesso di inseguire proprio quest'idea: cosa succederebbe se analizzassimo la soluzione per gargarismi invece del tampone rinofaringeo [13]?

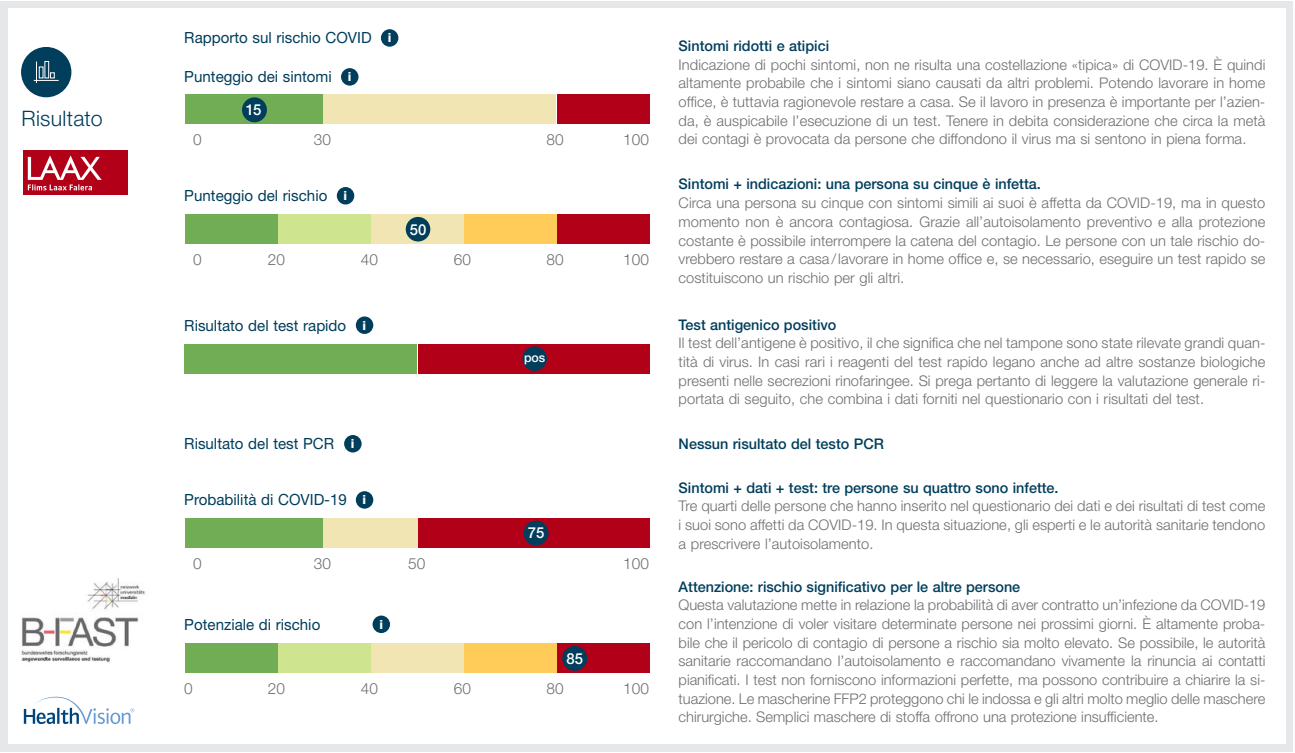


Fig. 1: Esempio di un rapporto sul rischio individuale

Perché mai prima dora il virus ha infettato le persone saltando fuori dalla mucosa nasale, come farebbe Batman nella sua tuta alare. Il virus viaggia per il mondo in modo molto più subdolo, come passeggero clandestino all'interno di microscopiche goccioline di saliva, che trasmettiamo ai nostri simili ogni volta che parliamo, cantiamo e gridiamo. E stare in compagnia significa parlare, cantare e talvolta anche gridare. Con l'acqua dei gargarismi abbiamo già eliminato dal gioco un primo importante componente: il personale medico, altrimenti indispensabile.

Cosa succederebbe se applicassimo dei moderni metodi di biologia molecolare, i cosiddetti «saggi isotermici», che idealmente non richiedono l'estrazione dell'RNA? Cosa succederebbe se, per risparmiare sui reagenti, mettessimo insieme tutti i campioni per testare i tanti soggetti asintomatici [14-15]? Questo sostituirebbe la creazione di valore per i produttori della chimica umida con la creazione di valore per i produttori di apparecchiature di precisione da laboratorio. Cosa succederebbe, se accompagnassimo il processo con supporti digitali, ad es. con un questionario che stimi la probabilità pretest in base alla sintomatologia e allo standard di vita, e che poi calcoli la probabilità di pre-test con il risultato del test? Cosa succederebbe se riflettessimo su chi sono le persone chiave della rete e del tessuto sociale, ad es., di Lenzerheide o di Laax? Chiedendoci come, in teoria, un ottantenne di Arosa o di Kloster potrebbe contrarre il virus? Grazie a unipotetica comunità modello abbiamo simulato esattamente questi scenari: dall'ottantenne di Laax fino alla giovane e bella americana che arriva agli Open di LAAX. Così sarebbe finalmente chiaro chi sottoporre al test, quando e con quale frequenza, per interrompere al più presto la catena dei contagi.

Restano i tanto vituperati test antigenici [16-18]. Perché non esistono test antigenici con gargarismi per l'auto-prelievo? Chi va a pesca nell'Atlantico non porta con sé una rete in cui resta impigliata qualunque forma di plancton – nella fattispecie il tampone rinofaringeo RT-PCR. Il pescatore utilizza invece una rete a strascico a maglia larga, con cui può pescare nella vastità del mare in un periodo di tempo utile. Certo, gli slovacchi con il loro test di massa si sono lasciati sfuggire circa 15'000 casi positivi, tuttavia – cosa ben più importante – hanno eliminato dal gioco circa 35'000 «infettatori», sconosciuti in precedenza. Sono state tutte queste riflessioni a guidarci quando abbiamo sviluppato il piano Safe-Mountain, che – si spera – dovrebbe venire avviato ora e che, opportunamente modificato, potrà essere applicato anche agli eventi culturali con biglietto di ingresso. In questo piano l'efficacia delle mascherine ha un ruolo preventivo importante tanto quanto le soluzioni tecnico-organizzative.

Safe-Mountain è un piano di protezione ad ampio raggio per le mete turistiche invernali, nel caso perdurasse la pandemia di COVID-19. Contrariamente a quanto è successo la primavera scorsa durante la prima ondata, abbiamo ora a disposizione diverse procedure di test. Conosciamo l'elevata efficacia di un'effettiva protezione nasobocca. Conosciamo la potenziale diffusione del virus tramite gli aerosol biologici. Sappiamo che circa la metà di tutte le infezioni hanno origine da soggetti asintomatici e sappiamo che, soprattutto nella fascia di popolazione più anziana, il virus ha un tasso di mortalità molto più alto rispetto all'influenza stagionale.

La seconda ondata pandemica non ci coglie pertanto impreparati, ma sorprende comunque per la sua intensità. Safe-Mountain è un piano basato sulle conoscenze acquisite, con una combinazione bilanciata fra strategie di test, tracciamento dei contatti e utilizzo delle misure di isolamento/quarantena, e con un supporto digitale concepito in modo tale da garantire la protezione più efficace ed efficiente possibile nelle destinazioni turistiche, sia per gli addetti del settore che per gli ospiti, nonostante la pandemia e senza dover ricorrere al lockdown totale.

Safe-Mountain utilizza un'ingegnosa combinazione di test mirati attraverso diverse modalità differenziate, tenendo conto delle raccomandazioni aggiornate dellUFSP. Il piano adegua lintensità delle misure necessarie all'effettiva situazione pandemica e agli scenari individuali di rischio – è paragonabile ai livelli di sicurezza e alle relative norme comportamentali aggiornate regolarmente nel bollettino delle valanghe per le Alpi. Il piano Safe-Mountain è frutto della collaborazione congiunta tra scienziati del network B-FAST, specialisti di medicina di laboratorio ed esperti locali. Il sito informativo **www.safe-mountain.ch** è in fase di preparazione.

	A	B	C	D	E
Gruppo di rischio per altre persone (se sconosciuto ipotizzare la categoria D a causa di un potenziale pericolo da fonte privata)	Nessun contatto	Pochi giovani adulti	Numerosi adulti e/o bambini	Molti soggetti o soggetti over 75 con contatto prolungato	Soggetti a rischio, es. ammalati e bisognosi di assistenza
Esempi	**Isolamento**				
Vive nello stesso nucleo familiare di un soggetto positivo al COVID-19.	AG-Test 2-3x settimana	GW-Test ogni giorno	GW-Test ogni giorno	GW-Test ogni giorno	**Nessun contatto**
Ha avuto un contatto non protetto di 45 minuti a <1.5 m di distanza con un paziente COVID.	AG-Test 2-3x settimana	AG-Test 2-3x settimana	GW-Test ogni giorno	GW-Test ogni giorno	**Nessun contatto**
Ha partecipato per 4 ore con mascherina FFP2 a una riunione in cui era presente un paziente COVID.	Nessun test, disp. med. respirazione	AG-Test 1x settimana	AG-Test 2-3x settimana	GW-Test ogni giorno	GW-Test ogni giorno
Vive nello stesso nucleo familiare con la persona di contatto no. 1, asintomatica; tuttavia il risultato del test non è noto.	Nessun test, disp. med. respirazione	Nessun test, disp. med. respirazione	AG-Test 2-3x settimana	GW-Test ogni giorno	GW-Test ogni giorno
Soggetti fortemente esposti con protezione limitata, es. dentisti, persone che vivono a stretto contatto con molti altri soggetti, es. grandi comunità abitative, casa dello studente, scuole di sci, ambulatori e centri specializzati nell'esecuzione dei test COVID-19.	AG-Test 1x settimana	AG-Test 2-3x settimana	GW-Test ogni giorno	GW-Test ogni giorno	**Se possibile nessun contatto, altrimenti GW-Test ogni giorno**
Famiglie con figli di età compresa tra 15 e 25 anni nello stesso nucleo familiare o soggetti che svolgono un'attività con contatto diretto prolungato, ad es. insegnanti a scuola, commessi, cassieri, tassisti, agenti di commercio.	Nessun test, disp. med. respirazione	AG-Test 1x settimana	AG-Test 2-3x settimana	AG-Test 3x settimana	GW-Test ogni giorno
Famiglie con figli di età inferiore a15 anni e con attività di home office ridotta, anche la permanenza di oltre 2 ore al ristorante, lunghe trasferte in autobus, treno e aereo. Artigiani e addetti all'industria muniti di protezione.		Nessun test, disp. med. respirazione	AG-Test 2-3x settimana	AG-Test 3x settimana	GW-Test ogni giorno
Famiglie con figli che non frequentano l'asilo o la scuola, impiego dei mezzi di trasporto pubblici, frequentazione di bar e ristoranti, modalità mista di lavoro in home office/ufficio, contatto occasionale con i clienti.		Nessun test, disp. med. respirazione	AG-Test 1x settimana	AG-Test 2-3x settimana	GW-Test ogni giorno
Vive con il partner, senza figli, lavora prevalentemente in home office, indossa la mascherina fuori casa, scarso uso dei mezzi di trasporto pubblici, misure di protezione sul posto di lavoro.			Nessun test, disp. med. respirazione	AG-Test 2-3x settimana	AG-Test 3x settimana
Vive da solo, si sposta solo con la mascherina, visitatori con mascherina o a distanza di oltre 1.5 m. Lavoro in modalità home office.			Nessun test, disp. med. respirazione	AG-Test 1x settimana	AG-Test 2-3x settimana

Fig. 2: Stratificazione dei gruppi di rischio
AG-Test = Test antigenico · GW-Test = Test dei gargarismi

Referenze

1 Gandhi, M., C. Beyrer, and E. Goosby, Masks Do More Than Protect Others During COVID-19: Reducing the Inoculum of SARS-CoV-2 to Protect the Wearer. J Gen Intern Med, 2020. 35:3063-3066.

2 Sommerstein, R., et al., Risk of SARS-CoV-2 transmission by aerosols, the rational use of masks, and protection of healthcare workers from COVID-19. Antimicrob Resist Infect Control, 2020. 9:100.

3 Woloshin, S., N. Patel, and A.S. Kesselheim, False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection-Challenges and Implications. N Engl J Med, 2020. 383:e38.

4 Watson, J., P.F. Whiting, and J.E. Brush, Interpreting a COVID-19 test result. BMJ, 2020. 369:m1808.

5 Klompas, M., M.A. Baker, and C. Rhee, Airborne Transmission of SARS-CoV-2: Theoretical Considerations and Available Evidence. JAMA, 2020. 324:441-442.

6 Lerner AM, Folkers GK, Fauci AS. Preventing the Spread of SARS-CoV-2 With Masks and Other «Low-tech» Interventions. JAMA. 2020;324:1935-1936.

7 Azzi L, Carcano G, Gianfagna F, Grossi P, Gasperina DD, Genoni A, Fasano M, Sessa F, Tettamanti L, Carinci F, Maurino V, Rossi A, Tagliabue A, Baj A. Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. J Infect. 2020;81:e45-e50.

8 Yokota I, Shane PY, Okada K, Unoki Y, Yang Y, Inao T, Sakamaki K, Iwasaki S, Hayasaka K, Sugita J, Nishida M, Fujisawa S, Teshima T. Mass screening of asymptomatic persons for SARS-CoV-2 using saliva. Clin Infect Dis. 2020:ciaa1388.

9 Azzi L. Saliva is the Key Element for SARS-CoV-2 Mass Screening. Clin Infect Dis. 2020:ciaa1440.

10 Linton NM, Kobayashi T, Yang Y, Hayashi K, Akhmetzhanov AR, Jung SM, Yuan B, Kinoshita R, Nishiura H. Incubation Period and Other Epidemiological Characteristics of 2019 Novel Coronavirus Infections with Right Truncation: A Statistical Analysis of Publicly Available Case Data. J Clin Med. 2020;9:538.

11 Sethuraman, N., S.S. Jeremiah, and A. Ryo, Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. JAMA, 2020. 323:2249-2251.

12 Nie X, Fan L, Mu G, Tan Q, Wang M, Xie Y, Cao L, Zhou M, Zhang Z, Chen W. Epidemiological Characteristics and Incubation Period of 7015 Confirmed Cases With Coronavirus Disease 2019 Outside Hubei Province in China. J Infect Dis. 2020;222:26-33.

13 Pasomsub E, Watcharananan SP, Watthanachockchai T, Rakmanee K, Tassaneetrithep B, Kiertiburanakul S, Phuphuakrat A. Saliva sample pooling for the detection of SARS-CoV-2. J Med Virol. 2020:10.1002/jmv.26460.

14 Dao Thi VL, Herbst K, Boerner K, Meurer M, Kremer LP, Kirrmaier D, Freistaedter A, Papagiannidis D, Galmozzi C, Stanifer ML, Boulant S, Klein S, Chlanda P, Khalid D, Barreto Miranda I, Schnitzler P, Kräusslich HG, Knop M, Anders S. A colorimetric RT-LAMP assay and LAMP-sequencing for detecting SARS-CoV-2 RNA in clinical samples. Sci Transl Med. 2020;12:eabc7075.

15 Lohse S, Pfuhl T, Berkó-Göttel B, Rissland J, Geissler T, Gärtner B, Becker SL, Schneitler S, Smola S. Pooling of samples for testing for SARS-CoV-2 in asymptomatic people. Lancet Infect Dis. 2020;20:1231-1232.

16 Hirotsu Y, Maejima M, Shibusawa M, Nagakubo Y, Hosaka K, Amemiya K, Sueki H, Hayakawa M, Mochizuki H, Tsutsui T, Kakizaki Y, Miyashita Y, Yagi S, Kojima S, Omata M. Comparison of automated SARS-CoV-2 antigen test for COVID-19 infection with quantitative RT-PCR using 313 nasopharyngeal swabs, including from seven serially followed patients. Int J Infect Dis. 2020;99:397-402.

17 Kyosei Y, Namba M, Yamura S, Takeuchi R, Aoki N, Nakaishi K, Watabe S, Ito E. Proposal of De Novo Antigen Test for COVID-19: Ultrasensitive Detection of Spike Proteins of SARS-CoV-2. Diagnostics. 2020;10:594.

18 Mak GC, Cheng PK, Lau SS, Wong KK, Lau CS, Lam ET, Chan RC, Tsang DN. Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus. J Clin Virol. 2020;129:104500.

Corrispondenza
Dr. med. Joachim E. Fischer, MSc
Facolta di medicina Mannheim,
Universita di Heidelberg &
Centro di medicina e società
joachim.fischer@medma.uni-heidelberg.de

Biografia breve di autrici e autori

MMed Rita-Christiane Baron
Studi di medicina presso la Divisione Inglese della facoltà di medicina dell'Università di Varsavia e presso facoltà di scienze della salute dell'Università Rey Juan Carlos di Madrid, dottoranda presso l'Università di Berna. Attualmente è medico assistente presso la clinica Waldhaus di Coira.
rch.baron@gmail.com

Dr. med. Siliva Dehler, MPH
Studi di medicina umana e dottorato presso l'Università Julius Maximilian di Würzburg, Master in Sanità pubblica (MPH) e specialista in prevenzione e assistenza sanitaria. Attualmente è medico ufficiale del Principato del Liechtenstein. Nella sua funzione gestisce, tra l'altro, il contact tracing con oltre 30 collaboratori e accompagna numerosi cittadini del Liechtenstein nel decorso della malattia da coronavirus.
silvia.dehler@llv.li

Prof. Dr. med. Joachim Fischer, MSc
Studi di medicina umana a Friburgo, in Nuova Zelanda e ad Heidelberg, formazione specialistica in pediatria presso le università di Tubinga e Witten-Herdecke, medicina intensiva presso l'Ospedale pediatrico universitario di Zurigo. Dopo gli studi di epidemiologia e biostatistica presso la Harvard School of Public Health ha istituito un gruppo di ricerca sulla medicina dello stress presso il Politecnico federale di Zurigo. Attualmente professore ordinario di sanità pubblica, medicina sociale e preventiva presso la facoltà di medicina Mannheim dell'Università di Heidelberg, è inoltre direttore del centro di medicina e società della facoltà.
joachim.fischer@medma.uni-heidelberg.de

Prof. Dr. med. Lukas Flatz
Studi di medicina e dottorato presso l'Università di Berna, specializzazione in dermatologia e venereologia presso l'Ospedale universitario di Losanna, ricercatore post-dottorato dapprima presso il laboratorio Zinkernagel/Hengartner dell'Università di Zurigo, poi presso il National Institutes of Health (NIH) di Bethesda, negli Stati Uniti. Cattedra FNS (Fondo Nazionale Svizzero per la ricerca scientifica). Attualmente responsabile del gruppo di ricerca presso l'Ospedale cantonale di San Gallo e direttore medico della sezione di dermatologia della Clinica dermatologica universitaria di Tubinga.
lukas.flatz@kssg.ch

Prof. Dr. rer. nat. Christoph Gassner
Studi di microbiologia e biochimica, nonché dottorato e libera docenza presso l'Università Leopold Franzens di Innsbruck, ricercatore post-dottorato presso il Centro di ricerca sul cancro Fred Hutchinson e l'Istituto di immunologia di Basilea. Specialista in immunogenetica con specializzazione nella determinazione molecolare dei gruppi sanguigni, presidente del Working Party on Red Celli Immunogenetics and Blood Group Terminology della Società internazionale per la trasfusione di sangue (ISBT). Attualmente è professore di biologia medica e direttore dell'Istituto di medicina traslazionale dell'Università privata del Liechtenstein.
christoph.gassner@ufl.li

Kirsten Grossmann, MSc
Studi di scienze dello sport, fisiologia, psicologia economica e sociale presso l'Università di Gottinga, funzione manageriale pluriennale presso la Fondazione AO di Davos e l'azienda Synbone di Malans. Attualmente è responsabile del team dello studio GAPP e dello studio COVI-GAPP. Studio di dottorato presso l'Università privata del Liechtenstein.
kirsten.grossmann@risch.ch

Dr. med. Omar Hasan Ali
Studi di medicina e dottorato presso l'Università di Vienna, dottorato presso l'Università di Zurigo, specializzazione in dermatologia e venereologia presso l'Ospedale cantonale di San Gallo e l'Ospedale universitario di Zurigo. Ricercatore post-dottorato FNS Postdoc.Mobiliy del Fondo Nazionale Svizzero per la ricerca scientifica. Attualmente è ricercatore post-dottorato presso il laboratorio Penninger della University of British Columbia, Vancouver, Canada.
omar.hasanali@kssg.ch

Dr. sc. nat. ETH Mauro Imperiali, MAS
Studi e dottorato in microbiologia presso il Politecnico di Zurigo, MAS in economia e management sanitario e sociosanitario presso l'Università della Svizzera italiana di Lugano, formazione in medicina di laboratorio e microbiologia medica presso EOLAB, il servizio di microbiologia dell'Ente Ospedaliero cantonale, e presso l'Istituto Cantonale di Microbiologia di Bellinzona. Attualmente direttore scientifico presso il gruppo CML Dr Risch di Pregassona.
mauro.imperiali@risch.ch

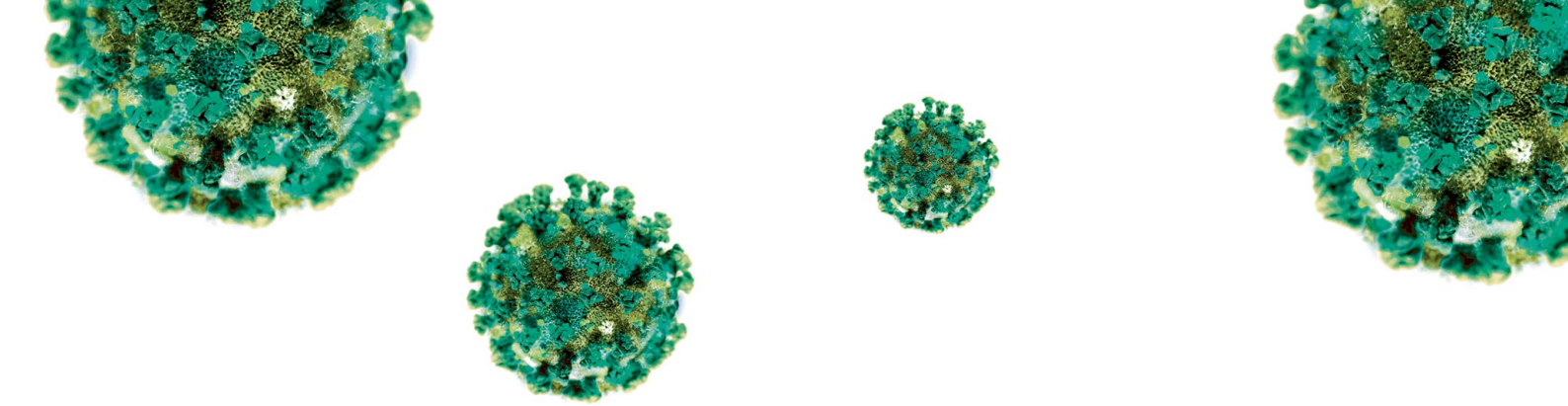
Dr. Christian Kahlert
Studi di medicina e dottorato presso l'Università di Basilea, formazione specialistica in pediatria e infettivologia presso l'Ospedale cantonale di San Gallo, l'Ospedale pediatrico della Svizzera orientale e l'Ospedale pediatrico di Zurigo. Attualmente è medico caposervizio di infettivologia e di igiene ospedaliera presso l'Ospedale pediatrico della Svizzera orientale e direttore della ricerca clinica di infettivologia e igiene ospedaliera presso l'Ospedale cantonale di San Gallo.
christian.kahlert@kssg.ch

Dipl. med. Marc Kovac
Studi di medicina presso l'Università di Zurigo, assistente medico di medicina interna e di reumatologia presso l'Ospedale di Walenstadt e presso l'Inselspital di Berna, dottorando all'Università di Berna. Attuale soggiorno di ricerca presso il gruppo CML Dr Risch di Buchs/SG.
marc.kovac@risch.ch

Dr. med. Matthias Paprotny
Studi di medicina e dottorato presso l'Università di Graz, formazione specialistica in medicina interna e cardiologica a Walenstadt, Seewis, Uznach, San Gallo, Kreuzlingen e presso l'Ospedale universitario di Zurigo. Attualmente è medico caposervizio presso l'Ospedale del Liechtenstein.
matthias.paprotny@landesspital.li

Prof. Dr. sc. ETH Mathias Payer
Studi e dottorato in Computer Science presso il Politecnico di Zurigo, ricercatore post-dottorato presso l'Università della California, Berkeley, e in seguito professore assistente presso l'Università Purdue, negli Stati Uniti. Attualmente è professore assistente presso il Politecnico federale di Losanna e direttore del laboratorio HexHive. Programmi di ricerca prioritari: tecnologie che consentono agli sviluppatori di software di individuare le vulnerabilità nel codice del programma al fine di proteggere i sistemi dagli attacchi informatici.
mathias.payer@epfl.ch @gammino su Twitter

Prof. Dr. med. Lorenz Risch, MPH, MHA
Studi di medicina presso l'Università di Berna, MPH sul tema «concentration in clinical effectiveness» presso la Harvard School of Public Health di Boston, MHA all'Università di Berna (NDS MiG). Medico specialista in medicina interna, in diagnostica medica e in chimica di laboratorio. Libera docenza presso l'Università di medicina di Innsbruck e presso l'Università di Berna. Professore titolare presso l'Università di Berna. Attualmente è Chief Medical Officer e Presidente del Consiglio di amministrazione del gruppo CML Dr Risch.
lorenz.risch@risch.ch



Dr. med. Martin Risch, MHA
Studi di medicina e dottorato presso l'Università di Berna, formazione in medicina di laboratorio, microbiologia medica e medicina generale presso l'Istituto di chimica clinica e di ematologia di San Gallo, presso l'Università e l'Ospedale universitario di Zurigo, il Centro di medicina di laboratorio di Lucerna, l'Ospedale Grabs. Dal 2011 CEO del gruppo CML Dr Risch e medico caposervizio del laboratorio centrale dell'Ospedale cantonale dei Grigioni.
martin.risch@risch.ch

Mag. iur. Stefan Rüdisser
Dal 2009 al 2013 collaboratore del Dipartimento della sanità (oggi Ministero della socialità). Dal 2013 è direttore dell'Ordine dei medici del Liechtenstein.
office@aerztekammer.li

MMed Anna Schaffner
Studi di medicina presso l'Università di Basilea, dottoranda all'Università di Berna. Attualmente è medico assistente di medicina interna presso l'Ospedale del Liechtenstein.
anna.schaffner@landesspital.li

Marco Schmid
Formazione in economia aziendale presso l'Università di San Gallo. Per oltre 15 anni è stato attivo nell'ingegneria meccanica per lo sviluppo e la brevettazione della tecnologia LIFT (Light Initiated Fabrication Technology) per la stampa in 3D. Attualmente è CEO e co-proprietario di Coobx, la società specializzata nella produzione e nella validazione di catene di processi di stampa in 3D con particolare focus sulle applicazioni mediche.
marco.schmid@coobx.com

Michael Stettler
Dopo gli studi in scienze politiche condotti presso l'Università di Losanna, ha ricoperto diverse funzioni presso l'UFSP (tra cui quella di vice-direttore della sezione «Progetti innovativi»), nonché ha svolto la funzione di direttore dello sviluppo aziendale presso il Centro ospedaliero di Bienne. Attualmente è membro della direzione del centro ospedaliero di Bienne, direttore del centro sanitario MEDIN di Bienne e direttore della società Localmed Biel SA.
michael.stettler@szb-chb.ch

Dipl. med. Sarah L. Thiel
Studi di medicina presso l'Università di Basilea, assistente medico in medicina interna presso l'Ospedale del Liechtenstein, dottoranda all'Università di Berna. Attualmente è medico assistente in anestesia presso l'Ospedale cantonale dei Grigioni.
sarah.thiel@bluewin.ch

Dr. Daniel Wallerstorfer, BSc
Studi e dottorato (PDH) in biologia molecolare presso l'Università di Manchester (Regno Unito). Dal 2009 fondatore e direttore di Novogenia Sagl, che crea programmi diagnostici per l'infezione da COVID-19, nonché per la genetica medica, la memoria genetica dello stile di vita e la nutrigenetica.
daniel.wallerstorfer@novogenia.com

Dipl. med. Myriam Weber
Studi di medicina presso l'Università di Basilea, assistente medico in medicina interna all'Ospedale del Lichtenstein, dottorato all'Università di Berna. Attualmente è medico assistente di chirurgia presso l'Ospedale pediatrico di Zurigo.
myriam.weber@kispi.uzh.ch

Dr. scient. nat. Nadia Wohlwend, MSc
Master of Science in Scienze della vita molecolare, con specializzazione in microbiologia e immunologia presso l'Università di Berna. Dottorato (Dr. scient. med.) presso l'Università privata del Liechtenstein. È specialista in medicina di laboratorio, con specializzazione FAMH in microbiologia medica, le sue materie secondarie sono chimica clinica ed ematologia. Attualmente è responsabile della biologia molecolare, responsabile della logistica interna e della gestione operativa Corelab del gruppo CML Dr Risch.
nadia.wohlwend@risch.ch