

Pandemia da SARS-COVID-19: Prospettive diagnostiche. Stato dell'Arte

di Stefano Pellicanò

a) Linee guida della Repubblica Popolare di Cina

Le linee guida dell'*Ospedale Zhongnan* (Università di Wuhan) suggeriscono la diagnosi in soggetti che, oltre a una storia di viaggio a Wuhan o contatto con infetti, presentano almeno due dei seguenti sintomi: febbre, segni radiologici di polmonite, globuli bianchi normali o ridotti o linfociti ridotti. Secondo uno studio dell'*Ospedale Tongji* di Wuhan la TAC sarebbe più sensibile (98%) rispetto alla reazione a catena della polimerasi (71%; *fonte: Italian.cri.cn*, 26/02/2020), a causa di falsi negativi nel test PCR a causa di problemi con il campione o durante l'esecuzione mentre si ritiene che i falsi positivi siano rari (*fonte: JAMA, February 2020*).

b) Protocolli dell'Organizzazione Mondiale della Sanità

L'OMS ha pubblicato diversi protocolli di test su radiografia o TAC toracica e su un esame di reazione a catena della polimerasi inversa in tempo reale (rRT-PCR) su campioni di espettorato o di sangue (*fonte: World Health Organization. 20/01/ 2020; Centers for Disease Control and Prevention, DCD, 29 e 31/01/2020*).

c) I tamponi

Di solito la positività al Sars-Cov2 non supera le quattro settimane ma in alcuni casi, tra cui una 23enne, ricoverata al *Policlinico Sant'Orsola di Bologna* il 28 febbraio, all'ultimo tampone eseguito il 16 aprile risulta ancora positiva (e in isolamento) da 55 giorni (*fonte: il Resto del Carlino, 22/04/2020*). Da una ricerca dell'*Università di Padova*, a due mesi dal primo caso di positività a Vo'



Euganeo (PD), tra i primi focolai italiani, i tamponi eseguiti a 6,9 giorni di distanza rispettivamente all'85,9% e al 71,5% della popolazione, indicano che il 43,2% dei casi confermati erano asintomatici e, eseguiti all'inizio e alla fine del

confinamento domiciliare, hanno rilevato la presenza dell'infezione rispettivamente nel 2,6% e 1,2% dei casi; la maggior parte delle nuove infezioni sono avvenute prima del confinamento o da persone asintomatiche che vivevano nella stessa casa senza grandi differenze a livello statistico nella carica virale tra sintomatici e asintomatici. Lo studio fornisce nuovi spunti sulla frequenza delle infezioni asintomatiche e della loro contagiosità (*fonte: MedRxiv, 2020. Da validare dalla comunità scientifica*). Ricercatori dell'*Istituto Spallanzani* di Roma, mediante tampone oculare hanno isolato il virus

dimostrando che, oltre che nell'apparato respiratorio, è in grado di replicarsi anche nelle congiuntive, quindi gli occhi potrebbero essere una delle sue porte di ingresso/uscita e una potenziale fonte di contagio e che i tamponi oculari possono essere positivi anche quando quelli respiratori sono negativi. Ulteriori studi con tamponi oculari, su ampie casistiche, sono necessari per verificare fino a quando il virus continua a essere attivo nelle lacrime e potenzialmente infettivo (*fonte: Annals of Internal Medicine, 2020*).

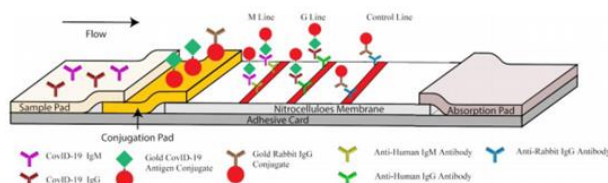
d) I test sierologici

La diagnosi, oltre che con i tamponi, può essere formulata anche con test sierologici, testando gli anticorpi IgM e IgG (*fonte: Yicai Global, 2020*), utilizzando un campione di siero, positivo anche se il paziente è guarito e il virus non è più nell'organismo (*fonte: Science, 27/02/2020*). Alcuni studi hanno mostrato che il 10-20% delle persone contagiate con sintomi aveva pochi o nessun anticorpo rilevabile. Adesso uno studio della *Chongqing Medical University* ha rilevato nei 285 pazienti analizzati (100%) la presenza degli anticorpi IgG, cioè quelli prodotti durante la prima infezione, seppure in quantità variabili, ha quindi confermato che tutti i malati di COVID-19 sviluppano gli anticorpi. Ciò significa che il test sierologico può essere utile per diagnosticare i pazienti sospetti, risultati negativi al tampone per il coronavirus, e per identificare quelli asintomatici (*fonte: Nature Medicine, 2020*), tuttavia ancora non si sa se siano protettivi. In tempi record sono stati messo a punto diversi test sierologici ma, come i farmaci e i vaccini però, prima di trarre conclusioni dal punto di vista scientifico, epidemiologico e politico-sociale, ne va valutata l'accuratezza e l'effettiva utilità. Dovrebbero darci risposte certe su quanti pazienti hanno sviluppato anticorpi contro il virus, qual è la sua letalità reale, il tasso di prevalenza per fasce di età, il ruolo degli asintomatici nella diffusione della malattia e indizi su quale percentuale della popolazione abbia già sviluppato una certa immunità al virus.



e) Affidabilità dei test sierologici

Teniamo presente che la maggior parte dei test non è abbastanza affidabile e se lo fosse non è detto che riveli l'immunità alla re-infezione. Per verificarne l'accuratezza, i kit dovrebbero essere testati su centinaia di soggetti ammalati e altrettanti sani ma finora la maggior parte delle valutazioni ha coinvolto solo alcune decine di individui con dubbi sull'affidabilità, soprattutto per quanto riguarda il numero di falsi



positivi. Due studi di test sugli anticorpi, su 3.300 e 500 arruolati, rispettivamente in USA (California, *fonte: MedRxiv, 2020*) e in un paesino della Germania, suggeriscono una prevalenza di infezione molto più alta rispetto ai dati ufficiali suggeriti probabilmente perché il virus si è diffuso negli USA e in alcune parti dell'UE almeno un mese prima della sua "scoperta". Ancora, i test utilizzati in entrambi gli studi sono stati valutati su un piccolo numero di persone, il che potrebbe influenzare l'accuratezza dei risultati (*fonte: Nature, 2020*). Un altro fattore fondamentale da valutare è il tempismo, infatti se il test viene eseguito troppo presto il corpo può non aver avuto il tempo di sviluppare gli anticorpi specifici ottenendo un falso negativo ma in atto non sappiamo con esattezza dopo quanto tempo dall'infezione essi si sviluppano (*fonte: Nature, 2020*).

f) Lo studio *Solidarity II* dell'OMS

A tale scopo l'OMS ha lanciato, a inizio aprile, il programma *Solidarity II*, uno studio che coinvolge diversi Paesi con l'obiettivo di testare campioni di sangue per valutare la presenza di anticorpi contro il virus oltre a piccoli sondaggi "immunologici" in tutto il mondo, Italia compresa.

g) La patente di immunità

Per avere una *patente di immunità* occorrerebbe disporre di un test che identifichi gli anticorpi neutralizzanti, che impediscono al virus di entrare nelle cellule, quindi capaci a bloccare l'infezione (*fonte: Nature, 2020*) in quanto un soggetto potrebbe averne tanti ma non essere protetto, come avviene, ad es., nell'infezione da HIV o nell'Epatite da HCV. È quindi fondamentale, ma non sempre avviene, che i test siano in grado di rilevare soprattutto questi anticorpi e d'altronde non sembra che tutti gli ammalati li abbiano sviluppati. Secondo una ricerca cinese 10 su 175 non produce anticorpi neutralizzanti rilevabili, quindi non è chiaro se abbiano o meno un'immunità protettiva. I test sierologici, comunque, permettono di mappare il virus dal punto di vista epidemiologico, capire qual è la durata della memoria immunitaria e sapere quanti sono gli infettati per determinare il tasso di mortalità.

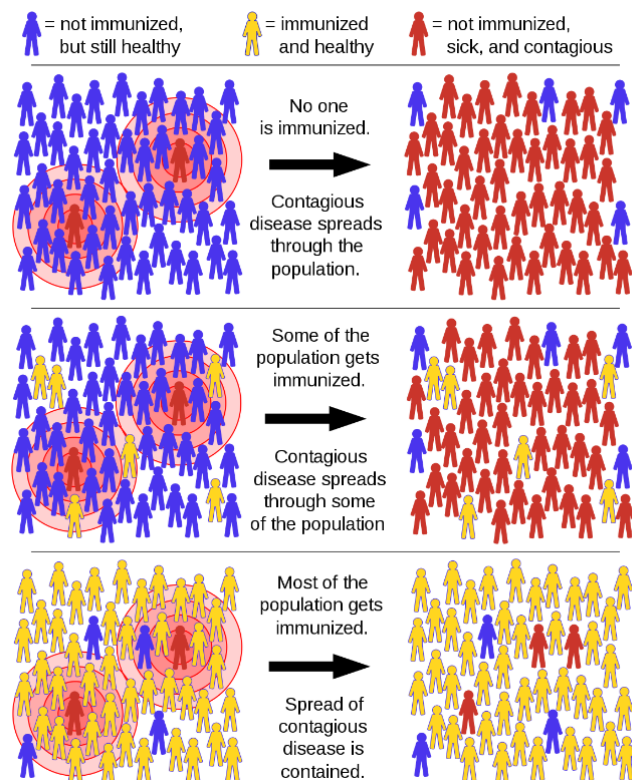
h) Nuovi test diagnostici

Presso il *Policlinico San Matteo* (PV) è stato sviluppato un nuovo test sierologico ad alto volume di processamento per rilevare la presenza di anticorpi, in attesa del marchio CE e dell'autorizzazione all'uso di emergenza dall'FDA. Ricercatori dell'*Università dell'Insubria* sperimenteranno, all'*Ospedale di Circolo* (VA), su un centinaio di pazienti, un test rapido della saliva che consentirebbe di scoprire la positività in appena 10' (*fonte: ANSA, 2020*). Il test è simile a quello per la gravidanza:

si applica un campione di saliva su una piccola striscia di carta assorbente e, in caso di positività, si formerà una banda colorata. La sua novità consiste nella semplicità, rapidità e nel fatto che, a differenza dei test sierologici che evidenziano gli anticorpi, evidenzia direttamente il virus e quindi è possibile stabilire se il soggetto è infetto in quel preciso momento.

i) Immunità di gregge

L'*immunità di Gregge* è la capacità di un gruppo di resistere a un'infezione, verso la quale una grande proporzione dei membri del gruppo è immune. Si tratta di una forma di protezione indiretta che si verifica quando la malattia è stata superata con anticorpi propri, senza vaccinazione o dopo quest'ultima, di una parte significativa di una popolazione che fornisce una tutela anche agli individui che non hanno sviluppato direttamente l'immunità. Per determinare quanta ne serva per mitigare altre epidemie di COVID-19 servono diverse variabili, come l' R_0 , cioè il numero di persone contagiate da una positiva, che attualmente si pensa sia di 2,2 per il nuovo coronavirus. Sulla base di queste stime, si ritiene che almeno il 60% della popolazione dovrebbe avere l'immunità protettiva, sia da infezione naturale o da vaccino ma il problema è se questi anticorpi li sviluppa anche chi ha avuto pochi o nessun sintomo. Sembra probabile che, nel breve e medio periodo, la naturale esposizione al virus non dia il suo livello richiesto e pertanto, quando disponibile, servirà una vaccinazione di massa (fonte: *Lancet*, 2020).



l) Pandemia, sistema fognario e patente d'immunità

Durante l'epidemia da SARS-CoV-1 (2003), studiosi cinesi dimostrarono la sua trasmissione attraverso produzione di droplets contaminati provenienti dal sistema fognario che venivano reintrodotti all'interno delle abitazioni attraverso le condotte d'aria degli impianti di condizionamento, climatizzazione e ventilazione; che la sopravvivenza, monitorandone la presenza nelle acque nere di un Ospedale, arrivava a 14 giorni con 4° e 2 giorni con 20° e che poteva sopravvivere fino a 96^h nei fluidi corporei come espettorato, feci e siero, ma è meno stabile nelle

urine. Due recenti studi, uno cinese e uno USA, hanno rilevato frammenti di RNA di COVID-19 nelle feci (*fonte: Gastroenterology doi: 10.1053/j.gastro.2020.02.055; N Engl J Med 2020 Jan 31*) e uno cinese ha dimostrato la sua presenza in un campione di feci mediante colture cellulari (*fonte: China CDC Weekly 2020;2,8,:123-4*) ma in atto non sono stati segnalati comunque casi di trasmissione oro-fecale del virus SARS-CoV-2 e non è chiaro se il nostro corpo si liberi del virus ancora in vita o solo di resti inattivi e non contagiosi. L'**analisi delle acque reflue** potrebbe rappresentare uno strumento aggiuntivo nella lotta al coronavirus. Pur diffondendo soprattutto per via respiratoria, il microrganismo finirebbe anche nelle feci un paio di giorni prima della comparsa dei sintomi. In Francia, a Parigi, dopo che sono state riscontrate tracce del virus, in 4 campioni su 27, nella rete idrica utilizzata per pulire le strade, per le fontane e per innaffiare i giardini e i parchi, in via precauzionale è stata sospesa la pulizia "a rivolo" con l'acqua direttamente prelevata dalla Senna e non trattata.



Nessun rischio invece per l'acqua potabile delle case perché le tracce di virus sono talmente diluite da non poter raggiungere la quantità necessaria per il contagio e perché viene disinfettata (*fonte: www.repubblica.it, 20/04/2020*). I gestori del Servizio Idrico Integrato di Milano e della Provincia di Monza e della Brianza, l'Istituto di Ricerca

sulle Acque (Cnr-Irsa) di Brugherio (MB), in collaborazione con il laboratorio di Microbiologia Clinica, Virologia e Diagnostica delle Bioemergenze dell'ASST Fatebenefratelli Sacco hanno attivato i primi controlli mirati sulle acque reflue delle reti fognarie nelle due provincie analizzando campioni in entrata e in uscita dagli impianti per determinare la presenza del Sars-CoV-2. Le analisi preliminari hanno mostrato suo materiale genetico nei reflui in ingresso ai depuratori di Milano e Monza e Brianza che colleghino circa due milioni di persone, dopo i casi analoghi in Olanda e a Parigi, ma è stato rassicurante verificare che il virus viene annientato dagli impianti di depurazione e le acque a valle ne risultano prive. Inoltre, altre indagini preliminari indicano che la vitalità del virus sia del tutto trascurabile già all'ingresso nei depuratori, che non si può disperdere nell'ambiente acquatico e che le particelle vitali presenti nei campioni di feci umane non sopravvivono nella rete fognaria. Questa presenza nelle fogne potrebbe essere utilizzata per monitorare e prevenire l'epidemia e fornire la **"patente di immunità"**. In Australia, nel Queensland, si sta sperimentando il tampone delle acque reflue. In caso di negatività, si può pensare



di darla a interi quartieri o città, agevolando la riapertura e l'allentamento del confinamento domiciliare, viceversa passando a misure di isolamento sociale più severe, con molto anticipo rispetto alla rilevazione di pazienti sintomatici negli Ospedali come è avvenuto in Olanda, dove il virus è stato rintracciato nelle fognature dell'aeroporto di Tilburg diversi giorni prima della segnalazione del *paziente uno* olandese.

© Copyright maggio 2020, by Stefano Pellicanò/Gio2000.