

## Esami di laboratorio per SARS-CoV-2 nella gestione in ambito occupazionale della pandemia COVID 19

### POSIZIONE DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI MEDICINA DEL LAVORO

Le principali organizzazioni non governative internazionali, come OMS ed ECDC, già prima della dichiarazione dello stato di pandemia, hanno raccomandato l'utilizzo di test diretti molecolari, basati sull'identificazione dell'RNA virale con amplificazione degli acidi nucleici (es., *real time polymerase chain reaction*, RT-PCR) per effettuare diagnosi di COVID-19 in caso di sospetta infezione da SARS-CoV-2 (5, 6, 9). Il materiale biologico più facilmente reperibile per l'identificazione dell'RNA di SARS-CoV-2 è ottenuto tramite tampone nasofaringeo. A tale scopo, sono stati sviluppati e diffusi dall'OMS nel mese di gennaio 2020 alcuni test quantitativi (*Quantitative reverse transcription PCR-RT-qPCR*) basati sul meccanismo della trascrittasi inversa per il rilevamento di SARS-CoV2. La metodica può essere applicata solo in laboratori specializzati (sia in termini di personale addestrato sia in termini di locali e attrezzature adeguate) e può presentare limiti connessi sia alla procedura di campionamento, operatore dipendente, sia a procedure organizzative e gestionali sviluppate in un contesto emergenziale, come ad es. un numero di test eccedente la capacità di analisi dei laboratori stessi o la carenza di reagenti, con conseguenti ritardi nell'accertamento diagnostico di casi sospetti di COVID-19. All'inizio di febbraio 2020 è stato proposto un test ultra-rapido, basato sul sequenziamento di due frammenti di RNA, che consente di ottenere risultati in un'ora, rispetto alle 5-7 necessarie con le metodologie tradizionali.

La FDA ha pubblicato linee d'indirizzo, per consentire ai laboratori di utilizzare test molecolari validati che consentano un riscontro diagnostico tempestivo, predisposti per l'uso da parte di personale non altamente specializzato, con esito atteso del risultato entro un'ora, che includono test basati su *cartridge-based assays on platforms* tra cui: Abbott ID NOW (Abbott Laboratories), BioFire FilmArray (bioMérieux), cobas Liat (Roche Diagnostics) e GeneXpert (Cepheid). In quest'ambito, il test Xpert Xpress SARS-CoV-2 (Cepheid) ha ricevuto una *Emergency Use Authorization* (EUA) ed è eseguito su piattaforma GeneXpert, già utilizzata per TB e test HIV, soprattutto nei Paesi a basso e medio reddito: nell'attuale contesto pandemico, questa tecnologia potrebbe essere di grande utilità per ampliare il nu-

mero dei test eseguibili, consentendo di orientare in tempi ridotti scelte diagnostico-terapeutiche appropriate.

Già alla fine della prima fase emergenziale, per colmare i principali limiti del test diretto con metodica PCR (complessità intrinseca, ridotto numero di laboratori in grado di effettuarli, ridotto numero di test/laboratorio possibili), sono stati sviluppati test indiretti di tipo sierologico, basati sull'interazione antigene-anticorpo, con tecnica d'analisi ELISA. Tali test prevedono l'impiego di anticorpi monoclonali volti a identificare antigeni virali su campione biologico o, in alternativa, l'utilizzo di cloni di antigeni virali per identificare gli anticorpi contro SARS-CoV-2, come avviene per altri Coronavirus (es., SARS-CoV e MERS). Molti dubbi poi sussistono circa l'accuratezza dei test sierologici, ma soprattutto circa il loro valore predittivo, fortemente influenzato dalla finalità dell'analisi e dal contesto applicativo, specie in ambito occupazionale. Vi sono attualmente ampi margini di incertezza relativamente sia alla cinetica che al significato dell'immunità umorale nei confronti di SARS-CoV-2.

Recentemente, sono stati commercializzati test sierologici rapidi caratterizzati da differente grado di accuratezza diagnostica e di costo (la FDA ne sta testando più di 200). Inoltre, per elementari principi di Epidemiologia Clinica (7), oltre alla *performance* dei test in termini di sensibilità e specificità, devono sempre essere considerati lo scopo dell'analisi (diagnosi o esclusione) e la prevalenza della condizione (che presenta bassa probabilità a priori nella popolazione generale e invece elevata in presenza di sintomi sospetti o in un contesto ospedaliero durante l'epidemia). Anche disponendo di un test con caratteristiche ottimali, nel primo caso è corretto solo usare il test per escludere la malattia (essendo elevata la probabilità che un soggetto negativo al test sia effettivamente sano), mentre nel secondo avrebbe un senso solo il test positivo, per confermare il sospetto diagnostico (essendo alta la probabilità che un soggetto positivo al test sia veramente malato). Con gli attuali test sierologici rapidi, anche ipotizzando prevalenze 10-20 volte maggiori dei casi ufficialmente registrati nella popolazione generale, un test positivo in un soggetto asintomatico avrebbe scarse probabilità di essere un vero positivo ed avrebbe cioè un va-

lore predittivo o diagnostico nullo. Obiettivi più ambiziosi, come ad esempio l'identificazione di soggetti immuni non suscettibili, appaiono purtroppo velleitari. Nelle condizioni in cui il medico competente si trova ad operare, è verosimile che siano attendibili solo i risultati negativi: potranno cioè essere identificati solo i soggetti "suscettibili", da ammettere al lavoro solo in attività in cui sia possibile operare in condizioni di sicurezza. I soggetti asintomatici con sierologia positiva potrebbero essere falsi positivi: una non corretta interpretazione del risultato del test potrebbe tradursi in una loro esposizione non protetta nel contesto lavorativo, con conseguente rischio inaccettabile d'infezione in ambito occupazionale. Anche se fossero veri positivi, non è chiaro ad oggi se gli anticorpi siano effettivamente, e per quanto tempo, neutralizzanti. Inoltre, i soggetti con sierologia positiva, in particolare quelli positivi per IgG, dovrebbero essere sottoposti a test molecolare e si dovrebbe attendere l'esito della ricerca del virus prima di riammetterli al lavoro, in quanto non è affatto certo che gli asintomatici con IgG positive non possano essere serbatoi del virus (portatori sani).

L'ECDC ha recentemente identificato come prioritario lo sviluppo di test sierologici validati per la diagnosi d'infezione da SARS-CoV-2, al fine di condurre studi siero-epidemiologici retrospettivi in contesti dove si siano verificati *outbreaks* di COVID-19. Secondo l'ECDC, il *point-of-care testing* (POCT) per patologie infettive è costituito da un insieme di tecnologie che possano portare alla rapida individuazione di un patogeno al fine di orientare le modalità di assistenza e di trattamento dei soggetti per cui si sospetta tale patologia. In quest'ottica, a oggi, viene raccomandato il test diretto molecolare (RT-PCR) al fine di individuare precocemente i soggetti con infezione da SARS-CoV-2.

#### PRINCIPALI EVIDENZE SCIENTIFICHE SUI TEST SIEROLOGICI

In considerazione della recente introduzione di test sierologici del tipo ELISA e test rapidi per SARS-CoV-2 sono stati analizzati i principali studi originali (molti dei quali in versione *pre-print - not peer reviewed*) che hanno indagato il ruolo della risposta umorale nei confronti del nuovo virus, sintetizzati nella breve rassegna della letteratura riportata nel materiale supplementare (allegato 1).

Si ritiene utile richiamare alcune prese di posizione, a partire da quanto riportato nella Circolare del Ministero della Salute "Pandemia di COVID 19 - Aggiornamento delle indicazioni sui test diagnostici e sui criteri da adottare nella determinazione delle priorità. Aggiornamento delle indicazioni relative alla diagnosi di laboratorio" pubblicata il 3 Aprile 2020 [8]: "Secondo l'OMS, sebbene l'impiego di kit commerciali di diagnosi rapida virologica sia auspicabile e rappresenti un'esigenza in situazioni di emergenza come quella attuale, gli approcci diagnostici al momento tecnicamente più

*vantaggiosi, attendibili e disponibili rimangono quelli basati sul rilevamento del virus in secrezioni respiratorie attraverso metodi di RT-PCR per amplificazione di geni virali espressi durante l'infezione da SARS-CoV-2".* Nella circolare, inoltre viene riportato come "Il risultato qualitativo ottenuto su un singolo campione di siero non è sufficientemente attendibile per una valutazione diagnostica, in quanto la rilevazione della presenza degli anticorpi mediante l'utilizzo dei test rapidi non è comunque indicativo di un'infezione acuta in atto, e quindi della presenza di virus nel paziente e rischio associato a una sua diffusione nella comunità. Inoltre, per ragioni di possibile cross reattività con altri patogeni affini come altri coronavirus umani, il rilevamento degli anticorpi potrebbe non essere specifico della infezione da SARS CoV2. Infine, l'assenza di rilevamento di anticorpi (non ancora presenti nel sangue di un individuo per il ritardo che fisiologicamente connota una risposta umorale rispetto all'infezione virale) non esclude la possibilità di un'infezione in atto in fase precoce o asintomatica e relativo rischio di contagiosità dell'individuo".

Tale circolare è rafforzata dalla posizione espressa dall'Associazione Microbiologi Clinici Italiani (AMCLI) nel documento dal titolo "SARS CoV2: la diagnosi sierologica" pubblicato il 31 marzo 2020 (2), in cui veniva ribadita la posizione dell'*Interim Guidance* dell'OMS "Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19" (9) che riportava le seguenti argomentazioni:

1. le conoscenze attuali sono modeste, spesso aneddotiche ed i dati sono non conclusivi su: tecnica di rilevazione, cinetica anticorpale, predittività diagnostica e prognostica, ...;
2. i dati di sensibilità analitica sono modesti (60% in soggetti certamente affetti da COVID 19 perché sintomatici e positivi al test biomolecolare);
3. i risultati sono per lo più difficilmente valutabili per la mancanza, spesso dichiarata, dei test di neutralizzazione;
4. l'impatto diagnostico è modestissimo se non fuorviante se è vero che i falsi negativi – con taluni kit – raggiunge la quota dell'80%;
5. la pressione (e l'interesse) per pervenire a dati che consentano strategie non solo basate sulla tecnologia biomolecolare è massima, a tutti i livelli;
6. è prevedibile la finitezza delle risorse diagnostiche in biologia molecolare in considerazione del cambiamento di scenario a livello mondiale come descritto dall'OMS nel documento del 22 marzo."

Date le premesse e l'atteggiamento che sempre deve contraddistinguere l'approccio scientifico, è necessario che i virologi si facciano carico di una valutazione di merito sulle metodiche disponibili, fornendo indicazioni precise sul loro utilizzo (diagnostico, analisi epidemiologica di popolazione, di primo livello o conferma) nella pratica clinica, proponendo algoritmi di utilizzo, anche combinato.

## RACCOMANDAZIONI

La Società Italiana di Medicina del Lavoro (SIML) ha preso posizione con un documento pubblicato il 16 aprile 2020 sul suo sito web (<https://www.siml.it>) da cui sono tratte le raccomandazioni di maggior impatto sull'attività professionale in contesti occupazionali:

1. allo stato attuale, si raccomanda di non utilizzare i test sierologici a livello individuale per finalità sia diagnostiche sia prognostiche nei contesti occupazionali;
2. allo stato attuale, l'uso di test sierologici a scopo diagnostico a livello individuale non è raccomandato: l'impiego di tali test va quindi limitato ad indagini epidemiologiche *ad hoc*, a cui il medico competente dovrebbe collaborare, finalizzate a conoscere la diffusione del contagio ed il grado di immunizzazione della popolazione;
3. i test sierologici rapidi per SARS-CoV-2 presentano sensibilità e specificità inferiore ai test sierologici indaganti la risposta umorale con tecnica ELISA. Pertanto, tali test non possono essere utilizzati per finalità diagnostiche, prognostiche ed epidemiologiche nell'attuale contesto emergenziale COVID-19;
4. va assolutamente evitato l'uso dei test sierologici con finalità propedeutiche alla riammissione al lavoro a seguito della sieropositività per anticorpi anti-SARS-CoV-2 per i rischi connessi con false sicurezze di immunità e di non contagiosità;
5. un approccio basato sull'utilizzo combinato dei test molecolari e sierologici non trova attualmente indicazione per migliorare la *performance* diagnostica nei confronti dell'infezione da SARS-CoV-2, mentre risulta utile in fase di validazione dei test anticorpali disponibili nell'attuale contesto epidemiologico nazionale;
6. la raccolta di campioni biologici per test analitici indaganti l'immunità umorale per SARS-CoV-2 è raccomandata, anche ai fini di consentire in un prossimo futuro studi di siero-prevalenza in contesti a documentata trasmissione del virus, particolarmente in *settings* dove siano stati riportati *outbreaks* di COVID-19 (es: strutture residenziali sociosanitarie);
7. il medico del lavoro/medico competente dovrebbe contribuire alla validazione dei test sierologici disponibili, anche collaborando all'implementazione sul campo di studi *ad hoc*;
8. in considerazione delle evidenze scientifiche disponibili, i test molecolari raccomandati dal Ministero della Salute (8) secondo protocolli specifici di Real Time PCR per SARS-CoV-2, come indicato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità, continuano a rappresentare lo strumento d'elezione per la diagnosi di SARS-CoV-2, nell'attesa dei risultati del programma nazionale di validazione dei test sierologici a cura del Ministero della Salute.

Queste indicazioni sono in linea con quanto raccomandato dal CDC di Atlanta per il suo test sierologico: "Attualmente, il test sierologico del CDC è progettato e validato per la sorveglianza e la ricerca su vasta scala, che ci forniranno le informazioni necessarie per guidare la risposta alla pandemia e proteggere la salute del pubblico. Il test non è attualmente progettato per testare le persone che vogliono sapere se sono state precedentemente infettate con COVID-19." (3)

Una posizione analoga è stata espressa dall'Associazione Italiana di Epidemiologia (AIE) che peraltro sottolinea nel suo documento come le indagini estese di siero epidemiologia abbiano bisogno di una gran quantità di risorse umane e come ogni sovraccarico di lavoro per i Dipartimenti di Prevenzione delle ASL o per chi attualmente lavora sul campo al contrasto della pandemia possa comportare una sottrazione delle forze alla attività di sorveglianza attiva, al tracciamento ed isolamento degli infetti, cruciali in questa fase e per un lungo periodo (1).

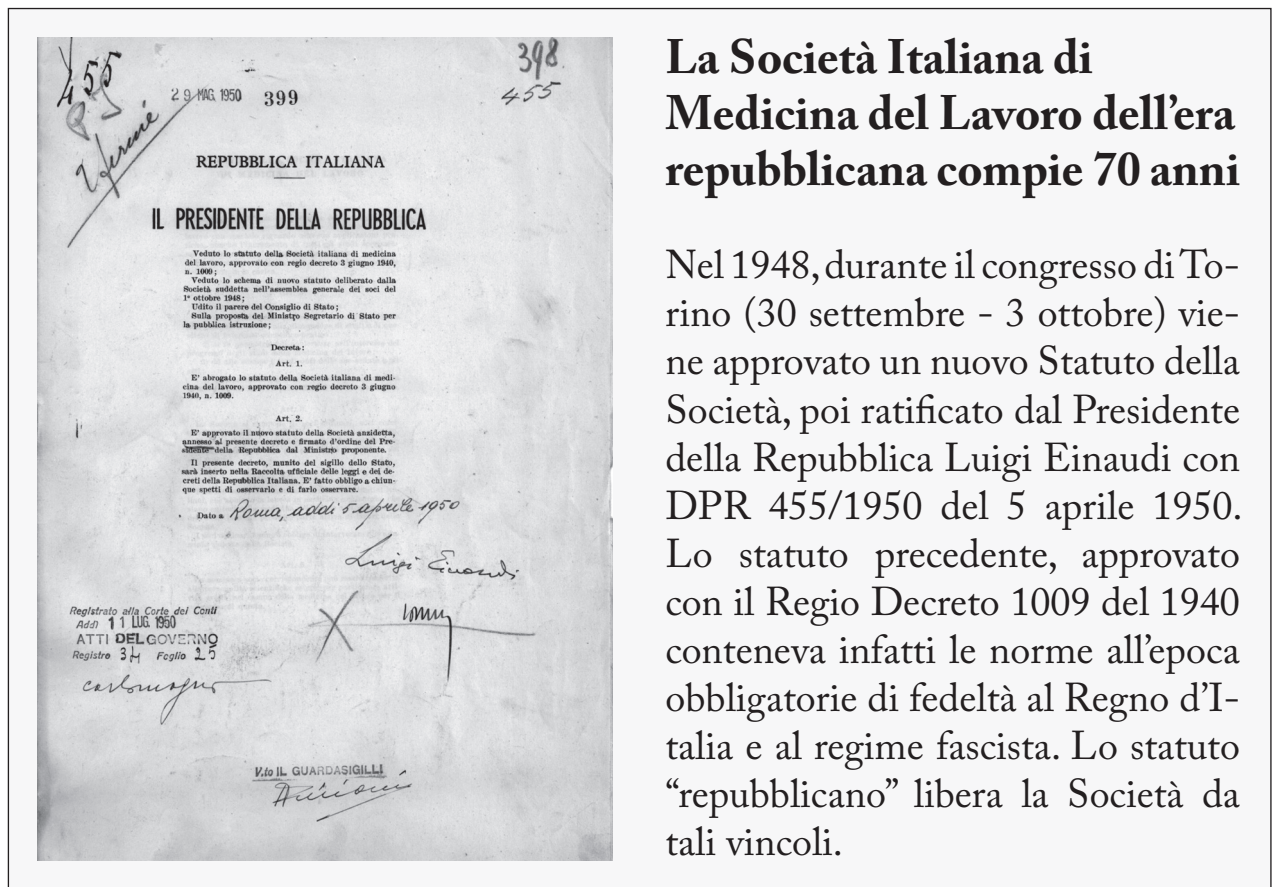
In conclusione, le evidenze scientifiche circa l'utilizzo di test sierologici con finalità di diagnosi per COVID 19 sono ancora scarse e di bassa qualità: allo stato attuale, si raccomanda di non utilizzare tali test a livello individuale per finalità diagnostiche o prognostiche. Pertanto, non è raccomandato l'utilizzo degli attuali test sierologici in contesti occupazionali, con finalità propedeutiche alla riammissione al lavoro, particolarmente allo scopo di evitare i rischi connessi con la presunzione di una protezione dall'infezione o di non contagiosità del lavoratore, che potrebbe invece rivelarsi serbatoio d'infezione, ove il dato non sia integrato da altre fondamentali informazioni cliniche.

GLI AUTORI NON HANNO DICHIARATO ALCUN POTENZIALE CONFLITTO DI INTERESSE IN RELAZIONE ALLE MATERIE TRATTATE NELL'ARTICOLO

## BIBLIOGRAFIA

1. Associazione Italiana di Epidemiologia - "Position paper: uso di test immunologici e indagine di sieroprevalenza". 10/04/2020; <https://www.epidemiologia.it/wp-content/uploads/2020/04/indagine-sieroprevalenza.pdf> - ultimo accesso in data 17/04/2020.
2. Associazione Microbiologi Clinici Italiani - "SARS CoV2: la diagnosi sierologica". 31/03/2020. [http://www.amcli.it/wp-content/uploads/2020/03/U035-2020\\_Posizione-AMCLI-SARSCoV2fin.pdf](http://www.amcli.it/wp-content/uploads/2020/03/U035-2020_Posizione-AMCLI-SARSCoV2fin.pdf) - ultimo accesso 17/04/2020.
3. Centers for Disease Control and Prevention - "Serology Testing for COVID-19". <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/serology-testing.html> ultimo accesso 17/04/2020.
4. Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, Kanjilal S, Quach

- C, Libman M, Dittrich S, Yansouni CP. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus-2: A Narrative Review. *Ann Intern Med.* 2020 Apr 13.
5. ECDC RAPID RISK ASSESSMENT - Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: increased transmission in the EU/EEA and the UK – seventh update, 25 March 2020.
6. ECDC RAPID RISK ASSESSMENT - Coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: increased transmission in the EU/EEA and the UK – eighth update, 08 April 2020.
7. Fletcher GS, *Clinical Epidemiology: The Essentials*, 6th edition, Walters Kluwer, 2020.
8. Ministero della Salute. Circolare Ministero della Salute “Pandemia di COVID-19 – Aggiornamento delle indicazioni sui test diagnostici e sui criteri da nella determinazione delle priorità”. 3/4/2020; <http://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2020&codLeg=73799&parte=1%20&serie=null> ultimo accesso 17/04/2020.
9. World Health Organization. (2020). Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance, 2 March 2020.



## La Società Italiana di Medicina del Lavoro dell'era repubblicana compie 70 anni

Nel 1948, durante il congresso di Torino (30 settembre - 3 ottobre) viene approvato un nuovo Statuto della Società, poi ratificato dal Presidente della Repubblica Luigi Einaudi con DPR 455/1950 del 5 aprile 1950. Lo statuto precedente, approvato con il Regio Decreto 1009 del 1940 conteneva infatti le norme all'epoca obbligatorie di fedeltà al Regno d'Italia e al regime fascista. Lo statuto “repubblicano” libera la Società da tali vincoli.