

REPORT - AGGIORNAMENTO

SARS-CoV-2: ATTIVITÀ DIAGNOSTICA DELL'IZSLT A SUPPORTO ALLA RETE CORONET DELLA REGIONE LAZIO

30 marzo 2020 – 13 marzo 2021

Il presente documento rappresenta l'aggiornamento alla data **del 13 marzo 2021** del precedente report relativo al periodo marzo 2020 – 28 febbraio 2021.

Si descrivono le attività condotte dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana (IZSLT) nell'ambito della rete CORONET regionale del Lazio, istituita al fine di assicurare il necessario supporto diagnostico in risposta alla pandemia di COVID-19 sostenuta dal virus SARS-CoV-2.

A partire dal 30 marzo 2020 l'attività di supporto alla rete regionale è progressivamente divenuta parte integrante dell'organizzazione aziendale dell'IZSLT e si è sviluppata in 2 fasi successive:

Fase 1. Attività di diagnostica molecolare di laboratorio. Dal 30 marzo al 17 agosto la UOC di Virologia dell'IZSLT ha condotto analisi molecolari su tamponi rino-faringei inviati da altre strutture del sistema sanitario regionale (ospedali, AASSLL, RSA) nell'ambito delle attività diagnostiche su persone con sintomi clinici, contatti di persone positive segnalati dal sistema di *tracing*, RSA, personale sanitario e forze dell'ordine.

Fase 2. Attivazione del Drive in, attività di diagnostica molecolare e gestione test Antigenici (Test Rapidi). Dal 18 agosto ad oggi l'IZSLT gestisce con proprio personale l'attività di un Drive in COVID attivato presso le proprie strutture, in collaborazione con personale medico ed infermieristico USCAR, responsabile per i prelievi e l'esecuzione dei test antigenici. Il test antigenico utilizzato nel periodo di osservazione: *STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)* a lettura strumentale fluorescente <https://covid-19-diagnostics.jrc.ec.europa.eu/devices/detail/345> - <http://sdbiosensor.com/xs/product/7677>

A partire dal 12 gennaio 2021, il precedente test antigenico è stato sostituito da un diverso test antigenico rapido su base immunocromatografica con lettura quantitativa degli esiti mediante strumentazione Confiscope-G20: *Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device* <https://covid-19-diagnostics.jrc.ec.europa.eu/devices/detail/1244>. Prosegue l'attività di diagnostica molecolare su tamponi rino-faringei inviati da altre strutture del sistema sanitario regionale e viene



eseguita la diagnostica molecolare su tamponi rino-faringei prelevati presso il Drive in, compresa la diagnostica molecolare di conferma su tamponi di persone risultate positive al test antigenico.

Il report rappresenta di seguito con maggiore dettaglio tre aspetti specifici connessi alle attività svolte:

1. Personale impiegato e attività diagnostica
2. Attività del Drive in
3. Elementi di valutazione dei trend relativi ai risultati al test molecolare ed al test rapido antigenico

PERSONALE INPIEGATO

Da marzo 2020 al **28 febbraio** 2021 sono state coinvolte nell'attività Covid dell'IZSLT complessivamente 100 unità di personale (UP) a tempo indeterminato su 362 lavoratori complessivi operanti presso le 4 sedi territoriali del Lazio. I lavoratori dell'IZSLT impiegati nell'attività appartengono a tutte le categorie professionali del settore sanitario (dirigenza e comparto), tecnico ed amministrativo operando a rotazione in 2 squadre di lavoro distinte: squadra Drive in; squadra di laboratorio.

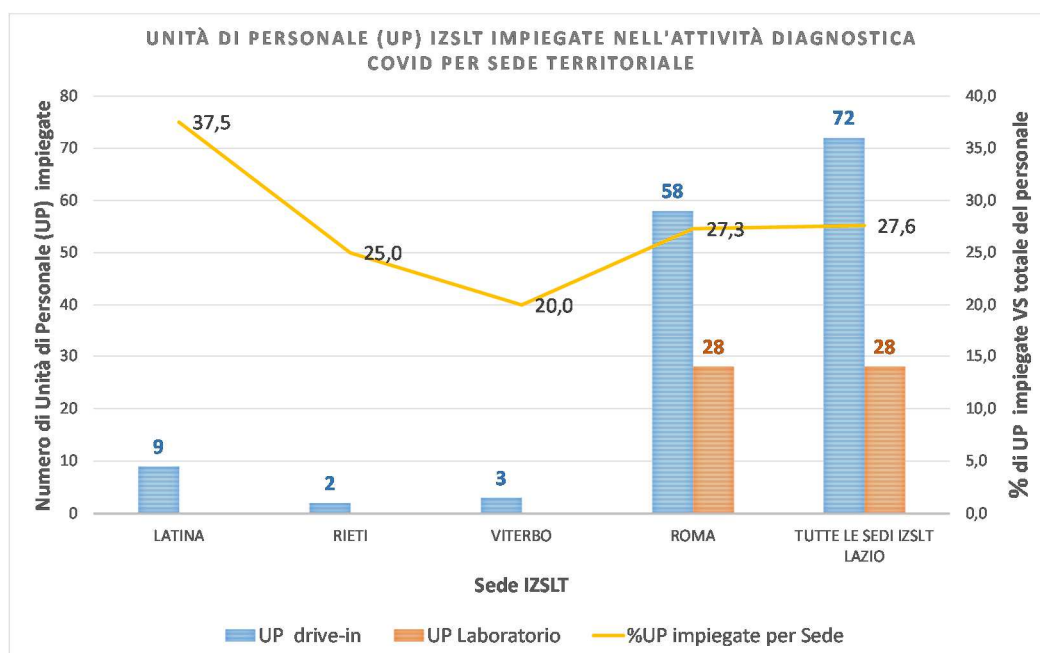
Complessivamente è stata assicurata la copertura delle attività per 164 giorni lavorativi consecutivi 7 giorni su 7, garantendo, nel contempo, la continuità dei servizi istituzionali di sanità pubblica veterinaria propri dell'Ente, a supporto della sanità pubblica.

L'attività presso il Drive in ha visto l'impiego di 78 unità di personale impegnate nella fase di organizzazione logistica, accoglienza, orientamento, gestione, smistamento ed accettazione delle utenze, rilevamento dati e trasferimento dei campioni al laboratorio di Virologia dell'IZSLT.

L'attività di laboratorio è stata sostenuta, a regime, da 28 UP impegnate nelle attività di registrazione dei campioni, analisi biomolecolare, refertazione, rapporto con l'utenza e comunicazione giornaliera degli esiti ai SISP delle ASL del Lazio. Le attività di laboratorio sono state condotte assicurando elevati standard qualitativi di esecuzione delle prove ed accuratezza degli esiti, nel rispetto dei massimi requisiti di sicurezza e di protezione degli operatori.

Nella figura seguente si riporta la distribuzione delle UP impiegate dall'IZSLT in funzione della sede territoriale di provenienza e dell'attività effettuata (Figura1).

Figura 1. Unità di personale IZSLT (UP) impiegate nell'ambito dell'attività covid-19 – Aggiornamento al 28 febbraio 2021



ATTIVITA' DIAGNOSTICA

Nella tabella seguente si riporta sinteticamente l'attività condotta dall'IZSLT a partire dal 30 marzo 2020, suddivisa per tipologia di test, con aggiornamento al 13 marzo 2021.

Tabella 1. Distribuzioni di frequenza dell'andamento mensile dell'attività condizionata alla tipologia di test
Aggiornamento al 13 marzo 2021

	Test molecolari	Test antigenici
Marzo	132	-
Aprile	5264	-
Maggio	5383	-
Giugno	1361	-
Luglio	1234	-
Agosto	2865	3834
Settembre	6321	2534
Ottobre	8356	11742
Novembre	7510	9517
Dicembre	4645	2273
Gennaio	4558	1079
		1312
Febbraio	4670	1881
Marzo	2672	1080
Totale	54971	35252

* STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)

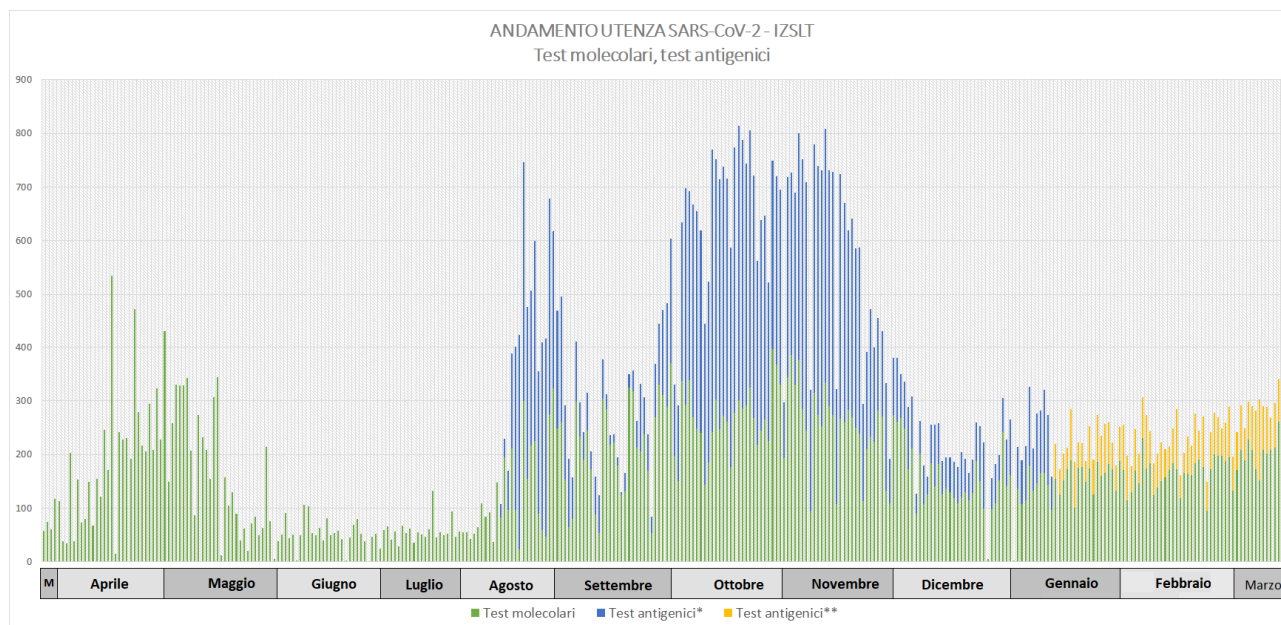
** Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Sono stati analizzati complessivamente **54971** campioni mediante test molecolari con un picco dell'attività nel mese di ottobre (8356) e valori leggermente inferiori nei mesi di settembre e novembre (rispettivamente 6321 e 7510).

Da agosto 2020 a marzo 2021 sono stati effettuati **35252** tamponi rino-faringei per l'esecuzione del test rapido antigenico, registrando un picco nel mese di ottobre con 11742 tamponi, simmetrico al picco dei test molecolari.

Di seguito si riporta un'analisi grafica per la valutazione dell'andamento dell'attività diagnostica per al Covid-19 (Test molecolari e Test antigenici) condotta presso l'IZSLT da marzo 2020 al 13 marzo 2021.

Figura 2. Andamento mensile attività inerente al Covid-19 – Aggiornamento al 13 marzo 2021



* *STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)*

** *Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device*

Uno dei primi dati ad emergere dall'analisi grafica è la coerenza con l'andamento epidemiologico della pandemia rilevato nel territorio nazionale. Si evidenzia infatti una distinzione netta tra le attività condotte durante la prima e la seconda ondata del virus, con picchi nei mesi di aprile e maggio e negli ultimi mesi del 2020.

Nei successivi paragrafi si riporta un'analisi più dettagliata delle attività svolte presso l'IZSLT nel 2020 e dei risultati ottenuti per tipologia di test, utile anche per alcune considerazioni comparative con il quadro nazionale in merito al trend della proporzione di positivi rispetto ai testati nel periodo marzo 2020 - marzo 2021.

1. TEST MOLECOLARI SARS-CoV-2

Nella seguente tabella si riportano i dati relativi alla distribuzione degli esiti dei test molecolari in funzione del mese di attività:

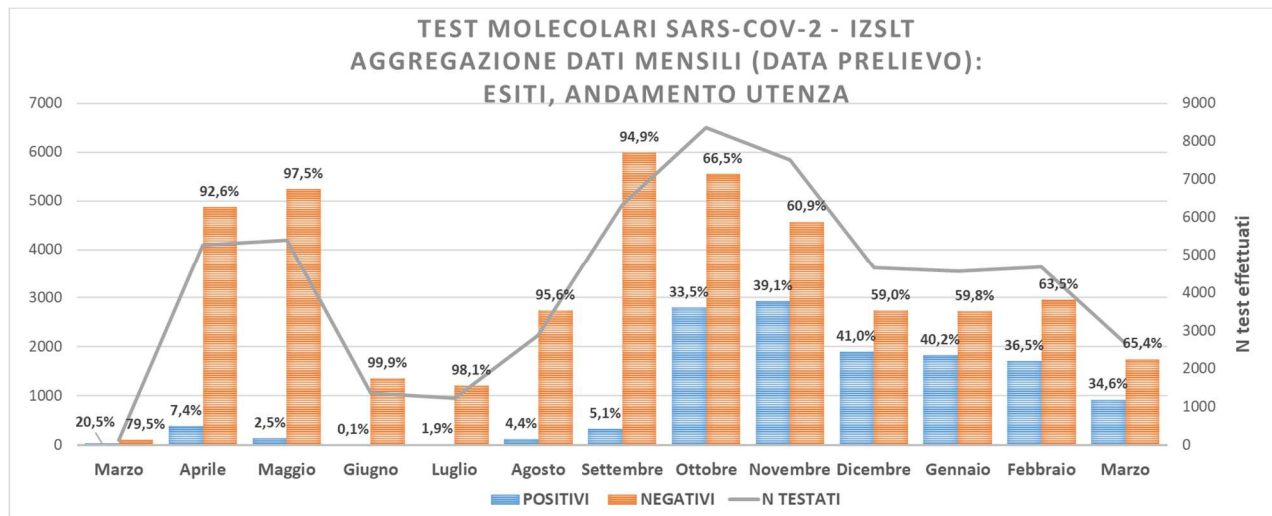
Tabella 2. Distribuzioni di frequenza dell'andamento mensile dell'attività condizionata all'esito del test molecolare e proporzione di esiti negativi e positivi rispetto alla popolazione testata - Aggiornamento al 13 marzo 2021

	Test effettuati	Negativi	%	Positivi	%
Marzo	132	105	79,5%	27	20,5%
Aprile	5264	4875	92,6%	389	7,4%
Maggio	5383	5250	97,5%	133	2,5%
Giugno	1361	1360	99,9%	1	0,1%
Luglio	1234	1211	98,1%	23	1,9%
Agosto	2865	2738	95,6%	127	4,4%
Settembre	6321	5998	94,9%	323	5,1%
Ottobre	8356	5554	66,5%	2802	33,5%
Novembre	7510	4574	60,9%	2936	39,1%
Dicembre	4645	2739	59,0%	1906	41,0%
Gennaio	4558	2725	59,8%	1833	40,2%
Febbraio	4670	2965	63,5%	1705	36,5%
Marzo	2672	1748	65,4%	924	34,6%
Totale	54971	41842	76,1%	13129	23,9%

Complessivamente, sull'intero periodo cumulato marzo 2020 – marzo 2021, la maggior parte dei test effettuati è risultata negativa (76,1%), con evidenti picchi di proporzione di positività in corrispondenza delle due rispettive ondate. Si registra, in particolare, un evidente picco di proporzione di positivi rispetto ai testati nel mese di dicembre, segnato dal 41% di positività e nei mesi di novembre 2020 e gennaio 2021, segnati rispettivamente dal 39% e dal 40% di positività. In analogia con l'andamento nazionale, la minor proporzione di positivi si registra nei mesi estivi del 2020, raggiungendo la minor frequenza percentuale (0,1%) nel mese di giugno.

Si riporta di seguito un'analisi grafica:

Figura 3. Andamento mensile dell'attività inerente al Covid-19 condizionata all'esito dei test molecolari - Aggiornamento al 13 marzo 2021



Il grafico sui dati prodotti presso l'IZSLT evidenzia chiaramente la distinzione tra la prima e la seconda ondata in termini di attività diagnostica effettuata e pressione esercitata sul laboratorio. Risulta tuttavia evidente dall'andamento delle barre condizionate all'esito dei test che la proporzione di positività osservata durante la seconda ondata ha raggiunto una intensità circa 5 volte superiore alla prima nei mesi di ottobre, novembre e dicembre, simmetricamente a quanto osservato a livello regionale e nazionale. Tra il mese di ottobre 2020 e gennaio 2021 la proporzione di positività si mantiene costante (circa 40%) per registrare un leggero decremento nei successivi mesi di febbraio e marzo 2021 (rispettivamente 36,5% e 34,6%).

Al fine di ottenere un'analisi più dettagliata delle attività di diagnostica molecolare svolte presso l'Ente, è stata rappresentata l'aggregazione settimanale dei dati, considerando come unità temporale il progressivo della settimana corrispondente (lunedì-domenica) dell'anno solare.

È possibile osservare l'andamento dei test effettuati presso l'IZSLT e degli esiti riscontrati nelle successive figure e tabelle, con un livello descrittivo superiore. In particolare, il dato settimanale consente di apprezzare, nell'ambito della seconda ondata, l'esistenza di 2 momenti di cambiamento significativo nel numero assoluto e nella proporzione di positivi rispetto ai testati. L'inizio di agosto, tra le settimane 32 e 33, è caratterizzato dall'incremento della proporzione di positivi in concomitanza con i primi rientri dai soggiorni estivi (dal 0,8% della settimana 32 al 7,8% della settimana 33). In corrispondenza degli inizi di ottobre, settimana 41 e 42, si osserva un ulteriore incremento significativo della proporzione di positivi (dal 3,1% della settimana 39 al 40% della settimana 42) a riprova della ampia pregressa circolazione virale nel mese di settembre. La proporzione di positività

si mantiene costante per le settimane successive, senza variazioni significative fino alla fine di gennaio. I trend osservati risultano speculari a quanto osservato a livello regionale e nazionale.

Figura 4. Andamento settimanale dell'attività di diagnostica molecolare inerente al Covid-19 condizionata all'esito dei test - Aggiornamento al 13 marzo 2021

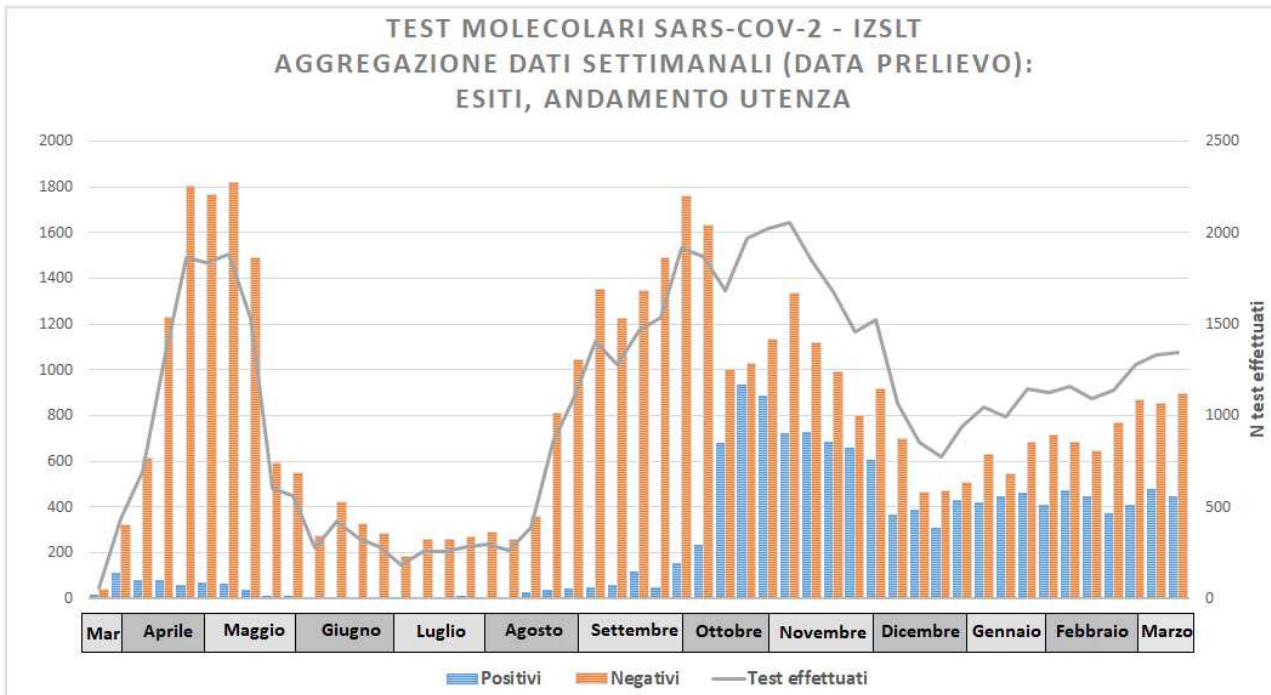


Tabella 3. Distribuzioni di frequenza dell'andamento settimanale dell'attività di diagnostica molecolare condizionata all'esito del test - Aggiornamento al 13 marzo 2021

Settimana	Test effettuati	Negativi	%	Positivi	%
13	58	43	74,1%	15	25,9%
14	438	323	73,7%	115	26,3%
15	696	613	88,1%	83	11,9%
16	1310	1229	93,8%	81	6,2%
17	1862	1804	96,9%	58	3,1%
18	1839	1767	96,1%	72	3,9%
19	1880	1817	96,6%	63	3,4%
20	1531	1491	97,4%	40	2,6%
21	604	592	98,0%	12	2,0%
22	561	551	98,2%	10	1,8%
23	278	277	99,6%	1	0,4%
24	424	424	100,0%		0,0%
25	328	328	100,0%		0,0%
26	284	284	100,0%		0,0%
27	183	182	99,5%	1	0,5%
28	259	258	99,6%	1	0,4%
29	258	257	99,6%	1	0,4%
30	284	270	95,1%	14	4,9%
31	297	291	98,0%	6	2,0%
32	262	260	99,2%	2	0,8%
33	387	357	92,2%	30	7,8%
34	851	813	95,5%	38	4,5%
35	1090	1044	95,8%	46	4,2%
36	1403	1352	96,4%	51	3,6%
37	1282	1223	95,4%	59	4,6%
38	1465	1346	91,9%	119	8,1%
39	1536	1488	96,9%	48	3,1%
40	1916	1762	92,0%	154	8,0%
41	1870	1635	87,4%	235	12,6%
42	1685	1004	59,6%	681	40,4%
43	1966	1030	52,4%	936	47,6%
44	2022	1135	56,1%	887	43,9%
45	2056	1335	64,9%	721	35,1%
46	1847	1117	60,5%	730	39,5%
47	1680	993	59,1%	687	40,9%
48	1461	800	54,8%	661	45,2%
49	1523	917	60,2%	606	39,8%
50	1067	701	65,7%	366	34,3%
51	856	466	54,4%	390	45,6%
52	777	470	60,5%	307	39,5%
53	942	510	54,1%	432	45,9%
1	1046	628	60,0%	418	40,0%
2	992	544	54,8%	448	45,2%
3	1147	683	59,5%	464	40,5%
4	1126	715	63,5%	411	36,5%
5	1158	683	59,0%	475	41,0%
6	1092	646	59,2%	446	40,8%
7	1138	766	67,3%	372	32,7%
8	1282	870	67,9%	412	32,1%
9	1330	851	64,0%	479	36,0%
10	1342	897	66,8%	445	33,2%
Totale	54971	41842	76,1%	13129	23,9%

Per quanto riguarda l'attività di diagnostica molecolare è stato possibile reperire il dato relativo all'ASL di provenienza delle persone che hanno effettuato il test. Nonostante la presenza di alcuni dati mancanti (2,8%), si riporta di seguito una tabella esplicativa:

Tabella 4. Distribuzione dei campioni analizzati mediante test molecolare in base alla ASL di residenza degli utenti. - Aggiornamento al 13 marzo 2021

ASL	RM 1	RM 2	RM 3	RM 4	RM 5	RM 6	FR	LT	RI	VT	N.R.	Totale
N	1814	18625	880	14952	1349	14269	40	136	654	700	1552	54971
%	3,3%	33,9%	1,6%	27,2%	2,5%	26,0%	0,1%	0,2%	1,2%	1,3%	2,8%	

2. TEST ANTIGENICI SARS-CoV-2

Premessa:

Dal 17 agosto 2020 al 11 gennaio 2021 è stato utilizzato il test rapido antigenico *STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)* a lettura strumentale fluorescente.

Tale metodo è stato sottoposto a validazione di performance da parte dell'Istituto Nazionale Malattie Infettive (INMI) Lazzaro Spallanzani (documento del 19 ottobre 2020) in base al quale è stato applicato il seguente algoritmo di interpretazione dei risultati quantitativi *Cut-Off Index (COI)*:

COI < 0,1 = negativo

COI compreso tra 0,1 e 9,9 = necessaria conferma con test molecolare

COI \geq 10 = positivo (nessuna conferma al test molecolare richiesta)

Tale algoritmo diagnostico tiene conto delle evidenze prodotte dal processo di valutazione eseguito, in base alle quali, per campioni risultati positivi al test rapido con valori COI \geq 10, la percentuale di conferma al test molecolare si è dimostrata superiore al 98,5%, evidenziando un valore predittivo positivo estremamente elevato.

Dal 12 gennaio al 13 marzo è stato utilizzato il test rapido antigenico *Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device* e lettura quantitativa effettuata con strumentazione *Confiscope G-20*.

La casa produttrice, tra i chiarimenti forniti, indicava la necessità di considerare la seguente combinazione di Cut-off / esito:

- S/Co < 1: il test è negativo;
- S/Co > 1,2: il test è positivo;
- S/Co compreso tra 1-1,2 (zona grigia): il test va ripetuto

Il test non è stato sottoposto alla fase di valutazione delle performance precedente al suo utilizzo. In fase di sua applicazione presso il Drive-In dell'IZSLT è stato quindi applicato un periodo di valutazione su campo, ancora in corso, attraverso un approccio di conferma sistematica mediante test molecolare di tutti i campioni risultati positivi al test rapido con valori S/Co \geq 1.

Risultati delle attività

Nella seguente tabella si riportano i dati relativi agli esiti dei test antigenici suddivisi per mese di attività, dall'istituzione del Drive in ad oggi:

Tabella 5. Distribuzioni di frequenza dell'andamento mensile dell'attività relativa ai test antigenici condizionata all'esito del test – Aggiornamento al 13 marzo 2021

	Test effettuati	Negativi	%	Positivi	%
Agosto	3834	3724	97,1%	110	2,9%
Settembre	2534	2501	98,7%	33	1,3%
Ottobre	11742	10387	88,5%	1355	11,5%
Novembre	9517	8273	86,9%	1244	13,1%
Dicembre	2273	2034	89,5%	239	10,5%
Gennaio (fino all'11)*	1079	1015	91,7%	64	8,3%
Gennaio (12-31)**	1312	1178	89,8%	134	10,2%
Febbraio	1881	1691	89,9%	190	10,1%
Marzo	1080	994	92,0%	86	8,0%
Totale	35252	31797	90,2%	3455	9,8%

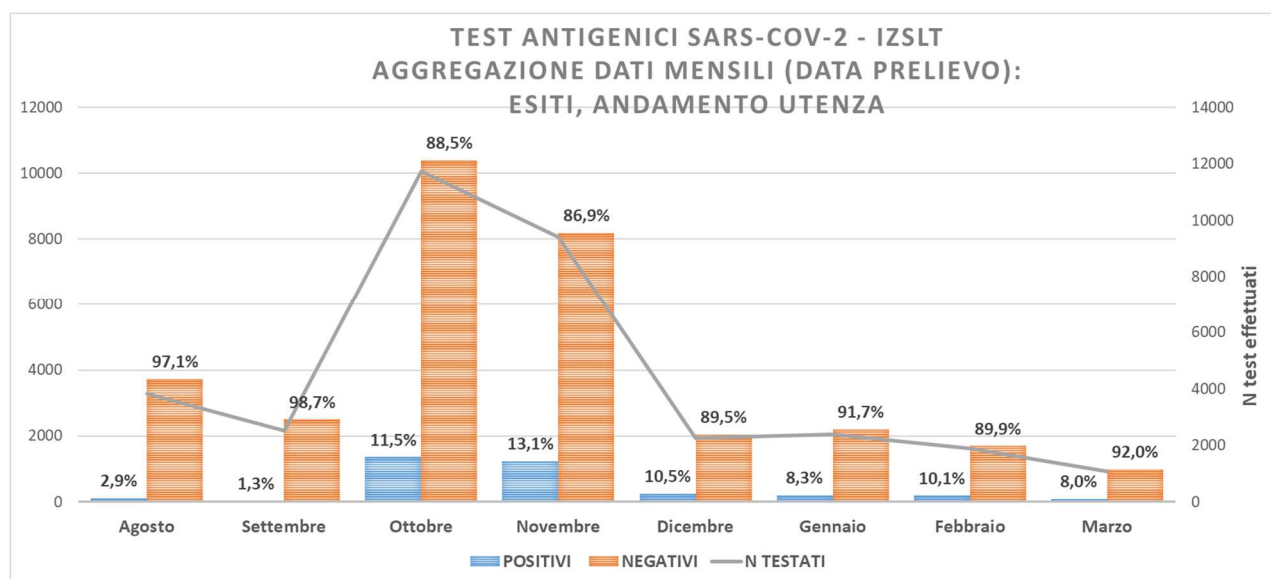
* STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)

** Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Da agosto 2020 a marzo 2021 si osserva che la maggior parte dei test effettuati (90,2%) risultano negativi con percentuali più alte a partire dal mese di ottobre 2020. Si registra la maggior proporzione di positivi rispetto ai testati nel mese di novembre con il 13% di positività riscontrate e la minor frequenza percentuale di esiti positivi (1,3%) nel mese di settembre.

Si riporta di seguito un'analisi grafica:

Figura 5. Andamento mensile dell'attività relativa ai test antigenici* condizionata all'esito dei test – Aggiornamento al 13 marzo 2021



* STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)

** Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Per quanto riguarda i test antigenici non è possibile effettuare un'analisi di confronto con la prima ondata del virus dal momento che l'attività del Drive in è stata implementata solo dalla seconda metà del mese di agosto, ma si conferma il quadro relativo alla proporzione di positivi rispetto ai testati già descritto per i test molecolari da agosto a gennaio.

Anche per la valutazione dei test antigenici è stata condotta un'analisi più dettagliata utilizzando l'aggregazione settimanale dei dati.

Si riportano di seguito la tabella e il grafico relativi alla nuova aggregazione temporale:

Tabella 6. Distribuzioni di frequenza dell'andamento settimanale dell'attività relativa ai test antigenici condizionata all'esito del test – Aggiornamento al 13 marzo 2021

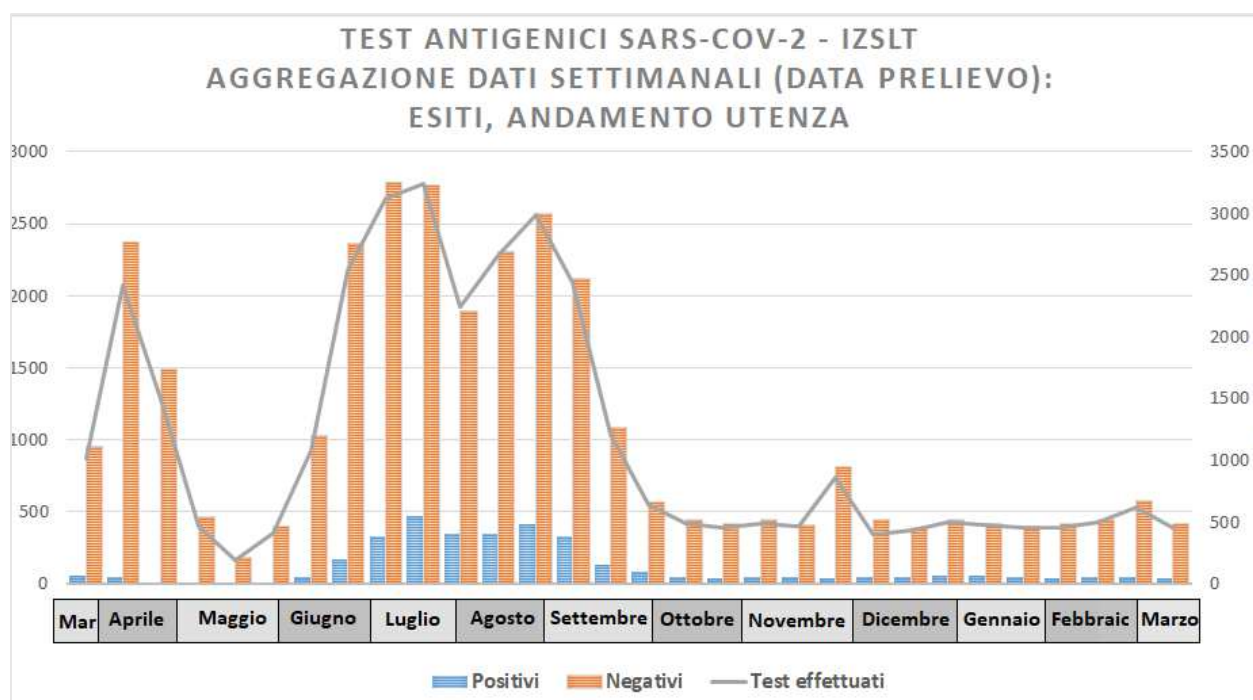
Settimana	Test effettuati	Negativi	%	Positivi	%
34	1012	958	94,7%	54	5,3%
35	2418	2370	98,0%	48	2,0%
36	1500	1488	99,2%	12	0,8%
37	469	466	99,4%	3	0,6%
38	189	184	97,4%	5	2,6%
39	406	397	97,8%	9	2,2%
40	1077	1027	95,4%	50	4,6%
41	2538	2365	93,2%	173	6,8%
42	3115	2786	89,4%	329	10,6%
43	3243	2769	85,4%	474	14,6%
44	2247	1896	84,4%	351	15,6%
45	2661	2310	86,8%	351	13,2%

46	2992	2575	86,1%	417	13,9%
47	2441	2116	86,7%	325	13,3%
48	1212	1083	89,4%	129	10,6%
49	645	565	87,6%	80	12,4%
50	488	443	90,8%	45	9,2%
51	456	415	91,0%	41	9,0%
52	489	443	90,6%	46	9,4%
53	461	410	88,9%	51	11,1%
1	858	817	95,2%	41	4,8%
2	62	51	82,3%	11	17,7%
	381	348	91,3%	33	8,7%
3**	435	386	88,7%	49	11,3%
4**	496	444	89,5%	52	10,5%
5**	475	422	88,8%	53	11,2%
6**	451	404	89,6%	47	10,4%
7**	455	414	91,0%	41	9,0%
8**	500	451	90,2%	49	9,8%
9**	623	575	92,3%	48	7,7%
10**	457	419	91,7%	38	8,3%
Totale	34172	30803	90,1%	3369	9,9%

* STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)

** Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Figura 6. Andamento settimanale dell'attività relativa ai test antigenici* condizionata all'esito del test – Aggiornamento al 13 marzo 2021



* STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)

** Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

La sostituzione del metodo rapido, intervenuta in data 12 gennaio 2021, non sembrerebbe aver prodotto modificazioni significative della proporzione apparente di positività al test antigenico. Tuttavia, la verifica su campo della concordanza degli esiti tra test antigenico rapido *Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device* e test molecolare è ancora in corso ed una valutazione più approfondita della Accuratezza Relativa del nuovo metodo antigenico sarà disponibile nelle prossime settimane.

In relazione al dato relativo all'ASL di provenienza delle persone che hanno effettuato il test antigenico, a partire dal 16 ottobre 2020 l'attività di importazione dei dati è stata collegata al sistema regionale, motivo per cui questa informazione è disponibile solo a partire da questa data.

Anche in questa analisi si osserva la presenza di dati mancanti (0,6%), si riporta di seguito una tabella esplicativa:

Tabella 5. Distribuzione dei campioni analizzati mediante test rapido antigenico in base alla ASL di residenza degli utenti. - Aggiornamento al 13 marzo 2021

ASL	RM1	RM2	RM3	RM4	RM5	RM6	FR	LT	RI	VT	Altre regioni	N.R.	Totale
N	938	12097	653	64	847	8777	25	135	30	24	95	174	23859
%	3,9%	50,7%	2,7%	0,3%	3,6%	36,8%	0,1%	0,6%	0,1%	0,1%	0,4%	0,7%	

Confronto in parallelo dei risultati tra test antigenici positivi con valori COI compresi tra 0,1 e 9,99 e test molecolari di conferma (14 ottobre 2020-11 gennaio 2021)

Test antigenico rapido: *STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)*

Dal giorno 14 ottobre 2020 l'IZSLT ha iniziato, presso la UOC di Virologia, le attività di conferma con test molecolare dei campioni provenienti dal Drive in risultati positivi al test rapido *STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)* con *Cut-Off Index (COI)* compreso tra 0,1 e 9,99, misura quantitativa della carica virale rilevata tramite test antigenico. Questa misura permette di operare un'altra classificazione oltre la classica dicotomia negativo/positivo; distingue infatti i soggetti considerati confermati positivi con un valore COI uguale o superiore a 10 dai soggetti positivi per i quali si necessita di conferma tramite test molecolare.

Dal 14 ottobre 2020 all'11 gennaio 2021 sono stati effettuati 20.504 test antigenici, tra questi 1103 soggetti hanno effettuato un test molecolare nella stessa giornata presso l'IZSLT, di cui 991 (89,8%) riportavano un valore COI inferiore a 10, quindi con esito da sottoporre a conferma. Il 9,8% degli utenti ha invece riportato un valore negativo al test rapido, ma ha comunque effettuato un test molecolare nella stessa data. Infine, una proporzione pari a 0,4% degli utenti, nonostante sia risultato positivo confermato al test antigenico ($COI \geq 10$) ha comunque effettuato anche il test molecolare lo stesso giorno.

Di seguito si riportano le tabelle riassuntive delle distribuzioni di frequenza degli esiti dei test scaturite dal percorso di selezione dati appena descritto.

Nella prima tabella si valutano le proporzioni di soggetti risultati positivi o negativi al test molecolare di conferma successivo ad un primo test rapido risultato positivo. Per quanto riguarda i soggetti con un valore positivo del test antigenico l'86% conferma il risultato del primo test anche tramite il test molecolare di riferimento, mentre il 13,8% è risultato negativo.

Tabella 6. Distribuzione degli esiti al test molecolare di conferma eseguito su campioni risultati positivi al test rapido antigenico *STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)*.

		Esito test molecolare		Totale
		Positivo	Negativo	
Esito test antigenico*	Positivo	854	137	991
	%	86,2%	13,8%	

* *STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)*

Un altro dato su cui focalizzare l'attenzione, che è possibile osservare nella seguente tabella, è la proporzione di soggetti risultati negativi al test antigenico che, effettuando un test molecolare nella stessa giornata, risulta invece positiva. Dai dati disponibili circa il 28% degli utenti negativi al test antigenico è risultato positivo al test molecolare eseguito in parallelo.

Si ritiene che i dati qui rappresentati debbano essere considerati validi per una valutazione esplorativa dei risultati ottenuti e debbano essere valutati con cautela a causa delle possibili distorsioni derivanti dalla osservazione di un campione di convenienza, peraltro di modesta numerosità.

Tabella 7. Distribuzione degli esiti al test molecolare eseguito su campioni risultati negativi al test rapido antigenico STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche).

		Esito test molecolare		Totale
		Positivo	Negativo	
Esito test antigenico*	Negativo	30	78	108
	%	27,8%	72,2%	

* STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)

A partire dal 24 ottobre 2020 è stato possibile usufruire del dato relativo alla misura quantitativa del valore COI sugli utenti che presentavano un valore COI compreso tra 0,1 e 9,99.

Nell'intervallo temporale tra il 24 ottobre 2020 e l'11 gennaio 2021, i soggetti che hanno presentato un valore COI critico e che hanno effettuato un test molecolare di conferma nella stessa data sono 485. Nella tabella seguente è possibile osservare la distribuzione di tali soggetti secondo il valore COI, le classi considerate sono state stabilite a partire dai quartili della variabile considerata.

Tabella 8. Esiti al test molecolare di conferma eseguito sul subset di campioni risultati positivi al test rapido antigenico con esito quantitativo noto ($0,1 > \text{COI} < 10$). Distribuzione assoluta per classi di esito quantitativo (quartili). STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche).

COI test antigenico*	Esito test molecolare		Totale
	Negativo	Positivo	
0,1 - 2	75	136	211
2,1 - 6	27	156	183
6,1 - 9,9	8	83	91
Totale	110	375	485

* STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)

In riferimento all'ipotesi secondo cui un valore COI più alto possa implicare una più alta probabilità di risultare positivo al test di riferimento (metodo molecolare) sono stati prodotti i seguenti risultati.

Tabella 9. Esiti al test molecolare di conferma eseguito sul subset di campioni risultati positivi al test rapido antigenico con esito quantitativo noto ($0,1 > \text{COI} < 10$). Distribuzione percentuale per classi di esito quantitativo (quartili). STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche).

COI test antigenico*	Esito test molecolare		p-value
	Negativo	Positivo	
0,1 - 2	35,55%	64,45%	< 0,001
2,1 - 6	14,75%	85,25%	
6,1 - 9,9	8,79%	91,21%	

* STANDARD F COVID-19 Ag Fluorescence Immuno Assay test (SD Biosensor Inc., Roche)

Dalla tabella si osserva una possibile relazione statistica tra il valore COI relativo al test antigenico e l'esito del test molecolare. Come atteso, al crescere del valore COI la proporzione di soggetti positivi in parallelo al test molecolare di conferma aumenta. La proporzione di esiti concordi antigenico/molecolare, al contrario, è significativamente inferiore in corrispondenza di valori COI più bassi.

Per saggiare questa ipotesi sono stati utilizzati due test: a) il test χ^2 di Pearson per verificare la correlazione tra le variabili: b) il test di Armitage (*Cochran-Armitage test for trend*), attraverso cui è possibile verificare la presenza di un trend lineare delle proporzioni.

Entrambi i test sono risultati statisticamente significativi, individuando dunque una componente lineare che spiega l'andamento delle proporzioni.

Confronto in parallelo dei risultati tra test antigenici positivi con valori S/Co ≥ 1 e test molecolari di conferma (12 gennaio 2021-13 marzo 2021)

Test antigenico rapido: *Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device*

(NUOVA SEZIONE DEL REPORT)

Dal giorno 12 gennaio 2021 la UOC di Virologia dell'IZSLT ha continuato le attività di conferma con test molecolare dei campioni provenienti dal Drive in risultati positivi al diverso test rapido *Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device* e lettura quantitativa effettuata con strumentazione Confiscope G-20.

Il test viene fornito dalla casa produttrice con indicazione dei seguenti parametri di accuratezza:

Diagnostic sensitivity: 90,0% (95% CI = 73,47% - 9,89%)

Diagnostic specificity: 98,0% (95% CI = 92,96% - 99,76%)

Accuracy: 96%

Limit of Detection (LoD) 5.07×10^2 TCID₅₀/ml (on inactivated cultures)

Il test immunocromatografico *Genbody* restituisce risultati qualitativi (positivo/negativo) basati sulla lettura ottica effettuata dall'operatore, riferita alla presenza/assenza della banda cromatica di precipitazione dell'immuno-coniugato. Mediante apparecchiatura *Confiscope* viene effettuata una lettura strumentale dell'intensità della reazione colorimetrica di precipitazione che restituisce un valore quantitativo (S/Co) in caso di positività.

La casa produttrice, tra i chiarimenti forniti, ha indicato il seguente algoritmo di interpretazione del risultato quantitativo:

- S/Co > 1,2: il test è positivo;
- S/Co < 1: il test è negativo;
- S/Co compreso tra 1-1,2 (zona grigia): il test va ripetuto

In fase di applicazione del test rapido antigenico *Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device* presso il Drive in dell'IZSLT è stato applicato un approccio di conferma mediante test molecolare di tutti i campioni risultati positivi al test immunocromatografico (risultati qualitativi) e positivi con valori quantitativi S/Co ≥ 1 . Tale approccio è stato adottato al fine di valutare sul campo i livelli di concordanza tra test rapido antigenico e test molecolare di conferma.

Dal 12 gennaio 2021 al 13 marzo 2021 sono stati effettuati 4273 test antigenici, tra questi 481 soggetti hanno effettuato un test molecolare nella stessa giornata presso l'IZSLT, di cui 408 (84,8%) riportavano un risultato positivo al test antigenico. Il 15,2% degli utenti ha invece riportato un valore negativo al test rapido, ma ha comunque effettuato un test molecolare nella stessa data.

Seguendo una logica analoga a quella utilizzata per il confronto in parallelo del precedente test antigenico utilizzato, è stata operata una divisione in classi della misura quantitativa restituita dal nuovo test in base ai quartili della distribuzione.

Nella tabella seguente è possibile osservare la distribuzione condizionata dei soggetti in riferimento alle variabili relative all'esito dei due differenti test utilizzati.

Tabella 10. Distribuzione degli esiti al test molecolare eseguito su campioni risultati negativi al test rapido antigenico Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Test antigenico*	Esito test molecolare		Totale
	Negativo	Positivo	
Negativo	60	13	73
%	82,2%	17,8%	

*Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Per quanto riguarda i test rapidi risultati negativi, 13 su 73 campioni analizzati (17,8%) sono risultati invece positivi al test molecolare.

Tabella 11. Esiti al test molecolare di conferma eseguito sui campioni risultati positivi al test rapido antigenico con esito quantitativo noto (S/Co). Distribuzione assoluta per classi di esito quantitativo (quartili). Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Test antigenico*	Esito test molecolare		Totale
	Negativo	Positivo	
$1 \leq S/Co \leq 2$	129	25	154
$2 < S/Co < 6$	28	25	53
≥ 6	2	199	201
Totale	159	249	408

*Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Dalle analisi condotte, le proporzioni di soggetti negativi al test molecolare di conferma è inversamente proporzionale al crescere del valore quantitativo S/Co restituito dal test rapido, mentre la proporzione di soggetti positivi al test molecolare di conferma aumenta in corrispondenza di un incremento del valore quantitativo del test antigenico.

In particolare, circa l'88% (224/254) dei campioni risultati positivi al test rapido antigenico Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device con $S/Co > 2$ viene confermato al test molecolare. Tale proporzione sale al 99% per i campioni positivi al test rapido antigenico Genbody con $S/Co \geq 6$.

Per confermare l'ipotesi appena considerata sono stati calcolati due test: a) il test χ^2 di Pearson per verificare la correlazione tra le variabili; b) il test di Armitage (*Cochran-Armitage test for trend*), attraverso cui è possibile verificare la presenza di un trend lineare delle proporzioni.

Tabella 12. Esiti al test molecolare di conferma eseguito sul subset di campioni risultati positivi al test rapido antigenico con esito quantitativo noto (S/Co). Distribuzione percentuale per classi di esito quantitativo (quartili). Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Test antigenico*	Esito test molecolare		p-value
	Negativo	Positivo	
$1 \leq S/Co \leq 2$	83,77%	16,23%	< 0,001
$2 < S/Co < 6$	52,83%	47,17%	
≥ 6	1,00%	99,00%	

*Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Entrambi i test statistici utilizzati sono risultati statisticamente significativi, individuando dunque una componente lineare che spiega l'andamento delle proporzioni.

È stata inoltre condotta una diversa analisi degli stessi dati, utilizzando una divisione in classi del risultato quantitativo differente, rispondente all'approccio di impiego della conferma con test molecolare su tutti i campioni con risultato quantitativo $S/Co \geq 1$, adottata presso il Drive in IZSLT.

Al fine di ottenere un maggiore dettaglio è stata operata un'ulteriore divisione in classi della categoria relativa ai test con un risultato superiore a $S/Co 1,2$, facendo riferimento ai quartili della distribuzione del sottoinsieme considerato.

Di seguito le distribuzioni di frequenza condizionate all'esito del test molecolare di conferma, effettuato sui campioni con esito quantitativo $S/Co \geq 1$ al test rapido antigenico Genbody.

Tabella 13. Esiti al test molecolare di conferma eseguito sui campioni risultati positivi al test rapido antigenico con esito quantitativo noto (S/Co). Distribuzione assoluta per classi di esito quantitativo basate sui limiti cut-off forniti dal produttore. Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Test antigenico*	Esito test molecolare		Totale
	Negativo	Positivo	
$1 \leq S/Co \leq 1,2$	68	9	77
$1,2 < S/Co \leq 3$	80	22	102
$3 < S/Co \leq 3,7$	5	10	15
$>3,7$	6	208	214
Totale	159	249	408

*Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Anche in questo caso è stata indagata l'esistenza di una correlazione lineare tra le classi di esito quantitativo al test rapido antigenico e l'esito al test molecolare di conferma con la verifica. Entrambi i test utilizzati a tale scopo (test χ^2 di Pearson, test di Armitage) sono risultati statisticamente significativi.

Tabella 14. Esiti al test molecolare di conferma eseguito sui campioni risultati positivi al test rapido antigenico con esito quantitativo noto (S/Co). Distribuzione percentuale per classi di esito quantitativo basate sui limiti cut-off forniti dal produttore. Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Test antigenico*	Esito test molecolare		p-value
	Negativo	Positivo	
$1 \leq S/Co \leq 1,2$	88,3%	11,7%	< 0,001
$1,2 < S/Co \leq 3$	78,4%	21,6%	
$3 < S/Co \leq 3,7$	33,3%	66,7%	
$>3,7$	2,8%	97,2%	

*Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device

Una proporzione pari a circa 88% di campioni con esito quantitativo al test rapido antigenico compreso tra 1 e 1,2 (68 su 77) è risultata negativa al test molecolare, contro una proporzione di positivi al molecolare pari a circa 12% (9 su 77). Le proporzioni di soggetti risultati negativi al test molecolare di conferma diminuiscono gradualmente con l'aumentare del valore S/Co del test antigenico. Si osserva un progressivo incremento della proporzione di positivi concordi ai due test

all'aumentare del valore quantitativo S/Co dell'esito al test rapido antigenico. Tale proporzione raggiunge il 97,2% di concordanza per i campioni con esito quantitativo S/Co superiore a 3,7.

NOTA. Anche per la verifica di concordanza tra esito del test rapido antigenico Genbody COVID-19 Ag Test In Vitro Diagnostic Medical Device e l'esito al test molecolare di conferma, si raccomanda di considerare i risultati ottenuti come esplorativi. I dati presentati devono essere valutati con cautela a causa delle possibili distorsioni derivanti dalla osservazione di un campione di convenienza, peraltro di modesta numerosità, il quale non consente, allo stato attuale, di effettuare inferenza statistica dei risultati.

A cura di

Dr.ssa Giulia Passavanti - Statistico – Osservatorio Epidemiologico

Dr. Marcello Sala - Dirigente veterinario – Osservatorio Epidemiologico