

2Aprile

Negligenza professionale?

Parte seconda: Risposta ai quesiti del 1 aprile

A volte una piccola negligenza prepara un gran male.

Benjamin Franklin

Quanto sono accurati i risultati dei test?

Nessun test fornisce un risultato accurato al 100%; i test devono essere valutati per determinare la loro sensibilità e specificità, idealmente rispetto a un "gold standard". La mancanza di un "gold standard" così chiaro per i test covid-19 rende difficile la valutazione dell'accuratezza del test.

Una revisione sistematica dell'accuratezza dei test covid-19 ha riportato tassi di falsi negativi compresi tra il **2% e il 29%** (pari a una sensibilità del 71-98%), sulla base di test RT-PCR negativi che erano positivi alla ripetizione del test. È probabile che l'uso di test RT-PCR ripetuti come gold standard sottostimi il vero tasso di falsi negativi, poiché non tutti i pazienti negli studi inclusi hanno ricevuto test ripetuti e quelli con covid-19 clinicamente diagnosticato non sono stati considerati come affetti da covid-19 (Arevalo-Rodriguez I 2020)

L'accuratezza dei tamponi di RNA virale nella pratica clinica varia a seconda del sito e della qualità del campionamento. In uno studio, la sensibilità della RT-PCR in *205 pazienti* variava, al **93%** per il lavaggio bronco-alveolare, al **72%** per l'espettorato, al **63%** per i tamponi nasali e **solo al 32% per i tamponi faringei**. (Wang W 2020) È anche probabile che l'accuratezza vari a seconda dello stadio della malattia e del grado di moltiplicazione o eliminazione virale. Le sensibilità più elevate vengono riportate a seconda di quali geni target vengono utilizzati e se vengono utilizzati più test genetici in combinazione. (Vogels CBF 2020)

-Arevalo-Rodriguez I, Buitrago-Garcia D, Simancas-Racines D, et al. **Risultati falsi negativi dei test RT-PCR iniziali per covid-19: una revisione sistematica**. medRxiv 20066787.2020

-Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, Tan W. **Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens**. JAMA. 2020 May 12;323(18):1843-1844. doi: 10.1001/jama.2020.3786. PMID: 32159775; PMCID: PMC7066521.

-Vogels CBF, Brito AF, Wyllie AL, et al. **Sensibilità analitica e confronti dell'efficienza dei test SARS-COV-2 qRT-PCR**. medRxiv 20048108.2020 doi: 10.1101

Qual è il "golden standard" di un tampone nasofaringeo ?

Non è tecnicamente definibile. La mancanza di un chiaro "gold standard" è una sfida per la valutazione dei test covid-19; pragmaticamente, il giudizio clinico può essere il miglior "gold standard" disponibile, basato su tamponi ripetuti, anamnesi e contatti con pazienti noti per avere covid-19, radiografie del torace e scansioni di tomografia computerizzata. Inevitabilmente questo introduce qualche bias di incorporazione, dove il test in corso di valutazione fa parte dello standard di riferimento, e questo tenderebbe a gonfiare la sensibilità misurata di questi test. La prevalenza della malattia può anche influenzare le stime di accuratezza: i test sviluppati e valutati in popolazioni con alta prevalenza (ad esempio, cure secondarie) possono avere una sensibilità inferiore quando applicati in un contesto di prevalenza inferiore (ad esempio, cure primarie). (Usher-Smith JA 2020)

-Usher-Smith JA, Sharp SJ, Griffin SJ. **L'effetto dello spettro nei test per la previsione del rischio, lo screening e la diagnosi**. BMJ 2016 ; 353 : i3139 .

Per un test naso faringeo che differenza c'è tra "sensibilità" e "specificità"

Sensibilità e specificità possono creare termini confusi che possono essere fraintesi . La sensibilità è la percentuale di pazienti con malattia che hanno un test positivo o il tasso di vero positivo. La

specificità è la percentuale di pazienti senza malattia che hanno un test negativo o un tasso di veri negativi. Questi termini descrivono le caratteristiche operative di un test e possono essere utilizzati per valutare la credibilità del risultato di un test. Possono essere combinati per calcolare i rapporti di verosimiglianza, che sono numeri adimensionali che indicano la forza di un risultato del test positivo o negativo. (Casscells W 1978)

-Casscells W, Schoenberger A, Graboyes TB. **Interpretation by physicians of clinical laboratory results.** N Engl J Med. 1978 Nov 2;299(18):999-1001.

Nel ragionamento medico che cosa definiamo come "errore di negligenza" ?

L'interpretazione del risultato di un test dipende non solo dalle caratteristiche del test stesso, ma anche dalla probabilità di malattia pre-test. I medici usano un'*euristica* (una scorciatoia mentale appresa) chiamata *ancoraggio* e adattamento per stabilirsi su una probabilità pre-test (chiamata ancora). Quindi regolano questa probabilità in base a informazioni aggiuntive. Questa euristica è una scorciatoia utile ma ha il potenziale per bias. Quando le persone non riescono a stimare la probabilità pre-test e rispondono solo a una nuova informazione, commettono un errore chiamato *negligenza del tasso di base*. Un altro errore chiamato *ancoraggio* è quello di non riuscire ad aggiustare adeguatamente la propria stima di probabilità, data la forza delle nuove informazioni. I rapporti di probabilità possono dare al medico un'idea di quanto aggiustare le proprie stime di probabilità. I medici utilizzano intuitivamente l'ancoraggio e la regolazione in modo ponderato per stimare inconsciamente le probabilità pre e post-test nella pratica clinica quotidiana. Tuttavia, di fronte a una malattia nuova e sconosciuta come il covid-19, le scorciatoie mentali possono essere incerte e inaffidabili e la narrativa pubblica sulla natura definitiva dei test può distorcere le percezioni.

A tuo giudizio cosa avrebbe dovuto fare ?

La decisione di Biagio di tornare a lavorare potrebbe aver avuto conseguenze significative per i suoi pazienti, colleghi e tutti coloro con cui è entrato in contatto. È quindi più sicuro per questo medico di famiglia con sintomi fortemente suggestivi autoisolarsi in linea con le linee guida per covid-19, anche se i risultati del suo test sono negativi. Questo caso illustra l'errore di *negligenza del tasso di base*; si può essere tentati di fidarsi dei risultati di un test "oggettivo" più che del proprio giudizio clinico "soggettivo".

A proposito dei marcatori sierologici di infezione come endpoint di efficacia del vaccino

- La sensibilità e la specificità di qualsiasi dosaggio sierologico per la malattia SARS-CoV-2 non sono note data l'assenza di un gold standard convalidato per la diagnosi. [41](#)
- La sensibilità e la specificità riportate dei test anticorpali per SARS-CoV-2 variano ampiamente [53](#) e sono molto probabilmente influenzate dalla tempistica del campionamento in relazione all'infezione. [49](#) , [52](#) , [53](#)
- I test devono essere in grado di distinguere gli anticorpi indotti dall'infezione da quelli indotti dalla vaccinazione.
- La cinetica delle risposte anticorpali a seguito di infezione è descritta in modo incompleto e potrebbe diminuire sostanzialmente entro mesi. [54](#)
- Gli individui possono essere sieronegativi per gli anticorpi dopo l'infezione, come evidenziato dalla rilevazione delle risposte dei linfociti T di memoria a SARS-CoV-2 in assenza di anticorpi. [55](#)

Il risultato più favorevole, e quello che tutti i ricercatori di vaccini vorrebbero vedere, è che i primi studi di efficacia su larga scala mostrano che i vaccini SARS-CoV-2 conferiscono una protezione robusta che porterà una rapida fine alla pandemia.

La protezione potrebbe derivare dall'induzione di un titolo anticorpale sierico che supera la soglia protettiva (attualmente sconosciuta, per un periodo significativo o se viene innescata una risposta anticorpale che può essere richiamata rapidamente

Anche le risposte immunitarie cellulari e / o mucose ad alcuni componenti del vaccino possono contribuire alla protezione. .

Un risultato indesiderabile sarà se i primi vaccini testati non sono sufficientemente immunogenici da essere protettivi ma non sono associati a eventi avversi significativi prima o dopo l'infezione da SARS-CoV-2. Le proteine ricombinanti S o RBD sono nettamente più immunogeniche degli attuali mRNA Warp Speed o dei vaccini a base di adenovirus ([Fig. 2](#)). Le prove di follow-on di queste proteine, usate da sole o in combinazione con i candidati precedenti (cioè, strategie prime-boost), potrebbero fornire la risposta. La preoccupazione più sostanziale qui è il tempo perso di fronte a una pandemia in espansione.

Esiste, tuttavia, un risultato prevedibile che potrebbe ritardare di decenni il più ampio campo dei vaccini. Se i primi vaccini testati non riescono a proteggere la maggior parte dei destinatari ma innescano o innescano un anticorpo o un'altra risposta immunitaria che esacerba la malattia COVID-19 nelle persone che vengono infettate, ci sarà una feroce reazione pubblica contro i vaccini in generale. Le sperimentazioni sul vaccino Warp Speed COVID-19 sono di enorme interesse per la nostra società e stanno ricevendo un'attenzione costante da parte della stampa e del pubblico. Una piccola ma schietta fazione che si oppone alla vaccinazione per ragioni irrazionali sarebbe ancora più eccitata da eventi avversi e, nell'America politicamente polarizzata del 2020, potrebbe ricevere un sostegno di alto livello. Le conseguenze potrebbero essere gravi danni non solo per le prospettive di un vaccino COVID-19 di successo, ma anche per l'adozione dei vaccini comunemente usati che sono essenziali per la salute e il benessere dei nostri bambini. La posta in gioco è

alta. Un potente articolo di opinione sul New York Times sostiene fortemente la necessità di ottenere il set di dati più completo possibile sui potenziali rischi dei vaccini SARS-CoV-2 e sollecita la FDA a non rilasciare un'approvazione per l'uso di emergenza basata esclusivamente sui dati di immunogenicità (<https://www.nytimes.com/2020/06/08/opinion/trump-coronavirus-vaccine.html>). Siamo assolutamente d'accordo.

CHE COS'È UN TITOLO PROTETTIVO ANTICORPO PER UN VACCINO SARS-COV-2 E PER QUANTO TEMPO POTREBBE PERSISTERE?

Variabili genetiche scarsamente comprese influenzano il modo in cui persone diverse rispondono allo stesso immunogeno, che è un punto chiave quando si vaccinano grandi popolazioni.

Un vaccino è utile se la maggior parte dei riceventi sviluppa una risposta anticorpale che supera la soglia di protezione e, preferibilmente, per un periodo misurato in anni e non in settimane ([Fig. 3](#)).

Tipicamente, i titoli degli anticorpi variano di oltre 100 volte tra le persone a cui sono stati somministrati vaccini con proteine dell'HIV-1 o del virus influenzale ([82](#) , [133](#) , [134](#)). Le risposte anticorpali, neutralizzanti o meno, ai vaccini a base di proteina S SARS-CoV-1 e -2 e MERS-CoV sono analogamente variabili negli animali e nell'uomo ([35](#) , [62](#) , [88](#) , [92](#) , [93](#) , [103](#)).

Come esempio estremo di come le risposte anticorpali possono variare in una coorte di studio sull'uomo, i titoli anticorpali di picco anti-proteina S indotti da un

vaccino a DNA MERS-CoV variavano da 3 a 300.000 e in molti volontari, nessun anticorpo era rilevabile nella maggior parte dei punti temporali ([103](#)).

Pertanto, un parametro chiave è dove si trova un titolo protettivo rispetto alla gamma di risposte indotte dai vari candidati vaccini ([Fig. 3](#)). Solo i rispondenti più forti o la maggior parte di loro superano una soglia protettiva? Per quanto?

Non sappiamo quale entità di una risposta anticorpale indotta dal vaccino potrebbe proteggere gli esseri umani dall'infezione da SARS-CoV-2 e / o da malattie gravi. Nell'esperimento di rechallenge SARS-CoV-2 del macaco rhesus su piccola scala di cui sopra, i due macachi apparentemente protetti avevano titoli del punto medio NAb di 8 e 16 in un saggio RV il giorno della loro seconda sfida.

Sebbene siano stati misurati gli anticorpi anti-S, non sono stati riportati dati sul titolo ([63](#)). Nessun correlato di protezione è stato identificato né in questo studio né in quello un po 'più ampio di un disegno simile ([63](#) , [64](#)). Informazioni su titoli eventualmente protettivi NAb può emergere nei prossimi mesi da studi passivi immunoterapia in cui campioni di plasma da recuperati COVID-19 pazienti sono infusi in quelli con infezione attiva ([44](#) , [135](#) , - [137](#)). I titoli di NAb e di anticorpi leganti infusi potrebbero essere confrontati con i risultati clinici osservati, sebbene qualsiasi relazione con la protezione mediata dal vaccino sarà imprecisa.

Le risposte anticorpali all'infezione da coronavirus non sono particolarmente durature (vedi sopra). Quindi, un'altra chiave sconosciuta è la durata di qualsiasi risposta protettiva a un vaccino SARS-CoV-2. Gli esperimenti di immunizzazione attiva o passiva negli animali comportano quasi sempre sfide virali quando i titoli degli anticorpi sono pari o vicini ai loro valori di picco ([Fig. 2 e e 3](#)).3).

Questo scenario si applicherebbe raramente agli esseri umani vaccinati. I pochi studi sull'uomo dei vaccini MERS-CoV e SARS-CoV mostrano che i titoli degli anticorpi anti-S diminuiscono abbastanza rapidamente (entro mesi) dal picco, sebbene non siano disponibili informazioni dettagliate sui tassi di decadimento ([92](#) , [93](#) , [103](#) , [131](#))

Come notato sopra, i titoli anticorpali leganti alla proteina SARS-CoV-1 RBD nei topi sono diminuiti di ~15.000 in un periodo di 9 mesi ([62](#)). Sarà essenziale ottenere dati sui tassi di decadimento degli anticorpi a medio e lungo termine negli esseri umani vaccinati con SARS-CoV-2.

È possibile che l'esposizione a SARS-CoV-2 inneschi rapidamente risposte protettive di richiamo anche mesi o anni dopo il corso della vaccinazione. In alternativa, potrebbe essere necessario utilizzare regimi di potenziamento frequenti.

In sintesi, non è noto quale anticorpo sierico di riferimento e titoli di NAb debbano essere raggiunti per un vaccino con proteina S SARS-CoV-2 per proteggere gli esseri umani. Gli esperimenti su animali rivisti sopra suggeriscono che un titolo di NAb ID 50 nel siero compreso tra 100 e 500 è necessario per la sterilizzazione dell'immunità (cioè, protezione completa dall'acquisizione). In tal caso, questa ampiezza di risposta in una popolazione umana può essere ottenuta al meglio da una proteina S ricombinante o, probabilmente meglio, da un immunogeno RBD ([Fig. 2](#) e [3](#)). È plausibilmente più fattibile indurre risposte di memoria delle cellule B che potrebbero proteggere dalla malattia ma non dall'acquisizione. Se le prime osservazioni sui macachi valgono per gli esseri umani, la protezione dalle malattie potrebbe essere la migliore che i vaccini Warp Speed possono comunque realizzare. **Resta anche da vedere per quanto tempo l'immunità protettiva potrebbe persistere, ma potrebbero essere necessarie vaccinazioni di richiamo regolari** ([Fig. 3](#)).

Una domanda chiave che ha implicazioni sociali oltre lo sviluppo del vaccino è se la risposta anticorpale a SARS-CoV-2 conferirà immunità contro la reinfezione e, in caso affermativo, **per quanto tempo?** Gli esseri umani che guariscono da questa infezione saranno protetti contro una futura esposizione allo stesso virus mesi o anni dopo?

Conoscere la durata della risposta anticorpale ai vaccini SARS-CoV-2 aiuterà anche a determinare se e con quale frequenza sarà necessario potenziare le immunizzazioni se la risposta iniziale supera la soglia di protezione

Le risposte anticorpali a molte infezioni virali diminuiscono così lentamente da mantenere l'immunità per tutta la vita, con le plasmacellule e le cellule di memoria B che giocano un ruolo centrale nella resistenza alla reinfezione ([17](#), [52](#)).

Le cellule B della memoria specifiche per RBD che sono passate alle IgG sono state trovate nel sangue di pazienti COVID-19 ([17](#), [53](#)). Plasmacellule specifiche per SARS CoV-2 sono state identificate sia in pazienti gravemente malati che in recenti casi di convalescenza ([17](#), [54](#)).

Le risposte anticorpali SARS CoV-2 in 47 pazienti sono rimaste invariate 2 settimane dopo la dimissione dall'ospedale ([38](#)).

Gli anticorpi IgG contro la proteina S sono stati rilevati in tutti i 31 pazienti COVID-19 subito dopo l'infezione, sono aumentati durante le prime 3 settimane dopo l'insorgenza dei sintomi e poi sono diminuiti ma sono rimasti rilevabili a 8 settimane ([55](#)).

Di necessità, i primi studi sulle coorti COVID-19 sono stati condotti solo per periodi di tempo abbastanza brevi. Stanno ora iniziando a emergere valutazioni a lungo termine della cinetica di decadimento degli anticorpi. In una coorte, le risposte anticorpali e NAb hanno raggiunto il picco, in media, a circa 30-40 giorni dopo l'infezione e poi hanno iniziato a diminuire nelle settimane successive. In un individuo, il titolo di NAb più alto era ~1.600 il giorno 20, ma era sceso a ~50 entro il giorno 45, che è un tasso di decadimento preoccupante se visto più in generale ([56](#)). In un altro rapporto, i titoli di IgA per le proteine RBD, S e N sono aumentati notevolmente per circa 3 settimane dopo l'infezione e poi sono diminuiti rapidamente al punto che non erano rilevabili entro 1 mese dal recupero. Al contrario, i titoli di IgG erano molto più persistenti in questo lasso di tempo ([46](#)). Le risposte anticorpali (IgG e NAb specifiche per il virus in un test PV) sono diminuite notevolmente negli individui sintomatici e asintomatici entro 8 settimane dalla dimissione dall'ospedale, al punto che il 13% del primo gruppo e il 40% del secondo diventano sieronegativi per IgG virus-specifiche nel test utilizzato ([21](#)).