

# Pandemia da COVID-19? I test

---

di Fabio Franchi<sup>1</sup> (Versione 1, 3 aprile 2020, )

## Indice

Premessa .....	1
La definizione di “caso” .....	1
Considerazioni conclusive sulle modalità di diagnosi: .....	3
Esame del test (RT-PCR) .....	3
Isolamento virale.....	4
Possibili significati del test .....	10
Come hanno proceduto nella preparazione del test(RT-PCR) .....	10
Come spiegare l’epidemia.....	11
La dimostrazione di causa ed effetto .....	11
Bibliografia .....	12

## Premessa

L’urgenza di fronteggiare una polmonite interstiziale di causa inizialmente ignota con alta mortalità ed a rapida diffusione <sup>1</sup>, <sup>2</sup> ha giustificato un approccio operativo frettoloso e grossolano. Sono state avanzate allo scopo delle ipotesi operative, senza che fosse seguita presto un’analisi completa ed un approccio metodologico corretto.

È tempo di rivalutare i passaggi più importanti, in particolare alcuni aspetti della definizione, dell’isolamento virale e la dimostrazione di causa ed effetto del Coronavirus rispetto alla sindrome respiratoria.

Solo allora i misteri del COVID-19 (o SARS-CoV-2) potranno essere chiariti <sup>3</sup>

## La definizione di “caso”

Quella stabilita dall’OMS prevede tre possibilità: “caso sospetto” <sup>4</sup>, “probabile” e “confermato” <sup>5</sup>.

---

<sup>1</sup> Già Dirigente Medico presso il Reparto di Malattie Infettive, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Trieste, specializzato in Igiene e Medicina Preventiva, inoltre in Malattie Infettive all’Università di Siena

Per quanto concerne il primo, è previsto un corredo di sintomi, segni, alterazioni laboratoristiche e radiologiche associato ad un contesto epidemiologico, per il secondo invece si permette che venga posta la diagnosi (seppur probabile) anche con un test di amplificazione genica dal risultato inconcludente (cioè negativo per una delle due proteine ricercate e caratteristiche del COVID), oppure quando sia positivo un test generico per tutti i coronavirus. Quindi vi possono essere inclusi anche soggetti che abbiano per esempio una sindrome influenzale dovuta a comuni coronavirus circolanti.

Per esempio in Cina, di 76.314 casi riportati in una estesa review <sup>6</sup>, il 22,4% vennero catalogati come “casi sospetti”, il 14,6% come “diagnosticati clinicamente” e l’1,2% come “asintomatici”. Ciò significa che il 37% dei casi riportati nelle statistiche cinesi fino a quel momento era stato diagnosticato solo su base clinica (“casi sospetti” secondo la definizione OMS). Eppure la informazione mainstream fornita alla popolazione del mondo intero li ha presentati tutti come accertati.

Sempre secondo la definizione OMS, il “caso conclamato” si impernia sulla positività del test, di un unico test cioè la RT-PCR, ed è svincolato dalla sintomatologia. Quindi “caso” sarà con ogni diritto anche chi stia benissimo, non abbia alcun disturbo né alcuna alterazione laboratoristica (se non al famoso tampone) né radiologica. La ricerca degli anticorpi, che avrebbero dovuto essere considerati fondamentali nel confermare o meno un’infezione acuta, sono stati trascurati. Erano disponibili fin dall’inizio, ma finora non sono stati utilizzati (a causa della discordanza con i risultati del test RT-PCR?). Altri esami vengono menzionati, ma non sono indispensabili (sempre secondo la definizione OMS) ed in effetti il più delle volte non sono stati e non vengono effettuati. Ne deriva che i decessi sono considerati come dovuti al Coronavirus se tale test risulta positivo, anche se l’accertamento di causa di morte prevede altre regole (deve essere individuata la patologia più importante che ha portato all’exitus, e menzionate a parte le patologie collaterali o favorevoli). Per definizione sono previsti casi asintomatici, e, sempre per definizione, se questi muoiono per una qualsiasi ragione, la causa stabilita resta il COVID-19. Sempre in riferimento alla “causa di morte”, in Italia è stato seguito il criterio del “tutti dentro”, mentre altrove, come in Germania, vige l’approccio più razionale di registrare la causa reale (almeno fino a metà marzo 2020). Da qui deriva in parte l’enorme differenza di letalità tra Italia e Germania (11,40% versus 0,9%, fine marzo 2020) e probabilmente per altri Paesi (Austria, Norvegia, Cechia, Australia, Taiwan, Croazia, Filippine, Finlandia, Thailandia: letalità provvisoria sotto l’1%, al 28 marzo 2020). Il capo della Protezione Civile italiana, Angelo Borrelli, ha dichiarato espressamente durante la Conferenza Stampa del 12 marzo che i decessi riguardano soggetti

deceduti con Covid-19 (test PCR positivo), senza distinzioni per quelli giunti ad exitus a causa del Covid-19.

Essendo le statistiche così alterate in eccesso, il risultato è che la percezione della pericolosità viene corrispondentemente aumentata, volendo considerare questo solo fattore.

**Considerazioni conclusive sulle modalità di diagnosi:** In Italia quella di “caso confermato” è indipendente dalla sintomatologia ed è legata solo al risultato del test (RT-PCR da tampone nasofaringeo). La diagnosi di caso “probabile” e quello “sospetto” vengono posti senza effettuazione del test o con risultati inconcludenti allo stesso. In caso di coinfezione con “altri patogeni” [i.e. virus e batteri], comunque viene assicurato al Covid-19 una sorta di diritto di prelazione <sup>7</sup>. La stessa definizione OMS lo prevede chiaramente <sup>8</sup>.

## Esame del test (RT-PCR)

Come funziona?

Permette di ricercare la sequenza nucleotidica del virus.

Un campione è preso dal paziente. Quindi, in laboratorio, la sequenza nucleotidica del virus (se ce n'è), è estratta e copiata ripetutamente, facendo diventare minute quantità grandi e quindi determinabili con altre metodiche.

Ce lo spiegano più in dettaglio Corman et al, coloro che tra i primi ne hanno preparato uno che poi è stato adottato estesamente: *“noi ci siamo proposti di sviluppare e schierare una metodologia diagnostica robusta senza avere il materiale virale a disposizione”* <sup>9</sup>. Nota bene: “senza avere il materiale virale a disposizione”! Hanno avuto la sequenza genica via internet e su quella hanno lavorato.

Il problema è grosso: prima di validare il test, questo dovrebbe venir confrontato con il *gold standard*, ovvero proprio con il virus la cui presenza ha il compito di rivelare. L'amplificazione genica non è sostitutiva di questo passaggio. È un mezzo potentissimo, in grado di scovare minute quantità di materiale genetico moltiplicandolo per due, più e più volte. Con un ciclo, da un solo frammento se ne formano 2, da due 4, da quattro si arriva ad otto...Con 20 cicli consecutivi arriviamo già ad oltre 1 milione di copie. Insomma, trasforma un ago disperso in un pagliaio in un grande covone di aghi, ben visibili ed esaminabili. Tale test, anche nel caso del COVID-19, non amplifica il virus intero, ma moltiplica una piccola sequenza genica considerata peculiare di quel virus e non altro. Come si

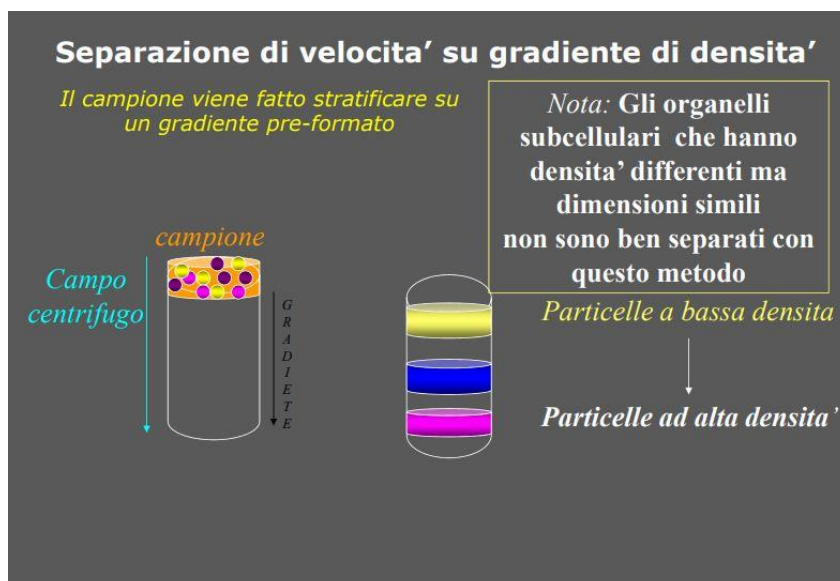
fa ad identificarla esattamente? È infatti indispensabile che tale piccola sequenza riveli con sicurezza che si tratta proprio di quel particolare virus. Prima deve esserci l'isolamento.

Il test (il tampone effettuato il più delle volte sul secreto nasofaringeo e poi sottoposto ad amplificazione genica) non è stato validato <sup>10, 11</sup>, non è standardizzato <sup>12</sup>, sembra dare numerosi falsi positivi e falsi negativi <sup>13, 14, 15</sup>.

## Isolamento virale

L'isolamento deve essere il primo passaggio, e consiste nella separazione del supposto virus da ogni altra cosa (dal latino *insulatum*). C'è una procedura precisa da seguire: la separazione per ultracentrifugazione in gradiente di saccarosio. In breve: da una cultura cellulare presunta infetta si preleva il soprannatante e lo si centrifuga con tali modalità. Di lì si preleva il materiale che si è sedimentato in uno strato corrispondente ad una densità particolare, quella virale, appunto. Un campione prelevato da quello strato viene fissato e colorato negativamente su un particolare supporto per essere esaminato al microscopio elettronico. Lo si fotografa. La stessa operazione deve essere fatta con materiale del tutto uguale, ma sicuramente non infetto (controllo negativo). Per una descrizione più tecnica si rimanda al lavoro di X-Y Ge et al. <sup>16</sup>, inoltre a J Leibowitz et al <sup>17</sup>.

Procedura di ultracentrifugazione in gradiente di saccarosio



L'ultracentrifugazione consente di ottenere risultati ottimali nelle seguenti applicazioni:

- Purificazione di proteine, oligomeri e complessi proteici
- Isolamento di lipoproteine
- Purificazione e separazione di virus e particelle virali
- Isolamento e separazione di frazioni subcellulari
- Preparazione di macromolecole mediante centrifugazione in gradiente di densità
- Purificazione di acidi nucleici (DNA, RNA)
- Purificazione di vescicole extracellulari (esosomi)
- Separazione di nanoparticelle

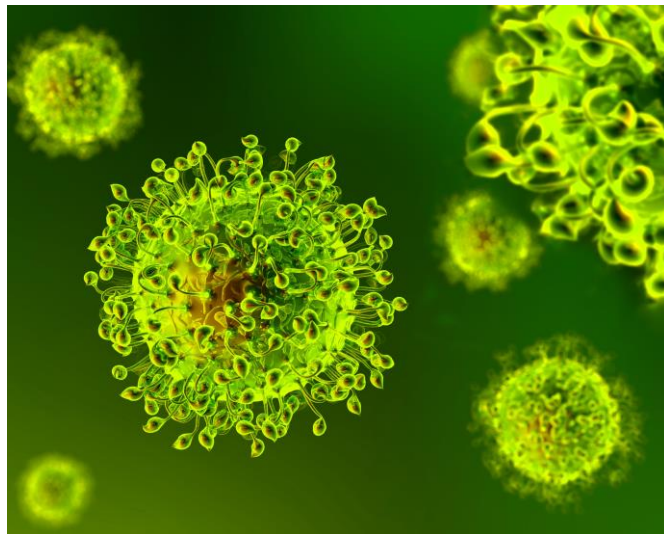
Se, in questo modo, vengono identificate particelle delle dimensioni di un virus, tutte uguali, mentre nel controllo sono assenti, si procede con l'analisi (di proteine costitutive, materiale genetico), analisi anche comparativa con virus conosciuti. Nello stesso modo si possono ricavare i reagenti usati per i test (sequenziamento genico, identificazione e produzione degli antigeni specifici e poi ricerca e produzione degli anticorpi).

Tutto quanto sopra per ribadire che la causa virale putativa deve essere PRIMA isolata (tanti elementi, tutti uguali, visti e fotografati) e POI analizzata. È logica elementare.

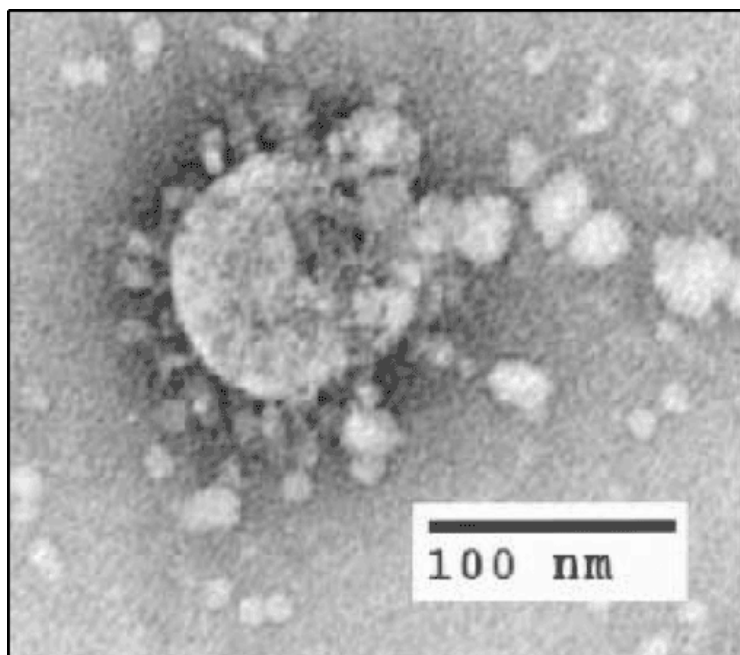
La sorpresa è che per il COVID-19 manca la prima parte di tale procedura. Nei lavori pubblicati sul COVID-19 non si trovano fotografie del virus *isolato*, se non di singoli elementi senza contesto. Si ritrovano fotografie di sezioni ultra sottili di tessuti dove si individuano agglomerati di piccoli cerchi che sono indicati con le frecce e chiamati particelle virali. Ammesso che lo siano, costituiscono meno del 10% del materiale cellulare che li circonda. Non si tratta propriamente di isolamento. Ma c'è di più: vi sono forti dubbi che quei piccoli cerchi siano Coronaviridae. Infatti hanno dimensioni più piccole: il loro diametro (circa 65-70 nm) è inferiore al minimo previsto per i Coronavirus (120-160 nm)<sup>18</sup>. In verità altri autori<sup>19</sup> riportano diametri diversi (80-220 nm), oppure 100-160nm<sup>20</sup>, ma questi sono comunque fuori *range*. Ed i virus sono caratteristicamente costituiti da pochi elementi fondamentali capaci di replicare copie identiche di sé stessi. Insomma in biologia ... i cuccioli di virus non sono previsti!

Se il diametro delle piccole sfere è inferiore del 30%, in volume esse lo sono di più ancora, cioè si riducono ad 1/3 circa. Il che non è possibile sia sostenuto: starebbe inevitabilmente a significare una differente composizione e struttura incompatibile con esseri che sono dotati di uguale sequenza nucleotidica (perché appartenenti alla stessa specie).

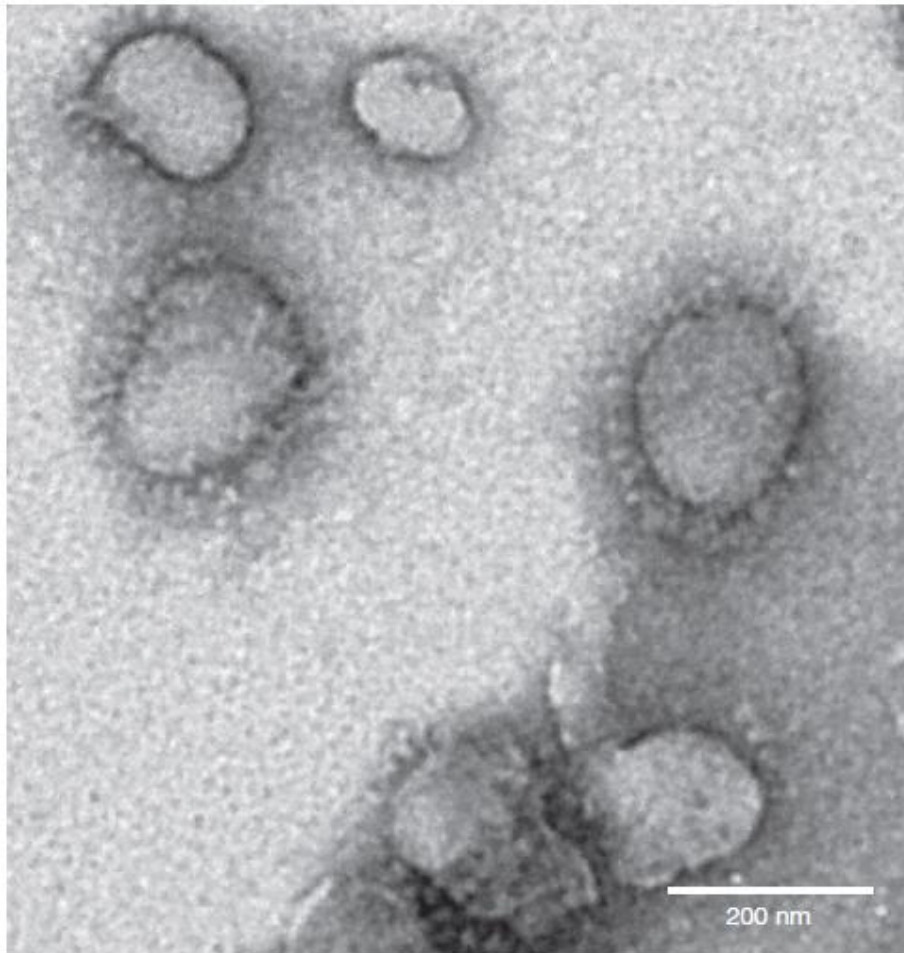
Per la discussione, presentiamo una delle tante fantasiose ricostruzioni al computer che rafforza quel che sosteniamo: rivela la convinzione di tutti, esperti e non esperti, che il virus COVID-19 sia costituito da particelle tutte uguali a sé stesse.



Ora esaminiamo per confronto il Coronavirus ritenuto responsabile della SARS (malattia epidemica comparsa in Oriente nel 2002 e sparita nel 2004, per la quale era stato imputato un Coronavirus, vedi Wikipedia<sup>21</sup>): le dimensioni e l'aspetto corrispondono alla descrizione. Il diametro, escluse le spikes è di circa 100 nm.



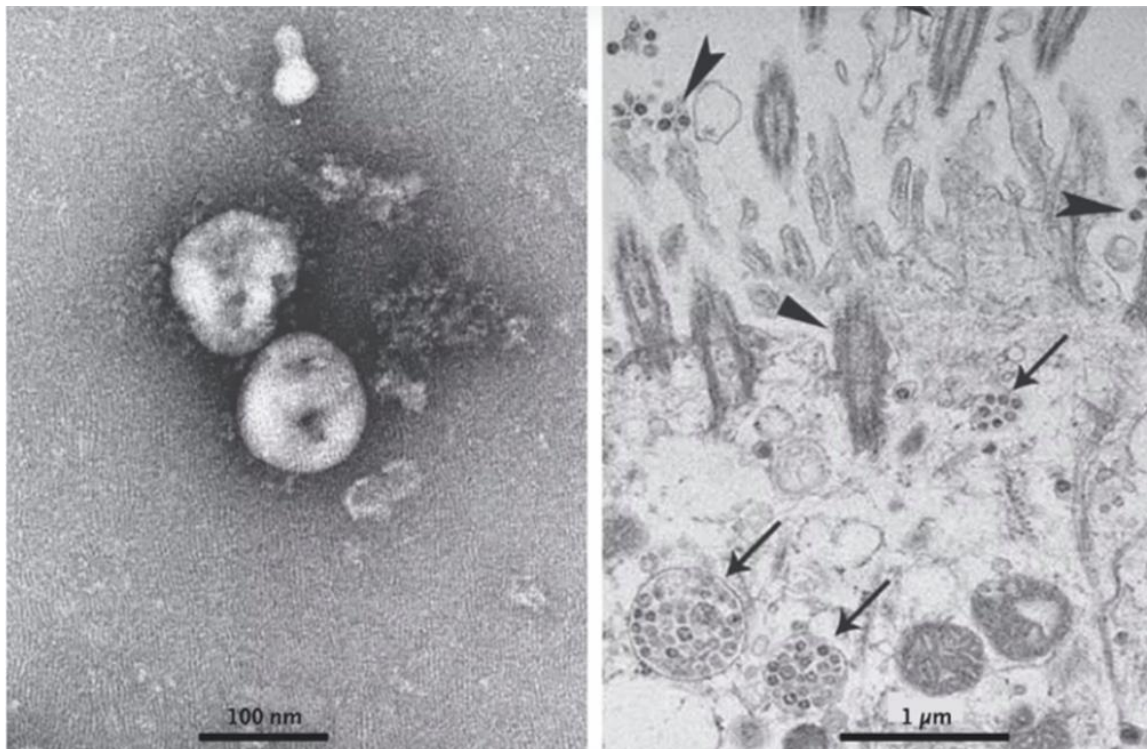
Un Coronavirus di pipistrello, simile a quello della SARS umana (malattia comparsa nel 2003 e sparita nel 2004), è stato “isolato” e così presentato sulla rivista Nature <sup>22</sup>. Ha un aspetto compatibile con la descrizione anche se le dimensioni sono leggermente maggiori:



**Figure 2 | Electron micrograph of purified virions.** Virions from a 10-ml culture were collected, fixed and concentrated/purified by sucrose gradient centrifugation. The pelleted viral particles were suspended in 100  $\mu$ l PBS,

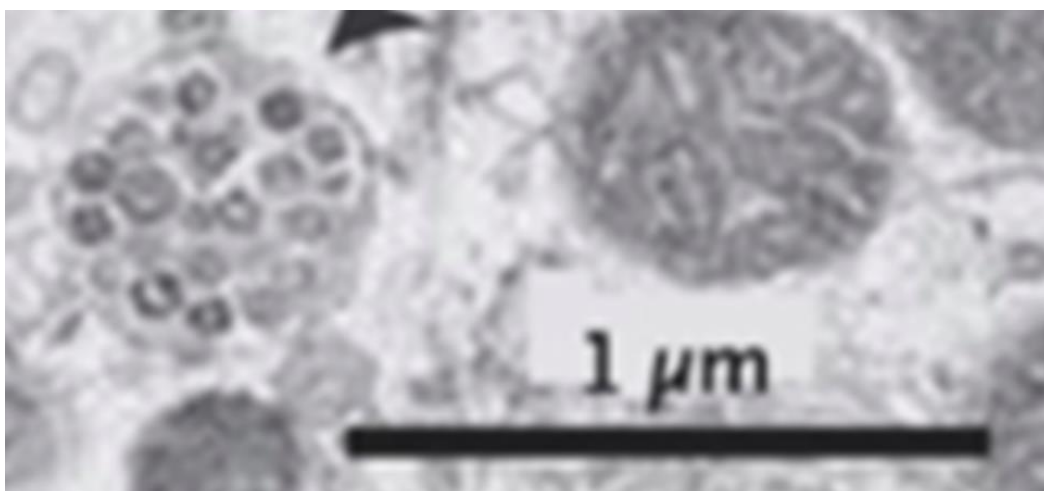
Il COVID-19, la cui foto è stata pubblicata sul N Eng J Med quest'anno <sup>23</sup>, ha invece un aspetto diverso e le dimensioni pure:





I due elementi nella foto di sinistra corrispondono nei diametri a quelle di un ipotetico Coronavirus (attorno a 100 nm, escluse le spikes che non son ben visibili). Viceversa le piccole particelle divise in gruppi sulla destra sono apparentemente troppo piccole per essere di Covid-19. Quel che è notevole è che le formazioni rotondegianti nella foto a destra non hanno le dimensioni di quelle nella foto a sinistra pur trattandosi asseritamente degli stessi COVID-19 del medesimo studio!

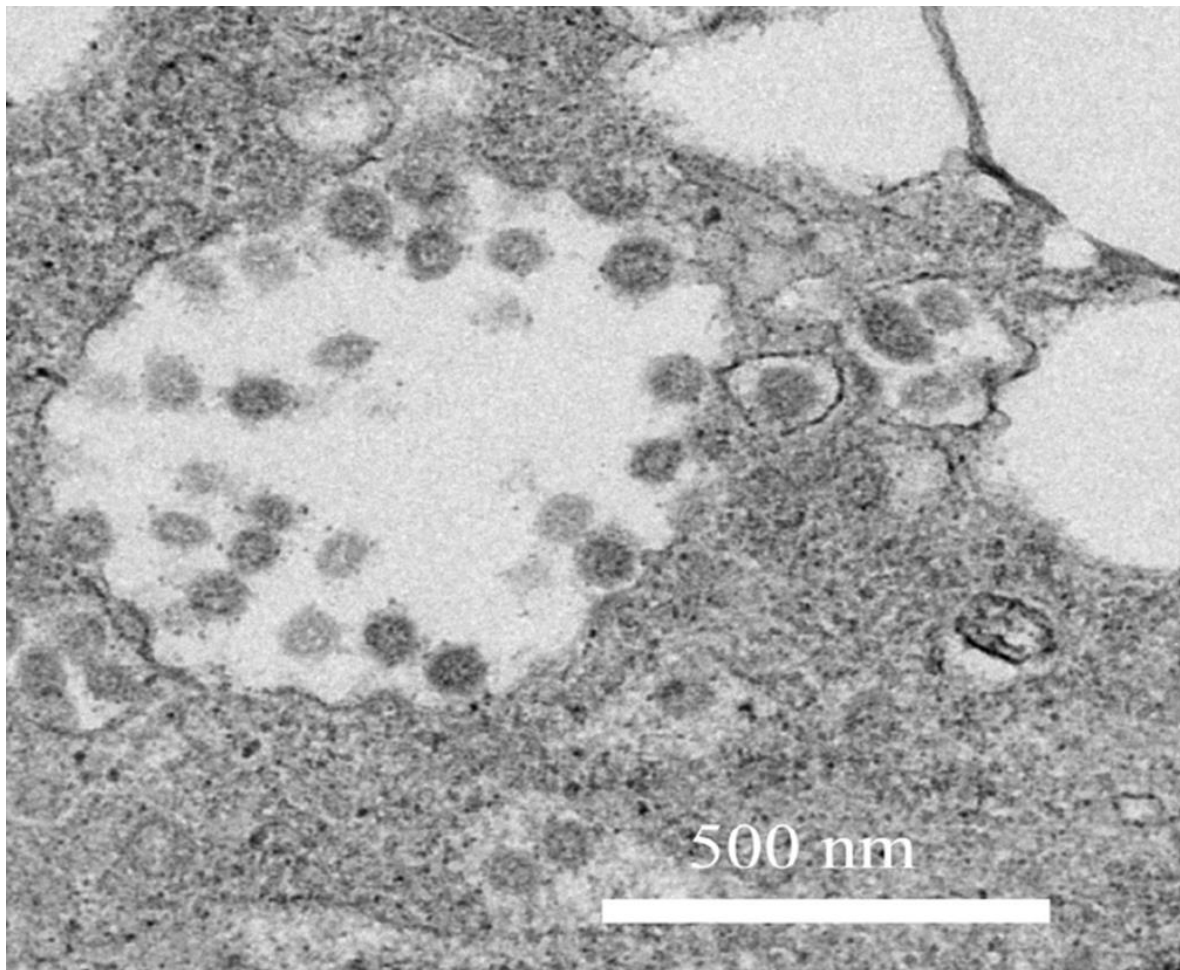
L'immagine più sotto è l'ingrandimento della parte inferiore della foto di destra per permettere una misurazione facilitata.



Come si può controllare con un software di misurazione su schermo <sup>24</sup>, le particelle sono di circa 65-75 nm di diametro, tranne una che è di 100 nm.



Lo stesso può essere osservato sulla foto pubblicata su Nature <sup>25</sup> (dimensioni delle “particelle virali”: in media 67 nm di diametro, range 48-90):



Queste sopra sono con tutta probabilità le più belle foto che son riusciti a scattare.

Perciò il dubbio sull'origine di tali riscontri fotografici progressivamente si rinforza.

Se il virus non è stato isolato, ed il test preparato senza l'isolamento, allora gli stessi reagenti utilizzati (antigeni e filamenti di RNA) potrebbero avere altra origine. Nel più ottimistico dei casi possibili, cioè che le particelle nella foto siano proprio il “COVID-19”, allora il materiale da cui derivano i test è costituito per oltre il 90% da materiale cellulare. Insomma, se le cose stanno così, non c'è alcuna garanzia che il test sia affidabile ed abbia il significato che gli viene attribuito.

Con quanto sopra si vuole dire che il processo di dimostrazione è zoppo ed inaffidabile. D'altronde altri si sono accorti della frettosità con cui è stata utilizzata la procedura <sup>26, 27</sup>, ed hanno segnalato la discordanza dei risultati con la clinica <sup>28</sup>. Le ottime sensibilità e specificità vantate dai produttori dei test <sup>29</sup>

stridono fortemente con con quelle assai scarse riscontrate “sul campo”. Si tratta di un aspetto pratico ancora più importante di quello teorico.

Detto in altro modo, non c'è alcun motivo perché il virus asseritamente presente in gran quantità nelle colture cellulari non possa essere visto e fotografato nella forma di un tappeto di particelle virali tutte uguali, dopo ultracentrifugazione. Per una questione di tale importanza mondiale è lecito richiedere la massima sicurezza.

### **Possibili significati del test**

La RT-PCR per il COVID-19 non è stata validata <sup>30, 31</sup>, non è standardizzata <sup>32</sup>, sembra dare numerosi falsi positivi e falsi negativi <sup>33, 34, 35</sup>.

Quindi una positività ad esso potrebbe essere indice di: 1) il risultato erratico di un test non validato, 2) una cross reattività, 3) la presenza di un nuovo virus passeggero, sia esso innocuo od opportunista, 3) la presenza di altro virus o germe patogeno. Una negatività del test può essere presente in individui che avrebbero tutte le caratteristiche cliniche ed epidemiologiche per essere considerati infetti. Perciò alle volte i test sono stati ripetuti anche 6 volte prima di ottenere il risultato “desiderato” <sup>36</sup>, un tanto sembra sia avvenuto anche nel caso dello stesso medico eroe di Wuhan, Li Wenliang <sup>37</sup>.

### **Come hanno proceduto nella preparazione del test(RT-PCR)**

La procedura seguita (e descritta in modo molto semplificato) è stata la seguente: il liquido da lavaggio broncoalveolare dei primi pazienti affetti da polmonite interstiziale bilaterale è stato posto in coltura cellulare sicuramente non infetta. Dopo qualche giorno, al manifestarsi di zone di citolisi, il liquido soprannatante è stato sottoposto ad ultracentrifugazione per eliminare i residui cellulari da una parte ed estrarre gli acidi nucleici presumibilmente estranei. Questi sono stati amplificati in vario modo (anche con la RT-PCR, in cui RT sta per transcriptasi inversa). Successivamente sono stati confrontati con sequenze batteriche e virali note. E' stata ritrovata un'omologia tra alcune sequenze e quelle di Coronavirus noti. Successivi passaggi hanno permesso di trovare la sequenza nucleotidica completa del nuovo COVID-19 (RNA a singola elica positiva di circa 30.000 basi). Sequenze nucleotidiche leggermente diverse sono state identificate da diversi gruppi di ricerca. Sono state poi isolate alcune piccole sequenze nucleotidiche (100-200 nucleotidi) caratteristiche di tutti i Coronaviridae ed alcune peculiari del COVID-19. Oltre a ciò, hanno controllato al microscopio elettronico sezioni ultrafini delle colture cellulari presumibilmente infettate (nello studio di Zhu et al. <sup>38</sup>), dove han ritrovato le particelle similvirali

visibili nelle immagini riportate più sopra. Nello studio di Zhou <sup>39</sup> la procedura seguita è stata la stessa. In entrambi, dunque, non si è proceduto all'isolamento corretto del virus in prima istanza.

### **Come spiegare l'epidemia**

Se il test è invalido, come si spiega allora tutto quel che è successo? Può essere spiegato con: a) un'epidemia di test (più test si fanno, più test risultano positivi), b) un aumento della mortalità invernale che ha colpito come ogni anno le fasce più deboli (anziani e soggetti con più patologie di base), c) fattori molteplici non infettivi ed infettivi, compresi i coronavirus normalmente circolanti. Tali fattori finora sono stati trascurati colpevolmente <sup>40</sup>. Può aver contribuito anche un'alterata presentazione delle statistiche, ed un approccio medico non ottimale <sup>41</sup>. La paura di una malattia mortale ha senz'altro avuto un ruolo pesante sia per chi ne è stato direttamente colpito, sia per gli operatori sanitari.

### **La dimostrazione di causa ed effetto**

Anche se si volesse comunque sostenere - senza prove solide - che un nuovo coronavirus si sia diffuso prima in Cina e poi ad Alzano Lombardo in Italia, i problemi d'impostazione non sarebbero finiti. Infatti ci sarebbe bisogno della dimostrazione del nesso causale tra virus e malattia (polmonite virale interstiziale bilaterale), il che non è stato ancora fatto (NEJM)<sup>42</sup>.

Quanto sopra non permette di negare che ci sia in circolazione un nuovo Coronavirus. Ammettiamo pure che lo sia, al solo scopo di comprendere più a fondo altre questioni che sorgerebbero e non son state affrontate. La medicina basata sulle prove (la EBM) lo richiede, e per buone ragioni. Robert Koch aveva capito – circa 130 anni fa - che la sola presenza di un microrganismo non significava necessariamente che fosse causa di qualche specifica patologia, perciò stabilì dei criteri logici a cui ancora oggi si fa riferimento (i postulati di Koch <sup>43</sup>).

In attesa che un simile studio venga pubblicato, possiamo già osservare che la malattia (polmonite interstiziale bilaterale) può avvenire anche senza il risultato positivo del test per il COVID-19, e che lo stesso può essere presente in pieno benessere, in assenza di malattia o di incubazione in atto. In altre parole, il COVID-19 (o il suo test invalido) non è necessario né sufficiente per causare polmoniti o sindromi influenzali (in una parte cospicua di casi) nell'ambito dell'attuale epidemia.

## Bibliografia

---

<sup>1</sup> Wuhan Municipal Health Commission. Press statement related to novel coronavirus infection (in Chinese) <http://wjw.wuhan.gov.cn/front/web/showDetail/2020012709194> (2020).

<sup>2</sup> Zhou P et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 2020;579:270-3.

<sup>3</sup> Tra i misteri: come è possibile che con l'andirivieni di cinesi in tutta europa, i primi 2 focolai sarebbero stati in Germania e da noi a Vò? Da chi avrebbe contratto la malattia il paziente 1 (maratoneta di 38 anni che aveva avuto un solo contatto sospetto: un cinese risultato non infetto)? Altri esempi in questo post: <https://www.facebook.com/fabio.franchi.2.0/posts/139500407639452>

4

### **OMS: Definizione del caso ai fini di sorveglianza 18/02/2020**

#### **Caso sospetto che richiede test diagnostici (da non segnalare a livello europeo)**

Pazienti con infezione respiratoria acuta (insorgenza improvvisa di almeno uno dei seguenti: tosse, mal di gola, respiro corto) che richiedono il ricovero o meno

#### **INOLTRE**

Nei 14 giorni precedenti l'insorgenza dei sintomi, è stato soddisfatto almeno uno dei seguenti criteri epidemiologici:

- Erano in stretto contatto con un caso confermato o probabile di infezione da SARS-CoV-2;

#### **OPPURE**

- Aveva una storia di viaggi in aree con presunta trasmissione in corso della comunità;

#### **OPPURE**

- Ha lavorato o frequentato una struttura sanitaria in cui venivano trattati pazienti con infezioni da SARS-CoV-2.

## OMS: Definizione del caso ai fini di sorveglianza 18/02/2020

### Caso probabile

Un caso sospetto per il quale il test per SARS-CoV-2 è inconcludente (il risultato del test riportato dal laboratorio) o per il quale il test è risultato positivo su un test di pan-coronavirus.

### Caso confermato

Una persona con conferma di laboratorio dell'infezione da SARS-CoV-2, indipendentemente da segni e sintomi clinici

<sup>6</sup> The Novel Coronavirus Pneumonia Emergency Response Epidemiology Team. The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19) — China, 2020. Chinese Center for Disease Control and Prevention CCDC Weekly.2020;2(8): 113-122.

<sup>7</sup> WHO Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance 19 March 2020.

for community-acquired pneumonia. Additional testing should not delay testing for COVID-19. As co-infections can occur, all patients that meet the suspected case definition should be tested for COVID-19 virus regardless of whether another respiratory pathogen is found.

\*La definizione internazionale di caso prevede che venga considerata caso confermato una persona con una conferma di laboratorio del virus che causa COVID-19 a prescindere dai segni e sintomi clinici

<https://www.ecdc.europa.eu/en/case-definition-and-european-surveillance-human-infection-novel-coronavirus-2019-ncov>

<sup>9</sup> Corman V M et al. . Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3):pii=2000045.

---

L'epidemia in corso del nuovo coronavirus (2019-nCoV) recentemente emerso rappresenta una sfida per i laboratori di sanità pubblica poiché **gli isolati di virus non sono disponibili** mentre ci sono prove crescenti che l'epidemia è più diffusa di quanto si pensasse inizialmente e che già si verifica una diffusione internazionale tra i viaggiatori. Obiettivo: abbiamo mirato a sviluppare e implementare **una solida metodologia diagnostica da utilizzare in ambienti di laboratorio di sanità pubblica senza disporre di materiale virale.**

<sup>10</sup> Xiao S-Y. Evolving status of the 2019 novel coronavirus infection: Proposal of conventional serologic assays for disease diagnosis and infection monitoring. J Med Virol. 2020;92:464–467.

*“Un'altra preoccupazione relativa ai test dell'acido nucleico è che **non c'è stato tempo sufficiente per valutarne la sensibilità e la specificità.** Sulla base delle comunicazioni personali con i colleghi, una parte significativa dei pazienti che altrimenti rientrano nella diagnosi basata sui risultati clinici e CT del torace, inclusi molti pazienti ospedalizzati, sono risultati negativi per l'RNA virale. Altre eziologie respiratorie comuni, come l'influenza, sono state escluse. Questi rimangono casi "sospetti" e possono riflettere la **falsa negatività** nel campionamento. In alcuni pazienti, il virus può essere presente nella secrezione respiratoria inferiore ma assente nelle vie respiratorie superiori. **Con gli attuali test, è quindi difficile ottenere una valutazione significativa della percentuale di pazienti sintomatici infetti.**”*

<sup>11</sup> James Gallagher. Are coronavirus tests flawed? 13 February 2020 <https://www.bbc.com/news/health-51491763>

<sup>12</sup> Ai T, Yang Z, Hou H, Zhan C, Chen C, Lv W, et al. Correlation of chest CT and RT-PCR testing in coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: a report of 1014 cases. Radiology. February 26, 2020; 1-23. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200642> .

<sup>13</sup> Catherine Carver, Nick Jones. Is there any significant difference in sensitivity of COVID-19 virus (SARS-CoV-2) tests based on swabs from oropharyngeal (OP) vs nasopharyngeal (NP) sampling vs both? CEBM research March 26, 2020 Centre for Evidence Based Medicine. 25th March 2020 <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:RQ-MAcgp2Q8J:https://www.cebm.net/2020/03/is-there-any-significant-difference-in-sensitivity-of-covid-19-virus-sars-cov-2-tests-based-on-swabs-from-oropharyngeal-op-vs-nasopharyngeal-np-sampling-vs-both/+&cd=4&hl=it&ct=clnk&gl=it>

#### VERDICT

The only current COVID-19 specific data comparing OP with NP comes from two low quality, non-peer-reviewed studies and should be viewed with caution. It is not possible to accurately assess sensitivity from the existing data and there are no data to assess the diagnostic impact of combining both tests.

<sup>14</sup> Tan Yucheng Chi sono pazienti falsi negativi con nuova polmonite coronarica Southern People Weekly 9 febbraio <https://mp.weixin.qq.com/s/RpXRE8Ow5nHeaLhxIEr-Ng>

<sup>15</sup> Xingzhi Xie et al. Chest CT for Typical 2019-nCoV Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing. Radiology Published Online:Feb 12 2020 <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200343>

<sup>16</sup> Xing-Yi Ge et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. Nature 2013;503:535-8.

<sup>17</sup> Leibowitz J et al. Coronaviruses: Propagation, Quantification, Storage, and Construction of Recombinant Mouse Hepatitis Virus. Curr Protoc Microbiol. 2011 May ; CHAPTER: Unit–15E.1. doi:10.1002/9780471729259.mc15e01s21.

<sup>18</sup> International Committee on Taxonomy of Viruses ICTV [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_9th\\_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna\\_viruses/222/coronaviridae](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae)



---

<sup>19</sup> Megan Culler Freeman and Mark R. Denison. Coronaviruses. Nelson's Textbook of Pediatrics, 20<sup>th</sup> Edition. Chapter 264: 1613-1616.e1.

<sup>20</sup> Raphael Dolin. Coronavirus infections, including SARS. Etiologic Agent, in Harrison's Principles of Internal Medicine, 17<sup>th</sup> Edition.

<sup>21</sup> <https://it.wikipedia.org/wiki/SARS-CoV>

<sup>22</sup> Xing-Yi Ge et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. Nature 2013;503:535-8.

<sup>23</sup> Zhu N et al. A novel Coronavirus from patients with Pneumonia in China, 2019. N Engl J Med 2020;382:727-33.  
DOI: 10.1056/NEJMoa2001017.

<sup>24</sup> J Ruler

<sup>25</sup> Zhou P et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 2020;579:270-3.

<sup>26</sup> Sheridan C. Coronavirus and the race to distribute reliable diagnostics. Nature. 19 FEBRUARY 2020.  
<https://www.nature.com/articles/d41587-020-00002-2>

<sup>27</sup> Gallagher J. Are Coronavirus test flawed? BBC. February 13, 2020. <https://www.bbc.com/news/health-51491763>

<sup>28</sup> <https://mp.weixin.qq.com/s/RpXRE8Ow5nHealhxIEr-Ng>

Tan Wei, vicepresidente del Comitato professionale per la radiologia medica della provincia di Hubei, ritiene che i risultati della TC siano in buon accordo con la nuova polmonite coronarica, ma il rilevamento negativo dell'acido nucleico rappresenta circa il 30% -40%.

<sup>29</sup> Corman (op cit)

<sup>30</sup> Xiao S-Y. Evolving status of the 2019 novel coronavirus infection: Proposal of conventional serologic assays for disease diagnosis and infection monitoring. J Med Virol. 2020;92:464-467.

*"Un'altra preoccupazione relativa ai test dell'acido nucleico è che **non c'è stato tempo sufficiente per valutarne la sensibilità e la specificità.** Sulla base delle comunicazioni personali con i colleghi, una parte significativa dei pazienti che altrimenti rientrano nella diagnosi basata sui risultati clinici e CT del torace, inclusi molti pazienti ospedalizzati, sono risultati negativi per l'RNA virale. Altre eziologie respiratorie comuni, come l'influenza, sono state escluse. Questi rimangono casi "sospetti" e possono riflettere la **falsa negatività** nel campionamento. In alcuni pazienti, il virus può essere presente nella secrezione respiratoria inferiore ma assente nelle vie respiratorie superiori. **Con gli attuali test, è quindi difficile ottenere una valutazione significativa della percentuale di pazienti sintomatici infetti.**"*

<sup>31</sup> James Gallagher. Are coronavirus tests flawed? 13 February 2020 <https://www.bbc.com/news/health-51491763>

<sup>32</sup> Ai T, Yang Z, Hou H, Zhan C, Chen C, Lv W, et al. Correlation of chest CT and RT-PCR testing in coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: a report of 1014 cases. Radiology. February 26, 2020; 1-23.  
<https://doi.org/10.1148/radiol.2020200642> .

<sup>33</sup> Catherine Carver, Nick Jones. Is there any significant difference in sensitivity of COVID-19 virus (SARS-CoV-2) tests based on swabs from oropharyngeal (OP) vs nasopharyngeal (NP) sampling vs both? CEBM research March 26, 2020 Centre for Evidence Based Medicine. 25th March 2020  
<https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:RQ-MACgp2Q8J:https://www.cebm.net/2020/03/is-there-any-significant-difference-in-sensitivity-of-covid->

#### VERDICT

The only current COVID-19 specific data comparing OP with NP comes from two low quality, non-peer-reviewed studies and should be viewed with caution. It is not possible to accurately assess sensitivity from the existing data and there are no data to assess the diagnostic impact of combining both tests.

<sup>34</sup> Tan Yucheng. Chi sono pazienti falsi negativi con nuova polmonite coronarica Southern People Weekly 9 febbraio <https://mp.weixin.qq.com/s/RpXRE8Ow5nHeaLhxlEr-Ng>

<sup>35</sup> Xingzhi Xie et al. Chest CT for Typical 2019-nCoV Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing. Radiology Published Online:Feb 12 2020<https://doi.org/10.1148/radiol.2020200343>

<sup>36</sup> Tan Yucheng (op cit).

<sup>37</sup> Gallagher Are coronavirus tests flawed? 13 February 2020 <https://www.bbc.com/news/health-51491763>

“... Dr Li Wenliang, who first raised concerns about the disease and has been hailed as a hero in China after dying from it. Dr Li posted a picture of himself on social media from his hospital bed, on 31 Jan. The next day, he said, he had been diagnosed for coronavirus He said his test results had come back negative on multiple occasions before he had finally been diagnosed.

<sup>38</sup> Zhu et al (op cit).

<sup>39</sup> Zhou et al. (op cit)

<sup>40</sup> **1) Vaccinazioni pregresse.** In particolare nella zona più colpita (brescia Bergamo), l'attuale epidemia è stata preceduta di poco da una estesa campagna vaccinale per anti influenza, anti pneumococco, anti-HZV, anti meningococco. **2) Per la gravità della malattia** ha inciso molto lo stress del sistema sanitario che si è trovato impreparato, anche grazie ai tagli effettuati negli ultimi 10 anni. **3) Il carico di lavoro e di tensione** emotiva del personale medico ed infermieristico è stato eccessivo e prolungato. **4) Sono stati testati farmaci sperimentali** di nulla utilità ed alta tossicità, secondo protocolli aggressivi, “giustificati” dalla presenza di una “malattia mortale”, pericolosi soprattutto per chi stava già male, era in età avanzata od aveva patologie concomitanti, il cortisone è stato usato in modo difforme da quanto previsto per le polmoniti virali.

<sup>41</sup> Samule Ceruti, Medicina d'Urgenza, Lugano, Svizzera. Lettera aperta ai colleghi italiani <https://www.vglobale.it/wp-content/uploads/2020/03/Coronavirus-dati-aggiornati-al-12-marzo-2020.pdf>

<sup>42</sup> Zhu N et al. (op. cit).

*“Sebbene il nostro studio non soddisfi i postulati di Koch, ...*

<sup>43</sup> Postulati di Koch-Henle

---

I postulati possono essere riassunti in quattro semplici punti:

