

# PROPOSTA DI UN METODO PER OTTIMIZZARE L'UTILIZZO DEI TEST SARS-COV2 (COVID-19)

scritto da

Alberto Troisi (albmail@gmail.com)

Vincenzo Gervasi PhD (vincent.gervasi@gmail.com)

**Versione 5.** Eventuali aggiornamenti a questo documento possono essere trovati al seguente repository:

[https://github.com/albmail/covid\\_pool\\_test\\_method](https://github.com/albmail/covid_pool_test_method)

Il metodo proposto permette di ridurre mediamente il numero di test molecolari necessari a diagnosticare la presenza o meno del virus in un gruppo di individui da controllare.

Il metodo si basa sul fatto che dagli attuali dati epidemiologici risulta che i test effettuati con esito negativo sono prevalenti rispetto a quelli con esito positivo.

Mischiando dunque il materiale biologico di più individui ed effettuando il test su tale materiale misto, in caso di risultato negativo, si può escludere la positività su tutti questi individui effettuando un unico test molecolare.

**Lo scopo principale di questo scritto è mostrare che se i test effettuati in un laboratorio risultano positivi per meno del 30% dei casi analizzati allora con il metodo descritto è possibile ottenere più diagnosi con lo stesso numero di test molecolari.**

## LA PROCEDURA OPERATIVA

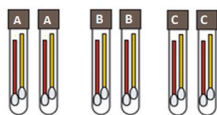
La procedura indicata serve solo ad illustrare il metodo per cui non tiene conto di eventuali indicazioni aggiuntive prescritte dagli organi nazionali ed internazionali.

In pratica lo schema prosto è il seguente:

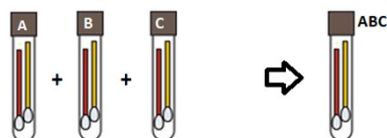
1. Effettuare i tamponi e raccogliere il materiale biologico da **3 persone** (individui A,B,C)  
Per ciascuna persona andranno effettuati più prelievi in modo a avere **2 campioni distinti per ciascun individuo** sotto osservazione

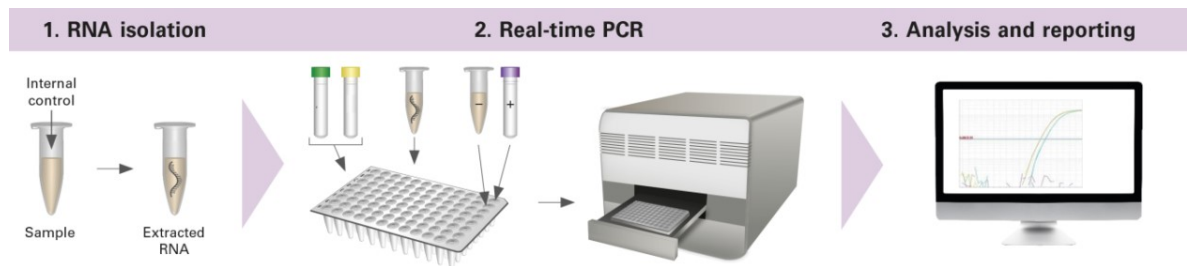


Avremo quindi raccolto per il gruppo di 3 persone 6 campioni (2 per ciascun individuo)



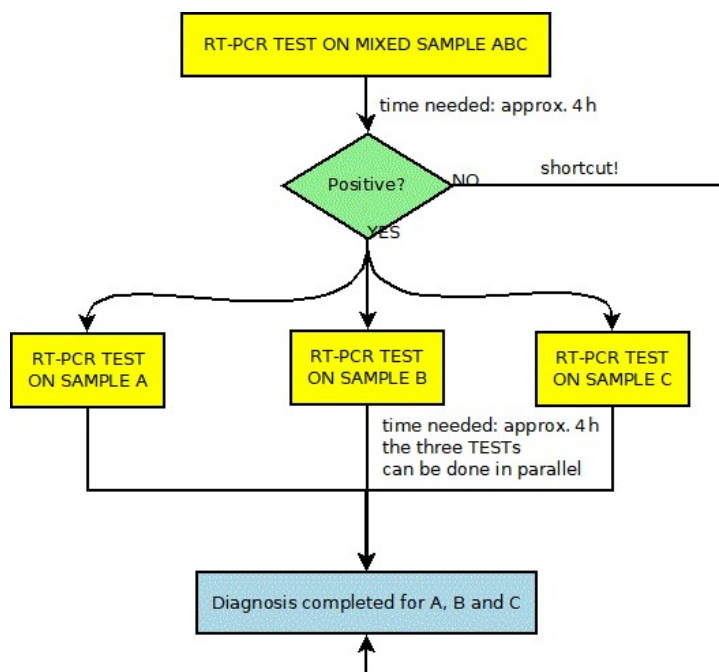
2. **Prepariamo un campione misto** mescolando i materiali biologici dei 3 individui del gruppo (a tal scopo verrà utilizzato uno dei 2 campioni prelevato per ciascun individuo).  
Procediamo quindi al test molecolare su questo campione misto





Se il test risulta negativo possiamo concludere che non è presente l'RNA del virus in ciascuno dei 3 campioni mescolati e che quindi tutti e 3 gli individui non sono positivi al test. In questo caso non sarà quindi necessario procedere con ulteriori analisi.

- Se invece il test ha esito positivo possiamo concludere che nel gruppo dei 3 individui c'è almeno un individuo positivo e quindi bisogna indagare ulteriormente testando tutti e 3 i campioni distinti e tenuti da parte per questo scopo.



## QUANTO SI RISPARMIA?

Per rispondere a questa domanda dobbiamo analizzare la probabilità che tutti e tre gli individui analizzati risultino negativi ai test.

D'ora in poi utilizzerò la seguente notazione

$P(-)$  : la probabilità che un singolo test abbia esito negativo

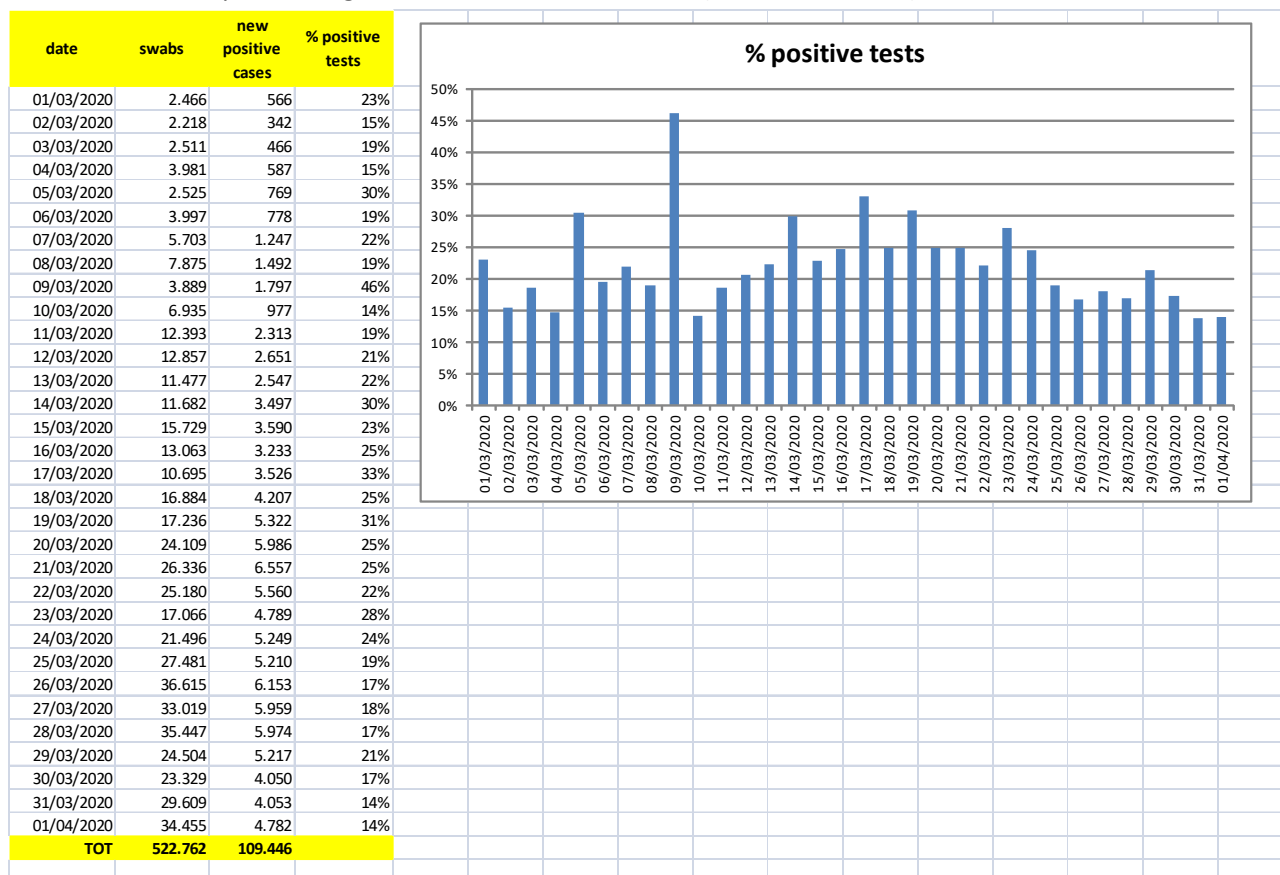
$P(+)$  : la probabilità che un singolo test abbia esito positivo

$P(3-)$  : la probabilità che 3 test abbiano esito negativo che equivale alla probabilità che un singolo test effettuato sul misto di 3 campioni abbia esito negativo

Supponendo che non ci sia correlazione tra gli individui analizzati abbiamo quindi

$$P(3-) = P(-)^3$$

Prendiamo i dati epidemiologici italiani del mese di Marzo (\*vedi riferimenti)



Come si può vedere la probabilità di un riscontro positivo al test è variata giornalmente da un minimo del 14% a un massimo del 46% con una media del 22%

Basiamoci ora sulla probabilità media del 22% per fare le nostre analisi.

$P(+) = 0,22$  e quindi  $P(-) = 1 - P(+) = 0,78$

$P(3-) = P(-)^3 = 0,47$

Quindi avremo circa il 47% delle probabilità di riscontrare il campione misto negativo al test.

Nel caso il campione misto risulta negativo, con un singolo test ho determinato la negatività di tutti e tre i soggetti, altrimenti per arrivare ad una conclusione saranno necessari altri 3 test (uno per ciascun campione) e quindi 4 test in totale.

La probabilità di completare l'analisi con un singolo test coincide quindi con la probabilità che il campione misto sia negativo

$P(1 \text{ Test necessario}) = P(3-) = 0,47$

La probabilità che invece siano necessari 4 Test è complementare e quindi

$P(4 \text{ Test necessari}) = 1 - P(1 \text{ Test necessario}) = 0,53$

Il numero medio di test medio necessario a determinare la positività o meno di un individuo è quindi

$[P(1 \text{ Test necessario}) + P(4 \text{ Test necessari}) * 4] / 3 = 0,86$

**Cosa significa questo dato?**

**Significa che utilizzando questo metodo posso conoscere la positività o meno di 100 individui effettuando una media di 86 test molecolari al posto dei 100 che sarebbero stati necessari normalmente.**

**Considerando che nell'ultima settimana si stanno testando oltre 20.000 individui al giorno con questo metodo ogni giorno si potrebbero risparmiare oltre 2.800 test molecolari.**

E cosa accadrebbe quando la probabilità di rilevare un caso positivo sarà scesa al 5% per esempio?

$P(+) = 0,05$  e quindi  $P(-) = 1 - P(+) = 0,95$

$P(3-) = P(-)^3 = 0,86$

$P(1 \text{ Test necessario}) = P(3-) = 0,86$

$P(4 \text{ Test necessari}) = 1 - P(1 \text{ Test necessario}) = 0,14$

Il numero medio di test medio necessario a determinare la positività o meno di un individuo è quindi

$[P(1 \text{ Test necessario}) + P(4 \text{ Test necessari}) * 4] / 3 = 0,47$

Supponendo di controllare sempre 20.000 individui al giorno avremmo in questo caso:

**un risparmio di quindi di circa 10.600 test molecolari al giorno,**

**più della metà dei test risparmiati!**

**Questo metodo potrebbe contribuire alla ricerca degli asintomatici quando il numero dei nuovi casi sintomatici rilevati giornalmente sarà sceso sensibilmente. Effettuando il test su gruppi di persone non sintomatiche la probabilità  $P(+)$  sarebbe molto bassa e più questa probabilità è bassa più questo metodo risulta efficace.**

## COME CAMBIEREBBERO I TEMPI PER LE DIAGNOSI?

Per i tempi valgono considerazioni analoghe a quelle relative al numero di test molecolari.

Considerando che attualmente la durata di un test molecolare (RT-PCR) è di circa 4 ore

Secondo la metodologia descritta il caso in cui è sufficiente un solo test darebbe una risposta in 4 ore

mentre nel caso di riscontro positivo sul campione misto, e si debba quindi procedere ad effettuare gli altri 3 test sui singoli campioni (ed assumendo che questi possano essere fatti contemporaneamente) sarebbero necessarie altre 4 ore e quindi 8 ore in totale.

Tuttavia per una corretta analisi statistica del tempo medio richiesto per ciascuna diagnosi bisogna tener conto del fatto di poter effettuare mediamente più diagnosi a parità di numero di test. Il discorso potrebbe quindi essere ulteriormente approfondito ed adattato alle specifiche condizioni operative dei laboratori di analisi.

## CRITICITA' E LIMITI

L'aspetto più rilevante da considerare è che nel campione misto la densità dell'RNA virale che si vuole rilevare potrebbe essere abbattuta di un terzo. Ciò tuttavia non dovrebbe influire significativamente sull'analisi RT-PCR in quanto questo esame ha una sensibilità elevata e richiede limitate quantità del campione di partenza.

Ovviamente questo aspetto va approfondito da chi conosce meglio i dettagli tecnici dell'esame.

Va inoltre considerato che in diverse zone ed in momenti diversi dell'epidemia la probabilità  $P(+)$  può essere differente e se questa assumesse valori troppo elevati questo metodo potrebbe rivelarsi controproducente. In generale si può dire che il metodo ha una convenienza in termini del numero di test quando il numero di test medio necessario per un individuo è minore di 1 ossia

$(P(1 \text{ Test necessario}) + P(4 \text{ Test necessari}) * 4) / 3 < 1$

sviluppando abbiamo

$[P(3-) + (1 - P(3-)) * 4] / 3 < 1$

$4/3 - P(-)^3 < 1$

$P(-) > \sqrt[3]{\frac{1}{3}}$

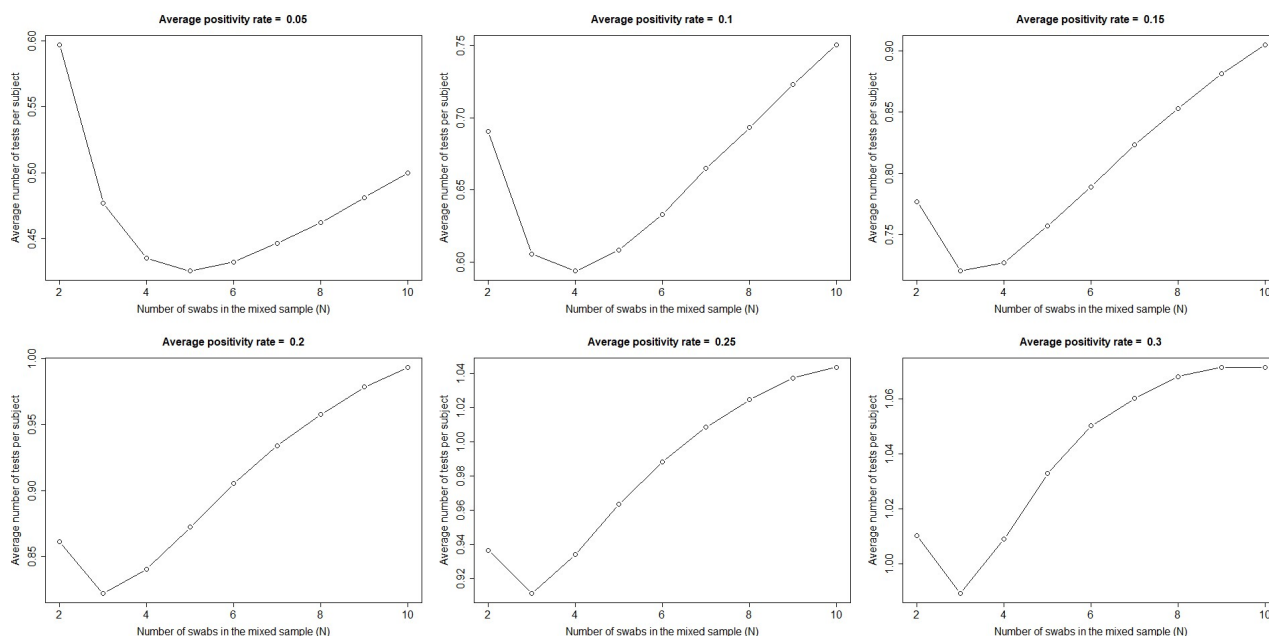
**il risparmio si ottiene quindi quando  $P(-)$  è maggiore di 0,7 circa e quindi  $P(+)$  è minore di 0,3.**

**Nel caso in cui la probabilità di riscontrare un test positivo è quindi superiore al 30% non è più conveniente utilizzare il metodo.**

## E SE PER IL CAMPIONE MISTO MESCOLIAMO IL MATERIALE BIOLOGICO DI PIU' DI 3 INDIVIDUI?

Creando un modello computazionale abbiamo fatto delle simulazioni che mostrano come varia l'efficienza del metodo descritto al variare del valore atteso di positività  $P(+)$  ma anche del numero di individui da cui viene formato il campione misto ( $N$ ).

I risultati sono sintetizzati nei grafici seguenti:



Il risparmio c'è soprattutto quando il tasso di positività del test è basso, e il numero ottimale di campioni da unire cambia nei diversi casi.

Tasso positività del test	Numero ottimale campioni da unire	Risparmio %
0.05	5	60%
0.1	4	40%
0.15	3	30%
0.2	3	20%
0.25	3	10%
0.3	3	5%

E' intuibile che con tassi di positività ancora più bassi potrebbe convenire unire ancora più campioni e la scelta del protocollo potrebbe essere fatta in base alle condizioni epidemiologiche. Lo studio andrebbe però approfondito tenendo conto anche della variazione di sensibilità del test molecolare.

Nella situazione attuale, adattando il metodo alle diverse zone di provenienza dei campioni (alle quali corrisponde un diverso tasso di positività) è possibile ottenere un incremento delle diagnosi molto significativo, tuttavia per valutare esattamente a quanto corrisponderebbe tale risparmio è necessaria un'analisi più approfondita.

Uno studio analitico del metodo proposto variando il numero di campioni da unire può essere sviluppato partendo dall'equazione  $[P(3-)+(1-P(3-))*4]/3$  (che indica il numero medio di test richiesto per individuo con il metodo a 3 campioni) e generalizzandola ad un numero generico N di campioni.

Si ottiene la seguente formula:

$$\frac{P(-)^N + (1 - P(-)^N)(N + 1)}{N} = 1 + \frac{1}{N} - P(-)^N$$

Dove  $P(-)$  è tasso di negatività e  $N$  è il numero di individui da cui viene formato il campione misto.

Quindi Il limite che determina la convenienza o meno del metodo è determinato dalla disequazione:

$$1 + \frac{1}{N} - P(-)^N < 1$$
$$P(-)^N > \frac{1}{N}$$

## ALTRI STUDI

Procedure simili a quella descritta sono in via di sperimentazione in diversi paesi, non abbiamo effettuato una ricerca approfondita ma su internet ci sono articoli che parlano di ricerche israeliane, tedesche e statunitensi.

Riporto i links agli articoli individuati (alcune di questi link potrebbero non funzionare più in futuro):

- <https://aktuelles.uni-frankfurt.de/englisch/pool-testing-of-sars-cov-02-samples-increases-worldwide-test-capacities-many-times-over/>
- <https://www.hindustantimes.com/india-news/govt-mulls-new-testing-approach/story-eD4ZiGlrdaynBRPSebpJoO.html>
- <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.03.20051995v1.full.pdf>
- <https://www.moneycontrol.com/news/coronavirus/coronavirus-pandemic-pool-testing-for-covid-19-may-benefit-india-as-us-study-highlights-test-feasibility-efficacy-5111811.html>
- <https://www.washingtonpost.com/outlook/2020/03/31/coronavirus-testing-groups/>
- <https://www.timesofisrael.com/to-ease-global-virus-test-bottleneck-israeli-scientists-suggest-pooling-samples/>
- <https://www.jpost.com/HEALTH-SCIENCE/Acceleration-in-multiple-coronavirus-tests-at-once-by-Israel-research-team-621533>

## RIFERIMENTI

### Protezione civile - dati nazionali italiani covid-19

<https://github.com/pcm-dpc/COVID-19/tree/master/dati-andamento-nazionale>

### WHO - Coronavirus disease (COVID-19) technical guidance: Laboratory testing for 2019-nCoV in humans

<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance>

### WHO - Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2

[https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2)

### PANDORA-ID-NET Consortium - method for using RT-qPCR to diagnose the COVID-19

[https://www.youtube.com/watch?v=5f\\_wieig4iQ](https://www.youtube.com/watch?v=5f_wieig4iQ)

[https://drive.google.com/drive/folders/1z\\_VvGEvenQ66aalR7PLFPu2-nPKugMg4](https://drive.google.com/drive/folders/1z_VvGEvenQ66aalR7PLFPu2-nPKugMg4)