

COVID-19: perché si effettuano due o più test? Quanti test sono necessari o sufficienti per ritenere infetto, sano o guarito un individuo?

Max Pierini

info@maxpierini.it

May 25, 2020

1 Introduzione

Si presenta una breve analisi, che non pretende di essere né esaustiva né professionale, degli strumenti matematici di base utilizzati per la definizione delle probabilità di malattia a priori e a posteriori dati i risultati di test diagnostici qualitativi ripetuti.

La *prevalenza* di una malattia infettiva corrisponde alla percentuale di popolazione affetta ovvero alla probabilità che un individuo di tale popolazione scelto a caso sia affetto dalla malattia [1].

Dal punto di vista bayesiano la prevalenza corrisponde alla probabilità **a priori** $P(M)$ di essere malato. La probabilità dunque **a priori** di non essere affetto dalla malattia $P(\overline{M})$ sarà pari a $1 - P(M)$ [2].

Durante un'epidemia la prevalenza, per ovvi motivi, si modifica: una percentuale nettamente superiore di popolazione è affetta dalla malattia ovvero la probabilità di essere malati aumenta.

Un test diagnostico qualitativo (come il tampone naso-faringeo) ha due possibilità di esito: positivo \oplus oppure negativo \ominus .

La probabilità di ottenere un test positivo per un individuo malato rappresenta la *sensibilità* del test [1]

$$P(\oplus|M) = \text{sensibilità} \quad (1)$$

la situazione ideale sarebbe quindi $P(\oplus|M) = 1$ ovvero ottenere 100% di test positivi su tutti i malati che equivale ad avere 0% di *falsi negativi*

$$P(\ominus|M) = \overline{P(\oplus|M)} = 1 - P(\oplus|M) = 0 \quad (2)$$

ovvero nessun malato otterrà un test falsamente negativo.

La probabilità di ottenere un test negativo per un individuo sano (non affetto dalla malattia in questione) rappresenta invece la *specificità* del test [1]

$$P(\ominus|\overline{M}) = \text{specificità} \quad (3)$$

la situazione ideale sarebbe quindi $P(\ominus|\overline{M}) = 1$ ovvero ottenere 100% di test negativi su tutti i sani che equivale ad avere 0% di *falsi positivi*

$$P(\oplus|\overline{M}) = \overline{P(\ominus|\overline{M})} = 1 - P(\ominus|\overline{M}) = 0 \quad (4)$$

ovvero nessun sano otterrà un test falsamente positivo.

Prevalenza, sensibilità e specificità influiscono sulla probabilità **a posteriori** di essere malato o sano in seguito a risultato positivo o negativo del test.

2 Test e Teorema di Bayes

Il teorema di Bayes (5) ci spiega il motivo e ci indica come calcolare queste probabilità.

$$P(A|B) = \frac{P(B|A)P(A)}{P(B)} \quad (5)$$

dove $P(B)$ può essere calcolato come

$$P(B) = P(B|A)P(A) + P(B|\overline{A})P(\overline{A}) \quad (6)$$

Applichiamo il teorema di Bayes per calcolare la probabilità di essere malato in seguito a risultato positivo di un test diagnostico:

$$P(M|\oplus) = \frac{P(\oplus|M)P(M)}{P(\oplus)} \quad (7)$$

Al numeratore conosciamo tutti i termini: il primo è la sensibilità (1) e il secondo, se dell'individuo non si sa nulla ed è scelto a caso, è la prevalenza (anche nel corso di un'epidemia). Al denominatore invece troviamo la probabilità a priori di avere un test positivo, che non conosciamo direttamente, ma possiamo calcolare grazie alla (6).

$$P(\oplus) = P(\oplus|M)P(M) + P(\oplus|\overline{M})P(\overline{M}) \quad (8)$$

dove $P(\oplus|\overline{M})$ ovvero la probabilità di avere un test positivo su individuo sano è $P(\oplus|\overline{M}) = 1 - P(\ominus|\overline{M})$ e, come già sappiamo, $P(\overline{M}) = 1 - P(M)$. Dunque la (7) diventa:

$$P(M|\oplus) = \frac{P(\oplus|M)P(M)}{P(\oplus|M)P(M) + (1 - P(\ominus|\overline{M}))(1 - P(M))} \quad (9)$$

ovvero

$$P(M|\oplus) = \frac{\text{sensibilità} \cdot \text{prevalenza}}{\text{sensibilità} \cdot \text{prevalenza} + (1 - \text{specificità}) \cdot (1 - \text{prevalenza})} \quad (10)$$

Applicando invece il teorema di Bayes per calcolare la probabilità di non essere malato in seguito ad un test negativo otteniamo

$$P(\overline{M}|\ominus) = \frac{P(\ominus|\overline{M})P(\overline{M})}{P(\ominus)} \quad (11)$$

anche in questo caso conosciamo il numeratore (specificità e 1 - prevalenza). Il denominatore può essere espresso come

$$P(\ominus) = P(\ominus|\overline{M})P(\overline{M}) + P(\ominus|M)P(M) \quad (12)$$

dove $P(\ominus|M) = 1 - P(\oplus|M)$. Sostituendo nella (11) otteniamo quindi

$$P(\overline{M}|\ominus) = \frac{P(\ominus|\overline{M})(1 - P(M))}{P(\ominus|\overline{M})(1 - P(M)) + (1 - P(\oplus|M))P(M)} \quad (13)$$

ovvero

$$P(\overline{M}|\ominus) = \frac{\text{specificità} \cdot (1 - \text{prevalenza})}{\text{specificità} \cdot (1 - \text{prevalenza}) + (1 - \text{sensibilità}) \cdot \text{prevalenza}} \quad (14)$$

Abbiamo dunque ora tutti gli strumenti necessari per calcolare la probabilità a posteriori di essere malati (o sani) in seguito ad esito del test diagnostico.

3 Test quasi ideale

Prendiamo a titolo d'esempio un buon test ("quasi" ideale) con specificità e sensibilità al 99.5%, supponendo un prevalenza del 10%:

$$P(M) = .1 \quad , \quad P(\oplus|M) = .995 \quad , \quad P(\ominus|\overline{M}) = .995 \quad (15)$$

alle ascisse metteremo la probabilità a priori di essere malato da 0 a 1 e alle ordinate la probabilità a posteriori di essere malato dato il risultato del test (figura 1). La linea blu rappresenta la probabilità a posteriori di essere malato in seguito a test positivo $P(M|\oplus)$ mentre la linea rossa la probabilità a posteriori di essere malato in seguito a test negativo $1 - P(\overline{M}|\ominus)$. La linea tratteggiata verticale indica la prevalenza $P(M)$.

Poniamo a solo titolo esemplificativo $p_{\ominus} = .05$ come limite diagnostico per un individuo sano, ovvero una probabilità del 5% di essere malato $P(M|\ominus) < .05$ è sufficiente a dichiarare sano un individuo in seguito a test negativo. Questo limite in realtà è deciso in base a precise e complesse linee guida per ogni malattia in base alla valutazione dei rischi tra cui: la gravità della condizione patologica e la sua possibile evoluzione, effetti collaterali dei trattamenti, rischio per malattia non trattata ecc...

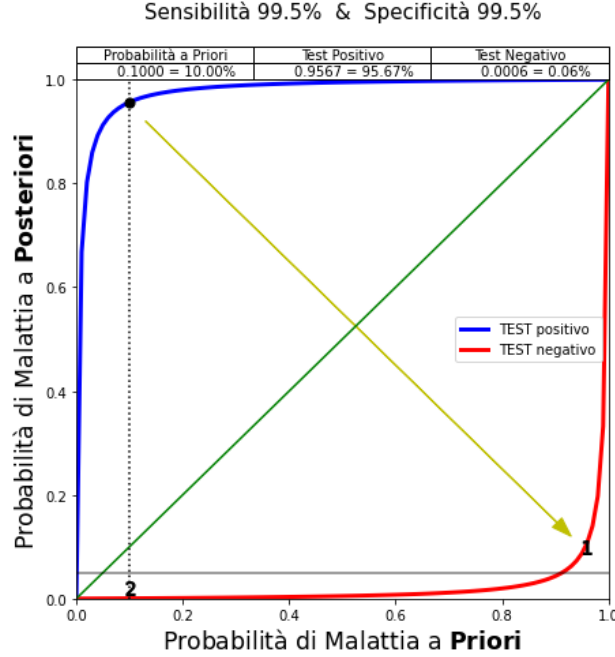


Figure 1: Esempio di test "quasi" ideale.

$$P(M|\ominus) = 0.0006$$

Notiamo come $P(M|\ominus)$, ovvero la probabilità a posteriori di essere malato dopo un test negativo, sia nettamente inferiore a p_{\ominus} . Dunque è sufficiente un solo test negativo per ritenere sano un individuo di cui non si abbiano precedenti informazioni (la sua probabilità a priori era solo la prevalenza).

$P(M|\oplus)$, ovvero la probabilità a posteriori di essere malato dopo un test positivo per un individuo nelle stesse condizioni, risulta superiore al 95% e diventa la nuova *probabilità a priori* per quel soggetto in caso di un test successivo (punto 1 sulla curva rossa). Si può calcolare che $P(M|\ominus)$ laddove la probabilità a priori del soggetto non sia la prevalenza ma $P(M) = P(M|\oplus) = 95.67\%$ è superiore al 5% infatti

$$P(M|\ominus) = 1 - \frac{P(\ominus|\overline{M})(1 - P(M|\oplus))}{P(\ominus|\overline{M})(1 - P(M|\oplus)) + (1 - P(\oplus|M))P(M|\oplus)} = 0.1000$$

da cui ricaviamo che un test negativo in un individuo che abbia precedentemente ricevuto un test positivo, non è sufficiente a ritenerlo sano ma ne sarà necessario un altro. Si può calcolare che la probabilità massima a priori per la quale sia sufficiente un solo test negativo per ritenere sano l'individuo (alla condizioni poste) è pari alla risoluzione per $P(M)$ di

$$p_{\ominus} = 1 - P(\overline{M}|\ominus) \tag{16}$$

ovvero

$$p_{\ominus} = 1 - \frac{P(\ominus|\overline{M})(1 - P(M))}{P(\ominus|\overline{M})(1 - P(M)) + (1 - P(\oplus|M))P(M)} \quad (17)$$

da cui si ricava facilmente che $P(M)_{max} = 0.9128$.

Al di sotto di questa probabilità a priori, con questi valori di sensibilità e specificità, servirà un solo test negativo per escludere, stabilito $p_{\ominus} < .05$, che l'individuo sia malato.

Si suppone qui che i test siano indipendenti rispetto alla diagnosi (vedi Section 4) e senza considerare la possibilità che $P(M)$ si modifichi nel tempo ovvero che condizioni cliniche, anamnesi, risultati di altri test ecc portino il medico a riconsiderare la condizione dell'esaminato. In caso invece di test effettuati contemporaneamente o in successione a relativamente breve distanza di tempo, laddove diagnosi e esclusione di malattia dipendano dal risultato combinato dei test effettuati, specificità e sensibilità si modificano di conseguenza a seconda della strategia utilizzata (vedi Section 4).

Notiamo anche come, a parità di sensibilità e specificità, la prevalenza (ovvero la probabilità di malattia a priori) influisca sulla probabilità di malattia a posteriori. Ad esempio per una malattia rara come la Sindrome di Cushing endogena con prevalenza in Europa di un 1 caso su 26'000 [3] ovvero

$P(M) = 0.000038 = 0.0038\%$, la probabilità di malattia a posteriori in seguito a test positivo (con sensibilità e specificità di .995) sia

$P(M|\oplus) = 0.0076 = 0.76\%$ dunque molto bassa anche se notevolmente superiore rispetto alla probabilità a priori.

In questo caso, a parità di sensibilità, servirebbe un test altamente specifico, ad esempio con $P(\ominus|\overline{M}) = .9999$ col quale si otterrebbe una probabilità a posteriori per test positivo pari a

$P(M|\oplus) = 0.2768 = 27.68\%$

4 Test ripetuti

La situazione discussa nella precedente Section 3 e in figura 1 è valida però, come si diceva, solo se la diagnosi sia indipendente dal risultato combinato dei test ripetuti. Non considereremo qui la possibilità che $P(M)$ del paziente si modifichi nel tempo: segni, sintomi, anamnesi, ecc che possono portare il medico a rivalutare la condizione del soggetto e dunque la sua probabilità di malattia.

In caso invece di test effettuati contemporaneamente o in successione (stabilita l'indipendenza condizionale dei risultati) se la diagnosi dipende dal risultato ottenuto da tutti i test, specificità e sensibilità si modificano ad ogni ripetizione [4].

4.1 Test in parallelo

I test in parallelo vengono effettuati contemporaneamente e la diagnosi viene effettuata in base all'insieme dei risultati ottenuti. Supponiamo inizialmente che vengano effettuati due test ed estendiamo di volta alla possibilità di n test effettuati.

4.1.1 Regola T (tutti necessari)

Entrambi i test negativi o entrambi positivi sono necessari rispettivamente a escludere o diagnosticare la malattia. La indicheremo come regola $\mathbf{T}_{\oplus\ominus}$.

$$\oplus_1 \wedge \oplus_2 \Rightarrow \text{individuo malato}$$

$$\ominus_1 \wedge \ominus_2 \Rightarrow \text{individuo sano}$$

$$\oplus_1 \wedge \ominus_2 \vee \ominus_1 \wedge \oplus_2 \Rightarrow \text{nessuna informazione!}$$

Non è una “vera” regola utilizzata nella pratica clinica perché nel caso in cui entrambi non siano positivi o negativi i test effettuati (magari anche invasivi o che presentano dei rischi o effetti indesiderati per la tecnica utilizzata) non sono in grado di fornire alcuna informazione e il problema diagnostico rimane aperto. È usata qui solamente a scopo esemplificativo.

In questo caso, per la regola della probabilità totale, specificità \mathbf{SP} e sensibilità \mathbf{SE} finali sono pari alle produttorie per $i = 1 \cdots n$; non variando \mathbf{SP} e \mathbf{SE} da test a test, il risultato finale sarà dunque \mathbf{SE}^n e \mathbf{SP}^n riducendo così progressivamente entrambe ad ogni ripetizione. Non è dunque una strategia vantaggiosa (oltre alla perdita di informazione in caso di risultati discordanti):

$$\mathbf{SE}_{tot} = P(\oplus|M)_{tot} = \bigcap_{i=1}^n P(\oplus|M)_i = \prod_{i=1}^n \mathbf{SE} = \mathbf{SE}^n$$

$$\mathbf{SP}_{tot} = P(\ominus|\overline{M})_{tot} = \bigcap_{i=1}^n P(\ominus|\overline{M})_i = \prod_{i=1}^n \mathbf{SP} = \mathbf{SP}^n$$

4.1.2 Regola O (the OR rule)

Solo se entrambi i test sono negativi la diagnosi è esclusa, ne è sufficiente uno solo per diagnosticare la malattia. La indicheremo come Regola \mathbf{O}_{\ominus} :

$$\ominus_1 \wedge \ominus_2 \Rightarrow \text{individuo sano}$$

$$\oplus_1 \wedge \ominus_2 \vee \ominus_1 \wedge \oplus_2 \Rightarrow \text{individuo malato}$$

Dato che entrambi i test negativi sono necessari per escludere la diagnosi \overline{M} ed essendo \mathbf{SP} la probabilità a posteriori di avere un test negativo se l'individuo è sano $P(\ominus|\overline{M})$, la specificità totale sarà pari al prodotto delle specificità $\mathbf{SP}_1 \cdot \mathbf{SP}_2$ che essendo uguali diventa \mathbf{SP}^2 . Per n test ripetuti la specificità totale sarà pari alla produttoria degli n test

$$\mathbf{SP}_{tot} = P(\ominus|\overline{M})_{tot} = \bigcap_{i=1}^n P(\ominus|\overline{M})_i = \prod_{i=1}^n \mathbf{SP} = \mathbf{SP}^n$$

Visto che invece un solo test positivo è sufficiente a diagnosticare la malattia M ed essendo \mathbf{SE} la probabilità a posteriori di avere un test positivo in caso di malattia $P(\oplus|M)$, la sensibilità totale sarà pari alla somma delle sensibilità dei due test meno il loro prodotto perché la concomitanza dei due test positivi non è contemplata come risultato utile alla diagnosi

$$\mathbf{SE}_{tot} = P(\oplus|M)_1 + P(\oplus|M)_2 - \left(P(\oplus|M)_1 \cdot P(\oplus|M)_2 \right) = \mathbf{SE}_1 + \mathbf{SE}_2 - (\mathbf{SE}_1 \cdot \mathbf{SE}_2)$$

che essendo i due test uguali si riduce (in questo caso specifico) a

$$\mathbf{SE}_{tot} = 2 \cdot P(\oplus|M) - P(\oplus|M)^2 = 2\mathbf{SE} - \mathbf{SE}^2$$

Per n test, dato che $P(\ominus|M)$ corrisponde al falso negativo ed è necessario che tutti i test siano negativi per escludere la malattia possiamo dire che i falsi negativi totali sono

$$P(\ominus|M)_{tot} = \bigcap_{i=1}^n P(\ominus|M)_i = \prod_{i=1}^n P(\ominus|M)_i$$

ma visto che il falso negativo è complementare alla sensibilità

$$P(\ominus|M) = \overline{P(\oplus|M)} = 1 - P(\oplus|M) = 1 - \mathbf{SE}$$

si può dire che

$$P(\ominus|M)_{tot} = \prod_{i=1}^n (1 - \mathbf{SE})_i$$

e sapendo che allo stesso modo la sensibilità è il complemento del falso negativo

$$\mathbf{SE} = P(\oplus|M) = 1 - P(\ominus|M)$$

si può concludere che

$$\mathbf{SE}_{tot} = 1 - P(\ominus|M)_{tot} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - \mathbf{SE})_i$$

Essendo in questo caso i test uguali otteniamo:

$$\mathbf{SE}_{tot} = 1 - (1 - \mathbf{SE})^n$$

4.1.3 Regola E (the AND rule)

Solo se entrambi i test sono positivi è diagnosticata la malattia, ne è sufficiente uno negativo per escludere la condizione patologica. La indicheremo come Regola \mathbf{E}_\oplus :

$$\oplus_1 \wedge \oplus_2 \Rightarrow \text{individuo malato}$$

$$\oplus_1 \wedge \oplus_2 \vee \ominus_1 \wedge \ominus_2 \Rightarrow \text{individuo sano}$$

Dato che entrambi i test positivi sono necessari per confermare la diagnosi M ed essendo \mathbf{SE} la probabilità a posteriori di avere un test positivo se l'individuo è malato $P(\oplus|M)$, la sensibilità totale sarà pari al prodotto delle sensibilità $\mathbf{SE}_1 \cdot \mathbf{SE}_2$ che essendo uguali diventa \mathbf{SE}^2 . Per n test ripetuti la sensibilità totale sarà pari alla produttoria degli n test

$$\mathbf{SE}_{tot} = P(\oplus|M)_n = \bigcap_{i=1}^n P(\oplus|M) = \prod_{i=1}^n \mathbf{SE} = \mathbf{SE}^n$$

Visto che invece un solo test negativo è sufficiente a escludere la malattia \overline{M} ed essendo \mathbf{SP} la probabilità a posteriori di avere un test negativo in caso di salute $P(\ominus|\overline{M})$, la specificità totale sarà pari alla somma delle specificità dei due test meno il loro prodotto perché la concomitanza dei due test negativi non è contemplata come risultato utile alla diagnosi

$$\mathbf{SP}_{tot} = P(\ominus|\overline{M})_1 + P(\ominus|\overline{M})_2 - \left(P(\ominus|\overline{M})_1 \cdot P(\ominus|\overline{M})_2 \right) = \mathbf{SP}_1 + \mathbf{SP}_2 - (\mathbf{SP}_1 \cdot \mathbf{SP}_2)$$

che essendo i due test uguali si riduce a

$$\mathbf{SP}_{tot} = 2 \cdot P(\ominus|\overline{M}) - P(\ominus|\overline{M})^2 = 2\mathbf{SP} - \mathbf{SP}^2$$

Per n test, dato che $P(\oplus|\overline{M})$ corrisponde al falso positivo ed è necessario che tutti i test siano positivi per diagnosticare la malattia possiamo dire che i falsi positivi totali sono

$$P(\oplus|\overline{M})_{tot} = \bigcap_{i=1}^n P(\oplus|\overline{M})_i = \prod_{i=1}^n P(\oplus|\overline{M})_i = P(\oplus|\overline{M})^n$$

ma visto che il falso positivo è complementare alla specificità

$$P(\oplus|\overline{M}) = \overline{P(\ominus|\overline{M})} = 1 - P(\ominus|\overline{M}) = 1 - \mathbf{SP}$$

si può dire che

$$P(\oplus|\overline{M})_{tot} = \prod_{i=1}^n (1 - \mathbf{SP})_i$$

e sapendo che allo stesso modo la specificità è il complemento del falso positivo

$$\mathbf{SP} = P(\ominus|\overline{M}) = 1 - P(\oplus|\overline{M})$$

si può concludere che

$$\mathbf{SP}_{tot} = 1 - P(\oplus|\overline{M})_{tot} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - \mathbf{SP})_i$$

Essendo i test uguali in questo si riduce a

$$\mathbf{SP}_{tot} = 1 - (1 - \mathbf{SP})^n$$

4.2 Test in serie

I test in serie vengono effettuati a breve distanza di tempo e ripetuti solo se il risultato precedente è positivo o negativo, in base alla strategia utilizzata.

4.2.1 Regola T (tutti ripetuti)

Il test viene ripetuto n volte sia che il precedente fosse positivo sia negativo. La indicheremo come regola $\mathbf{T}_{\oplus\ominus}$ come per la regola similare dei test in parallelo.

$$\oplus_1 \wedge \oplus_2 \Rightarrow \text{individuo malato}$$

$$\ominus_1 \wedge \ominus_2 \Rightarrow \text{individuo sano}$$

$$\oplus_1 \wedge \ominus_2 \vee \ominus_1 \wedge \oplus_2 \Rightarrow \text{nessuna informazione!}$$

Come il suo omonimo in parallelo, non è una “vera” regola utilizzata nella pratica clinica perché nel caso in cui entrambi non siano positivi o negativi i test effettuati non sono in grado di fornire alcuna informazione e il problema diagnostico rimane aperto. È anch’essa usata qui solamente a scopo esemplificativo.

In questo caso, per la regola della probabilità totale, specificità \mathbf{SP} e sensibilità \mathbf{SE} finali sono pari alle produttorie per $i = 1 \cdots n$; non variando \mathbf{SP} e \mathbf{SE} da test a test, il risultato finale sarà dunque \mathbf{SE}^n e \mathbf{SP}^n riducendo così progressivamente entrambe ad ogni ripetizione. Non è dunque una strategia vantaggiosa (oltre alla perdita di informazione)

$$\mathbf{SE}_n = P(\oplus|M)_{tot} = \bigcap_{i=1}^n P(\oplus|M)_i = \prod_{i=1}^n \mathbf{SE} = \mathbf{SE}^n$$

$$\mathbf{SP}_n = P(\ominus|\overline{M})_{tot} = \bigcap_{i=1}^n P(\ominus|\overline{M})_i = \prod_{i=1}^n \mathbf{SP} = \mathbf{SP}^n$$

4.2.2 Regola O (the OR rule)

Il test viene ripetuto solo se precedentemente negativo, è sufficiente che il primo o il secondo test siano positivi per diagnosticare la malattia e solo se entrambi sono negativi è esclusa la patologia. La indicheremo come Regola \mathbf{O}_\ominus (come la similare in parallelo):

$$\ominus_1 \wedge \ominus_2 \Rightarrow \text{individuo sano}$$

$$\oplus_1 \vee \ominus_1 \wedge \oplus_2 \Rightarrow \text{individuo malato}$$

In questo caso, dato che se negativo il test viene sicuramente ripetuto ed essendo \mathbf{SP} la probabilità a posteriori di avere un test negativo se l'individuo è sano $P(\ominus|\overline{M})$, la specificità totale sarà uguale al prodotto delle specificità dei due test che essendo uguali sarà dunque \mathbf{SP}^2 . Per test ripetuti n volte sarà dunque pari a

$$\mathbf{SP}_n = P(\ominus|\overline{M})_n = \bigcap_{i=1}^n P(\ominus|\overline{M}) = \prod_{i=1}^n \mathbf{SP} = \mathbf{SP}^n$$

Dato che invece il test viene ripetuto solo se precedentemente non positivo e che \mathbf{SE} è la probabilità a posteriori di avere un test positivo se l'individuo è malato $P(\oplus|M)$, la sensibilità totale sarà pari alla sensibilità del primo test più la sensibilità del secondo a condizione che il primo non fosse positivo ovvero $\mathbf{SE}_1 + \mathbf{SE}_2 \cdot (1 - \mathbf{SE}_1)$ che essendo le sensibilità uguali per i due test si riduce a $2\mathbf{SE} - \mathbf{SE}^2$.

Per n test, dato che $P(\ominus|M)$ corrisponde al falso negativo ed è necessario che tutti i test siano negativi per essere ripetuti n volte possiamo dire che i falsi negativi totali sono

$$P(\ominus|M)_{tot} = \bigcap_{i=1}^n P(\ominus|M)_i = \prod_{i=1}^n P(\ominus|M)_i = P(\ominus|M)^n$$

ma visto che il falso negativo è complementare alla sensibilità

$$P(\ominus|M) = \overline{P(\oplus|\overline{M})} = 1 - P(\oplus|M) = 1 - \mathbf{SE}$$

si può dire che

$$P(\ominus|M)_{tot} = \prod_{i=1}^n (1 - \mathbf{SE})_i$$

e sapendo che allo stesso modo la sensibilità è il complemento del falso negativo

$$\mathbf{SE} = P(\oplus|M) = 1 - P(\ominus|M)$$

si può concludere che

$$\mathbf{SE}_{tot} = 1 - P(\ominus|M)_{tot} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - \mathbf{SE})_i$$

Essendo i test uguali, come nei precedenti casi si ottiene

$$\mathbf{SE}_{tot} = 1 - (1 - \mathbf{SE})^n$$

4.2.3 Regola E (the AND rule)

Il test viene ripetuto solo se precedentemente positivo, è sufficiente che il primo o il secondo test siano negativi per escludere la malattia e solo se entrambi sono positivi è diagnosticata la patologia. La indicheremo come Regola \mathbf{E}_{\oplus} (come la similare in parallelo)

$$\oplus_1 \wedge \oplus_2 \Rightarrow \text{individuo malato}$$

$$\ominus_1 \vee \oplus_1 \wedge \ominus_2 \Rightarrow \text{individuo sano}$$

In questo caso, dato che se positivo il test viene sicuramente ripetuto ed essendo \mathbf{SE} la probabilità a posteriori di avere un test positivo se l'individuo è malato $P(\oplus|M)$, la sensibilità totale sarà uguale al prodotto delle sensibilità dei due test che essendo uguali sarà dunque \mathbf{SE}^2 . Per test ripetuti n volte sarà dunque pari a

$$\mathbf{SE}_n = P(\oplus|M)_n = \prod_{i=1}^n P(\oplus|M) = \prod_{i=1}^n \mathbf{SE} = \mathbf{SE}^n$$

Dato che invece il test viene ripetuto solo se precedentemente non negativo e che \mathbf{SP} è la probabilità a posteriori di avere un test negativo se l'individuo è sano $P(\ominus|\overline{M})$, la specificità totale sarà pari alla specificità del primo test più la specificità del secondo a condizione che il primo non fosse negativo ovvero $\mathbf{SP}_1 + \mathbf{SP}_2 \cdot (1 - \mathbf{SP}_1)$ che, essendo le specificità uguali, si riduce a $2\mathbf{SP} - \mathbf{SP}^2$.

Per n test, dato che $P(\oplus|\overline{M})$ corrisponde al falso positivo ed è necessario che tutti i test siano positivi per essere ripetuti n volte, possiamo dire che i falsi positivi totali sono

$$P(\oplus|\overline{M})_{tot} = \prod_{i=1}^n P(\oplus|\overline{M})_i = \prod_{i=1}^n P(\oplus|\overline{M})_i = P(\oplus|\overline{M})^n$$

ma visto che il falso positivo è complementare alla specificità

$$P(\oplus|\overline{M}) = \overline{P(\ominus|\overline{M})} = 1 - P(\ominus|\overline{M}) = 1 - \mathbf{SP}$$

si può dire che

$$P(\oplus|\overline{M})_{tot} = \prod_{i=1}^n (1 - \mathbf{SP})_i$$

Table 1: Specificità, sensibilità e falsi per n test ripetuti

Regola	\mathbf{SE}_{tot}	$P(f_-)$	\mathbf{SP}_{tot}	$P(f_+)$
$\mathbf{T}_{\oplus\ominus}$	\mathbf{SE}^n	$1 - \mathbf{SE}^n$	\mathbf{SP}^n	$1 - \mathbf{SP}^n$
\mathbf{O}_{\ominus}	$1 - (1 - \mathbf{SE})^n$	$(1 - \mathbf{SE})^n$	\mathbf{SP}^n	$1 - \mathbf{SP}^n$
\mathbf{E}_{\oplus}	\mathbf{SE}^n	$1 - \mathbf{SE}^n$	$1 - (1 - \mathbf{SP})^n$	$(1 - \mathbf{SP})^n$

e sapendo che allo stesso modo la specificità è il complemento del falso positivo

$$\mathbf{SP} = P(\ominus|\overline{M}) = 1 - P(\oplus|\overline{M})$$

si può concludere che

$$\mathbf{SP}_{tot} = 1 - P(\oplus|\overline{M})_{tot} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - \mathbf{SP})_i$$

Anche in questo caso dato i test sono uguali si ottiene quindi

$$\mathbf{SP}_{tot} = 1 - (1 - \mathbf{SP})^n$$

4.3 Falsi positivi e falsi negativi

Dunque nel caso di ripetizioni del medesimo test (dove si intende lo stesso tipo di test sul medesimo soggetto ma su prelievi o reperti differenti) specificità e sensibilità totali sono le stesse sia in caso la ripetizione fosse in parallelo o in serie (vedi tabella 1).

Notiamo come (vedi figura 2), nel caso della regola $\mathbf{T}_{\oplus\ominus}$ (tutti i test necessari se in parallelo o tutti i test ripetuti se in serie), sia sensibilità che specificità “degradino” rapidamente portando ben presto a percentuali inaccettabili di falsi positivi ($P(f_+)$) e falsi negativi ($P(f_-)$) loro complementari.

Ripetendo invece solo nel caso di test negativo (regola \mathbf{O}_{\ominus}) o di test positivo (regola \mathbf{E}_{\oplus}) rispettivamente sensibilità e specificità tendono presto a 1 portando rispettivamente $P(f_-)$ ed $P(f_+)$ (loro complementari) quasi a 0 ma al contempo i parametri rispettivamente di specificità e sensibilità degradano rapidamente, soprattutto se già inizialmente non sufficientemente elevati.

Quindi si può utilizzare

- la regola \mathbf{O}_{\ominus} per migliorare una bassa sensibilità, a patto di avere una buona specificità, riducendo i falsi negativi
- la regola \mathbf{E}_{\oplus} per migliorare una bassa specificità, a patto di avere una buona sensibilità, riducendo i falsi positivi

Ripetizione di 10 test, **SE** = 0.95 **SP** = 0.82

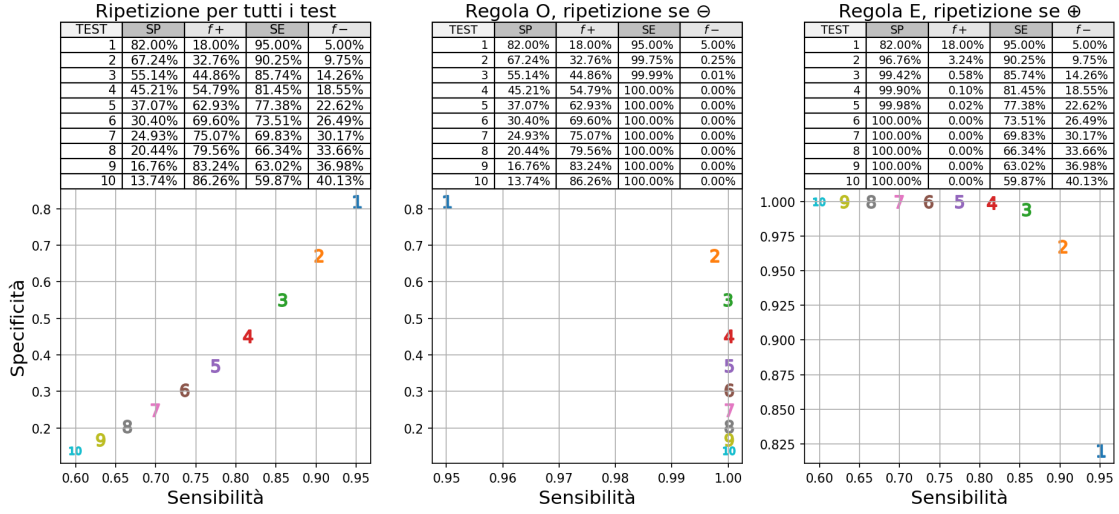


Figure 2: Esempio di ripetizione di 10 test ed effetto delle regole su sensibilità e specificità.

5 Sensibilità e Specificità

Mantenendo fissa la sensibilità a .995, variamo la specificità e viceversa

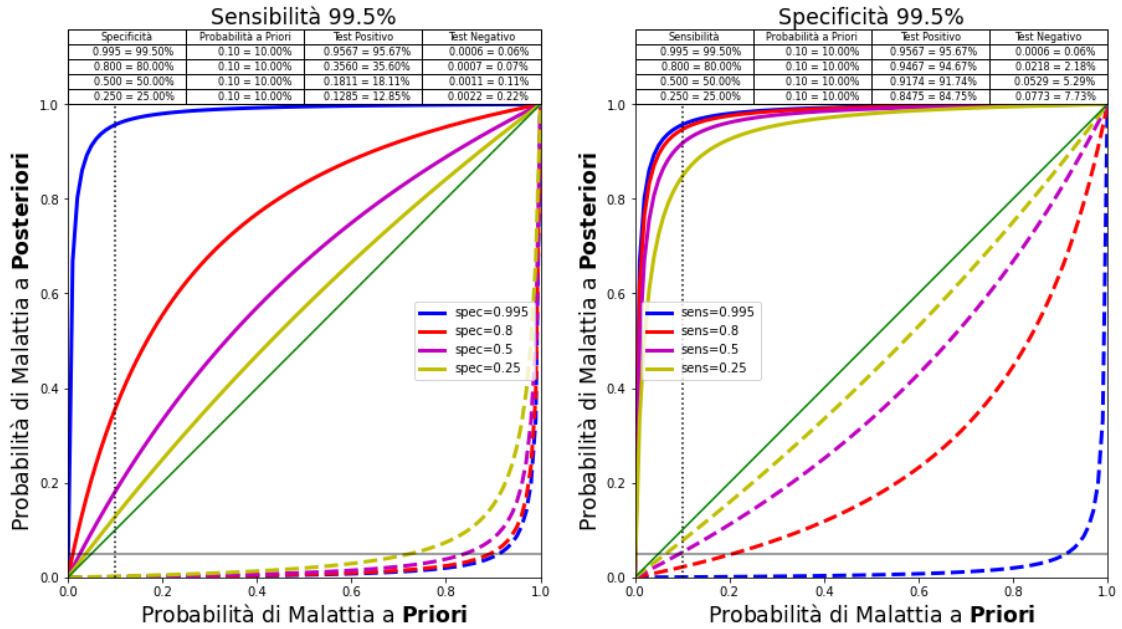


Figure 3: Rapporto tra specificità e sensibilità. Le linee piene indicano $P(M|\oplus)$, le linee tratteggiate $P(M|\ominus)$.

Notiamo come valori differenti di specificità a parità di sensibilità (o viceversa) abbiano effetti sia sulla probabilità a posteriori per test positivo che per test negativo sebbene

- variazioni nella specificità $P(\ominus|\overline{M})$ abbiano maggior effetto su $P(M|\oplus)$
- variazioni nella sensibilità $P(\oplus|M)$ abbiano maggior effetto su $P(\overline{M}|\ominus)$

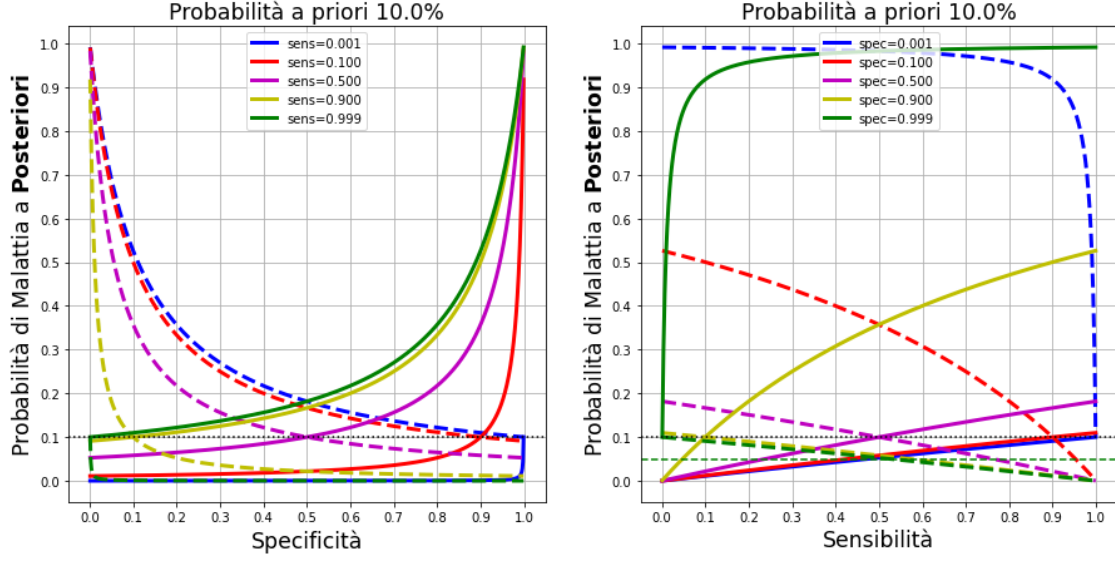


Figure 4: Rapporto tra specificità e sensibilità. Le linee piene indicano $P(M|\oplus)$, le linee tratteggiate $P(M|\ominus)$. Si nota come sia necessario che i test abbiano determinate caratteristiche per poter essere utili.

Si nota come sensibilità e specificità siano strettamente interconnesse. In particolare, data una probabilità di malattia a priori $P(M)$, si vuole che un test abbia

- una probabilità di malattia a posteriori dato test positivo almeno $P(M|\oplus) > P(M)$
- una probabilità di malattia a posteriori dato test negativo almeno $P(M|\ominus) < P(M)$

Per trovare i minimi requisiti di un test diagnostico dunque, data la probabilità di malattia a priori, si può risolvere il sistema a due equazioni

$$\begin{cases} P(M|\oplus) > P(M) \\ P(M|\ominus) < P(M) \end{cases}$$

ma avendo stabilito $p_{\ominus} < .05$ per $P(M|\ominus)$ si può anche assumere $p_{\oplus} > .5$ per $P(M|\oplus)$ ovvero che la probabilità di malattia a posteriori dato test positivo sia almeno superiore al 50% come requisito minimo e $p_{\oplus} > .9$ (ovvero superiore al 90%) come requisito ottimale.

$$\begin{cases} P(M|\oplus) > p_{\oplus} \\ P(M|\ominus) < p_{\ominus} \end{cases}$$

Nella realtà della pratica clinica, i valori limite p_{\ominus} e p_{\oplus} sono stabiliti secondo linee guida per ogni malattia dato il rischio per malattia non trattata, il rischio dovuto ai trattamenti (effetti collaterali e/o indesiderati), ulteriori fattori di rischio derivanti da storia clinica e anamnesi ecc.

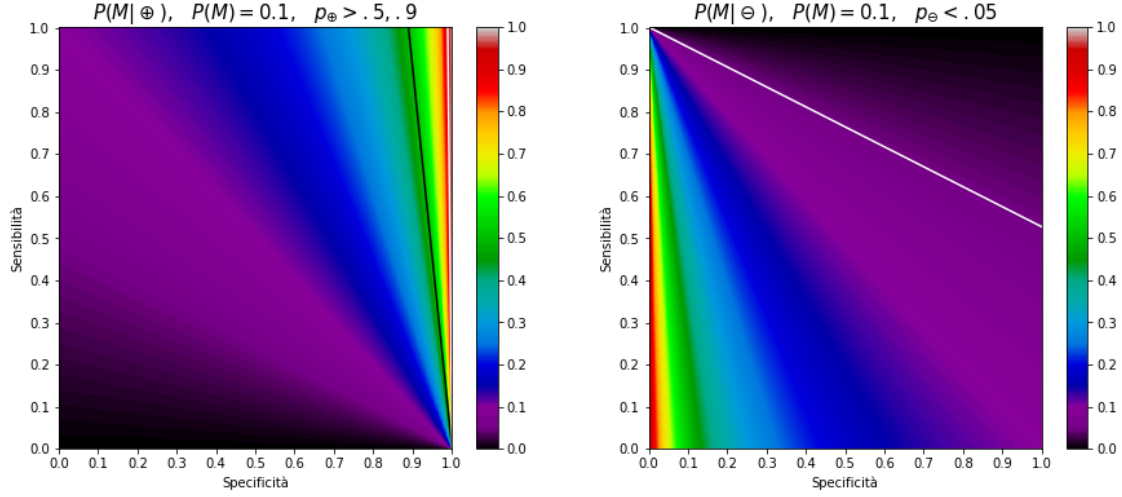


Figure 5: Requisiti per $P(M) = .1$. L'area a destra della linea nera nell'immagine di sinistra è il requisito minimo per $P(M|\oplus) > .5$ e a destra della linea bianca i requisiti ideali per $p(M|\oplus) > .9$. L'area a destra della linea bianca nell'immagine di destra è il requisito minimo per $P(M|\ominus) < .05$.

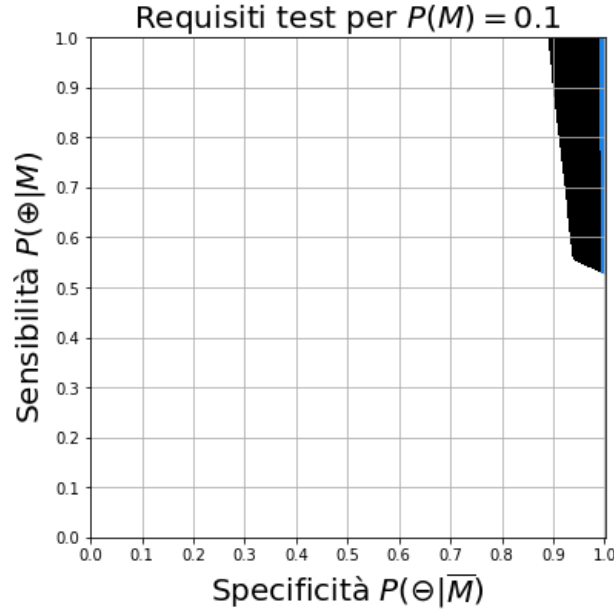


Figure 6: L'area nera indica i requisiti minimi necessari $P(M|\oplus) > .5$ e $P(M|\ominus) < .05$ per un test con $P(M) = .1$. L'area azzurra i requisiti ottimali per $P(M|\oplus) > .9$.

6 COVID-19 e tamponi naso-faringei

Studi recenti suggeriscono che i tamponi naso-faringei usati per la diagnosi di COVID-19 (RT-PCR SARS-CoV-2 RNA test) abbiano sensibilità $\mathbf{SE} = P(\oplus|M) = 0.777$ e specificità di $\mathbf{SP} = P(\ominus|\bar{M}) = 0.988$ [5] e che la prevalenza di COVID-19 in Italia (in fase pandemica) sia circa pari a $P(M) = 0.13$ [6] [7] [8].

Verifichiamo che il test abbia i requisiti richiesti (figura 7): il punto giallo indica i parametri di sensibilità e specificità dei test in esame per $P(M) = .13$, i test hanno quindi caratteristiche ottimali.

Si sottolinea che la presente è una semplice analisi matematica delle probabilità a posteriori in seguito ai risultati dei test. La valutazione dei risultati e delle conseguenti azioni (osservazione o isolamento domiciliare, trattamento farmacologico, ospedalizzazione, dimissione ecc) è presa in sede clinica in base anche ad anamnesi, tracciamento dei contatti, rischi terapeutici, rischi per malattia non trattata e rischi per potenziali infetti non isolati in base alle più recenti indicazioni pubblicate [9] [10] [11].

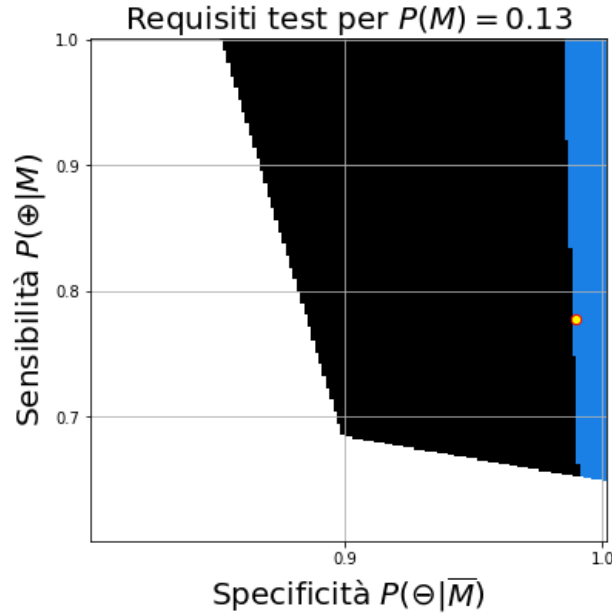


Figure 7: L'area nera indica i requisiti necessari $P(M|\oplus) > .5$ e $P(M|\ominus) < .05$ per un test con $P(M) = .13$ (azzurra ottimali per $P(M|\oplus) > .9$). Il punto giallo indica i parametri di sensibilità e specificità dei test RT-PCR SARS-CoV-2 RNA test per COVID-19: sensibilità $P(\oplus|M) = 0.777$ e specificità di $P(\ominus|\bar{M}) = 0.988$

Vediamo come si modificano le curve delle probabilità a posteriori impostando questi tre parametri (figura 9).

Anche in questo caso dunque è sufficiente un test negativo per ritenere sano un soggetto su cui non si abbiano precedenti informazioni.

$$P(M|\ominus) = 0.0326 < p_{\ominus} = 0.05$$

Se invece un soggetto risultasse positivo (punto nero in figura 9), la sua probabilità di essere malato passerebbe da 0.13 (prevalenza stimata di COVID-19 in Italia in fase pandemica) a

$$P(M|\oplus) = 0.9063 > p_{\oplus} = .9$$

Recentemente per pazienti dimessi affetti da COVID-19, si effettuano 3 test (tampone naso-faringeo RT-PCR RNA) di controllo: uno alla dimissione (se negativo), uno dopo una settimana circa e il terzo dopo un'altra settimana circa. Se i test sono negativi vengono ripetuti, se tutti i tre test risultano negativi è esclusa definitivamente la malattia e il paziente è ritenuto guarito.

Quindi si tratta di una ripetizione seriale di tre test con regola \mathbf{O}_\ominus : un solo test positivo è sufficiente a ritenere il paziente ancora malato e tutti i tre test negativi sono necessari a ritenerlo sano.

La condizione di partenza è pertanto di falsi positivi

$$P(f_+) = P(\oplus|\overline{M}) = 1 - \mathbf{SP} = 0.012000 \simeq 1.20\%$$

e falsi negativi

$$P(f_-) = P(\ominus|M) = 1 - \mathbf{SE} = 0.223000 \simeq 22.30\%$$

Applicando il test ripetuto con regola \mathbf{O}_\ominus e le formule derivate sopra abbiamo quindi:

$$\mathbf{SE}_{tot} = 1 - (1 - \mathbf{SE})^3 = 1 - (1 - .777)^3 = 0.988910$$

$$\mathbf{SP}_{tot} = \mathbf{SP}^3 = .988^3 = 0.964430$$

aumentando dunque la sensibilità inizialmente bassa e non degradando eccessivamente la specificità, infatti otteniamo una percentuale di falsi positivi lievemente aumentata

$$P(f_+) = P(\oplus|\overline{M}) = 1 - \mathbf{SP} = 0.035570 \simeq 3.56\%$$

e una percentuale di falsi negativi notevolmente ridotta

$$P(f_-) = P(\ominus|M) = 1 - \mathbf{SE} = 0.011090 \simeq 1.11\%$$

Vedi riquadro e corrispondente tabella in figura 8.

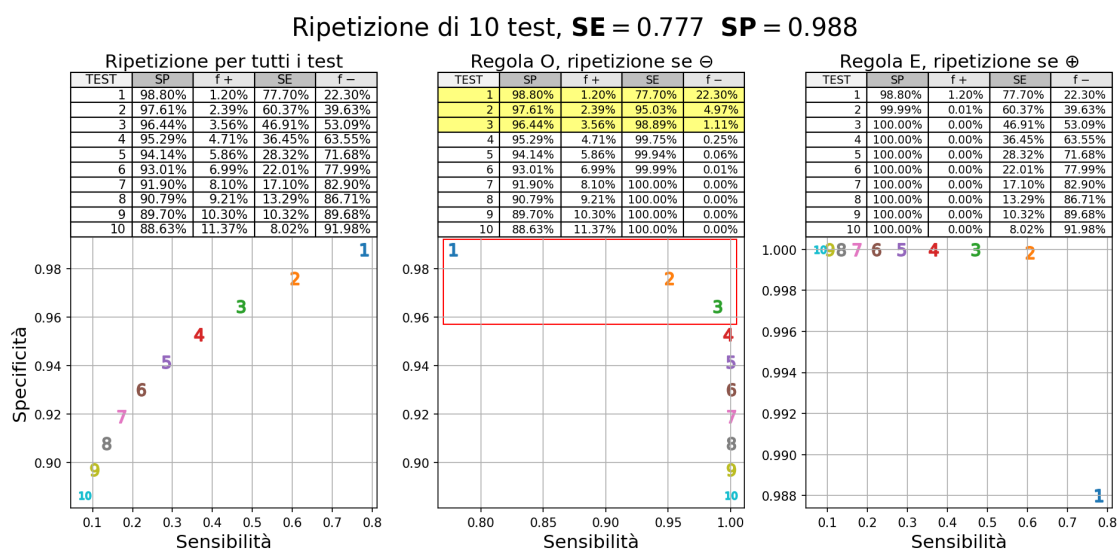


Figure 8: Effetto delle regole di ripetizione sui test RT-PCR per COVID-19

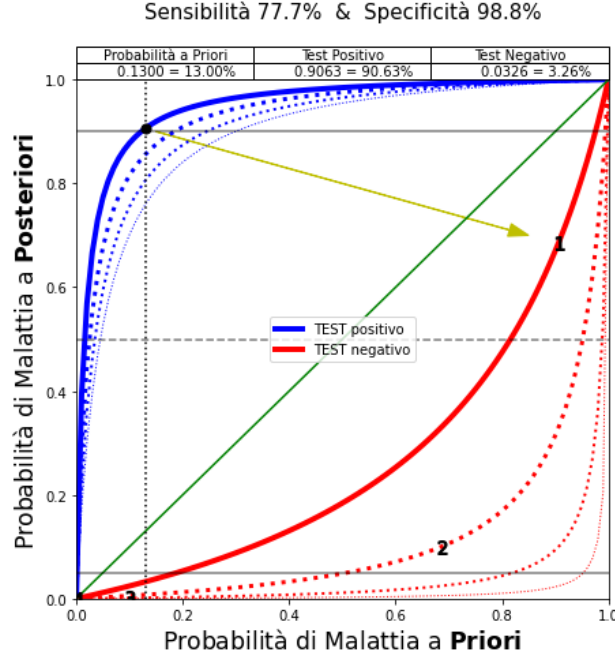


Figure 9: Probabilità di malattia COVID-19 a posteriori per test RT-PCR SARS-CoV-2 RNA.

Vediamo quindi la probabilità a posteriori per test negativo $P(M|\ominus)$ con la probabilità a priori di un soggetto precedentemente risultato positivo (punto 1 in figura 9)

$$P(M|\ominus)_1 = 1 - \frac{\mathbf{SP}(1 - P(M))}{\mathbf{SP}(1 - P(M)) + (1 - \mathbf{SE})P(M)} = 1 - \frac{0.988(1 - 0.906)}{0.988(1 - 0.906) + (1 - 0.777)0.906} = 0.6859$$

Dunque un tampone negativo non è sufficiente, il soggetto ha ancora un'elevata probabilità di essere infetto, supponiamo che ne venga fatto un secondo tenendo conto delle modifiche subite da sensibilità e specificità con regola \mathbf{O}_\ominus (punto 2 in figura 9)

$$P(M|\ominus)_2 = 1 - \frac{\mathbf{SP}(1 - P(M))}{\mathbf{SP}(1 - P(M)) + (1 - \mathbf{SE})P(M)} = 1 - \frac{0.976(1 - 0.686)}{0.976(1 - 0.686) + (1 - 0.950)0.686} = 0.1001$$

Ancora superiore, 10.01% di probabilità di essere infetto non è accettabile per ritenere guarito il paziente. Effettuiamo un terzo test ricordando che sensibilità e specificità si modificano di conseguenza per la regola \mathbf{O}_\ominus (punto 3 in figura 9)

$$P(M|\ominus)_3 = 1 - \frac{\mathbf{SP}(1 - P(M))}{\mathbf{SP}(1 - P(M)) + (1 - \mathbf{SE})P(M)} = 1 - \frac{0.964(1 - 0.100)}{0.964(1 - 0.100) + (1 - 0.989)0.100} = 0.0013$$

0.13% è inferiore a p_\ominus stabilito in precedenza, dunque effettuare un quarto test non è necessario e, così facendo, aumenteremmo a livelli non più accettabili i falsi negativi, per la degradazione della specificità data dalla regola \mathbf{O}_\ominus utilizzata.

Se infatti effettuassimo un quarto test

$$P(M|\ominus)_4 = 1 - \frac{\mathbf{SP}(1 - P(M))}{\mathbf{SP}(1 - P(M)) + (1 - \mathbf{SE})P(M)} = 1 - \frac{0.953(1 - 0.001)}{0.953(1 - 0.001) + (1 - 0.998)0.001} \simeq 0.0000$$

otterremmo quasi 0.00% di probabilità di essere infetto ma avremmo aumentato il rischio di falsi negativi

$$P(f_-) = 4.71\%$$

7 COVID-19 e test sierologici rapidi

Nella cosiddetta “fase-2” verranno probabilmente utilizzati test sierologici rapidi (**RDT**) [12].

I test RDT evidenziano la presenza di immunoglobuline (anticorpi) di tipo IgM (risposta primaria) e IgG (risposta secondaria) nel siero. Le concentrazioni di IgM e IgG variano a seconda del periodo trascorso dall’infezione e sono differenti in caso di prima o seconda esposizione. Attualmente non ci sono sufficienti informazioni su SARS-nCoV-2 per determinare con certezza la cinetica della risposta immunitaria ma alcuni studi hanno suggerito delle ipotesi plausibili, in base ai dati di altri coronavirus noti e a recenti studi su piccoli gruppi di pazienti affetti da COVID-19 [13] [14] [15] [16] [17] [18].

La figura 10 mostra un sunto delle attuali ipotesi: alla prima esposizione concentrazioni di IgM sono misurabili dopo 10 giorni circa dall’infezione e 3 dalla comparsa dei sintomi con un massimo 12-13 giorni dopo l’infezione; livelli di IgG sono misurabili 11-12 giorni dopo l’infezione con un massimo a 20 giorni. Dopo circa 30 giorni i livelli di IgM e IgG non sono più misurabili. Dalla seconda esposizione in poi basse concentrazioni di IgM e IgG sono misurabili 4-5 giorni dopo l’infezione; dopo circa 10 giorni i livelli di IgM sono più misurabili mentre si riscontrano alte concentrazioni di IgG con un massimo a 15 giorni per poi calare molto lentamente. Il periodo di maggior rischio di contagio alla prima esposizione coincide grosso modo con l’espressione di IgM, ovvero tra i 9-10 e i 15-16 giorni dall’infezione ed è medio per tutto il resto del periodo sintomatico ovvero tra i 6-7 e i 25-26 giorni dall’infezione. Alla seconda esposizione un basso rischio di contagio è probabile solamente durante l’espressione di IgM tra i 4-5 e 9-10 giorni dall’esposizione. Non si hanno sufficienti informazioni rispetto ai portatori sani e al primo periodo asintomatico fino a 5-6 giorni dalla prima esposizione.

Dunque il riscontro di IgM indica sicuramente un’esposizione al virus 4-16 giorni prima e livelli di IgG un’esposizione tra 11-30+ giorni prima ed avvenuta immunizzazione (le IgG sono prodotte dai linfociti B della memoria e rispondono ad alte concentrazione soprattutto nelle esposizioni successive). Il mancato riscontro però di immunoglobuline nel siero non assicura che il soggetto non sia venuto a contatto con il virus e/o che non abbia guadagnato immunità perché potrebbe trovarsi nel periodo tra la prima e, l’eventuale, seconda esposizione.

Specificità e sensibilità dichiarate sono piuttosto variabili nei test RDT [19], vedi tabella 2 e 3. I valori dovranno essere validati con test e pratica clinica, per ora saranno utilizzati i dati pubblicati dalle case produttrici.

Table 2: Specificità e sensibilità di alcuni test rapidi RDT

	SE	$P(f_-)$	SP	$P(f_+)$
1	0.938	6.20%	0.956	4.40%
2	0.9735	2.65%	0.99	1.00%
3	0.9255	7.45%	1.0	0.00%
4	0.82	18.00%	0.97	3.00%
5	1.0	0.00%	0.987	1.30%
6	0.969	3.10%	0.994	0.60%
7	0.886	11.40%	0.9063	9.37%
8	0.841	15.90%	0.923	7.70%
9	0.87	13.00%	0.955	4.50%
10	0.91	9.00%	0.967	3.30%
11	0.82	18.00%	0.96	4.00%
12	0.95	5.00%	1.0	0.00%
13	0.931	6.90%	1.0	0.00%
14	0.931	6.90%	0.991	0.90%
15	0.934	6.60%	0.977	2.30%
16	0.9585	4.15%	0.9935	0.65%

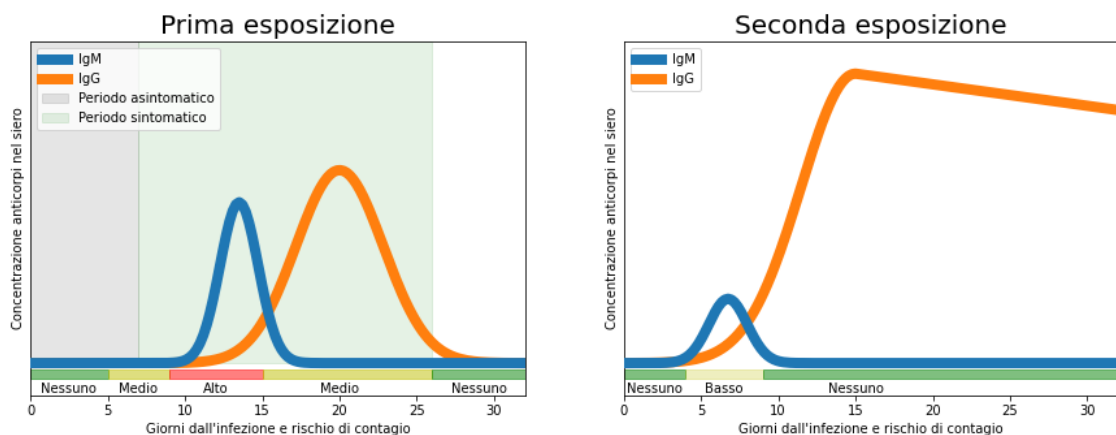


Figure 10: Ipotesi di cinetica della risposta immunitaria per COVID-19. Le concentrazione anticorpali sono solo livelli indicativi, non effettivi.

Table 3: Specificità e sensibilità dei test rapidi RDT

	n	mean	std	min	max
Sensibilità	16	0.916	0.055	0.820	1.000
Specificità	16	0.973	0.028	0.906	1.000

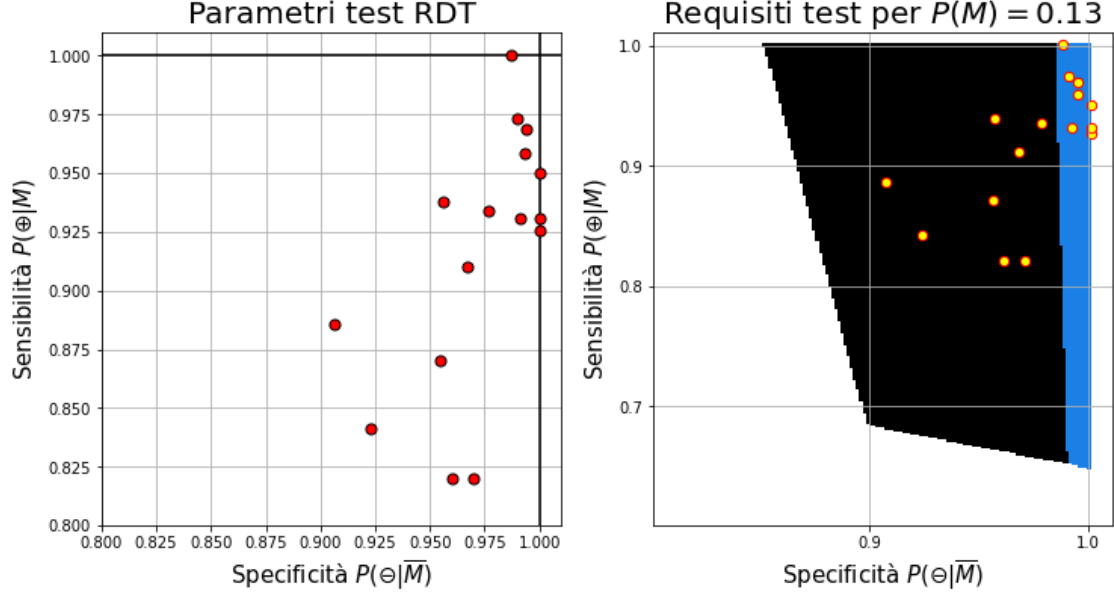


Figure 11: L'area nera indica i requisiti necessari $P(M|\oplus) > .5$ e $P(M|\ominus) < .05$ per un test con $P(M) = .13$. Il punti gialli indicano i parametri di sensibilità e specificità dei test RDT per COVID-19.

I parametri di specificità e sensibilità sono nell'area dei parametri minimi accettabili stabiliti in precedenza, figura 11 e per metà dei test i parametri risultano ottimali.

Verifichiamo le probabilità a posteriori per i test con minor sensibilità o specificità (figura 12) e con maggior sensibilità o specificità (figura 13).

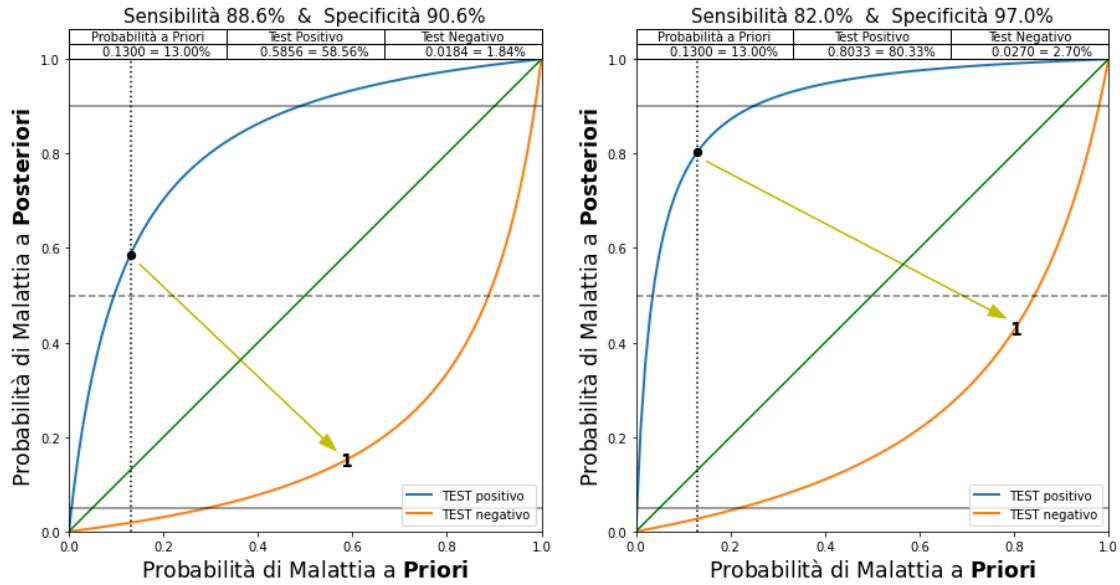


Figure 12: Probabilità di malattia COVID-19 a posteriori per test RDT per le peggiori sensibilità o specificità.

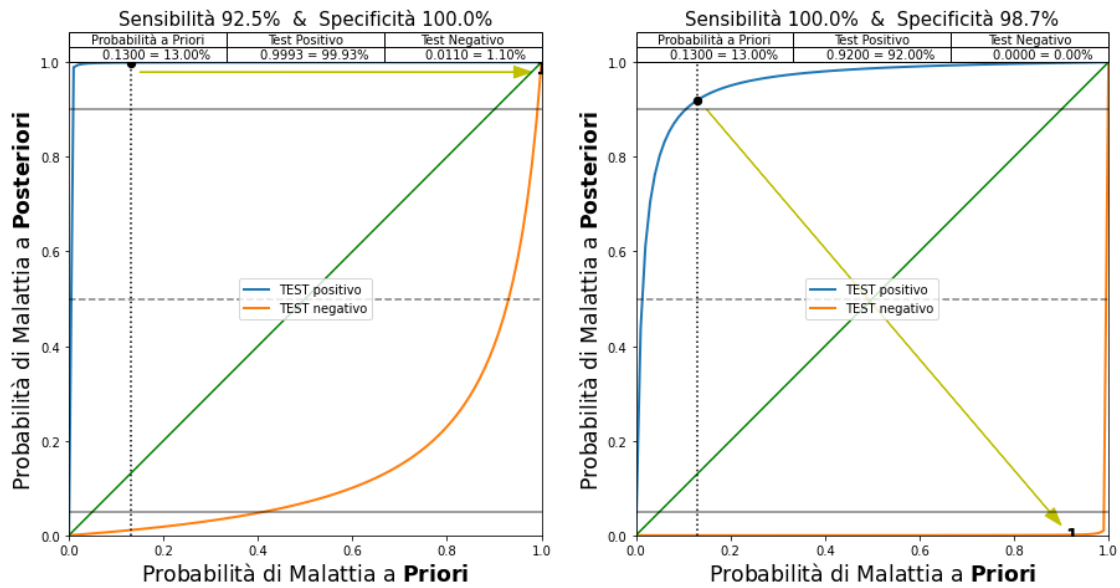


Figure 13: Probabilità di malattia COVID-19 a posteriori per test RDT con miglior specificità o sensibilità.

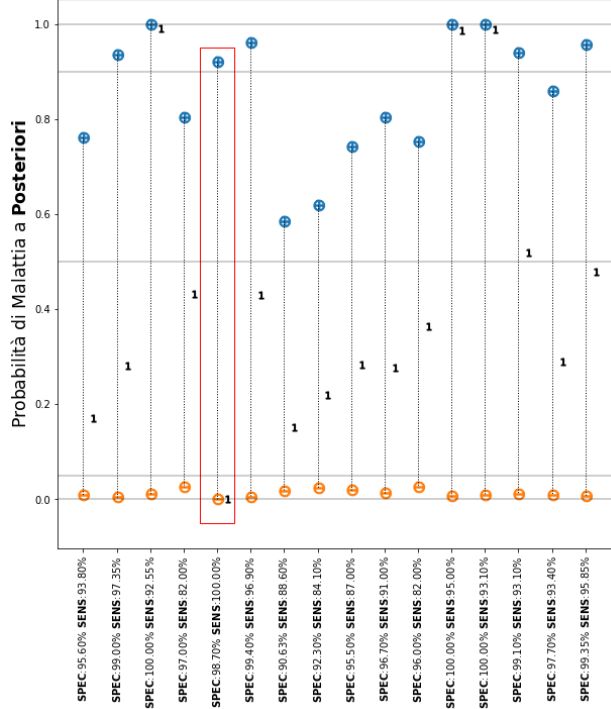


Figure 14: Probabilità di malattia a posteriori per i test RDT.

Tutti i test RDT sono dunque utili per escludere la probabilità a posteriori di malattia in caso di test negativi $P(M|\ominus)$ su individui di cui non si abbiano precedenti informazioni, figura 14, ma molti test presentano probabilità a posteriori in caso di test positivi $P(M|\oplus)$ molto al di sotto dei parametri ottimali $p_{\oplus} = .90$ e nella maggior parte il primo test di controllo con in pazienti precedentemente risultati positivi non è sufficiente a escludere la patologia.

Tra i test con $P(M|\oplus) > .90$ è probabilmente preferibile il quinto da sinistra in figura 14 (e grafico a destra in figura 13) con specificità 98.7% e sensibilità 100% dato che è sufficiente un solo test in tutti i casi, anche per escludere la probabilità a posteriori di malattia in un soggetto precedentemente risultato positivo e dunque non è necessario effettuare test multipli con regola \mathbf{E}_{\oplus} degradando l'ottima sensibilità e aumentando il rischio di falsi negativi. Infatti abbiamo

$$P(f_-) = 1 - \mathbf{SE} = 1 - 1.000 = 0.000 = 0.00\%$$

$$P(f_+) = 1 - \mathbf{SP} = 1 - 0.987 = 0.013 = 1.30\%$$

Per tutti gli altri test è necessario stabilire delle regole di ripetizione per migliorare sensibilità o specificità senza degradare eccessivamente il parametro opposto.

8 Conclusioni

Data la prevalenza di COVID-19 in fase pandemica, sensibilità e specificità dei test attualmente effettuati (tamponi naso-faringeri RT-PCR RNA), un solo tampone positivo o negativo è sufficiente

per diagnosticare o escludere la patologia in soggetti di cui non si abbiano precedenti informazioni (utile, ad esempio, per screening).

La necessità di ripetizione di 3 tamponi naso-faringei se negativi per escludere la patologia in pazienti precedentemente affetti da COVID-19 è giustificata dalla non ottimale sensibilità dei tamponi e dalla buona specificità, ottenendo probabilità di malattia o salute molto elevate e percentuali accettabili di falsi negativi e positivi.

L'estrema variabilità di sensibilità e specificità dei test diagnostici rapidi (RDT per IgM e IgG) rende necessario lo studio *ad hoc* di standard di utilizzo e strategie di ripetizione per ridurre falsi positivi e negativi, a meno di avere a disposizione test con accertate sensibilità e specificità prossime al 100%.

References

- [1] M. Porta, *A dictionary of epidemiology*. Oxford university press, 2014.
- [2] J. Kruschke, *Doing Bayesian data analysis: A tutorial with R, JAGS, and Stan*. Academic Press, 2014.
- [3] osservatoriomalattierare, “Sindrome di cushing e malattia di cushing: cosa sono?” [Online]. Available: <https://www.osservatoriomalattierare.it/errore/38-descrizioni/sezioni/5838-sindrome-di-cushing-e-malattia-di-cuschin-cosa-sono>
- [4] S. Weinstein, N. A. Obuchowski, and M. L. Lieber, “Clinical evaluation of diagnostic tests,” *American Journal of Roentgenology*, vol. 184, no. 1, pp. 14–19, 2005.
- [5] N. S. Padhye, “Reconstructed diagnostic sensitivity and specificity of the rt-pcr test for covid-19,” *medRxiv*, 2020.
- [6] Z. Ceylan, “Estimation of covid-19 prevalence in italy, spain, and france,” *Science of The Total Environment*, p. 138817, 2020.
- [7] M. A. Vollmer, S. Mishra, H. J. T. Unwin, A. Gandy, T. A. Mellan, V. Bradley, H. Zhu, H. Coupland, I. Hawryluk, M. Hutchinson *et al.*, “A sub-national analysis of the rate of transmission of covid-19 in italy,” *medRxiv*, 2020.
- [8] S. Flaxman, S. Mishra, A. Gandy, H. Unwin, H. Coupland, T. Mellan, H. Zhu, T. Berah, J. Eaton, P. Perez Guzman *et al.*, “Report 13: Estimating the number of infections and the impact of non-pharmaceutical interventions on covid-19 in 11 european countries,” 2020.
- [9] C. for Disease Control, Prevention *et al.*, “Interim clinical guidance for management of patients with confirmed coronavirus disease (covid-19),” *URL disponibile en https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-guidance-management-patients.html# Sepsis*, 2020.
- [10] Y. Bai, L. Yao, T. Wei, F. Tian, D.-Y. Jin, L. Chen, and M. Wang, “Presumed asymptomatic carrier transmission of covid-19,” *Jama*, vol. 323, no. 14, pp. 1406–1407, 2020.
- [11] N. I. of Health *et al.*, “Coronavirus disease 2019 (covid-19) treatment guidelines,” 2020. [Online]. Available: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>
- [12] centerforhealthsecurity, “Rdt-diagram.” [Online]. Available: <https://www.centerforhealthsecurity.org/resources/COVID-19/serology/RDT-diagram.pdf>

- [13] I. Thevarajan, T. H. Nguyen, M. Koutsakos, J. Druce, L. Caly, C. E. van de Sandt, X. Jia, S. Nicholson, M. Catton, B. Cowie *et al.*, “Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: a case report of non-severe covid-19,” *Nature medicine*, vol. 26, no. 4, pp. 453–455, 2020.
- [14] Y. Liu, L.-M. Yan, L. Wan, T.-X. Xiang, A. Le, J.-M. Liu, M. Peiris, L. L. Poon, and W. Zhang, “Viral dynamics in mild and severe cases of covid-19,” *The Lancet Infectious Diseases*, 2020.
- [15] S. A. Lauer, K. H. Grantz, Q. Bi, F. K. Jones, Q. Zheng, H. R. Meredith, A. S. Azman, N. G. Reich, and J. Lessler, “The incubation period of coronavirus disease 2019 (covid-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application,” *Annals of internal medicine*, vol. 172, no. 9, pp. 577–582, 2020.
- [16] K. MARGIOTTI, “Rapid test based on the determination of anti-igm-igg coronavirus 19 antibodies (covid19).”
- [17] Z. Wan, X. Zhang, and X. Yan, “Ifa in testing specific antibody of sars coronavirus,” *South China Journal of Preventive Medicine*, vol. 29, no. 3, pp. 36–37, 2003.
- [18] R. Racine and G. M. Winslow, “Igm in microbial infections: taken for granted?” *Immunology letters*, vol. 125, no. 2, pp. 79–85, 2009.
- [19] centerforhealthsecurity, “Serology-based tests for covid-19.” [Online]. Available: <https://www.centerforhealthsecurity.org/resources/COVID-19/serology/Serology-based-tests-for-COVID-19.html>