Istituto Nazionale per le Malattie Infettive
Struttura Complessa Laboratorio di Virologia e Laboratori di Biosicurezza
Direttore: D.ssa M.R. Capobianchi
e-mail: maria.capobianchi@inmi.it; Tel. (10)(2e) *Fax* (10)(2e)

Al Dr. (10)(2e) e)
Direttore Generale per la Prevenzione
Ministero della Salute
Sede

Roma, 18 settembre 2020

Rapporto sulla valutazione delle performance analitiche e cliniche di un test antigenico rapido immunocromatografico e su un test di chemiluminescenza da effettuare in laboratorio per la ricerca di antigene di SARS-CoV-2 su saliva, della ditta Fujirebio Italia

Facendo seguito al mandato, da lei conferito alla scrivente in qualità di Direttore del Laboratorio di Virologia dell'Istituto Nazionale per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani, sulla base delle indicazioni del Ministro della Salute, di validare il test per la ricerca dell'antigene di SARS-CoV-2 di cui all'oggetto, si riportano le risultanze delle attività svolte.

Laboratori della rete CoroNET-Lazio coinvolti:

- Laboratorio di Virologia dell'Istituto Nazionale per le Malattie infettive (b)(2e). (10)(2e)
- Laboratorio di Microbiologia del Policlinico Universitario "A. Gemelli"

Valutazione del Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag su saliva.
Il kit è marcato CE sia su saliva che su tampone nasofaringeo.
Il test viene eseguito utilizzando lo strumento automatico **Lumipulse G system,** con metodo immunometrico basato su chemioluminescenza e fornisce risultati quantitativi espressi in pg/ml. La sensibilità analitica dichiarata per la saliva è 0,19 pg/ml, con un cut-off basato su curva ROC posto a 0,67 pg/ml. Il range lineare dichiarato per la saliva è fino a 6.056,64 pg/ml.

Sensibilità analitica
La valutazione della sensibilità analitica su saliva è stata effettuata analizzando repliche multiple (da 3 a 6 repliche) a diluizione limite costruite ad hoc utilizzando un pool di campioni di saliva ottenuti da soggetti negativi, spiked con diluizioni seriali di una preparazione di virus cresciuto in coltura (isolato INMI 1).
Il pool negativo è stato preventivamente centrifugato a 2000g per 5 minuti e il supernatante diluito 1:1 con pari volume del diluente fornito dal kit. Tale preparato è stato usato come matrice, e distribuito nella serie di provette identiche destinate a ricevere gli spike di virus, secondo lo schema di diluizioni indicato di seguito. Ciascuna replica è stata sottoposta al test sullo strumento secondo le indicazioni allegate al kit. Il test è stato eseguito utilizzando lo strumento Lumipulse G System, installato presso il laboratorio del Policlinico Universitario "A. Gemelli".

I risultati ottenuti sono stati inseriti in una curva di regressione di Probit, e la sensibilità risultante (LOD: Limit of detection, cioè concentrazione alla quale si registra la positività nel 95% delle

repliche) è risultata: 0,65 Log10 TCID50/mL (CI: 0,44-1,58), ovverossia 4,46TCID50/ml, corrispondente a 4,26 Log10 RNA cp/ml (CI: 4,04-5,11), ovverossia 18.197 copie/ml.

I risultati di tale valutazione sono riassunti nella tabella 1

Tabella 1. Sensibilità analitica (LOD) determinata mediante Probit		
Viral preparation TCID50/mL	**RNA cp/mL***	**Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag**
		Overall % determinations (replicates)
1000000 TCID50/mL	$4x10^9$	100% (3/3)
100000 TCID50/mL	$4x10^8$	100% (3/3)
10000 TCID50/mL	$4x10^7$	100% (3/3)
1000 TCID50/mL	$4x10^6$	100% (3/3)
100 TCID50/mL	$4x10^5$	100% (3/3)
10 TCID50/mL	$4x10^4$	100% (5/5)
5 TCID50/mL	$2x10^4$	100% (5/5)
2.5 TCID50/mL	$1x10^4$	60% (3/5)
1 TCID50/mL	$4x10^3$	16,67% (1/6)
0.1 TCID50/mL	$4x10^2$	0% (0/3)
Probit analysis		
LOD: TCID50/ml		4,46
LOD: RNA cp/ml		18.197

La curva di regressione Probit è mostrata nella Fig. 1a. I dati quantitativi sono in ottima correlazione lineare con la concentrazione di RNA (r^2=0,99), come mostrato nella figura 1b.

Figura 1a Curva di regressione Probit

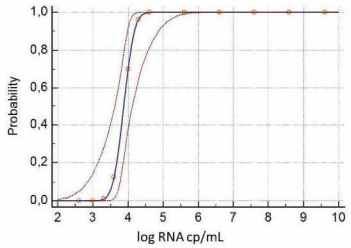
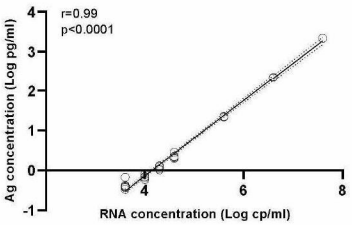


Figura 1b Correlazione tra concentrazione Ag e RNA



Performance clinica del Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag su saliva

La valutazione della performance clinica è stata inizialmente effettuata su un totale di 169 campioni di saliva prelevati a 154 pazienti ricoverati presso INMI Spallanzani.

I campioni di saliva, prelevati con pipetta pasteur direttamente dal cavo orale o raccolti direttamente tramite sputo nel contenitore, sono stati selezionati fra quelli già testati con metodo molecolare per la presenza di RNA di SARS-CoV-2 (con l'utilizzo di Simplexa™ COVID-19 Direct kit) e mantenuti congelati a -80°C.

Sono stati inclusi nell'analisi tutti i campioni analizzati in maniera sequenziale e risultati positivi al test molecolare, dei quali era disponibile una aliquota residua di volume sufficiente, conservata a -80°C e mai scongelata prima, per un totale di **67 campioni positivi**.

I campioni di saliva negativi sono stati selezionati in maniera random fra quelli risultati negativi per presenza di RNA virale, provenienti da pazienti ricoverati o per sospetta infezione da SARS-CoV-2

o con diagnosi di COVID-19, per raggiungere una numerosità complessiva all'incirca doppia rispetto ai positivi, per un totale di **102 negativi**, conservati allo stesso modo dei positivi.
Tutti i campioni sono stati anonimizzati prima dell'analisi.
I 169 campioni di saliva sono stati centrifugati a 2000g per 5 minuti e successivamente diluiti 1:1 con il diluente del kit, come previsto dalle istruzioni.

I risultati complessivi sono riassunti nella Tabella 2.

Tabella 2. Performance clinica di Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag vs test molecolare di riferimento (RT- PCR Simplexa™ COVID-19 Direct kit) su campioni retrospettivi di saliva congelati				
		Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag		
		Positivi	**Negativi**	**Totali**
RT- PCR Simplexa™ COVID-19 Direct kit	**Positivi**	36	31	67
	Negativi	3	99	102
	Totali	39	130	169

	Proporzione#	**Percentuale (95% CI)**
Sensibilità	36/67	53,7% (41,12% - 66,0%)
Specificità vs PCR di riferimento	99/102	97,1% (9,6% -99,4%)

n pos/N Tot

La sensibilità complessiva, stimata verso la positività al test molecolare di riferimento, risulta 53,7%, e la specificità, calcolata rispetto al test PCR di riferimento, del 97,1%.

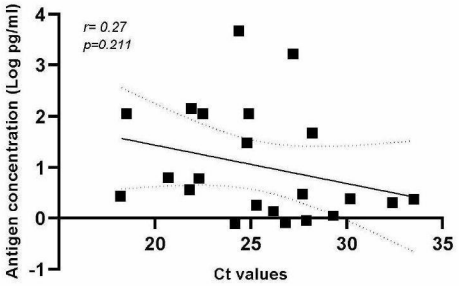
Scomponendo i campioni in classi in base all'intervallo di Ct ottenuto con il test molecolare, le percentuali di positivi non si distribuiscono, come sarebbe logico attendere, secondo un gradiente coerente con la maggior carica virale corrispondente ai Ct più bassi (Tabella 3).

Tabella 3: % di positività dei campioni di saliva congelati in base alle classi di Ct		
Range di Ct	**N° di campioni pos Ag/totali PCR**	**% di positività con STANDARD Q COVID-19 Ag**
<20	4/8	50,0%
20-25	11/15	73,3%
25,01-30	13/16	81,3%
>30	8/28	28,6%

Nell'ipotesi di un effetto prozona, cioè di una inibizione della reattività in presenza di elevate concentrazioni virali, sono stati ripetuti alcuni campioni a basso Ct (14,4; 17,6; 18,2) come tali e diluiti 1:2 e 1:4. Nella ripetizione tutte le repliche, comprese quelle del campione precedentemente risultato negativo, sono risultate positive, con valori diversi da quelli attesi sulla base del fattore di diluizione, sollevando un importante interrogativo sulla riproducibilità dei risultati nelle condizioni sperimentali utilizzate.

Se si analizzano i risultati quantitativi ottenuti dal test in prova, in pg/ml (range: 0,77-4782; valori logaritmici corrispondenti: -0,11 a 3,68), in correlazione con il valore in Ct ottenuto dal test molecolare (range :18,2-33,5) si osserva assenza di correlazione tra i due parametri (Figura 2). Questo rappresenta una significativa differenza rispetto a quanto osservato per l'analisi della sensibilità analitica, in cui è stata utilizzata una matrice unica per tutte le repliche in cui è stata diluita la preparazione di virus.

Figura 2 Correlazione tra concentrazione Ag e valori di Ct



Al fine di interpretare i risultati ottenuti è stata considerata la possibilità che il congelamento avesse in qualche modo determinato un artefatto, risultante nella alterazione della reattività al saggio e della sua riproducibilità, nonostante la assicurazione da parte della ditta produttrice che i campioni congelati fossero perfettamente idonei al test. Ciò ha comportato la necessità di effettuare ulteriori prove su campioni di saliva mai congelati.
Preliminarmente a questa nuova prova, è stata effettuata nuovamente una analisi di Probit sulla serie di diluizioni limite mantenute congelate per alcuni giorni e poi scongelate. Il risultato indica una sostanziale invarianza del LOD.
La prova su campioni mai congelati, raccolti entro 1-3 giorni precedenti e mantenuti a +4°, ha compreso **127 campioni totali**, di cui **42 positivi** e **85 negativi al test molecolare di riferimento.** Nell'ambito degli 85 campioni negativi al test molecolare di riferimento, **45** provenivano da soggetti sani o con diagnosi di esclusione da COVID-19, ed erano quindi **veri negativi**; 40 provenivano da soggetti con pregressa diagnosi di COVID-19, e quindi possono essere considerati come negativizzati.

I risultati complessivi della performance clinica del test eseguito su campioni freschi sono riassunti nella Tabella 4.

Tabella 4. Performance clinica di Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag vs test molecolare di riferimento (RT- PCR Simplexa™ COVID-19 Direct kit) su campioni freschi

		Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag		
		Positivi	**Negativi**	**Totali**
RT- PCR Simplexa™ COVID-19 Direct kit	**Positivi**	22	20	42
	Negativi	5	80	85
	Totali	27	100	127

	Proporzione#	Percentuale (95% CI)
Sensibilità	22/42	52,4% (36,4%- 68,0%)
Specificità vs PCR di riferimento	80/85	94,1% (86,8% - 98,1%)
Specificità vs stato di infezione	45/45	100% (9,1%-100,0%)

n pos/N Tot

La sensibilità complessiva del test, stimata rispetto alla positività al test molecolare di riferimento, risulta 52,4%, e la specificità calcolata rispetto al test PCR di riferimento è del 94,1%. Eliminando dal calcolo della specificità i campioni provenienti da soggetti negativi alla PCR, ma con pregressa diagnosi o con sospetto di COVID-1, la specificità calcolata sui 45 campioni provenienti da soggetti sani o con diagnosi di esclusione da COVID-19 è del 100% (tabella 4). La differenza di specificità è probabilmente da ascrivere al fatto che i 5 campioni positivi al test antigenico e negativi al test molecolare indicano una presenza di antigene più prolungata rispetto alla presenza dell'RNA virale, come noto per altre infezioni virali (es. Dengue).

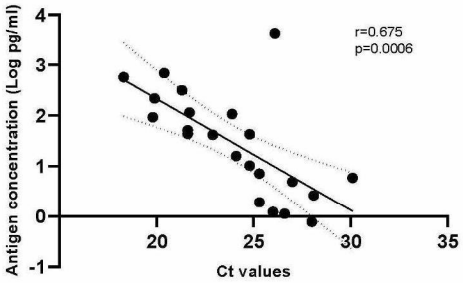
I valori di sensibilità e specificità riportati dalla ditta produttrice sono 70,5% e 100%, rispettivamente. Va considerato che i valori di sensibilità e specificità riportati dalla ditta produttrice si riferiscono a casistiche cliniche differenti rispetto a quelle considerate in questo studio. Un altro aspetto da considerare è che la nostra valutazione è stata effettuata in laboratorio mantenendo a 4°C i campioni fino all'effettuazione del test per un periodo di 1-3 giorni, mentre i dati riportati dal produttore si riferiscono a test eseguiti su campo subito dopo il prelievo, senza conservazione.

Se si scompongono i campioni in classi in base all'intervallo di Ct ottenuto con il test molecolare, le percentuali di positivi si distribuiscono secondo un gradiente coerente con la maggior carica virale corrispondente ai Ct più bassi (Tabella 5).

Tabella 5: % di positività dei campioni di saliva freschi in base alle classi di Ct		
Range di Ct	**N° di campioni pos Ag/totali PCR**	**% di positività con STANDARD Q COVID-19 Ag**
<20	3/3	100%
20-25	10/11	90,9%
25,01-30	8/14	57,1%
>30	1/14	7,1%

Se si analizzano i risultati quantitativi ottenuti dal test in correlazione con il valore in Ct ottenuto dal test molecolare, si riscontra una buona correlazione tra i due parametri (Figura 3). Il range di valori di Ct osservati nel test molecolare è il seguente:18,3-30,1; il range di pg/ml osservati nel test in prova è il seguente: 0,77-4358, con corrispondenti valori logaritmici che vanno da -0,11 a 3,64.

Figura 3 Correlazione tra concentrazione Ag e valori di Ct



In base ai valori di sensibilità e specificità risultanti dall'analisi complessiva **verso il test molecolare di riferimento** è stata fatta una simulazione dei paramentri di predittività assumendo diversi valori di prevalenza dell'infezione.

I risultati sono mostrati nella Tabella 6.

Tabella 6. Simulazione di PPV, NPV e accuratezza in base alla prevalenza				
	Prevalenza dell'infezione	**Valore predittivo positivo**	**Valore predittivo negativo**	**Accuratezza**
Valore	0,5%	4,28%	99,75%	93,91%
95% CI		1,79% - 9,90%	99,65%-99,82%	88,23% - 97,38%
Valore	1%	8,25%	99,49%	93,70%
95% CI		3,54%- 18,08%	99,30% - 99,63%	87,96% - 97,24%
Valore	2%	15,38%	98,98%	93,28%
95% CI		6,89% -30,85%	98,60% -99,26%	87,44%- 96,96%
Valore	10%	49,73%	94,68%	89,94%
95% CI		28,73% -70,83%	92,80% - 96,08%	83,35% - 94,57%
* questi valori dipendono dalla prevalenza				

Questa simulazione rende evidente che l'interpretazione dei dati del test, ai fini di sanità pubblica, dipende dal contesto della prevalenza e dallo scopo della valutazione. Il valore predittivo positivo (PPV) aumenta all'aumentare della prevalenza, mentre il valore predittivo negativo (NPV) diminuisce.

E' da notare che, se si considera la specificità osservata nei riguardi dello stato di infezione, il PPV è 100% a tutti i valori di prevalenza, mentre il NPV sostanzialmente risulta lo stesso della tabella 6.

Valutazione della sensibilità analitica del Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag su matrice "universal transport medium" (UTM).

La sensibilità analitica dichiarata per il tampone nasofaringeo è 0,19 pg/ml, con un cut-off basato su curva ROC posto a 0,34 pg/ml.

La valutazione della sensibilità analitica del Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag sulla matrice abitualmente utilizzata per risospendere il tampone nasofaringeo (universal transport medium, UTM) è stata effettuata analizzando repliche multiple (da 3 a 5 repliche) di soluzione UTM negativa, spiked con concentrazioni note di una preparazione di virus cresciuto in coltura (isolato INMI 1).I risultati ottenuti sono stati inseriti in una curva di regressione di Probit, e la sensibilità risultante (LOD) è stata: 0,47 Log10 TCID50/mL (CI: 0,45-1,67), ovverossia 2,95 TCID50/ml; corrispondente a 4,07 Log10 RNA cp/ml (CI: 4,04-5,17), ovverossia 11.748 copie/ml.

I risultati di tale valutazione sono riassunti nella tabella 7.

Tabella 7. Sensibilità analitica (LOD) di Lumipulse su virus sospeso in UTM determinata mediante Probit		
Viral preparation TCID50/mL	**RNA cp/mL***	**Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag**
		Overall % determinations (replicates)
100000 TCID50/mL	$4x10^8$	100% (3/3)
10000 TCID50/mL	$4x10^7$	100% (3/3)
1000 TCID50/mL	$4x10^6$	100% (3/3)
100 TCID50/mL	$4x10^5$	100% (3/3)
10 TCID50/mL	$4x10^4$	100% (5/5)
5 TCID50/mL	$2x10^4$	100% (5/5)
2.5 TCID50/mL	$1x10^4$	60% (3/5)
1 TCID50/mL	$4x10^3$	0% (0/4)
Probit analysis		
LOD: TCID50/ml		2,95
LOD: RNA cp/ml		11.748

La curva di regressione Probit è mostrata nella Fig. 4a. I dati quantitativi sono in ottima correlazione lineare con la concentrazione di RNA (r =0,98), come mostrato nella figura 4b.

Figura 4a Curva di regressione Probit

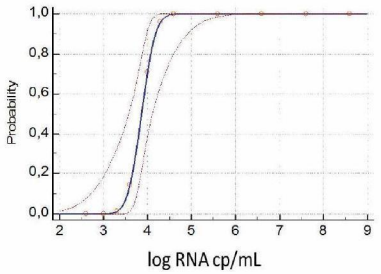
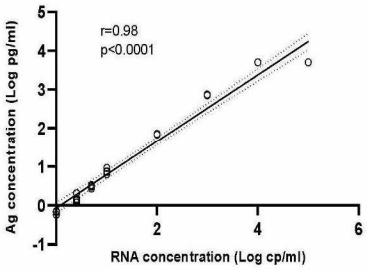


Figura 4b Correlazione tra concentrazione Ag e RNA



Valutazione della sensibilità analitica del kit ESPLINE SARS-CoV-2 Ag su saliva.

Si tratta di un test immunocromatografico a lettura visiva, marcato CE su tampone nasofaringeo. La sensibilità dichiarata è di 25 pg/ml.
La valutazione della performance è stata condotta utilizzando come campione biologico la saliva, come richiesto.

La sensibilità analitica è stata determinata analizzando repliche multiple (da 3 a 7) a diluizione limite, costruite ad hoc utilizzando un pool di campioni di saliva da soggetti negativi spiked con diluizioni seriali di una preparazione di virus cresciuto in coltura (isolato INMI 1).

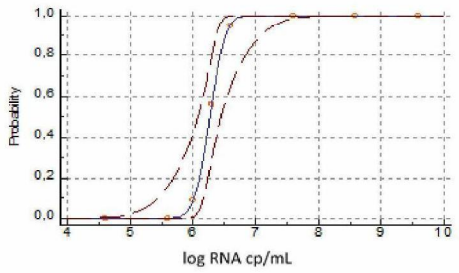
Il pool negativo è stato preventivamente centrifugato a 2000g per 5 minuti e il supernatante è stato usato come matrice, e distribuito nella serie di provette identiche destinate a ricevere gli spike di virus, secondo lo schema di diluizioni indicato di seguito. 100 µl di ogni spike sono stati messi in una provetta fornita dal kit contenente 100µl di diluente e poi caricati su cartuccia, secondo le indicazioni della Ditta produttrice.
I risultati ottenuti sono stati inseriti in una curva di regressione di Probit, e la sensibilità risultante (LOD: Limit of detection, cioè concentrazione alla quale si registra la positività nel 95% delle repliche) è stata: 2,99 Log10 TCID50/mL (CI: 2,82-3,69), ovverossia 977 TCID50/ml; corrispondente a 6,59 Log10 RNA cp/ml (CI: 6,42-7,29), ovverossia 3.890.451 copie/ml. Tali valori sono simili a quelli osservati per il test immunocromatografico Standard Q COVID-19 su tampone in UTM.

I risultati di tale valutazione sono riassunti nella tabella 8.

Tabella 8. Sensibilità analitica ESPLINE SARS-CoV-2 Ag su saliva (LOD) determinata mediante Probit		
Viral preparation TCID50/mL	**RNA cp/mL***	**Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag**
		Overall % determinations (replicates)
1000000 TCID50/mL	$4x10^9$	100% (3/3)
100000 TCID50/mL	$4x10^8$	100% (3/3)
10000 TCID50/mL	$4x10^7$	100% (3/3)
1000 TCID50/mL	$4x10^6$	100% (7/7)
500 TCID50/mL	$2x10^6$	42,8% (3/7)
250 TCID50/mL	$1x10^6$	14,2% (1/7)
100 TCID50/mL	$4x10^5$	0% (0/3)
Probit analysis		
LOD: TCID50/ml		977
LOD: RNA cp/ml		3.890.451

La curva di regressione Probit è mostrata nella Fig. 5

Figura 5 Curva di regressione Probit



Performance clinica di ESPLINE SARS-CoV-2 Ag su saliva

La valutazione della performance clinica è stata effettuata su un totale di 136 campioni mai congelati, prelevati a pazienti ricoverati presso INMI Spallanzani. I campioni di saliva, prelevati con pipetta pasteur direttamente dal cavo orale o raccolti direttamente tramite sputo nel contenitore, selezionati fra quelli già testati con metodo molecolare per la presenza di RNA di SARS-CoV-2 (Simplexa™ COVID-19 Direct kit), includendo nell'analisi tutti i campioni analizzati in maniera sequenziale e risultati positivi al test molecolare, per un totale di **62 campioni positivi**; i campioni negativi sono stati selezionati in maniera random fra quelli provenienti da pazienti ricoverati o per sospetto o con diagnosi di COVID-19, risultati negativi per presenza di RNA virale, per raggiungere una numerosità complessiva di **75 negativi**. I 137 campioni di saliva sono stati centrifugati a 2000g per 5 minuti e successivamente diluiti 1:1 con diluente, come previsto dalle istruzioni del kit e caricati su cartuccia.

I risultati complessivi sono riassunti nella Tabella 9.

Tabella 9. Performance clinica di Espline G SARS-CoV-2 Ag vs test molecolare di riferimento (RT- PCR Simplexa™ COVID-19 Direct kit) su campioni di saliva freschi				
		Lumipulse G SARS-CoV-2 Ag		
		Positivi	**Negativi**	**Totali**
RT- PCR Simplexa™ COVID-19 Direct kit	**Positivi**	5	57	62
	Negativi	0	74	74
	Totali	5	131	136

	Proporzione#	**Percentuale (95% CI)**
Sensibilità	5/57	8,1 % (2,7% - 17,8%)
Specificità vs PCR di riferimento	74/74	100% (95,1%- 100%)

Se si scompongono i campioni in classi in base all'intervallo di Ct ottenuto con il test molecolare, le % di positivi si distribuiscono, come logico attendere, secondo un gradiente coerente con la maggior carica virale corrispondente ai Ct più bassi (Tabella 10).

Tabella 10: % di positività dei campioni di saliva in base alle classi di Ct		
Range di Ct	**N° di campioni pos Ag/totali PCR**	**% di positività con STANDARD Q COVID-19 Ag**
<20	3/4	75%
20-25	1/13	7,14%
25,01-30	1/19	4,35%
>30	0/21	0

E'evidente comunque che la sensibilità su campioni clinici di saliva è inferiore all'atteso in base al LOD stimato con il Probit. E'verosimile che la matrice saliva sia poco adatta alla migrazione in lateral flow, a causa della viscosità peraltro variabile da soggetto a soggetto e che quindi, nella formulazione attuale, il Kit ESPLINE non sia utilizzabile per saggiare questa matrice.

Commenti ai risultati

Dalle osservazioni condotte emerge che tutte le prove di sensibilità analitica su saliva hanno dato risultati lineari e conseguenti, mentre i risultati osservati su campioni clinici reali hanno presentato una minore linearità, che ha generato performance cliniche subottimali, principalmente osservate sul saggio immunocromatografico. Questa discrepanza tra performance analitiche e performance cliniche si può ragionevolmente attribuire al fatto che le prime sono state valutate su un campione omogeneo, costituito da un pool di campioni di saliva che ha costituito la matrice unica di tutte le repliche. Al contrario, i campioni clinici utilizzati risentono di differenze individuali rilevanti di viscosità e altri fattori, quali pH, presenza di materiali spuri, ecc. che rendono tale campione una matrice problematica, che genera risultati antigenici meno regolari rispetto a quelli osservati su tampone se non si adottano misure per alleviare questi inconvenienti.

Il test Lumipulse, eseguito su saliva, ha una sensibilità relativamente bassa nel complesso, ma se si considerano i valori di Ct, la sensibilità è superiore a 90% per i campioni con Ct fino a 25, indice di carica virale elevata. Questa situazione può essere considerata accettabile se applicata a contesti in cui lo scopo è identificare e isolare i casi con carica virale elevata, e quindi a rischio elevato di essere contagiosi. Di contro, la specificità osservata conferisce al test un valore predittivo positivo basso nelle situazioni di bassa prevalenza, e rende mandatorio effettuare un test molecolare di conferma nei casi positivi. Al riguardo va considerato una recente segnalazione di un gruppo giapponese (1), secondo cui le indicazioni locali di considerare definitivamente positivi i casi identificati con il test Lumipulse senza bisogno di un test di conferma potrebbero generare situazioni di potenziale rischio se si applicano pratiche di coorting.
Per quanto riguarda il test immunocromatografico, nelle condizioni sperimentali utilizzate la matrice saliva presenta una sensibilità clinica inaccettabile, a dispetto di una sensibilità analitica paragonabile a quella del un test immunocromatografico su tampone valutato nel precedente studio.

I dati contenuti nel presente rapporto sono stati prodotti unicamente a fini e nell'interesse della sanità pubblica.
Il Laboratorio di Virologia dell'Istituto Nazionale per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani si riserva l'utilizzo a fini scientifici dei risultati insieme al Laboratorio di Microbiologia del Policlinico Universitario "A. Gemelli".

1) Ogawa T, Fukumori T, Nishihara Y, et al. Another false-positive problem for a SARS-CoV-2 antigen test in Japan. J Clin Virol. 2020;131:104612

Il Direttore del Laboratorio
D.ssa [redacted] (10)(2e)