

## Diagnostica molecolare per il SARS-CoV-2: un programma sperimentale per la Valutazione Esterna di Qualità del Centro di Ricerca Biomedica per la Qualità in Medicina di Laboratorio

Luisa Galla<sup>1</sup>, Laura Sciacovelli<sup>1,2</sup>, Andrea Padoan<sup>1,3</sup>, Mario Plebani<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>UOC Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedale-Università, Padova

<sup>2</sup>Centro di Ricerca Biomedica per la Qualità in Medicina di Laboratorio, Centro Specializzato della Regione Veneto, Padova

<sup>3</sup>Dipartimento di Medicina-DIMED, Università di Padova, Padova

*Questo lavoro è stato in parte presentato al 53° Congresso SIBioC 11-13 Ottobre 2021, Virtual Edition, sotto forma di Poster, ricevendo il premio SIBioC destinato ai 4 migliori poster presentati.*

### ABSTRACT

#### **Molecular diagnostic for SARS-CoV-2: an experimental External Quality Assessment Scheme.**

Introduction: external Quality Assessment (EQA) is a valuable tool to monitor and improve the analytical performances of clinical laboratories. To guarantee suitable results also during the COVID-19 pandemic, EQA scheme providers have implemented specific schemes assessing different SARS-CoV-2 diagnostic systems. This study aims to describe the results collected in an experimental EQA scheme for molecular diagnostic of SARS-CoV-2 managed by INSTAND eV with the collaboration of the Centre of Biomedical Research for Quality in Laboratory Medicine for Veneto Region Laboratories.

Methods: the qualitative EQA results collected in three surveys (two in 2020 and one in 2021) for 18 samples total, have been summarized to identify the percentage of laboratory results per sample. Control samples were provided by Nationales Konsiliarlaboratorium für Coronaviren of Berlin.

Results: even though the average of the participating laboratories strongly decreased between surveys, a good agreement was found among results (95% to 99.8%). A totally of 0.2% - 4% of incorrect results and 0% - 1.1% of indeterminate results were reported. In addition, the sequencing analysis and the point mutations analysis, included in the last analyzed survey, revealed a good agreement between participating laboratories with an overall score from 74.8% to 89.6% for the sequencing and from 90.65% to 95.33% for the point mutations, respectively.

Conclusions: the EQA programs are a fundamental quality assurance tool to evaluate the laboratory performance and to appreciate the State-of-the-Art of the different diagnostic systems used by participating laboratories. The need for an EQA scheme for every test performed in the laboratory is mandatory to guarantee patient safety.

**Parole chiave:** diagnostica molecolare, SARS-CoV-2, valutazione esterna di qualità (VEQ)

### INTRODUZIONE

L'epidemia causata dal coronavirus SARS-CoV-2 denominata COVID-19, dal primo caso confermato a Wuhan (Cina) nel Dicembre del 2019, ha avuto un forte impatto sia a livello di salute pubblica che a livello economico in tutto il mondo.

Per controllare la rapida trasmissione del virus risulta necessaria una pronta e accurata identificazione di tutti gli individui infetti indipendentemente dalla presenza di sintomi (ad esempio tosse, dispnea, febbre, anosmia) (1). Infatti, sebbene la fonte più comune di trasmissione del virus sia rappresentata da individui sintomatici, anche i soggetti asintomatici possono diffondere il virus e la mancata diagnosi può portare ad un aumento del

rischio generale di trasmissione e di conseguenza all'incremento di infezioni da SARS-CoV-2. La diagnosi accurata e precoce di infezione da SARS-CoV-2 risulta quindi fondamentale per ridurre il rischio di trasmissione e per consentire un isolamento rapido e la tracciabilità dei contatti (2,3).

La diagnosi clinica di COVID-19 può essere effettuata sulla base dei sintomi sistemici, delle indagini radiologiche (tomografia toracica) e di quelle epidemiologiche, ma le analisi di laboratorio risultano essere fondamentali per la diagnosi eziologica. Esse prevedono sia esami per la diagnosi di infezione da SARS-CoV-2, quali i test molecolari (rilevazione degli acidi nucleici virali) e i test antigenici (3,5), sia gli esami per l'identificazione della risposta immunitaria contro l'infezione già risolta

Corrispondenza a: Luisa Galla, UOC Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedale-Università, Padova, E-mail [luisa.galla@studenti.unipd.it](mailto:luisa.galla@studenti.unipd.it)

Ricevuto: 05.01.2022

Revisionato: 26.01.2022

Accettato: 18.02.2022

Publicato on-line: 09.03.2022

DOI: 10.19186/BC\_2022.011

o in corso da SARS-CoV-2 (6,7), quali i test sierologici. Inoltre, anche altre analisi di laboratorio, quali il conteggio differenziale dei leucociti, la proteina C-reattiva, la procalcitonina, il D-dimero e le citochine infiammatorie risultano importanti, sia per la gestione dei pazienti affetti da COVID-19, sia per la valutazione della gravità della malattia (8). L'approccio diagnostico migliore per la rilevazione del virus e per la identificazione di fasi specifiche della malattia deve tener conto del tipo di campione utilizzato (tamponi nasofaringei, tamponi orofaringei, espettorato, altre secrezioni delle vie respiratorie inferiori, sangue, feci e saliva) e le quantità di campione ottenuto (2), ma anche i cambiamenti dinamici della carica virale e dei marcatori sierologici durante lo sviluppo della malattia (8).

Da quando la sequenza genetica di SARS-CoV-2 è stata caricata sulla piattaforma Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID), le aziende e i produttori di sistemi diagnostici hanno rapidamente sviluppato numerosi esami per il rilevamento del nuovo coronavirus (3,9). Attualmente, i test di amplificazione degli acidi nucleici (NAAT) sono gli esami di riferimento per la diagnosi di infezioni sospette da SARS-CoV-2 (10). Il consenso degli esperti ha raccomandato di includere almeno due *loci* genici di SARS-CoV-2, al fine di migliorare la sensibilità e la specificità dei saggi molecolari (open reading frame 1a/b, proteina nucleocapside N o proteina envelope E) (8). Inoltre, poiché l'efficienza della reazione di amplificazione può essere diversa per i singoli geni bersaglio, è stato raccomandato di utilizzare procedure analitiche a singolo bersaglio per rianalizzare il campione in questione (8).

A seguito della diffusione mondiale di SARS-CoV-2, le variazioni genomiche del virus a RNA hanno portato alla formazione di molti genotipi distinti dello stesso (11). La sorveglianza a livello genomico di SARS-CoV-2 ha permesso la rapida identificazione di varianti specifiche che possono possedere specifiche mutazioni della proteina spike con evidenze di un aumento della trasmissibilità, della patogenicità e/o della capacità del virus di sfuggire all'immunità anticorpo-mediata. Queste varianti possono quindi destare preoccupazione per la salute pubblica; le varianti di SARS-CoV-2 ritenute più preoccupanti sono state identificate come "Variant of Concern" (VOC) (le cosiddette varianti di preoccupazione) o "Variant Being Monitored" (VBM) (le cosiddette varianti in monitoraggio). La sorveglianza delle VOC è perciò fondamentale, e pertanto, oltre all'analisi molecolare per la rilevazione del tipo di virus, risulta essere importante anche l'identificazione spazio-temporale delle possibili VOC associate al virus stesso.

Per monitorare la qualità e le prestazioni diagnostiche dei nuovi test sviluppati per la diagnosi di SARS-CoV-2, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha incoraggiato i laboratori a partecipare a schemi di Valutazione Esterna della Qualità (VEQ), in conformità al requisito della norma ISO 158189:2012 (12).

Infatti, i programmi di VEQ, come definito da Uldall A. rappresentano "un'attività professionale integrata di garanzia della qualità dei laboratori medici" e devono

essere utilizzati per valutare e migliorare continuamente la qualità analitica dei laboratori medici (5,13).

In questo lavoro vengono presentati i risultati di uno schema sperimentale di VEQ per la diagnostica molecolare di SARS-CoV-2 gestito da INSTAND eV con la collaborazione del Centro di Ricerca Biomedica per la Qualità in Medicina di Laboratorio (CRB) per i Laboratori della Regione Veneto.

## METODI

### Organizzazione del Programma di VEQ

In questo lavoro sono riportati i risultati di 18 campioni di controllo utilizzati nel Programma di VEQ di Instand eV. e distribuiti dal CRB ai laboratori della Regione Veneto, in tre diversi esercizi tra il 2020 e il 2021: 1° esercizio 2020 (1°-2020, distribuito in luglio 2020); 2° esercizio 2020 (2°-2020, distribuito in novembre 2020); 1° esercizio 2021 (1°-2021, distribuito in marzo 2021). Il numero di campioni per ogni esercizio è stato: 7 per il 1°-2020; 6 per il 2°-2020; 5 per il 1°-2021.

I risultati dei laboratori partecipanti e le specifiche inerenti le procedure analitiche utilizzate per la rilevazione molecolare di SARS-CoV-2, sono stati raccolti mediante il sito web del CRB e condivisi con Instand eV.

I risultati relativi ad ogni campione di controllo (espressi come positivo, negativo, indeterminato) sono stati elaborati ed è stato prodotto un rapporto che è stato poi distribuito a tutti i partecipanti che riporta le seguenti informazioni: correttezza della risposta in riferimento alla risposta attesa (cioè la condizione clinica del paziente origine del campione); numero di risultati corretti e numero di risultati non corretti in riferimento ai sistemi analitici utilizzati.

### Campioni di controllo

Diciotto campioni di controllo a titolo ignoto forniti dal Nationales Konsiliarlaboratorium für Coronaviren di Berlino, le cui caratteristiche sono riportate nella Tabella 1 e 2, sono stati distribuiti ai laboratori partecipanti. In particolare:

- 10 campioni positivi per SARS-CoV-2, inattivato ed estratto dal surnatante di coltura tissutale (codice campione: 340069, 340073, 340075, 340077, 340079, 340080, 409001, 409002, 409003, 409005);
- 2 campioni negativi per SARS-CoV-2, costituiti da lisato della linea cellulare commerciale MRC-5 (codice campione: 340070, 340076);
- 1 campione negativo per SARS-CoV-2 (codice campione: 409004);
- 5 campioni positivi per altri coronavirus (MERS-CoV, HCoV 229E, HCoV OC43) inattivati ed estratti dal surnatante di coltura tissutale, utilizzati per valutare la specificità del test (codice campione: 340067, 340068, 340072, 340074, 340078).

Inoltre, nel 1° esercizio del 2021, su 4 campioni di controllo (\*001, \*002, \*003, \*004), è stata effettuata l'analisi delle VOC mediante sequenziamento e ricerca delle mutazioni puntiformi.

**Tabella 1***Caratteristiche dei campioni di controllo distribuiti ai laboratori partecipanti al Programma di VEQ*

Esercizio di VEQ	Campioni	Risultato	Virus	Copie/mL <sup>a</sup>	Origine del campione
1°-2020	*67	Negativo	MERS-CoV (inattivato)	26 646 636	surmatante di culture tissutali
	*68	Negativo	HCoV 229E	NC	surmatante di culture tissutali
	*69	Positivo	SARS-CoV-2 (inattivato)	268 471	surmatante di culture tissutali
	*70	Negativo	MRC-5-cells	0	lisati cellulari
	*72	Negativo	HCoV NL63	NC	surmatante di culture tissutali
	*73	Positivo	SARS-CoV-2 (inattivato)	25 002	surmatante di culture tissutali
	*74	Negativo	HCoV OC43	NC	surmatante di culture tissutali
2°-2020	*75	Positivo	SARS-CoV-2 (inattivato)	231 993	surmatante di culture tissutali
	*76	Negativo	MRC-5-cells	0	lisati cellulari
	*77	Positivo	SARS-CoV-2 (inattivato)	1 024 516	surmatante di culture tissutali
	*78	Negativo	HCoV 229E	NC	surmatante di culture tissutali
	*79	Positivo	SARS-CoV-2 (inattivato)	204 795	surmatante di culture tissutali
	*80	Positivo	SARS-CoV-2 (inattivato)	120 084	surmatante di culture tissutali
1°-2021	*001	Positivo	SARS-CoV-2 no VOC	16 359 064	surmatante di culture tissutali
	*002	Positivo	SARS-CoV-2 VOC B.1.1.7	7 218 064	surmatante di culture tissutali
	*003	Positivo	SARS-CoV-2 VOC B.1.351	6 290 377	surmatante di culture tissutali
	*004	Negativo	Controllo negativo	0	lisati cellulari
	*005	Positivo	SARS-CoV-2 no VOC	1 045 777	surmatante di culture tissutali

<sup>a</sup>Media robusta calcolata sui risultati forniti dai laboratori in accordo all'algoritmo A/DIN ISO 13528/Annex C. NC, non calcolato per il numero limitato di risultati quantitativi trasmessi.

In tutte le Figure (Figure 1-2) e Tabelle (Tabelle 1-5), i codici campione, sono stati abbreviati per esigenze grafiche: da 340067 a \*67; da 340068 a \*68; da 340069 a \*69; da 340070 a \*70; da 340072 a \*72; da 340073 a \*73; da 340074 a \*74; da 340075 a \*75; da 340076 a \*76; da 340077 a \*77; da 340078 a \*78; da 340079 a \*79; da 340080 a \*80; da 409001 a \*001; da 409002 a \*002; da 409003 a \*003; da 409004 a \*004; da 409005 a \*005.

**Elaborazione dei risultati**

Tutti i risultati raccolti sono stati raggruppati in riferimento al sistema analitico utilizzato e alla tipologia di risposta fornita (positiva, negativa, indeterminata) ed è stato calcolato: il numero di risposte fornite dai laboratori partecipanti; la percentuale di risposte in riferimento al sistema analitico utilizzato e all'esercizio (Figure 1 e 2); la percentuale di risposte in riferimento alla tipologia di risposta e al campione di controllo (Tabelle 3-5).

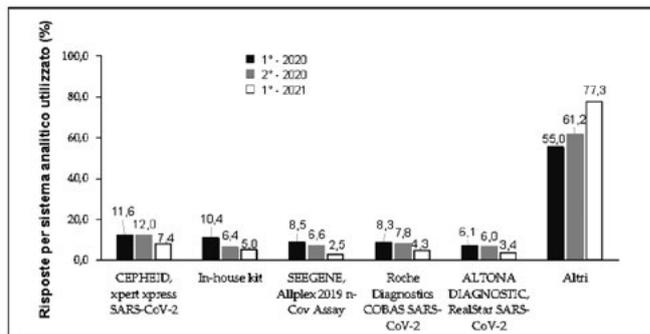
**Valutazione della correttezza dei risultati**

La correttezza dei risultati dei laboratori partecipanti è stata valutata sulla base del confronto con la risposta attesa identificata analizzando le caratteristiche del campione (Tabelle 1 e 2).

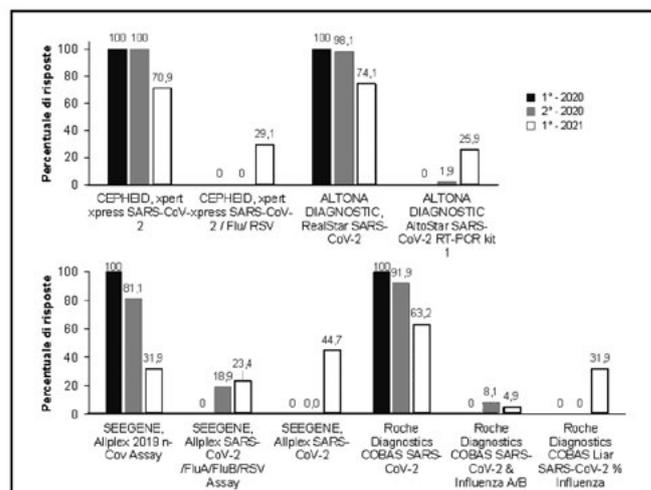
I risultati relativi all'analisi di sequenziamento e alla ricerca delle mutazioni puntiformi sono stati valutati in accordo ai criteri di inclusione (diverse possibili mutazioni associate alla stessa variante) ed esclusione definiti dall'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), ed è stata considerata corretta la risposta che, confrontata con quella di consenso, presentava meno di 6,6 nucleotidi di differenza per ogni 100 nucleotidi analizzati (Summary of sample properties and target value SARS-CoV-2 VOC March 2021 20210813, Instand document).

**RISULTATI**

Il numero dei laboratori partecipanti al Programma di VEQ, afferenti al CRB, risulta aumentato dal 1°-2020 (16 laboratori) al 1°-2021 (33 laboratori); aumento che



**Figura 1**  
Percentuale di risposte per sistema analitico utilizzato.



**Figura 2**  
Percentuale di risposte, ottenute con i sistemi analitici maggiormente utilizzati, calcolata in riferimento allo stesso produttore, per esercizio.

**Tabella 2**

*Caratteristiche dei campioni di controllo distribuiti ai laboratori partecipanti al Programma di VEQ per le analisi di sequenziamento e analisi di mutazioni puntiformi*

Campioni	Virus	VOC associate	Criteri di inclusione	Criteri di esclusione
*001	SARS-CoV-2 no VOC	Nessuna VOC secondo ECDC	Nessuna mutazione VOC associata	
*002	SARS-CoV-2 VOC B.1.1.7	B.1.1.7	N501Y; N501Y, del H69/V70	E484K
*003	SARS-CoV-2 VOC B.1.351	B.1.351	N501Y; N501Y, E484K; N501Y, K471N, E484K	del H69/V70
*004	Controllo negativo	Negativo	Negativo	

*VOC, variants of concern; ECDC, European Centre for Disease Prevention and Control.*

**Tabella 3**

*Percentuale delle diverse tipologie di risultati forniti dai laboratori partecipanti per campione di controllo.*

Codice campioni	Tipologia di risposte (%)		
	Positivo	Negativo	Indeterminato
*67	0,4	98,5	1,1
*68	0,8	99	0,2
*69	99,1	0,6	0,2
*70	0,4	99,1	0,4
*72	0,9	98,3	0,8
*73	96,5	2,9	0,6
*74	0,8	98,9	0,3
*75	99,3	0,6	0,1
*76	1,4	98,1	0,5
*77	99,8	0,2	0
*78	0,9	98,6	0,5
*79	99,1	0,7	0,2
*80	99,1	0,6	0,4
*001	99,5	0,3	0,2
*002	97,4	2,5	0,2
*003	99,3	0,7	0
*004	4	95	1
*005	99,2	0,5	0,3

**Tabella 4**

*Percentuale dei risultati scorretti (indeterminati ed errati) forniti dai laboratori partecipanti nei diversi campioni testati nei tre esercizi.*

Codice campioni	Tipologia di risposte (%)	
	Errati	Indeterminati
*67	0,4	1,1
*68	0,8	0,2
*69	0,6	0,2
*70	0,4	0,4
*72	1,0	0,8
*73	2,9	0,6
*74	0,8	0,3
*75	0,6	0,1
*76	1,4	0,5
*77	0,2	0
*78	1,0	0,5
*79	0,7	0,2
*80	0,6	0,4
*001	0,3	0,2
*002	2,5	0,2
*003	0,7	0
*004	4,0	1,0
*005	0,5	0,3

**Tabella 5**

Percentuale dei risultati dell'analisi di sequenziamento (pannello superiore) e dell'analisi delle mutazioni puntiformi (pannello inferiore), per campione di controllo.

Tipologia di risposte dei laboratori	Percentuale di risposte			
	*001	*002	*003	*004
<b>Analisi sequenziamento</b>				
Nessuna mutazione associata	86,96	0	0	3,48
Negativo	2,61	0	0	74,78
del H69/V70	1,74	0	0	0
N501Y	0,87	0	0	0
N501Y; del H69/V70; A570D	0	89,57	0	0
D80A; E484K; K4117N; N501Y	0	0	74,78	0
Altre mutazioni	4,35	5,22	6,09	0,87
Nessuna dichiarazione	1,74	1,74	1,74	1,74
Altro nei criteri di inclusione	0	2,61	8,70	0
Altro nei criteri di esclusione	0	0,87	2,61	0
Altro non specificato	0	0	6,09	0
Non effettuato	1,74	0	0	19,13
<b>Analisi mutazioni puntiformi</b>				
Negativo	1,87	0	0,93	77,57
Nessuna mutazione associata	94,39	0	2,80	1,87
b.1.1.7	0	95,33	0	0
B.1.351	0	0	57,01	0
B.1.351 or P.1	1,87	0	33,64	0
Variante generica	0,93	3,74	5,61	0
Non effettuato	0,93	0,93	0	20,56

non rispecchia il numero totale dei laboratori afferenti al Programma Instand eV., considerando il numero di risposte totali riportate nei relativi report di VEQ.

Il numero medio delle risposte agli esercizi del programma di VEQ è risultato essere 927,3 (intervallo 922-945) per il 1°-2020, 844,2 (intervallo 842-846) per il 2°-2020 e 594,4 (intervallo 590-604) per il 1°-2021.

Il numero di risposte dei laboratori risulta diminuito nel tempo con un decremento dell'8,9% tra il 1°-2020 ed il 2°-2020 esercizio e del 35,9% tra il 1°-2020 ed il 3°-2021, percentuali calcolate sulla media delle risposte fra i campioni dello stesso esercizio.

Le principali procedure analitiche, utilizzate

rispettivamente nel 1°-2020, 2°-2020 e 1°-2021 esercizio, sono riportate nella Figura 1. In media si contano 57 produttori diversi nel 1°-2020, 58 nel 2°-2020 e 45 nel 1°-2021.

In seguito al rapido e costante aumento della produzione di nuovi kit diagnostici per la rilevazione di SARS-CoV-2 mediante tecnica molecolare, e lo sviluppo di procedure analitiche migliorative in grado di discriminare l'RNA specifico di SARS-CoV-2 dal  $\beta$ -coronavirus del ceppo B (B- $\beta$ CoV), si evidenzia la graduale adozione da parte dei laboratori partecipanti di nuovi kit immessi sul mercato dai produttori, a partire dal 2°-2020 (Figura 2). Infatti, per quanto riguarda i sistemi

analitici maggiormente utilizzati, raggruppando i risultati ottenuti con sistemi analitici dello stesso produttore e calcolando la percentuale dei risultati raccolti in ogni esercizio (indipendentemente dal campione) sul numero totale di risultati del primo esercizio, si evidenzia che i laboratori tendono ad adottare il nuovo kit immesso sul mercato.

Nella Tabella 3 è riportata la percentuale delle differenti tipologie di risposte (positivo, negativo, indeterminato) fornite dai laboratori, in riferimento al singolo campione distribuito. In generale, è stata riscontrata una buona concordanza tra i risultati dei laboratori partecipanti, con un intervallo complessivo che varia tra il 95% e il 99,8%.

Nella tabella 4 sono stati riportati risultati valutati come falsi positivi e falsi negativi (0,2% - 4,0%), e come indeterminati (0-1,1%). La percentuale più elevata di quest'ultima tipologia di risultati è associata ai seguenti campioni: \*73 (positivo per SARS-CoV-2; la media robusta dei risultati è 25 002 copie/mL) 3,5%; \*002 (positivo per SARS-CoV-2, VOC B.1.351; la media robusta dei risultati è 7 218,064 copie/mL) 2,7%; \*004 (negativo) 5,0%.

Relativamente alle analisi di sequenziamento e della ricerca delle mutazioni puntiformi effettuate su 4 campioni (\*001, \*002, \*003, \*004), 115 laboratori hanno eseguito l'analisi di sequenziamento e 107 laboratori la ricerca delle mutazioni puntiformi. Complessivamente si evidenzia una buona concordanza dei risultati relativi al sequenziamento. In particolare, sono state valutate correttamente: per il campione \*001, positivo per SARS-CoV-2 senza mutazioni associate, l'86,96% delle risposte; campioni \*002 e \*003, positivi per SARS-CoV-2 con mutazioni presenti all'interno dei criteri di inclusione, l'89,57% e il 74,78% delle risposte rispettivamente; campione \*004, negativo per SARS-CoV-2, il 74,78% delle risposte (Tabella 5).

Analogamente, per quanto riguarda l'analisi delle mutazioni puntiformi si evidenzia una buona concordanza tra i risultati dei partecipanti: rispettivamente 94,39% delle risposte per il campione \*001; il 95,33%, per il campione \*002; il 90,65% (comprensivo dei risultati nei criteri di inclusione) per il campione \*003. Per il campione \*004, solo il 79,44% lo ha identificato come negativo o con nessuna mutazione associata mentre il 20,56% non ha effettuato l'analisi. Nel complesso, è stata riscontrata una percentuale di errore nell'identificazione delle mutazioni puntiformi con un intervallo che varia dal 0,93% al 5,61% (Tabella 5).

## DISCUSSIONE

La partecipazione dei laboratori ai programmi di VEQ è un'attività necessaria per acquisire informazioni utili e affidabili che consentano di valutare e monitorare nel tempo l'idoneità dei sistemi diagnostici utilizzati, l'affidabilità dei risultati e la qualità delle procedure interne adottate. I risultati riportati in questo lavoro evidenziano una diminuzione del numero di risposte raccolte dal primo all'ultimo esercizio (8,9% in meno dal primo al secondo esercizio e 35,9% in meno dal primo al terzo esercizio) probabilmente conseguente ad un inferiore numero di laboratori partecipanti al Programma

Instand eV, che potrebbe essere dovuto ad una migliore strategia organizzativa basata sulla razionalizzazione e riallocazione delle risorse da parte delle istituzioni per fronteggiare la congiuntura pandemica. Si evidenzia, inoltre, la progressiva adozione di sistemi analitici con migliori prestazioni contestualmente alla loro disponibilità sul mercato e la sostituzione dei sistemi sviluppati *in house* con sistemi commerciali. Infatti, durante l'epidemia da SARS-CoV-2, la ricerca diagnostica ha permesso l'introduzione sul mercato di sistemi analitici con caratteristiche via via migliorative in grado di discriminare tra l'RNA specifico del lignaggio B betacoronavirus (B-βCoV) e SARS-CoV-2 inducendo i laboratori al loro utilizzo. Si osserva, in particolare nel 1°-2021 esercizio, che la percentuale di procedure analitiche sviluppate *in house* si è ridotta a circa la metà (da 10,4% a 5%) mentre è aumentato l'utilizzo di sistemi analitici dei differenti produttori (dal 55% al 77,3%), raggruppati nella categoria "altri", a dimostrazione dei numerosi sistemi diagnostici immessi sul mercato da diversi produttori (Figura 1).

La concordanza tra i risultati forniti dai laboratori partecipanti può ritenersi, in linea generale per tutti i campioni di controllo, soddisfacente (>95%). La percentuale maggiore di risultati scorretti riscontrati a carico dei campioni \*73 (3,5%), \*002 (2,7%) e \*004 (5,0%) non sembra imputabile a particolari caratteristiche del campione, a parte per il campione \*73 per il quale si riscontra una bassa carica virale, e che potrebbe essere dovuta a errori nella fase preanalitica, in particolare legati a problemi di manipolazione del campione, come riportato in diversi articoli già pubblicati (14-16), o nella fase post-analitica, in particolare l'interpretazione dei risultati dei test di laboratorio (15). Tuttavia, la segnalazione del risultato errato ha indotto i laboratori coinvolti ad indagare le possibili cause di errore ed a implementare le azioni di miglioramento necessarie; nell'esercizio successivo infatti (risultati non descritti in questo lavoro), questi laboratori hanno ottenuto prestazioni soddisfacenti.

Nel complesso, lo schema sperimentale VEQ, riportato in questo lavoro, ha mostrato risultati soddisfacenti, concordemente ai risultati relativi ad altri schemi di VEQ per i test molecolari SARS-CoV-2 riportati in letteratura (15,17). In particolare, per i laboratori della Regione Veneto afferenti al CRB, ogni prestazione analizzata è risultata essere concorde al risultato atteso.

In conclusione, i risultati dimostrano che la VEQ è uno strumento prezioso per i laboratori per valutare le proprie prestazioni in confronto a quelle di altri laboratori, a livello nazionale ed internazionale, e per identificare eventuali opportunità di miglioramento. Inoltre, nel particolare contesto pandemico in cui molti sistemi analitici sono stati immessi sul mercato velocemente e con autocertificazione, la VEQ è stata, ed è, indispensabile per valutare le prestazioni dei sistemi in commercio ed individuare quelli diagnosticamente più affidabili.

## CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

## BIBLIOGRAFIA

1. Hu B, Guo H, Zhou P, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:141–54.
2. Bohn MK, Mancini N, Loh TP, et al. IFCC Interim guidelines on molecular testing of SARS-CoV-2 infection. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:1993–2000.
3. Eftekhari A, Alipour M, Chodari L, et al. A comprehensive review of detection methods for SARS-CoV-2. *Microorganisms* 2021;9:232.
4. Kevadiya BD, Machhi J, Herskovitz J, et al. Diagnostics for SARS-CoV-2 infections. *Nat Mater* 2021;20:593–605.
5. Sciacovelli L, Padoan A, Secchiero S, et al. Serological diagnostic for SARS-CoV-2: an experimental External Quality Assessment Scheme. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:1878–84.
6. Dorigatti I, Lavezzo E, Manuto L, et al. SARS-CoV-2 antibody dynamics and transmission from community-wide serological testing in the Italian municipality of Vo'. *Nat Commun* 2021;12:4383.
7. Padoan A, Zuin S, Cosma C, et al. Clinical performances of an ELISA for SARS-CoV-2 antibody assay and correlation with neutralization activity. *Clin Chim Acta* 2020;510:654–5.
8. Yang Z, Wu J, Ye F, et al. Expert consensus-based laboratory testing of SARS-CoV-2. *J Thorac Dis* 2020;12:4378–90.
9. <https://www.finddx.org/covid-19/tests/> (ultimo accesso: gennaio 2022)
10. Carter LJ, Garner L V., Smoot JW, et al. Assay techniques and test development for COVID-19 diagnosis. *ACS Cent Sci* 2020;6:591–605.
11. Rambaut A, Holmes EC, O'toole Á, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology Europe. *Nat Microbiol* 2020; 5:1403–7.
12. <https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501> (ultimo accesso: gennaio 2022)
13. Uldall A. Origin of EQA programmes and multidisciplinary cooperation between EQA programme organizers within laboratory medicine. *EQA News* 1997;8:1-27.
14. Lippi G, Simundic A-M, Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Chem Lab Med* 2020;58:1070–6.
15. Plebani M. Laboratory medicine in the COVID-19 era: six lessons for the future. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:1035–45.
16. Tang Y-W, Schmitz JE, Persing DH, et al. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. *J Clin Microbiol* 2020;58:512-20.
17. Matheeußen V, Corman VM, Donoso Mantke O, et al. International external quality assessment for SARS-CoV-2 molecular detection and survey on clinical laboratory preparedness during the COVID-19 pandemic, April/May 2020. *Euro Surveill* 2020;25: 2001223.