



# **Ruolo dell'ISS come Laboratorio Nazionale di Riferimento per SARS-CoV-2 e attività svolte dal 22 gennaio al 31 marzo 2020**

aggiornato al 22 Giugno 2023

## Sommario

Sintesi.....	2
Identificazione di un nuovo virus.....	4
Istituzione di un Laboratorio Nazionale di Riferimento a coordinamento di una rete di laboratori di riferimento regionali per SARS-CoV-2.....	5
Attività del Laboratorio Nazionale di Riferimento .....	6
Referenze .....	8

## Sintesi

La pandemia causata dalla diffusione di SARS-CoV-2 ha rappresentato un evento senza precedenti sia per la tipologia di agente patogeno coinvolto che per l'entità della risposta adottata per contrastarlo a livello nazionale e internazionale.

SARS-CoV-2 appartiene alla grande famiglia dei Coronavirus che, in passato, avevano causato epidemie a diffusione internazionale, ma mai delle pandemie. Nel 2002/2003 SARS-CoV aveva causato focolai epidemici in paesi dell'Estremo Oriente e a Toronto in Canada, ma era stato rapidamente contenuto ed eliminato; MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome*) dal 2012 ha causato diversi focolai epidemici, sempre contenuti, in Medio Oriente ed in Asia, con diffusione zoonotica e nosocomiale.

Sulla base di tali presupposti, SARS-CoV-2 è stato certificato come nuovo virus dal Gruppo di Studio sul Coronavirus (CSG) del Comitato internazionale per la tassonomia dei virus (*International Committee on Taxonomy of Viruses*) che lo ha classificato per la prima volta in data 11 febbraio 2020.

**Trattandosi di un virus nuovo, si realizzava l'urgente esigenza di sviluppare una rete di laboratori in grado di diagnosticarlo in maniera affidabile e tempestiva**, in assenza di test diagnostici commerciali validati e di una esperienza microbiologica specifica. Il Ministero della Salute, costruendo sulle infrastrutture già esistenti tra cui quelle per la diagnosi e la sorveglianza virologica dell'influenza, come indicato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), ha inizialmente individuato (con la Circolare n. 1997 del 22 gennaio 2020) il National Influenza Centre (NIC) dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) che coordina la rete italiana InluNet, come Laboratorio Nazionale di Riferimento per SARS-CoV-2. Nella Circolare Ministeriale n. 5443 del 22 febbraio 2020, Allegato 3, veniva riportato un primo elenco dei laboratori che le Regioni/PAA avevano identificato per effettuare la diagnosi molecolare su campioni clinici respiratori.

Nel documento dell'Organizzazione Mondiale della Sanità "2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV): Strategic Preparedness and Response Plan" del 4 febbraio 2020 si legge che la capacità di identificare il nuovo coronavirus deve essere rafforzata a livello nazionale così che test diagnostici possano essere realizzati rapidamente e senza bisogno di trasporto di campioni in paesi esteri. Un modo di fare questo è di lavorare con i network globali per l'identificazione di patogeni respiratori come i National Influenza Centres.

Il Laboratorio Nazionale di Riferimento, in tale funzione, ha messo a punto i protocolli internazionali per l'identificazione di SARS-CoV-2 (Circolare Ministeriale n. 5443 del 22 febbraio 2020, cfr. Allegato.4), e fornito indicazioni per le vie brevi a tutti i laboratori che via via ne avessero bisogno su specifiche richieste tecniche oltre a dare supporto materiale e metodologico per poter sviluppare test *in house* (nella primissima fase della pandemia non erano disponibili kit commerciali validati).

**Vista l'urgenza e non essendo, quindi, possibile realizzare degli esercizi di verifica della qualità e affidabilità della diagnosi** (attraverso delle valutazioni di qualità esterne – EQA – come usualmente realizzate tra le funzioni di un Laboratorio Nazionale di Riferimento), **il Ministero della Salute, in accordo a direttive dell'OMS, ha deciso di procedere in una fase iniziale delle attività ad una diagnosi in doppio per confermare le prime diagnosi molecolari di positività realizzate** in tutte le regioni/PA e al contempo verificare che i laboratori di riferimento regionale fossero tutti in grado di

realizzare diagnosi affidabili e tempestive. **Tale attività di conferma diagnostica è stata affidata al Laboratorio Nazionale di Riferimento presso ISS.** Successivamente, in considerazione dell'alto grado di concordanza delle diagnosi effettuate e dell'elevata circolazione del virus, l'attività di conferma è stata sospesa per alcune Regioni come disposto dal Ministero della Salute con la Circolare del 9 marzo 2020 n. 7922 (cfr. Allegato 3). Dal 20 marzo 2020 (Circolare Ministeriale n 9774 del 20 marzo 2020), anche tenendo conto della semplificazione delle procedure di diagnosi di laboratorio in base alle dichiarazioni di OMS e ECDC (*European Centre for Disease Prevention and Control* - Centro europeo per la prevenzione e il controllo delle malattie), si decideva di non proseguire ulteriormente con la conferma diagnostica obbligatoria, ma di procedere con una attività di monitoraggio su un sotto-campione rappresentativo per l'epidemiologia molecolare. Tale attività è stata di fatto sospesa ad agosto 2021 preso atto della capacità diagnostica diffusa su tutto il territorio attraverso l'utilizzo di test commerciali standardizzati e della contemporanea implementazione delle attività di sequenziamento con raccolta dei dati genomici mediante la piattaforma ISS – Italian Covid-19 Genomic (I-Co-Gen).

L'analisi presentata in questo rapporto evidenzia che:

- La funzione svolta dall'ISS come Laboratorio Nazionale di Riferimento ha contribuito alla creazione e sviluppo di una rete di laboratori competenti in grado di realizzare diagnosi tempestive ed affidabili per un virus sconosciuto fino a poche settimane prima della sua istituzione e non si è limitata alla semplice attività di conferma diagnostica.
- Le attività realizzate in tale frangente dall'ISS rispondono alle funzioni di un Laboratorio Nazionale di Riferimento come indicate dal Centro Europeo per la Prevenzione ed il controllo delle malattie ECDC.
- Nel periodo di riferimento (22 gennaio - 31 marzo 2020) sono pervenuti al Laboratorio Nazionale di Riferimento presso ISS un totale di 5099 campioni per conferma della diagnosi a partire dal primo caso segnalato sul territorio nazionale, Detti campioni giungevano al Laboratorio Nazionale seguendo le modalità indicate nella Circolare Ministeriale n 5443 del 22 febbraio 2020, cfr. Allegato 4.
- Successivamente, in ottemperanza alle disposizioni ministeriali di cui alla Circolare n. 9774 del 20 marzo 2020, l'attività di conferma diagnostica si è trasformata in un'azione di monitoraggio da effettuarsi su un numero rappresentativo di campioni clinici ai fini di monitorare l'epidemiologia molecolare del virus. Tale attività si è protratta fino ad agosto 2021. Oltre all'attività di conferma diagnostica, il Laboratorio Nazionale di Riferimento procedeva, secondo modalità di sicurezza (Rapporto ISS COVID-19 n. 13/2020. Raccomandazioni per raccolta, trasporto e conservazione di campioni biologici COVID-19, disponibile online: [https://www.iss.it/rapporti-covid-19/-/asset\\_publisher/btw1J82wtYzH/content/rapporto-iss-covid-19-n.-13-2020-raccomandazioni-per-raccolta-trasporto-e-conservazione-di-campioni-biologici-covid-19.-versione-del-15-aprile-2020.-gruppo-di-lavoro-iss-ricerca-traslazionale-covid-19](https://www.iss.it/rapporti-covid-19/-/asset_publisher/btw1J82wtYzH/content/rapporto-iss-covid-19-n.-13-2020-raccomandazioni-per-raccolta-trasporto-e-conservazione-di-campioni-biologici-covid-19.-versione-del-15-aprile-2020.-gruppo-di-lavoro-iss-ricerca-traslazionale-covid-19)), allo stoccaggio del materiale biologico ed all'isolamento del virus da campioni selezionati per le attività di sequenziamento e studi di caratterizzazione virale. In seguito il Laboratorio Nazionale di Riferimento ha eseguito due Proficiency tests, superati con esito positivo, per la valutazione sia da parte di WHO che ECDC: SARS-CoV-2 EQAP (2020) da WHO (18 maggio 2020); SARS-CoV-2 EQA (PCR) 2020 da ECDC (10 giugno 2020).
- Tutte le attività descritte sono state effettuate da personale dell'ISS che si è dedicato con grande generosità e professionalità, per puro spirito di servizio nei confronti dell'Istituzione e del Paese.

## Identificazione di un nuovo virus

Il **5 gennaio 2020**, la prima allerta pubblicata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (1) riportava l'evento di 44 casi umani, di cui 11 severi, dovuti ad una malattia respiratoria umana di eziologia non nota (*"The causal agent has not yet been identified or confirmed"*) in cui si ipotizzava una trasmissione zoonotica (*"According to the authorities, some patients were operating dealers or vendors in the Huanan Seafood market. Based on the preliminary information from the Chinese investigation team, no evidence of significant human-to-human transmission and no health care worker infections have been reported"*). Tale evento era inusuale e inatteso, tuttavia ancora non definito in termini dell'agente eziologico responsabile. Nel comunicato citato, l'Organizzazione Mondiale della Sanità raccomandava di proseguire con le attività di sorveglianza nei confronti dell'influenza e delle infezioni respiratorie gravi. Entrambe le sorveglianze erano pienamente operative in Italia con la rete InfuNet coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità (2) come previsto dalla Circolare del Ministero della Salute n. 0021524 del 17 luglio 2019 (3).

Il **9 gennaio 2020**, il Centro per il Controllo delle malattie cinese ha notificato che la causa delle infezioni era un nuovo coronavirus (4).

Solo in seguito ad una seconda visita dell'Organizzazione Mondiale della Sanità a Wuhan, il 20-21 gennaio 2020 (5), viene ipotizzata una possibile trasmissione interumana del virus, ovvero una condizione indispensabile per una sua diffusione su larga scala. In un comunicato stampa dell'OMS pubblicato il **22 gennaio 2020**, infatti, si documentava che i dati raccolti attraverso una dettagliata indagine epidemiologica e attraverso l'utilizzo di nuovi test di diagnosi molecolare **suggerivano una trasmissione interumana di SARS-CoV-2 a Wuhan**. Si ribadiva in tale documento che l'entità della trasmissione interumana si sarebbe dovuta definire con ulteriori analisi epidemiologiche.

L'ECDC lo stesso giorno pubblicava un aggiornamento al proprio documento di valutazione del rischio in cui ribadiva la difficoltà nel classificare il rischio di questo evento epidemico a causa delle numerose incertezze ancora esistenti. Il rischio per viaggiatori dell'Unione Europea in visita a Wuhan di contrarre l'infezione era valutato come moderato. Era stato elevato a moderato il rischio di identificare casi importati nell'Unione Europea mentre era considerato **basso il rischio di una trasmissione secondaria in Europa** (6).

In Italia, dalla metà del mese di ottobre 2019 era operativo, come ogni anno, il **sistema di sorveglianza InfuNet previsto dal Piano pandemico influenzale stesso e coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità**. Dal 2000 tale sistema si attiva, ogni stagione, sulla base di un Protocollo Operativo condiviso con tutte le Regioni e indicato nella Circolare di prevenzione dell'influenza, aggiornata annualmente ed emanata dal DG della Prevenzione del Ministero della Salute. Nel periodo in esame erano quindi pienamente attive la sorveglianza e il monitoraggio delle sindromi simil-influenzali (ILI), la sorveglianza e delle infezioni respiratorie acute gravi (SARI) dovute a virus influenzali, il sistema di sorveglianza virologico dell'influenza. Questo sistema nel periodo dicembre 2019 – gennaio 2020 non ha messo in evidenza anomalie nella stagione influenzale 2019-2020 (linea rossa) rispetto a quanto osservato negli anni precedenti (Figura 1). Nel mese di gennaio 2020, infatti, l'incidenza delle sindromi influenzali per 1000 abitanti in Italia era inferiore a quella segnalata nello stesso periodo del 2019 e del 2018.

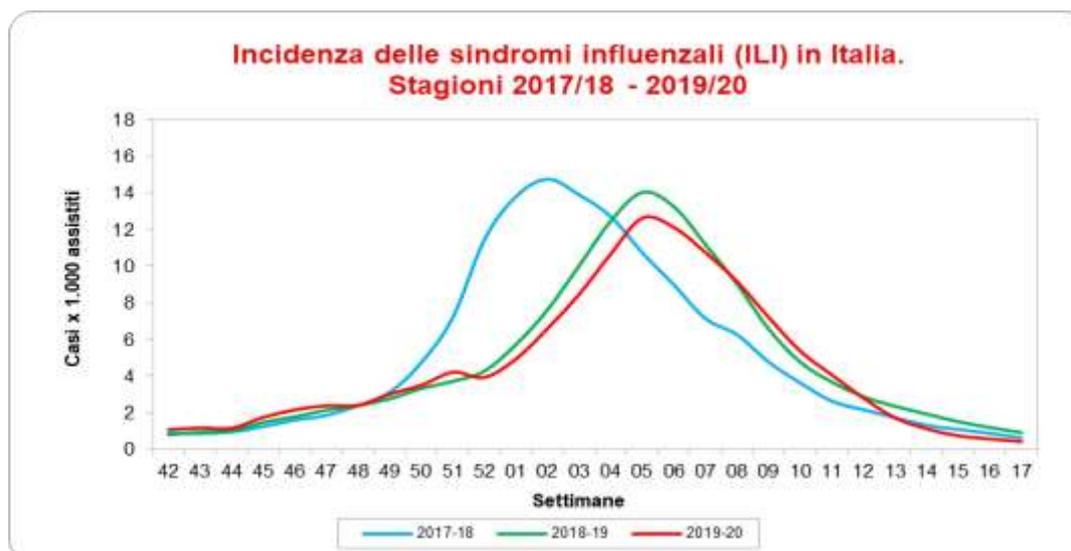


Figura 1 – Sistema di sorveglianza sindromica delle sindromi simil-influenzali, stagione 2019-2020 rispetto alle stagioni 2018-19 e 2017-18

## Istituzione di un Laboratorio Nazionale di Riferimento a coordinamento di una rete di laboratori di riferimento regionali per SARS-CoV-2

Considerando la aspecificità della presentazione clinica della malattia COVID-19 rispetto a malattie causate da altri virus respiratori, la conferma di diagnosi di laboratorio è necessaria per definire un caso COVID-19 causato da una infezione da SARS-CoV-2, come indicato dalle definizioni di caso emanate dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (7). Per questa ragione l'attività dei laboratori e in particolare dei laboratori di riferimento è stata alla base delle attività di monitoraggio per questa epidemia. Le reti coordinate a livello centrale sono state una garanzia di uniformità e qualità.

Con la Circolare del Ministero della Salute n. 1997 del **22 gennaio 2020** "Polmonite da nuovo coronavirus (2019-nCoV) in Cina" (8), sono state date indicazioni ai laboratori dei principali ospedali e/o individuati dalle Regioni per poter effettuare la diagnosi molecolare per casi sospetti di infezione da 2019-nCoV (nome inizialmente dato a SARS-CoV-2) secondo i protocolli riportati dall'OMS. A coordinamento di questa rete è stato identificato, presso l'ISS (WHO National Influenza Centre – NIC/ISS), il **Laboratorio Nazionale di Riferimento** per la conferma della diagnosi e la segnalazione all'OMS di tutti i casi di infezione da SARS-CoV-2 identificati in Italia.

Si ricorda che tutto questo avveniva in un contesto in cui, il giorno seguente, 23 gennaio 2020, è stato convocato il primo incontro della commissione internazionale ai sensi del Regolamento Sanitario Internazionale (RSI- IHR) relativo al nuovo coronavirus, allora denominato 2019-nCoV (9). **Tale riunione non portò alla dichiarazione di una emergenza internazionale di sanità pubblica** (PHEIC- Public Health Emergency of International Concern) in quanto i **principali esperti mondiali sul tema erano divisi** nella valutazione dell'evento epidemico in corso e per molti era prematuro dichiarare una PHEIC. La commissione non si sarebbe riunita nuovamente prima del 30 gennaio 2020.

Con la Circolare Ministeriale n. 5443<sup>(10)</sup> del 22 febbraio 2020 è stato riportato un primo elenco di 31 laboratori in grado di effettuare la diagnosi molecolare secondo i protocolli specifici per SARS-CoV-2 indicati dall'OMS. Con circolari successive (Circolare Ministeriale n. 9774 del 20 marzo 2020 <sup>(11)</sup> e quella n. 11715 del 3 aprile 2020 <sup>(12)</sup>) la rete dei laboratori è stata ulteriormente estesa per far fronte alle crescenti esigenze diagnostiche dovute all'aumentata circolazione del virus. **È importante sottolineare che inizialmente solo laboratori di virologia altamente specializzati erano nelle condizioni di poter allestire test affidabili per la diagnosi molecolare di questo nuovo virus non essendo disponibili kit diagnostici validati. Nelle sue funzioni di laboratorio di riferimento, NIC/ISS ha fornito supporto tecnico-scientifico, reagenti e materiale di riferimento ai laboratori della rete.**

La prima rete di laboratorio per SARS-CoV-2 si è basata sulla rete di laboratori già individuata per la sorveglianza umana dei virus influenzali, rete Influnet, altamente competente, citata anche nel piano pandemico influenzale. Questo costituisce un **chiaro esempio di come si sia partiti dalle competenze esistenti per l'influenza per adattare alla situazione epidemica contingente causata da un altro virus** come indicato coerentemente nella prima fase dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (1, 13).

## Attività del Laboratorio Nazionale di Riferimento

Nell'ambito delle funzioni di un Laboratorio di Riferimento Nazionale <sup>(14)</sup>, il NIC/ISS ha realizzato quanto segue:

1. **Attività diagnostica di riferimento.** A tal fine, il laboratorio ha utilizzato metodiche suggerite da organismi internazionali in base a evidenze scientifiche aggiornate (*state-of-the-art*) e riportate da OMS e ECDC e le ha rese operative in modo da fornire informazioni accurate di conferma diagnostica dell'infezione nel proprio campo di competenza e nell'adozione, adattamento e trasferimento di indicazioni e materiali di riferimento per la messa a punto di test per la diagnosi molecolare di SARS-CoV-2 presso i laboratori Regionali. È importante sottolineare che, nella prima fase, quando il virus non circolava al di fuori della Cina, nessuno possedeva controlli positivi. Per tale motivo, l'unico protocollo di biologia molecolare (Real-time PCR) indicato dalle organizzazioni OMS ed ECDC era quello di Corman, che utilizzava come controllo positivo un RNA sintetico di una porzione genica di SARS-CoV2 estrapolata *in silico* dalle sequenze fino ad allora depositate <sup>(15)</sup>, e poi in un secondo tempo anche il protocollo di Real-time PCR del CDC di Atlanta <sup>(16)</sup>. La mancanza di reagenti "ufficiali" e disponibili e le limitate conoscenze hanno indotto i laboratori di riferimento, e quindi anche l'ISS, ad adottare entrambi i protocolli che basavano la conferma diagnostica sulla positività di 3 target (Corman: E, RdRP P1 e P2) o 3 target del gene N (CDC: N1, N2, N3) incluso la positività per Rnase P. Pertanto, ogni singolo tampone comportava l'allestimento di almeno 3-4 singole reazioni (singolplex) più le reazioni di controllo per ogni singola seduta di PCR. Per dare un ordine di grandezza, inizialmente per ogni piastra contenente 96 reazioni si potevano confermare circa 20-22 tamponi. I primi campioni venivano eseguiti in doppio e, alcuni campioni venivano ripetuti se non erano soddisfatte tutte le positività richieste.
2. **Attività di conferma diagnostica.** Dal 22 gennaio al 20 marzo 2020 l'ISS ha anche realizzato, su indicazione del Ministero della Salute (cfr. Circolare n. 1997 del 22.01.2020 e successivi aggiornamenti), attività di conferma della diagnosi di laboratorio di tutti i casi positivi di infezione da SARS-CoV-2, effettuata dai laboratori autorizzati facenti parte della rete nazionale, per garantire l'affidabilità, uniformità e qualità del riscontro nella fase iniziale. Si rappresenta che già

con la Circolare ministeriale n. 7922 del 9 marzo 2020 <sup>(17)</sup>, Allegato 3, operativa dal 1° marzo 2020, l'attività di conferma della positività dei test in vitro veniva sospesa per alcune Regioni in considerazione dell'alto grado di concordanza delle diagnosi di conferma effettuate. Successivamente, con Circolare Ministeriale n. 9774 del 20 marzo 2020 tale attività è evoluta in una azione di monitoraggio su un numero rappresentativo di campioni clinici che ha avuto luogo fino ad agosto 2021. L'attività di conferma diagnostica ha potuto accertare (per i campioni idonei, per esempio per sufficiente materiale per la successiva conferma diagnostica) un allineamento diagnostico tra il Laboratorio Nazionale ed i laboratori regionali di riferimento del 98% e confermare una qualità e affidabilità diagnostica uniformemente elevata dei laboratori facenti parte della rete. In questo periodo, l'ISS ha realizzato pubblicazioni di indicazione tecnica <sup>(18, 19, 20)</sup> e formazione per il miglioramento delle capacità diagnostiche nei confronti di SARS-CoV-2.

3. **Attività di consulenza scientifica e raccomandazioni** alle autorità sanitarie e ai laboratori che facevano richiesta di indicazioni tecniche su metodi e procedure, supporto scientifico e consigli sull'interpretazione e rilevanza dei risultati di laboratorio ottenuti. Partecipazione nel definire le indicazioni inerenti la diagnosi di laboratorio per SARS-CoV-2 nelle Circolari emanate dal Ministero della Salute.
4. **Attività nell'ambito dei network** internazionali, come ad esempio la partecipazione alle attività di sorveglianza di ECDC e WHO.
5. **Azioni di collegamento e integrazione** con il sistema di sorveglianza epidemiologica.

In aggiunta a quanto sopra riportato, il **Laboratorio Nazionale di Riferimento in Italia ha realizzato una funzione di coordinamento di tutti i laboratori di riferimento del paese** (laboratori regionali di riferimento) realizzando azioni volte a **rendere uniformemente elevata la qualità e affidabilità diagnostica**. A loro volta tali laboratori di riferimento hanno avuto un ruolo di raccolta e, se opportuno, verifica dei casi diagnosticati laboratori diagnostici sul proprio territorio.

## Referenze

- <sup>1</sup> Organizzazione Mondiale della Sanità. Disease Outbreak News. Pneumonia of unknown cause – China. 5 gennaio 2020 disponibile online: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2020-DON229>
- <sup>2</sup> Istituto Superiore di Sanità. Influnet. Disponibile online: <https://www.epicentro.iss.it/influenza/influnet>
- <sup>3</sup> Ministero della Salute. Circolare DG Prevenzione n.21524 del 17/07/2019 Prevenzione e controllo dell'influenza: raccomandazioni per la stagione 2019-2020. Disponibile online: <https://vaccinarsinpuiglia.org/assets/uploads/files/22/circolare-ministeriale-influenza-2019-2020.pdf>
- <sup>4</sup> Centro Europeo per la Prevenzione ed il Controllo delle Malattie. Outbreak of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): increased transmission beyond China – fourth update, 14 February 2020. ECDC: Stockholm; 2020. Disponibile online: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SARS-CoV-2-risk-assessment-14-feb-2020.pdf>
- <sup>5</sup> Organizzazione Mondiale della Sanità. Comunicato Stampa. Mission summary: WHO Field Visit to Wuhan, China 20-21 January 2020, pubblicato il 22 gennaio. Disponibile online <https://www.who.int/china/news/detail/22-01-2020-field-visit-wuhan-china-jan-2020>
- <sup>6</sup> Centro Europeo per la Prevenzione ed il Controllo delle Malattie. Rapid Risk Assessment: Outbreak of acute respiratory syndrome associated with a novel coronavirus, Wuhan, China; first update – 22 January 2020. ECDC: Stockholm; 2020. Disponibile online: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Risk-assessment-pneumonia-Wuhan-China-22-Jan-2020.pdf>
- <sup>7</sup> Organizzazione Mondiale della Sanità. Case Definition for Novel Coronavirus (2019-nCoV), 31 gennaio 2020. Disponibile online: <https://www.phsd.ca/wp-content/uploads/2020/01/Case-Definition-2019-nCoV.-2020-01-23docx.pdf>
- <sup>8</sup> Ministero della Salute. Circolare n. 1997 del 22 gennaio 2020 “Polmonite da nuovo coronavirus (2019-nCoV) in Cina”. Disponibile online: <https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2020&codLeg=72796&parte=1%20&serie=null>
- <sup>9</sup> Organizzazione Mondiale della Sanità. Statement on the first meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV), 23 gennaio 2020 disponibile online: [https://www.who.int/news/item/23-01-2020-statement-on-the-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/news/item/23-01-2020-statement-on-the-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov))
- <sup>10</sup> Ministero della Salute. DG Prevenzione. Circolare n. 5443 del 22/02/2020. COVID-2019. Nuove indicazioni e chiarimenti. Disponibile online: [http://www.prefettura.it/FILES/allegatinews/1181/Circolare\\_Ministero\\_della\\_Salute\\_n.\\_5443\\_del\\_22\\_febbraio\\_2020.pdf](http://www.prefettura.it/FILES/allegatinews/1181/Circolare_Ministero_della_Salute_n._5443_del_22_febbraio_2020.pdf)
- <sup>11</sup> Ministero della Salute. DG Prevenzione. Circolare n. 9774 del 20/03/2020. Annullamento e sostituzione della Circolare del Ministero della Salute n. 0009480 del 19 marzo 2020 “COVID-19: rintraccio dei contatti in ambito di sorveglianza sanitaria e aggiornamento delle indicazioni relative alla diagnosi di laboratorio di casi di infezione da SARS-CoV-2.”. Disponibile online: <https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2020&codLeg=73714&parte=1%20&serie=null>
- <sup>12</sup> Ministero della Salute. DG Prevenzione. Circolare n. 11715 del 03/04/2020. Pandemia di COVID-19 – Aggiornamento delle indicazioni sui test diagnostici e sui criteri da adottare nella determinazione delle priorità. Aggiornamento delle indicazioni relative alla diagnosi di laboratorio. Disponibile online: <https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2020&codLeg=73799&parte=1%20&serie=null>
- <sup>13</sup> Organizzazione Mondiale della Sanità. 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV): Strategic Preparedness and Response Plan, Bozza 3 febbraio 2020. Disponibile online: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/srp-04022020.pdf>
- <sup>14</sup> Centro Europeo per la Prevenzione ed il Controllo delle Malattie. Core functions of microbiology reference laboratories for communicable diseases. Stockholm: ECDC; 2010. Disponibile online: [https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/1006\\_TER\\_Core\\_functions\\_of\\_reference\\_labs.pdf](https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/1006_TER_Core_functions_of_reference_labs.pdf)
- <sup>15</sup> Corman VM et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3): pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
- <sup>16</sup> Real-time RT-PCR Panel for detection 2019-novel coronavirus: instructions for use <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/84526>
- <sup>17</sup> Ministero della Salute. DG Prevenzione. Circolare n. 7922 del 9/03/2020. COVID-19. Aggiornamento della definizione di caso Disponibile online: <https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2020&codLeg=73669&parte=1%20&serie=null>

---

<sup>18</sup> Rapporto ISS COVID-19 n. 6/2020 - Procedura per l'esecuzione di riscontri diagnostici in pazienti deceduti con infezione da SARS-CoV-2. Versione del 23 marzo 2020. Prima edizione 23 marzo 2020. Disponibile online: [https://www.iss.it/rapporti-covid-19/-/asset\\_publisher/btw1J82wtYzH/content/rapporto-iss-covid-19-n-6-2020-procedura-per-l-esecuzione-di-riscontri-diagnostici-in-pazienti-deceduti-con-infezione-da-sars-cov-2?\\_com\\_liferay\\_asset\\_publisher\\_web\\_portlet\\_AssetPublisherPortlet\\_INSTANCE\\_btw1J82wtYzH\\_assetEntryId=5312026&\\_com\\_liferay\\_asset\\_publisher\\_web\\_portlet\\_AssetPublisherPortlet\\_INSTANCE\\_btw1J82wtYzH\\_redirect=https%3A%2F%2Fwww.iss.it%2Frapporti-covid-19%3Fp\\_p\\_id%3Dcom\\_liferay\\_asset\\_publisher\\_web\\_portlet\\_AssetPublisherPortlet\\_INSTANCE\\_btw1J82wtYzH%26p\\_p\\_lifecycle%3D0%26p\\_p\\_state%3Dnormal%26p\\_p\\_mode%3Dview%26\\_com\\_liferay\\_asset\\_publisher\\_web\\_portlet\\_AssetPublisherPortlet\\_INSTANCE\\_btw1J82wtYzH\\_assetEntryId%3D5312026%26\\_com\\_liferay\\_asset\\_publisher\\_web\\_portlet\\_AssetPublisherPortlet\\_INSTANCE\\_btw1J82wtYzH\\_assetEntryId%3D5312026%26\\_com\\_liferay\\_asset\\_publisher\\_web\\_portlet\\_AssetPublisherPortlet\\_INSTANCE\\_btw1J82wtYzH\\_cur%3D0%26p\\_r\\_p\\_resetCur%3Dfalse](https://www.iss.it/rapporti-covid-19/-/asset_publisher/btw1J82wtYzH/content/rapporto-iss-covid-19-n-6-2020-procedura-per-l-esecuzione-di-riscontri-diagnostici-in-pazienti-deceduti-con-infezione-da-sars-cov-2?_com_liferay_asset_publisher_web_portlet_AssetPublisherPortlet_INSTANCE_btw1J82wtYzH_assetEntryId=5312026&_com_liferay_asset_publisher_web_portlet_AssetPublisherPortlet_INSTANCE_btw1J82wtYzH_redirect=https%3A%2F%2Fwww.iss.it%2Frapporti-covid-19%3Fp_p_id%3Dcom_liferay_asset_publisher_web_portlet_AssetPublisherPortlet_INSTANCE_btw1J82wtYzH%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26_com_liferay_asset_publisher_web_portlet_AssetPublisherPortlet_INSTANCE_btw1J82wtYzH_assetEntryId%3D5312026%26_com_liferay_asset_publisher_web_portlet_AssetPublisherPortlet_INSTANCE_btw1J82wtYzH_cur%3D0%26p_r_p_resetCur%3Dfalse).

<sup>19</sup> Mancini F, Barbanti F, Scaturro M, Errico G, Iacobino A, Bella A, Riccardo F, Marsili G, Stefanelli P, Pezzotti P, Rezza G, Ciervo A; on behalf ISS COVID-19 study group. Laboratory management for SARS-CoV-2 detection: a user-friendly combination of the heat treatment approach and rt-Real-time PCR testing. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Dec;9(1):1393-1396. doi: 10.1080/22221751.2020.1775500.PMID: 32552549.

<sup>20</sup> Mancini F, Barbanti F, Scaturro M, Fontana S, Di Martino A, Marsili G, Puzelli S, Calzoletti L, Facchini M, Di Mario G, Fabiani C, Bella A, Riccardo F, Pezzotti P, Stefanelli P, Rezza G, Ciervo A; Istituto Superiore di Sanità (ISS) COVID-19 Team. Multiplex Real-Time Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction Assays for Diagnostic Testing of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 and Seasonal Influenza Viruses: A Challenge of the Phase 3 Pandemic Setting. *J Infect Dis.* 2021 Mar 3;223(5):765-774. doi: 10.1093/infdis/jaa658. PMID: 33080031.

*A cura di:* Antonino Bella, Maria Rita Castrucci, Alessandra Ciervo, Angela Di Martino, Patrizio Pezzotti, Flavia Riccardo, Paola Stefanelli, Giovanni Rezza, Silvio Brusafferro, Anna Teresa Palamara.

*In collaborazione con:* Ufficio I - Affari Generali DRAG-ISS Claudia Mastrocola, Daniela Felici; PRE-STA - Ufficio Stampa Anna Mirella Taranto, Pier David Malloni.

*Si ringraziano i componenti della Task Force Covid-19 istituita con Decreto del Presidente prot. PRE 94/2020 del 10/02/2020:* Eleonora Benedetti, Laura Calzoletti, Giuseppina Di Mario, Concetta Fabiani, Marzia Facchini, Stefano Fiore, Fabiola Mancini, Antonella Marchi, Simona Puzelli, Alessia Caratelli.