

*Portare i clienti verso un futuro all'insegna della crescita*

White Paper di Frost & Sullivan

## Diagnostica SARS-CoV-2

*Privilegiare i test al point-of-care  
nella strategia futura*

Di: Atiya Hasan, MD, MBA, Consultant e Sudeep Basu,  
Ph.D., Practice Leader, Innovation Services

In collaborazione con Cepheid



## Indice

---

- 3** Informazioni preliminari sul COVID-19
- 4** Test diagnostici per SARS-CoV-2
- 5** Scelta di una diagnostica efficace per SARS-CoV-2
- 7** Diagnosi al POC per il futuro
- 9** Conclusione
- 10** Note di chiusura

## Informazioni preliminari sul COVID-19

---

Il COVID-19, causato dal virus a RNA SARS-CoV-2, è emerso nel 2019 e ha impiegato solo pochi mesi per raggiungere tutti i Paesi del mondo. L'11 marzo 2020, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha dichiarato la mortale epidemia una pandemia globale. Più di 15 mesi dopo, rimane una sfida sanitaria di vasta portata. Stanno emergendo molteplici varianti del coronavirus. Attualmente, quattro varianti del virus – Alpha, Beta, Gamma e Delta – sono state definite Variants of Concern (VOC, varianti preoccupanti) dall'OMS e sono monitorate attentamente.<sup>1</sup> I Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) riferiscono che la variante delta, altamente contagiosa, è ora il ceppo dominante negli Stati Uniti.<sup>2</sup> Sono state identificate altre quattro varianti – Eta, Iota, Kappa e Lambda – tutte con elevate caratteristiche di trasmissione nella comunità, e sono state etichettate dall'OMS come Variants of Interest (VOI, varianti di interesse). Il crescente numero di casi infetti da queste varianti indica un rischio emergente per la salute pubblica globale. Ciò sottolinea l'importanza fondamentale di test accurati e rapidi negli Stati Uniti, così come a livello globale.

In quel territorio inesplorato, in cui ancora non esistevano specifici vaccini o agenti terapeutici antivirali, l'obiettivo principale era limitare la diffusione del virus. I ritardi nella diagnosi e nel trattamento portavano a degenze ospedaliere prolungate (il 50% dei pazienti ricoverati sviluppava dispnea entro una settimana dall'infezione e, nei casi più gravi, l'assenza di un trattamento tempestivo progrediva in sindrome da distress respiratorio<sup>3</sup>) e all'inutile quarantena di persone che alla fine risultavano non contagiate dal virus. I test diagnostici hanno rapidamente dimostrato il loro valore nella lotta iniziale e nelle ondate successive, consentendo efficaci misure di quarantena, tracciamento dei contatti e gestione clinica.

Nonostante l'attuale disponibilità di vaccini contro il COVID-19, risulta completamente vaccinata meno della metà della popolazione statunitense (e solo il 13% circa a livello globale).<sup>4</sup> Inoltre, fattori non noti, come la durata dell'immunità e l'efficacia dei vaccini sulle varianti, fanno sì che i test diagnostici continuino a rimanere in prima linea nella lotta contro il COVID-19. È fondamentale che gli studi medici, le cliniche e i centri di emergenza siano dotati del giusto test diagnostico.

Un test diagnostico ideale presenta sensibilità e specificità elevate, facilità d'uso, tempi di risposta rapidi e scalabilità, come mostra la Figura 1. Un risultato rapido e accurato consente al medico di prendere tempestivamente appropriate decisioni terapeutiche. I test che possono essere eseguiti facilmente in luoghi vicini ai pazienti consentono la diagnosi precoce della malattia, con cure più rapide e inferiori costi complessivi. Inoltre, i test di maggiore precisione contribuiscono a ridurre gli ulteriori costi e le risorse aggiuntive associati ai test ripetuti e di conferma, a diminuire le degenze ospedaliere prolungate a causa di diagnosi ritardate e a limitare le quarantene non necessarie.

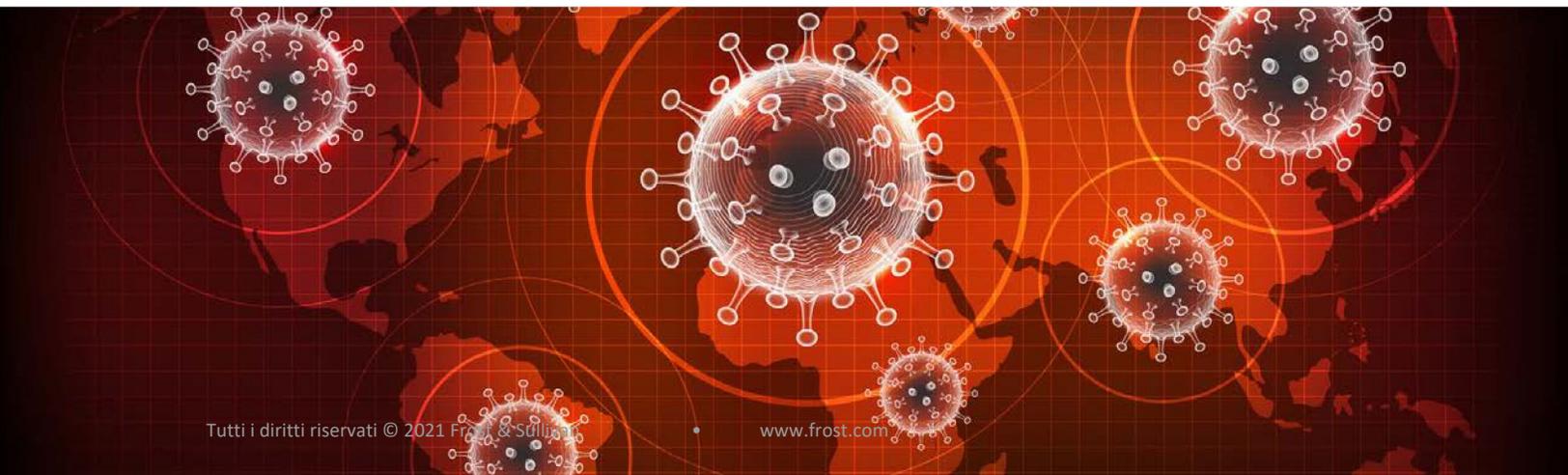
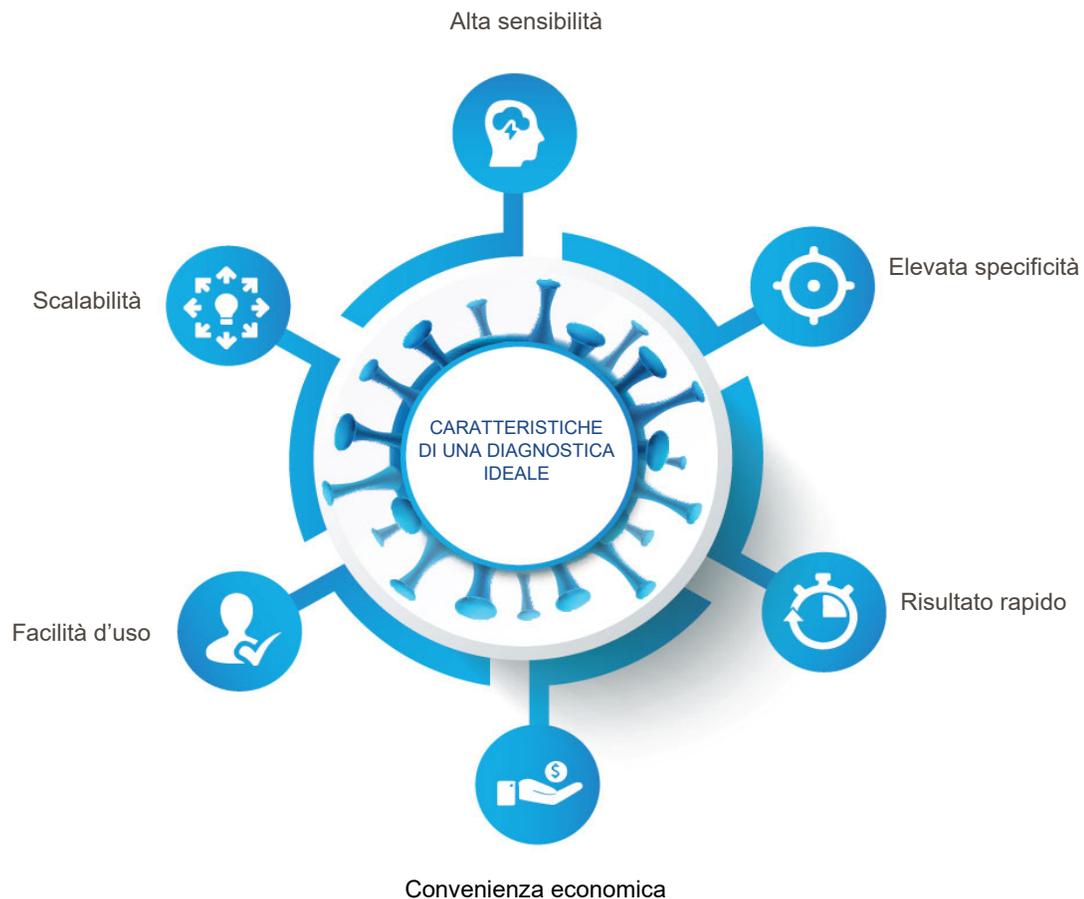


Figura 1: Attributi standard di riferimento della diagnostica per Covid-19



## Test diagnostici per SARS-CoV-2

I Centri statunitensi per il controllo e la prevenzione delle malattie (CDC) raccomandano un test diagnostico per chiunque abbia sintomi di COVID-19, precedenti di stretto contatto con pazienti positivi al COVID-19 o esposizione ad ambienti ad alto rischio. I più comuni sono i test di amplificazione degli acidi nucleici (Nucleic Acid Amplification Tests, NAAT) e i saggi immunoenzimatici (Enzyme ImmunoAssay, EIA).

- I **NAAT** rilevano la presenza di sequenze di RNA (il materiale genetico del virus SARS-CoV-2) in un campione di tampone nasale o nasofaringeo. Il test predominante di reazione a catena della polimerasi a trascrizione inversa (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) prevede l'estrazione e la purificazione dell'RNA e precisi cicli termici per l'amplificazione. L'amplificazione isoterma è una tecnologia NAAT alternativa che utilizza una temperatura costante per il processo di amplificazione.
- Gli **EIA** sono test rapidi che rilevano la presenza dell'antigene virale in un campione, utilizzando un anticorpo legato ad un enzima per convertire un substrato in un prodotto finale fluorescente o colorato. I test antigenici rapidi rilevano la presenza di proteine virali nei campioni di analisi prelevati mediante tampone nasale o nasofaringeo. I test anticorpali rapidi, d'altra parte, rilevano la risposta dell'ospite al virus (IgG o IgM) ma non vengono utilizzati per la diagnosi.

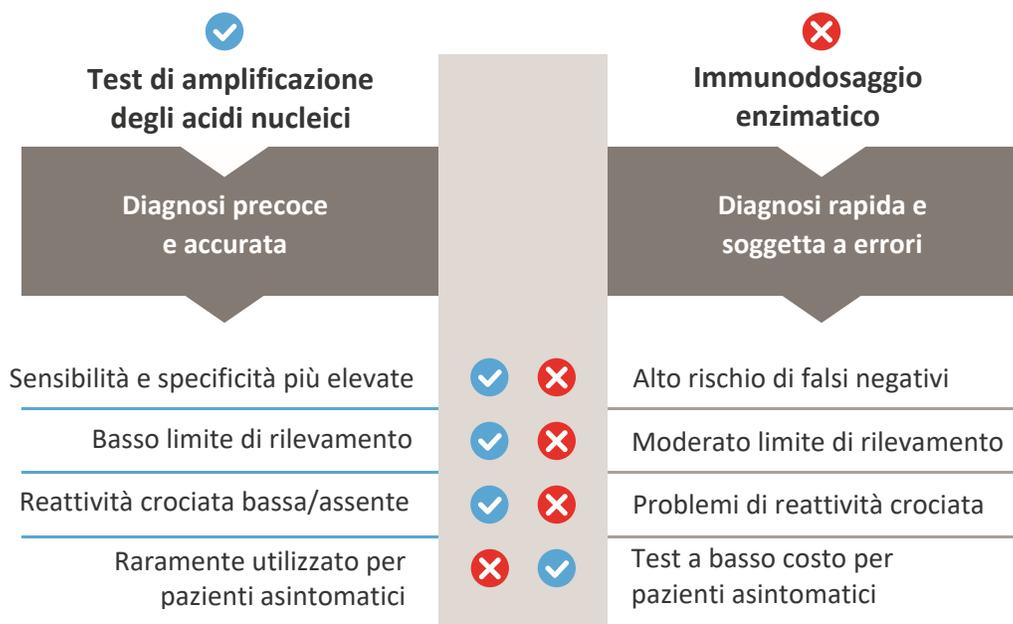
## Scelta di una diagnostica efficace per SARS-CoV-2

In virtù della loro velocità e precisione, i NAAT sono raccomandati per identificare l'infezione da SARS-CoV-2 e sono considerati test di conferma dai CDC statunitensi. Lo standard di riferimento è il test RT-PCR, ma la sua complessità lo ha da sempre reso utilizzabile solo da tecnici altamente qualificati in un laboratorio certificato, secondo le normative Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) del 1988 per la gestione di sistemi di test di complessità moderata o alta. La centralizzazione dei test comporta tempi di risposta di più giorni, che ritardano gli sforzi di contenimento e scoraggiano le persone dal recarsi ai centri di analisi per paura della quarantena o semplicemente per l'ansia generale di dover attendere i risultati, spesso consegnati in ritardo.

Per questi e altri motivi, la diagnostica al "point-of-care" (POC) è diventata la modalità preferita. I vantaggi di decisioni cliniche rapide, il tracciamento efficace dei contatti e la messa in quarantena immediata dei pazienti solo quando è veramente necessario favoriscono l'esecuzione dei test in una porzione più ampia della popolazione.

I test antigenici rapidi sono portatili e hanno tempi di risposta di appena 15-30 minuti, ma sono meno accurati dei NAAT, come mostrato nella Figura 2. L'antigene di SARS-CoV-2 può scomparire naturalmente dal corpo da cinque a sette giorni dopo l'inizio dei sintomi e presentarsi come un falso negativo. L'alto rischio di falsi negativi è uno dei principali inconvenienti del test antigenico. Poiché gli anticorpi anti-SARS-CoV-2 persistono nel sangue per alcuni mesi dopo l'infezione, i test sierologici non possono rilevare l'infezione in corso. Per contro, i NAAT implicano l'amplificazione del materiale genetico virale e possono quindi rilevare l'infezione anche quando il numero di copie virali è basso. Ciò riduce i falsi negativi e rende questi test adatti al rilevamento precoce. L'uso di primer opportunamente progettati previene la reattività crociata e l'amplificazione di altri tipi di RNA virale. Il sistema integra la ridondanza dei bersagli, quindi la sensibilità e la specificità sono molto elevate.

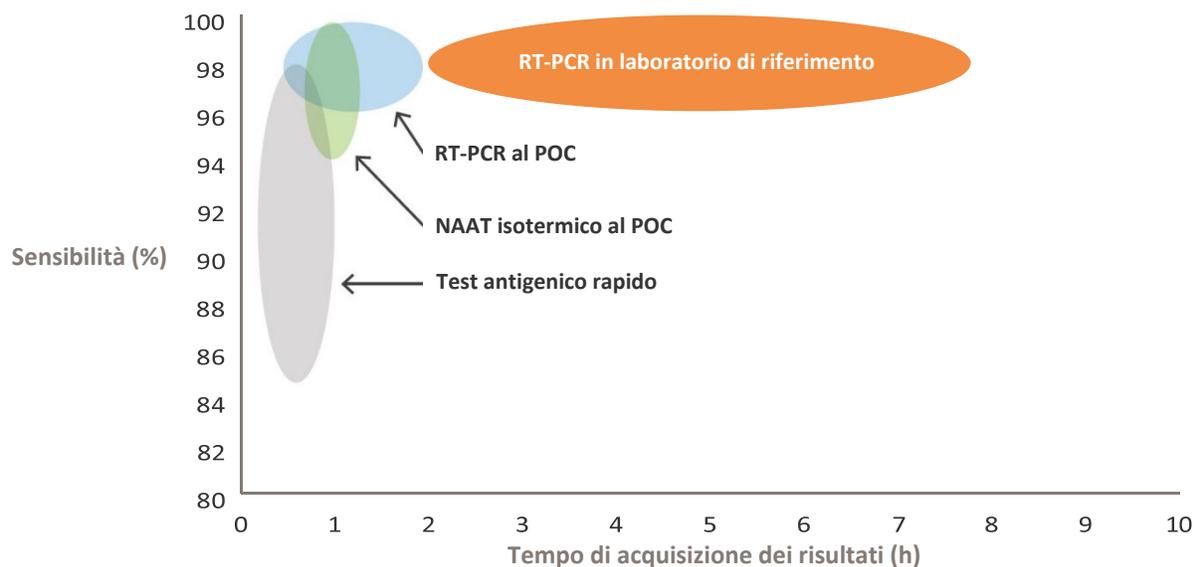
Figura 2: Confronto tra NAAT e immunodosaggio enzimatico



Di conseguenza, i CDC ipotizzano un complicato algoritmo da seguire dopo un test antigenico che, in pratica, è spesso seguito da un NAAT di conferma.<sup>5</sup> I test antigenici rapidi utilizzati per lo screening preliminare di una popolazione presso il point-of-care sono circa 100 volte meno sensibili dei test RT-PCR.<sup>6</sup> Quando i risultati del test antigenico rapido contraddicono i sintomi e gli episodi precedenti di esposizione, il paziente viene richiamato per un nuovo test o un NAAT di conferma, aumentando l'onere per il paziente, il medico e il laboratorio (in alcuni casi le politiche di rimborso potrebbero non coprire la serie completa di test). Pertanto, l'accuratezza gioca un ruolo importante nell'utilità di un test al POC.

I NAAT dal campione alla risposta con elevata precisione intrinseca, facilità d'uso e progettati per i contesti POC saranno strumenti preziosi per la gestione efficace del COVID-19 in futuro. La Figura 3 illustra la sensibilità rispetto al tempo di risposta del test antigenico rapido, l'RT-PCR in laboratorio, l'RT-PCR al POC e l'amplificazione isotermica al POC. Nonostante un tempo di risposta leggermente più lungo rispetto ai test antigenici rapidi, le tecnologie RT-PCR al POC e NAAT isotermiche al POC sono più sensibili. Sebbene la tecnologia NAAT isotermica implichi una minore complessità dello strumento e preveda un tempo di risposta rapido compreso tra 20 e 30 minuti,<sup>2</sup> l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha dichiarato che la tecnologia RT-PCR, grazie alla sua precisione, è lo standard di riferimento per il rilevamento di SARS-CoV-2.<sup>7</sup> Un gruppo di esperti della Infective Diseases Society of America (IDSA) suggerisce che si possa accettare un NAAT isotermico rapido quando non sono disponibili test RT-PCR rapidi e NAAT di laboratorio, ma raccomanda la conferma con uno degli altri test quando un risultato negativo contraddice il sospetto clinico.<sup>8</sup>

**Figura 3: Sensibilità e tempi di risposta dei test diagnostici per COVID-19**



Come si vede nella Figura 4, l'RT-PCR al POC supera l'RT-PCR in laboratorio di riferimento ad alta processività in termini di velocità, scalabilità, facilità d'uso e costo complessivo e supera in precisione i test antigenici rapidi e i NAAT isotermici al POC. Nonostante il basso costo di acquisizione dei test antigenici rapidi, la necessità di ripetizione del test e di NAAT di conferma presso i laboratori di riferimento si traduce in un costo complessivo o costo d'uso più elevato per la diagnosi di COVID-19.<sup>9</sup> Consentendo una diagnosi delocalizzata accurata, i test RT-PCR al POC eliminano la necessità di test di conferma presso i laboratori di riferimento: Evitando il trasporto del campione al laboratorio di riferimento, si risparmiano tempo e denaro. La rapidità di ottenimento dei risultati rispetto ai test RT-PCR eseguiti in laboratorio può consentire decisioni cliniche rapide, un efficace tracciamento dei contatti e quarantene tempestive.

Figura 4: Confronto delle caratteristiche dei test diagnostici per COVID-19

**Caratteristiche di una diagnostica ideale**

	Accuratezza	Tempo di attesa dei risultati	Facilità d'uso	Scalabilità	Convenienza economica
Test EIA rapido	Bassa accuratezza ✗	Tempo di risposta rapido ✓	Elevata facilità d'uso ✓	Scalabilità media —	Elevato costo d'uso ✗
RT-PCR ad alta processività	Accuratezza elevata ✓	Tempo di risposta lungo ✗	Facilità d'uso media —	Bassa scalabilità ✗	Elevato costo d'uso ✗
RT-PCR al POC	Accuratezza elevata ✓	Tempo di risposta rapido ✓	Elevata facilità d'uso ✓	Elevata scalabilità ✓	Basso costo d'uso ✓
NAAT isotermico	Accuratezza media —	Tempo di risposta rapido ✓	Facilità d'uso media —	Scalabilità media —	Basso costo d'uso ✓

## Diagnosi al POC per il futuro

Gli esperti di salute pubblica prevedono che il COVID-19 diventerà endemico. Con il ritorno al lavoro, a scuola e agli incontri pubblici e con l'allentamento delle restrizioni di viaggio in tutto il mondo, i siti di test RT-PCR al POC potrebbero integrare la distribuzione del vaccino per tenere sotto controllo il virus. Ospedali e cliniche potrebbero sottoporre a screening di routine il personale e i pazienti ad alto rischio, e le residenze sanitarie assistenziali (RSA) avrebbero un'altra risorsa per garantire la sicurezza dei residenti.

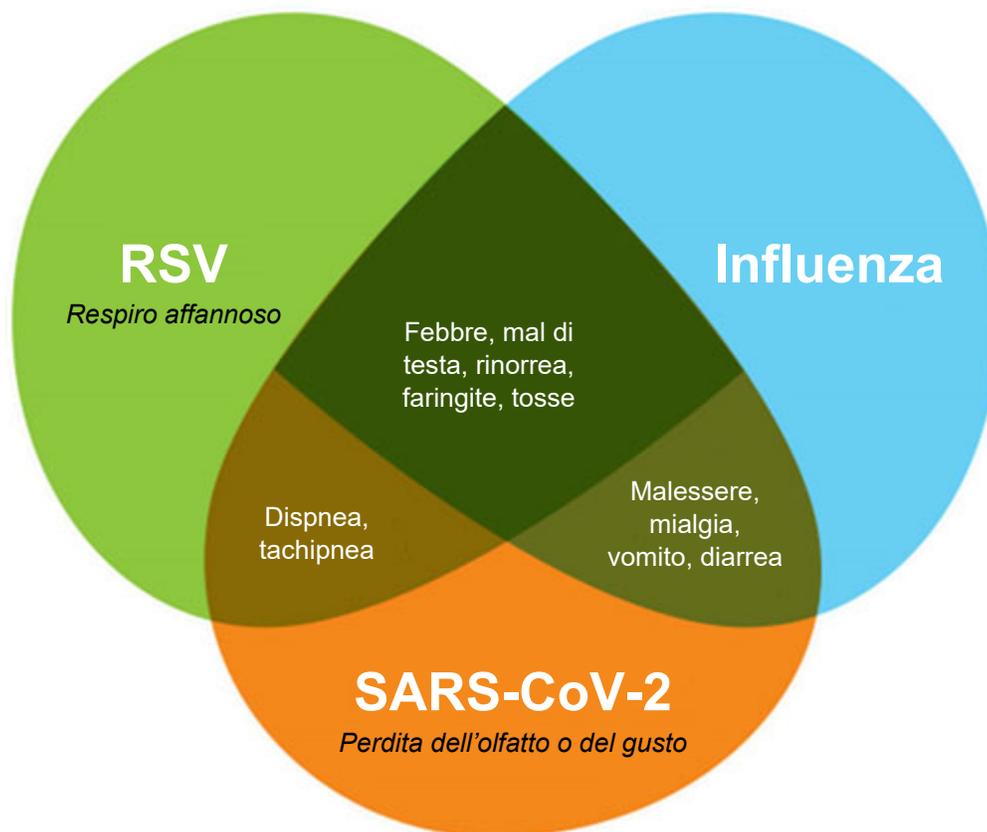
Con la ripresa delle procedure cliniche elettive, una diagnosi rapida e accurata dell'infezione da COVID-19 negli ospedali aumenterà l'efficienza operativa. Quando l'apparecchiatura di RT-PCR al POC è disponibile in loco o presso una clinica vicina, ne deriva una migliore gestione dei pazienti nelle RSA. Inoltre, i dispositivi POC di formato scalabile avvantaggiano i point-of-care laddove il numero di test tra la popolazione vaccinata varia ogni giorno.<sup>10</sup>

La minore accuratezza dei test antigenici rapidi rispetto ai NAAT rappresenterà un problema più grande nelle comunità vaccinate, dove la prevalenza di pazienti COVID-19 sintomatici è bassa. Il tasso di falsi positivi dipende dalla probabilità pre-test e dalla specificità del test. La bassa probabilità pre-test in una comunità vaccinata e la bassa specificità del test antigenico aumentano la probabilità di falsi positivi. Ancora una volta, i NAAT sono consigliati come test di conferma quando i pazienti risultano positivi con un test antigenico rapido in una popolazione a bassa prevalenza.<sup>11</sup>

Inoltre, con il virus SARS-CoV-2 che muta nel tempo, le mutazioni nel genoma virale possono alterare le proteine virali, e ciò potrebbe rendere inefficaci i test antigenici rapidi. In passato, la variazione e la mutazione antigeniche durante la stagione influenzale 2007-2008 e la pandemia H1N1 del 2009 hanno influenzato la sensibilità dei test di rilevamento rapido dell'antigene dell'influenza.<sup>12</sup> La Food and Drug Administration statunitense suggerisce che le mutazioni del gene virale abbiano meno probabilità di influenzare i test molecolari con geni bersaglio multipli.<sup>13</sup> La diagnostica RT-PCR mirata a più sequenze geniche riduce la probabilità di falsi negativi.

La tecnologia multiplex dei test diagnostici RT-PCR, che include il rilevamento di altri agenti patogeni virali, è un vantaggio per i medici. Il COVID-19 da virus SARS-CoV-2 presenta gli stessi sintomi di quelli causati dal virus respiratorio sinciziale e dai virus dell'influenza A e B (come mostrato nella Figura 5); di conseguenza, la corretta diagnosi di COVID-19 può essere un problema, soprattutto durante la stagione delle infezioni respiratorie virali. Un saggio RT-PCR multiplex, in grado di rilevare e differenziare il virus che causa la malattia respiratoria presso il point-of-care, consentirà una gestione corretta dei pazienti e decisioni cliniche rapide sul ciclo di trattamento.

**Figura 5: Sintomi di SARS-CoV-2, del virus respiratorio sinciziale e dei virus dell'influenza**



Fonti: <https://www.cdc.gov/flu/symptoms/flu-vs-covid19.htm>, <https://www.cdc.gov/rsv/about/symptoms.html>, Per l'uso ai sensi dell'autorizzazione all'uso in emergenza della FDA statunitense

## Conclusione

---

Gli esperti concordano sul fatto che il mondo debba rimanere vigile, poiché il tasso di vaccinazione contro il COVID-19 aumenta lentamente e persistono titubanze nei confronti del vaccino. Dotare laboratori, studi medici e centri di pronto soccorso con tecnologia RT-PCR al POC altamente accurata e rapida sarà la via da seguire, consentendo agli operatori sanitari di distinguere in modo affidabile il COVID-19 da altre malattie respiratorie e adottare le azioni appropriate per contenere rapidamente i focolai. Sarà uno strumento di screening di routine conveniente per le strutture ad alto rischio e sarà scalabile per l'implementazione in base alle esigenze di una comunità.

La complessità e le inefficienze dei processi nell'ambito dell'assistenza clinica, dall'assistenza di base ai centri di pronto soccorso, sono cresciute in modo significativo nel mondo COVID-19. L'esecuzione dei test in contesti "più vicini al paziente" su una piattaforma tecnologica avanzata come l'RT-PCR al POC riduce drasticamente la complessità, il tempo di attesa dei risultati e l'ansia del paziente. Inoltre, rende il processo più efficiente per gli operatori, portando a una maggiore soddisfazione dei pazienti e ad un maggiore ritorno sull'investimento. È probabile inoltre che ciò ottenga una maggiore accettazione da parte dei contribuenti che considerano la riduzione del "costo reale della diagnostica" come uno dei principali vantaggi dei test RT-PCR al POC. Oltre a promuovere un allineamento degli interessi di tutti i segmenti dell'ecosistema, ciò contribuisce nel contempo a raggiungere l'obiettivo più ampio di mitigazione del COVID-19.

I formati RT-PCR scalabili e multiplex possono facilitare test sostenibili da parte di centri di pronto soccorso, studi medici e altri contesti POC, riducendo al contempo il "costo reale della diagnostica" per il paziente, per i centri clinici e per la collettività in generale.

## Note di chiusura

---

- 1 World Health Organization. Tracking SARS-CoV-2 variants. Accessed July 20, 2021. <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>
- 2 Centers for Disease Control and Prevention. Variant Proportions. Accessed July 20, 2021. [https://covid.cdc.gov/covid-data-tracker/?CDC\\_AA\\_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fcases-updates%2Fvariant-proportions.html#variant-proportions](https://covid.cdc.gov/covid-data-tracker/?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fcases-updates%2Fvariant-proportions.html#variant-proportions)
- 3 Salim MSA, Adebisi MK. Past, present and future of pandemics (COVID-19). *J Infect Dis Epidemiol.* 2020; 6:119.
- 4 Our World in Data. Coronavirus (COVID-19) Vaccinations. Accessed July 20, 2021. <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations>
- 5 Centers for Disease Control and Prevention. Antigen Test Algorithm. Accessed June 21, 2021. [https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/Antigen\\_Testing\\_Algorithm\\_2020-12-14\\_v03\\_NO\\_DRAFT\\_SPW\\_508.pdf](https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/Antigen_Testing_Algorithm_2020-12-14_v03_NO_DRAFT_SPW_508.pdf)
- 6 Valera E, Jankelow A, Lim J, et al. COVID-19 point-of-care diagnostics: present and future. *ACS Nano.* 2021;5: 7899-7906.
- 7 World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: Interim guidance. Published March 2, 2020. Accessed June 21, 2021. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>
- 8 Infectious Disease Society of America. IDSA guidelines on the diagnosis of COVID-19: molecular diagnostic testing. Published December 23, 2020. Accessed June 21, 2021. <https://www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-diagnostics/>
- 9 Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidance for Antigen Testing for SARS-CoV-2. Accessed August 10, 2021. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antigen-testsguidelines.html#evaluating-test-results>
- 10 Vandenberg O, Martiny D, Rochas O, van Belkum A, Koslakidis Z. Considerations for diagnostic COVID-19 tests. *Microbiol.* 2021; 19(3):171-183.
- 11 Peeling RW, Olliaro PL, Boeras DI, Fongwen N. Scaling up COVID-19 rapid antigen tests: promises and challenges. *Lancet Infect Dis.* 2021; S1473-3099(21)00048-7.
- 12 Welch DF. Point-Counterpoint: Role of Rapid Immunochromatographic Antigen Testing in Diagnosis of Influenza A Virus 2009 H1N1 Infection. *Journal of Clinical Microbiol.* 2020; 48(1): 22-25.
- 13 U.S. Food & Drug Administration. SARS-CoV-2 viral mutations: impact on COVID-19 tests. Updated June 3, 2021. Accessed June 21, 2021. <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-covid-19-andmedical-devices/sars-cov-2-viral-mutations-impact-covid-19-tests>

F R O S T  S U L L I V A N

La crescita è un viaggio. Noi siamo la vostra guida.

Da oltre sessant'anni, Frost & Sullivan fornisce informazioni utili a società, governi e investitori, dando vita a un flusso di opportunità di crescita innovative che consentono loro di massimizzare il proprio potenziale economico, navigare nei "mega trend" emergenti e plasmare un futuro basato su una crescita sostenibile.

Contattateci: [Avvia la discussione](#)

Il contenuto di queste pagine è protetto da copyright ©2021 Frost & Sullivan.