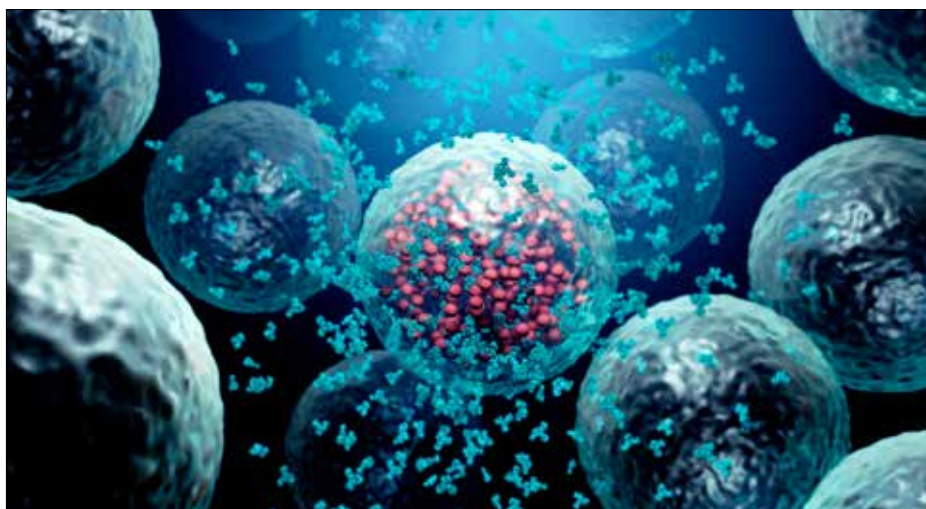


ALLA RICERCA DEGLI ANTICORPI



di **Alessandro Fornaro**,
giornalista e farmacista

LE FARMACIE SONO SEMPRE MAGGIORMENTE COINVOLTE ANCHE NELLA RICERCA DELLA CARICA ANTICORPALE CONTRO IL VIRUS SARS-COV2 ATTRAVERSO TEST DI RAPIDA ESECUZIONE VIA VIA PIÙ AFFIDABILI. E' QUINDI IMPORTANTE AVERE BEN CHIARE LE DIFFERENZE CHE INTERCORRONO TRA LE VARIE METODICHE ANALITICHE E SEGUIRE L'EVOLUZIONE DI QUESTO IMPORTANTE SETTORE

Fin dall'inizio della pandemia, la possibilità di verificare la presenza di anticorpi contro il Sars-cov2 nelle persone precedentemente infettate ha suscitato un grande interesse nella popolazione e nel mondo medico. Il fatto stesso che l'infezione si sviluppi in maniera asintomatica nella maggior parte dei soggetti che contraggono il virus ha da subito attirato l'attenzione su analisi strumentali che potessero individuare chi fosse già entrato a contatto con questo nuovo

maledetto coronavirus e con le sue varianti. Inoltre, dato che la ricerca degli anticorpi di tipo IgM indica la presenza di una infezione in corso, si è anche pensato di poter attribuire a queste analisi una certa "valenza diagnostica". In una fase iniziale di carenza di tamponi molecolari e di incertezza rispetto all'attendibilità di quelli rapidi, qualcuno aveva infatti avanzato l'idea di utilizzare anche la ricerca di anticorpi per monitorare la diffusione del contagio.

Tuttavia, la posizione di molti autorevoli ricercatori è stata apertamente contraria a un loro utilizzo per finalità diagnostiche, consigliando di riservare questa opportunità analitica per monitorare situazioni particolari o per screening di gruppo.

Oggi, nuove motivazioni rendono ancora più attrattivi i test per la ricerca degli anticorpi. Sempre più persone, infatti, sono interessate a conoscere la propria carica anticorpale, spesso anche a seguito della vaccinazione.

Una sorta di curiosità, talvolta, ma non solo. Altri, sono interessati a conoscere una eventuale infezione contratta, magari in maniera asintomatica, prima di eseguire il vaccino e altri ancora, consapevoli di avere contratto il Covid, vogliono vedere qual è il loro livello residuo di protezione a qualche mese di distanza.

Quali che siano gli interessi personali rispetto ai risultati forniti da questa tipologia di analisi, sta di fatto che, in queste ultime settimane, si è tornato a parlare insistentemente di test sierologici e sono sempre di più le aziende che propongono, anche tramite le farmacie, test rapidi per la ricerca degli anticorpi da Sars-cov2.

Diventa quindi importante che il farmacista abbia ben chiare le differenti opzioni presenti sul mercato, che conosca gli sviluppi di questo settore e che possa interagire nel migliore dei modi e con la massima competenza con un cittadino sempre più affamato di notizie, curiosità e, giustamente, alla continua ricerca di nuove opportunità "diagnostiche".

Esistono molte tipologie di test per la rilevazione di anticorpi anti Sars-cov2. La prima domanda alla quale dobbiamo metterci di fronte quando valutiamo un test è: "che tipologia di anticorpi ricerca?".

La maggior parte dei test sono progettati per rilevare gli anticorpi delle immunoglobuline contro due differenti proteine:

- 1) la proteina nucleocapside (proteina N)
- 2) la proteina spike (proteina S).

I TEST RBD PER LA RICERCA DEGLI ANTICORPI NEUTRALIZZANTI

Prima di entrare nel merito di questa fondamentale distinzione, è opportuno introdurre una nuova categoria di test: i cosiddetti test RBD. L'acronimo RBD sta per Receptor Binding Domain. Si tratta di una particolare porzione della Spike, piuttosto piccola e molto specifica, che è deputata al legame con il recettore Ace-2 delle cellule. Delle molte implicazioni derivanti dal legame tra Spike e Ace-2 abbiamo diffusamente parlato in un articolo dal titolo "Una poltrona per due" nel numero 2 del 2021 di Nuovo Collegamento. Ma torniamo al potenziale immunizzante legato agli anticorpi RBD i quali, una volta individuata questa piccola porzione del recettore, vi si legano, impedendo al virus di penetrare nelle cellule. Si tratta quindi di veri e propri anticorpi neutralizzanti e quantificare la loro presenza nel sangue offre una grandissima capacità predittiva della copertura individuale rispetto ad una possibile infezione o reinfezione futura.

Si tratta comunque di test piuttosto recenti e, secondo alcune fonti, non sarebbero ancora del tutto standardizzati. Sentirete parlare di particolari valori, ottenuti secondo il primo standard internazionale dell'Oms ed espressi in BAU/ml (Binding Arbitrary Unit). Questo valore consentirà di confrontare risultati ottenuti con metodi diversi. Altro aspetto da considerare è che questi test misurano l'insieme degli anticorpi anti-RBD della Spike, indipendentemente dalla classe a cui appartengono, ovvero indipendentemente dal fatto che siano IgM, IgG e IgA.

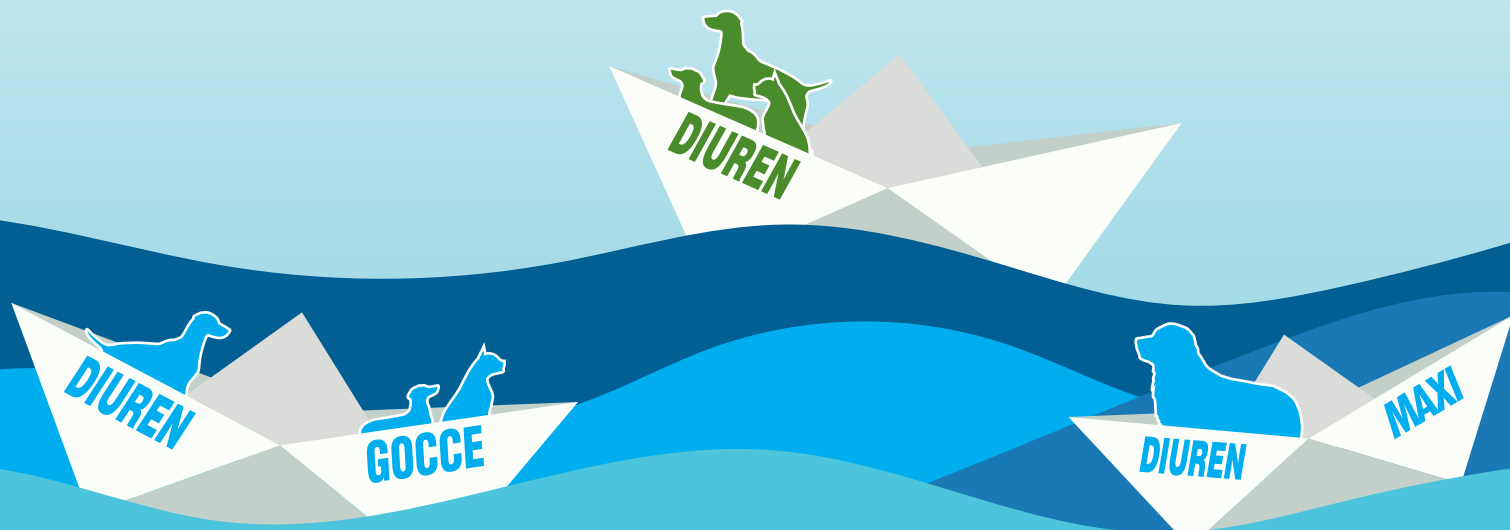
Misurare nello specifico una classe piuttosto che un'altra può invece essere utile per fornirci informazioni aggiuntive, visto che gli anticorpi IgM vengono durante l'infezione, mentre gli IgG e IgA richiedono alcune settimane.

Non essendo in grado di fornire indicazioni temporali, è opportuno eseguire i test RBD a qualche settimana di distanza dalla vaccinazione o dalla presunta infezione.

Introdotta questa nuova classe di test sierologici, torniamo alla principale differenza che intercorre tra i test di tipo "tradizionale".

DIUREN

L'UNICA LINEA ORALE DI FUROSEMIDE
CON DOSAGGI E FORME FARMACEUTICHE
ADATTE PER GATTI E CANI DI TUTTE LE TAGLIE



**L'UNICA FUROSEMIDE
IN GOCCE ORALI!**

**SOLUZIONE ORALE
8 mg/ml**
per gatti e cani di
piccola e media taglia
Flacone 25 ml



**COMPRESSE
20 mg**
per gatti e cani di
piccola e media taglia
Flacone 30 cpr



**COMPRESSE MAXI
80 mg**
per cani
di grossa taglia
Flacone 30 cpr

Teknofarma

Tel.: 011 2731702

E-mail: teknofarma@teknofarma.com
www.teknofarma.com

Per ulteriori informazioni, è possibile visualizzare il video al link:
www.teknofarma.com/doc/diuren/orale.mp4



UN SOGGETTO POSITIVO AL TEST PER LA RICERCA DEGLI N CHE RISULTASSE POSITIVO ANCHE AGLI ANTICORPI DELLA S, SAPRÀ, CON OGNI PROBABILITÀ, DI AVERE CONTRATTO L'INFEZIONE DA SARS-COV2, ANCHE NEL CASO EGLI FOSSE GIÀ VACCINATO

Abbiamo accennato al fatto che si possono cercare due differenti proteine virali: Spike e Nucleocapside. Queste due proteine sono i principali componenti immunogeni del coronavirus e sono prodotte in quantità abbondanti durante l'infezione. In realtà, queste non sono le uniche proteine virali. Il Sars-cov2, infatti, è un betacoronavirus dotato di pericapside e quattro proteine strutturali: Spike (S), di Membrana (M), del Pericapside (E) e del Nucleocapside (N). Tra tutte e quattro, la proteina S è considerata il principale determinante dell'immunità protettiva e della trasmissione, tanto che gli anticorpi monoclonali agiscono proprio contro questa proteina andando a neutralizzare l'infettività virale. Anche i vaccini a mRNA e quelli a vettore adenovirale sono stati formulati per attivare nel nostro organismo la produzione di questa proteina e non della N che, tuttavia, come vedremo in seguito, presenta anch'essa un certo potere immunizzante.

I TEST QUALITATIVI PER GLI ANTICORPI ANTI-NUCLEOCAPSIDE

Infatti, sebbene la maggior parte dei test ricerchi proprio la S (o addirittura la componente RBD della S), esistono test per la ricerca degli anticorpi contro la proteina N. Questi sono i test considerati meno specifici, in quanto la proteina Nucleocapside è quella più comune ai diversi coronavirus. Per questo motivo, i test sierologici che usano N come antigene possono dare origine a falsi positivi come conseguenza di una rilevazione errata di anticorpi che, magari, si sono generati come risposta ad un comune raffreddore causato da un'altro coronavirus. Sembra, tuttavia, che proprio grazie alla loro scarsa specificità, questi anticorpi, anche qualora derivino da infezioni ad altri tipi di coronavirus, possano comunque legarsi alla proteina N di SARS-Cov2 ed avere un certo effetto neutralizzante. Tornando ai test, ci si potrebbe chiedere quale utilità possano avere quelli che ricercano la proteina N. Oltre alla loro rapidità di utilizzo, questi

test qualitativi possono risultare utili per un'altra ragione. Come dicevamo, i vaccini attualmente approvati espongono al sistema immunitario solo la regione RBD della proteina Spike, e non il nucleocapside. Ecco allora che gli anticorpi in grado di riconoscere il nucleocapside vengono prodotti solo in seguito all'infezione naturale, e non alla profilassi vaccinale. Anche chi è già vaccinato può, quindi, scoprire se è entrato in contatto o meno con il virus: il test risulterà positivo solo nel caso di una pregressa infezione virale da coronavirus. Per evitare di incorrere nei possibili falsi positivi, sarà poi indicato anche un test quantitativo che verifichi la presenza della proteina Spike. Un soggetto positivo al test per la ricerca degli N che risultasse positivo anche agli anticorpi della S, saprà, con ogni probabilità, di avere contratto l'infezione da Sars-cov2, anche nel caso egli fosse già vaccinato.

I TEST QUANTITATIVI PER GLI ANTICORPI ANTI-SPIKE

Parlando di questa tipologia di test abbracciamo la fascia più ampia dei test attualmente presenti sul mercato, compresi i test rapidi di autoanalisi a disposizione delle farmacia.

Le principali differenze che si possono introdurre parlando di questa tipologia analitica fanno riferimento alle metodiche utilizzate e ai parametri di efficacia.

Prima di immettere un test sul mercato, le aziende produttrici, in collaborazione con qualche università o istituto di ricerca, eseguono dei test clinici. I valori che emergono da queste ricerche sono in genere due: sensibilità e specificità. Come districarsi nel comprendere a come si riferiscono questi valori?

Per spiegarlo, nel modo più semplice possibile, ai clienti della farmacia, possiamo dire che per sensibilità si intende la probabilità che chi è stato esposto al virus o al vaccino risulti positivo al test.

Si tratta, in sostanza della capacità del test di non dare falsi negativi.

I TEST RAPIDI MOSTRANO ALL'UTENTE LINEE COLORATE PER INDICARE RISULTATI POSITIVI O NEGATIVI. TALUNI RICERCANO SOLO LE IGG, ALTRI RICONOSCONO ANCHE LE IGM, AD INDICARE UNA PROBABILE INFEZIONE IN CORSO CHE ANDRÀ POI CONFERMATA CON UN TAMPONE PCR

Al contrario, per specificità, si intende la probabilità che chi non ha contratto il virus e non si è sottoposto a vaccinazione, possa risultare positivo.

Per dirlo in altri termini, se il test è poco sensibile si hanno tanti falsi negativi. Se il test è poco specifico si hanno tanti falsi positivi. Mettendola in numeri, se, per esempio, un dato test ha una sensibilità al 90%, vuol dire che su 100 persone positive al test, 10 saranno falsi negativi. Con specificità al 95% su 100 persone immunizzate 95 avranno davvero il Covid, gli altri saranno falsi positivi.

Quanto alle metodiche, i classici test rapidi fanno perlopiù riferimento ad una tecnica basata sulla tecnologia "a flusso laterale" (LFIA). Per i test rapidi non occorre un prelievo di sangue ed è sufficiente un pungidito. Si tratta di test qualitativi che offrono in pochi minuti (in genere 10) una risposta di tipo positivo/negativo. Oltre ai test eseguiti su piccoli campioni di sangue ottenuto attraverso la puntura del dito, sono state sviluppate metodiche che analizzano campioni di saliva o liquidi da tampone nasale. Come ben sappiamo, i test rapidi mostrano all'utente linee colorate per indicare risultati positivi o negativi. Taluni ricercano solo le IgG, altri riconoscono

anche le IgM, ad indicare una probabile infezione in corso che andrà poi confermata con un tampone PCR.

Se la tecnologia alla base dei test rapidi sono piuttosto semplici, molto più complesse sono le tecniche che sottendono ai test sierologici utilizzati negli ospedali o nei laboratori di analisi. Queste metodologie offrono anche risultati quantitativi, contando la carica anticorpale dell'individuo.

Le metodologie più utilizzate sono la cosiddetta Elisa, il test di chemiluminescenza (CLIA) e il test immunologico con microparticelle chemiluminescenti (CMIA). Senza addentrarci nelle tecniche di laboratorio, già avendo ben chiari i punti che abbiamo fin qui analizzato possiamo essere in grado di formarci un'idea critica rispetto ai differenti test che ci vengono proposti in farmacia. Non solo, questi concetti ci consentono di seguire con maggiore consapevolezza i risultati dei molti studi che vengono pubblicati in relazione a questa complessa, ma fondamentale materia, come, per esempio, lo studio che riportiamo nel box che segue e dal quale emerge una sostanziale equivalenza tra i test che rilevano la S e quelli che cercano la N.

Anche attraverso il monitoraggio degli anticorpi si contrasta l'emergenza in corso e le farmacie potranno avere un ruolo sempre più determinante anche in questo settore.

Offrire al pubblico e al Ssn strumenti per un riconoscimento attendibile di chi ha già contratto la malattia e verificare l'effettivo perdurare della copertura anticorpale nelle persone guarite o vaccinate rappresentano armi importanti per monitorare lo sviluppo di questa pandemia e per confrontarci con sempre maggiore consapevolezza con un virus che è destinato a diventare endemico e convivere con noi ancora per molto, molto tempo.



Il mal di testa ti butta giù? SU LA TESTA con **okitask**[®]

PUÒ INIZIARE AD AGIRE DOPO
5 MINUTI



BUSTINE



COMPRESSE

È un medicinale a base di Ketoprofene Sale di Lisina che può avere effetti indesiderati anche gravi.
Leggere attentamente il foglio illustrativo. Cod IT-OKT-2000034. Aut Min 02.12.2020.

 **Dompé**

DALLO STUDIO "SEROLOGY IN COVID-19: Comparison of Two Methods - Int. J. Environ. Res. Public Health 2021, 18, 6497.

METODO

In totale, sono stati inclusi nello studio 127 pazienti esposti a SARS-CoV-2. Tra questi, 68 (53,54%) erano pazienti ricoverati presso il Dipartimento di Malattie Infettive e Neuroinfezioni dell'Università di Medicina di Białystok, in Polonia, e 59 (46,46%) erano operatori sanitari che erano stati esposti al virus ma non presentavano sintomi di infezione. Il gruppo di operatori sanitari era composto da personale che ha lavorato con i pazienti COVID-19 nel reparto di malattie infettive dall'inizio della pandemia. Erano in stretto contatto con pazienti SARS-CoV-2 positivi ma indossavano sempre DPI.

La diagnosi di infezione da SARS-CoV-2 è stata confermata dal test della trascrizione inversa-reazione a catena della polimerasi (RT-PCR).

Campioni di sangue per la diagnosi immunosierologica sono stati raccolti da tutti i pazienti nello studio un mese dopo l'esposizione.

Sono stati utilizzati e confrontati due test sierologici:

1) Il saggio immunologico con microparticelle chemiluminescenti IgG SARS-CoV-2 (CMIA) utilizzato per la rilevazione qualitativa di anticorpi IgG anti-proteina N contro SARS-CoV-2 nel plasma o siero umano.

2) La tecnologia a chemiluminescenza immunoassay (CLIA) per la determinazione quantitativa di anticorpi IgG anti-S1 e anti-S2 specifici per SARS-CoV-2

Il primo (CMIA) è un test immunologico automatizzato in due fasi. Gli anticorpi IgG anti SARS-CoV-2 presenti nel campione si legano alle microparticelle rivestite di antigene SARS-CoV-2. Il coniugato anti-IgG marcato con acridinio è stato aggiunto per creare una miscela di reazione, che è stata incubata.

La reazione chemiluminescente risultante è stata misurata come unità di luce relativa (RLU).

Esiste una relazione diretta tra il numero di anticorpi IgG anti SARS-CoV-2 nel campione e l'RLU rilevato dall'ottica del sistema. Questa relazione si riflette nell'indice calcolato (S/C). Un titolo superiore a 1,4 è stato considerato positivo.

Nella seconda tipologia di test (CLIA), gli antigeni specifici ricombinanti S1 e S2 sono stati utilizzati per rivestire le particelle magnetiche (fase solida) e gli anticorpi monoclonali di topo contro le IgG umane sono stati collegati a un derivato dell'isoluminolo (coniugato isoluminolo-anticorpo). Durante la prima incubazione, gli anticorpi IgG SARS-CoV-2 presenti in calibratori, campioni o controlli si legano alla fase solida attraverso

gli antigeni S1 e S2 ricombinanti.

Durante la seconda incubazione, l'anticorpo coniugato ha reagito con le IgG a SARS-CoV-2 già legato alla fase solida. Dopo ogni incubazione, il materiale non legato è stato rimosso con un ciclo di lavaggio. Successivamente sono stati aggiunti i reagenti starter ed è stata così indotta una reazione di chemiluminescenza flash. Il segnale luminoso, e quindi la quantità di coniugato isoluminolo-anticorpo, è stato misurato da un fotomoltiplicatore come unità di luce relativa (RLU) ed era indicativo della concentrazione da IgG a SARS-CoV-2 presente in calibratori, campioni o controlli. Un titolo superiore a 15 AU/mL è stato considerato positivo.

RISULTATI

La presenza o meno di anticorpi IgG anti-SARS-CoV-2 è stata confrontata con entrambi i metodi e per entrambe le proteine N e S e i risultati sono stati sovrapponibili per 123 pazienti su 127 (96,85%). I risultati differivano solo in 4 casi su 127. In due casi i risultati positivi al test basato su N sono risultati negativi nel test basato su S e in due casi è avvenuto il contrario.

In 56 pazienti su 127 (44,09%) sono stati rilevati anticorpi IgG anti-SARS-CoV-2; 55 di questi 56 pazienti (98,2%) erano sintomatici. Nessuno degli operatori sanitari è risultato positivo. Il titolo medio di anticorpi IgG anti-SARS-CoV-2 durante il rilevamento della proteina N era di $2,75 \pm 3,34$ (max: 9,75 S/C), mentre il titolo medio di anticorpi IgG anti-SARS-CoV-2 durante il rilevamento della proteina S era di $90,64 \pm 68,97$ (massimo: 330 AU/MI)

DISCUSSIONE

Sebbene i test basati su anticorpi contro la proteina N sembrano essere più sensibili di quelli basati su anticorpi anti-S, va sottolineato che i test basati su S sono più specifici a causa della minore probabilità di cross-reattività. Inoltre, la risposta immunitaria contro l'antigene S sembra apparire più precoce rispetto alla risposta verso l'antigene N.

Il nostro studio mostra l'utilità di entrambi i test, soprattutto a fini epidemiologici. Nella maggior parte dei pazienti sintomatici, l'infezione da SARS-CoV-2 porta all'immunizzazione contro entrambe le proteine; pertanto, è importante rilevare gli anticorpi con kit di alta qualità.

CONCLUSIONI

La valutazione degli anticorpi anti-SARS-CoV-2 nella medicina di popolazione basata sulla proteina spike o sulla proteina nucleocapside mostra un'utilità comparabile.