



FEDERCHIMICA
ASSOBIOTEC

Associazione nazionale per lo sviluppo
delle biotecnologie

LE IMPRESE BIOTECH E LA PANDEMIA DA SARS-COV-2

Analisi della risposta e aspetti da esaminare

A cura della Task Force Covid-19

Aggiornamento novembre 2021

INDICE GENERALE

PREMESSA.....	4
SCOPO DEL DOCUMENTO.....	5
DIAGNOSTICA PER COVID-19.....	8
I Test disponibili.....	9
Test molecolari di amplificazione per rilevare gli acidi nucleici (NAAT).....	9
RT-PCR Test.....	10
PCR Digitale	11
Amplificazione isoterma	11
Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Cas9 (CRISPR)	11
Test immunologici	12
Test sierologici	12
Test rapidi	14
Test CLIA/ECLIA ed ELISA.....	14
Test di neutralizzazione	16
Caratteristiche dei test	17
Limiti ed errori nelle procedure di acquisizione dei campioni	17
Accuratezza dei test rapidi	18
Definizione di standard globali e linee guida nazionali	18
Diagnosi di prossimità, Point of Care e ruolo della medicina di territorio	19
Sviluppo di sistemi di tracciamento e ruolo della medicina digitale.....	21
Ruolo dei biomarcatori nelle valutazioni di severità e prognosi della malattia	21
VACCINI PER COVID-19.....	23
Storia ed evoluzione dei vaccini Covid-19 ad oggi disponibili	25
Iter di sviluppo e di approvazione di un vaccino	26
Piattaforme di ricerca	28
Virus attenuato.....	30
Virus inattivato	30
Proteine ricombinanti.....	30
Vettori virali	30
Vettori ad acidi nucleici	31
Regolatorio	31
Tabella dei vaccini in fase di sviluppo o di sperimentazione avanzata (settembre 2021)	32
Valutazione della risposta anticorpale	37

Accordi con l'UE per la disponibilità di vaccini	39
Profilo di sicurezza dei vaccini impiegati in Italia	40
Strategie per la vaccinazione.....	41
A livello europeo.....	41
A livello nazionale.....	42
OPZIONI TERAPEUTICHE PER COVID-19	44
Farmaci antivirali	47
Remdesivir	47
Favipiravir	51
Lopinavir/Ritonavir e altri inibitori della proteasi di HIV.....	51
Cloroquina e Idrossicloroquina	52
Altri antivirali	53
Agenti anti coagulanti/antitrombotici/inibitori del complemento	53
Agenti immunomodulatori ed antinfiammatori.....	54
Desametasone	54
Inibitori di IL-6, e IL-6r	55
Terapie anticorpali.....	56
Siero iperimmune	57
Anticorpi monoclonali	58
Considerazioni	64
CONCLUSIONI	65
L'evoluzione delle terapie per il prossimo futuro	65
La prevenzione vaccinale.....	69
Azioni proposte.....	70
Spunti di riflessione - Richieste di policy	71

PREMESSA

Assobiotec, Associazione Nazionale di Federchimica per lo sviluppo e il sostegno dell'innovazione biotecnologica, rappresenta circa 130 imprese e parchi tecnologici e scientifici operanti in Italia nei diversi settori di applicazione del biotech: salute, agricoltura, ambiente e processi industriali. L'Associazione riunisce realtà diverse che trovano una forte coesione nella vocazione all'innovazione e nell'uso della tecnologia biotech: leva strategica di sviluppo in tutti i campi industriali e risposta sempre più concreta alle esigenze di salute pubblica.

Diagnostici, vaccini e biofarmaci, sono i tre ambiti di applicazione delle biotecnologie nel settore della salute; qui strumenti e tecnologie altamente innovative permettono di rispondere alle numerose e complesse sfide da affrontare nella prevenzione, diagnosi e cura delle malattie.

Tra queste sfide, la pandemia di COVID-19 è certamente la più ardua, ma anche quella alla quale il biotech sta dando una risposta straordinariamente rapida attraverso lo sviluppo di soluzioni innovative che si sono rese e si renderanno sempre più efficaci nel contrastarne diffusione e letalità.

Dalla realizzazione dei primi test molecolari e sierologici, già all'inizio dell'anno, ai programmi di *drug repurposing*, allo sviluppo di vaccini con piattaforme diverse, fino agli studi sugli anticorpi monoclonali, l'azione del biotech si è caratterizzata per chiarezza strategica, senso di urgenza e responsabilità.

Alla fine di maggio erano già stati avviati oltre 1.000 studi clinici con più di 150 trattamenti in sperimentazione. Pochi mesi dopo, si contavano 167 progetti su vaccini a livello globale, con 29 di questi già passati in sperimentazione clinica. Oltre il 70% di questi progetti condotti da aziende operanti proprio nel settore delle biotecnologie.

In un momento nel quale l'Italia, come molti altri Paesi, si trova ad affrontare una campagna vaccinale senza precedenti, il temuto rischio delle varianti e la necessità inalienabile di proseguire nel cammino di ottimizzazione delle strategie di prevenzione e di risposta all'infezione, Assobiotec vuole mettersi a servizio delle istituzioni e delle autorità sanitarie sostenendo, nell'ambito delle proprie competenze e conoscenze, le iniziative di *preparedness* e pianificazione per le quali le stesse sono già fortemente impegnate.

SCOPO DEL DOCUMENTO

Assobiotec ha voluto redigere un documento di aggiornamento relativo ai diversi progetti di ricerca e sviluppo che le aziende associate, operanti nel settore salute, hanno realizzato o stanno completando, con l'intento sia di rappresentare in modo organico quanto già disponibile allo stato attuale, che di offrire un'opportunità di *horizon scanning*, per una condivisione anticipata e diretta su quanto in corso.

Il documento non si limita a una ricognizione sullo stato dell'arte, ma descrive problematiche e aspetti ancora da esaminare, e con essi offre spunti di riflessione per contribuire a sostenere gli sforzi di pianificazione e risposta alla pandemia.

La numerosità senza precedenti di dati resi disponibili in una finestra temporale strettissima, l'ampiezza delle ricerche e delle continue evidenze prodotte, rende necessario uno sforzo di costante aggiornamento e organizzazione del sapere.

Assobiotec, ha ritenuto che un documento in grado di fornire una visione integrata e, laddove possibile, sinergica degli aspetti scientifici e dei temi ancora aperti relativi alla diagnostica, ai vaccini e alle terapie, possa facilitare l'individuazione di strumenti e modalità d'intervento sempre più efficaci, contribuendo così a rafforzare una risposta che, organizzata e informata, permetta la miglior gestione possibile della ripartenza, così come di tutti quegli aspetti complessi, spesso di nuova emersione, che la pandemia continua a porre.

Oggi, nonostante le diverse misure messe in atto per contenere l'impatto prodotto dalla pandemia sul sistema sanitario e sul sistema Paese, nuove 'fasi' vanno materializzandosi portando nuove sfide inattese.

Per affrontare queste ultime, differentemente dal passato, abbiamo ora l'opportunità di poter ricorrere a esperienze già maturate, a conoscenze scientifiche rafforzate, all'ottimizzazione e all'evoluzione dell'offerta diagnostica, alla concretezza della profilassi vaccinale e ai risultati offerti dalle nuove terapie.

Diversi sono, quindi, i temi e gli aspetti sui quali Assobiotec si offre per un dialogo ampio e collaborativo con le istituzioni della salute, tra questi:

- Il sostegno al continuo aggiornamento di linee guida nazionali sui contesti d'uso per i dispositivi diagnostici.
- L'ottimizzazione dei sistemi di tracciamento, integrando la diagnostica con la medicina digitale.

- Il vaglio delle possibili soluzioni per garantire una gestione in sicurezza del “back to school”, anche attraverso l’integrazione e la gestione logistica di soluzioni diverse (e.g. test antigenici rapidi, test antigenici ad alta automazione, test salivari, test molecolari, pool etc.)
- Il sostegno agli sforzi in tema di sequenziamento, nell’ambito delle iniziative nazionali di monitoraggio delle varianti.
- Il vaglio delle opportunità offerte dalla diagnosi di prossimità e, quindi, il ruolo del Point of Care nei presidi del territorio (e.g. Medicina Generale, Case della Salute, Farmacie).
- La valutazione della risposta immunitaria e della sua durata in soggetti vaccinati e con essa il monitoraggio della copertura e l’anagrafe vaccinale digitale.
- La valutazione della risposta anticorpale nei soggetti anziani, fragili e il ruolo della sierologia nella definizione dei criteri di priorità per la somministrazione della “terza dose”.
- Il ruolo della diagnostica nel contesto del Certificato Digitale EU Covid-19 (EUDC19C)
- L’accelerazione nelle approvazioni locali, così da supportare un rapido accesso per prevenzione e cure.
- La costante attenzione alle fasce prioritarie e alla programmazione sostenibile della campagna vaccinale, anche attraverso il confronto con la distribuzione e la logistica.
- L’individuazione di strategie di comunicazione per campagne volte a superare incertezze e dubbi sui vaccini.
- La gestione degli eventi avversi e con essi lo sviluppo coerente di piani di protezione.
- L’opportunità di considerare un percorso diagnostico-terapeutico unico e condiviso a livello nazionale, assicurando così uniformità di accesso alle cure in tutto il Paese anche attraverso il coinvolgimento della medicina territoriale, definendo ruoli e strumenti di quest’ultima affinché possa essere protagonista nella gestione pandemica e post.
- La prioritizzazione di interventi terapeutici pensando ai soggetti con comorbidità e alle categorie fragili, ma anche la valutazione di un possibile ribilanciamento tra cure ospedaliere ed extra-ospedaliere, territoriali e non specialistiche.
- La necessità di adottare un approccio universalistico per contrastare lo sviluppo di gruppi di popolazione ad alta prevalenza di infezione, possibile causa di continue recrudescenze dell’epidemia.
- La possibilità di sviluppare presidi terapeutici capaci di superare le problematiche legate alla variabilità virale e a potenziali forme mutate che possano sfuggire alla protezione vaccinale, alimentando nuovamente l’epidemia.

- L'identificazione di nuove formulazioni per i farmaci antivirali che ne consentano una gestione semplificata e precoce al di fuori delle strutture ospedaliere, anticipando l'evoluzione verso forme severe di malattia ed evitando l'eccessiva pressione sulle strutture sanitarie.
- La gestione della possibile complementarità di vaccinazione e somministrazione di anticorpi monoclonali nel contrastare la diffusione del virus e nel curare i soggetti infetti.
- La pianificazione di una fase di "coesistenza" con il virus, di durata difficilmente prevedibile, che guardi all'utilizzo sostenibile delle risorse terapeutiche disponibili, sia per COVID-19 che per tutte le altre condizioni di patologia.
- L'adozione, nelle fasi meno emergenziali della pandemia, di processi decisionali "evidence based" che confrontino diverse strategie di diagnosi, profilassi e cura del Covid-19 nelle sue varianti e che consentano di comparare gli approcci in base alle caratteristiche dei soggetti con un approccio "HTA" alimentato con fonti di dati recenti e il più possibile localizzate.

La complessità della fase attuale della pandemia è determinata dal perdurare di alcuni elementi di incertezza relativi a possibili scenari evolutivi e rischi futuri, dalla necessità di ponderare le aspettative rispetto alle soluzioni offerte, e non da ultimo, dal bisogno di non venir meno all'uso razionale e sostenibile delle risorse.

In uno scenario così articolato, caratterizzato ancora da timori ma anche da grandi aspettative, dove il sapere scientifico, la ricerca, la *discovery*, l'innovazione tecnologica e organizzativa hanno un ruolo estremamente importante, le aziende del settore delle biotecnologie possono offrire un contributo significativo nell'affrontare la stagione che abbiamo dinanzi.

La proposta, alla quale sottende il documento, è per Assobiotec quella di una condivisione continua e aggiornata sugli aspetti più attuali relativi allo sviluppo delle biotecnologie e del loro contesto d'uso nel contrastare la pandemia, ma anche quella di offrire un'opportunità per un confronto sempre più aperto tra l'agenda dell'innovazione e le priorità organizzative e gestionali della salute pubblica.

DIAGNOSTICA PER COVID-19

L'importanza della diagnostica di laboratorio e dello sviluppo di test diagnostici di alta qualità non è mai stata così evidente come nel corso della pandemia COVID-19. I test diagnostici si sono rivelati strumenti fondamentali nella gestione dell'emergenza sanitaria, e hanno ancora oggi un ruolo critico nel permettere di affrontare la crisi e nel pianificare la ripartenza¹.

I test diagnostici sono, infatti, stati impiegati, non solo ai fini della diagnosi per sé, ma anche e soprattutto per consentire che fosse possibile attuare strategie efficaci di contenimento della pandemia, come si sono rilevate le iniziative di *testing-tracking-tracing*².

I test diagnostici possono individuare, a seconda della tecnologia impiegata, diversi target molecolari come acidi nucleici e proteine ad attività antigenica, rilevando, quindi, direttamente la presenza del virus, oppure possono individuare gli anticorpi che l'ospite ha prodotto contro il virus e che ci raccontano la storia dell'infezione e dell'immunità acquisita.

Per altro, un'elevata variabilità nella performance di diversi test ha contribuito a fornire risultati alle volte dubbi, con il rischio di suggerire iniziative e interventi poco circostanziati³.

Si rende, quindi, necessario, nell'ottica di uno sforzo comune diretto a contrastare la pandemia, ripercorrere il tema dei test diagnostici, della loro performance e del loro funzionamento per meglio definirne la collocazione in un ambito di bisogni e strategie certamente in evoluzione.

Questa breve trattazione ha l'obiettivo di raccogliere e descrivere le soluzioni che sono state impiegate per la diagnosi dell'infezione da SARS-CoV-2, e allo stesso modo affrontare il tema di come le opzioni diagnostiche attuali e in sviluppo, possano trovare la loro più efficace collocazione rispetto agli obiettivi di: ricerche epidemiologiche, screening di popolazione, sia ambito ospedaliero, che decentralizzati *Point of Care*, valutazione dei livelli anticorpali per plasma terapeutico, supporto alla valutazione dei vaccini (una volta disponibili) e studi clinici.

La nuova sfida da cogliere è, difatti, quella di un sempre più aperto confronto tra l'agenda dell'innovazione tecnologica e le nuove priorità ed esigenze della salute pubblica.

¹ Weissleder, R., Lee, H., Ko, J. & Pittet, M. J. COVID-19 diagnostics in context. *Sci. Transl Med.* 12, eabc1931 (2020)

² European Commission. Current performance of COVID-19 test methods and devices and proposed performance criteria (16 April 2020). Brussels: EC; 2020. <https://ec.europa.eu/docsroom/documents/40805>

³ Maxmen. The researchers taking a gamble with antibody tests for coronavirus. *Nature* (2020), 10.1038/d41586-020-01163-5 published online April 21, 2020.

I Test disponibili

Dall'inizio della pandemia, sono stati commercializzati oltre 110 test molecolari e circa 300 test immunologici⁴. Tuttavia, il continuo susseguirsi di aggiornamenti e di nuovi sviluppi tecnologici, spesso non si è accompagnato al rilascio di indicazioni univoche su come meglio gestire un'offerta diagnostica così ampia e articolata.

Test molecolari di amplificazione per rilevare gli acidi nucleici (NAAT)

I test per rilevare gli acidi nucleici sono disegnati per individuare sequenze uniche dell'RNA virale di SARS-CoV-2, e ad oggi rappresentano il gold standard nella diagnosi di SARS-CoV-2⁵. Il genoma virale è stato sequenziato all'inizio della pandemia, permettendo lo sviluppo dei test per gli acidi nucleici. Da allora si è avuto un quadro sempre più chiaro relativamente a mutazioni ed evoluzioni dei diversi ceppi e oggi i reagenti per i NAAT sono sviluppati proprio in base a queste informazioni. I test NAAT consentono elevata sensibilità e specificità e, a seconda della piattaforma utilizzata, sono in grado di processare diversi campioni in tempi variabili.

I NAAT sono raccomandati per rilevare la presenza dell'RNA del virus in fase acuta, anche quando il paziente presenta sintomi lievi o aspecifici, possono indirizzare la scelta terapeutica o l'adozione di relative misure di isolamento.

Esistono in commercio test Molecolari NAAT che consentono la contemporanea e immediata rilevazione e discriminazione di SARS-CoV-2 e influenza A/B. Le infezioni da SARS-CoV-2 e da influenza, infatti, possono presentare sintomi analoghi. Sapere fin da subito quale infezione ha un paziente permette di ottimizzare il triage adottando anche trattamenti mirati.

Per stabilire se un paziente sia guarito, i test NAAT non sono sufficienti ma devono necessariamente essere coadiuvati da indicazioni cliniche.

La raccolta dei campioni e la loro conservazione sono fattori importanti nel determinare la performance del saggio. I campioni possono essere raccolti sia nelle vie aeree superiori (tampone nasale, nasofaringeo, orofaringeo) che in quelle inferiori (aspirati e lavaggi bronchiolo-alveolari)⁶. Anche la saliva è una matrice che può essere raccolta ai fini diagnostici, rivelandosi

⁴ Food and Drug Administration, 2020, Food and Drug Administration Emergency Use Authorization <https://www.fda.gov/emergency-preparedness-and-response/mcm-legal-regulatory-and-policy-framework/emergency-use-authorization#covidinvitrodev> (2020).

⁵ Guglielmi, G. Testing times. Nature 583, 506–509, 2020.

⁶ Center for Disease Control and Prevention. Interim Guidelines for Clinical Specimens for COVID-19 <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>

quest'ultima un'ottima soluzione non invasiva, che per altro può contribuire a rispondere alla problematica di nuove possibili carenze nelle forniture di tamponi.

RT-PCR Test

La trascrizione inversa e reazione a catena della polimerasi, è la metodologia NAATs che per prima è stata applicata per Covid-19, ed è quella maggiormente in uso con l'obiettivo di individuare i soggetti positivi. L'RNA virale può essere identificato nei soggetti asintomatici e nei sintomatici, raggiungendo il suo picco entro la settimana. La positività declina intorno alla terza settimana per poi scomparire. Questa tecnica, sfrutta l'enzima DNA polimerasi per innescare una "reazione a catena della polimerasi", da qui l'acronimo. Quest'ultima consente la moltiplicazione esponenziale di un target virale, ovvero una regione altamente conservata del genoma virale. La quantità di genoma virale amplificato è strettamente correlata dalla quantità di RNA virale presente nel campione clinico di partenza. Se il campione clinico ha una elevata carica virale si rileverà il prodotto amplificato durante i primi cicli di amplificazione mentre se il campione clinico è caratterizzato da una limitata carica virale si rileverà il prodotto amplificato nei cicli successivi.

Esistono diversi kit che, a seconda delle caratteristiche, possono dare risultati diversi, sia nei tempi di risposta che nella performance. La RT-PCR offre sia elevata accuratezza che elevato *throughput*.

Questo tipo di test è normalmente realizzato in laboratori centrali in considerazione della necessità di un equipaggiamento dedicato, personale formato e condizioni stringenti di controllo del rischio di contaminazione. Una logistica efficiente, per il trasferimento dei campioni, e la fornitura di reagenti sono fattori critici per questo tipo di test.

Passaggi chiave per assicurare performance ottimali dei test sono anche la corretta raccolta e la conservazione del campione nelle fasi pre-analitiche.

I virus, in particolare quelli a RNA come i coronavirus, evolvono costantemente attraverso mutazioni del loro genoma. Mutazioni del virus Sars-CoV-2 sono state osservate in tutto il mondo fin dall'inizio della pandemia. Mentre la maggior parte delle mutazioni non ha un impatto significativo, qualcuna può dare al virus alcune caratteristiche, come ad esempio un vantaggio selettivo rispetto alle altre attraverso una maggiore trasmissibilità, una maggiore patogenicità con forme più severe di malattia o la possibilità di aggirare l'immunità precedentemente acquisita da un individuo o per infezione naturale o per vaccinazione. In questi casi diventano motivo di preoccupazione, e devono essere monitorate con attenzione.

I test che si usano attualmente sono in grado di rilevare le varianti.

L'uso dei test molecolari basati su una combinazione di geni virali target che comprende il gene S, può essere di ausilio per lo screening della variante. Il Ministero della Salute raccomanda l'uso di test molecolari non esclusivamente basati sul gene S. Si può ricorrere ai test antigenici, ma per le eventuali conferme sono necessari i test antigenici non rapidi (di laboratorio) o quelli rapidi con lettura in fluorescenza (cioè letti con apposite apparecchiature), che garantiscano alta specificità e sensibilità.

Per potere distinguere se un'infezione è determinata da una variante, è necessario un test specifico altamente specialistico che è detto "sequenziamento", tramite il quale si determina la composizione esatta del genoma del virus. Il sequenziamento non è un'analisi a disposizione del pubblico, ma è un tipo di test che viene effettuato solo in centri specializzati per motivi di sanità pubblica.

PCR Digitale

Permette di eseguire una quantificazione assoluta degli acidi nucleici, e di misurare cariche virali molto basse. La metodologia può essere impiegata per seguire gli effetti della terapia antivirale. Più in generale, la possibilità di verifiche quantitative circa la presenza di molecole virali può dare risposte importanti sull'efficacia dei trattamenti antivirali disponibili.

Amplificazione isotermica

Utilizza DNA polimerasi specializzate, che si spostano attraverso una catena di DNA utilizzata come stampo. Questi test hanno una affidabilità paragonabile a quella della PCR e si eseguono singolarmente in tempi ridotti. Il test isotermico si realizza a temperatura costante e non prevedendo cicli di riscaldamento permette una semplificazione nel disegno del dispositivo diagnostico. L'amplificazione isotermica, al pari dei test in PCR, ha permesso lo sviluppo di Covid-19 NAATs in *Point of Care*.

Altre tecniche di Amplificazione isotermica sono il "Loop-Mediated" (LAMP), la Nicking Endonuclease Amplification reaction (NEAR) e la Recombinase Polymerase Amplification (RPA) e la Transcription-Mediated Amplification (TMA).

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Cas9 (CRISPR)

La tecnica di editing genomico CRISPR, acronimo per "Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Cas9" (sequenze geniche che si ripetono a intervalli regolari a cui sono associati dei geni Cas, che codificano enzimi capaci di tagliare il DNA) è conosciuta per la sua capacità di modificare il DNA, ma ne esistono applicazioni anche ambito diagnostico quali la DETECTR (DNA Endonuclease-Targeted CRISPR Trans Reporter).

CRISPR permette di identificare le infezioni di virus e batteri grazie all'utilizzo di diverse proteine enzimatiche quali Cas9, Cas12a, Cas13a Cas14. Nel test diagnostico, la proteina Cas individua uno specifico bersaglio (geni che codificano per le proteine E e N di SARS-COV-2), e, una volta trovato, rompe la "molecola-segnale" coniugata, dando un risultato positivo o negativo che si legge attraverso un rapido e visibile cambiamento di colore. Questa tecnologia ha notevoli implicazioni potenziali per il futuro della diagnostica, e si accompagna a discreti vantaggi rispetto ai metodi tradizionali, come ad esempio la velocità nell'esecuzione dei test e i costi ridotti, è tuttavia ancora in fase di sviluppo⁷.

Test immunologici

I test immunologici, individuano la presenza di specifici antigeni virali o anticorpi diretti contro il virus.

Mentre i test per rilevare gli acidi nucleici e i test immunologici antigenici sono particolarmente indicati per la diagnosi di infezione nelle fasi sintomatiche e iniziali, i test sugli anticorpi mettono in evidenza la risposta del sistema immunitario all'infezione, e non rilevano direttamente la presenza del virus nell'ospite. Possono dare indicazioni importanti su infezioni in corso o passate permettendo di comprenderne meglio le dinamiche di trasmissione⁸.

Antigeni e anticorpi sono più stabili dell'RNA e, quindi, meno soggetti a fenomeni di degradazione durante il trasporto e la conservazione.

Test sierologici

I test sierologici sono tipicamente test su campioni di sangue, plasma o siero e sono diretti all'individuazione di anticorpi prodotti dall'ospite. Esistono cinque tipologie di anticorpi prodotti dal sistema immunitario: IgM, IgG, IgA, IgD e IgE, tuttavia nelle diverse fasi dell'infezione virale le più considerate sono le IgM e le IgG.

Non sono disponibili a oggi evidenze conclusive in merito alla cinetica di comparsa delle varie classi di anticorpi (IgM, IgG e IgA) nelle infezioni da SARS-CoV-2, con discrepanze derivanti in parte dalle differenti metodologie utilizzate, in parte dalla variabilità individuale e, probabilmente, anche dall'epidemiologia locale delle infezioni determinate da diversi Coronavirus. Infatti, alcuni lavori scientifici, indicano la classica sequenza con la comparsa precoce delle IgM seguita da quella delle IgG, in altri casi viene riportato come la comparsa

⁷ Huang, Z. et al. Ultra-sensitive and high-throughput CRISPR-powered COVID-19 diagnosis. *Biosens. Bioelectron.* 164, 112316, 2020.

⁸ McAdam, A. J. Special issue on diagnostic testing for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 and lessons from this pandemic. *J. Clin. Microbiol.* 58, e01324-20, 2020.

delle IgG si sovrapponga o preceda quella delle IgM, mentre per le IgA le evidenze sono ancora limitate (AMCLI 2020).

Allo stato attuale delle conoscenze, la presenza degli anticorpi contro SARS-CoV-2 non può essere considerata come indice di immunità protettiva, ma prova di un avvenuto contatto certo con il virus (AMCLI 2020).

I test sierologici non sono indicati per la diagnosi di COVID-19 in fase acuta ma sono piuttosto da utilizzare ai fini di ampi screening di popolazione. Attraverso la rilevazione di anticorpi nella popolazione generale (siero prevalenza), con campionamenti randomizzati (indagini epidemiologiche), le autorità sanitarie possono stimare la prevalenza dell'infezione e le dinamiche della stessa⁹.

I test sierologici possono essere molto utili anche per una diagnosi confermativa in caso di soggetti sintomatici negativi alla PCR, per valutare la presenza di anticorpi nei soggetti donatori di plasma, oppure per caratterizzare la risposta immunitaria indotta da vaccino (una volta disponibile).

Lo sviluppo di test sierologici è fortemente dipendente dalla produzione di antigeni virali o proteine ricombinanti in grado di legare gli anticorpi. Tra le proteine virali S, E, M e N, le S e le N sono considerate quelle maggiormente immunogeniche con N e sub-unità S1 che meno si sovrappongono rispetto alle proteine di altri coronavirus¹⁰. In considerazione di questo, le proteine S1 e N sono considerate gli antigeni più adatti per test sierologici COVID-19.

Esistono tre tipologie di test sierologici: qualitativi, semi-quantitativi e quantitativi.

Nei test qualitativi si stabilisce solo se una persona ha sviluppato o meno degli anticorpi, secondo una logica positivo/negativo; nei test quantitativi vengono dosate le quantità di anticorpi.

Il NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control, UK) ha lanciato il 17 Dicembre 2020 il primo Standard Internazionale WHO per le immunoglobuline anti SARS-CoV-2¹¹ espressi in unità Binding Antibody Unit (BAU) per ml.

⁹ Loeffelholz, M. J. & Tang, Y. W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections - the state of the art. *Emerg. Microbes Infect.* 9, 747–756, 2020.

¹⁰ N.M.A. Okba, M.A. Müller, W. Li, C. Wang, C.H. GeurtsvanKessel, V.M. Corman, M.M. Lamers, R.S. Sikkema, E. de Bruin, F.D. Chandler, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific antibody responses in coronavirus disease patients *Emerg. Infect. Dis.*, 26, 2020, pp. 1478-1488.

¹¹ World Health Organization (2020). Establishment of the WHO International Standard and Reference Panel for anti-SARS-CoV-2 antibody. WHO/BS/2020.2403. Available at: <https://www.who.int/publications/m/item/WHO-BS-2020.2403> First WHO International Standard Anti-SARS-CoV-2 Immunoglobulin (Human). Available at: https://www.nibsc.org/products/brm_product_catalogue/detail_page.aspx?

La disponibilità di uno Standard Internazionale (IS) per gli anticorpi facilita la standardizzazione dei metodi sierologici SARS-CoV-2 e consente il confronto e l'armonizzazione dei set di dati tra laboratori.

Test rapidi

I Test Rapidi, a cassetta, sono test qualitativi. Identificano immediatamente gli anticorpi o l'antigene dell'ospite su di una membrana tipicamente di nitrocellulosa, sono semplici da eseguire, portatili e permettono una diagnosi di prossimità (*Point of Care*) in pochi minuti.

Possono utilizzare campioni di fluidi raccolti con tamponi nasali, saliva (per l'antigene) o sangue capillare raccolto con un pungidito (per anticorpi). Il campione è fatto cadere su di una superficie di caricamento, e quindi trasferito per capillarità verso una superficie assorbente. Durante questo spostamento (*Lateral-Flow*), l'analita (anticorpi o antigene) presente nel campione si lega a delle nano-particelle e il complesso così formato viene catturato in punti specifici della membrana. Il risultato è presentato in forma di linee colorate e permette una lettura a occhio nudo come nel caso dei test di gravidanza.

E' da considerare tuttavia che l'accuratezza di questi kit è variabile. La corsa ai test rapidi ha portato nel maggio 2020 più di cento aziende a sviluppare soluzioni rapide che richiedono comunque una validazione rigorosa ed una grande attenzione da parte delle autorità che ne autorizzano l'impiego.¹²

Test CLIA/ECLIA ed ELISA

I Test CLIA/ECLIA che utilizzano sistemi di rilevazione con chemiluminescenza e i Test ELISA immunoenzimatici, sono test quantitativi, semi-quantitativi o qualitativi con elevato grado di affidabilità¹³ e accuratezza. I test CLIA/ECLIA possono rilevare gli anticorpi o gli antigeni.

¹² Foundation for Innovative New Diagnostics. SARS-CoV-2 diagnostics: performance data <https://www.finddx.org/covid-19/dx-data>, 2020

¹³ Ci si riferisce all'affidabilità di un test descrivendone la sensibilità e la specificità. La sensibilità clinica di un test, è la sua capacità di identificare correttamente i soggetti malati: la sensibilità clinica, quindi, è la probabilità che un soggetto malato risulti effettivamente positivo al test. La sensibilità analitica è la capacità di un test di rilevare il patogeno che si sta cercando; un test è altamente sensibile quando anche piccole quantità di virus vengono rilevate. La specificità clinica di un test è la sua capacità di identificare correttamente i soggetti sani, che risulteranno quindi negativi al test. Nella pratica clinica è di interesse conoscere anche la probabilità di un test di dare la diagnosi corretta. Quest' informazione è data dal valore predittivo positivo (VPP), che corrisponde alla proporzione di soggetti con test positivo, che hanno effettivamente la malattia, quindi diagnosticati correttamente come malati, e dal valore predittivo negativo (VPN) che corrisponde alla proporzione di soggetti con test negativo, che non hanno la malattia e quindi diagnosticati correttamente come sani. Il valore predittivo, oltre a essere legato alla sensibilità e specificità e quindi alle caratteristiche intrinseche del test, dipende in maniera critica dalla prevalenza della condizione studiata (a differenza della sensibilità e della specificità che dipendono solo dalle proprietà del test). All'aumentare della prevalenza della condizione studiata il VPP del test aumenta, al contrario nel caso di una riduzione della prevalenza il

Entrambi richiedono uno specifico analizzatore in dotazione solo ai laboratori. L'analizzatore fornisce una soluzione completamente automatizzata, permettendo di processare un numero molto elevato di campioni (*High throughput*). Il metodo di rilevazione CLIA/ECLIA è più sensibile dell'ELISA classico, per cui generalmente i test CLIA/ECLIA sono maggiormente sensibili.

I test che rilevano gli anticorpi richiedono un prelievo di sangue venoso, mentre quelli che rilevano gli antigeni vengono eseguiti per mezzo di tamponi nasali, nasofaringei, oppure su campioni di saliva.

Questi ultimi identificano la presenza di proteine virali (antigeni), che possono essere individuati quando il virus è in fase di replicazione attiva, il che rende questi test altamente specifici. Con questi test si possono raggiungere anche buoni livelli di sensibilità laddove però sia possibile disporre di una concentrazione sufficiente di antigene nel campione. Secondo le linee guida WHO e CDC, i test rapidi antigenici sono indicati per identificare sospetti focolai di COVID-19 in comunità semi-chiuse in cui la NAAT non sia immediatamente disponibile (CDC 2020), (WHO 2020).

Il CDC raccomanda di confermare i risultati del test dell'antigene negativi con un test RT-PCR quando la probabilità di pre-test è relativamente alta, specialmente se il paziente è sintomatico o ha avuto un'esposizione nota a una persona di cui è stata confermata la diagnosi di infezione da SARS-CoV-2.

L'impiego di test antigenici rappresenta un'alternativa ai test diretti PCR durante la fase attiva dell'infezione, è un'opzione sicuramente meno costosa, può supportare le esigenze di monitoraggio e tracciamento, oltre a essere adattabile anche per alti livelli di automazione e throughput.

Seguendo le indicazioni pubblicate dal Centro Europeo per la Prevenzione e il Controllo delle Malattie (ECDC), il Ministero della Salute ha emesso diverse circolari per suggerire il corretto utilizzo dei test nella gestione della pandemia: circolare 705 del 08/01/2021 "Aggiornamento della definizione di caso COVID-19 e strategie di testing", e n. 5616 del 15/02/2021 "Aggiornamento sull'uso dei test antigenici e molecolari per la rilevazione di SARS-CoV-2" e l'ultima pubblicata del 18/05/2021 in cui si forniscono aggiornamenti sull'impiego dei test salivari per la diagnosi di infezione da SARS-CoV-2 riportando quanto segue:

VPP si riduce. Risulta importante, quindi, contare su test diagnostici molto affidabili (in termini di sensibilità e specificità) nelle aree in cui la prevalenza della malattia (numero di casi rilevati su popolazione osservata) è bassa.

“Per quanto attiene ai test antigenici, oltre ai test rapidi che sono tipicamente utilizzati come POCT, sono ora disponibili anche test antigenici da eseguire in laboratorio. Le caratteristiche di performance di tali test, basati su sistemi di rilevazione in chemiluminescenza, sono fondamentalmente sovrapponibili a quelle dei test antigenici cosiddetti di “terza generazione” (test in microfluidica con lettura in fluorescenza) e sembrano essere particolarmente indicati, tra l’altro, per la gestione di screening all’interno di strutture ospedaliere. Alcuni test antigenici di laboratorio sono validati anche sulla saliva, ed è in prospettiva la validazione su tampone nasale; pertanto, la facilità di prelievo li rende facilmente utilizzabili anche per lo screening di ampi numeri di campioni in contesti per i quali i tempi di ottenimento dei risultati sono compatibili con la processazione in laboratorio, come per le comunità scolastiche a basso rischio.

Si ribadisce comunque che, in caso di mancata pronta disponibilità di test molecolari, o in condizioni d’urgenza determinate dalla necessità di prendere decisioni di sanità pubblica in tempi rapidi, si può ricorrere per la conferma a test antigenici, quali appunto i test antigenici non rapidi (di laboratorio), i test antigenici rapidi con lettura in fluorescenza e quelli basati su microfluidica con lettura in fluorescenza, che rispondano alle caratteristiche di sensibilità e specificità minime sopra indicate (sensibilità $\geq 80\%$ e specificità $\geq 97\%$, con un requisito di sensibilità più stringente ($\geq 90\%$) in contesti a bassa incidenza)”.

Test di neutralizzazione

Il test di neutralizzazione è il *gold standard* per valutare se un soggetto ha anticorpi protettivi contro il virus.

In questo saggio si preparano diluizioni seriali di siero test o plasma, utilizzando una piastra a 96 pozzetti che viene poi posta in incubazione con quantità predefinite di virus. Il combinato viene poi inoculato su cellule sensibili e messo in coltura per due – tre giorni. I risultati del test sono valutati microscopicamente per determinare l’effetto citopatico prodotto dal virus.

In presenza di anticorpi neutralizzanti gli stessi impediranno al virus di replicare, permettendo, quindi, alle cellule di crescere.

Il titolo degli anticorpi neutralizzanti è rilevabile con il test di neutralizzazione a placche *Plaque reduction neutralization test PRNT*, il cui uso rimane limitato al campo della ricerca. Trattandosi di un test che si basa sull’infettività del virus, può essere eseguito solo in BSL3, e richiede personale esperto nella coltura del virus.

La concordanza con il *Plaque reduction neutralization test*, che fa parte dei test di neutralizzazione, è utilizzata per chiarire se un test sierologico di rilevazione di anticorpi ne identifica quelli effettivamente neutralizzanti.

Un'alternativa al PRNT è data dal test di pseudo-neutralizzazione come il VSV (virus della stomatite vescicolare) che richiede un livello di sicurezza biologica inferiore.

Caratteristiche dei test

Strategie di testing ampio della popolazione e misure di isolamento dei focolai hanno contribuito in alcune realtà a contenere la diffusione dell'infezione da SARS-CoV-2. L'esperienza e le conoscenze sviluppate durante la pandemia stanno comunque indirizzando verso nuove metodiche per la diagnosi e verso nuovi approcci rispetto alla sorveglianza, che diverranno particolarmente utili nel caso di una recrudescenza dell'infezione oppure di successive ondate¹⁴.

Per quanto attiene ai temi della diagnostica sono diversi gli aspetti da risolvere, per i quali suggeriamo alcune considerazioni, tra queste:

Limiti ed errori nelle procedure di acquisizione dei campioni

La maggior parte dei test molecolari ha sensibilità e specificità analitica intorno o maggiore al 95% in condizioni ideali e quando il test viene condotto da personale specializzato. Tuttavia, nella pratica clinica, la sensibilità può scendere notevolmente, fino al 60%-70%¹⁵ rendendo necessario dover ritestare il paziente sintomatico, con la perdita di un tempo clinico importante. La ragione più probabile che sottende alla differenza menzionata è la qualità e l'efficienza della procedura di campionamento, in particolar modo nel caso di tamponi nasofaringei dove la variabilità pre-analitica operatore dipendente è un aspetto da tenere in considerazione. A tale proposito si ricorda che in alcuni paesi si procede con il doppio campionamento nasofaringeo e sputo per aumentare l'accuratezza del test. Test su matrici più "semplici", come la saliva, permetterebbero di risolvere il tema dell'esecuzione di un tampone nasofaringeo, per il quale è richiesta comunque una manovra mini-invasiva, che permetta al tampone di entrare per almeno 7/9 centimetri fino al raggiungimento della parete posteriore della rinofaringe, questo per un prelievo selezionato e mirato del materiale che, in base alla fisiologia nasale, si è appunto raccolto in questa sede.

¹⁴ H.V. Fineberg. Ten weeks to crush the curve N. Engl. J. Med., 382, 2020.

¹⁵ N. Ali, R.C.P. Rampazzo, A.D.T. Costa, M.A. Krieger. Current nucleic acid extraction methods and their implications to point-of-care diagnostics. Biomed. Res. Int., 2017, p. 9306564.

Da più parti arriva anche la richiesta di valutare le caratteristiche del materiale con il quale sono realizzati i tamponi stessi. Esistono fondamentalmente due tipi di dispositivi di prelievo (scovolini), il primo denominato *flocked* in fibra di nylon e il secondo generalmente in fibra di rayon o dacron avvolta attorno a un supporto di plastica. Mentre il primo è ben tollerato dal paziente, il secondo lo è meno, fino al punto da poter rendere il prelievo sub-ottimale. In aggiunta, nel caso del dispositivo *flocked*, come dimostrato in molti studi di confronto, il rilascio del campione nel liquido di trasporto è molto più efficiente rispetto allo scovolino avvolto in rayon.

Accuratezza dei test rapidi

L'evoluzione e la gestione della pandemia, potrebbe richiedere un aumento dei test rapidi.

Se da una parte è evidente la necessità di ridurre i tempi di ottenimento dei risultati e di individuare eventuali focolai senza dover ricorrere a strutture complesse e training specifici, dall'altra è importante avere garanzia di affidabilità e precisione del risultato ottenuto.

Soggetti guariti, oppure soggetti che sono rimasti asintomatici possono dover ricorrere a questi test per poter permettere una decisione circostanziata relativamente al loro "rientro" in ambito lavorativo e/o nelle attività sociali in genere. Screening della popolazione generale possono, inoltre, dare alle autorità sanitarie chiare indicazioni sull'effettiva diffusione del contagio, oppure sulla risposta (anticorpale) della popolazione laddove si sia proceduto con una campagna vaccinale.

Il confronto tra diversi kit rapidi *Lateral-Flow* ci dice che alcuni performano meglio di altri, ciò potrebbe dipendere: dai reagenti utilizzati, da eventuali cross-correlazioni con altri coronavirus, da farmaci o dalla diversa dinamica dei markers considerati.

L'identificazione e la sintesi di antigeni virali immunogeni ad alta affinità rappresenta un passaggio critico nel migliorare l'affidabilità di questi test. Altrettanto importante è verificare quanto farmaci e funzionamento del sistema della coagulazione abbiano effetto sugli *outcome* dei test sierologici.

Per tutte queste ragioni una valutazione e un confronto dei test rapidi (sia anticorpali che antigenici) è opportuna per garantire il supporto adeguato al Servizio Sanitario Nazionale in epoca di pandemia.

Definizione di standard globali e linee guida nazionali

I test per COVID-19 sono approvati in base alla validità analitica che dimostrano, con sensibilità e specificità misurate su campioni di pazienti affetti da SARS-CoV-2 o che non

hanno mai contratto l'infezione (pre-pandemia). Tuttavia, diversi studi indipendenti ci restituiscono significative differenze e deviazioni in termini di performance. Questo evidenzia chiaramente come si renda sempre più necessario sviluppare degli standard di riferimento internazionali (e.g. pseudovirus, acidi nucleici virali, antigeni virali, anticorpi) per confronti e valutazioni tra test diversi. La mancanza di materiale di riferimento ben caratterizzato e univoco per nuovi organismi come SARS-CoV-2 è stata ed è una sfida ancora importante.

È anche necessario sostenere linee guida relative agli obiettivi che si vogliono raggiungere con un determinato test o attraverso l'utilizzo di opzioni diagnostiche diverse, per esempio, la diagnosi di infezioni acute in ambiente ospedaliero, in residenze sanitarie assistite e lungodegenze, nel monitoraggio di gruppi familiari e nelle survey di popolazione. Muovono in questa direzione le linee guida "Test di laboratorio per SARS-CoV-2 e loro uso in sanità pubblica", elaborate dall'Istituto Superiore di Sanità, e recentemente aggiornate.

Muoversi nella direzione di stabilire standard globali e linee guida nazionali, produrrebbe un beneficio sia in ambito clinico che in quello della ricerca, stimolando lo sviluppo di innovazione vera con immediate e positive ricadute sul percorso di accertamento diagnostico e sul *patient journey*.

Diagnosi di prossimità, Point of Care e ruolo della medicina di territorio

La diagnosi di prossimità, ovvero il "decentralizzare" i test diagnostici per il COVID-19, dal laboratorio a *Point of Care* vicini al paziente (*near to patient*), ha un ruolo potenzialmente trasformativo sia per il numero che per la frequenza dei test che si possono eseguire. Molti di questi test decentralizzati sono test molecolari basati su tecniche di PCR, mentre altri sono invece diretti all'identificazione di anticorpi su matrici diverse¹⁶. Esistono, quindi, differenti soluzioni, tutte potenzialmente in grado di permettere il raggiungimento dell'obiettivo.

Soluzioni *Point of Care* accurate e "scalabili", consentono una diagnosi al di fuori dell'ambiente di laboratorio con il potenziale di ridurre il tempo necessario per avere risultati, e permettono, quindi, al clinico di prendere decisioni critiche molto rapidamente. La diagnosi di prossimità può supportare agevolmente l'identificazione precoce dei soggetti positivi, e così indirizzare anche le decisioni relative all'isolamento e alle misure di contrasto all'infezione.

Come noto, il test di riferimento (*gold standard*) per una diagnosi diretta di infezione da SARS-CoV-2 è la PCR in *Real Time*, con test che garantiscono la massima sensibilità e specificità e che possono essere eseguiti su sistemi ampiamente automatizzati o semi-automatizzati ad

¹⁶ Dinnes J, A Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2020.

elevata produttività, con risultati disponibili in alcune ore. Tuttavia il tempo che intercorre tra raccolta dei campioni e la disponibilità dei risultati si attesta tra le ventiquattro e le settantadue ore, contando il tempo necessario al trasporto dei campioni presso un laboratorio specializzato.

I Test *Point of Care* basati sulla stessa metodologia di base, permettono di ridurre un certo numero di passaggi, e realizzati in prossimità e non in laboratorio, possono fornire risultati in tempi decisamente più brevi.

Alcuni dispositivi (molecolari e antigeni) sono più adatti a individuare nuovi casi d'infezione mentre altri, gli anticorpali, potrebbero avere uno spazio non solo nel descrivere una precedente infezione, ma anche nell'indicare un'avvenuta risposta immunitaria indotta da vaccino.

I test *Point of Care* avrebbero, inoltre, un ruolo molto importante nell'accelerare le verifiche su operatori sanitari e altri lavoratori in *front-line* per stabilirne, nel caso di una precedente infezione, l'avvenuta guarigione. Non di meno questi test permetterebbero di accelerare le procedure che sottendono alle decisioni in materia di contenimento quali *lockdown* o misure di distanziamento sociale¹⁷.

Per i test *Point of Care* sono preferibili quelli in grado di fornire indicazioni semi-quantitative, accettando comunque che in un "setting clinico" la performance sia inferiore rispetto a quella ottenibile in un laboratorio controllato.

Per tutti i test, sono tuttavia da considerare diversi aspetti che possono incidere sulla performance, tra questi quelli che riguardano la pre-analitica, quali la qualità e la quantità di campione raccolto, il momento del campionamento rispetto al decorso della malattia, la manipolazione e la conservazione del campione prima dell'analisi.

Nel caso di screening ampi di popolazione una "perdita" in performance ha effetti e conseguenze sempre da considerare sia che il test ci abbia rilasciato false rassicurazioni su soggetti effettivamente malati o ci abbia reso una sovra-diagnosi positiva in soggetti sani. Non abbiamo, per altro, indicazioni definitive circa gli aspetti psicologici e comportamentali che derivano dalla consapevolezza del proprio stato immunitario in un contesto quale quello della pandemia COVID-19.

Nella diagnosi di prossimità è da considerare fondamentale anche il ruolo della medicina generale e della pediatria di libera scelta (medicina del territorio), che dotata delle risorse

¹⁷ Tugba, K. Molecular and Immunological Diagnostic Tests of COVID-19: Current Status and Challenges
<https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101406>

umane e tecnologiche necessarie, potrebbe gestire strumenti afferenti ad una diagnostica di prima linea. Allo stesso modo, sempre a fronte delle necessarie dotazioni umane e tecnologiche una diagnosi decentralizzata potrebbe realizzarsi presso strutture residenziali destinate ad accogliere persone anziane non autosufficienti o pazienti cronici. Tutti questi ultimi aspetti implicano il ricorso a risorse per un progetto che non sia solo di “dotazione tecnologica”, ma anche organizzativo, sulla formazione, sulla digitalizzazione e la condivisione rapida delle informazioni attraverso una rete che agisca anche in base a obiettivi di telemedicina.

Elevati livelli di decentralizzazione, hanno inoltre il chiaro vantaggio di contenere la diffusione dell’infezione, limitando gli accessi non necessari e gli spostamenti verso le strutture ospedaliere. Non di meno, permettono di ridurre il carico sul personale ospedaliero in presenza di condizioni che polarizzino gli sforzi del SSN come nel caso di pandemie.

Sviluppo di sistemi di tracciamento e ruolo della medicina digitale

L’infezione da SARS-CoV-2 è un’infezione altamente dinamica con titoli virali e livelli anticorpali che evolvono nel tempo sia in soggetti sintomatici che asintomatici. Un approccio sistematico, “seriale” ai test, si rende necessario per identificare anticipatamente quei pazienti a rischio di complicazioni, così come per confermare l’avvenuta guarigione. I dati che stiamo raccogliendo contribuiranno sempre meglio a comprendere anche la durata della protezione anticorpale e a settare quei *cut-off* che servono a qualificare la validità della risposta anticorpale stessa. La connessione di test Point of Care multipli, per mezzo di “reti digitali” può certamente aiutare in questa direzione. Presso i Point of Care il risultato di un test potrebbe essere *uploaded* per una tracciatura e un feedback in telemedicina. Servizi digitali in banda larga permetterebbero anche alle autorità sanitarie di raccogliere dati di popolazione *downstream* per monitorare la trasmissione dell’infezione in tempo reale^{18, 19}.

Ruolo dei biomarcatori nelle valutazioni di severità e prognosi della malattia

Al fine di gestire in modo efficace ed efficiente i soggetti sintomatici, molti gruppi di ricerca hanno avviato studi per indentificare marcatori in gradi di definire severità e possibile prognosi della malattia. L’obiettivo clinico sarebbe quello di stratificare i pazienti, all’esordio della malattia, in 3 gruppi principali:

- Pazienti critici che richiedono ospedalizzazione, ventilazione ed eventuale accesso nelle unità di terapia intensiva.

¹⁸ Scott, B. K. et al. Advanced digital health technologies for COVID-19 and future emergencies. *Telemed. J. E Health* <https://doi.org/10.1089/tmj.2020.0140>, 2020.

¹⁹ Vandenberg, O et al. Considerations for diagnostic COVID-19 tests. *Nature Reviews Microbiology*, 2020.

- Pazienti con decorso grave, alcuni dei quali richiedenti ospedalizzazione.
- Pazienti con decorso lieve/moderato che possono essere gestiti a domicilio.

L'esito combinato di studi fisiopatologici e di associazione ha portato all'identificazione di un nutrito numero di marcatori prognostici. Tra questi: la proteina C-reattiva, IL-2,6,8,10, siero amiloide A, interleuchina-6, lattato deidrogenasi, rapporto neutrofili-linfociti, D-dimero, troponina cardiaca, calprotectina sierica, ferritina, 25 OH Vitamina D, renina, linfociti e conta piastrinica. Di questi, la quasi totalità ha mostrato livelli significativamente più alti nei pazienti con gravi complicanze dell'infezione da COVID-19 rispetto alle loro controparti non gravi. Contrariamente Renina e Vitamina D si caratterizzano per livelli significativamente più bassi nei pazienti gravi così come i linfociti e la conta piastrinica.

I lavori fino a oggi prodotti suggeriscono, quindi, come numerose siano le evidenze che biomarcatori diversi possano modificarsi in base alla gravità dell'infezione da COVID-19. Queste osservazioni potrebbero essere consolidate nella creazione di pannelli di biomarcatori che potrebbero essere provati con coorti di sieri/plasmi da pazienti di cui siano disponibili le cartelle cliniche, preferibilmente in formato elettronico. Misurando i biomarcatori si potrebbero quindi definire algoritmi clinici in grado di stratificare, con crescente precisione i pazienti assicurando agli stessi il percorso clinico più adeguato.

In caso di risultato positivo del test COVID-19, l'implementazione di routine di ulteriori test per valutare i fattori di rischio cardiaco e respiratorio, che potrebbero definire la potenziale gravità della progressione del COVID-19, sarà di alto valore medico per la gestione e il trattamento del paziente decisioni. Dato il rapido accumulo di elevati volumi di dati clinici, sarà necessario sviluppare approcci di intelligenza artificiale (AI) e apprendimento automatico che integrino i dati clinici e di laboratorio²⁰.

²⁰ [WHO.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance-publications?](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance-publications?)

VACCINI PER COVID-19

Dopo anni nei quali la discussione sul frutto della ricerca in ambito biomedico è stata orientata a una necessità, non sempre razionale, di frenarne e regolarne l'accesso a favore della sostenibilità economica, l'emergenza che stiamo vivendo con la pandemia COVID-19 ha completamente ribaltato questo schema.

Da diversi mesi i media hanno affrontato temi legati alla salute, alla ricerca, alla scienza in generale e la società ha potuto rendersi conto degli sforzi legati allo sviluppo di trattamenti profilattici e terapeutici e di strumenti diagnostici, non essendo però del tutto preparata a capirne rischi e opportunità.

Questo documento fornisce a esperti e *policy makers* in modo sintetico e bilanciato la sintesi dell'avanzamento della ricerca biomedica in ambito COVID-19, e include - seppur in modo semplificato - elementi utili in termini di *Horizon Scanning* e policy brief sulle quattro categorie di tecnologie:

- Diagnostica
- Vaccini
- Anticorpi per la profilassi
- Terapie per la cura

Per ciascuna di esse si affronteranno in modo sistematico i seguenti temi:

- Disponibilità nei 12-24 mesi
- Impatto clinico, economico e organizzativo
- Aspetti critici nell'utilizzo o gap di conoscenza

Il 15 ottobre scorso la Commissione Europea ha inviato al Parlamento un testo nel quale esortava i paesi a considerare, oltre alle iniziative di sanità pubblica, anche quelle farmacologiche.

In particolare, raccomandava di predisporre per tempo le strategie di vaccinazione COVID-19 e le modalità per la rapida ed equa diffusione del vaccino^{21, 22}.

²¹ Communication from the Commission to the European Parliament and the Council. Preparedness for COVID-19 vaccination strategies and vaccine deployment. October 15, 2020. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/vaccination/docs/2020_strategies_deployment_en.pdf

²² Strategia sui vaccini contro il coronavirus. https://ec.europa.eu/info/live-work-travel-eu/health/coronavirus-response/public-health/coronavirus-vaccines-strategy_it.

L'industria condivide l'impegno a rendere la sicurezza e il benessere delle persone vaccinate la priorità numero uno, e ad assicurare un accesso equo e sostenibile ai vaccini che saranno autorizzati in Europa e nel mondo. Avere un approccio coordinato delle risposte nazionali alla pandemia con una strategia comune per la diffusione dei vaccini contribuirà in modo significativo a instillare la fiducia in questi trattamenti e a semplificare il raggiungimento di adeguati livelli di copertura. Si prospetta che, nonostante gli enormi sforzi delle parti interessate, la disponibilità di vaccini non sarà mai sufficiente sin dall'inizio a soddisfare il bisogno di salute pubblica globale. Inoltre, anche lo sforzo organizzativo necessario per procedere a una vaccinazione universale in un momento critico, cioè durante una pandemia, non deve essere sottovalutato. La stessa Commissione Europea ha definito nel suo documento sulle strategie di vaccinazione alcune considerazioni sui gruppi prioritari per le fasi iniziali della diffusione dei vaccini.

Come è stato ben illustrato nel lavoro di Lurie e colleghi²³, le tempistiche così rapide con le quali i vaccini COVID-19 sono e potranno essere disponibili non è frutto di processi che “tagliano gli angoli” compromettendo la qualità, efficacia e sicurezza, ma invece di nuovi modelli di ricerca che hanno, dopo le precedenti pandemie o rischi di pandemie, portato a costruire piattaforme di ricerca per il rapido sviluppo di candidati vaccini fino alla fase di test clinici. Allo stesso modo, sono state introdotte modalità “parallele” di investimento nelle fasi di produzione e convergenza in ambito regolatorio in modo tale da non rischiare, come fu nel caso di H1N1, di completare il processo di sviluppo a pandemia terminata.

Analoghi processi di semplificazione sono stati anche introdotti dalle autorità per l'etichettatura e la flessibilità degli imballaggi che faciliteranno la produzione di vaccini COVID-19 che contribuiscono e contribuiranno a evitare potenziali ritardi nella fornitura. Attraverso le raccomandazioni della Commissione Europea si intende garantire che i servizi di vaccinazione possano fornire e distribuire vaccini in modo ordinato, comprese considerazioni sul trasporto e punti di vaccinazione sufficienti, economici e accessibili.

L'impatto di COVID-19 è purtroppo evidente anche per la prevenzione e cura di altre malattie, è perciò importante sottolineare nuovamente l'importanza di ridurre al minimo l'impatto sui programmi di vaccinazione esistenti durante la distribuzione della vaccinazione COVID-19.

Magdalena De Azero, Direttore Esecutivo di Vaccines Europe, ha affermato "abbiamo una responsabilità collettiva e abbiamo bisogno di un'azione altamente coordinata e collaborativa da parte delle parti interessate pubbliche e private allo stesso modo per porre fine alla

²³ Lurie N, et al.; Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed. NEJM 2020. Doi: 10.1056/NEJMp2005630. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMp2005630>.

pandemia COVID-19 e al suo impatto su individui, società ed economia. I membri di Vaccines Europe si impegnano a continuare a lavorare con le istituzioni dell'UE e gli Stati membri per adempiere a questa missione".

In una fase nella quale i Paesi stanno cercando di limitare al massimo le inevitabili misure di confinamento, è chiaro che i nuovi vaccini rappresentano la nostra migliore speranza di uscire dall'ombra della pandemia da coronavirus. L'industria farmaceutica ha lavorato e sta lavorando a velocità senza precedenti, per sviluppare vaccini sicuri ed efficaci contro COVID-19. Allo scopo di accelerare la scoperta e lo sviluppo di vaccini e, parallelamente, di rendere possibile la disponibilità in tempi rapidi, sono state messe velocemente in atto diverse collaborazioni pubblico-privato in tutto il mondo. Secondo l'Organizzazione Mondiale Della Sanità (OMS)²⁴, ci sono più di 150 vaccini candidati nella valutazione preclinica e 45 nella valutazione clinica.

Anche in Italia sono stati costruiti modelli di collaborazione tra pubblico e privato, come Astrazeneca, IRBM e Catalent per il vaccino Vaxzevria (AstraZeneca); Reithera, Ospedale Lazzaro Spallanzani e CRC Verona per un vaccino a vettore adenovirale (GRAd-Cov2) entrato in sperimentazione clinica di fase 1²⁵; e Takis-Rottapharm e Università Milano Bicocca²⁶ per la sperimentazione di un vaccino a DNA, ancora in fase pre-clinica.

Storia ed evoluzione dei vaccini Covid-19 ad oggi disponibili

Dei numerosi vaccini studiati ed in via di sviluppo, soltanto i seguenti hanno riportato alti livelli di efficacia nelle analisi di fase 3:

- Vaxzevria (AZD1222, anche conosciuto come ChAdOx1) (Astrazeneca) ha riportato una efficacia dell'82% nella prevenzione di casi sintomatici di COVID-19, adottando un intervallo di 12 settimane tra la prima e la seconda dose²⁷
- BNT162b2 (Cominarty, Pfizer/BioNTech) ha riportato un'efficacia di oltre il 90%²⁸
- mRNA-1273 (Moderna) ha riportato un'efficacia del 94.5%²⁹

²⁴ OMS, Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines.

<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>

²⁵ ReiThera's COVID-19 Vaccine Candidate Enters Phase 1 Clinical Study <https://www.reithera.com/2020/08/24/reitheras-covid-19-vaccine-candidate-enters-phase-1-clinical-study-with-first-healthy-volunteer-dosed-in-italy/>

²⁶ L'Ospedale San Gerardo di Monza e l'Università di Milano-Bicocca si preparano a sperimentare il vaccino italiano di Takis e Rottapharm <https://www.unimib.it/comunicati/lospedale-san-gerardo-monza-e-luniversita-milano-bicocca-si-preparano-sperimentare-vaccino-italiano>

²⁷ Voysey M et al. Lancet 2021; 397: 881–91

²⁸ Pfizer And Biontech Announce Vaccine Candidate Against Covid-19 Achieved Success In First Interim Analysis From Phase 3 Study. <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-and-biontech-announce-vaccine-candidate-against>

– J&J (Janssen) ha riportato un'efficacia del 75% dopo una dose e del 94% dopo un richiamo a due mesi ³⁰

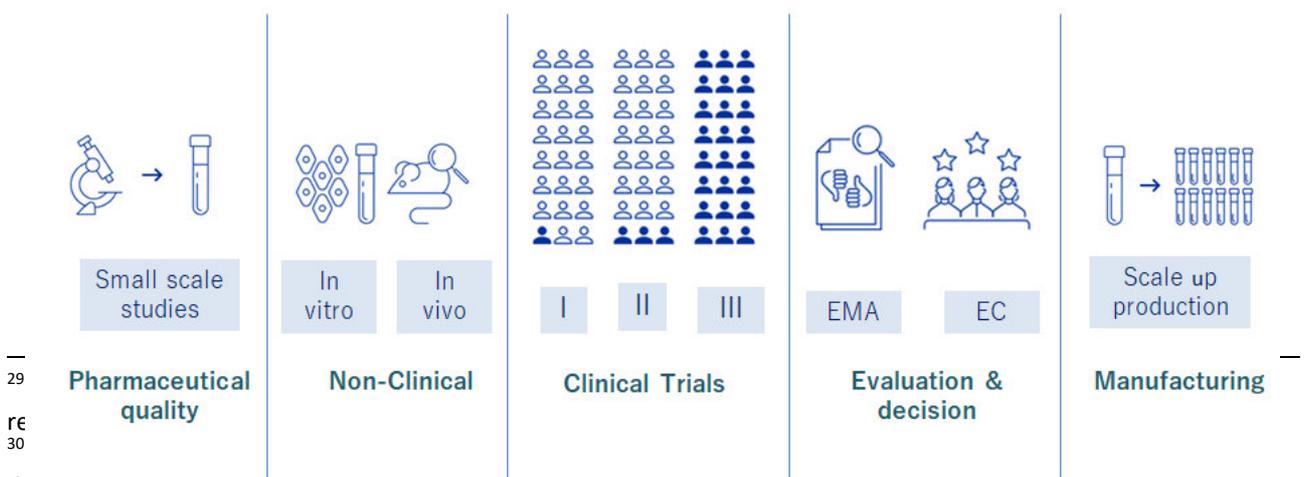
Conseguentemente, in Europa, è stata sottomessa agli enti regolatori l'applicazione per autorizzazione all'uso e sono stati autorizzati da EMA mediante una procedura di registrazione semplificata (rolling review) i seguenti vaccini (Tabella 2).

Vaccine	Vaccine developer	Start of rolling review	Authorization EMA
BNT162b2	BioNTech, in collaboration with Pfizer	06/10/2020	21/12/2020
mRNA-1273	Moderna Biotech Spain	16/11/2020	6/01/2021
ChAdOx1-SARS-CoV-2	AstraZeneca, in collaboration with the University of Oxford	01/10/2020	29/01/2021
Ad26.COV2.S	Janssen-Cilag International	01/12/2020	11/03/2021

Tabella 2. Vaccini in rolling review in Europa³¹.

Iter di sviluppo e di approvazione di un vaccino

Anche i vaccini, come tutti i farmaci, vedono il percorso di sviluppo attraverso delle fasi di ricerca e sviluppo, altamente regolamentate (**Figura 1 - Sviluppo di un vaccino e percorso di**



³¹ Treatments and vaccines for COVID-19 <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines-covid-19>

approvazione. Fonte: EMA³²).

Inizialmente la ricerca ha inizio con la valutazione in vitro delle componenti dell'agente che andrà a costituire la componente attiva del vaccino. Una volta definito questo aspetto ha inizio la cosiddetta fase preclinica in cui viene testata la risposta immunitaria e/o i meccanismi avversi su organismi viventi complessi non umani.

Superata questa fase, ha inizio la vera e propria sperimentazione clinica sull'uomo, che normalmente inizia dopo circa 2-5 anni dalle iniziali ricerche sulla risposta immunitaria, cui seguono altri 2 anni di prove pre-cliniche che coinvolgono la sperimentazione animale. La sperimentazione clinica si realizza in 3 fasi, in base al modello sperimentale adottato, la quantità di componente somministrata e la numerosità del campione di popolazione coinvolta:

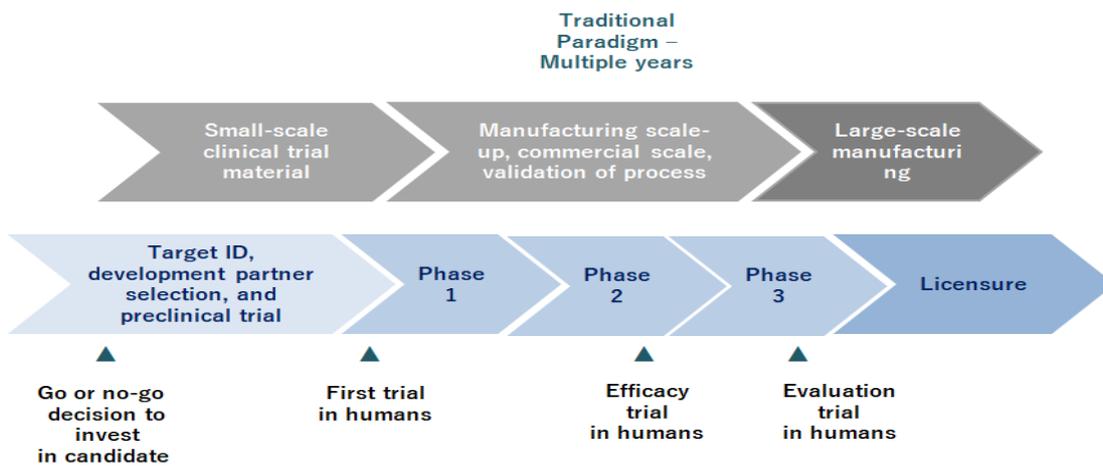
- **Fase I:** prima somministrazione del vaccino sull'uomo per valutare la tollerabilità e la sicurezza del prodotto (il numero dei soggetti coinvolti è molto ridotto).
- **Fase II:** se la fase I ha mostrato risultati positivi, il vaccino viene somministrato a un numero maggiore di soggetti (sempre esiguo) per valutare la risposta immunitaria prodotta, la tollerabilità, la sicurezza e definire le dosi e i protocolli di somministrazione più adeguati.
- **Fase III:** se la fase II ha mostrato risultati soddisfacenti, il vaccino viene somministrato a un numero elevato di persone allo scopo di valutare la reale funzione preventiva del vaccino.
- **Fasi combinate/unite:** un modo per accelerare lo sviluppo dei vaccini è di unire le fasi dei trial. Alcuni vaccini per il coronavirus sono adesso in fase 1/2, per esempio, nelle quali sono testate su migliaia di persone.

Se tutte le fasi hanno dato esito positivo, il vaccino viene registrato e si procede alla produzione e distribuzione su larga scala. Al momento della registrazione il numero dei soggetti esposti alla vaccinazione è variabile, con una media di decine di migliaia. La farmacovigilanza è un elemento importante anche nei vaccini, in quanto si trattano soggetti sani. Tutti i casi nei quali i soggetti presentano un evento avverso, vengono registrati e analizzati a livello globale e segnalati alle autorità competenti che, in modo indipendente, monitorano attraverso le segnalazioni da parte di soggetti e operatori sanitari il numero, la localizzazione, la tipologia e l'esito di tutti i possibili eventi avversi.

³² COVID-19 vaccines: development, evaluation, approval and monitoring. <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/covid-19-vaccines-development-evaluation-approval-monitoring>

Piattaforme di ricerca

La risposta della comunità scientifica e industriale alla pandemia COVID-19 è stata rapida e coesa. Storicamente, lo sviluppo di un vaccino ha richiesto anni, se non decenni. Nel 2020, invece, abbiamo assistito a un'accelerazione senza precedenti del numero di collaborazioni scientifiche, di disponibilità di fondi, e di implementazioni tecnologiche e organizzative, che hanno portato alla creazione di candidati vaccini già in sperimentazione clinica di fase 3 nell'arco di appena 6 mesi. Questo è stato possibile grazie a un radicale cambiamento dell'approccio di sviluppo di vaccini, come descritto in **Figura 2**.



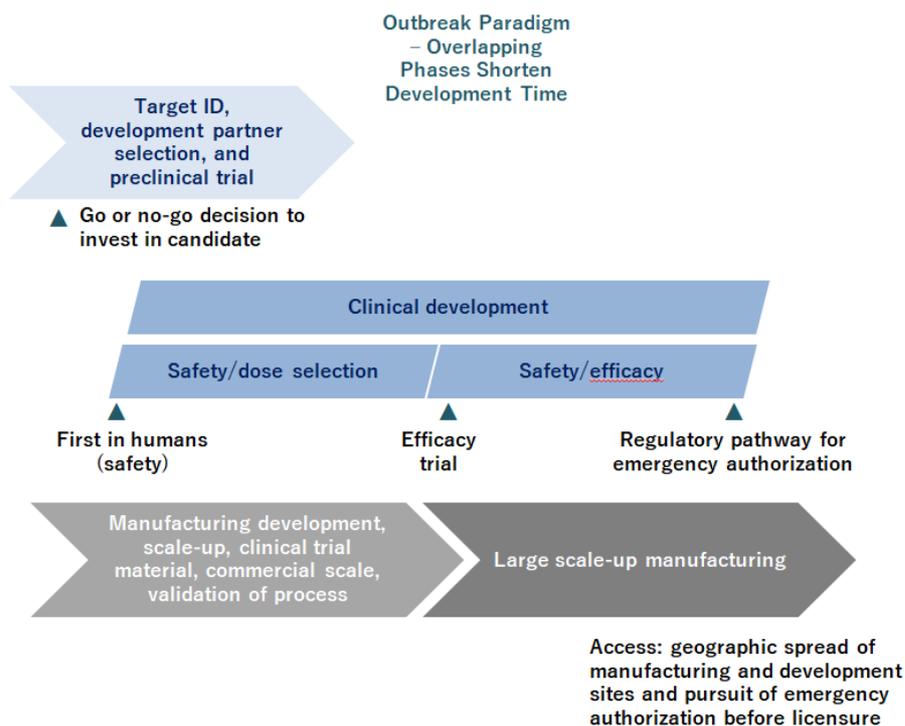


Figura 2. Differenza tra percorso di sviluppo tradizionale e approccio accelerato per lo sviluppo di vaccini in corso di pandemia³³.

Questo approccio accelerato di sviluppo di un vaccino Covid prevede l'uso di conoscenze derivate dallo studio di altri coronavirus, SARS e MERS, per determinare il candidato ottimale, il lancio di fasi diverse di studi clinici in parallelo e la disponibilità economica per produzioni su larga scala a rischio. Per quest'ultimo, ingenti fondi privati e pubblici sono stati riversati nello sviluppi di vaccini COVID-19.

È importante sottolineare che questo modello di sviluppo comporta un alto rischio finanziario ma non compromette la qualità e la sicurezza dei vaccini, in quanto si chiede di rispettare le procedure di valutazione del rischio per la salute durante gli studi clinici.

COVID-19 è una nuova patologia virale, che stiamo iniziando a conoscere durante la pandemia. Innumerevoli studi stanno accumulando informazione sul virus SARS-CoV-2 e sull'immunologia dell'infezione. Sappiamo che la maggior parte dei pazienti guariti da COVID-19 sviluppano anticorpi contro il virus e cellule immunitarie reattive, ma non sappiamo quali siano i parametri immunologici che correlano con la protezione dall'infezione virale né la durata di questa protezione. Queste incognite giustificano lo spiegamento di diversi approcci

³³ Adattamento da Lurie N, et al.; Developing Covid-19 Vaccines at Pandemic Speed. NEJM 2020.
Doi: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMp2005630>

tecnologici per sviluppare vaccini contro COVID-19. Questa diversificazione è essenziale perché non è possibile predire ancora quale vaccino sia più efficace.

Sono in corso di valutazione diverse piattaforme tecnologiche, tra cui acido nucleico (DNA e RNA), particelle simili a virus, peptidi, vettori virali (replicanti e non replicanti), proteine ricombinanti, virus vivi attenuati e virus inattivati³⁴.

Virus attenuato

Il metodo più antico di fare vaccini, consiste nella modifica genetica del virus per indurre una forma lieve della patologia, che comunque garantisce una forte risposta immunitaria. Un vantaggio importante di questi vaccini è che possono essere usati per via orale (esempio, vaccino polio Sabin) per indurre una forte risposta immunitaria mucosale. Il progetto di Serum Institute of India rientra in questa categoria.

Virus inattivato

Questo approccio consiste nell'inattivazione chimica del virus. È un approccio tradizionale, che induce una risposta immunitaria meno robusta dei vaccini attenuati, ma che ne semplifica la manipolazione e ne garantisce l'uso in soggetti immunocompromessi. Rientrano in questa categoria i vaccini Sinovac, Sinopharm e Whuan Institute of Biological Products, tutti in fase 3.

Proteine ricombinanti

Questi vaccini sfruttano la produzione di porzioni del virus ritenute essere essenziali per la risposta immunitaria, evitando l'uso dell'intero virus. Molti candidati vaccini COVID-19 sfruttano questo approccio, per la produzione ricombinante del recettore virale Spike o della sola porzione dello stesso che media l'attacco alle cellule del sistema respiratorio umano (chiamato dominio RBD). Inoltre, particelle simili a virus (virus-like particles o VLPs) o nanoparticelle, così come l'uso di adiuvanti, possono essere sfruttate per aumentare l'efficacia del vaccino. In particolare, i più avanzati sono Novavax (con adiuvante Matrix M), Clover Biopharmaceuticals/Dynavax, Sanofi/GSK (con adiuvante AS03), University of Queensland (adiuvante MF59), Chinese Academy of Sciences.

Vettori virali

Un virus innocuo per l'uomo è geneticamente ingegnerizzato per produrre proteine SARS-CoV-2, presentandole al sistema immunitario in una forma più simile alla vera infezione rispetto alle singole componenti purificate. I vettori virali possono essere replicanti o non replicanti in base alla capacità del vettore di propagarsi dopo inoculo, e in questa categoria rientrano oltre 30

³⁴ Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. Nature 2020. <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2798-3>.

vaccini in sviluppo. Quelli che sfruttano vettori non replicanti più avanzati in sperimentazione clinica sono CanSinoBIO (vettore Ad5, approvato per uso limitato), Gamaleya Reserch Institute (vettori Ad5/Ad26, approvato per uso limitato) e Johnson&Johnson (vettore Ad26, in fase 3). In questa categoria ricordiamo i progetti Oxford University ChAdOx1 in collaborazione con ADVENT-IRBM/AstraZeneca per il vaccino Vaxzevria, già autorizzato con Conditional Marketing Authorization in Europa e utilizzato su larga scala in Italia e in tutto il mondo, per il quale tuttora proseguono diversi studi clinici in fase 3, e il candidato a vettore adenovirale di ReiThera/IRCCS Spallanzani, da poco in fase 1. Vettori replicanti, pensati per indurre una risposta immunitaria più robusta, sono invece sfruttati nei vaccini Beijing Wantai Biological Pharmacy e Merck/Institut Pasteur, entrambi in fase 1.

Vettori ad acidi nucleici

Questo approccio si basa sull'uso di DNA o RNA per indurre l'espressione transiente della proteina SARS-CoV-2 dopo inoculo. Questi vaccini hanno il vantaggio di essere prodotti in poco tempo con metodiche poco dispendiose. È la prima volta che vengono testati su larga e su soggetti anziani, la popolazione di maggior interesse per un vaccino COVID-19. Vaccini a DNA di interesse sono quelli Inovio (INO-4800), un plasmide circolare, e Takeda, che sfrutta un DNA lineare, veicolati tramite elettroporazione della cute. I vaccini a RNA sono invece incapsulati in liposomi, e molti progetti utilizzano questa tecnologia. In particolare, Moderna è riuscita ad avanzare dal design del vaccino (due giorni dopo la pubblicazione online della sequenza genomica di SARS-CoV-2) al primo soggetto vaccinato in fase clinica in 74 giorni, un evento che sottolinea la plasticità e velocità di questa piattaforma. Altri progetti che sfruttano RNA sono BioNTech/Fosun Pharma/Pfizer, BIOCAD, Univ Tokio/Daiichi-Sankyo, Fudan Univ/Shanghai Jiao Tong Univ/RNAcure, Cab Sino Biologics, Translate Bio/Sanofi Pasteur, Curevac.

Regolatorio

WHO ha pubblicato un "R&D Blueprint" per coordinare la comunità scientifica nella valutazione dei benefici e rischi legati a diagnostici, terapeutici e ai candidati vaccini COVID-19³⁵. Anche FDA svolge un ruolo fondamentale nella coordinazione delle attività di sviluppo di vaccini COVID-19. Infatti, una guida tempestiva per supportare gli sforzi di risposta a questa

³⁵ R&D Blueprint and COVID-19. <https://www.who.int/teams/blueprint/covid-19>

pandemia è stata rilasciata³⁶. Questa guida assiste gli sponsor nello sviluppo clinico e nell'autorizzazione dei vaccini per la prevenzione del COVID-19. Anche in Europa, EMA ha attivato iniziative per lo sviluppo accelerato e le procedure di valutazione di trattamenti e vaccini COVID-19³⁷.

Tabella dei vaccini in fase di sviluppo o di sperimentazione avanzata (settembre 2021)

La Tabella 1 riporta i candidati vaccini COVID-19 in sperimentazione clinica. Ad oggi, 59 vaccini sono in fase di sviluppo clinico, e altri 162 in fase pre-clinica.

³⁶ Development and Licensure of Vaccines to Prevent COVID-19. Guidance for Industry. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/development-and-licensure-vaccines-prevent-covid-19>

³⁷ EMA initiatives for acceleration of development support and evaluation procedures for COVID-19 treatments and vaccines. https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/ema-initiatives-acceleration-development-support-evaluation-procedures-covid-19-treatments-vaccines_en.pdf

COVID-19 vaccine developer/manufacturer	Vaccine platform	Type of vaccine candidate	Doses	Timing of doses	Clinical trial phase
Sinovac	Inactivated	Inactivated	2	0,14 days	Phase 3
Wuhan Institute of Biological Products/Sinopharm	Inactivated	Inactivated	2	0,21 days	Phase 3
Beijing Institute of Biological Products/Sinopharm	Inactivated	Inactivated	2	0,21 days	Phase 3
Bharat Biotech	Inactivated	Whole-Virion Inactivated	2	0, 14 days	Phase 3
University of Oxford/AstraZeneca	Non-Replicating Viral Vector	ChAdOx1-S (AZD1222)	2	0,28 /84 days	Phase 3
	Non-Replicating Viral Vector	ChAdOx1-S (AZD2816)	2	0,28 /84 days	Phase 2/3
CanSino Biological Inc./Beijing Institute of Biotechnology	Non-Replicating Viral Vector	Adenovirus Type 5 Vector	1	-	Phase 3
Gamaleya Research Institute	Non-Replicating Viral Vector	Adeno-based (rAd26-S+rAd5-S)	2	0,21 days	Phase 3
Janssen Pharmaceutical Companies	Non-Replicating Viral Vector	Ad26COVS1	2	0,56 days	Phase 3
Novavax	Protein Subunit	Full length recombinant SARS CoV-2 glycoprotein nanoparticle vaccine adjuvanted with Matrix M	2	0,21 days	Phase 3
Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical/Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences	Protein Subunit	Adjuvanted recombinant protein (RBD-dimer)	2 or 3	0,28 days or 0,28,56 days	Phase 3
Moderna/NIAID	RNA	LNP-encapsulated mRNA	2	0,28 days	Phase 3
BioNTech/Fosun Pharma/Pfizer	RNA	3 LNP-mRNAs	2	0,28 days	Phase 3
Medicago Inc.	VLP	Plant-derived VLP adjuvanted with GSK or Dynavax adjs.	2	0, 21 days	Phase 2/3
Inovio Pharmaceuticals/ International Vaccine	DNA	DNA plasmid vaccine with electroporation	2	0,28 days	Phase 2

Institute					
Beijing Wantai Biological Pharmacy/ Xiamen University	Replicating Viral Vector	Intranasal flu-based-RBD	1	-	Phase 2
West China Hospital, Sichuan University	Protein Subunit	RBD (baculovirus production expressed in Sf9 cells)	2	0, 28 days	Phase 2
Curevac	RNA	mRNA	2	0,28 days	Phase 2
Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences	Inactivated	Inactivated	2	0,28 days	Phase 1/2
Research Institute for Biological Safety Problems, Rep of Kazakhstan	Inactivated	Inactivated	2	0,21 days	Phase 1/2
Shenzhen Kangtai Biological Products Co., Ltd.	Inactivated	Inactivated	2		Phase 1/2
Osaka University/ AnGes/ Takara Bio	DNA	DNA plasmid vaccine + adjuvant	2	0,14 days	Phase 1/2
Cadila Healthcare Limited	DNA	DNA plasmid vaccine	3	0,14,56 days	Phase 1/2
Genexine Consortium	DNA	DNA vaccine (GX-19)	2	0,28 days	Phase 1/2
Kentucky Bioprocessing, Inc	Protein Subunit	RBD-based	2	0, 21 days	Phase 1/2
Sanofi Pasteur/GSK	Protein Subunit	S protein (baculovirus production)	2	0, 21 days	Phase 1/2
Biological E Ltd	Protein Subunit	Adjuvanted protein subunit (RBD)	2	0, 28 days	Phase 1/2
Israel Institute for Biological Research/Weizmann Inst. of Science	Replicating Viral Vector	VSV-S	1	-	Phase 1/2
Arcturus/Duke-NUS	RNA	mRNA	-	-	Phase 1/2
SpyBiotech/Serum Institute of India	VLP	RBD-HBsAg VLPs	2	0, 28 days	Phase 1/2
Symvivo	DNA	bacTRL-Spike	1	-	Phase 1
Providence Health & Services	DNA	electroporated S protein plasmid	2	0, 28 days	Phase 1

		DNA vaccine with or without the combination of electroporated IL12p70 plasmid			
Codagenix/Serum Institute of India	Live attenuated virus	Codon deoptimized live attenuated vaccines	1 or 2	0 or 0, 28 days	Phase 1
ImmunityBio, Inc. & NantKwest Inc.	Non-Replicating Viral Vector	hAd5 S+N 2nd Generation Human Adenovirus Type 5 Vector (hAd5) Spike (S) + Nucleocapsid (N)	2	0, 21 days	Phase 1
ReiThera/LEUKOCARE/Univercells	Non-Replicating Viral Vector	Replication defective Simian Adenovirus (GRAd) encoding S	1	-	Phase 1
CanSino Biological Inc/Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, PLA of China	Non-Replicating Viral Vector	Ad5-nCoV	2	0, 28 days	Phase 1
Vaxart	Non-Replicating Viral Vector	Ad5 adjuvanted Oral Vaccine platform	2	0, 28 days	Phase 1
Ludwig-Maximilians - University of Munich	Non-Replicating Viral Vector	MVA-SARS-2-S	2	0, 28 days	Phase 1
City of Hope, USA	Replicating Viral Vecotr	SARS-CoV-2 S and NP genes inserted into a sMVA vector	2	0, 28 days	Phase 1
Clover Biopharmaceuticals Inc./GSK/Dynavax	Protein Subunit	Native like Trimeric subunit Spike Protein vaccine	2	0, 21 days	Phase 1
Vaxine Pty Ltd/Medytox	Protein Subunit	Recombinant spike protein with Advax adjuvant	1	-	Phase 1
University of Queensland/CSL/Seqirus	Protein Subunit	Molecular clamp stabilized Spike protein with MF59 adjuvant	2	0, 28 days	Phase 1
Medigen Vaccine Biologics Corporation/NIAID/Dynavax	Protein Subunit	S-2P protein + CpG 1018	2	0, 28 days	Phase 1
Instituto Finlay de Vacunas, Cuba	Protein Subunit	rRBD produced in CHO-cell chemically conjugate to tetanus toxoid	2	0, 28 days	Phase 1
Instituto Finlay de Vacunas, Cuba	Protein Subunit	RBD + Adjuvant	2	0, 28 days	Phase 1
FBRI SRC VB VECTOR, Rospotrebnadzor, Koltsovo	Protein Subunit	Peptide	2	0, 21 days	Phase 1

University Hospital Tuebingen	Protein Subunit	SARS-CoV-2 HLA-DR peptides	1	-	Phase 1
COVAXX / United Biomedical Inc. Asia	Protein Subunit	Multitope peptide-based S1-RBDprotein vaccine	2	0, 28 days	Phase 1
Chinese Academy of Military Science	Protein Subunit	Subunit expressed in CHO cells	2 or 3	0, 14 or 0, 14, 28 days	Phase 1
Merck Sharp & Dohme/IAVI	Replicating Viral Vector	Replication-competent VSV delivering the SARS-CoV-2 Spike	1	-	Phase 1
Institute Pasteur/Themis/Univ. of Pittsburg CVR/Merck Sharp & Dohme	Replicating Viral Vector	Measles-vector based	1 or 2	0, 28 days	Phase 1
Imperial College London	RNA	LNP-nCoVsaRNA	2	-	Phase 1
People's Liberation Army (PLA) Academy of Military Sciences/Walvax Biotech.	RNA	mRNA	2	0, 14 or 0, 28 day	Phase 1

Tabella 1. Vaccini COVID-19 in sviluppo clinico (dati WHO)³⁸.

³⁸ OMS, Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>

Valutazione della risposta anticorpale

Il tema della sicurezza e della efficacia dei vaccini, da impiegare per contrastare la diffusione dell'infezione da SARS-CoV-2, si rende sempre più attuale, in particolar modo se si considera la rapidità con la quale diverse aziende farmaceutiche, completate le necessarie fasi di sviluppo, giungeranno a rendere disponibili sul mercato i loro attuali candidati.

La notevole accelerazione che sta caratterizzando lo sviluppo di questi vaccini, le ancora numerose domande relative ai meccanismi patogenetici e immunitari dell'infezione, nonché la necessità di un percorso registrativo rapido, per un immediato contrasto all'infezione, suggeriscono di programmare protocolli diretti a monitorarne adeguatamente i benefici e i rischi anche in fase post-autorizzativa.

Alcuni di questi protocolli sono già in preparazione, come nel caso del programma di collaborazione europea "ACCESS" (Vaccine Covid-19 Monitoring Readiness), finanziato da EMA e guidato dal University Medical Center di Utrecht.

Pertanto, unitamente alle misure di vigilanza sulla sicurezza, appare necessario, come segnalato da più parti, prevedere una valutazione di efficacia con controlli post-vaccinali, come del resto già accade per altri vaccini (e.g. Epatite B, Rosolia).

Alcune aziende hanno o stanno sviluppando test sierologici da utilizzare proprio sui soggetti sottoposti a vaccinazione. Questi avrebbero un ruolo importante proprio nella caratterizzazione della risposta immunitaria indotta dal vaccino.

La misurazione quantitativa degli anticorpi sarà essenziale, quindi, sia nella valutazione, in studi clinici, dei potenziali vaccini candidati, che nel valutare la risposta immunitaria evocata nei soggetti che hanno ricevuto il vaccino una volta commercializzato.

Diverse aziende hanno già disegnato e sviluppato test sierologici ad altissima specificità che misurano in modo quantitativo gli anticorpi neutralizzanti diretti contro la proteina target trimerica *Spike (S)*, oppure contro la sua subunità funzionale S1, tali test vengono eseguiti in modo completamente automatizzato su sistemi analitici in grado di processare un elevato numero di campioni di sangue al giorno.

Questi test rilevano anticorpi diretti verso la proteina *Spike*, utilizzata dal virus per penetrare nelle cellule umane, questo dal momento che la maggior parte dei vaccini attualmente in fase di sviluppo mirano proprio a indurre una risposta immunologica contro la proteina antigenica *Spike*.

La *Spike S1* è la proteina target utilizzata per il vaccino già previsto in distribuzione anche in Italia nei primi mesi del 2021, in base agli accordi definiti nell'ambito della Inclusive Vaccines Alliance europea.

Prima di somministrare un vaccino è importante titolare il livello iniziale di anticorpi e valutarne poi la variazione indotta da vaccino stesso, in particolare, e in questo caso, ci interessa lo sviluppo di anticorpi anti proteina *Spike*. Gli anticorpi contro la proteina *Spike* SARS-CoV-2, hanno una potente attività antivirale e sono correlati alla potenziale immunità. La misurazione del titolo anticorpale potrebbe essere fondamentale per stabilire l'efficacia del vaccino nell'eventuale prevenzione dell'infezione, oppure per comprendere se il vaccino stesso può permettere lo sviluppo di forme meno gravi di COVID-19.

I test anticorpali possono svolgere un ruolo chiave nella comprensione dei dati nella pratica clinica (RWD) e nella risposta in gruppi particolari di pazienti:

- Durata della protezione offerta dai vari vaccini. Stabilire l'efficacia di una risposta immunitaria specifica sia a livello delle risposte cellulari che umorali. Efficacia dei vaccini sulle mutazioni virali.
- Necessità di una stretta sorveglianza dell'efficacia della vaccinazione.
- Coorti particolari: es Operatori sanitari: monitorare il loro stato immunitario dopo un'esposizione multipla, Pazienti immunocompromessi (ad es. pazienti trapiantati, malati di cancro)

Oltre alla loro importanza per lo sviluppo e la valutazione dell'efficacia di un vaccino, questi test sierologici possono contribuire a indicare i livelli di anticorpi in caso di donatori per plasmaferesi. Con la plasmaferesi il plasma del paziente viene sostituito con il plasma proveniente da un donatore, assumendo che il plasma del donatore, che ha già contratto SARS-CoV-2, abbia proprietà antivirali dirette per il soggetto ricevente.

Parallelamente ai test sierologici quantitativi sopra menzionati, sono in sviluppo test rapidi semi-quantitativi a cassetta, meno costosi, e che pur permettono tracciabilità e condivisione anche su base digitale.

Riconoscendo l'importanza non solo della risposta anticorpale, ma anche di quella cellulare si stanno parallelamente considerando metodiche di rilevamento di quest'ultima, ancora nell'interesse di un programma di valutazione della risposta immunologica al vaccino SARS-CoV-2 (COVID-19). Questo aspetto attiene comunque maggiormente ad ambiti di ricerca piuttosto che commerciali.

Accordi con l'UE per la disponibilità di vaccini

Questa pandemia globale richiede una risposta globale. La Commissione europea si è unita ai governi, alle fondazioni e all'industria nell'ACT Accelerator Initiative dell'Organizzazione mondiale della sanità con l'obiettivo di sviluppare un accesso rapido ed equo a diagnosi, terapie e vaccini sicuri, di qualità, efficaci e convenienti contro COVID-19.

Da inizio pandemia sono stati conclusi diversi contratti (Pfizer, AstraZeneca, Moderna e J&J,) per la fornitura dei vaccini. A partire da ottobre 2020, la Commissione continua a discutere accordi simili con altri produttori di vaccini (CureVac,) con i quali ha concluso colloqui esplorativi.

Anche l'Italia si è immediatamente attivata per la pronta valutazione e introduzione dei vaccini così come delle altre tecnologie impiegate per la lotta contro il Covid-19.

Il 14 dicembre 2020, l'Agenzia Italiana del Farmaco in accordo con il Ministero della Salute e il Commissario Straordinario per l'emergenza Covid-19 ha istituito "Il Comitato Scientifico per la sorveglianza post-marketing dei Vaccini Covid19 (CSV-Covid19)", composto da esperti indipendenti e con l'obiettivo di coordinare le attività di farmacovigilanza e collaborare al piano vaccinale relativo all'epidemia Covid-19, svolgendo una funzione strategica di supporto scientifico all'AIFA, al Ministero della Salute e al SSN.

Il 21 dicembre 2020, EMA ha approvato il vaccino Comirnaty di Pfizer nella popolazione dai 18 anni in su; Successivamente anche il vaccino è toccato a Moderna è stato , autorizzato da EMA il 7 gennaio a partire dai 18 anni di età ; il vaccino e ad AstraZeneca (Vaxzevria), è stato approvato in data 30 gennaio 2021 per tutti i soggetti dai 18 anni di età coerentemente con l'indicazione approvata da EMA.

Infine, il 12 marzo 2021 è arrivata l'autorizzazione al vaccino Janssen per i soggetti al di sopra dei 18 anni, come da indicazione EMA.

La governance di questi vaccini da un punto di vista scientifico e regolatorio non è stata sempre lineare, dovendosi adattare nel tempo alle numerose nuove evidenze cliniche disponibili, ai pareri espressi dall'agenzia Europea dei Medicinali e alle necessità organizzative per l'implementazione della compagna vaccinale.

Nel caso di Vaxzevria, inizialmente è stato raccomandato approvato con raccomandazione daella CTS all'utilizzo preferenziale nei soggetti al di sotto dei 55 anni e ora raccomandato solo al di sopra dei 60 anni di età.

Nonostante l'AIFA abbia previsto un programma di attività di informazione e comunicazione sui vaccini per il COVID-19, a partire da una serie di risposte alle domande più frequenti, il tema della delicata gestione dell'informazione e comunicazione non si è fatto attendere alimentando purtroppo il fenomeno della Vaccine Hesitancy.

Profilo di sicurezza dei vaccini impiegati in Italia

L'Agenzia Italiana del Farmaco pubblica mensilmente il Rapporto di Farmacovigilanza sui Vaccini COVID-19. Nel quinto Rapporto (ultimo disponibile), i dati raccolti e analizzati riguardano le segnalazioni di sospetta reazione avversa registrate nella Rete Nazionale di Farmacovigilanza tra il 27 dicembre 2020 e il 26 maggio 2021 per i quattro vaccini in uso nella campagna vaccinale in corso.

Nel periodo considerato sono pervenute 66.258 segnalazioni su un totale di 32.429.611 dosi somministrate (tasso di segnalazione di 204 ogni 100.000 dosi), di cui circa il 90% sono riferite a eventi non gravi, come dolore in sede di iniezione, febbre, astenia/stanchezza, dolori muscolari. Come riportato nei precedenti Rapporti, gli eventi segnalati insorgono prevalentemente lo stesso giorno della vaccinazione o il giorno successivo (83% dei casi).

Le segnalazioni gravi corrispondono al 10,4% del totale, con un tasso di 21 eventi gravi ogni 100.000 dosi somministrate, indipendentemente dal tipo di vaccino, dalla dose (prima o seconda) e dal possibile ruolo causale della vaccinazione.

La maggior parte delle segnalazioni sono relative al vaccino Comirnaty (71,8%), finora il più utilizzato nella campagna vaccinale (68,7% delle dosi somministrate) e solo in minor misura al vaccino Vaxzevria (24% delle segnalazioni e 20,8% delle dosi somministrate), al vaccino Moderna (3,9% delle segnalazioni e 9% delle dosi somministrare), e al vaccino COVID-19 Janssen (0,3% delle segnalazioni e 1,5% delle dosi somministrate).

Per tutti i vaccini, gli eventi avversi più segnalati sono febbre, stanchezza, cefalea, dolori muscolari/articolari, dolore in sede di iniezione, brividi e nausea. Gli eventi avversi gravi correlabili alla vaccinazione più spesso segnalati configurano un quadro di sindrome simil-influenzale con sintomatologia intensa, più frequente dopo la seconda dose dei vaccini a mRNA e dopo la prima dose di Vaxzevria.

Il tasso di segnalazione è maggiore e relativamente costante nelle fasce di età più giovani (fino a 60 anni), per poi diminuire nelle fasce d'età più avanzate, in linea con quanto riportato negli studi clinici pre-autorizzativi

Il tasso di segnalazione delle trombosi venose intracraniche e in sede atipica in soggetti vaccinati con Vaxzevria è in linea con quanto osservato a livello europeo (1 caso ogni 100.000 prime dosi somministrate, nessun caso dopo seconda dose), prevalentemente in persone con meno di 60 anni³⁹.

Strategie per la vaccinazione

A livello europeo

Poiché la vaccinazione contro il COVID-19 su larga scala sarà un'impresa importante, il 15 ottobre 2020 la Commissione ha pubblicato una comunicazione sulla preparazione per le strategie di vaccinazione contro il COVID-19 e la diffusione del vaccino⁴⁰. Gli elementi chiave da considerare per le strategie di vaccinazione nazionali includono:

- capacità dei servizi di vaccinazione di fornire vaccini COVID-19, inclusa forza lavoro qualificata e attrezzature mediche e protettive;
- facile accesso ai vaccini per le popolazioni target, sia in termini di accessibilità economica che di prossimità fisica;
- diffusione di vaccini con caratteristiche ed esigenze di stoccaggio e trasporto differenti, in particolare in termini di catena del freddo, trasporto refrigerato e capacità di stoccaggio;
- comunicazione chiara sui benefici, i rischi e l'importanza dei vaccini COVID-19 per costruire la fiducia del pubblico.

Man mano che la disponibilità dei vaccini migliora, le strategie sui vaccini e i loro obiettivi dovranno essere adeguati di conseguenza. Ad esempio, all'inizio la strategia si è concentrata sulla riduzione del tasso di decessi e dell'onere sui servizi essenziali. Successivamente, nel processo di diffusione della vaccinazione, ciò potrebbe spostarsi verso la riduzione di più ampie restrizioni sociali ed economiche. Nel frattempo, in cima alla lista delle azioni c'è una

³⁹ <https://www.aifa.gov.it/-/quinto-rapporto-aifa-sulla-sorveglianza-dei-vaccini-covid-19>

⁴⁰ Strategia sui vaccini contro il coronavirus https://ec.europa.eu/info/live-work-travel-eu/health/coronavirus-response/public-health/coronavirus-vaccines-strategy_it.

decisione su quali gruppi dovrebbero avere accesso prioritario ai vaccini. Si dovrebbero prendere in considerazione i seguenti gruppi⁴¹ (non classificati):

- operatori sanitari
- persone di età superiore a 60 anni
- persone il cui stato di salute le rende particolarmente a rischio
- lavoratori essenziali al di fuori del settore sanitario
- lavoratori che non possono socialmente mantenere il distanziamento fisico
- gruppi socioeconomici vulnerabili e altri gruppi a rischio più elevato.

A livello nazionale

Nel mese di marzo 2021 è stato adottato il **Piano strategico nazionale dei vaccini per la prevenzione delle infezioni da SARS-CoV-2** costituito dal documento «**Elementi di preparazione della strategia vaccinale**», nonché dal documento «**Raccomandazioni ad interim sui gruppi target della vaccinazione anti-SARS-CoV-2/COVID-19**».

Il piano definisce 5 categorie prioritarie in base all'età e alla presenza di condizioni patologiche:

Categoria 1. Elevata fragilità (persone estremamente vulnerabili; disabilità grave);

Categoria 2. Persone di età compresa tra 70 e 79 anni;

Categoria 3. Persone di età compresa tra i 60 e i 69 anni;

Categoria 4. Persone con comorbidità di età <60 anni, senza quella connotazione di gravità riportata per le persone estremamente vulnerabili;

Categoria 5. Resto della popolazione di età <60 anni.

Sono inoltre considerate prioritarie le seguenti categorie, a prescindere dall'età e dalle condizioni patologiche, quali: personale docente e non docente, scolastico e universitario, Forze armate, di Polizia e del soccorso pubblico, servizi penitenziari e altre comunità residenziali.

⁴¹<https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderPdf.spring?seriegu=SG&datagu=24/03/2021&redaz=21A01802&artp=1&art=1&subart=1&subart1=10&vers=1&prog=002>

Parallelamente ed in armonia con il Piano strategico Nazionale, il 13 marzo 2021 è stato diffuso il **Piano vaccinale del Commissario straordinario per l'esecuzione della campagna vaccinale nazionale**, il quale fissa le linee operative per completare al più presto la campagna vaccinale.

La governance è accentrata a fronte di una esecuzione decentrata, con una catena di controllo snella.

I presupposti per condurre una rapida campagna sono:

- efficace e puntuale distribuzione dei vaccini
- costante monitoraggio dei fabbisogni e degli approvvigionamenti
- incremento della capacità giornaliera di somministrazione
- la distribuzione efficace e puntuale dei vaccini e l'incremento delle somministrazioni giornaliere.

L'obiettivo è di raggiungere a regime il numero di 500 mila somministrazioni al giorno su base nazionale (ad oggi soddisfatto), vaccinando almeno l'80% della popolazione entro il mese di settembre 2021.

Al 30 di giugno 2021 sono state somministrate circa 51 milioni di dosi che hanno permesso a 18,5 milioni di persone di essere già vaccinate con ciclo completo (34% della popolazione over 12 anni).

I punti di somministrazione ospedalieri e territoriali (non temporanei) ammontano a 2.736 in tutta Italia.

La Commissione Tecnico Scientifica di AIFA (CTS), riunita nei giorni 7-9 settembre 2021, ha espresso il proprio parere sulla somministrazione di dosi aggiuntive di vaccino contro il COVID-19, rispondendo ai quesiti posti dal Ministero della Salute.

La CTS identifica come prioritaria quella **categoria di soggetti che, a seguito della somministrazione di un ciclo vaccinale primario, mostra comunque una ridotta risposta anticorpale che appare associata ad una minore protezione**. Rientrano in questa categoria i **soggetti sottoposti a trapianto d'organo o in condizioni di immunosoppressione** (immunodeficienze primarie o acquisite non adeguatamente controllate dal trattamento, assunzione contemporanea o nei 6 mesi precedenti di farmaci che determinano una compromissione della risposta immunitaria, il trapianto di cellule staminali ematopoietiche).

Anche nei grandi **anziani (>80 anni) e nei soggetti ricoverati nelle RSA**, popolazione di per sé soggetta al maggiore rischio di sviluppare malattia grave e morte, si assiste da un lato ad una **minore risposta immunitaria al ciclo vaccinale autorizzato** e dall'altro ad una suscettibilità apparentemente maggiore nei confronti della variante delta attualmente prevalente⁴².

Sulla base di queste indicazioni, il Ministero della Salute, nella Circolare del 14 Settembre *“indicazioni preliminari sulla somministrazione di dosi addizionali e di dosi “booster” nell’ambito della campagna di vaccinazione anti SARS-CoV-2/COVID-19”* considera prioritaria la somministrazione della dose addizionale nei soggetti trapiantati e immunocompromessi al fine di raggiungere un adeguato livello di risposta immunitaria⁴³.

OPZIONI TERAPEUTICHE PER COVID-19

La pandemia da Coronavirus, iniziata in Cina a fine 2019 e in continuo sviluppo a livello globale, ha provocato una serie di conseguenze difficilmente prevedibili; i sistemi sanitari sono stati messi a dura prova o portati al collasso, in quanto non dimensionati rispetto alla inattesa e massiva richiesta di cure intensive e a causa dell'assenza di misure preventive o terapeutiche capaci di arginare la pandemia.

L'approccio utilizzato per rispondere in maniera immediata al vuoto terapeutico per COVID-19 è stato quello di valutare l'efficacia di farmaci già disponibili (o in avanzato sviluppo clinico) per altre patologie e con un rationale scientifico per essere attivi anche su COVID-19 (*drug repurposing*). Sono stati così utilizzati numerosi farmaci antivirali, antimalarici, antibiotici, antiinfiammatori, antitrombotici e immunomodulanti, in monoterapia o in combinazione, a volte in maniera empirica e solo parzialmente supportata da evidenze scientifiche.

La gestione del paziente con COVID-19 viene complicata dalla caratteristica “cronopatogenesi” di questa infezione; infatti l'iniziale fase di attiva replicazione virale innesca quella successiva, caratterizzata dalla esacerbata risposta del sistema immune, che porta alle gravi conseguenze cliniche e in cui la presenza del virus è spesso non rilevabile. I farmaci, a seconda del meccanismo d'azione, offrono i maggiori benefici se utilizzati nelle giuste

⁴² https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1289678/Parere_CTS_09.09.2021.pdf

⁴³ <https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2021&codLeg=82776&parte=1%20&serie=null>

tempistiche, con un necessario adeguamento degli interventi in base all'evoluzione dei target terapeutici nel corso della storia naturale della malattia⁴⁴.

Fin dall'esordio della pandemia, organizzazioni indipendenti e company farmaceutiche hanno supportato un grande numero di trial clinici per validare efficacia e sicurezza delle molte molecole potenzialmente utilizzabili nei pazienti con COVID-19. Gli studi sono stati spesso influenzati dalle variazioni nella distribuzione geografica dell'epidemia e dalle condizioni emergenziali in cui i centri sperimentatori venivano a trovarsi; questo giustifica i risultati in alcuni casi contraddittori o non definitivi.

In questo contesto, il presente testo ha l'obiettivo di fornire un compendio non esaustivo delle principali opzioni terapeutiche disponibili per il COVID-19 e con il supporto delle evidenze scientifiche, di favorire l'orientamento nell'ampio, a volte confuso, panorama di offerte attualmente disponibili, con una visione prospettica sulle proposte in corso di sviluppo e potenzialmente fruibili in un prossimo futuro.

Come anticipato si contraddistinguono 2 fasi principali nella patologia da SARS-CoV-2: una precoce di rapida espansione virale e una successiva di intensa reazione infiammatoria da parte del sistema immune. Le terapie, quindi, possono essere sommariamente classificate in 2 principali categorie: farmaci antivirali che vanno, direttamente o indirettamente, a contrastare la replicazione virale e molecole ad azione immunomodulante/antiinfiammatoria con l'obiettivo di mitigare o prevenire la reazione dell'ospite. Farmaci anticoagulanti sono stati considerati in maniera trasversale nelle varie fasi della malattia, in dosi profilattiche nella prima fase e in dosi terapeutiche in pazienti avanzati.

A questi due macrogruppi si aggiungono il plasma di soggetti guariti e gli anticorpi, sia isolati da pazienti che prodotti in vitro (anticorpi monoclonali) che possono comunque essere inclusi nella prima categoria, ma che verranno trattati separatamente.

Durante la prima fase della pandemia sono stati utilizzati nei pazienti con COVID-19 numerosi antivirali registrati per altri virus, ipotizzando potessero esercitare la loro azione anche su SARS-CoV-2. I trial clinici effettuati sulle varie molecole hanno successivamente delineato le loro reali potenzialità, validando o confutando le iniziali ipotesi sperimentali. Sulla base dei risultati ottenuti nei trial, sono state prodotte varie indicazioni da parte degli organismi istituzionali nazionali ed internazionali e dalle società scientifiche.

⁴⁴ Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). A Review. JAMA. 2020 Aug 25;324(8):782-793.

Considerato il dinamismo della comunità scientifica e delle Aziende nell'organizzare studi clinici e la rapida e costante produzione di nuovi dati, i documenti di indirizzo vengono continuamente aggiornati. In Italia sia AIFA che l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) hanno prodotto delle indicazioni sulla gestione terapeutica dei pazienti COVID-19⁴⁵ che sono in linea con le indicazioni dei prestigiosi organismi statunitensi *Infectious Diseases Society of America* (IDSA) e *National Institutes of Health* (NIH)^{46, 47}.

Nella figura 3 si riassumono le più recenti indicazioni dell'ISS (ottobre 2020) riguardo alle terapie raccomandate nelle varie tipologie di paziente COVID-19 e che verranno descritte con maggior dettaglio nel paragrafo successivo.

Società Italiana di Pneumologia (SIP) e la Società Italiana Terapia Antinfettiva (SITA), nel mese di aprile 2020, hanno prodotto un position paper congiunto sul management farmacologico dell'infezione⁴⁸. Analogamente, SIMIT, società scientifica che rappresenta gli infettivologi italiani, ha pubblicato un articolo che propone un algoritmo per la gestione terapeutica del paziente infetto da SARS-CoV-2⁴⁹. Anche WHO (*World Health Organisation*) ha recentemente pubblicato delle linee guida redatte sulla base di una metanalisi degli studi al momento disponibili, in cui il trial Solidarity, promosso dalla stessa Organizzazione, ha avuto un peso superiore rispetto alle altre evidenze per la numerosità del campione arruolato⁵⁰.

⁴⁵ https://www.iss.it/altre-pubblicazioni/-/asset_publisher/btw1J82wtYzH/content/prevenzione-e-risposta-a-covid-19-evoluzione-della-strategia-e-pianificazione-nella-fase-di-transizione-per-il-periodo-autunno-invernale;
<https://www.aifa.gov.it/en/aggiornamento-sui-farmaci-utilizzabili-per-il-trattamento-della-malattia-COVID-19>

⁴⁶ www.idsociety.org/COVID-19guidelines. www.COVID-19treatmentguidelines.nih.gov

⁴⁷ Bhimraj A, Morgan RL, Shumaker AH, Lavergne V, Baden L, Cheng VC, Edwards KM, Gandhi R, Muller WJ, O'Horo JC, Shoham S, Murad MH, Mustafa RA, Sultan S, Falck-Ytter Y. Infectious Diseases Society of America Guidelines on the Treatment and Management of Patients with COVID-19. *Clin Infect Dis*. 2020 Apr 27: 478. doi: 10.1093/cid/ciaa478.

⁴⁸ M. Bassetti, D.R. Giacobbe, Aliberti, E. Barisione, S. Centanni, F.G. De Rosa, F. Di Marco, A. Gori, G. Granat, M. Mikulska, N. Petrosillo, L. Richeldi, P. Santus, C. Tascini, A. Vena, P. Viale, F. Blasi, on behalf of the Italian Society of Anti-infective Therapy (SITA) and the Italian Society of Pulmonology (SIP). Balancing evidence and frontline experience in the early phases of the COVID-19 pandemic: current position of the Italian Society of Anti-infective Therapy (SITA) and the Italian Society of Pulmonology (SIP). *Clinical Microbiology and Infection*; 26, 2020, 880e894.

⁴⁹ <https://www.simit.org/images/documenti/Linee%20guida%20SIMIT%20LAZIO%20SARS%20CoV%202%20maggio%202020.pdf>

⁵⁰ Rochwerg B, Agoritsas T, Lamontagne F, et al. A living WHO guideline on drugs for covid-19. *BMJ* 2020;370:m3379.

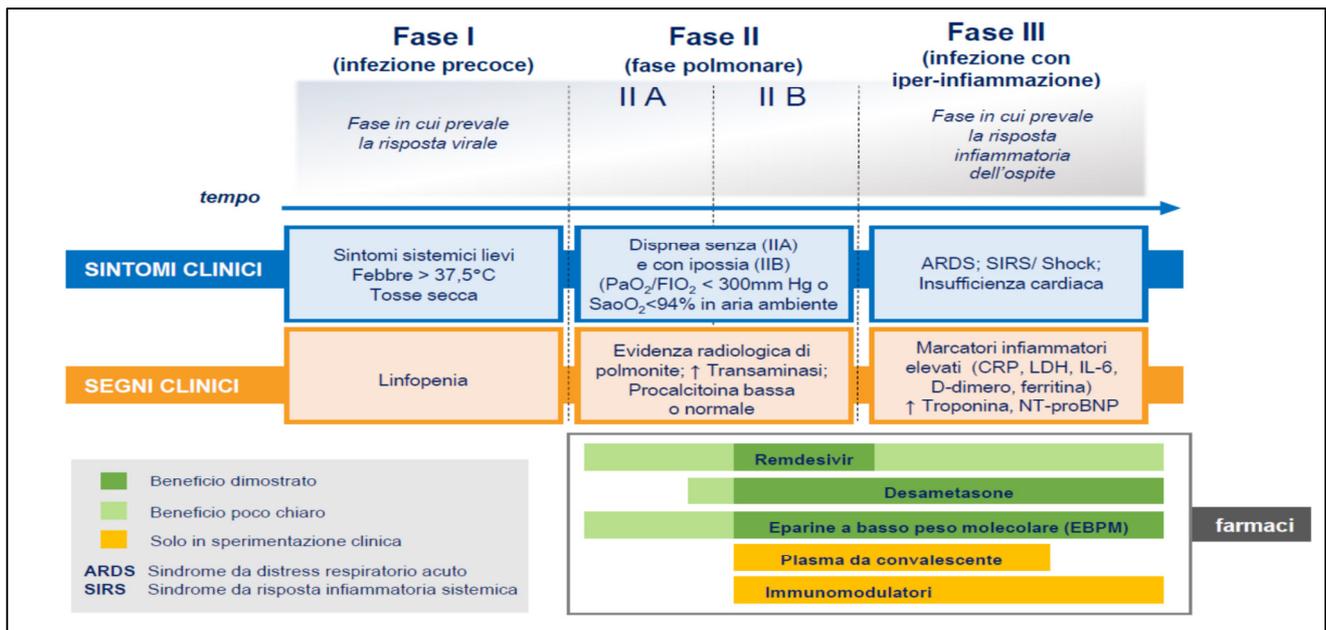


Figura 3. Terapie ritenute efficaci per stadio clinico della malattia COVID-19⁵¹.

Farmaci antivirali

Hanno come obiettivo quello di interferire, con meccanismi d'azione diversi, nel ciclo replicativo virale e, quindi, interromperne la moltiplicazione e diffusione. Esistono vari punti critici del ciclo virale che possono essere bersaglio di inibitori, come, ad esempio, l'ingresso del virus nella cellula ospite, l'azione della proteasi virale, la replicazione del genoma.

Remdesivir

Il Remdesivir è un farmaco antivirale ad ampio spettro in quanto sfrutta le analogie presenti nel meccanismo replicativo di vari virus a RNA. Ha, infatti, dimostrato attività in vitro verso Ebola, Marburg, MERS-CoV, virus respiratorio sinciziale, Nipah, Hendra e SARS-CoV-2 ed agisce determinando la prematura interruzione del trascritto di RNA sostituendosi al substrato naturale della polimerasi virale⁵².

Remdesivir è stato utilizzato fin dalle prime fasi dell'epidemia nel quadro di un programma di uso compassionevole ed *expanded access* di cui hanno beneficiato migliaia di pazienti a livello globale; parallelamente, sono stati organizzati vari trial di fase 3 nei soggetti infettati da SARS-CoV-2. Lo studio più importante, che ha contribuito maggiormente a definire l'efficacia e

⁵¹ Modificato da Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. J Heart Lung Transplant 2020;39(5):405-7. DOI: 10.1016/j.healun.2020.03.012.

⁵² Gordon CJ, Tchesnokov EP, Woolner E, Perry JK, Feng JY, Porter DP, Götte M. Remdesivir is a direct-acting antiviral that inhibits RNA-dependent RNA polymerase from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 with high potency. J Biol Chem. 2020 May 15;295(20):6785-6797.

sicurezza di Remdesivir nei pazienti con COVID-19, è stato condotto dal National Institute of Health (NIH) e nominato ACTT-1 (Adaptive COVID-19 Treatment Trial)⁵³. ACTT-1 è uno studio internazionale di fase III, in doppio cieco, randomizzato e controllato con placebo, effettuato su oltre 1000 pazienti stratificati per severità di malattia. I risultati hanno dimostrato che Remdesivir porta un significativo beneficio in termini di riduzione dei tempi di recupero (-29%), miglioramento del quadro clinico nel 50% dei casi, minore necessità di ricorrere a ventilazione meccanica invasiva e una ridotta mortalità, sia nella popolazione totale (-27%), che, in maniera più eclatante, nei soggetti arruolati in condizioni ancora non gravi e che necessitavano di ossigenoterapia a basso flusso, dove si arriva a una riduzione dei decessi del -70%⁵⁴.

I risultati di ACTT-1 insieme a quelli degli altri trial^{55, 56} hanno consentito di ottenere da parte delle Agenzie regolatorie internazionali FDA (*U.S. Food and Drug Administration*) e EMA (*European Medicines Agency*) la registrazione di Remdesivir come primo, e attualmente unico, trattamento antivirale per i pazienti COVID-19, sia adulti che adolescenti (>12 anni).

L'utilizzo di RDV viene indicato anche dalle linee guida NIH/ISDA⁵⁷ come prima scelta, con il grado di raccomandazione BIIa, nei pazienti ospedalizzati che richiedono una supplementazione di ossigeno a basso flusso e in combinazione con il Desametasone, in quelli che necessitano di ossigenazione ad alto flusso o ventilazione non invasiva (BIII) e nelle linee guida NICE concordanti con l'indicazione EMA⁵⁸. Gli organismi regolatori Nazionali hanno privilegiato l'uso dell'antivirale nella fase più precoce, caratterizzata da ossigenazione a basso flusso, ove si ha il maggior numero di evidenze cliniche (Fig. 3).

Partendo dai dati di efficacia e sicurezza dello studio ACTT-1, un team di economisti sanitari ed epidemiologi della Saint Camillus International University of Health and Medical Sciences, ha stimato, tramite un modello markoviano a coorte aperta, l'impatto che la terapia con remdesivir può avere sulla capacity delle terapie intensive e, in ultima istanza, sui costi sanitari

⁵³ Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, Mehta AK, Zingman BS, Kalil AC, Hohmann E, Chu HY, Luetkemeyer A, Kline S and ACTT-1 Study Group Members. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Final Report. *N Engl J Med.* 2020 Oct 8: NEJMoa2007764. doi: 10.1056/NEJMoa2007764.

⁵⁴ Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, Mehta AK, Zingman BS, Kalil AC, Hohmann E, Chu HY, Luetkemeyer A, Kline S, op. cit., 2020.

⁵⁵ Spinner CD, Gottlieb RL, Criner GJ, et al; GS-US-540-5774 Investigators. Effect of remdesivir vs standard care on clinical status at 11 days in patients with moderate COVID-19: a randomized clinical trial. *JAMA.* Published online August 21, 2020. doi:10.1001/jama.2020.16349.

⁵⁶ Goldman JD, Lye DCB, Hui DS, et al. Remdesivir for 5 or 10 days in patients with severe Covid-19. *N Engl J Med.* DOI: 10.1056/NEJMoa2015301.

⁵⁷ Aggiornamento del 3 dicembre 2020 <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapeutic-management/>

⁵⁸ The National Institute for Health and Care Excellence (NICE). COVID-19 rapid guideline: Managing COVID-19. Publishing and version history v5.0. Pubblicate l'8 aprile 2021

diretti per gli ospedali nella gestione dell'attuale emergenza. Il modello ha stimato che nell'arco temporale di 20 settimane, con in Rt compreso tra 1.1 e 0.75, il SSN avrebbe un risparmio di 430 milioni di euro, principalmente grazie all'effetto della riduzione di ricorso alle cure in terapia intensiva, facendo chiaramente emergere il vantaggio dell'utilizzo della terapia antivirale con remdesivir

Sono stati recentemente pubblicati i risultati preliminari di un ampio studio randomizzato, in aperto (*Solidarity Trial*)⁵⁹ promosso dal WHO (*World Health Organisation*) che ha valutato l'efficacia di Remdesivir e altri antivirali (Lopinavir, Interferone β 1, Idrossiclorochina) nel ridurre la mortalità in pazienti ospedalizzati con Covid-19. Lo studio, condotto in 30 Paesi nei 5 continenti, ha consentito l'accesso a terapie antivirali anche in Stati a medio-basso livello di industrializzazione e reddito, utilizzando un metodo di raccolta dati semplificato e focalizzato su pochi, precisi elementi, con un monitoraggio minimo e compatibile con l'emergenza pandemica. Il trial ha mostrato che nessuno degli antivirali testati è risultato efficace nel ridurre la mortalità rispetto agli *standard of care* (differenti a seconda dell'area geografica e tipologia di centro partecipante); i bracci di trattamento con Idrossiclorochina, Interferone β 1 e Lopinavir sono stati interrotti precocemente per manifesta inefficacia.

Nello stesso numero del *New England Journal of Medicine* in cui è pubblicato lo studio *Solidarity*, sono apparsi due editoriali^{60, 61} che commentano i risultati del trial, valutando oggettivamente i *bias* introdotti dalla pragmaticità ed estrema semplificazione nel disegno dello studio. L'impossibilità di una precisa stratificazione per severità di malattia, la mancanza della valutazione di *endpoint* diversi dalla mortalità, l'eterogeneità dei sistemi sanitari e la limitata esperienza nella gestione di trial in Paesi a basso grado di industrializzazione (77% dei pazienti da Africa, Sud Est Asiatico, Sud America), il diverso impatto della pandemia nelle varie aree geografiche sono alcuni dei fattori potenzialmente alla base delle differenze tra i risultati del trial del WHO e gli altri studi di fase III su Remdesivir, condotti con criteri più consolidati. L'importanza di ridurre i tempi di miglioramento clinico e di degenza nei pazienti che sopravvivono viene evidenziata come un fattore importante sia per i pazienti che per ridurre lo stress sul sistema sanitario⁶².

⁵⁹ WHO Solidarity Trial Consortium. Repurposed Antiviral Drugs for Covid-19 - Interim WHO Solidarity Trial Results. *N Engl J Med.* 2020 Dec 2. doi: 10.1056/NEJMoa2023184.

⁶⁰ Harrington DP, Baden LR, Hogan JW. A Large, Simple Trial Leading to Complex Questions. *N Engl J Med.* 2020 Dec 2. doi: 10.1056/NEJMe2034294.

⁶¹ D Rubin, K Chan-Tack, J Farley, A Sherwat. FDA Approval of Remdesivir - A Step in the Right Direction. *N Engl J Med.* 2020 Dec 2. doi: 10.1056/NEJMp2032369.

⁶² Harrington DP, Baden LR, Hogan JW. A Large, op. cit., 2020.

WHO ha prodotto delle linee guida che non contemplano Remdesivir tra le opzioni terapeutiche per i pazienti con COVID-19 con ogni grado di severità, anche se la raccomandazione a sfavore è di grado debole⁶³.

Di recente è dimostrata EMA che il 10/12/2020 ha espresso il parere positivo del CHMP all'uso di Remdesivir per pazienti con polmonite da COVID-19 che richiedano ossigenazione sia a basso che alto flusso, purché di tipo non invasivo⁶⁴. In questo modo EMA conferma l'iniziale "*conditional marketing authorisation*" di luglio 2020, con minime modifiche all'indicazione. A maggio 2021, il CHMP ha rinnovato il parere positivo per l'estensione dell'autorizzazione da parte di EMA per altri 12 mesi in attesa dell'approvazione definitiva (*unconditional marketing authorization*).

A livello nazionale, AIFA, valutando le recenti evidenze, ha mantenuto la rimborsabilità di Remdesivir per uno specifico setting di pazienti, sottolineando però di valutare in maniera attenta il rapporto rischio/beneficio legato all'uso del farmaco⁶⁵.

Ad oltre un anno dalla sua introduzione, numerose sono le informazioni che si stanno raccogliendo, sia in Italia che all'estero, riguardo gli effetti di Remdesivir nella pratica clinica. Sono stati recentemente pubblicati i risultati della ricerca retrospettiva condotta sui database di cinque centri ospedalieri americani che ha confrontato l'efficacia di Remdesivir rispetto al non trattamento in pazienti ospedalizzati con sindrome respiratoria severa acuta, mostrando un significativo beneficio della terapia antivirale specialmente nel gruppo con malattia meno severa, in linea con gli studi di fase 3⁶⁶. Risultati analoghi sono stati riportati in diverse coorti, tra cui una in coorte spagnola⁶⁷, una polacca⁶⁸, una coreana⁶⁹ e in una coorte indiana⁷⁰, confermando, anche in setting real-life, che l'uso di Remdesivir porta significativi benefici riguardo i principali outcome clinici, specialmente se utilizzato precocemente dall'esordio della

⁶³ Rochwerg B, Agoritsas T, Lamontagne F, et al. A living WHO guideline on drugs for covid-19. *BMJ* 2020;370:m3379.

⁶⁴ <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/summaries-opinion/veklury-0#opinion-section>.

⁶⁵ <https://www.aifa.gov.it/en/web/guest/-/covid-19-aifa-limita-l-uso-di-remdesivir-in-casi-selezionati-e-consente-idrossiclorochina-solo-in-studi-clinici-randomizzati-a-domicilio>

⁶⁶ B T Garibaldi, K Wang, M L Robinson. Comparison of Time to Clinical Improvement With vs Without Remdesivir Treatment in Hospitalized Patients With COVID-19. *JAMA Network Open*. 2021;4(3):e213071. doi:10.1001

⁶⁷ C. Garcia-Vidal, F Meira, A. Cózar-Llistó. Real-life use of remdesivir in hospitalized patients with COVID-19 *Revista Española de Quimioterapia* doi:10.37201/req/018.2021 - Advance Access published March 6, 2021

⁶⁸ Flisiak R, Zarębska-Michaluk D, Berkan-Kawińska A, et al. Remdesivir-based therapy improved the recovery of patients with COVID-19 in the multicenter, real-world SARSTer study. *Pol Arch Intern Med*. 2021; 131: 103-110. doi:10.20452/pamw.15735

⁶⁹ E J Joo, J H Ko, S E Kim et al. Clinical and Virologic Effectiveness of Remdesivir Treatment for Severe Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Korea: a Nationwide Multicenter Retrospective Cohort Study. *J Korean Med Sci*. 2021 Mar 22;36(11):e83

⁷⁰ R.M. Mehta, S. Bansal, S. Bysani et al. A shorter symptom onset to remdesivir treatment (SORT) interval is associated with a lower mortality in moderate-to-severe COVID-19: A real-world analysis *Int. J. Infect. Dis*. 106 (2021) 71–77

sintomatologia. In Italia, i risultati dell'uso in pratica clinica di Remdesivir, raccolti dal registro di monitoraggio di AIFA, sono stati recentemente proposti in forma "preprint"⁷¹. L'articolo riporta l'esito dell'analisi dei soli dati di mortalità in oltre 16.000 pazienti COVID-19 trattati con remdesivir in Italia dal 29 ottobre 2020 al 20 gennaio 2021; gli autori commentano positivamente questi risultati, paragonabili a quelli ottenuti nello studio ACTT-1 dove, nella popolazione generale, la mortalità è stata del 6,7% a 15 giorni e del 11,4% a 29 giorni, valore decisamente inferiore rispetto a quello della popolazione COVID-19 non trattata con Remdesivir.

In data 7 dicembre 2020, CHMP da parere favorevole in merito all'indicazione di remdesivir nel trattamento dei pazienti con COVID 19 che richiedono ossigenoterapia supplementare.

Favipiravir

Con un meccanismo d'azione simile a quello del Remdesivir, Favipiravir ha mostrato un'attività inibitoria ad ampio spettro sulla replicazione di numerosi virus tra cui Influenza A, Ebola, West Nile Virus, Yellow Fever Virus, Lassa Virus, come evidenziato da dati prodotti su modelli sperimentali in vitro e in alcuni casi, confermati anche in vivo⁷². L'efficacia su pazienti con COVID-19 è stata valutata con un trial randomizzato effettuato in Cina che ha dimostrato che il trattamento con Favipiravir non produce un significativo beneficio rispetto ai controlli⁷³.

Lopinavir/Ritonavir e altri inibitori della proteasi di HIV

Il ruolo chiave nel ciclo replicativo del SARS-CoV-2 svolto da enzimi virali ad azione proteolitica ha motivato l'utilizzo di inibitori di proteasi efficaci per HIV anche in pazienti con COVID-19. Dati preliminari prodotti in modelli cellulari trattati con Lopinavir/Ritonavir hanno dimostrato un'efficace inibizione delle proteasi di altri Coronavirus (SARS-CoV, MERS). Questo ha fornito il razionale per l'uso off-label della combinazione di antiretrovirali in pazienti con COVID-19 durante la prima fase della pandemia, quando le opzioni terapeutiche e le conoscenze su questa patologia erano scarse. Sono stati successivamente organizzati vari trial clinici, sia randomizzati e controllati che retrospettivi^{74 75} che però hanno chiaramente dimostrato che

⁷¹ P.P. Olimpieri, S Celant, A Colatrella et al. Mortality after remdesivir treatment of pneumonia in hospitalised patients with laboratory confirmed COVID-19: national data in the Italian real-world practice collected by the AIFA monitoring register. SSRN, March 2020. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3800290>

⁷² Delang L, Abdelnabi R, Neyts J. Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses. *Antiviral Res.* 2018;153:85-94.

⁷³ Choy KT, Wong AYL, Kaewpreedee P, Sia SF, Chen D. Remdesivir, lopinavir, emetine, and homoharringtonine inhibit SARSCoV- 2 replication in vitro. *Antivir Res.* 2020;178:104786.

⁷⁴ Cao B, Wang Y, Wen D, Liu W, Wang J, Fan G, et al. A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;382(19):1787-99.

⁷⁵ Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ, Cutrell JB. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review. *JAMA.* 2020 <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2764727>

Lopinavir/Ritonavir non producono significativi benefici nei pazienti con COVID-19 rispetto allo standard of care, sia in termini di tempi di recupero, riduzione della carica virale, miglioramento clinico, mortalità. Tali dati hanno portato a una raccomandazione negativa sull'uso di Lopinavir/Ritonavir nei pazienti con COVID-19, al di fuori di studi clinici, da parte delle principali linee guida nazionali e internazionali, così come per altri inibitori di proteasi HIV per cui i dati sono ancora più limitati.

Clorochina e Idrossiclorochina

Clorochina e Idrossiclorochina non possono essere definite come veri e propri antivirali; infatti, sono state utilizzate fin dagli anni '30 del secolo scorso come antimalarici e antireumatici e tuttavia ampiamente impiegate durante gli esordi dell'epidemia nei pazienti con COVID-19. Il razionale scientifico si basa sulla capacità, dimostrata in vitro, di prevenire l'ingresso del virus nella cellula ospite tramite l'inibizione del legame con il recettore cellulare di SARS-CoV-2⁷⁶. Gli iniziali risultati in pratica clinica sembravano indicare un beneficio nei soggetti trattati con Idrossiclorochina in monoterapia o associata ad altri farmaci, ma erano gravati da limitazioni nel disegno sperimentale dovute al contesto emergenziale in cui erano condotti.

In data 11 marzo 2020, la CTS di AIFA ha espresso parere favorevole all'inserimento di clorochina e idrossiclorochina nella lista dei medicinali per il trattamento COVID 19 insieme a ritonavir/lopinavir, darunavir.

Successivi trial randomizzati e controllati hanno potuto documentare l'assenza di un effetto significativo sui principali *outcome* clinici e mortalità, aggiungendo, per contro, eventi avversi di tipo cardiologico^{77, 78, 79}. Le principali linee guida hanno, quindi, sconsigliato l'uso di Clorochina e Idrossiclorochina, anche in associazione ad altri farmaci, nei pazienti con COVID-19, ricordando il possibile effetto negativo sul ritmo cardiaco associato all'uso di questi antimalarici.

⁷⁶ Yao X, Ye F, Zhang M, Cui C, Huang B, Niu P, Liu X, Zhao L, Dong E, Song C, Zhan S, Lu R, Li H, Tan W, Liu D. In Vitro Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis*. 2020 Jul 28;71(15):732-739.

⁷⁷ Tang W, Cao Z, Han M, et al. Hydroxychloroquine in patients with mainly mild to moderate coronavirus disease 2019: open label, randomised controlled trial. *bmj* 2020; 369.

⁷⁸ Cavalcanti AB, Zampieri FG, Rosa RG, Azevedo LCP, Veiga VC, Avezum A, et al. Hydroxychloroquine with or without azithromycin in mild-to-moderate Covid-19. *N Engl J Med*. 2020. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa2019014>

⁷⁹ Horby P and the RECOVERY Collaborative Group. Effect of Hydroxychloroquine in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med*. (2020b) Oct 8:NEJMoa2022926. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33031652/>.

AIFA ha recentemente sottolineato con una nota apparsa sul sito dell’Agenzia il 26 novembre 2020, che l’autorizzazione all’utilizzo off label dell’Idrossiclorochina è sospeso, sia per uso terapeutico che profilattico, fatta eccezione nel contesto di trial clinici⁸⁰.

Altri antivirali

Numerose altre molecole con una potenziale azione antivirale, diretta o indiretta, sono state testate durante l’*outbreak* di SARS-CoV-2. Per alcuni candidati la sperimentazione è stata interrotta, altri trial sono in corso e si attendono i risultati preliminari che ne giustifichino la prosecuzione dello sviluppo clinico. Tra i principali menzioniamo: Ribavirina, Colchicina, Umifenovir, Camostat mesylate, Nitazoxanide, Oseltamivir^{81, 82}.

Agenti anti coagulanti/antitrombotici/inibitori del complemento

In considerazione del coinvolgimento del sistema micro-vascolare e della presenza di tromboembolie venose e polmonari osservate su malati deceduti per COVID-19⁸³, vi è razionale biologico e clinico per l’utilizzo di molecole ad azione antitrombotica; le eparine a basso peso molecolare (EBPM) sono state identificate come i migliori candidati in quanto comunemente utilizzate nella profilassi del tromboembolismo venoso post chirurgico e del tromboembolismo venoso in pazienti non chirurgici affetti da una patologia acuta e mobilità ridotta.

Nel contesto del COVID-19 è possibile identificare due tipologie di utilizzo delle EBPM: nella fase iniziale della malattia, a dose profilattica, allo scopo di prevenire il tromboembolismo venoso e nella fase più avanzata, a dosi terapeutiche, per contenere i fenomeni trombotici a partenza dal circolo polmonare nei pazienti ricoverati.

Studi clinici hanno identificato nel soggetto con D-dimero a livelli molto elevati (>6 volte la norma), il paziente che possa massimamente beneficiare dell’uso delle EBPM, vantaggio valutato in termini di sopravvivenza^{84, 85}.

⁸⁰ <https://www.aifa.gov.it/en/web/guest/-/covid-19-aifa-limita-l-uso-di-remdesivir-in-casi-selezionati-e-consente-idrossiclorochina-solo-in-studi-clinici-randomizzati-a-domicilio>

⁸¹ Cantini, F., Goletti, D., Petrone, L. et al. Immune Therapy, or Antiviral Therapy, or Both for COVID-19: A Systematic Review. *Drugs* (2020). <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01421-w>

⁸² Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ, Cutrell JB. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review. *JAMA*. 2020. <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2764727> .

⁸³ Carsana L, Sonzogni A, Nasr A, et al. Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(10):1135-40.

⁸⁴ Helms J and the CRICS TRIGGERSEP Group. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med* 2020;46(6):1089-98.

⁸⁵ Paranjpe I, Fuster V, Lala A, et al. Association of treatment dose anticoagulation with in-hospital survival among hospitalized patients with COVID-19. *J Am Coll Cardiol* 2020;76(1):122-4.

L'uso delle eparine a basso peso molecolare (EBPM) è raccomandato o ammesso dalle principali linee guida, incluse quelle nazionali, e deve continuare per l'intero periodo dell'immobilità (Fig. 3). AIFA, nella nota del 26 novembre 2020 ha aggiornato la scheda delle eparine con le ultime evidenze, confermandone l'indicazione per l'uso sia profilattico che a dosaggi più elevati⁸⁶

Gli inibitori del complemento, Eculizumab e Ravulizumab, approvati dall'FDA per l'emoglobinuria parossistica notturna, sono stati usati in modo sporadico durante le prime fasi dell'emergenza pandemica. Il razionale a supporto di tale uso è dato dal fatto che il blocco dell'attivazione di alcune componenti del complemento può attenuare il danno polmonare in pazienti con infezione da SARS-CoV-2. Sono attualmente in corso vari studi per valutarne l'efficacia e sicurezza nei pazienti con COVID-19, tra cui uno di fase 3, randomizzato e controllato, in aperto, che confronta l'uso di Ravulizumab con lo *standard of care* in pazienti con forme avanzate della patologia e che dovrebbe portare risultati nella seconda metà del 2021⁸⁷.

Agenti immunomodulatori ed antinfiammatori

La conseguenza più grave dell'infezione virale è rappresentata dalla massiva e protratta produzione di citochine, mediatori solubili dell'infiammazione, definita "tempesta citochinica". Tale condizione porta a un severo stato infiammatorio, con un danno immuno-mediato maggiormente evidente a livello del tessuto polmonare, causando, in una certa percentuale dei casi, la perdita di funzionalità dell'organo e la morte. Questo meccanismo patogenetico ha focalizzato l'attenzione dei clinici su farmaci che mitigassero l'esasperata reazione del sistema immune, privilegiando molecole ad azione immunomodulatoria e antiinfiammatoria.

Desametasone

Similmente ad altri corticosteroidi, che ha specifiche caratteristiche antiinfiammatorie e immunosoppressive potenzialmente efficaci nel prevenire o limitare gli effetti della tempesta citochinica. Questo razionale, associato all'ampia disponibilità e al basso costo, ne ha guidato l'utilizzo nei pazienti con COVID-19 e ha motivato l'organizzazione di studi clinici atti a

⁸⁶ <https://www.aifa.gov.it/en/web/guest/-/covid-19-aifa-limita-l-uso-di-remdesivir-in-casi-selezionati-e-consente-idrossiclorochina-solo-in-studi-clinici-randomizzati-a-domicilio>.

⁸⁷ Smith K, Pace A, Ortiz S, Kazani S, Rottinghaus S. A Phase 3 Open-label, Randomized, Controlled Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Intravenously Administered Ravulizumab Compared with Best Supportive Care in Patients with COVID-19 Severe Pneumonia, Acute Lung Injury, or Acute Respiratory Distress Syndrome: A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*. 2020 Jul 13;21(1):639. doi: 10.1186/s13063-020-04548-z.

verificarne le potenzialità in questo setting^{88,89}. I dati preliminari sono concordi nel mostrare un significativo beneficio, in termini di ridotta mortalità, per i pazienti randomizzati nel braccio con Desametasone rispetto ai controlli, con specifica notazione per i pazienti che necessitavano di ossigenoterapia all'arruolamento, inclusa la ventilazione meccanica invasiva. Al contrario, in soggetti con patologia più lieve e con funzione respiratoria che non richiedeva supplementazione di O₂, lo steroide non ha mostrato un impatto significativo.

Tali risultati sono stati recepiti dalle linee guida sia nazionali che di NIH/ISDA e WHO, che ha prodotto uno specifico documento⁹⁰, indicando il Desametasone con il massimo grado di raccomandazione nei pazienti con ventilazione meccanica e con grado minore nei soggetti con supplementazione di O₂ sia ad alto che basso flusso. In questa categoria di pazienti, la combinazione Desametasone+Remdesivir viene consigliata da NIH/ISDA ed ha recentemente trovato conferme dell'efficacia nel prevenire evoluzioni severe e morte in vari studi di *real-life*⁹¹

Inibitori di IL-6, e IL-6r

Agenti diretti ad inibire le citochine chiave della risposta infiammatoria possono rappresentare un potenziale strumento per prevenire o limitare le conseguenze dell'infiammazione alimentata dalla "tempesta citochinica". Fin dai primi studi eseguiti in Cina, Interleuchina-6 (IL-6) è apparsa come uno dei principali attori della fisiopatologia di COVID-19⁹²; sulla base di queste informazioni sono stati proposti anticorpi monoclonali diretti contro IL-6 o contro il suo recettore cellulare (IL-6r). La maggior parte delle evidenze è stata prodotta per Tocilizumab, un antagonista di IL-6r, registrato per il trattamento di patologie reumatologiche. Dai primi dati sperimentali, raccolti su casistiche limitate e senza gruppo di controllo, l'uso di Tocilizumab nei pazienti con COVID-19 è stato associato a un significativo miglioramento dei principali outcome clinici⁹³. Questi dati non sono stati successivamente confermati da un ampio studio randomizzato e controllato che non ha evidenziato un impatto significativo di Tocilizumab sul

⁸⁸ Dequin PF, Heming N, Meziani F, et al. Effect of hydrocortisone on 21-day mortality or respiratory support among critically ill patients with COVID-19: a randomized clinical trial JAMA 2020;324(13):1298-306. doi:10.1001/jama.2020.16761.

⁸⁹ Horby P and RECOVERY Collaborative Group. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 — Preliminary Report N Engl J Med. (2020a) Oct 8: NEJMoa2022926. doi: 10.1056/NEJMoa2022926.

⁹⁰ <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Corticosteroids-2020.1>

⁹¹ Garibaldi et al. Comparison of Time to Clinical Improvement With vs Without Remdesivir Treatment in Hospitalized Patients With COVID-19. JAMA Netw. Open. 2021; Mar 1;4(3):e213071; Benfield et al. Improved survival among hospitalized patients with COVID-19 treated with remdesivir and dexamethasone. A nationwide population-based cohort study. Clin Infect Dis. . 2021 Jun 10;ciab536

⁹² Sheahan TP, Sims AC, Zhou S, Graham RL, Pruijssers AJ, Agostini ML, et al., 2020, "An orally bioavailable broad-spectrum antiviral inhibits SARS-CoV-2 in human airway epithelial cell cultures and multiple coronaviruses in mice". Science Translational Medicine. 12 (541): eabb5883.

⁹³ Xu X, Han M, Li T, et al. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. chinaXiv. Preprint posted March 5, 2020. doi:10. 12074/202003.00026.

quadro clinico e sulla mortalità⁹⁴. Ad oggi, sono comunque presenti nel database di *ClinicalTrials.gov* ben 25 trial clinici attivi con Tocilizumab, sia in monoterapia che in combinazione con altri agenti, in varie tipologie di pazienti con COVID-19, che andranno a meglio caratterizzare il range di utilizzo del farmaco. In una recente nota del 9 giugno 2021, AIFA, alla luce delle attuali conoscenze, derivate principalmente dalla pratica clinica degli ultimi tempi, ha garantito la rimborsabilità del farmaco dal SSN per il trattamento di soggetti adulti ospedalizzati con COVID-19 grave e/o con livelli elevati degli indici di infiammazione sistemica⁹⁵.

Analogamente a Tocilizumab, anche per altri inibitori di IL-6 o del suo recettore (i.e. Siltuximab, Sarilumab), le evidenze sperimentali⁹⁶ ⁹⁷, non hanno consentito di ottenere un'immediata raccomandazione all'uso al di fuori dei trial clinici; ma proprio recentemente, sulla scorta di nuove evidenze, anche sarilumab, è stato reso disponibile da AIFA per il trattamento del COVID-19 (inserimento elenco L.648/96).

Terapie anticorpali

Lo sviluppo di terapie a base di anticorpi monoclonali (mAb) è stato generalmente focalizzato sulle malattie oncologiche e autoimmuni, e non principalmente sul trattamento di malattie infettive. Per anni, l'elevato costo di produzione e la loro limitata efficacia hanno bloccato una più ampia applicazione di questi approcci in un settore dominato per quasi un secolo da antibiotici e vaccini efficaci ed economici. In particolare, l'uso di mAb contro malattie infettive ad oggi è limitato a poche infezioni: RSV, antrace, *Clostridium difficile* e rabbia. Tuttavia, con l'inizio della pandemia COVID-19, l'urgente necessità di trattamenti preventivi e terapeutici di rapido sviluppo hanno portato a un forte interesse ai mAb per il trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2.

Negli ultimi trent'anni la tecnologia per fare monoclonali per malattie infettive è migliorata enormemente, rendendo possibile isolare anticorpi 1000 volte più potenti, che necessitano, quindi, di quantità 1000 volte minori per essere efficaci, ed abbattano i costi di 1000 volte.

⁹⁴ Roche provides an update on the Phase III COVACTA trial of Actemra/RoActemra in hospitalised patients with severe COVID-19 associated pneumonia. 2020. Available at: <https://www.roche.com/investors/updates/inv-update-2020-07-29.htm> Accessed August 10, 2020.

⁹⁵ <https://www.aifa.gov.it/aggiornamento-sui-farmaci-utilizzabili-per-il-trattamento-della-malattia-covid19>

⁹⁶ Della-Torre E, Campochiaro C, Cavalli G, De Luca G, Napolitano A, La Marca S, et al. Interleukin-6 blockade with sarilumab in severe COVID-19 pneumonia with systemic hyperinflammation: an open-label cohort study. *Ann Rheum Dis*. 2020. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2020-218122>.

⁹⁷ Gritti G, Raimondi F, Ripamonti D, Riva I, Landi F, Alborghetti L, et al. Use of siltuximab in patients with COVID-19 pneumonia requiring ventilatory support. *medRxiv* (2020) preprint <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.01.20048561v1>

Come esempio, si veda la Figura 4, in cui anticorpi anti-HIV-1 di seconda generazione (pallini pieni) hanno una *potency* e *breadth* molto superiori a quelli di prima generazione (pallini vuoti)⁹⁸.

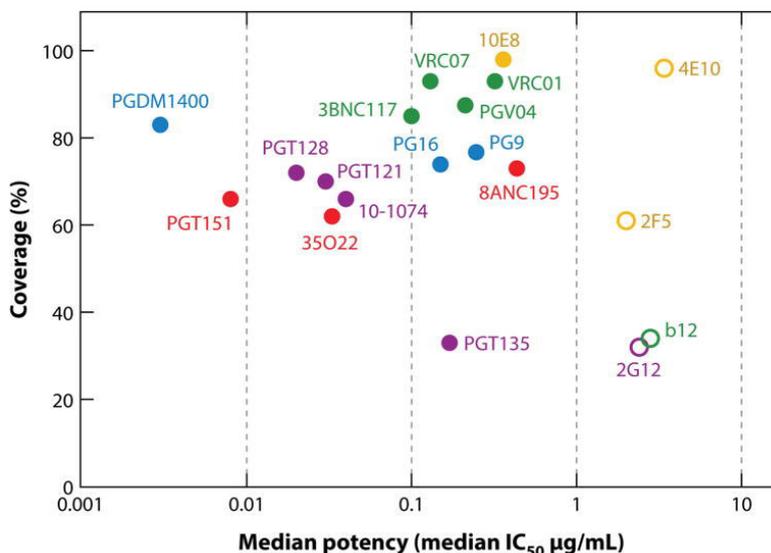


Figura 4. Caratteristiche degli anticorpi anti-HIV-1⁹⁹.

Anticorpi virus-specifici sono presenti nella maggior parte dei pazienti guariti da COVID-19, e possono essere utilizzati come terapia per altre persone. Questo approccio bioterapeutico si basa sulla capacità degli anticorpi di neutralizzare l'ingresso del virus nelle cellule umane, tramite il blocco della principale proteina virale di superficie Spike. I trattamenti basati su anticorpi si dividono in due:

Siero iperimmune

Questo è il primo tipo di terapia a base di anticorpi disponibile nelle prime fasi dell'emergenza da COVID-19, quando altri trattamenti non erano disponibili. Il trasferimento di plasma da pazienti guariti da una infezione (siero iperimmune) è un approccio in uso da oltre un secolo e, in base a dati clinici di studi osservazionali ottenuti in Cina, Stati Uniti e Italia, sembra ridurre mortalità e morbilità di soggetti infetti da SARS-CoV-2 ricoverati in terapia intensiva. In particolare, uno studio condotto negli ospedali di Pavia e Mantova ha riportato una riduzione della mortalità di pazienti COVID-19 ospedalizzati a seguito di somministrazione di siero iperimmune¹⁰⁰.

⁹⁸ D. R. Burton, L. Hangartner, Broadly Neutralizing Antibodies to HIV and Their Role in Vaccine Design. *Annu Rev Immunol* 34, 635-659, 2016.

⁹⁹ D. R. Burton, L. Hangartner, op. cit., 2016.

¹⁰⁰ P. Cesare *et al.*, Mortality reduction in 46 severe Covid-19 patients treated with hyperimmune plasma. A proof of concept single arm multicenter trial. *Haematologica*, 2020.

È importante sottolineare che l'uso di sieri iperimmuni è stato approvato da FDA con Emergency Use Authorization (EUA) sulla base di evidenze che suggeriscono un benefit associato ad amministrazione di preparati ad alto titolo anticorpale nelle fasi iniziali della patologia¹⁰¹.

L'uso di siero iperimmune ha il vantaggio di poter essere rapidamente disponibile, in centri adeguatamente preparati a preparare, qualificare e conservare questo tipo di prodotto, ma permette generalmente il trattamento di un solo paziente per donatore e non è possibile standardizzare la sua efficacia. Nonostante gli incoraggianti dati ottenuti finora, si necessita di studi controllati più ampi per valutare i benefici del plasma convalescente, per valutarne l'efficacia e la sicurezza, e per affrontare anche la preoccupazione di una possibile esacerbazione della malattia da siero policlonale (*antibody-dependent enhancement*, ADE).

Anticorpi monoclonali

L'isolamento di potenti anticorpi monoclonali (mAb) da pazienti guariti da COVID-19 è un approccio che permette di ottenere un singolo anticorpo ad elevata efficacia, capace di essere poi ingegnerizzato e prodotto su larga scala.

Il numero di manoscritti scientifici che descrivono trattamenti a base di mAb per COVID-19 sta aumentando esponenzialmente, sottolineando un forte impulso alla ricerca. Studi su mAb hanno portato alla realizzazione di test clinici, terapie efficaci, e hanno permesso di capire come SARS-CoV-2 sfugge al sistema immunitario modificando la proteina spike in modo da non essere riconosciuto dagli anticorpi, creando così nuove varianti del virus originale. Durante la pandemia, nuovi mAb sono stati scoperti, prodotti e avanzati a studi clinici in soli 6 mesi, dimezzando di fatto i tempi di sviluppo tradizionali, grazie a una convergenza universale di tecnologie e strategie. L'uso di mAb in modelli preclinici e i risultati nell'uomo sono stati promettenti, dimostrando un rapido effetto sulla diminuzione della carica virale e sul miglioramento dei sintomi associati a COVID-19.^{102,103}

¹⁰¹ DA, COVID-19 Convalescent Plasma EUA Decision Memo 8/23/20. <https://www.fda.gov/media/141480/download>, 2020.

¹⁰² Lilly announces proof of concept data for neutralizing antibody LY-CoV555 in the COVID-19 outpatient setting. <https://investor.lilly.com/news-releases/news-release-details/lilly-announces-proof-concept-data-neutralizing-antibody-ly>.

¹⁰³ Regeneron's REGN-COV2 Antibody Cocktail Reduced Viral Levels and Improved Symptoms in Non-Hospitalized COVID-19 Patients. <https://investor.regeneron.com/news-releases/news-release-details/regenerons-regn-cov2-antibody-cocktail-reduced-viral-levels-and>.

Attualmente almeno 20 gruppi di ricerca hanno identificato e testato mAb in trial clinici, e il progresso di questi prodotti è in costante evoluzione¹⁰⁴ (Tabella 3).

Quelli più avanzati comprendono formulazioni di un singolo monoclonale, Vir e Celltrion, così come le combinazioni di due monoclonali, una strategia adottata da AstraZeneca (in formulazione IM), Eli Lilly e Regeneron (quest'ultima in prima pagina sui giornali per aver contribuito al trattamento del presidente US Donald Trump in ottobre). Lo sviluppo di mAb, in fasi cliniche iniziali, è anche perseguito da Beigene, Hengenix, Sorrento Therapeutics e altri. Le terapie LY-CoV555/LY-CoV016 (Eli Lilly) e REGN-COV2 (Regeneron) sono approvate da FDA e EMA per il trattamento di COVID19 lieve-moderato in pazienti non ospedalizzati a rischio di progredire verso forme più gravi della patologia. In Europa, anche CT-P59 (Celltrion) è approvato da EMA¹⁰⁵.

Oltre all'utilizzo in trattamento, altri studi in fase avanzata stanno valutando l'efficacia dei mAbs anche per l'utilizzo in profilassi sia pre che post esposizione al virus, tra questi anche AstraZeneca, Regeneron ed Eli Lilly. Tra questi solo AstraZeneca ha completato con successo la sperimentazione per l'indicazione nella profilassi con i risultati dello studio Provent ed ha iniziato il processo di autorizzazione in Emergenza all'FDA e la rolling review EMA alla fine di settembre.

In Italia, il team di ricercatori del Monoclonal Antibody Discovery (MAD) Lab di Toscana Life Sciences, ha isolato tre potenti mAb da pazienti COVID-19 degli ospedali Le Scotte di Siena e Spallanzani di Roma¹⁰⁶, attualmente in sperimentazione clinica. Anche l'università Tor Vergata di Roma sta sviluppando mAb sintetici, in collaborazione con le Università di Washington St Louis e Toronto. In questo caso si tratta di anticorpi derivati dallo screening di una libreria sintetica¹⁰⁷.

Attualmente in Italia nell'indicazione in trattamento vengono utilizzati i seguenti anticorpi monoclonali il cui utilizzo è monitorato mediante registri approvati da AIFA:

- bamlanivimab/etesevimab
- casirivimab/imdevimab

¹⁰⁴ The Antibody Society, Clinical studies evaluating anti-SARS-CoV-2 monoclonal antibodies. <https://www.antibodysociety.org/covid-19-biologics-tracker/>, 2020.

¹⁰⁵ COVID-19 treatments: Article 5(3) reviews. <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/treatments-covid-19/covid-19-treatments-article-53-reviews>

¹⁰⁶ E. Andreano *et al.*, Extremely potent human monoclonal antibodies from convalescent Covid-19 patients. *Cell* 2021 Apr 1;184(7):1821-1835.e16. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33667349/>

¹⁰⁷ S. Miersch *et al.*, Synthetic antibodies neutralize SARS-CoV-2 infection of mammalian cells. *bioRxiv*, 2020.2006.2005.137349, 2020.

Tabella 3. Anticorpi monoclonali in valutazione clinica¹⁰⁸.

Sponsors	Prodotto	Status	Trial ID	Regulatory status	
AbCellera / Eli Lilly and Company	LY-CoV555 (LY3819253);	Phase 1	NCT04537910 (SC) NCT04411628 (IV)	FDA: EUA Nov'20; EUA revocata Apr'21; EMA: rolling review iniziata a Mar'21; Revisone secondo art 5(3) Mar'21 AIFA: EUA Mar'21; EUA revocata May'21	
		Phase 2	NCT04701658 (<i>Blaze-5</i>) (IV)		
		Phase 2/3	NCT04518410 (<i>Active-2</i>) (IV)*		
		Phase 3	NCT04501978 (<i>Active-3</i>) (IV)* <i>stopped</i>		
		Phase 4	NCT04796402 (<i>B-EPI/C</i>) (IV)		
*NIH/NIAID	Combinazione di LY-CoV555 e LY-CoV016 (LY3832479)	Phase 2/3	NCT04427501 (<i>Blaze-1</i>) (IV)	FDA: EUA Feb'21; EMA: rolling review iniziata a Mar'21; Revisone secondo art 5(3) Mar'21 AIFA: EUA Mar'21	
	LY-CoV555 (LY3819253); combinazione di LY-CoV555 e LY-CoV016 (LY3832479); Combinazione con VIR-7831	Phase 3	NCT04497987 (<i>Blaze-2</i>) (IV);		
		Phase 2	NCT04634409 (<i>Blaze-4</i>) (IV)		
Abbvie	ABBV-47D11	Phase 1	NCT04644120		
Adagio Therapeutics	ADG20	Phase 2/3	NCT04805671 NCT04859517		
AstraZeneca	AZD7442 (AZD8895 + AZD1061)	Phase 1	NCT04507256 (IM/IV)		
		Phase 2/3	NCT04518410 (<i>Active-2</i>)* (IM/IV)		
		Phase 3	NCT04625725 (<i>Provent</i>) (IM)		
			NCT04625972 (<i>StormChaser</i>) (IM)		
			NCT04723394 (<i>Tackle</i>) (IM)		
			NCT04501978 (<i>Active-3</i>)* (IV)		
			NCT04315948 (<i>DisCoVeRy</i>)**		
*NIH/NIAID ** INSERM					
Beigene	BGB-DXP593	Phase 1	NCT04532294 (IV);		
		Phase 2	NCT04551898 (IV)		
	BGB-DXP593; combinazione di BGB-DXP593 e BGB-DXP604	Phase 1	NCT04669262 (IV);		
Brii Biosciences	BRII-196	Phase 1	NCT04479631 (IV)		
		Combinazione di BRII-196 e BRII-198	Phase 1		NCT04691180 (IV)
			Phase 2		NCT04787211 (IV); NCT04770467 (IV)
			Phase 2/3		NCT04518410 (<i>Active-2</i>)* (IV)
			Phase 3		NCT04501978 (<i>Active-3</i>)* (IV) (<i>stopped</i>)
*NIH/NIAID	BRII-198	Phase 1	NCT04479644 (IV)		
Bristol-Myers Squibb, Rockefeller University	C144-LS + C-135-LS	Phase 1	NCT04700163		
Celltrion	CT-P59	Phase 1	NCT04593641; NCT04525079	EUA EMA: rolling review iniziata a Feb e Mar'21; Revisone secondo art 5(3) Mar'21	
		Phase 2/3	NCT04602000;		
Hengenix Biotech Inc	HLX70	Phase 1 <i>pending</i>	NCT04561076 (IV)		
HiFiBio Therapeutics	HFB30132A	Phase 1	NCT04590430 (IV)		
Junshi Biosciences / Eli Lilly and Company	JS016	Phase 1	NCT04441918 (IV)		
		Phase 1/2	NCT04780321 (IV)		
Mabwell (Shanghai) Bioscience	MW33	Phase 1	NCT04533048		
		Phase 2	NCT04627584		
Ology Bioservices	ADM03820	Phase 1	NCT04592549 (IM)		
Regeneron	REGN-COV2 (REGN10933, casirivimab + REGN10987, imdevimab)	Phase 1/2	NCT04425629 (IV); NCT04426695 (IV)	FDA: EUA Nov'20; EMA: rolling review iniziata a Mar'21; Revisone secondo art 5(3) Feb'21	
		Phase 2	NCT04852978 (IV); NCT04666441 (IV/SC)		
		Phase 2/3	NCT04381936 (<i>Recovery</i>) (IV)		

		Phase 3	NCT04452318 (SC/IM)	AIFA: EUA Mar'21
Sinocelltech Ltd.	SCTA01	Phase 1	NCT04483375	
		Phase 2/3	NCT04644185; NCT04683328; NCT04709328 (IV)	
Sorrento Therapeutics, Inc.	COVI-GUARD (STI-1499)	Phase 1	NCT04454398 <i>withdrawn</i>	
	COVI-AMG (STI-2020)	Phase 1/2	NCT04584697 <i>withdrawn</i> NCT04738175 (IV)	
		Phase 2	NCT04771351 (IV); NCT04734860	
Toscana Life Sciences Sviluppo (TLSS)	MAD0004J08	Phase 1;	EudraCT Number: 2020-005469-15	
		Phase 2/3 pending	EudraCT Number: 2020-005532-29	
Tychan Pte. Ltd.	TY027	Phase 1	NCT04429529 (IV)	
		Phase 3	NCT04649515 (IV)	
Univ. Cologne / Boehringer Ingelheim	BI 767551, DZIF-10C	Phase 2/3	NCT04631705; NCT04631666; NCT04822701	
Vir Biotechnol./ GlaxoSmithKline	VIR-7831/ GSK4182136	Phase 2	NCT04779879 (<i>Comet-Peak</i>) (IV);	Richiesta di autorizzazione uso di emergenza sottomessa Revisione secondo art 5(3) Mag'21
		Phase 3	NCT04545060 (<i>Comet-Ice</i>) (IV)	

Gli anticorpi monoclonali non hanno ancora ricevuto l'approvazione dell'Agenzia europea per i medicinali (EMA) e in Italia sono stati autorizzati in via temporanea con Decreto del Ministro della salute 6 febbraio 2021 pubblicato nella Gazzetta Ufficiale dell'8 febbraio 2021, n. 32, e con Decreto del 12 luglio 2021 (GU n 180 del 29/07/2021).

In particolare, sono stati oggetto di autorizzazione temporanea l'anticorpo monoclonale bamlanivimab (il cui utilizzo in monoterapia non è attualmente consentito) e l'associazione di anticorpi monoclonali bamlanivimab-etesevimab, prodotti dall'azienda farmaceutica Eli Lilly, nonché l'associazione di anticorpi monoclonali casirivimab-imdevimab dell'azienda farmaceutica Regeneron/Roche, e l'anticorpo sotrovimab prodotto dalla ditta GSK.

La distribuzione dei medicinali è effettuata dal Commissario straordinario per l'attuazione e il coordinamento delle misure di contenimento e contrasto dell'emergenza epidemiologica COVID-19 di cui all'art. 122 del decreto-legge 17 marzo 2020, n. 18, secondo modalità e procedure dallo stesso definite.

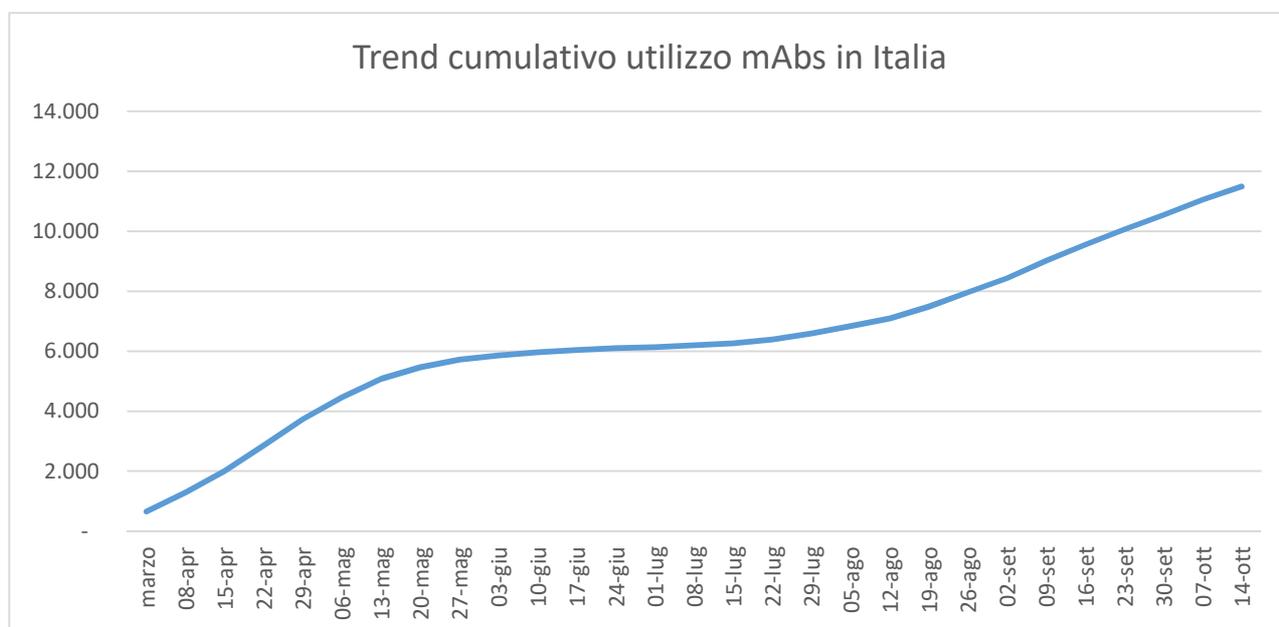
Dal punto di vista regolatorio e autorizzativo, i sensi dell'art. 5, comma 2, del decreto legislativo 24 aprile 2006, n. 219, nelle more del perfezionamento delle procedure finalizzate all'autorizzazione all'immissione in commercio, è stata autorizzata la temporanea distribuzione dei medicinali a base di anticorpi monoclonali per il trattamento di COVID-19, privi di una autorizzazione all'immissione in commercio nel territorio europeo e nazionale.

Con successivi provvedimenti, l’Agenzia italiana del farmaco ne ha definito modalità e condizioni d’impiego in coerenza con la scheda informativa dei prodotti approvata dalla medesima Agenzia.

Infine, l’AIFA ne ha istituito un registro dedicato all’uso appropriato e al monitoraggio degli stessi i cui risultati vengono pubblicati sul sito dell’Agenzia con cadenza settimanale.

L’ultimo report ad oggi disponibile (n° 28) aggiorna i dati del monitoraggio con la settimana dall’8 al 14 ottobre 2021.

Dopo circa 211 giorni di monitoraggio (dal primo anticorpo autorizzato) i pazienti che hanno ricevuto almeno una prescrizione sono pari a 11.488. Il trend di utilizzo ha visto un periodo di crescita iniziale per poi quasi fermarsi tra la fine di maggio e la fine di luglio per poi riprendere la crescita fino all’ultima settimana monitorata.



Sicuramente l’andamento dell’utilizzo di queste terapie, essendo per il momento autorizzate solo per il “trattamento” del Covid, sono direttamente dipendenti dall’incidenza di nuovi casi sintomatici. A prescindere dal tasso di crescita settimanale, tuttavia questi numeri sembrano ancora molto bassi rispetto al potenziale dei pazienti eleggibili secondo i criteri stabiliti dalla scheda AIFA.

Tra i fattori che hanno impattato sull’accessibilità a queste terapie sicuramente una problematica organizzativa. L’identificazione del paziente, la presa in carico precoce, la somministrazione da effettuarsi nella fase iniziale della sintomatologia, si sono scontrate con la prescrivibilità a carico di specifici centri prescrittori, la necessità di dover somministrare il

farmaco in un ambiente ospedaliero, le formulazioni disponibili solo per via IV e con una comunicazione tra Ospedale e Territorio ancora migliorabile.

Un'azione messa in campo per dare impulso all'utilizzo dei mAbs è stata data nel mese di giugno con la modifica del Registro relativamente alla seguente indicazione: "Trattamento della malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) lieve o moderata, negli adulti e adolescenti di età pari o superiore a 12 anni non ospedalizzati per COVID-19, che non necessitano di ossigenoterapia supplementare per COVID-19 e che sono ad alto rischio di progressione a COVID-19 severa."

Il Registro è stato modificato, rispetto alla iniziale versione, ampliando l'elenco dei "fattori di rischio", anche in relazione al fattore rappresentato dall'età del paziente, e consente il trattamento di ogni paziente con 65 anni o più, indipendentemente dalla presenza di altri fattori di rischio. Il Registro consente ora il trattamento anche di pazienti che, pur avendo avuto un esordio dei sintomi da Covid-19 da più di 10 giorni, presentano la concomitante presenza di alcune condizioni: immunodeficienza, primitiva o secondaria, tampone molecolare positivo, test sierologico negativo.

Infine, in attuazione della Determinazione AIFA n.912, è stata introdotta una nuova indicazione terapeutica: "Trattamento di pazienti ospedalizzati per COVID-19, anche in ossigenoterapia supplementare (con l'esclusione dell'ossigenoterapia ad alti flussi, o in ventilazione meccanica), con sierologia negativa per gli anticorpi IgG anti- Spike di SARSCoV-2".

Le popolazioni eleggibili al trattamento con i mAbs, si allargano quindi al trattamento dei pazienti sintomatici sia non ospedalizzati che ospedalizzati, tuttavia come dimostrano i report di monitoraggio settimanale, queste terapie non trovano ancora un'ottimale copertura e sono ancora solo parzialmente utilizzate.

E' importante quindi migliorare i processi di presa in carico rispetto alle indicazioni già disponibili così come valutare setting e indicazioni alternative man mano che gli studi clinici ne confermeranno i risultati.

Ad oggi sono stati valutati da EMA e resi disponibili in Italia soltanto anticorpi in formulazione IV nel trattamento di pazienti sintomatici. La futura disponibilità di formulazioni di più semplice somministrazione come quelle intramuscolari potrebbe realmente facilitare un utilizzo non ospedaliero coinvolgendo invece la Medicina Generale, e allargare il place in therapy al setting della profilassi.

La presa in carico e la somministrazione extra-ospedaliera, seppur in un contesto territoriale/ambulatoriale che consenta una pronta ed appropriata gestione di eventuali reazioni avverse gravi, così come in ambito di terapia domiciliare, sono esperienze che le Regioni stanno già cercando di implementare attraverso specifici percorsi, a dimostrazione che questa rappresenta una reale esigenza.

Questi elementi potrebbero essere di grande interesse per le conseguenze organizzative che potrebbero favorire l'obiettivo di mettere in sicurezza il cittadino/paziente, prendendolo in carico quanto più precocemente possibile, di non sovraccaricare ospedali e strutture di pronto soccorso, di ridurre i costi di gestione e rafforzando la vicinanza ospedale-territorio.

Anche la recente "Circolare Ministero della Salute 26 aprile 2021 - Gestione domiciliare dei pazienti con infezione da SARS-CoV-2" ha posto particolare attenzione su tutti questi aspetti.

Considerazioni

Vaccinazione attiva e somministrazione passiva di mAb sono due approcci complementari per combattere la diffusione del virus e curare le persone infette. I mAb possono, infatti, essere usati sia come terapia che come profilassi per i soggetti esposti a rischio. Nel caso di Ebola, i mAb sono il primo farmaco (e ancora l'unico) ad essere approvato da FDA, sottolineando l'importanza di questo approccio nel combattere le malattie infettive. Un trattamento di questo tipo prevede una finestra di protezione di circa 3 settimane, data dalla stabilità media degli anticorpi, che può essere estesa fino a 6 mesi grazie a ingegnerizzazione del mAb stesso.

Negli ultimi anni è stata riscontrato non solo una riduzione dei tempi di produzione, ma anche dei costi, da migliaia di dollari a circa 100-200 dollari a grammo, favorendo l'uso di questa terapia. Mentre la comunità scientifica lavora allo sviluppo di diversi approcci di vaccinazione e farmaci, i mAb saranno molto probabilmente uno dei primi trattamenti a raggiungere le popolazioni a rischio. In questo ambito, equità di accesso dovrà essere garantita, un importante punto sollevato recentemente in un recente report di Wellcome Trust e IAVI¹⁰⁹.

¹⁰⁹ Wellcome & IAVI, Expanding access to monoclonal antibody-based products: A global call to action <https://wellcome.org/sites/default/files/expanding-access-to-monoclonal-antibody-based-products.pdf>, 2020.

CONCLUSIONI

L'inaspettata gravità della pandemia ha costretto i vari Stati interessati a reagire in modo rapido con misure d'emergenza che hanno messo a dura prova il sistema dal punto di vista sociale, economico e sanitario. La seconda e terza ondate di contagi, come atteso, hanno confermato che l'infezione da coronavirus non è un fenomeno che supereremo rapidamente, ma che rischia di permanere a lungo, costringendoci a riflettere su pianificazioni prospettiche di medio-lungo periodo.

In questo contesto, la ricerca scientifica può dare un grande contributo, fornendo gli strumenti diagnostici, preventivi e terapeutici per arginare il fenomeno pandemico e portare a un controllo del COVID-19.

L'evoluzione delle terapie per il prossimo futuro

La sfida più ardua per quanto riguarda la terapia del COVID-19 sarà quella di riuscire a trattare precocemente i pazienti, possibilmente nel loro domicilio, con farmaci efficaci e maneggevoli che riescano a bloccare sul nascere la replicazione virale e anticipare le gravi conseguenze causate dalla reazione infiammatoria. In questo contesto, sono in corso varie sperimentazioni finalizzate a espandere l'utilizzo di molecole già in uso o a valutare le potenzialità di farmaci sperimentali nel contesto del COVID-19.

Remdesivir (RDV) è attualmente il solo antivirale indicato per il trattamento dei pazienti con COVID-19, con una formulazione che prevede l'uso infusionale per 5 giorni in pazienti ospedalizzati.

Lo sviluppo clinico di RDV è in corso di completamento anche nel setting dei pazienti pediatrici; l'attuale scheda tecnica ne consente l'utilizzo negli adolescenti di età uguale o superiore a 12 anni e lo studio Caravan, in aperto, di fase 2/3, porterà dati di efficacia e sicurezza in pazienti da 0 a 12 anni ospedalizzati, con infezione da SARS-CoV-2 (NCT04431453).

Sono stati recentemente presentati al convegno IDWeek 2021 e resi pubblici con un press release¹¹⁰ i dati relativi al trial PINETREE, di fase 3, randomizzato e controllato vs placebo, in cieco (NCT04501952); l'obiettivo dello studio è stato di valutare efficacia e sicurezza di RDV somministrato per 3 giorni in pazienti non ospedalizzati, ma con rischio di progressione verso forme severe di COVID-19. Il trattamento con RDV ha mostrato di ridurre significativamente il

¹¹⁰ <https://investors.gilead.com/news-releases/news-release-details/vekluryr-remdesivir-significantly-reduced-risk-hospitalization>

rischio di ospedalizzazione o morte per ogni causa al giorno 28 dalla randomizzazione, con una diminuzione del 87% rispetto alla popolazione di controllo ($p=0.008$) e una riduzione pari allo 81% della necessità di visite mediche ($p=0.002$).

La possibilità di agire in maniera complementare su entrambe le fasi della patologia da SARS-CoV-2, combinando l'azione antivirale e quella immunomodulante è stata oggetto di vari studi che hanno già raggiunto la fase 3 di sperimentazione clinica. In questi trial, attualmente in corso, si sta valutando, tra l'altro, l'associazione di Remdesivir sia con antagonisti di IL-6r, come Tocilizumab (NCT04409262), che con inibitori delle kinasi, specificamente di Janus kinasi (JAK1/2) quale il Baricitinib (NCT04401579), al fine di estendere il beneficio di un approccio farmacologico a un più ampio range di pazienti¹¹¹. Recentissima è l'approvazione con la formula EUA (Emergency Use Authorization) della combinazione Remdesivir-Baricitinib da parte della Food and Drug Administration in pazienti con infezione da SARS-CoV-2 ospedalizzati che richiedano supplementazione di O₂, inclusa ventilazione meccanica invasiva e ECMO¹¹².

Un altro trial di associazione che ha raggiunto la fase 3 è ACTIVE-3 che vede la combinazione di anticorpi monoclonali (Bamlanivimab - LY-CoV555) e un antivirale ad azione diretta (Remdesivir) in soggetti ospedalizzati (NCT04501978).

Molnupiravir (MK-4482 - MSD) è un analogo nucleotidico inizialmente sviluppato contro l'influenza; in test preliminari di laboratorio e sull'uomo ha mostrato di possedere un'elevata attività antivirale su SARS-CoV-2¹¹³, risultati che hanno consentito di organizzare due ampi studi di fase 2/3, randomizzati e controllati, in cieco, focalizzati su pazienti con COVID-19 sia ospedalizzati che non ospedalizzati. Molnupiravir viene somministrato per via orale, il che potenzialmente consentirebbe una gestione anche al di fuori delle strutture ospedaliere ed in soggetti pauci/asintomatici.

Il completamento degli studi è previsto per la fine del 2021 (NCT04575597), ma il 1 ottobre 2021 sono stati resi pubblici i risultati di un'analisi ad interim su circa la metà dei pazienti dello studio di fase 3 MOVE-OUT (NCT04575597)¹¹⁴. MOVE-OUT è un trial randomizzato, controllato vs placebo, in cieco, che ha reclutato a livello globale pazienti non ospedalizzati con COVID-19

¹¹¹ Kalil AC, Patterson TF, Mehta AK, Tomashek KM, Wolfe CR, Ghazaryan V, Marconi VC et al. Baricitinib plus Remdesivir for Hospitalized Adults with Covid-19. N Engl J Med. 2020 Dec 11. <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2031994>

¹¹² <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-drug-combination-treatment-covid-19>.

¹¹³ Sheahan TP, Sims AC, Zhou S, Graham RL, Pruijssers AJ, Agostini ML, et al., op. cit., 2020.

¹¹⁴ <https://www.merck.com/news/merck-and-ridgebacks-investigational-oral-antiviral-molnupiravir-reduced-the-risk-of-hospitalization-or-death-by-approximately-50-percent-compared-to-placebo-for-patients-with-mild-or-moderat/>

di grado lieve o moderato e con almeno un fattore di rischio per un'evoluzione severa, entro 5 giorni dall'inizio della sintomatologia. Lo studio è mirato a stabilire la capacità del farmaco di ridurre l'ospedalizzazione e la morte al giorno 29 dalla randomizzazione.

I risultati anticipati nel press release indicano che Molnupinavir riduce significativamente il rischio di ospedalizzazione o morte di circa il 50% (7.3% vs 14.1 % del gruppo placebo; $p=0.0012$); nessun paziente che aveva ricevuto il farmaco è andato incontro a morte rispetto a 8 decessi registrati nel gruppo placebo. Considerati i dati positivi della *interim analysis*, Merck ha deciso di interrompere l'arruolamento che comunque è attualmente arrivato a circa il 90% dei pazienti previsti e produrrà successivamente i risultati finali.

L'Azienda dichiara di aver iniziato le procedure di richiesta di "Emergency Use Authorization (EUA)" alla FDA a cui dovrebbe seguire il "filing" alle altre agenzie regolatorie al fine di rendere disponibile Molnupinavir per i pazienti con COVID-19 nel più breve tempo possibile¹¹⁵. In questa direzione, la rischiosa decisione di iniziare la produzione prima di avere la certezza dell'efficacia del farmaco; 10 milioni di trattamenti dovrebbero essere disponibili entro la fine del 2021.

Un'altra molecola con alta potenza antivirale nei confronti di SARS-CoV-2 è il PF07304814 di Pfizer. Anche se ancora in fase precoce di sviluppo clinico, il PF07304814 nei test preclinici ha mostrato di inibire la proteasi virale con grande efficacia¹¹⁶. La sperimentazione sull'uomo è iniziata e si attendono i primi risultati entro la fine del 2021 (NCT04535167¹¹⁷).

Sarà importante e urgente definire le migliori opzioni anche per quei soggetti che evolvono verso una fase avanzata della patologia e che necessitano di un intervento atto ad arginare l'eccessiva risposta infiammatoria.

Oltre ai già menzionati inibitori di IL-6 e IL-6r, incoraggianti risultati preliminari sono stati ottenuti con altre classi di molecole ad azione immunomodulante; tra le maggiormente studiate, gli antagonisti di IL-1 (Canakinumab) e del suo recettore (Anakinra) sono oggetto di numerosi trial volti a definirne le potenzialità nel ridurre l'impatto del massivo rilascio di citochine in pazienti con COVID-19.

¹¹⁵ <https://www.merck.com/news/merck-and-ridgeback-announce-submission-of-emergency-use-authorization-application-to-the-u-s-fda-for-molnupiravir-an-investigational-oral-antiviral-medicine-for-the-treatment-of-mild-to-moderate-c/>

¹¹⁶ Boras B, Jones RM, Anson BJ, Arenson D, Aschenbrenner L, Bakowski MA, Beutler N, Binder J, Chen E, Eng H, Hammond J et al. Discovery of a Novel Inhibitor of Coronavirus 3CL Protease as a Clinical Candidate for the Potential Treatment of COVID-19. bioRxiv. 2020 Sep 13:2020.09.12.293498 <https://europepmc.org/article/med/32935104>

¹¹⁷ <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-investor-day-features-significant-number-pipeline>

Gli Inibitori delle Kinasi (JAK Inhibitors: Baricitinib e Ruxolitinib) interrompono la trasmissione del segnale che innesca la produzione e secrezione di un ampio numero di citochine e sono attualmente in sperimentazione, anche associati ad altri farmaci, in pazienti con COVID-19 moderato e avanzato. Interessante notare come Baricitinib abbia mostrato, oltre all'attività immunomodulante, anche un effetto inibitorio sull'ingresso del virus nella cellula grazie alla regolazione delle vie di endocitosi, ipotizzando un'azione sinergica su entrambi i meccanismi patogenetici¹¹⁸.

Recentemente, le opzioni terapeutiche si sono ampliate grazie ad alcuni dei farmaci immunomodulatori sopracitati, con anakinra e baricitinib, resi disponibili da AIFA per il trattamento del COVID-19. (con inserimento elenco L.648/96)

Questi tre farmaci, si aggiungono al tocilizumab nel trattamento di soggetti COVID-19 ospedalizzati con polmonite grave che ricevono vari livelli di supporto dell'ossigenoterapia. Questa decisione, sulla base delle prove del recente.

Un diverso meccanismo di azione è utilizzato dagli inibitori di CXCL8 (Reparixin - Dompé Farmaceutici), un'altra classe di molecole in corso di sperimentazione per ridurre gli effetti della risposta infiammatoria in soggetti con COVID-19 e quadro clinico severo. Reparixin, infatti, in modelli animali e test in vitro, ha dimostrato la capacità di ridurre la chemotassi, ovvero il reclutamento, di cellule del sistema immunitario (linfociti polimorfonucleati, eosinofili, neutrofili) e limitare il conseguente danno tissutale mediato dal processo infiammatorio acuto¹¹⁹. E' in corso un trial di fase 3 (NCT04878055) volto a definire sicurezza ed efficacia di Reparixin in pazienti ospedalizzati con polmonite severa da SARS-CoV2 i cui risultati dovrebbero essere diffusi entro il termine del 2021.

Recentemente, sono state individuate, con piattaforme informatiche e di modellizzazione, diverse molecole promettenti in grado di combattere il virus SARS-CoV-2, le quali mostrano basse concentrazioni plasmatiche ed alte concentrazioni nei polmoni. Tra queste, Raloxifene è stata individuata come promettente molecola per il trattamento di pazienti COVID-19 con sintomi lievi/moderati, per via della sua duplice azione: modulatore della replicazione ed attività del virus SARS-CoV-2 ed interazione con i recettori estrogenici, potenzialmente implicati nella protezione contro il virus attraverso una cascata di eventi che includono un

¹¹⁸ Stebbing J, Phelan A, Griffin I, Tucker C, Oechsle O, Richardson P. COVID-19: combining antiviral and anti-inflammatory treatments. *Lancet Infect Dis.* 2020. [https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600\(20\)30132-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600(20)30132-6/fulltext)

¹¹⁹ Zarbock A, Allegretti M, Ley K: Therapeutic inhibition of CXCR2 by Reparixin attenuates acute lung injury in mice. *Br J Pharmacol* 2008;155:357-364.

effetto antinfiammatorio. Al fine di meglio caratterizzare il potenziale di questa molecola dal duplice meccanismo d'azione, è in corso un trial di fase 3, con l'obiettivo di valutare l'efficacia di Raloxifene prevenire l'evoluzione del COVID-19 verso forme di malattia gravi e critiche e la sua capacità di ridurre il tempo medio di diffusione virale, in pazienti affetti da COVID-19 che non hanno ancora mostrato sintomi severi di patologia (Numero EudraCT: 2020-003936-25).

La Pandemia da SARS-CoV-2, con le relative indicazioni a limitare spostamenti e contatti in fisico, sta profondamente cambiando le modalità di diagnosi e prestazione delle cure, e molto di quanto si sta osservando durante questa crisi si potrà consolidare nelle nuove prassi del futuro prossimo. Per tutti gli stakeholder del sistema salute, dagli operatori sanitari, alle istituzioni, ai regolatori e certamente non ultimi i cittadini e i pazienti, questa crisi produrrà effetti di lungo termine. Tra questi una trasformazione importante del percorso diagnostico-terapeutico in tutte le sue fasi; percorso che oggi deve essere collocato in un contesto di crescente consapevolezza relativa ai bisogni di salute, e di sempre maggiore attenzione al monitoraggio degli esiti di cura, alla sorveglianza e alla sostenibilità d'insieme. Per i percorsi diagnostico-terapeutici, sfidati da una crisi in grado di modificare i fondamentali dell'assistenza sanitaria, sarà necessaria una profonda revisione. Verosimilmente la sola clinica non sarà più sufficiente, ma nuove competenze, organizzative, digitali e gestionali, dovranno esser messe a sistema, pensando di produrre linee guida, non solo in grado di soddisfare requisiti urgenti, ma anche e soprattutto di aprire a spazi di miglioramento nuovi e duraturi. Diagnostica di prossimità, decentralizzazione e cure domiciliari, teleassistenza medica e teleconsulto specialistico, deleghe e deroghe, sono tutti elementi di un nuovo "normale" che abbiamo imparato a conoscere durante la pandemia, e che andranno a modificare non solo il *patient journey* ma la stessa esperienza di assistenza e cura.

La prevenzione vaccinale

La maggior parte dei Paesi Europei e non è ormai a pieno regime nell'implementazione della campagna di vaccinazione anti-Covid 19 e le Coperture Vaccinali, in incremento continuo, stanno raggiungendo importanti risultati. La vaccinazione con ciclo completo sta già dimostrando sul campo l'efficacia nel prevenire l'infezione e, in coloro che si infettano comunque, ne riduce l'impatto in termini di gravità della malattia, trasmissione dell'infezione e morte. Tuttavia, l'efficacia delle prime due dosi diminuisce nel tempo e potrebbe essere necessario pensare alla necessità di un richiamo così come a nuove formulazioni più efficaci nel contrastare le varianti virali come la "Delta" (B.1.617.2) o la "SudAfricana" (B.1.351).

In questo contesto, diversi Paesi come Francia, Germania e Regno-Unito stanno già ragionando sull'implementazione di una terza dose, mentre Israele ha già dato avvio alla nuova

campagna vaccinale e dal 1 Agosto offre su base volontaria la terza dose del vaccino anti-Covid ai soggetti di età superiore ai 60 anni già vaccinati con ciclo completo da almeno 6 mesi.

Per quanto riguarda l'Italia, la Commissione Tecnico Scientifica di AIFA (CTS), riunita nei giorni 7-9 settembre 2021, ha espresso il proprio parere sulla somministrazione di dosi aggiuntive di vaccino contro il COVID-19, rispondendo ai quesiti posti dal Ministero della Salute.

La CTS osserva che la priorità della campagna vaccinale rimane il raggiungimento di un'elevata copertura vaccinale con il completamento dei cicli attualmente autorizzati per ridurre la circolazione del virus e lo sviluppo di varianti e prevenire efficacemente l'insorgenza di patologia grave e di decessi.

La CTS ritiene appropriato, in attesa dell'autorizzazione di EMA, rendere disponibili i vaccini a mRNA come dose booster, al fine di mantenere una efficace risposta immune al vaccino dopo il completamento del ciclo vaccinale, dopo almeno 6 mesi dall'ultima somministrazione, nei grandi anziani (>80 anni) e nei soggetti ricoverati nelle RSA. Tale opzione può essere resa disponibile anche agli operatori sanitari, a seconda del livello di esposizione all'infezione, del rischio individuale di sviluppare forme gravi di COVID-19 e in accordo alla strategia generale della campagna vaccinale.

Azioni proposte

Nel documento della CE¹²⁰ sono indicati i diversi passaggi per la preparazione dei Paesi alla vaccinazione, inclusa la gestione della raccolta delle informazioni circa la vaccinazione.

Garantire un accesso tempestivo a un vaccino per tutti gli Stati membri consentirà la ripresa dell'attività economica e sociale oltre i confini e proteggerà i cittadini da una nuova ondata di pandemia.

Elementi necessari alla preparazione dei Paesi saranno:

- Timing per l'approvazione
- Timing per la disponibilità delle dosi
- Dosaggi e durata della vaccinazione
- Sottopopolazioni studiate e priorità di vaccinazione (es. persone che hanno livelli di immunizzazione naturale)
- Caratteristiche per la conservazione

¹²⁰ Strategia sui vaccini contro il coronavirus. https://ec.europa.eu/info/live-work-travel-eu/health/coronavirus-response/public-health/coronavirus-vaccines-strategy_it.

- Logistica e distribuzione.

Spunti di riflessione - Richieste di policy

La situazione attuale ci porta a condividere alcune riflessioni di carattere generale:

- l'assenza di un percorso diagnostico-terapeutico unico e condiviso a livello nazionale lascia alle singole Regioni o ai singoli Centri di cura, alla singola unità operativa, la definizione dell'approccio al paziente che può variare enormemente sulla base delle esperienze e competenze maturate dalle varie strutture.
- dal punto di vista della sostenibilità, l'assenza di una comune linea d'indirizzo rischia di impattare gravemente sulla gestione delle risorse che, in previsione di una fase di "convivenza" con il coronavirus di durata difficilmente prevedibile, necessita di essere ottimizzata e razionalizzata.
- Le conseguenze cliniche dell'infezione da SARS-CoV-2 e la prognosi dei pazienti variano significativamente secondo fattori di rischio che sono, almeno in parte, definiti (età, obesità, comorbidità ecc.). Al fine di proteggere i soggetti più fragili, ridurre l'ospedalizzazione e la mortalità da COVID-19, si potrebbero individuare categorie dove intervenire prioritariamente e precocemente con le misure attualmente disponibili. Tra queste la disponibilità di mAb da utilizzarsi in profilassi per popolazioni ad alto rischio (es. pazienti immunodepressi, trapiantati, dializzati, ecc) che non rispondono adeguatamente alla vaccinazione rappresenta un'arma in più per la gestione complessiva dell'infezione e la riduzione delle ospedalizzazioni e morti da Covid-19.
- Una gestione caleidoscopica delle risorse difficilmente potrà garantire una qualità delle cure costante ed equa su tutto territorio nazionale, rischiando di determinare disuguaglianze nell'assistenza primaria (sia a livello locale che regionale) ai pazienti affetti da altre patologie, con importanti ripercussioni sulla salute globale.
- La diffusione delle misure preventive/terapeutiche dovrà essere universalmente distribuita sul territorio nazionale e raggiungere le popolazioni marginalizzate (migranti, homeless ecc), al fine di evitare la creazione di sacche di popolazione ad alta prevalenza di infezione, possibile causa di continue recrudescenze dell'epidemia.

Restano tuttavia alcuni interrogativi di difficile soluzione:

- Quanto le opzioni terapeutiche attuali e quelle prossimamente disponibili saranno di ausilio per favorire una esternalizzazione delle cure, aumentando i trattamenti domiciliari o in strutture sanitarie non specialistiche per i pazienti nelle prime fasi della malattia, sollevando gli ospedali e i centri ad alta specializzazione da una parte del carico che oggi ne limita fortemente la capacità di gestione?
- Anticipando l'intervento con farmaci diretti a bloccare la moltiplicazione del virus (anticorpi, plasma iperimmune, antivirali), si potrà limitare l'evoluzione della patologia verso forme severe, liberando risorse, utilizzabili per la gestione delle altre malattie non legate al coronavirus?
- Avendo a disposizione farmaci gestibili anche al di fuori delle strutture ospedaliere, sul lungo periodo, si può immaginare di introdurre il concetto di trattamento come prevenzione da contrapporre a misure restrittive della libertà personale?

Alla luce di quanto sinora condiviso di seguito si trovano punti chiave e proposte di miglioramento

Accesso: Tempistiche di approvazione locali accelerate per garantire una efficiente messa in commercio dei vaccini. Da approvazione EMA a AIC Italiana assicurare fast track.

Modello di procurement e logistica: La Comunità Europea ha costruito le piattaforme su cui poi si vanno a inserire i singoli Stati membri, stipulando accordi con le singole aziende. Identificare da subito il processo di implementazione e procurement a livello nazionale, identificando nuovi approcci di procurement, con tempi e target certi, considerando anche gli aspetti logistici e infrastrutture adeguate (catena del freddo, stoccaggio etc). L'esperienza dei vaccini antinfluenzali (Meridiano Sanità Report 2020) ha mostrato la necessità di una pianificazione anticipata e puntuale da parte delle Regioni in base ai loro fabbisogni, attraverso un coinvolgimento delle aziende e un dialogo con le stazioni appaltanti nel rispetto della normativa. Tutto questo consente di minimizzare il rischio di carenze.

Registro Elettronico: Implementazione di un registro elettronico nazionale e regionale sulle vaccinazioni dell'adulto che permetterebbe una più facile identificazione del fabbisogno e la possibilità di fare chiamate attive alle popolazioni target individuate, come anche consigliato dalla Commissione Europea¹²¹.

Individuazione delle fasce prioritarie di popolazione in Italia (come implementare le linee guida europee) e dei conseguenti fabbisogni a livello regionale. Il modello esistente della vaccinazione antinfluenzale può rappresentare una linea guida da seguire (operatori sanitari,

¹²¹ Preparedness for Covid 19 Vaccination Strategies and Vaccines Deployment; 15 Oct 2020 EC.

popolazione ultra sessantenne, popolazione a rischio con patologie croniche, lavoratori di pubblica utilità etc). Il documento di riferimento della Commissione Europea già citato¹²² prevede questo tipo di approccio, includendo anche persone che non possono operare in distanziamento e persone economicamente più svantaggiate.

Permanente Cabina di regia Covid-19 e Flu: Ministero della Salute/Ministero dell'Economia – Conferenza delle regioni (direzione generale prevenzione) medici, farmacisti, rappresentanti dei cittadini – su temi generali e dialogo con le singole aziende su temi specifici: considerando la complessità degli aspetti da gestire, inclusi quelli logistici, è opportuno istituire immediatamente a livello nazionale una cabina di regia dove le parti si possano confrontare immediatamente sugli aspetti più critici.

Campagne educazionali per superare le esitazioni e dubbi. Per il Covid in particolare gli esperti stimano che almeno il 60%¹²³ della popolazione debba essere vaccinata per raggiungere l'immunizzazione. È necessario dunque come evidenziato anche dalla Commissione Europea rafforzare il messaggio sulla sicurezza ed efficacia dei vaccini messi a disposizione della popolazione, unico strumento per controllare e prevenire il Covid-19.

Gestione Eventi Avversi: Al momento in Europa si dibatte anche su temi di fondi dedicati e protezioni, “no fault vaccine injury compensation systems” che potrebbero rafforzare la fiducia di cittadini e Governi. La sicurezza è la priorità di chi sviluppa vaccini e gli eventi avversi seri sono estremamente rari (per-person risk of 0.00005%¹²⁴) ma un approccio con omnicomprensivi piani di protezione rafforza il senso di protezione dei cittadini e diminuisce temi di azioni legali lunghe e dannose.

¹²² Ibidem.

¹²³ A fraction $1-1/R_0$ of the population would have to be immunised to stop transmission. This is > 60% for an R_0 value of 2.5. <https://royalsociety.org/-/media/policy/projects/set-c/set-covid-19-R-estimates.pdf>.

¹²⁴ Serious side effects from vaccines are extremely rare. For example, if 1 million doses of a vaccine are given, 1 to 2 people may have a severe allergic reaction https://www.vaccines.gov/basics/safety/side_effects.