



Il vantaggio di conoscersi

COVID-19 STArS



Covid-19 STArS

Il primo test molecolare per Covid-19 basato sul sequenziamento, per l'identificazione completa delle varianti di SARS-CoV-2.

COVID-19 STArS (Strain-Amplicon-Sequencing) è un test per caratterizzare le varianti del virus Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) mediante sequenziamento, a partire da tamponi e altri campioni clinici oppure da RNA già estratto.

Perché usare Covid-19 STArS?

1

Identificazione delle varianti di SARS-CoV-2

Covid-19 STArS è il primo test commerciale basato sul sequenziamento che permette di **identificare in modo rapido e accurato** le varianti di SARS-CoV-2 responsabili del COVID-19.

2

È sempre aggiornato

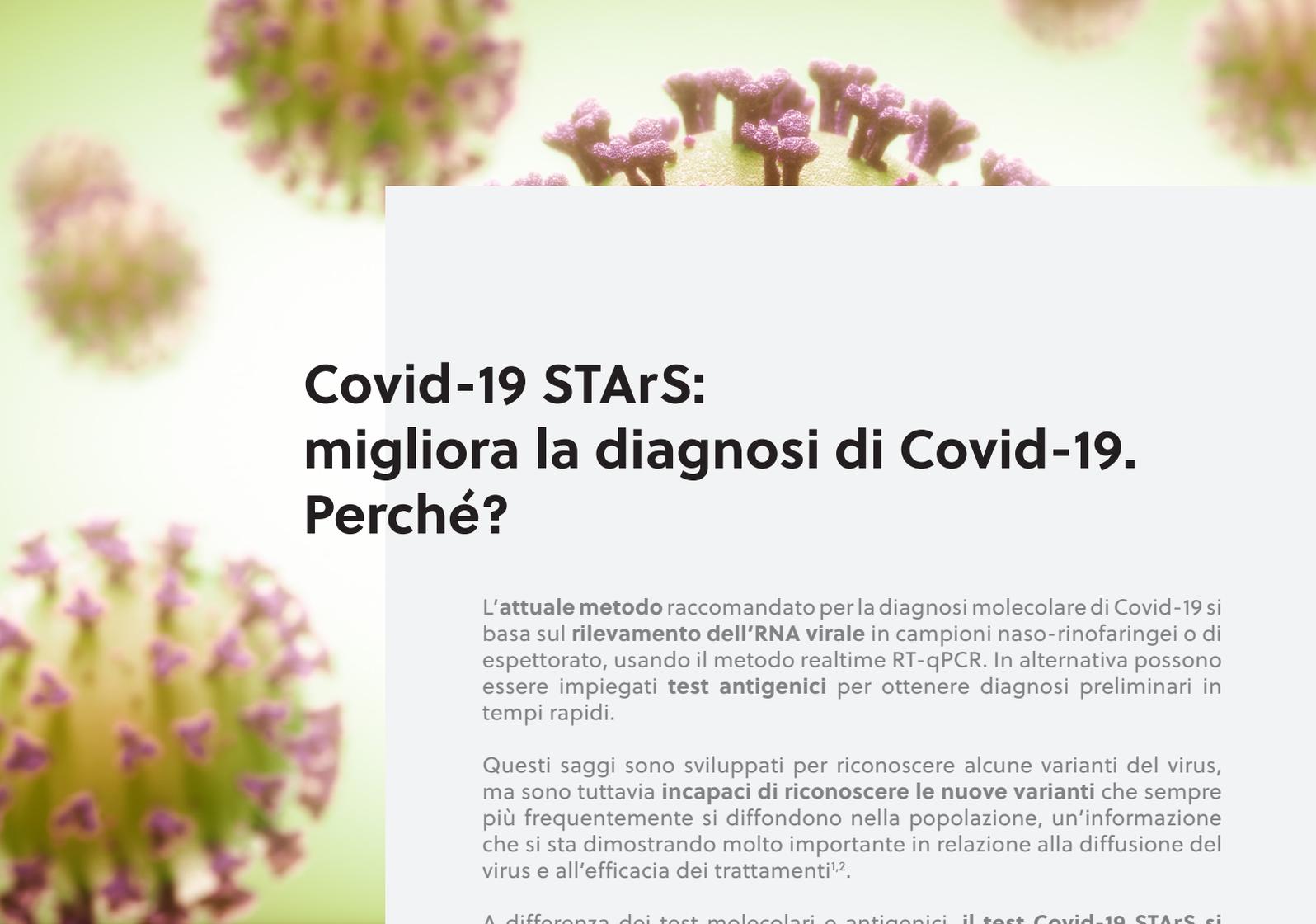
A differenza dei test molecolari e dei test antigenici che devono essere messi a punto per le nuove varianti, Covid-19 STArS può analizzare eventuali **nuove regioni del genoma** che caratterizzano le varianti del virus senza impatto sui costi e sulle tempistiche di sviluppo.

3

Non necessita di validazione

I test basati su RT-qPCR e i test antigenici non identificano in modo univoco le varianti di virus SARS-CoV-2 e necessitano quindi di validazione mediante sequenziamento. **Covid-19 STArS si basa direttamente sul sequenziamento del genoma virale.**





Covid-19 STArS: migliora la diagnosi di Covid-19. Perché?

L'attuale metodo raccomandato per la diagnosi molecolare di Covid-19 si basa sul **rilevamento dell'RNA virale** in campioni naso-rinofaringei o di espettorato, usando il metodo realtime RT-qPCR. In alternativa possono essere impiegati **test antigenici** per ottenere diagnosi preliminari in tempi rapidi.

Questi saggi sono sviluppati per riconoscere alcune varianti del virus, ma sono tuttavia **incapaci di riconoscere le nuove varianti** che sempre più frequentemente si diffondono nella popolazione, un'informazione che si sta dimostrando molto importante in relazione alla diffusione del virus e all'efficacia dei trattamenti^{1,2}.

A differenza dei test molecolari e antigenici, **il test Covid-19 STArS si basa sul sequenziamento sia per rilevare la presenza dell'RNA virale sia per identificare le varianti genetiche.**

Il sequenziamento offre **vantaggi consistenti** rispetto ai metodi RT-qPCR/antigenici, pur mantenendo sensibilità e specificità simili (Figura 1), in particolare:

- è l'unico approccio che permette l'**identificazione in modo univoco** di tutte le varianti di virus (o ceppi virali) attualmente circolanti.
- **non necessita di validazione** perché sequenzia direttamente quelle porzioni del genoma virale che caratterizzano le diverse varianti.
- può essere **rapidamente aggiornato** per la rilevazione di nuove varianti.
- permette di svincolarsi dalla catena di approvvigionamento di reagenti per eseguire **test molecolari/antigenici** su cui insiste attualmente l'intero pianeta.

Finora la possibilità di sfruttare il sequenziamento come metodo di analisi del SARS-CoV-2 e delle sue varianti è rimasto confinato agli istituti di ricerca.

Per la prima volta, Covid-19 STArS rende accessibile a tutti questa opportunità.

Per la prima volta, Covid-19 STArS rende accessibile a tutti la potenzialità del sequenziamento per l'analisi di SARS-CoV-2

Tabella comparativa

Caratteristica	RT-qPCR tradizionale	Covid-19 STArS
Rilevazione varianti	+/-	+
Non richiede validazione	-	+
Alta sensibilità e specificità	+/-	+

Covid-19 STArS: come funziona?

Covid-19 STArS è un nuovo test diagnostico per SARS-CoV-2 che combina la RT-PCR *one-step* con il sequenziamento rapido di 10 regioni che caratterizzano i ceppi virali (anche chiamati varianti o sottotipi virali) attualmente circolanti.

- Campione di partenza:** Il test può essere eseguito a partire da campioni di tamponi oro/nasofaringei, da altri campioni clinici positivi al SARS-CoV-2 o da RNA già estratto.
- Amplificazione del genoma virale:** In seguito alla retro-trascrizione dell'RNA, Covid-19 STArS amplifica contemporaneamente 10 regioni rilevanti del genoma di SARS-CoV-2:
 - 2 regioni corrispondenti a quelle analizzate dai test molecolari tradizionali: geni N e RdP.
 - 8 regioni che permettono di identificare le varianti genetiche che caratterizzano i principali ceppi di virus SARS-CoV-2: Inglese, Sud Africana, Brasiliana, Nigeriana, Ugandese, Indiana.
- Sequenziamento:** I prodotti di amplificazione vengono analizzati base-per-base mediante sequenziamento rapido impiegando la tecnologia di Oxford Nanopore Technologies.
- Analisi dei dati:** i dati di sequenziamento vengono analizzati mediante pipeline bioinformatiche messe a punto da Genartis in collaborazione con l'Università degli Studi di Verona, per identificare la presenza del virus e la variante responsabile dell'infezione.
- Risultati:** Il risultato del sequenziamento sarà reso disponibile entro 72-96h dalla consegna dei campioni (sabato e festivi esclusi), salvo imprevisti.

SPECIFICITÀ DI COVID-19 STARS
NELL'IDENTIFICAZIONE
DELLE VARIANTI SARS-COV-2

100%





Covid-19 STArS: un test sempre aggiornato

Dal momento che il virus SARS-CoV-2 è in costante evoluzione, COVID-19 STArS viene continuamente aggiornato sulla base delle informazioni pubblicate nel sito ufficiale del Centro Americano per la Prevenzione ed il Controllo delle malattie (CDC) per permettere la rilevazione di nuove varianti¹.

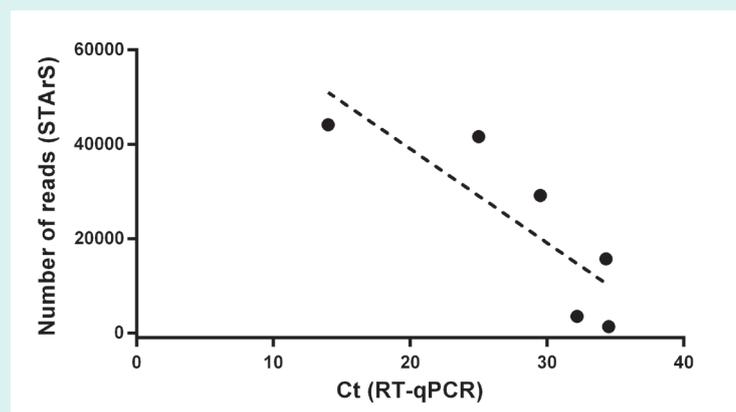
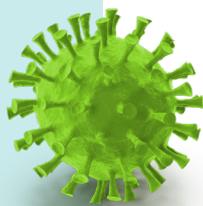


FIGURA 1

Covid-19 STArS ha capacità di rilevazione paragonabile a RT-qPCR. Sei campioni clinici di tampone nasofaringeo sono stati analizzati in parallelo mediante RT-qPCR (ThermoScientific) e Covid-19 STArS. Il ciclo soglia di rilevazione ottenuto con RT-qPCR (Ct - RT-qPCR) è stato comparato al numero di reads di sequenziamento prodotte per lo stesso campione mediante Covid-19 STArS (Reads - STArS). L'analisi ha identificato un'ottima concordanza tra le metodiche.

VARIANTI COVID-19



Nome: B.1.1.7

Nome comune del ceppo: variante Inglese

Casi in Italia: sì

Nazioni interessate: >90

Mutazioni principali:

Delezione 69/70, Delezione 144Y, N501Y, A570D, D614G, P681H

Caratteristiche riportate:

- Aumento trasmissione^{3,4,5,6}
- Aumento severità di malattia e rischio di ospedalizzazione^{6,7}
- Aumento mortalità (da confermare)^{6,7,9}
- Capacità di alterare test diagnostico¹⁰



Nome: B.1.351

Nome comune del ceppo: variante Sud-Africana

Casi in Italia: sì

Nazioni interessate: >40

Mutazioni principali:

K417N, E484K, N501Y, D614G

Caratteristiche riportate:

- Diminuzione della suscettibilità agli anticorpi policlonali e monoclonali¹¹



Nome: P.1

Nome comune del ceppo: variante Brasiliana

Casi in Italia: sì

Nazioni interessate: >20

Mutazioni principali:

E484K, K417N/T, N501Y, D614G

Caratteristiche riportate:

- Capacità di eludere l'immunità naturale (da confermare)¹²
- Diminuzione della suscettibilità agli anticorpi policlonali e monoclonali¹¹



Nome: A.23.1

Nome comune del ceppo: variante Ugandese

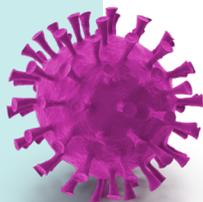
Casi in Italia: /

Nazioni interessate: >20

Mutazioni principali:

F157L, V367F, Q613H, P681R

Caratteristiche riportate: /



Nome: B.1.525

Nome comune del ceppo: variante Nigeriana

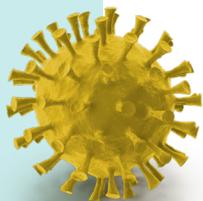
Casi in Italia: sì

Nazioni interessate: >30

Mutazioni principali:

E484K, Q677H

Caratteristiche riportate: /



Nome: B.1.617

Nome comune del ceppo: variante Indiana

Casi in Italia: sì

Nazioni interessate: ~25

Mutazioni principali:

D111D, G142D, L452R, E484Q, D614G e P681R

Caratteristiche riportate:

- Ipotizzato aumento trasmissione (da confermare)¹³

REFERENZE

1. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/more/science-and-research/scientific-brief-emerging-variants.html>
2. Istituto superiore di Sanità: <https://www.iss.it/cov19-faq-varianti>
3. Korber, et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell* 2020 Aug 20;182(4):812-827.e19.
4. Washington et al. Genomic epidemiology identifies emergence and rapid transmission of SARS-CoV-2 B.1.1.7 in the United States. *medRxiv* 2021 Feb 7;2021.02.06.21251159.
5. Volz E., et al. (2021). Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 in England: Insights from linking epidemiological and genetic data (*medRxiv*).
6. Horby P, et al. NERVTAG note on B.1.1.7 severity. SAGE meeting report. January 21, 2021.
7. Robert Challen, et al. Risk of mortality in patients infected with SARS-CoV-2 variant of concern 202012/1: matched cohort study. *BMJ*. 2021 Mar 9;372:n579.
8. Bager, Peter et al. Increased Risk of Hospitalisation Associated with Infection with SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 in Denmark. Available at SSRN: <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3792894>
9. Iacobucci G., et al. (2021). Covid-19: New UK variant may be linked to increased death rate, early data indicate. *BMJ* 372, 230.
10. <https://www.thermofisher.com/blog/behindthebench/thermo-fishers-covid-19-tests-designed-with-virus-mutations-in-mind/>
11. Weisblum Y, et al. Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein. *eLife* 2020;9:e61312.
12. Resende PC, et al. Spike E484K mutation in the first SARS-CoV-2 reinfection case confirmed in Brazil, 2020. www.virological.org on January 10, 2021.
13. Cherian S. et al, Convergent evolution of SARS-CoV-2 spike mutations, L452R, E484Q and P681R, in the second wave of COVID-19 in Maharashtra, India. *BioRxiv*, May 03, 2021.

