

17. Aprile

BUONA PASQUA !

Glossario pandemico essenziale (A-B-C-D)

A

Animali (modelli)

SARS-CoV-2 probabilmente si è evoluto da un virus di pipistrello ancestrale ed è passato agli esseri umani tramite un ospite intermedio sconosciuto. I coronavirus di pipistrello correlati a SARS-CoV-2 sono stati trovati al di fuori della Cina, tra cui Cambogia, Thailandia e Giappone. Nel corso della pandemia, è diventato sempre più chiaro che SARS-CoV-2 ha il potenziale per infettare un'ampia gamma di animali. Sono stati segnalati eventi di trasmissione naturale da uomo ad animale che coinvolgono cani, gatti, leoni, tigri e visoni. Saggi di ingresso surrogati suggeriscono che la glicoproteina S di SARS-CoV-2 ha un ampio tropismo per una varietà di recettori ACE2 dei mammiferi. Pertanto, non sorprende che modelli animali efficienti per COVID-19 possano essere stabiliti rapidamente. Il primo di questi è stato il criceto siriano dorato (*Mesocricetus auratus*), che è stato rapidamente identificato come un modello adatto basato sull'analisi di docking molecolare del suo ACE2 con il SARS-CoV-2 RBD. Le caratteristiche cliniche di COVID-19 nell'uomo sono ben replicate nei criceti, che dimostrano un decorso da lieve a moderato con evidenza istopatologica di polmonite. Pertanto, i criceti sono ideali per studiare la patogenesi di SARS-CoV-2. La dinamica della carica virale nei criceti infetti fa eco a quella degli esseri umani. I criceti sono in grado di trasmettersi la malattia tramite contatto o trasmissione senza contatto, facilitando così gli studi sulla trasmissione. Il limite chiave è la relativa scarsità di anticorpi specifici per rilevare i biomarcatori di criceto.

Altri piccoli modelli animali per la ricerca SARS-CoV-2 includono furetti (*Mustela putorius furo*) e topi (*Mus musculus*). I furetti hanno un lungo pedigree di utilizzo nella ricerca sull'influenza e sono anche suscettibili alla SARS-CoV-2 sebbene il fenotipo della malattia sia piuttosto lieve e prevalentemente limitato al tratto respiratorio superiore. Data la loro comodità, sono stati sviluppati anche modelli di topi, sebbene ciò richieda l'adattamento del virus al topo ACE2 o ai topi umani che esprimono ACE2. Questi hanno lo svantaggio di modificare il fenotipo della malattia, specialmente nei topi transgenici umani-ACE2 che hanno una malattia respiratoria lieve ma grave del cervello. A seconda del promotore utilizzato, questi topi transgenici ACE2 umani mostrano fenotipi variabili, che vanno da malattie lievi a malattie gravi con encefalite e persino morte. I topi umanizzati con ACE2 umano utilizzando la tecnologia knockin CRISPR/Cas9 supportano la replicazione di SARS-CoV-2 nel tratto respiratorio e nei tessuti cerebrali, ma generalmente sviluppano solo malattie da lievi a moderate. Adenovirus o topi trasdotti da virus adeno-associati sviluppano una polmonite virale autolimitante, ma hanno i vantaggi di essere facili da generare e possono essere rapidamente adattati a diversi ceppi di topi. I conigli da laboratorio possono essere infettati dalla diffusione asintomatica del virus. Poiché è probabile che l'origine ultima di SARS-CoV-2 provenga dai pipistrelli, un gruppo ha anche dimostrato un'infezione efficiente di un modello di pipistrello della frutta (*Rousettus aegyptiacus*) con il virus. I pipistrelli della frutta mostravano caratteristiche cliniche minime dell'infezione, ma erano in grado di trasmettere l'infezione. In particolare, maiali e polli, che sono a stretto contatto con l'uomo, non sono in grado di supportare l'infezione produttiva, escludendoli così come ospiti intermedi. I piccoli modelli animali come quelli descritti sopra sono convenienti, ma la valutazione definitiva della patogenesi, degli antivirali e dei

vaccini richiede modelli di primati non umani. I macachi Rhesus (*Macaca mulatta*), i macachi cynomolgus (*Macaca fascicularis*), le scimmie verdi africane (*Chlorocebus aethiops*) e i babbuini (*Papio*) sono tutti soggetti a COVID-19. La malattia nei primati non umani è in genere lieve, ma la gravità della malattia e la diffusione del virus aumentano con l'età come negli esseri umani.

ANTICORPI (rilevamento)

Sebbene il test degli anticorpi non sia generalmente utile per la gestione acuta, può essere utilizzato per la diagnosi retrospettiva e lo studio della sieroprevalenza per comprendere l'immunità di gregge. Le tecniche comunemente impiegate sono le analisi a flusso laterale, chemiluminescenti, immunofluorescenti e immunoassorbenti enzimatici. I tempi mediani di sieroconversione dopo l'esordio dei sintomi sono 11 giorni per gli anticorpi totali, 12 e 14 giorni rispettivamente per IgM e IgG. Dopo 14 giorni, il 56-97% dei pazienti sviluppa IgM e il 91-100% dei pazienti sviluppa IgG senza differenze temporali significative tra la risposta IgM e IgG. Le IgM raggiungono il picco a circa 3 settimane dall'esordio dei sintomi e scendono al livello basale dopo il giorno 36. La durata delle IgG o della positività agli anticorpi neutralizzanti rimane controversa.

ANTICORPI (neutralizzanti)

Alcuni studi hanno mostrato una diminuzione del titolo anticorpale neutralizzante entro 3 mesi dall'esordio dei sintomi, mentre altri non hanno mostrato tale diminuzione. Lo sviluppo di anticorpi contro le proteine S e N è paragonabile a 1 mese dopo l'infezione. Il titolo degli anticorpi anti-S o anti-S RBD può riflettere meglio la protezione contro la reinfezione. Il saggio di neutralizzazione tradizionale richiede la manipolazione del virus vivo e richiede laboratori di livello 3 di biosicurezza. Il test di neutralizzazione dello pseudovirus che utilizza il virus della stomatite vescicolare (VSV) che esprime la proteina S di SARS-CoV-2 contenente l'RBD, può essere utilizzato in strutture di livello di biosicurezza 2. Gli anticorpi neutralizzanti sono diretti verso RBD e NTD. Entrambi i siti sono situati sulla punta della proteina S. È stato sviluppato un test di neutralizzazione del virus surrogato basato sul blocco mediato da anticorpi dell'interazione RBD-ACE2.

ANTICORPI (attività crociata)

Gli studi hanno mostrato una reattività crociata sierologica tra SARS-CoV-2 e SARS-CoV, con una frequenza decrescente di reazione crociata dalla proteina N, dalla proteina S al dominio RBD mediante saggio immunoenzimatico senza significativa neutralizzazione incrociata. È stata dimostrata anche la reattività crociata contro altri coronavirus umani stagionali nell'infezione da SARS-CoV-2, sebbene l'intensità non sia così grande come quella con SARS-CoV. Il test degli anticorpi è stato utilizzato anche per valutare se SARS-CoV-2 è circolato nella popolazione prima dell'isolamento del virus. Uno studio italiano ha riportato che l'anticorpo anti-RBD potrebbe essere trovato in campioni di sangue raccolti già a settembre 2019. Negli Stati Uniti, 106 su 7389 campioni residui di donatori di sangue raccolti tra il 13 dicembre 2019 e il 17 gennaio 2020, sono risultati positivi per IgG contro SARS-CoV-2 e in 84 di 90 di questi campioni sono stati rilevati anticorpi neutralizzanti. Sebbene questi studi suggeriscano che COVID-19 potrebbe essere emerso molto prima del primo caso confermato con RT-PCR, non si può escludere la possibilità di una reattività crociata EIA con altri coronavirus.

ANTICORPI MONOCLONALI NEUTRALIZZANTI (trattamento)

Sebbene sia stato dimostrato che il trattamento con anticorpi monoclonali neutralizzanti individuali o in cocktail riduce la carica virale quando somministrato subito dopo l'insorgenza dei sintomi e prima della comparsa di anticorpi anti-SARS-CoV-2 sierici in pazienti non ospedalizzati.

questo approccio non ha ancora dimostrato di ridurre la morbilità e la mortalità. Uno studio clinico su un anticorpo monoclonale, LY-CoV555, non ha mostrato benefici clinici tra i pazienti ospedalizzati. Allo stesso modo, il plasma convalescente con anticorpi neutralizzanti ha migliorato lo stato clinico degli anziani con COVID-19 lieve solo se somministrato entro 3 giorni dall'insorgenza dei sintomi e non è risultato efficace dopo che l'ipossiemia si è sviluppata in studi clinici randomizzati

ASINTOMATICI

Un motivo importante per la rapida diffusione di COVID-19 è la presenza di trasmissione asintomatica e presintomatica. I casi asintomatici o lievemente sintomatici costituiscono il 30-60% di tutti i pazienti infetti da SARS-CoV-2. Nei tessuti polmonari umani ex vivo, SARS-CoV-2 ha generato 3,2 volte più particelle virali infettive rispetto a SARS-CoV-1, ma non ha indotto in modo significativo una risposta pro-infiammatoria dell'ospite il che spiega l'elevata percentuale di asintomatici o casi lievemente sintomatici nella pandemia di COVID-19. Inoltre, contrariamente ai pazienti SARS-CoV-1 la cui carica virale negli aspirati nasofaringei ha raggiunto il picco intorno al giorno 10 dei sintomi, la carica virale nei campioni respiratori dei pazienti COVID-19 era più alta durante i primi giorni di insorgenza dei sintomi. È stato stimato che la trasmissione presintomatica rappresentava il 4,2-44,4% dei casi secondari di COVID-19. Il tasso di attacco secondario all'interno delle famiglie di Wuhan era del 15,6%, con i casi presintomatici che erano i più infettivi. Inoltre, la mancanza di immunità di gregge nella fase iniziale della pandemia si aggiunge alla suscettibilità della popolazione generale. Il tasso di sieroprevalenza stimato a Wuhan era del 3,2%-3,9% nel marzo 2020 e una cifra simile del 4,1% è stata registrata in California nell'aprile 2020.

ATTIVITA' PERICOLOSE

Attività senza maschera come cenare, cantare, nuotare e altre attività fisiche sono particolarmente pericolose in luoghi interni sovraffollati con ventilazione non ottimale o superfici contaminate che vengono toccate frequentemente e scarsamente igienizzate. Pertanto i focolai sono stati segnalati come cluster in case familiari, ristoranti, bar, mercati, locali religiosi, crociere, vettori, cantieri, studi di ballo, scuole, case di cura e strutture sanitarie. Sono stati evidenziati diversi eventi di superdiffusione. Un individuo britannico che ha partecipato a una conferenza a Singapore nel gennaio 2020 ha diffuso il virus nel Regno Unito, in Francia e in Giappone attraverso l'esposizione in una stazione sciistica, dove 13 delle 21 persone esposte alla fine sono risultate positive. Da fine febbraio a inizio marzo 2020, un focolaio associato all'evento di adorazione domenicale in una chiesa ha causato il 61,3% degli 8162 COVID-19 confermati nella Repubblica di Corea.

AUTOPSIA

L'autopsia ha mostrato che il coinvolgimento polmonare con danno alveolare diffuso insieme alla formazione della membrana ialina e ai microemboli polmonari sono i risultati istopatologici acuti più importanti. Queste caratteristiche sono state spesso associate a elevate citochine infiammatorie e aumento dell'angiogenesi nei casi fatali.

B

BAMBINI

In generale, i bambini hanno una malattia più breve e più lieve rispetto agli adulti. Tuttavia, durante la fase di convalescenza della malattia si osserva una malattia simile a Kawasaki rara ma pericolosa per la vita, nota come sindrome infiammatoria multisistemica nei bambini (MIS-C) o sindrome infiammatoria pediatrica temporaneamente associata a SARS-CoV-2. I bambini con MIS-

C sono generalmente più grandi, hanno una conta linfocitaria e piastrinica più bassa e un livello più alto di CRP e ferritina rispetto a quelli con malattia di Kawasaki

B.1.1.7 (variante)

è stata rilevata per la prima volta nel settembre 2020, si è diffusa rapidamente nell'Inghilterra sud-orientale entro dicembre ed è diventata la variante predominante nel Regno Unito. Questa variante ha una maggiore trasmissibilità e ora si trova in tutto il mondo. Questa variante è definita da 17 mutazioni, tra cui una S N501Y non sinonimo a RBD e la mutazione P681H che si trova nel sito di scissione della furina. Tuttavia, non è stato riscontrato alcun cambiamento nell'attività neutralizzante da parte dei sieri di vaccini ricevuti il vaccino mRNA BNT162b2 contro pseudovirus portatori del ceppo di riferimento Wuhan e della variante B.1.1.7

B.1.351 (Variante)

è aumentata rapidamente in Sud Africa alla fine del 2020. Questa variante possiede diverse mutazioni nella proteina S NTD (L18F, D80A, D215G, Δ242-244, R246I) e RBD (K417N, E484 K e N501Y). L'anticorpo monoclonale o il nanocorpo mirato alle posizioni dell'amminoacido della proteina S 417 o 484 hanno mostrato un legame ridotto alla variante B.1.351. Inoltre, non è stato possibile rilevare l'anticorpo neutralizzante contro la variante B.1.351 nel 48% dei sieri convalescenti di pazienti COVID-19

C

COMPLEMENTO (attivazione)

L'attivazione del complemento e dell'endotelio inducono la produzione del fattore di von Willebrand (vWF) e del fattore VIII (FVIII), riducendo l'attività dell'antitrombina e dell'ADAMTS13. I neutrofili attivati rilasciano trappole extracellulari di neutrofili per stabilizzare i microtrombi. La trombosi macro e microvascolare e i megacariociti intraluminali sono caratteristiche più comuni rispetto all'infiltrazione linfocitica del miocardio nei pazienti con coinvolgimento cardiaco. In termini di coinvolgimento degli organi linfoidi, la deplezione dei linfociti T si è verificata nella milza. La necrosi o l'atrofia del tessuto linfoide dei linfonodi e della polpa bianca della milza sono patologie extrapulmonari comunemente osservate.

CONTROLLO INFEZIONI

Le misure chiave del controllo delle infezioni contro i focolai nosocomiali di COVID-19 includono una combinazione di sorveglianza attiva per l'identificazione precoce dei casi, l'isolamento dei casi sospetti e confermati nella camera di isolamento delle infezioni trasmesse per via aerea (AIIR) con l'implementazione di standard, contatto, goccioline e precauzioni aeree, nonché tracciamento dei contatti per identificare i potenziali casi secondari. Queste misure di controllo delle infezioni che si erano dimostrate efficaci nel controllo della SARS nel 2003 non hanno avuto lo stesso successo per COVID-19 perché l'infezione asintomatica contribuisce a una parte significativa della trasmissione e che la carica virale raggiunge il picco intorno al momento dell'insorgenza dei sintomi. Pertanto, lo screening universale di tutti i ricoveri ospedalieri o le presenze ambulatoriali mediante RT-PCR è giustificato per ridurre il rischio di focolai correlati all'assistenza sanitaria. Il rischio di trasmissione nosocomiale è particolarmente elevato quando i pazienti asintomatici COVID-19 vengono collocati in stanze non AIIR o/e sottoposti a ossigeno ad alto flusso o ventilazione non invasiva. Pertanto, il mascheramento universale per gli operatori sanitari e i pazienti ospedalizzati, se non controindicato dal punto di vista medico, nelle aree cliniche dovrebbe essere applicato per ridurre il rischio di trasmissione di COVID-19 tramite goccioline respiratorie e via aerea a corto raggio.

Infatti, il mascheramento universale nelle aree cliniche può portare a zero la trasmissione nosocomiale di altri virus respiratori come l'influenza A, l'influenza B e il virus respiratorio sinciziale. Il mascheramento universale nella comunità ha anche ridotto l'incidenza di COVID-19 nella popolazione generale.

Il peso schiacciante dei pazienti COVID-19 ospedalizzati è un altro fattore di rischio di focolai nosocomiali. Siti ospedalieri alternativi come ospedali di ricovero temporaneo e sale congressi sono stati costruiti o riadattati nella Cina continentale, nella regione amministrativa speciale di Hong Kong, nel Regno Unito, negli Stati Uniti e a Singapore come misure temporanee per far fronte all'improvvisa ondata di COVID-19. La logistica e il flusso di lavoro di controllo delle infezioni in questi siti alternativi dovrebbero essere attentamente pianificati e implementati per ridurre al minimo il rischio di focolai. Il sistema di ventilazione di questi siti alternativi, in particolare la sala congressi, era difficile da abbinare allo standard ospedaliero di 6-12 ricambi d'aria all'ora. Un altro parametro di ventilazione per volume d'aria al secondo per persona di circa 60 L/s/persona è stato considerato accettabile come raccomandato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

COVID LUNGO

Uno studio di follow-up a 6 mesi dall'esordio dei sintomi di COVID-19 ha mostrato che oltre il 60% di questi pazienti presentava sintomi persistenti di affaticamento o debolezza muscolare. Difficoltà del sonno (26%), *ansia o depressione* (23%) non erano rare. Altri sintomi includono *disturbi dell'olfatto o del gusto, palpitazioni, dolori articolari, vertigini, diarrea, vomito e dolore toracico* che costituiscono una costellazione di sintomi denominata "sindrome da COVID-19 post-acuta". Questo gruppo di pazienti è anche chiamato "COVID longhauers". Quelli con malattia grave che richiedeva supporto respiratorio avevano una compromissione della diffusione polmonare. Tuttavia, poche prove oggettive della sindrome post-acuta da COVID-19 possono essere trovate su indagini che *presentano alcune somiglianze con la sindrome da stanchezza cronica o l'encefalomielite mialgica*. La causa è stata ipotizzata in un sistema immunitario disregolato che è stato attivato per combattere SARS-CoV-2 ma non è riuscito a smorzarsi in seguito. Le altre diagnosi differenziali sono o un *processo autoimmune innescato* da SARS-CoV-2 o un'infezione persistente da SARS-CoV-2 che non può essere facilmente rilevata dai test convenzionali. La relazione tra la presenza di *autoanticorpi sierici* e la sindrome post-acuta COVID-19 richiede ulteriori indagini.

CULTURE CELLULARI

L'infettività di SARS-CoV-2 nei campioni clinici può essere dimostrata solo da saggi di colture cellulari in strutture di livello di biosicurezza 3. Inoltre, la coltura cellulare è essenziale per la valutazione di potenziali composti antivirali e vaccini. La coltura virale è risultata negativa nel 97% dei pazienti entro 10 giorni dall'esordio dei sintomi, in coincidenza con il momento della sierconversione. Si ritiene che la durata della diffusione del virus vivo sia ancora più breve nei campioni fecali. Lo spargimento è prolungato nei casi gravi e immunocompromessi. Le cellule Vero E6 che hanno un'abbondante espressione di ACE2 sono comunemente usate per l'isolamento del virus. La linea cellulare Vero E6 che esprime TMRPSS2 può comportare una migliore resa della coltura e ridurre la probabilità di selezione in vitro del mutante di delezione del sito di giunzione S1/S2. SARS-CoV-2 cresce anche in linee cellulari continue umane come Calu3 (cancro del polmone), Huh7 (cancro del fegato) e Caco2 (cancro del colon). Cresce modestamente su U251 (glioblastoma) che non si vede con SARS-CoV-1. I sistemi organoidi come i pipistrelli e gli organoidi intestinali umani sono suscettibili alla SARS-CoV-2 e sono sviluppati per studiare meglio il trofismo dei tessuti, la dinamica dell'infezione e il test dei bersagli terapeutici. SARS-CoV-2 viene coltivato

con successo in organoidi intestinali umani da un campione di feci con un valore Ct elevato di 33,6 , dimostrando una possibile infezione enterica per via oro-fecale

D

D614G (*mutazione*)

La mutazione *D614G* non è stata segnalata nell'epidemia iniziale in Cina, ma ora si trova in quasi tutti i ceppi a livello globale. Diversi studi hanno valutato l'impatto di D614G sul SARS-CoV-2. Collettivamente, mostrano che la variante D614G si replica *a un titolo più elevato in vitro e in vivo e si trasmette in modo più efficiente*, ma non influisce sulla gravità della malattia né conferisce un cambiamento significativo nell'attività neutralizzante dei sieri convalescenti . Meccanicamente, la mutazione D614 influenza la conformazione della proteina S, che consente un legame più efficiente con il recettore ACE2 umano.

DIAGNOSI DI LABORATORIO

Uno degli aspetti più importanti per frenare la diffusione del virus e migliorare la prognosi è una diagnosi rapida ma accurata dell'infezione seguita da isolamento tempestivo, tracciamento dei contatti e trattamento. Il test molecolare è ora il cardine della diagnosi, integrato dal test dell'antigene point-of-care (POCT). Il rilevamento degli anticorpi aiuta nella valutazione dell'immunità, del tracciamento dei contatti e della prevalenza della malattia nella popolazione. Una moltitudine di piattaforme diagnostiche, sia interne che su piattaforme commerciali, sono sviluppate per soddisfare queste esigenze

DIAMOND PRINCESS (*esperienza del...*)

L'epidemia relativa a un paziente indice sulla nave da crociera Diamond Princess ha portato alla quarantena dei passeggeri e dei membri della crociera al porto di Yokohama in Giappone, in cui 696 dei 3711 passeggeri (18,8%) sono risultati positivi al SARS-CoV-2. Infatti, utilizzando un *modello SEIR* (Suscettibile-Esposto-Infettivo-rimosso) che integra reti dinamiche di mobilità basate sui dati dei telefoni cellulari, una piccola minoranza di "*superspreader*" nei punti di interesse, in particolare i ristoranti a servizio completo, è stata ritenuta responsabile per la grande maggioranza dei casi di COVID-19. L'attuazione selettiva di misure restrittive specifiche in questi punti critici di interesse di controllo può essere più efficace. I focolai ospedalieri nei reparti, nei centri di dialisi e negli ambulatori alimentano i focolai della comunità e viceversa, il che si aggiunge all'onere del controllo delle infezioni.

[Continua ...](#)