

29. Maggio

Quit SARS-cov-2: per uno screening ultrasensibile ed economico per il rilevamento di SARS-CoV-2 nella saliva

Il concreto è l'astratto reso familiare dall'uso.

Paul Langevin

Attualmente, l'emergere del nuovo coronavirus, in particolare le varianti *Delta* e *Omicron*, continua a diffondersi in tutto il mondo, causando enormi oneri sanitari e stress economici su una scala senza precedenti.

Purtroppo, continuano a crescere i casi positivi e i decessi riportati quotidianamente. Uno dei motivi è nei limiti delle capacità di test esistenti, inclusa la scarsità di test convenienti, flussi di lavoro che richiedono tempo e la necessità di elaborare i campioni in un laboratorio con apparecchiature specializzate per metodi diagnostici molecolari sensibili.

La maggior parte delle attuali tecnologie diagnostiche molecolari si basano fortemente sulla *reazione a catena della polimerasi (PCR)*, sull'*amplificazione dell'acido nucleico isotermico (NA)* o su metodi basati sul *sequenziamento* che implicano un approccio multifase per la preparazione del campione.

Sebbene sensibile, il protocollo richiede tempo, in particolare se è richiesta l'estrazione dell'RNA virale. Inoltre, questi test di media o alta complessità richiedono tecnici di laboratorio altamente qualificati per il funzionamento. Un'altra preoccupazione è che i *primer* per diversi geni possono essere direttamente influenzati dalle variazioni nelle sequenze genomiche del virus a causa delle loro rapide mutazioni, che possono così generare risultati falsi negativi.

Di recente, la **Food and Drug Administration** ha annunciato che diversi test basati sulla *PCR a trascrizione inversa (RT-PCR)* non sono stati in grado di rilevare la *variante Omicron* del coronavirus 2 (SARS-CoV-2) della sindrome respiratoria acuta grave.

Al contrario, è meno probabile che si verifichino mutazioni puntiformi nella **proteina N**, che è considerata il miglior bersaglio per il rilevamento diagnostico in vitro a causa della conservazione della sequenza della proteina N (Ascoli C 2021)

Sono in fase di sviluppo anche *saggi a flusso laterale (LFA)* che sondano gli antigeni virali o la risposta anticorpale contro il virus. Pur consentendo test tempestivi a basso costo, questi test *mancono di sensibilità e non sono in grado di rilevare l'infezione nella sua fase iniziale, quando i soggetti infetti possono già trasmettere il virus*

Per limitare la diffusione del virus, sono necessari test diagnostici rapidi, sensibili e convenienti per identificare lo stato di infezione di una persona il prima possibile. Nella pandemia in corso e per le possibili riaccensioni di focolai nel prossimo autunno, è auspicabile poter avere a disposizione una tecnologia economicamente vantaggiosa che consenta un rilevamento rapido in loco del virus con elevata sensibilità e specificità, nonché un intervento minimo da parte dell'utente (ad es. poco tempo pratico e basso rischio).

La **WellsIM Biomedical Technologies** (Berkeley) ha messo a punto **QUIT SARS-CoV-2** un dosaggio immunologico in situ quantitativo e ultrasensibile per rilevare economicamente il virus SARS-CoV-2 nella saliva, che costa meno di **\$ 1000** per uno strumento e meno di **\$ 15** per ogni test rispetto ai metodi di rilevamento **NA** e ad altri approcci di rilevamento dell'antigene come LFA ed ELISA

Questa nuova tecnologia è una soluzione monolitica ed elegante per esigenze non soddisfatte con molteplici vantaggi unici.

In primo luogo, è il primo dispositivo a membrana nanoporosa con purificazione rapida grazie al processo vibratorio potenziato dal taglio dell'oscillatore armonico e all'elevata azione di pulizia del taglio. Questo sistema consente di realizzare un arricchimento del campione 40 volte superiore e un test immunologico chemiluminescente altamente sensibile in una camera isolata, consentendo **test in loco rapidi** da campione a risposta (<20 min) con sensibilità di rilevamento a livello di PCR (fino a 39 copie/ml di carica virale).

Grazie alla sua elevata sensibilità e all'ampio volume del campione (ad es. 2 ml di saliva grezza), una *strategia di pooling* dei campioni (ad es. venti campioni di saliva da 100 µl per pool) può essere implementata senza problemi per un'elevata produttività senza la necessità di equipaggiamento aggiuntivo. L'implementazione di un test di prescreening con il sistema QUIT SARS-CoV-2 sarebbe utile per ridurre il carico di lavoro e il costo del test RT-PCR per ogni singolo campione.

In secondo luogo, QUIT SARS-CoV-2 potrebbe migliorare la specificità di rilevamento con *una valutazione* più accurata del rischio di trasmissione isolando e rilevando solo le particelle di virus intatte, eliminando al contempo detriti virali e altri contaminanti molecolari, che altrimenti potrebbero potenzialmente causare risultati di test falsi positivi.

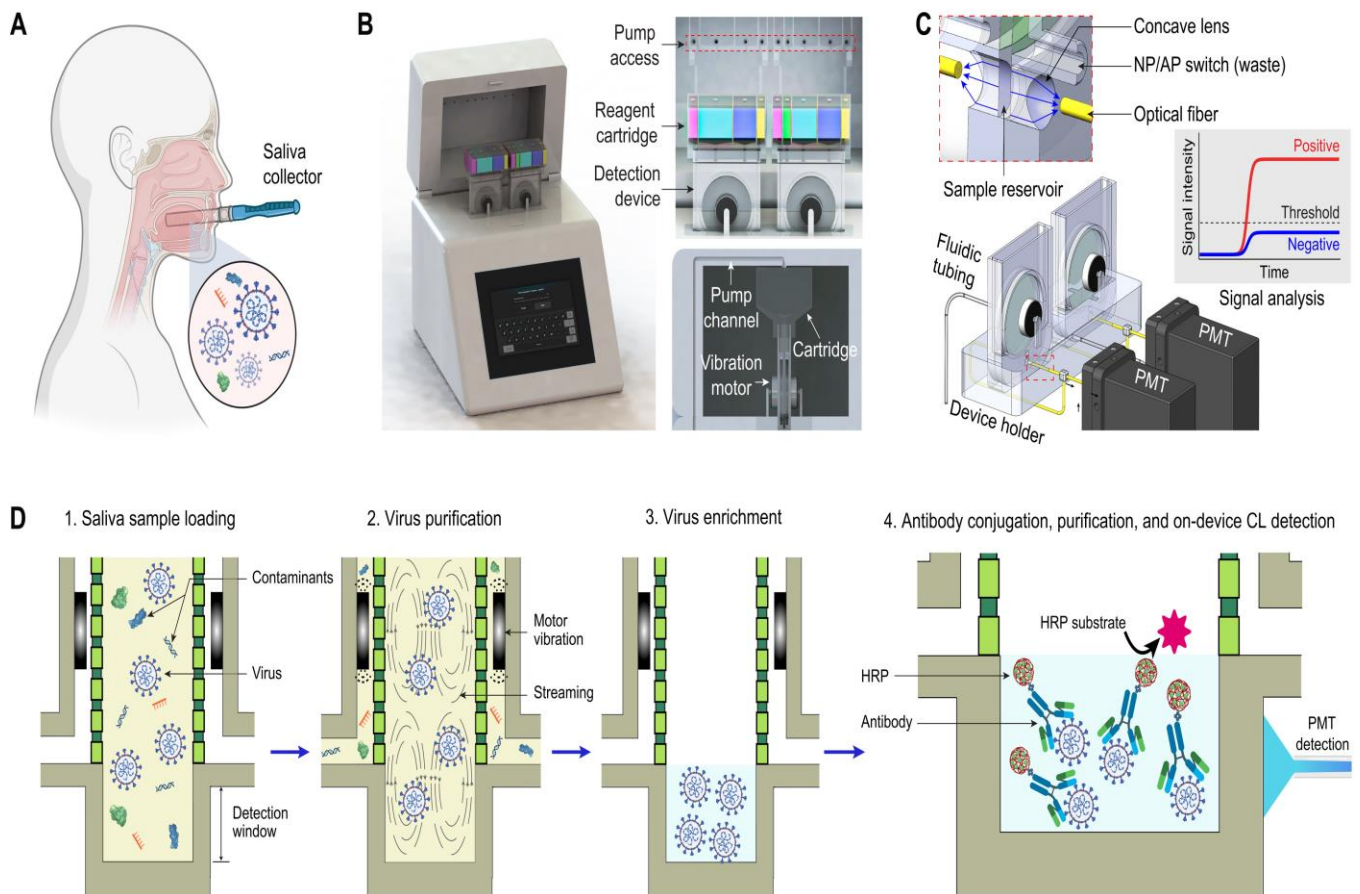
In terzo luogo, il sistema QUIT SARS-CoV-2 utilizza un metodo non invasivo per la raccolta di campioni (campioni di saliva) e il rilevamento dei virus. Questo metodo non solo potrebbe semplificare la raccolta dei campioni e ridurre al minimo l'interazione tra operatori sanitari e individui potenzialmente infetti, ma ha anche una maggiore sensibilità di rilevamento nella fase iniziale dell'infezione.

In sintesi: Il risonatore a membrana nanoporosa genera un flusso oscillante rapido per purificare e concentrare il virus SARS-CoV-2 completamente intatto nella saliva di 40 volte per il rilevamento in situ di antigeni virali basato su test immunologico chemiluminescente entro 20 minuti. Questo metodo non solo può raggiungere una sensibilità di rilevamento inferiore a 100 copie/ml di virus, paragonabile all'apparecchiatura PCR da banco; può anche migliorare la specificità di rilevamento tramite il monitoraggio diretto delle cariche virali.

Il sistema portatile integrato QUIT SARS-CoV-2, che consente uno screening virale in loco rapido e accurato con una strategia di pooling dei campioni ad alto rendimento, può essere eseguito in strutture di assistenza primaria e migliorare sostanzialmente il rilevamento e la prevenzione di COVID-19.

Con queste caratteristiche, il sistema QUIT SARS-CoV-2 è ideale per i test di screening in loco (ad esempio, in aeroporti, scuole, comunità e ambulatori), facilitando l'identificazione tempestiva di sospette infezioni da virus.

La speranza è che venga acquisito al più presto dal nostro sistema sanitario



Il sistema QUIT SARS-CoV-2

A Illustrazione che mostra la raccolta della saliva per il rilevamento del virus SARS-CoV-2.

B QUIT SARS-CoV-2 comprendente una workstation e due dispositivi monouso di purificazione e rilevamento.

C Modulo di rilevamento in un sistema QUIT SARS-CoV-2. AP, pressione dell'aria; NP, pressione negativa; PMT, tubo fotomoltiplicatore.

D Flusso di lavoro per la purificazione, l'arricchimento e il rilevamento dei virus utilizzando il sistema QUIT SARS-CoV-2. CL, chemiluminescenza; HRP, perossidasi di rafano.

Riferimento

-Chen Y, Liu F, Lee LP.

Quantitative and ultrasensitive in situ immunoassay technology for SARS-CoV-2 detection in saliva.

Sci Adv. 2022 May 27;8(21):eabn3481.

-Ascoli CA. **Could mutations of SARS-CoV-2 suppress diagnostic detection?** Nat Biotechnol. 2021 Mar;39(3):274-275.

Un anno fa... Baedeker/Replay del 28 Maggio 2021

Adda passà 'a nuttata : sindrome COVID-19 post-acuta

Mentre sto scrivendo più di 100 milioni di persone in tutto il mondo sono state infettate da COVID-19 e più di 1,6 milioni di persone sono decedute a seguito del contagio. L'incertezza sul percorso, la durata, l'entità e gli effetti di questa pandemia potrebbe portare ad una interminabile recessione globale che probabilmente durerà a lungo, senza che nessun paese sfugga al suo impatto. Milioni di "persone" continueranno a morire se la coscienza planetaria non provvederà a distribuire equamente i primi "incerti e fragili" rimedi vaccinali

a tutti Nel corso della malattia, le “persone” con COVID-19 sperimentano febbre o brividi, tosse, mancanza di respiro o difficoltà a respirare, affaticamento, dolori muscolari o muscolari, mal di testa, nuova perdita del gusto o dell'olfatto, mal di gola, congestione o naso che cola , nausea o vomito e diarrea. Le infezioni gravi da COVID-19 che richiedono il ricovero in ospedale possono comportare sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS), eventi cardiaci acuti, shock e insufficienza multiorgano.

Giornalmente si accumulano osservazioni sempre meno aneddotiche sul numero significativo di pazienti con COVID-19 che continua ad avere sintomi correlati dopo la fase acuta della malattia Nel Regno Unito circa il 10% dei pazienti risultati positivi al virus COVID-19 continua a essere malato oltre le 3 settimane e una percentuale minore per mesi. (Studio sui sintomi COVID. Quanto dura COVID-19? Kings College, Londra, 2020. https://covid19.joinzoe.com/post/covid-long-term?fbclid=IwAR1RxlcmmdL-EFjh_al-)

Questa condizione post-COVID ancora incerta e non è chiaramente definita è rubricata come "sindrome post-COVID", "COVID lungo" o "sindrome COVID-19 post-acuta". È stato proposto di definire il covid-19 post-acuto come una condizione che si estende oltre le 3 settimane dalla comparsa dei primi sintomi e il covid-19 cronico come che si estende oltre le 12 settimane. Le problematiche che si aprono sono diverse e complesse e contemplano :

Danno neurobiologico Come abbiamo visto nei giorni precedenti una infezione estesa al cervello può avere molte conseguenze neurologiche e psichiatriche, contribuendo sia alla fase acuta di COVID-19 che alle sue potenziali sequele. La combinazione di infiammazione sistemica, ipossia derivante da insufficienza respiratoria e la stessa neuroinfiammazione può precipitare o peggiorare i disturbi psichiatrici. La neuroinfiammazione è un importante fattore eziologico per molte malattie neuropsichiatriche e neurocognitive, tra cui depressione, psicosi, autismo, abuso di alcol e droghe, disturbi del sonno, disturbi neurodegenerativi ed epilessia. I sintomi depressivi sembrano essere comuni nei pazienti con sindrome post-COVID.

La depressione maggiore è uno dei disturbi neuropsichiatrici più frequenti legati al danno infiammatorio al cervello. Le manifestazioni neurologiche di COVID-19 riportate fino ad oggi includono encefalopatia, ictus, anosmia, ageusia, vertigini, cefalea, sindrome di Guillen-Barre, sindrome di Miller Fisher e lesione / mialgia del muscolo scheletrico (Wijeratne T 2020), Sono state osservate più condizioni epilettiche in pazienti con COVID-19 comprese crisi epilettiche di nuova insorgenza, crisi convulsive, crisi miocloniche, stato epilettico e stato epilettico refrattario di nuova insorgenza. I sintomi neurologici correlati a COVID-19 possono persistere a lungo dopo la malattia acuta da COVID-19 (Wijeratne T 2020) Disturbi fisici Un numero significativo di individui sperimenta sintomi fisici persistenti dopo il recupero dalla malattia iniziale.

Un recente studio in Svizzera ha mostrato la persistenza dei sintomi in un terzo dei pazienti ambulatoriali 30–45 giorni dopo la diagnosi. (Nehme M 2021). Stanchezza, dispnea e perdita del gusto o dell'olfatto erano i principali sintomi persistenti. Uno studio negli Stati Uniti ha dimostrato che i sintomi persistenti più comuni includevano tosse, affaticamento e dispnea. (Tenforde MW 2020) Altri studi indicano anche che sintomi correlati a COVID-19 come perdita di peso, dispnea, astenia, dolore toracico, palpitazioni, mal di testa, segni cutanei, artralgia, mialgia, disturbi digestivi e febbre possono persistere tra i sopravvissuti a COVID-19 per settimane o mesi (CarvalhoSchneider C 2021)

Un recente studio su pazienti in Italia ricoverati per COVID-19 ha rilevato che, in media 60 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi, l'87,4% presentava ancora sintomi correlati al virus, con un 55% che presentava tre o più sintomi, in particolare affaticamento, dispnea e articolazione e dolore al petto. (Carfi A 2020) .

Stanchezza persistente, debolezza, scarsa tolleranza all'esercizio, dolore, sequele neurologiche e gli effetti psicologici negativi di prolungati soggiorni in terapia intensiva sono stati osservati tra i sopravvissuti all'ARDS. Effetti psicologici Per molte persone apprendere di essere infettati da COVID-19 evoca uno stress emotivo significativo. L'esperienza della malattia, potenzialmente letale e incurabile, è la causa di un grave disagio, che può indurre una malattia mentale o aggravare un disturbo psichiatrico preesistente. I sintomi di COVID-19, in particolare i sintomi gravi, la preoccupazione di infettare altre persone, l'isolamento sociale e le preoccupazioni per la perdita di reddito e la capacità di lavorare in futuro possono provocare un grave

disagio emotivo che può persistere a lungo tempo. Problemi psichiatrici Disturbi psichiatrici persistenti tra i sopravvissuti a COVID-19 possono essere correlati a fattori psicologici e lesioni neurobiologiche. In molti casi, è probabilmente difficile separare l'impatto dei fattori psicologici dagli effetti neurobiologici. Molteplici evidenze suggeriscono che le conseguenze psichiatriche di una malattia da coronavirus rappresentano una sfida clinica significativa

Uno studio sulle conseguenze psichiatriche della SARS-COV-1 eseguito a 31-50 mesi dopo l'infezione ha dimostrato un'occorrenza del 54,5% del disturbo post-traumatico da stress (PTSD), del 39% della depressione, del 32,5% del disturbo di panico e 15,6% del disturbo ossessivo-compulsivo, un enorme aumento rispetto alla prevalenza preinfezione di qualsiasi diagnosi psichiatrica del 3%. (Lam MH 2009) Un recente studio nel Regno Unito ha mostrato che a 2-3 mesi dall'esordio della malattia i pazienti con COVID-19 avevano maggiori probabilità di riportare sintomi di ansia e depressione da moderati a gravi rispetto ai controlli.

Uno studio del San Raffaele riporta che 1 mese dopo il trattamento ospedaliero una percentuale considerevole di pazienti COVID-19 autovalutati nel range psicopatologico: 28% per PTSD, 31% per depressione, 42% per ansia, 20% per sintomi ossessivo-compulsivi e 40% per l'insonnia. (Mazza Mg 2020) Le condizioni psichiatriche, come PTSD, depressione, ansia, anomalie del sonno e disturbi cognitivi, sono frequenti tra le persone che hanno richiesto un ricovero in terapia intensiva. Fino al 33 e al 43% dei pazienti trattati in terapia intensiva, rispettivamente, sviluppa PTSD e depressione deficit neurocognitivi sono stati osservati nel 73% dei sopravvissuti a ARDS al momento della dimissione dall'ospedale e nel 47% a 2 anni dopo. (Hopkins RO 2005)