

18 Febbraio

Un “dettaglio molecolare” consente di riconoscere le varianti inglesi ed africane

*I dettagli fanno la perfezione
e la perfezione non è un dettaglio.*
Leonardo da Vinci

Le *mutazioni* sono gli elementi di base grazie ai quali possono svolgersi *i processi evolutivi*; rappresentano il substrato della *variabilità genetica*, ovvero la condizione per cui gli organismi differiscono tra loro per uno o più caratteri. Su questa variabilità, opera la *selezione naturale*, promuovendo mutazioni *favorevoli* a scapito di quelle *sfavorevoli* o addirittura letali. Analizzati all'interno di una sequenza nucleotidica le mutazioni si potrebbero definire, in maniera semplicistica, dei **dettagli molecolari**, ma piccoli dettagli impercettibili decidono tutto e molte volte cogliere un dettaglio consente di comprendere il significato dell'insieme.

Nell'ambito della *replicazione virale* le mutazioni possono provocare cambiamenti a più livelli. Ad esempio possono facilitare sia l' *ingresso* nella cellula che il *rilascio* dei virus neo prodotti. Inoltre possono aumentare la loro *resilienza all'azione di farmaci* e in particolare la loro capacità di eludere la risposta immunitaria dell'ospite. Ma, in particolare, possono influenzare la *velocità di replicazione*. La *rapidità di replicazione* dei virus è la chiave del loro successo; I virus a RNA di solito mutano più velocemente dei virus a DNA, i virus a ceppo singolo più velocemente dei virus a doppio ceppo

Nel contesto di una pandemia, identificare *le mutazioni* che aumentano la gravità della malattia, come sta avvenendo per il virus della sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 (SARS-CoV-2), è fondamentale monitorare continuamente i ceppi virali circolanti e rilevare le nuove varianti il prima possibile. Questo è realizzabile attraverso il *sequenziamento*, la tecnologia che consente di rilevare le *mutazioni* che potrebbero originare nuove varianti, a condizione che venga eseguito su una porzione rappresentativa di campioni positivi.

Il consorzio Covid-19 genomics UK (www.cogconsortium.uk) ha sequenziato oltre 200.000 virus fino ad al 18 gennaio 2021 consentendo così l'identificazione della due varianti fortemente contagiose: le varianti “inglese B1.1.7” e “sudafricana B1.351”.

In un soggetto positivo al SARS-CoV-2, sarebbe importante risalire alle *varianti responsabili della positività* entro poche ore in modo che possano essere prese decisioni cliniche appropriate e le persone colpite possano essere assistite al meglio.

Le *mutazioni* non sono solo decisive per il decorso clinico, ma la conoscenza delle varianti circolanti potrebbe fornire preziose informazioni alle autorità sanitarie pubbliche per decidere ulteriori misurazioni, per limitare i tassi di infezione Ad esempio predisporre norme più o meno restrittive al fine di prevenire o bloccare i contagi.

Le *mutazioni* possono essere rilevate attraverso il sequenziamento. La tecnologia più avanzata, il sequenziamento di nuova generazione (NGS), a partire dalla preparazione del campione, richiede almeno 3-4 giorni, esclusa la spedizione a un centro di riferimento. Tuttavia in un contesto di *intradamento diagnostico* è auspicabile poter avere a disposizione una procedura di screening *rapida ed economica* per le varianti inglesi ed africane.

E' anche vero che utilizzare il *sequenziamento* per rilevare varianti già note all'interno di una popolazione virale potrebbe rappresentare essere una perdita di tempo e di risorse preziose: sequenziale ogni caso positivo non è né possibile, né necessaria, né praticabile. La differenza tra qualcosa di buono e qualcosa di grande è l'attenzione ai dettagli e se sai dare ai dettagli la giusta luce, puoi trovare verità insospettite (Charles R. Swindoll)

Sia la variante SARS-CoV-2 del Sud Africa che quella del Regno Unito presentano entrambe un dettaglio esclusivo: ospitano la mutazione del dominio di legame del recettore **N501Y**, una teina spike che consente al virus di entrare nelle cellule umane. Questa mutazione non è presente in altri ceppi ampiamente circolanti

Il laboratorio di **Jurgen Durner** di Monaco di Baviera ha messo a punto una soluzione che utilizza la qPCR convenzionale in grado di fornire rapidamente ai medici le informazioni sui due mutanti senza ricorrere alle tecniche di sequenziamento (Durner J 2021)

Sfruttando il dettaglio mutazionale hanno introdotto nella qPCR routinarie un segnale di amplificazione che si evidenzia solo se è presente la variante **Y501**. La mancanza di rilevamento della mutazione N501Y esclude di conseguenza la presenza delle due varianti sudafricane e britanniche rapidamente e non richiede il sequenziamento.

436 campioni inizialmente selezionati come positivi per SARS-CoV-2 sono stati selezionati in modo casuale. Solo uno di questi campioni ha mostrato un aumento del segnale di fluorescenza indicativo per la variante Y501. I rimanenti 435 campioni avevano un picco di fusione a 54 ° C che indicava il tipo selvatico N501.

Tuttavia se il test per questa mutazione è negativo, ma c'è evidenza clinica di un mutante, ad esempio, in base alla gravità del decorso, all'anamnesi, si può decidere di attivare un sequenziamento. E' questa una procedura di screening rapida ed economica per le varianti UK / SA SARS-CoV-2 in un contesto diagnostico di instradamento in grado di fornire il risultato alle autorità sanitarie pubbliche e al medico curante entro poche ore. *Le bon dieu est dans le détail* (Gustave Flaubert)

-Durner J et al

Fast and cost-effective screening for SARS-CoV-2 variants in a routine diagnostic setting.

Dent Mater. 2021 Jan 29:S0109-5641(21)00035-X.
