

19. Aprile

## Glossario pandemico essenziale (M-N-O-P-R-S-TV-W)

### M

#### MASCHERAMENTO UNIVERSALE

La lunga sopravvivenza ambientale di SARS-CoV-2, l'elevata percentuale di pazienti asintomatici o lievemente sintomatici, il picco della carica virale prima o al momento della presentazione e quindi la sua elevata trasmissibilità giustifica un mascheramento universale, un'igiene diligente delle mani e rigorose misure di distanziamento sociale per un controllo efficace prima che l'immunità di gregge sia costruita dalla vaccinazione.

#### MEMBRANA IALINA

è stata attribuita a un aumento della permeabilità vascolare (definita come "tempesta di bradichinina") e all'accumulo di acido ialuronico nello spazio alveolare, portando all'intrappolamento di un volume elevato di acqua. Inoltre, in uno studio di profilazione dell'antigene extracellulare ad alto rendimento sono stati trovati autoanticorpi sierici diretti contro molte proteine immunomodulatorie tra cui citochine, chemochine, componenti di attivazione del complemento e proteine della superficie cellulare che possono aumentare il danno tissutale per deposizione di immunocomplessi e complemento. Questi autoanticorpi possono anche compromettere la funzione immunitaria e il controllo virologico inibendo la segnalazione degli immunorecettori. La presenza di questi autoanticorpi, compresi quelli contro gli interferoni, è fortemente associata alla gravità della malattia.

#### MISTE (*popolazioni virali*)

Oltre alla diversità genetica tra gli ospiti, all'interno di un singolo paziente possono essere presenti popolazioni virali miste. Una variante inizialmente presente a bassa frequenza in un individuo può diventare la popolazione virale predominante nel corso della malattia. Esempio: la proteina S W152L in un paziente con malattia grave. In uno studio che ha analizzato i genomi virali di pazienti in Austria, è stato riscontrato che una variante minore intra-ospite viene trasmessa ad altri e diventa la variante virale predominante in un altro paziente.

### N

#### NEXSTRAIN (*lignaggio/clade*)

è diviso in 19 (A, B) e 20 (AJ) secondo l'anno e l'ordine in cui è emerso il clade. Il lignaggio Pango, proposto per la prima volta nel luglio 2020, è un sistema dinamico, che tiene conto se il lignaggio si sta attivamente diffondendo o meno.

#### NOMENCLATURA (*virale*)

SARS-CoV-2 si è evoluto in diversi clade e lignaggi. Attualmente, ci sono tre principali sistemi di nomenclatura per i diversi cladi o lignaggi. I sistemi GISAID e Nextstrain sono stati utilizzati dall'inizio della pandemia e i clade o lignaggi sono definiti da mutazioni distintive. Sebbene le nomenclature GISAID e Nextstrain siano utili per comprendere l'evoluzione del virus su scala

macroscopica, questi sistemi non sono in grado di delineare informazioni più dettagliate sui cluster di focolai.

### **ORF8** (*proteina*)

è una proteina unica in SARS-CoV-2 e risulta essere immunogenica. Tuttavia, sono stati identificati frequentemente mutanti eliminati o troncati da ORF8. In uno studio di Singapore, i pazienti infettati da mutanti eliminati da ORF8 hanno una malattia più lieve rispetto a quelli infettati da SARS-CoV-2 wild-type. Mutanti deleti di ORF3b sono emersi anche con la mutazione D614G. Il troncamento di ORF3b conferisce la perdita della sua funzione di antagonismo dell'interferone.

### **ORF10**

Sembra essere “superfluo” per l'infezione cellulare. Le fasi del ciclo di replicazione di SARS-CoV-2 sono state rapidamente dedotte dai dati empirici e dalla conoscenza esistente di altri betacoronavirus. Il primo passo nell'infezione cellulare da SARS-CoV-2 è il legame della proteina S ai fattori di ingresso della superficie della cellula ospite come il recettore ACE2 associato alla membrana e solubile che può essere preceduto da un legame più debole della proteina S all'attaccamento di fattori come l'eparan solfato.

### **ORF1a-ORF1b** (*giunzione*)

Ha una struttura pseudonodata fondamentale per il frameshifting ribosomiale programmato e la traduzione della poliproteina ORF1ab. Il 3' UTR ha il motivo s2 m, ottanucleotide conservato e molte pieghe inaspettate.

### **ORIGINE** (*virale*)

L'origine di SARS-CoV-2 è ancora sconosciuta.

## **P**

### **PANGO** (*lignaggio/clade*)

Il sistema del lignaggio Pango ha una risoluzione molto più fine rispetto a GISAID o Nextstrain ed è particolarmente utile per catturare l'emergere di nuove varianti.

## **R**

### **RADIOGRAFIA TORACE**

La radiografia del torace o la TC del polmone hanno mostrato tipicamente opacità bilaterali multifocali e periferiche a vetro smerigliato che possono deteriorarsi fino a un consolidamento denso nella malattia progressiva. Le anomalie radiologiche di solito raggiungono il picco entro 2 settimane dall'esordio dei sintomi e sono sostituite da fibrosi con il recupero.

### **RACCOLTA DEI CAMPIONI**

La carica virale nel tratto respiratorio è massima all'inizio dei sintomi o subito dopo e diminuisce a una velocità di 1 log<sub>10</sub> a settimana. Il test dell'aspirato nasofaringeo, del tampone nasofaringeo o del tampone faringeo è adeguato per le infezioni allo stadio iniziale, in particolare per le infezioni asintomatiche o lievi del tratto respiratorio superiore. I pazienti con sintomi del tratto respiratorio inferiore dovrebbero inviare espettorato per migliorare la sensibilità. Sebbene il lavaggio bronco-alveolare (BAL) abbia mostrato il più alto tasso di positività tra i diversi campioni respiratori, è indicato solo in quelli con grave coinvolgimento delle basse vie respiratorie quando i campioni nasofaringei e della gola sono risultati negativi. La secrezione orofaringea posteriore (POS) o saliva

della gola profonda è sempre più studiata in quanto rappresenta un pool di secrezioni nasofaringee, orofaringee e delle basse vie respiratorie posteriori durante la posizione supina durante il sonno, se assunta la mattina presto prima di colazione e sciacquare la bocca. Può essere raccolto autonomamente dai pazienti con istruzioni, riducendo il disagio del paziente, aggirando la carenza di tamponi e riducendo al minimo l'esposizione all'aerosol per gli operatori sanitari. Il costo della raccolta del POS potrebbe essere 2,59 volte inferiore rispetto al campione nasofaringeo. La sensibilità è paragonabile a quella del tampone nasofaringeo in campioni opportunamente raccolti da pazienti che hanno collaborato. La sensibilità non varia molto tra la mattina presto e almeno 2 ore dopo il pasto.

Per i campioni non delle vie aeree, la diffusione virale mediante RT-PCR è stata riscontrata nel materiale fecale nel 40,5% dei pazienti dopo la prima settimana di insorgenza dei sintomi e potrebbe persistere per 3 settimane o più. La presenza di RNA virale nel sistema fognario può fornire un modo economico e non invasivo per monitorare la diffusione della malattia all'interno della comunità e può fungere da sistema di allerta precoce per la popolazione che non ha accesso all'assistenza sanitaria. Il virus avvolto ha affinità con i biosolidi che possono consentire il test dei fanghi negli impianti di trattamento delle acque reflue con una sensibilità migliore rispetto al test dell'affluente. Il campionamento composito è utilizzato nella maggior parte degli studi. Il campione di liquame deve essere concentrato seguito da un'efficiente estrazione dell'RNA per prevenire l'inibizione dei saggi molecolari. L'RNA virale può essere rilevato anche nel sangue in circa il 30% dei pazienti gravi, ma il tasso di rilevamento è molto più basso nei casi più lievi. Anche senza sintomi oculari, la secrezione congiuntivale può contenere una piccola quantità di RNA SARS-CoV-2 in circa l'8% dei pazienti. L'RNA virale si trova raramente nelle urine.

Per accogliere la grande quantità di campioni per lo screening della popolazione asintomatica, il raggruppamento di campioni clinici, fino a 5-30 campioni per pool è una strategia aggiuntiva per far fronte alla carenza di reagenti, a scapito di tempi di elaborazione possibilmente più lunghi e ridotta sensibilità diagnostica del campione debolmente positivo. È efficiente solo quando il numero di campioni positivo atteso è basso poiché il pool positivo richiede un nuovo test individuale. La ripetizione del test strategico di un gruppo definito e l'uso di modelli matematici per stratificare le dimensioni del pool per gruppi di età in base alla rispettiva prevalenza della malattia possono migliorare l'efficienza.

## **RILEVAMENTO ANTIGENE**

Il rilevamento dell'antigene N è abbondantemente espresso in SARS-CoV-2 ed è quindi ampiamente utilizzato come bersaglio per il test dell'antigene COVID-19. Il rilevamento si ottiene catturando l'antigene virale in campioni clinici mediante anticorpi monoclonali fissati su una membrana in saggi immunologici laterali colorimetrici. Sebbene questo test possa essere fornito come POCT in un ambiente ambulatoriale o addirittura non sanitario, ha una bassa sensibilità rispetto ai test RT-PCR, specialmente per campioni con bassa carica virale. In generale, il test dell'antigene è negativo quando i loro valori di Ct sulla RT-PCR quantitativa sono superiori a 25, sebbene i valori di Ct varino con diversi test e condizioni.

## **S**

### **SARS-CoV-2 (tassonomia)**

appartiene al genere Betacoronavirus della famiglia Coronaviridae. Questo genere include anche i patogeni respiratori umani SARS-CoV-1, il coronavirus della sindrome respiratoria del Medio Oriente (MERS) (MERS-CoV), il coronavirus umano (HCoV)-HKU1 e HCoV-OC43. Insieme al

coronavirus di pipistrello strettamente correlato RaTG13 e SARS-CoV-1, SARS-CoV-2 è classificato come membro del sottogenere Sarbecovirus dei coronavirus correlati alla SARS.

### **SARS-CoV-2 (ultrastruttura)**

mediante microscopia elettronica e NGS ha confermato che condivideva le caratteristiche strutturali e l'organizzazione genomica di altri betacoronavirus

È un virus con involucro pleomorfo (intervallo di dimensioni: 60-140 nm) tempestato di punte superficiali distintive. Il genoma di RNA a filamento singolo a senso positivo di SARS-CoV-2 ha una dimensione di circa 29–30 kB ed è organizzato come metil-capped-5'UTR-ORF1a/bS-ORF3-EM-ORF6-ORF7a/b-ORF8 -N/ORF9b-ORF10-3'UTR-poli A coda .

### **SARS-CoV-2 (genoma)**

Uno dei primi genomi pubblicati, hCoV-19/Wuhan/IVDC-HB-01/2019 (numero di accesso GISAID (EPI\_ISL\_402119), ha una dimensione del genoma di 29.891 bp. Uno studio che utilizza tecniche di profilazione del ribosoma ha mostrato la presenza di ulteriori a monte e interni open reading frames (ORF) Il genoma è privo del gene dell'emoagglutinina esterasi che si trova in alcuni altri betacoronavirus. ORF1ab, che comprende due terzi dell'intero genoma, codifica per una grande poliproteina pp1ab, che viene scissa proteoliticamente in 16 proteine non strutturali (Nsps) critiche per la replicazione virale Verso l'estremità 3' del genoma, i geni S, E, M e N codificano proteine strutturali chiave trovate nel virione maturo

### **SPIKE (glicoproteina)**

La **glicoproteina spike (S)** forma i trimeri sulla superficie del virione e si lega al recettore dell'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2) umano per l'ingresso cellulare .Contiene due subunità S1 e S2 con un sito polibasico PRRA alla giunzione, che consente un'efficace scissione da parte della furina e di altre proteasi Questo sito di scissione multibasico sembra essere un importante fattore di virulenza che può aumentare la replicazione del virus e il trofismo di più tessuti come nel caso del virus dell'influenza aviaria A(H5N1) Le mutazioni in questo sito possono attenuare la patogenicità nei modelli animali e possono essere un'opzione interessante per la progettazione di vaccini vivi attenuati. **Un altro sito di clivaggio**, chiamato S2', si trova all'interno della regione S2, ed è clivato dalla serina proteasi 2 transmembrana (TMPRSS2) .La proteina S contiene i principali epitopi immunogenici, particolarmente concentrati nel dominio N-terminale (NTD) e nel dominio di legame del recettore (RBD) della subunità S1, che sono bersagli degli anticorpi neutralizzanti. La proteina dell'involucro (E) probabilmente forma una viroporina, che è importante per l'assemblaggio e il rilascio del virus, ed è anche un presunto determinante della virulenza La proteina di membrana (M) è una proteina strutturale abbondantemente espressa all'interno dell'involucro lipidico che è anche importante per la morfogenesi virale e la soppressione dell'interferone Infine, la proteina nucleocapside (N) stabilizza il genoma dell'RNA in un complesso elicoidale] e funge da obiettivo chiave dell'immunità adattativa.

### **SARS-CoV-2 (proteine accessorie)**

Inoltre, ci sono un certo numero di proteine accessorie, la funzione di alcune delle quali rimane sconosciuta. ORF3a può funzionare come induttore di apoptosi Sia ORF6 che ORF8 sono coinvolti nell'antagonismo dell'interferone mentre ORF7a può essere coinvolto nell'inibizione della traduzione cellulare ORF8 può legarsi al recettore A dell'IL-17 (IL17RA) che può modulare la risposta infiammatoria e livelli ematici più elevati di IL17A solubile sono stati associati a una malattia più lieve .

### **SARS-CoV-2 (attività intracellulare)**

All'interno della cellula, il virus si libera per rilasciare il suo RNA genomico nel citoplasma per la traduzione. Le poliproteine tradotte pp1a e pp1ab vengono proteoliticamente scisse in singole Nsp, molte delle quali formano il complesso replicasi-trascrittasi. Questi complessi sono localizzati all'interno di vescicole specializzate a doppia membrana (DMV). All'interno del sistema DMV, il complesso opera per replicare l'RNA genomico e trascrivere gli RNA subgenomici, che vengono successivamente tradotti in proteine strutturali. L'assemblaggio virale si verifica all'interno del reticolo endoplasmatico, del Golgi e del complesso intermedio (ERGIC) dove le membrane tempestate di proteine strutturali virali interagiscono con l'RNA genomico virale N-encapsidato. La preattivazione della proteina S da parte della furina/ proteasi dell'ospite può verificarsi prima che i virus maturi vengano rilasciati dalla cellula mediante esocitosi delle vescicole secretorie.

Come in altri coronavirus, vengono prodotti RNA subgenomici e la maggior parte dell'RNA subgenomico consiste in una sequenza leader nella regione 5' non tradotta del genoma e collegata al gene S o ad altri geni nell'estremità 3'. Quindi, le proteine virali tradotte sono più abbondanti verso l'estremità 3' del genoma, il che può influenzare la sensibilità dei test diagnostici utilizzandole come bersagli per la RT-PCR o il rilevamento dell'antigene. Un'eccezione è l'nsP1, che ha dimostrato di essere altamente espresso ed è risultato essere un bersaglio sensibile per RT-PCR. Il sequenziamento diretto dell'RNA rivela anche la presenza di RNA subgenomici non canonici in cui il punto di rottura 5' si trova all'interno del gene ORF1a. Per quanto riguarda il presunto RNA strutturale trovato in SARS-CoV-2, l'UTR 5' ha diversi stem-loop (SL1-5) che possono essere coinvolti nella mediazione della replicazione virale come in altri betacoronavirus.

## T

### TEST MOLECOLARI

La reazione a catena della polimerasi della trascrittasi inversa (RT-PCR) è la tecnica più utilizzata. I potenziali bersagli molecolari per SARS-CoV-2 includono proteine strutturali (ad es. S, E, elicasi (hel), N, M e regioni non strutturali come la regione della RNA polimerasi RNA-dipendente (RdRp) e altri bersagli ORF1ab. Attualmente non vi è consenso su quale gene conferisca le migliori prestazioni diagnostiche. Attualmente, si raccomanda un CoV correlato alla SARS di pipistrello conservato e una regione bersaglio specifica SARS-CoV-2 per mitigare l'effetto della mutazione casuale o della deriva genetica mentre mantenendo la specificità. Tuttavia, le mutazioni possono influenzare la sensibilità di rilevamento mediante RT-PCR. Ad esempio, le mutazioni nel gene S della variante britannica B.1.1.7 hanno portato al fallimento di alcuni primer RT-PCR mirati al gene S. Sono state sviluppate piattaforme commerciali automatizzate e ad alto rendimento per la diagnosi molecolare di SARS-CoV-2. Molecular POCT consente test rapidi vicino al sito di raccolta in aree con scarso supporto di laboratorio. Per migliorare le sensibilità diagnostiche dei saggi molecolari, è stata impiegata una tecnologia basata su CRISPR (short palindromic repeat) cluster regolarmente interspaziati mediante l'accoppiamento con l'enzima Cas. Il sequenziamento dell'arricchimento del bersaglio mediante NGS con tecnologia nanopore o Illumina può svelare l'intero genoma in pochi giorni. La condivisione dei dati genetici facilita il monitoraggio della diffusione della malattia, la comprensione della via di trasmissione della malattia, il monitoraggio dell'evoluzione del genoma virale e l'individuazione di nuove varianti.

### TITOLO ANTICORPALE

La durata esatta del titolo anticorpale neutralizzante sierico rilevabile dopo l'infezione naturale o la vaccinazione attende ancora uno studio di follow-up a lungo termine. Sono stati segnalati casi di reinfezione e non è stato possibile rilevare anticorpi neutralizzanti alla presentazione del secondo

episodio di infezione 5 mesi dopo il primo episodio L'entità e la durata della persistenza delle IgG o dell'anticorpo neutralizzante sono correlate alla gravità del COVID-19 in alcuni studi

## TRASMISSIONE

La letteratura sull'eterogeneità della trasmissione è scarsa. L'eterogeneità nella dinamica delle malattie infettive, in cui la maggior parte degli individui infetta solo pochi altri mentre un piccolo sottogruppo della popolazione è responsabile della maggior parte dei nuovi casi, è all'ordine del giorno. La storia retrospettiva di 135 casi tra il 21 gennaio e il 26 febbraio 2020 a Tianjin, in Cina, ha mostrato un'eterogeneità di trasmissione significativa con un coefficiente di dispersione di 0,25 Il tasso complessivo di mortalità per infezione (IFR) stimato in Cina era dello 0,66%, che aumentava con l'età Ciò è simile alla stima IFR dello 0,6% dedotta utilizzando l'IFR corretto sulla nave da crociera Diamond Princess (vedi )

## TRASMISSIONE ( *vie di* )

Si ritiene che SARS-CoV-2 si diffonda prevalentemente tramite aerosol a corto raggio, goccioline respiratorie e contatto diretto o indiretto con goccioline respiratorie infettive. La trasmissione per via aerea di SARS-CoV-2 è stata elegantemente dimostrata nel modello di criceto. Un basso livello di SARS-CoV-2 RNA (concentrazioni in aria fino a  $3,4 \times 10^3$  copie di RNA per m<sup>3</sup> di aria campionata) potrebbe essere rilevato nei campioni di aria ottenuti dall'ambiente che ospita i pazienti COVID-19 anche in assenza di aerosol- procedure di generazione Il virus SARS-CoV-2 vitale potrebbe essere isolato da campioni di aria raccolti fino a 4,8 m di distanza da pazienti COVID-19 con concentrazioni virali stimate di 6-74 TCID<sub>50</sub>unità/L di aria a conferma dell'ipotesi che la diffusione per aerosol di SARS-CoV-2 possa servire come fonte di infezione. Grandi quantità di particelle, per la maggior parte inferiori a 5 micron, possono essere emesse durante il normale discorso e la quantità è positivamente correlata con il volume della vocalizzazione Lo studio aerobiologico ha mostrato che le particelle prodotte nel tratto respiratorio umano rappresentano un continuum di dimensioni invece di una netta distinzione in goccioline respiratorie ( $\geq 5$  micron) o aerosol nell'aria ( $< 5$  micron). La concentrazione di goccioline respiratorie e aerosol nell'aria che trasportano SARS-CoV-2 dovrebbe essere inversamente proporzionale alla distanza dal paziente sorgente. La diffusione nell'aria a corto raggio dovrebbe essere la via predominante di trasmissione di SARS-CoV-2. Inoltre, il contatto con superfici toccate frequentemente, oggetti condivisi e cibo contaminato da goccioline respiratorie infettive rappresenta probabilmente

## Trattamento

Fatta eccezione per i luoghi in cui tutti i casi infetti sono legalmente richiesti per l'isolamento ospedaliero obbligatorio, la maggior parte dei pazienti con sintomi lievi richiede solo isolamento domiciliare, monitoraggio e trattamento sintomatico. Quelli con febbre persistente, affaticamento e dispnea richiederebbero il ricovero per una valutazione completa, supporto respiratorio e anticoagulante mirato con eparina a basso peso molecolare per prevenire eventi tromboembolici. Poiché la carica virale raggiunge il picco al momento dell'insorgenza o della presentazione dei sintomi, è improbabile che il trattamento antivirale funzioni a meno che non venga somministrato precocemente quando la malattia è ancora lieve.

**Remdesivir** ha dimostrato di ridurre la durata del ricovero di 5 giorni in uno studio di controllo randomizzato che non ha monitorato le variazioni seriali della carica virale dopo il trattamento .Lo studio OMS Solidarity, uno studio multinazionale con 11.330 pazienti adulti, ha rilevato che remdesivir, lopinavir-ritonavir, interferone  $\beta$ -1a e idrossiclorochina hanno benefici clinici scarsi o nulli se somministrati in monoterapia, specialmente se iniziati allo stadio di insufficienza respiratoria. Tuttavia, è stato dimostrato che una combinazione di interferone  $\beta$ -1b, lopinavir-ritonavir e ribavirina riduce la durata del ricovero e riduce la carica virale di 2-3 log tra il giorno 6 e

il giorno 11 dopo l'insorgenza dei sintomi se somministrata precocemente in uno studio di controllo randomizzato.

Allo stesso modo, è stato dimostrato che l'interferone  $\beta$ -1a inalato migliora i sintomi nei casi lievi in un altro studio di controllo randomizzato senza monitoraggio della carica virale. Ciò non è inaspettato perché mentre SARS-CoV-2 è altamente suscettibile agli interferoni in vitro, è stato dimostrato che il virus riduce l'interferone di tipo 1 prodotto nell'espanto di tessuto polmonare infetto ex vivo. Inoltre, è stato riscontrato che circa il 13% dei pazienti con COVID-19 grave aveva titoli elevati di autoanticorpi contro gli interferoni di tipo 1 e soprattutto contro l'interferone- $\alpha$ .

## TROMBOSI

La trombosi diffusa potrebbe essere correlata agli stati di iperinfiammatorio e ipercoagulopatia, definiti come "immuno-trombosi". La lesione endoteliale diretta innesca la risposta immunitaria innata, inclusa l'attivazione dei monociti e delle vie del complemento, portando alla deposizione dei componenti terminali del complemento C5b-9 (complesso di attacco della membrana), C4d e serina proteasi associata alla lectina legante il mannosio (MBL) (MASP) nel microcircolo.

## V

### VACCINI

Oltre 70 vaccini SARS-CoV-2 sviluppati da diverse piattaforme tecnologiche vaccinali, tra cui virione intero inattivato, virus vivo attenuato, acido nucleico, vettori di virus e proteina S ricombinante, sono già in fase di sperimentazione clinica. Quattro candidati al vaccino hanno pubblicato i loro dati clinici di fase 3. Sebbene sembrano tutti sicuri negli studi clinici, ognuno ha i suoi pregi e difetti. I vaccini con nanoparticelle lipidiche mRNA inducono un buon siero neutralizzante anticorpale e un'immunità cellulo-mediata, ma richiedono una rigorosa conservazione a freddo da -20 a -70 ° C. Sebbene si tratti di una nuova tecnologia, gli effetti collaterali sono generalmente lievi. Dopo la somministrazione di milioni di dosi sono stati segnalati rari casi di anafilassi, probabilmente dovuti al polietilenglicole. Le preoccupazioni per l'esacerbazione del vaccino di malattie mediche di base negli anziani fragili di età superiore agli 80 anni non sono ancora confermate. L'adenovirus dello scimpanzé e il vaccino vettore dell'adenovirus umano 26/5 inducono anche alti titoli di anticorpi neutralizzanti e una forte immunità cellulo-mediata con almeno il 70% di efficacia del vaccino. Un'ulteriore analisi di uno studio clinico di fase 3 ha mostrato che un vaccino a base di vettore di adenovirus era più efficace se l'intervallo tra la prima e la seconda dose era di 12 settimane o più. Sebbene i dati clinici di fase 3 del vaccino a virione intero inattivato con beta-propiolattone non siano stati ancora pubblicati su riviste sottoposte a revisione paritaria, i dati degli studi di fase 2 hanno suggerito che il vaccino è sicuro e può indurre anticorpi neutralizzanti, ma i dati su cellule mediate l'immunità è limitata in questa fase. È probabile che tutti e tre i tipi di vaccini prevenivano gravi infezioni sintomatiche, ma potrebbero non essere in grado di prevenire infezioni o trasmissioni delle vie aeree superiori e non sono ben testati nei bambini o in gravidanza. La nanoparticella di spike trimerico ricombinante a base di saponina sembra indurre il miglior anticorpo neutralizzante nel siero e una ragionevole immunità cellulo-mediata, ma i dati degli studi clinici di fase 3 non sono stati pubblicati. Tuttavia, ci sono prove preliminari che i mutanti del virus spike RBD dal Sud Africa e dal Brasile con la mutazione E484 K possono ridurre i titoli anticorpali neutralizzanti indotti da questi vaccini. Ma fintanto che questi vaccini proteggono i destinatari del vaccino da malattie gravi, SARS-CoV-2 potrebbe diventare un altro coronavirus comune del raffreddore in circolazione quando la maggior parte della popolazione globale ha sviluppato l'immunità di gregge da infezioni naturali o vaccinazione contro i primi ceppi di virus correlati a Wuhan. Gli studi iniziali sugli animali e gli studi di vaccinazione di fase 3 non hanno

rivelato alcuna malattia potenziata dal vaccino o potenziamento della malattia dipendente da anticorpi. Invece, la vaccinazione entro 3 giorni prima o dopo la sfida del virus nei criceti ha mostrato ancora un diverso grado di protezione nonostante la mancanza di un titolo anticorpale neutralizzante rilevabile a quel punto. Per massimizzare la protezione dei vaccini disponibili, sono necessari ulteriori studi sugli effetti dell'approccio prime e boost di diverse combinazioni di vaccini. Con la crescente disponibilità di vaccini sicuri ed efficaci, la battaglia è combattere la disinformazione e l'esitazione sui vaccini mediante l'educazione strategica e la comunicazione del rischio in modo da ottenere un'immunità di gregge del 70-80%.

## VARIANTI

Con l'evoluzione del virus, sono state trovate molte nuove varianti. L'analisi delle varianti virali aiuta le indagini epidemiologiche. Ad esempio, l'analisi dell'intero genoma virale durante l'epidemia dell'estate 2020 a Hong Kong ha mostrato che l'epidemia era molto probabilmente collegata a varianti virali importate dai viaggiatori. Inoltre, l'analisi delle varianti può essere utilizzata per identificare i fattori che influenzano la trasmissibilità o la virulenza del virus. Lo screening in vitro mediante passaggio seriale o mutagenesi sito-diretta ha identificato mutazioni nella proteina S che consentono al virus di sfuggire alla neutralizzazione da parte del plasma convalescente o di infettare le cellule in modo più efficiente. Le varianti virali possono anche emergere durante la circolazione negli animali. Poiché SARS-CoV-2 può infettare molti animali in modo naturale o sperimentale c'è sempre il pericolo di trasmissione da uomo a animale di SARS-CoV-2, seguito dalla genesi di mutanti negli animali che poi tornano nell'uomo. La trasmissione da visone a uomo è stata documentata in Europa. Inoltre, la variante S N501Y può essere selezionata in esperimenti di adattamento del virus utilizzando topi Balb/c.

## VARIANTI *(con delezioni di perdita di funzione)*

È interessante notare che sono state trovate varianti circolanti con delezioni di perdita di funzione in SARS-CoV-2 ORF3b, ORF7a/7b e ORF8, indicando che queste non sono assolutamente essenziali per l'infezione virale e possono essere resti necessari per l'infezione di un intermedio non identificato ospite ORF9b, una proteina accessoria tradotta da un frame di lettura aperto alternativo all'interno del gene N, interagisce con la proteina del recettore di importazione mitocondriale ospite TOM70 e sopprime la risposta dell'interferone di tipo I.

## VARIANTI *(degne di nota)*

Dall'inizio della pandemia di COVID-19 sono emerse diverse varianti degne di nota, tra cui B.1.1.7 (VOC-202012/01), B.1.351 (501Y.V2) e P.1 (VOC202101/02) che sono state segnalate per la prima volta rispettivamente dal Regno Unito, dal Sud Africa e dal Brasile. Queste varianti di solito aumentano la trasmissibilità e, quindi, sostituiscono rapidamente i lignaggi esistenti. Alcune di queste varianti condividono alcune mutazioni critiche nella proteina S RBD. Ad esempio, N501Y è presente in B.1.1.7, B.1.351 e P.1, mentre E484 K è presente in B.1.351 e P.1 oltre a N501Y e D614G. Una delle prime varianti principali identificate per SARS-CoV-2 sono state le delezioni alla giunzione della proteina S S1/S2. Questi sono stati facilmente osservati durante il passaggio nelle cellule Vero E6. Le varianti di cancellazione della giunzione S1/S2 sono risultate meno virulente in un modello di criceto. Varianti delete della giunzione S1/S2 esistono naturalmente anche nei campioni dei pazienti prima di qualsiasi passaggio nelle colture cellulari.

## VARIANTI *(rischio)*

Una preoccupazione chiave sulle varianti virali è se aumentano il rischio di reinfezione o di fallimenti del vaccino. Nel primo caso di reinfezione segnalato nell'agosto 2020, il secondo episodio è stato causato da una variante **D614G**. In un caso di reinfezione segnalato dal Brasile, il



secondo episodio è stato causato dalla variante E484 K. È stato dimostrato che il virus che trasporta l'E484 K è meno suscettibile alla neutralizzazione da parte dei sieri dei riceventi del vaccino mRNA

## **W**

**W4** (*lignaggio*)

è il lignaggio predominante che si trova in quasi tutti i casi locali a Hong Kong da novembre 2020.