

2. Ottobre

## E' possibile identificare i soggetti Covid-super diffusori?

*Atene fu distrutta dalla paura della peste, non dalla peste.*

Tucidide

### **Premessa**

La sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 (SARS-CoV-2) che causa la malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) è altamente infettiva con conseguente necessità di quarantene.

L'identikit del **diffusore** di particelle virali attive (VP) deve avere un virus con un involucro virale intatto, con *domini di legame del recettore* (RBD) accessibili delle proteine spike (S) che possono così legarsi a un recettore dell'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2) per mediare l'ingresso cellulare dei virioni e la loro replicazione

L'identificazione dei **diffusori**, gli individui con malattia attiva, è necessaria per prendere decisioni informate su chi dovrebbe o non dovrebbe essere messo in quarantena per un periodo di tempo adeguato e fondamentalmente per ridurre le inevitabili conseguenze socioeconomiche negative

La "sfida", tuttavia, è che nessun test attualmente disponibile può identificare questi "super spargitori" (gli untori di Manzoniana memoria) con malattia attiva che hanno VP intatti con un RBD ACE2 accessibile all'interno della proteina S del virus.

Nonostante la diffusione della pratica vaccinale, (con buona pace dei no-vax) resterebbe in vigore il criterio che sono necessari dai 10 ai 14 giorni di quarantena per coloro che hanno risultati positivi al COVID-19, indipendentemente dallo stato di vaccinazione e in Italia dai risultati della recente elezione



Sebbene la **PCR** quantitativa della trascrizione inversa (RT-qPCR) sia sensibile e specifica, rileva la presenza di gRNA indipendentemente dalla sua fonte (cioè, VP intatte che possono avere un RBD accessibile o non accessibile sulla proteina S o gRNA liberato dalle VP)

Anche i [Saggi di flusso laterale](#) basati su anticorpi o antigeni hanno ricevuto l'approvazione della FDA .Tuttavia, questi test hanno limiti di rilevamento inferiori rispetto a RT-qPCR e risultati di falsi negativi elevati

I [test basati sulla presenza di anticorpi bersaglio](#) non forniscono informazioni sulla malattia attiva ma informano solo sull'eventuale infezione. I test dell'antigene rilevano specifici frammenti proteici che risiedono sulla superficie del virus, ma questi test richiedono elevate cariche virali per ridurre al minimo i risultati falsi negativi.

Come vedremo tra poco la dinamica temporale della carica virale per SARS-CoV-2 ha determinato che l'infettività da COVID-19 inizia **~12 giorni (media)** prima dell'insorgenza dei sintomi, raggiungendo un picco **~2 giorni prima** e 1 giorno dopo la loro insorgenza, ma diminuisce rapidamente **~7 giorni dopo** l'inizio sintomi

Quindi, i pazienti che seguono un test **SARS-CoV-2 positivo** possono rimanere in quarantena anche se potrebbero non essere infettivi perché i test PCR, sierologici o antigenici non sono in grado di distinguere tra malattia attiva e non attiva.

E' possibile identificare i COVID-Super diffusori?

Sebbene **RT-qPCR** e test antigenici rapidi siano considerati la *pietra angolare* dei test COVID-19, **non sono in grado** di distinguere i *pazienti con malattia attiva* che possono essere *considerati infettivi* e quelli che non hanno la capacità di infettare altri.

I test basati sulla **PCR** possono sovrastimare il numero di persone che diffondono attivamente la malattia poiché **non sono in grado** di distinguere tra malattia attiva e non attiva in quanto la procedura di estrazione *dell'RNA* non determina la fonte *dell'RNA reale* dando un test positivo.

L'importanza della capacità di discriminare tra *malattia attiva e non attiva* è fondamentale perché può determinare il tempo necessario della quarantena o aiutare a pianificare quarantene di massa; *quarantene prolungate* possono avere gravi conseguenze socioeconomiche, sintomi di stress post-traumatico derivanti da perdite finanziarie, stigma, noia o paura di infezioni

I timori di *infezione* e/o *quarantene prolungate* hanno creato ritardi nella diagnosi di altre gravi malattie perché i controlli annuali vengono posticipati o annullati. Uno studio di popolazione ha indicato che, a causa del ritardo nella diagnosi durante la pandemia, i decessi per cancro aumenteranno sostanzialmente nel prossimo periodo di 5 anni

Ridurre i tempi di quarantena e/o ridurre i timori di infezione può migliorare l'esito per le mortalità non COVID-19.

Un **rapporto** del *State Key Laboratory for Emerging Infectious, University of Hong Kong*, sulla dinamica temporale della diffusione virale e della trasmissibilità di COVID-19 ha indicato che il **44%** della trasmissione si è verificato in una **fase presintomatica** del profilo della carica virale

*To KK et al. Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva. Clin Infect Dis. 2020 Jul 28;71(15):841-843.*

Pertanto, il solo **test PCR**, nonostante la sua elevata sensibilità e specificità, può allungare i tempi di quarantena a causa dell'impossibilità di determinare la fonte di **gRNA** utilizzata per la misurazione.

Mitchell Katz del *NYC Health and Hospitals, New York*.



Ha dimostrato che I pazienti possono mostrare risultati **RT-qPCR positivi** a lungo termine derivanti dalla persistente diffusione dell'RNA virale **molto tempo dopo** la cessazione dell'infettività

*Katz MH. Challenges in Testing for SARS-CoV-2 Among Patients Who Recovered From COVID-19. JAMA Intern Med. 2021 May 1;181(5):704-705. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.7575. PMID: 3318009*

La **Intensive Care Unit**, dell'ospedale di *Changzhou (China)* ha stimato il tempo mediano per la presenza persistente di **gRNA SARS-CoV-2** in **54 giorni** e che i livelli di immunoglobuline **M (IgM)** e **IgG SARS-CoV-2** erano costantemente elevati **56 giorni** dopo l'infezione

*Li N et al .Prolonged SARS-CoV-2 RNA shedding: Not a rare phenomenon. J Med Virol. 2020 Nov;92(11):2286-2287.*

Jared Bullard del *Cadham Provincial Laboratory* di Winnipeg (Canada)



ritiene che l'infettività virale possa essere dedotta da test in vitro, e che l'ampio flusso di lavoro e i lunghi tempi di consegna dei risultati insieme alla necessità di **strutture BSL-3 (livello di biosicurezza 3)** rendono questo approccio difficilmente gestibile.

*Bullar J Predicting Infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 From Diagnostic Samples. Clin Infect Dis. 2020 Dec 17;71(10):2663-2666.*

Pochi giorni fa il **Department of Chemistry, The University of Kansas** ha pubblicato il report ***Microfluidic affinity selection of active SARS-CoV-2 virus particles***, una **tecnologia innovativa** che affronta la sfida per identificare i potenziali diffusori

La tecnologia consiste in un semplice dispositivo microfluidico per la selezione dell'affinità dei VP che utilizza un aptamero diretto contro l'RBD ACE2 della proteina S.

*I criteri di progettazione e prestazioni del chip di selezione VP:*

*(i) breve tempo di elaborazione (<20 min);*

*(ii) ampia gamma dinamica per adattarsi alla gamma di VP che si possono trovare nei campioni clinici (da 500 a 10<sup>8</sup> VP/ml)*

*(iii) chip fabbricato ad alti tassi di produzione, a basso costo e con una stretta conformità per le applicazioni di screening che richiedono dispositivi usa e getta*

*(iv) un agente di affinità stabile che consenta la conservazione a lungo termine per consentire l'accumulo di scorte per future pandemie.*

Il **test microfluidico** proposto consente di selezionare le particelle virali (VPs) di coronavirus 2 (SARS-CoV-2) definite come particelle intatte con un dominio di legame del recettore (RBD) dell'enzima di conversione dell'angiotensina accessibile (RBD) sul picco (S) proteina, da campioni clinici.

La selezione dell'affinità delle particelle SARS-CoV-2 è realizzata utilizzando chip microfluidici stampati a iniezione, che consentono la produzione su larga scala per adattarsi allo screening su larga scala.

Il microfluidico contiene un aptamero legato alla superficie diretto contro la proteina S del virus RBD per selezionare per affinità SARS-CoV-2 VPs.

Dopo la selezione (~94% di recupero), i VP sono stati rilasciati dalla superficie del chip utilizzando un diodo a emissione di luce blu (efficienza dell'89%).

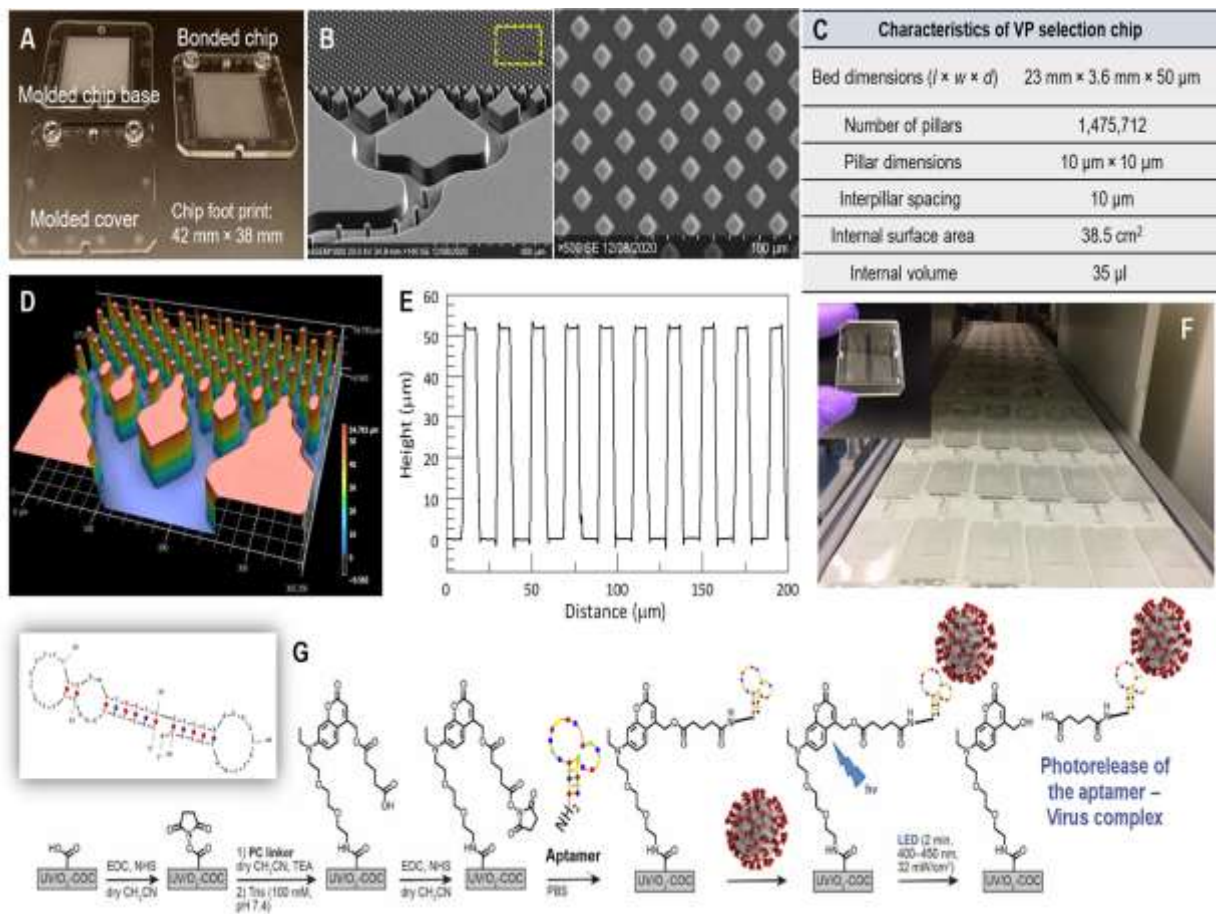
L'enumerazione selezionata di SARS-CoV-2 VP viene effettuata utilizzando la reazione a catena della polimerasi quantitativa di trascrizione inversa.

Nello studio presentato il test di selezione VP identifica con successo donatori sani (specificità clinica = 100%) e 19 su 20 pazienti con malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) (sensibilità 95%).

In 15 pazienti con COVID-19 è stata riscontrata la presenza di SARS-CoV-2 VPs attivi.

Il chip può essere riprogrammato per qualsiasi VP o esosomi semplicemente cambiando l'agente di affinità.

A quanto l'introduzione su larga scala?



**A.** Micrografie del chip di selezione VP, della piastra di copertura e del chip di selezione VP assemblato.

**B.** Microscopie elettroniche a scansione (SEM) di diversi letti di selezione nel chip di selezione VP. Viene mostrata la rete di alimentazione fluidica di input/output in più letti e un SEM ad alta risoluzione di un letto con i suoi micropilastri.

**C.** Sintesi delle caratteristiche operative del chip di selezione VP.

**D.** Immagine confocale a scansione rapida di una sezione del chip di selezione VP.

**E.** Profilo topografico dei micropilastri e spaziatura interpilastro nel chip di selezione VP mostrato in (D).

**F.** Linea di produzione dei chip di selezione VP stampati ad iniezione.

**G.** Schema che dimostra l'attacco covalente dell'aptamero tramite il PC linker alla superficie COP attivata da UV/O<sub>3</sub> del chip di plastica. Viene anche mostrata la struttura secondaria dell'aptamero SARS-CoV-2 51-nucleotide (nt) (vedi ionizzazione elettrospray per una descrizione dettagliata di questa struttura secondaria).

## Un anno fa... Baedeker/Replay del 2 ottobre

*È ora di togliere gli amici da Facebook?*

Negli ultimi 18 mesi, la comunicazione dei risultati della scienza al mondo ha toccato quello che a volte sembra il minimo storico. La pandemia ha rivelato una scioccante inettitudine da parte dell'establishment scientifico nel trasmettere messaggi su maschere, vaccinazioni di fronte a un numero crescente di morti da COVID-19. Un elemento sconcertante di questa crisi è come i social media siano stati abilmente sfruttati dalle forze antiscientifiche.

Stamattina **Holden Thorp** in un editoriale su Science si chiede quale possa essere la mossa più giusta per la comunicazione della scienza in relazione ai social media attraverso un dilemma: eliminare l'amicizia da Facebook o batterlo al suo stesso gioco? Qualche mese fa, Cecilia Kang e Sheera Frenkel due reporter del New York Times hanno pubblicato *An Ugly Truth: Inside Facebook's Battle for Domination*, in cui hanno esplorato come il più grande social network del mondo, Facebook, riempie le sue casse sfruttando la diffusione virale della disinformazione durante il tentativo per convincere tutti della sua nobile missione di connettere il mondo.

Hanno dimostrato che gli algoritmi e le pratiche commerciali di Facebook e di altre società di social media che incoraggiano la disinformazione alzino enormi barriere, impedendo alle persone di prestare la dovuta attenzione alle informazioni scientifiche autorevoli. Per provare a combattere tutto questo bisogna comprendere i due tipi prevalenti di disinformazione che si stanno propagando e diffondendo attraverso questi potenti social network.

La prima è la diffusione di notizie palesemente sbagliate. Questi post a volte vengono rimossi ma per lo più segnalati dagli algoritmi di Facebook con un disclaimer, che la maggior parte delle persone ignora. Tuttavia questo ha solo un effetto minore sull'arresto della loro diffusione. La seconda è ancora più grande: la disinformazione che deriva dai post di conversazione tra gli individui.

Questo tipo di disinformazione informale è frustrante perché non è facile impedire alle persone che conosci di dire cose folli su Facebook. Comunicare la ricerca in tempo reale è difficile perché la scienza è sempre un work in progress, con avvertimenti e risposte non sempre definitive. Ciò non si traduce bene nei social media o negli algoritmi di Facebook che determinano quali post promuovere. Purtroppo molto spesso dare informazioni precise e dettagliate non funziona bene in termini di coinvolgimento perché non è il tipo di cose che le persone cercheranno immediatamente di condividere. L'opposizione all'antiscienza non si preoccupa ed ignora i "caveat" posti dalla Scienza. I propugnatori dell'anti-scienza sono di fatto delle star dei social media che hanno creato un seguito fedele di persone che crederanno in loro, qualunque cosa accada.

Per quanto allettante possa essere la proposta di Holden Thorp per gli scienziati frustrati di cancellare semplicemente i loro account Facebook ed evitare questo disastro, credo che un approccio migliore sia quello di impegnarsi in modo più aggressivo ed entrare in competizione per ottenere l'attenzione della gente secondo le stesse regole. Rifiutarsi di giocare duro sul campo dei social media non serve bene alla scienza o alla società. La pandemia ha visto l'ascesa di numerosi scienziati su Twitter che hanno accumulato un seguito relativamente ampio, ma la loro presenza su Facebook è molto più ridotta. Sebbene Twitter sia una potente piattaforma per i messaggi politici che vengono apprezzati e ritwittati, le persone tendono a fidarsi di più delle persone che conoscono su Facebook, il che lo rende potente per cambiare i cuori e le menti.

Forse noi scienziati non dedichiamo abbastanza ricerca scientifica per trovare una cura per cretini. Per combattere in quest'arena, la scienza dovrà individuare le proprie super figure che possano competere direttamente con i "talebani dell'antiscienza".

Alcune di queste nuove figure potrebbero essere scienziati praticanti e altre potrebbero essere comunicatori scientifici. Come i loro avversari, devono essere abili nello sfruttare strategicamente gli algoritmi della comunicazione. Dalla fine della seconda guerra mondiale, gli scienziati si sono aggrappati

all'idea che se rimangono obiettivi e affermano la scienza, il resto del mondo seguirà. Mentre il cambiamento climatico infuria e la pandemia continua, è tempo di affrontare il fatto che questa vecchia nozione è ingenua e perdente . Temo che possa avverarsi la profezia di Bertrand Russel : la scienza sarà utilizzata per promuovere il potere dei gruppi dominanti piuttosto che per rendere gli uomini felici. A chi legge:

Alcune considerazioni all'editoriale di Holden Thorp del 1 ottobre 2021 pubblicato su Science (vol 374 , Numero 6563•P. 9•DOI: 10.1126/science.abm5515 ) .Herbert Holden Thorp , eclettico professore e brillante imprenditore americano è stato Rettore della Washington University di St. Louis. Dal 19 agosto 2019, è il nuovo caporedattore di Science Magazine .