

5. Ottobre

Passare dal noto all'ignoto attraverso il sequenziamento di nuova generazione

*Il fascino dell'ignoto domina tutto.
Omero*

Premessa

Il cambiamento climatico, il degrado ecologico e le tensioni geopolitiche ci avvertono che, probabilmente, dovremo affrontare nuove minacce di malattie man mano che questi fattori si intensificano.

Attualmente, la comunità globale utilizza elenchi di agenti patogeni noti e tossine di derivazione biologica per dare priorità alla ricerca difensiva, all'antiterrorismo e alle forze dell'ordine.

Sebbene ciò abbia aiutato i paesi e le organizzazioni a destinare scarse risorse alla ricerca mirata su agenti patogeni altamente letali, eccezionalmente infettivi o che presentano altri tratti che causano un'immensa preoccupazione per la salute pubblica e la sicurezza nazionale, cresce la preoccupazione che ci si concentri solo sul regno conosciuto delle minacce biologiche non tiene conto degli eventi biologici che possono emergere da organismi sconosciuti che possono circolare in natura, essere elaborati in laboratori o essere progettati da avversari attori statali o non statali.

Pertanto, i ricercatori e i responsabili politici stanno cercando di trovare modi per identificare e caratterizzare *nuovi agenti patogeni* e comprendere meglio come questi influenzano i percorsi biochimici negli esseri umani e negli animali.

Queste tecnologie potrebbero migliorare la salute pubblica e le capacità di difesa per *rilevare, identificare e rispondere* a minacce biologiche note e sconosciute. Idealmente, il loro utilizzo ci consentirebbe di rilevare e rispondere abbastanza rapidamente come mitigare o addirittura impedire l'insorgere di una malattia.

Rilevare un *potenziale agente patogeno* preoccupante è la prima componente chiave di questo approccio. Possiamo già farlo in modo abbastanza affidabile per agenti patogeni noti utilizzando test di rilevamento, test che aiutano a identificare un patogeno noto in un campione.



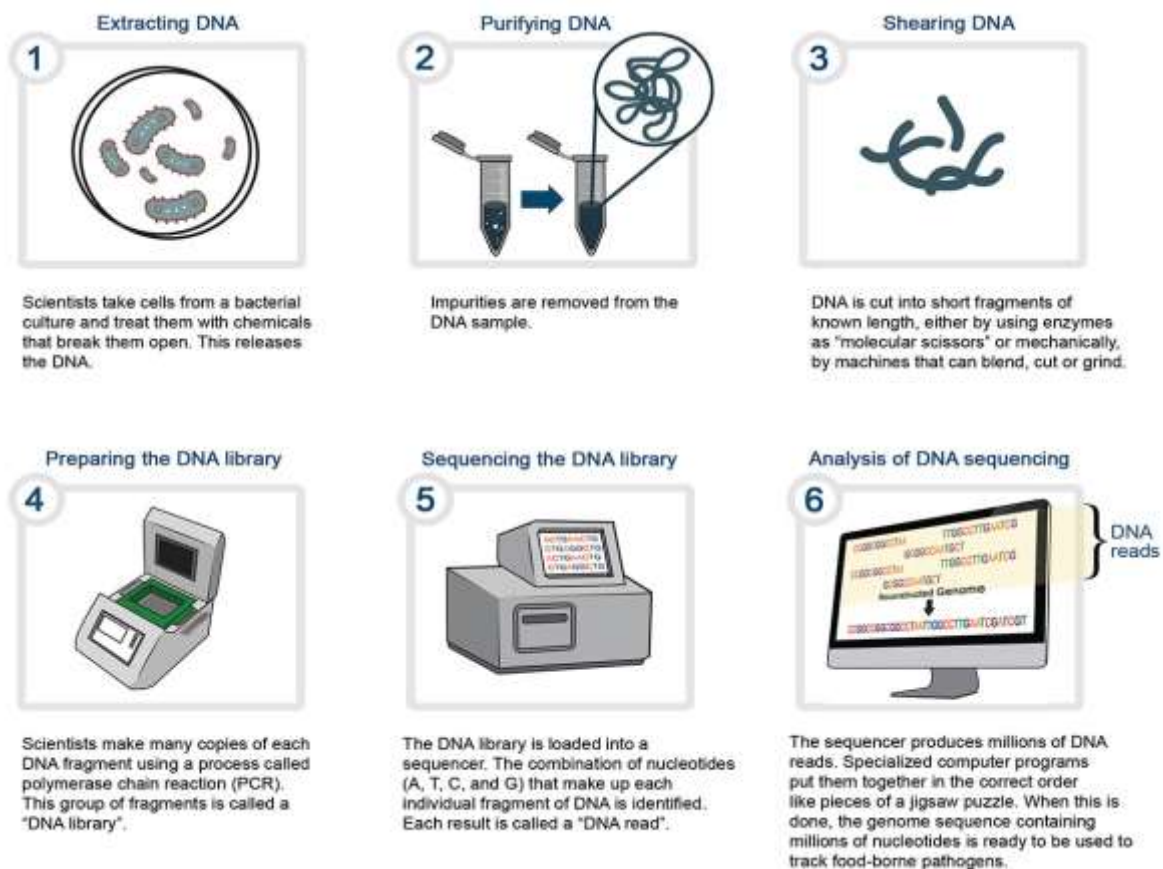
test rientrano in due categorie principali, che includono i *test immunologici* (che controllano la risposta anticorpale di un campione umano ad antigeni specifici) e *i test molecolari* (che

amplificano il materiale genomico virale specificamente identificato trovato in un campione, se presente nel campione, attraverso metodi come i test PCR) .

Nel caso di un **nuovo agente patogeno**, le opzioni di cui sopra non funzionerebbero necessariamente, perché i nuovi agenti patogeni sono, per definizione, **sconosciuti**.

Fortunatamente, i progressi nelle **scienze della vita** e nelle **capacità di calcolo** ora ci consentono di comprendere e identificare i mattoni genetici dei patogeni in modi nuovi.

Il **sequenziamento di nuova generazione** può sequenziare tutti gli acidi nucleici, DNA e RNA, in un campione e utilizzare queste informazioni per "*identificare simultaneamente il materiale genetico*" in tipi completamente diversi di organismi.



Questo approccio non solo identifica gli agenti patogeni conosciuti, ma anche **potenziali nuovi agenti patogeni** confrontandoli per somiglianza con database pieni di genomi patogeni.

Porzioni di un "**nuovo coronavirus**" in un campione potrebbero, in una certa misura, corrispondere a porzioni catalogate di coronavirus precedentemente identificati e sequenziati in un database.

Dopo che i ricercatori hanno identificato un **nuovo agente patogeno**, devono caratterizzarlo. La caratterizzazione è il processo di comprensione di come la struttura genetica di un agente patogeno influenzi le sue caratteristiche fisiche. Consente agli scienziati di identificare gli attributi chiave, che quindi offrono indizi o obiettivi unici da applicare alla diagnostica e ai trattamenti per l'agente patogeno.

Storicamente, gli scienziati hanno coltivato agenti patogeni in diversi ambienti in un laboratorio, che vanno dalle colture cellulari agli studi sugli animali, per scoprire tratti fisici osservabili e rilevabili, inclusa la presenza di tossine o geni di resistenza agli antibiotici.

Tuttavia, questi metodi possono richiedere tempo e denaro. Durante la pandemia di COVID-19, le catene di approvvigionamento per gli animali sono state ingarbugliate, complicando gli sforzi di laboratorio.

I progressi nella **biotecnologia** e nella **biologia computazionale** in particolare offrono alternative agli approcci più tradizionali. Uno di questi approcci si basa, ancora una volta, sulle applicazioni della tecnologia di sequenziamento, questa volta per caratterizzare parti o l'intero materiale genetico di un patogeno.

Ciò può fornire informazioni significative su come l'informazione genetica di un organismo (il suo genotipo) e l'interazione dell'organismo con il suo ambiente contribuiscono direttamente alle proprietà fisiche osservabili di un agente patogeno (il suo fenotipo) e rientra in un'area di studi biologici e informativi noti come **bioinformatica**.

Combinato con tecniche sempre più approfondite e accurate come il sequenziamento dell'intero genoma, gli scienziati dispongono di strumenti in grado di caratterizzare l'intero codice genetico di un organismo in un processo semplificato. In questo modo, possono acquisire una comprensione di ciò di cui è capace l'agente patogeno e quali metodi potrebbero funzionare per contrastarlo senza test di laboratorio approfonditi.



Il **sequenziamento dell'intero genoma** è notevolmente maturato grazie ai progressi nella potenza di calcolo e ai costi economici in rapida diminuzione necessari per sequenziare un intero genoma. Usato storicamente come strumento di ricerca, scienziati e ricercatori hanno iniziato a utilizzare il sequenziamento dell'intero genoma per applicazioni cliniche in aree come la ricerca sul cancro, nonché in applicazioni pubbliche come la rete PULSENET per aiutare a "rilevare e indagare sui focolai di origine alimentare.

Tuttavia, la caratterizzazione è ancora limitata alle aree geografiche che hanno capacità tecnologiche significative e quei paesi che possono permettersi corsi di sequenziamento dell'intero genoma, che nel 2016 erano vicini a **\$ 1.000/corsa**.

Sebbene l'identificazione e la caratterizzazione siano due capacità necessarie per affrontare nuovi agenti patogeni, gli scienziati si sono anche resi conto che concentrarsi sui patogeni non è l'unico modo per rafforzare le difese contro nuove malattie. Un metodo alternativo sta prendendo piede:

comprendere le caratteristiche di varie infezioni all'interno di un ospite, indipendentemente dal fatto che un agente patogeno sia noto, un'idea chiamata biodifesa "agnostica dalla minaccia".

Secondo i ricercatori del **Pacific Northwest National Laboratory**,



la **biodifesa** indipendente dalle minacce si concentra sull'utilizzo di tecniche all'avanguardia per misurare, analizzare e identificare "modelli comuni di infezione e malattia" all'interno degli ospiti animali e umani. Se gli scienziati sono in grado di identificare i segnali di infezione da virus o batteri a livello cellulare, potrebbero sviluppare contromisure o metodi diagnostici e di sorveglianza per nuovi agenti patogeni.

Il metodo si basa sull'identificazione delle cosiddette "**firme bioagenti-agnostiche**", ad esempio molecole che indicano la presenza di batteri. Queste firme includerebbero vari dati "che descrivono le caratteristiche e le risposte dell'ospite o identificano ampiamente la presenza di una classe di agenti patogeni".

Mentre c'è ancora molto lavoro da fare per comprendere i cambiamenti biochimici all'interno di un host nella misura necessaria per rendere la biodifesa indipendente dalle minacce un approccio ampiamente applicabile, ci sono già stati progressi che ne evidenziano il potenziale.

Nel 2021, ad esempio, i ricercatori israeliani hanno ottenuto l'approvazione della Food and Drug Administration per un test per distinguere tra infezioni batteriche e virali, una distinzione importante che i medici devono fare per determinare come trattare una malattia.

Il vantaggio di una **biodifesa indipendente dalle minacce** è che riduce efficacemente il panorama quasi infinito delle minacce biologiche restringendo l'attenzione a specifiche interazioni agente patogeno-ospite, interazioni che consentono solo un numero limitato di modi in cui gli agenti patogeni possono entrare nelle cellule di un ospite, dirottare le cellule macchinari, si replicano all'interno delle cellule e "scappano" dalle cellule per propagarsi ulteriormente.

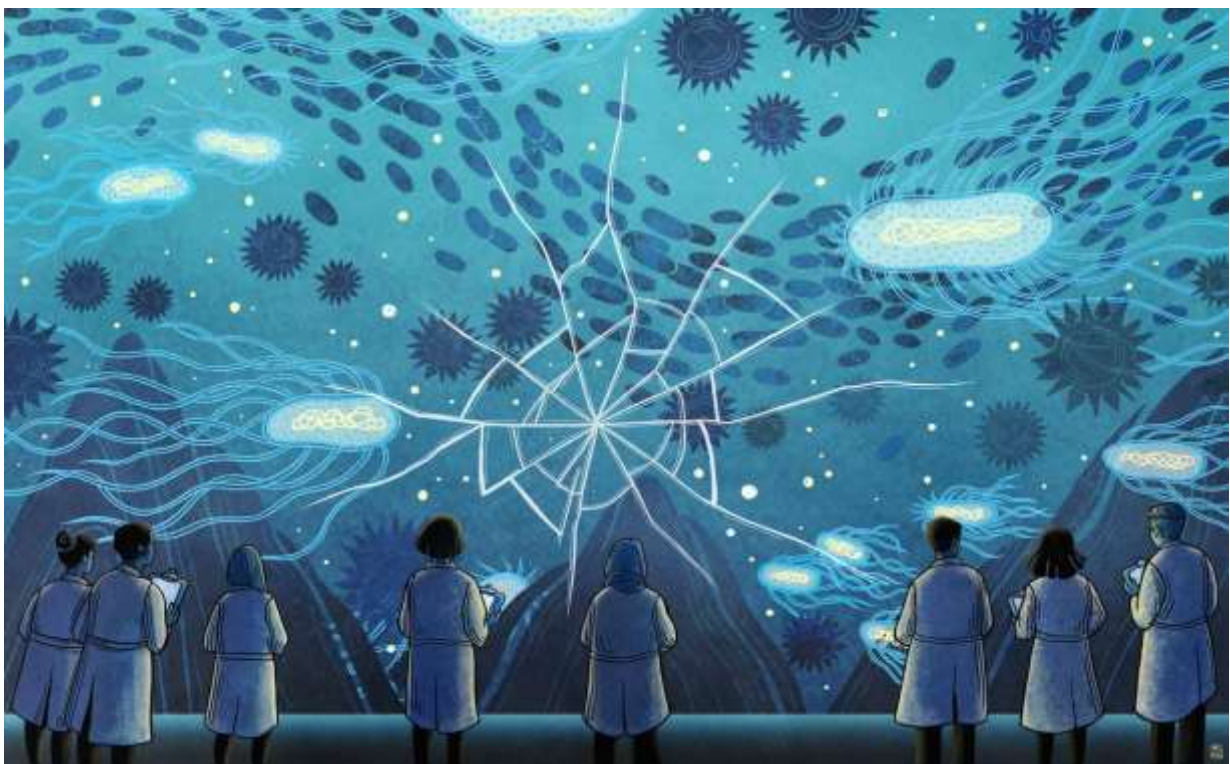
Tuttavia, è necessaria una quantità significativa di ricerca di base per mappare, comprendere e identificare sistematicamente *le firme agnostiche* dei bioagenti. Anche se la conoscenza sulle firme bioagenti-agnostiche cresce attraverso ulteriori ricerche, gli ospiti possono differire in modo significativo nella loro risposta a causa di diversi profili biochimici derivanti da condizioni come esposizioni passate a infezioni, nonché condizioni di salute che possono cambiare la risposta immunologica di un individuo.

Perciò, Poiché il mondo continua ad affrontare un evento biologico dopo l'altro, è necessario intraprendere un'azione significativa per ridurre i peggiori potenziali esiti. Tecnologie nuove e in evoluzione sfruttate verso approcci indipendenti dai patogeni alla biodifesa e alla salute pubblica possono offrire nuovi modi per rilevare, caratterizzare e mitigare i rischi associati all'emergere di nuovi agenti patogeni in un'ampia varietà di contesti, dai campi agricoli e dalle città ai militari d'oltremare basi e ospedali.

Alcune tecnologie e idee utili, come la *biodifesa* indipendente dai patogeni, sono ancora agli inizi, altre, come il sequenziamento dell'intero genoma, rimangono costose e fuori portata, soprattutto nei paesi più poveri.

Nel loro insieme, questi nuovi metodi e tecnologie per identificare e caratterizzare nuove minacce hanno una strada significativa da percorrere prima che possano iniziare a mantenere la loro potenziale promessa, ma i Governi dovrebbero investire in essi.

La lotta contro il *prossimo potenziale patogeno della pandemia* potrebbe dipendere da ciò.



Un anno fa... Baedeker/Replay del 5 ottobre

Finalmente conosciamo i correlati immunitari di protezione del vaccino mRNA-1273 contro SARS-CoV-2 nei primati non umani

Ad oggi non ci sono studi che abbiano definito in maniera specifica i correlati immunitari di protezione nelle vie aeree superiori e inferiori dopo la vaccinazione con qualsiasi vaccino COVID-19 approvato per l'uso nell'uomo. In altre parole in che modo ci difende un vaccino. Questo rappresenta un problema cruciale per l'ottimizzazione dell'uso dei vaccini COVID-19 in quanto conoscere i predittori di efficacia può essere utile per definire la potenziale riduzione della dose, anticipare l'approvazione di altri vaccini candidati al posto dei dati di efficacia di fase 3, estendere le indicazioni per l'uso ad altri gruppi di età e fornire approfondimenti sulla durata della protezione, la necessità di vaccinazioni di richiamo e meccanismi immunitari di protezione attivati .

L'articolo "Immune correlates of protection by mRNA-1273 vaccine against SARS-CoV-2 in nonhuman primates (NHP)" del Vaccine Research Center, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, ha effettuato valutazioni di immunogenicità e protezione del vaccino NHP mRNA-1273 per verificare l'ipotesi che l'anticorpo sierico funga da correlato immunitario della protezione. E' stato valutato come le misurazioni multiple dell'immunità umorale e cellulare correlano con la riduzione della replicazione virale nelle vie aeree superiori e inferiori dopo la somministrazione del vaccino .

Sono state inoltre eseguite analisi anticorpali su lavaggi broncoalveolari (BAL) e lavaggi nasali dopo la vaccinazione per valutare i correlati rilevanti per la malattia clinica e la trasmissione, rispettivamente. Infine, è stata dimostrata la capacità delle IgG trasferite passivamente da NHP immunizzati con mRNA di proteggere dall'infezione da SARS-CoV-2 degli animali. E' pertanto confermato che la produzione di anticorpi specifici per spike (S) come correlato di protezione, evidenzia la capacità degli anticorpi della mucosa localizzati di controllare la replicazione virale delle vie aeree superiori e inferiori I due vaccini a base di mRNA, l'mRNA-1273 di Moderna e il BNT162b2 di Pfizer/BioNTech, producono entrambi una versione stabilizzata della glicoproteina spike, mostrano un'efficacia > 94% contro il COVID-19 sintomatico nelle analisi provvisorie di fase 3 sono attualmente somministrati a livello globale. Diversi altri vaccini hanno mostrato un'efficacia dal 60 all'80% contro COVID-19 negli studi di fase 3 e un certo numero di vaccini candidati si trovano nelle prime fasi dello sviluppo clinico . I

Il modello dei primati non umani (NHP) dimostra l'immunogenicità e l'efficacia protettiva contro SARS-CoV-2 con diversi vaccini candidati. L'alto livello di protezione raggiunto con i vaccini mRNA negli NHP utilizzando regimi di dosaggio clinicamente rilevanti è parallelo ai risultati degli studi sull'uomo. La vaccinazione con mRNA-1273 provoca risposte anticorpali in modo dose-dipendente

Note tecniche:

Per le analisi dei correlati immuni, sono stati utilizzati sei diversi test anticorpali. Gli anticorpi anti-S-specifici, anti-receptor binding domain (RBD), che sono fondamentali per mitigare l'infezione da SARS-CoV-2 (sono stati valutati utilizzando le stesse tecniche impiegate per analizzare il siero dai Studi clinici di fase 3 sul vaccino SARS-CoV-2 e normalizzati in unità internazionali (UI) definiti secondo gli standard dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS). L'attività di neutralizzazione del virus in vitro è stata determinata utilizzando tre diversi saggi. pseudovirus D614G. Pseudovirus basato su VSV e virus vivo

Risultati rilevanti

- 1- La vaccinazione con mRNA-1273 provoca anticorpi delle vie aeree superiori e inferiori
- 2-La vaccinazione mRNA-1273 protegge dalla replicazione SARS-CoV-2 delle vie aeree superiori e inferiori
- 3-L'NHP vaccinato con mRNA-1273 ha una presenza virale e un'inflammatione limitati nei polmoni
- 4-Le risposte anticorpali correlano con la protezione contro la replicazione di SARS-CoV-2
- 5- IgG indotte dall'mRNA-1273 trasferite passivamente mediano la protezione contro SARS-

Considerazioni: La definizione di correlati immunitari di protezione è un "aspetto cruciale" nello sviluppo di vaccini per estendere l'uso di vaccini approvati e facilitare lo sviluppo di nuovi vaccini candidati, oltre a definire potenziali meccanismi di protezione. Per SARS-CoV-2, un obiettivo primario degli attuali vaccini è prevenire il COVID-19 sintomatico. Ciò si ottiene...

(per continuare vai all'originale)