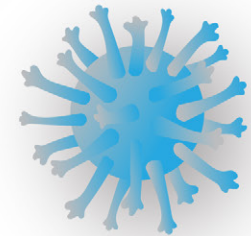
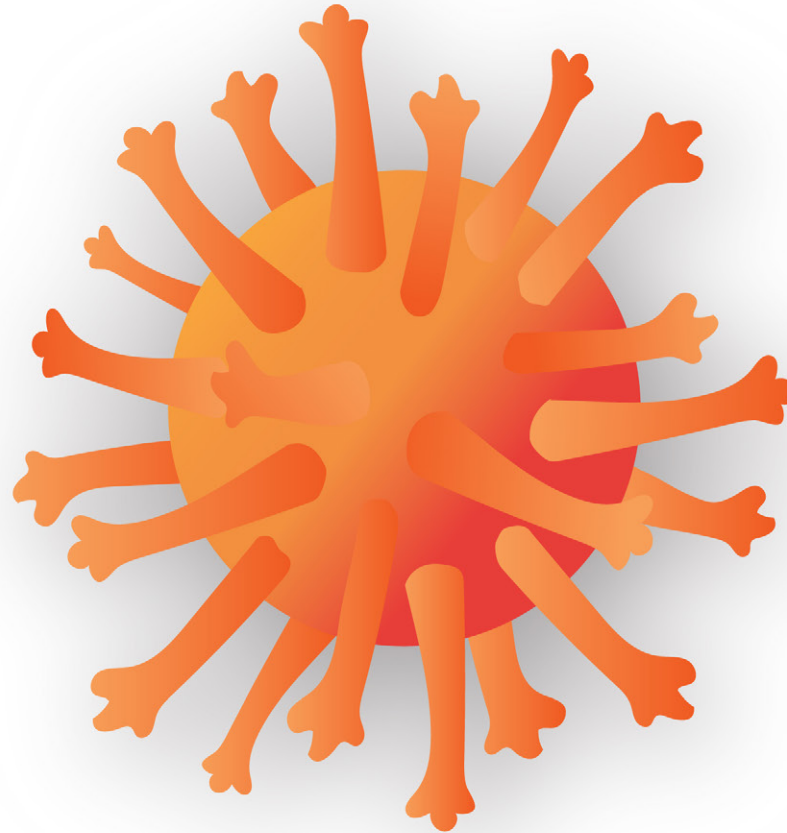
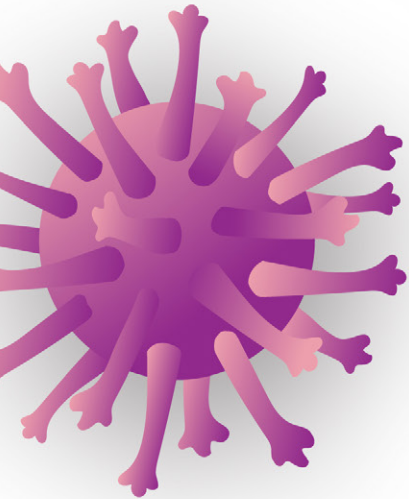


CORONAVIRUS

animali e umani



EVOLUZIONE E PATOGENICITÀ DEI VIRUS E PREVENZIONE DELLE MALATTIE

Coordinamento editoriale: Margarida Duarte e Teresa Nogueira

SCHEDA:

Originariamente pubblicato in portoghese «Coronavírus dos animais e do Homem: evolução e patogenia do vírus e prevenção de doença, 2020», sponsorizzato da APBE - Associação Portuguesa de Biologia Evolutiva, Íngreme Post Production, Lda, e INIAV - Instituto Nazionale di Ricerca Agraria e Veterinaria

Traduzione dalla versione portoghese, adattamento e revisione scientifica per la versione italiana: Lucia Martinelli, MUSE - Museo delle Scienze, Trento, Italia

Revisione Bozze: Maurizio Indirli, ENEA, Bologna, Italia

<https://projects.inia.pt/coronavirus/>

COORDINAMENTO EDITORIALE:

Margarida Duarte (INIAV - National Institute of Agrarian and Veterinary Research, I.P.; Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health (CIISA-FMV), Faculty of Medicine, University of Lisbon, Portugal);
Teresa Nogueira (INIAV - National Institute of Agrarian and Veterinary Research, I.P.; ce3c, Centre for Ecology, Evolution and Environmental Changes, Faculty of Sciences, University of Lisbon, Portugal)

AUTRICI:

Margarida Duarte (INIAV I.P., CIISA-FMV, Portugal); Teresa Nogueira (INIAV I.P., cE3c-FCUL, Portugal); Ana Botelho, Sandra Cavaco (INIAV I.P., Portugal); Ana Duarte (FMV, ULisboa, CIISA-FMV, Portugal); Patrícia T. Santos (DGAV, Portugal); Rita de Sousa (INSA, Portugal); Sara Portela (Harrogate and District NHS Foundation Trust, UK)

GRAFICA E ILLUSTRAZIONE:

Celina Botelho

PREMESSA

Questo è un libro veramente eccellente! È ben scritto, scientificamente preciso, ben organizzato e ha una bella grafica. Ma la cosa più sorprendente è la sua visione olistica della patogenesi e dell'ecologia dei coronavirus che persone esperte in veterinaria, biologia e medicina sanno cogliere molto bene perché questa è la loro caratteristica: capire una malattia infettiva nei vari animali e la sua relazione dinamica con gli esseri umani.

I virus sono parassiti intracellulari obbligati e come tali si sono co-evoluti con gli organismi viventi fin dall'inizio della vita. Quando compaiono in un nuovo ospite non è per generazione spontanea, ma perché hanno saltato la barriera di specie da un altro ospite. Questo è precisamente quello che è successo con l'attuale pandemia da SARS-CoV-2 dove un virus, che probabilmente ha avuto origine da una specie di pipistrello non identificata, ha saltato la barriera di specie. Questo stesso virus, SARS-CoV-2, è passato dagli esseri umani ai visoni, dove è più virulento. Non si è arrestato lì, perché ha ri-infettato gli esseri umani e non sappiamo se i visoni consentiranno al virus di diffondersi ad altre specie animali. Questa è la natura che fa il suo corso, tutto è direttamente o indirettamente correlato. Una delle più grandi lezioni di questa pandemia è che l'umanità deve rispettare la natura.

Tornando al libro, se viaggiassi nel tempo, potrei immaginarmi di godere di questo libro come studente di liceo o universitario, proprio come l'ho fatto da scienziato maturo e vecchio accademico. Questo è un libro per ogni età per le persone interessate alle tematiche delle malattie infettive. Sicuramente docenti e accademici raccomanderanno questo libro con lo stesso entusiasmo con cui lo faccio io adesso.

Pedro Simas

RINGRAZIAMENTI

Per aver compreso l'importanza di questo progetto e averci creduto, un enorme ringraziamento va alle seguenti organizzazioni/enti che hanno finanziato la redazione di questo libro e reso possibile questo progetto: APBE - Associação Portuguesa de Biologia Evolutiva; INGREME Post Production, Lda.; INIAV - Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.



Questa pubblicazione è il frutto dell'attività realizzata nell'ambito della COST Action EuroScitizen - Building on scientific literacy in Evolution towards scientifically responsible Europeans, finanziata da COST (European Cooperation in Science and Technology).

COST (European Cooperation in Science and Technology) è un'agenzia che finanzia le reti di ricerca e innovazione. Le "Action" contribuiscono a mettere in rete iniziative di ricerca in tutta Europa e consentono alla comunità scientifica di far sviluppare le proprie idee condividendole con colleghi e colleghe. In questo modo viene dato impulso alla loro ricerca, alla loro carriera e all'innovazione.

www.cost.eu



Funded by the Horizon 2020 Framework Programme of the European Union



Questo lavoro è pubblicato secondo licenza Creative Commons CC BY-NC-ND 4.0
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

PREFAZIONE

Il coronavirus umano scoperto più recentemente, Sindrome Respiratoria Acuta Grave Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) [Severe Acute Respiratory Syndrome - Coronavirus - 2 (SARS-CoV-2)], è certamente il coronavirus più famoso poiché è considerato un invasore agguerrito. Identificato per la prima volta alla fine del 2019, ha prodotto l'attuale pandemia da coronavirus del 2019 (COVID-19) diffondendosi in pochi mesi in tutto il pianeta. Come alcuni altri componenti della stessa famiglia di virus, SARS-CoV-2 può infettare diversi tipi di cellule umane, ma gli epitelii dei polmoni e della laringe sono i bersagli principali, per cui si verificano prevalentemente infezioni respiratorie. La mortalità associata alla COVID-19 insieme agli impatti sulla salute, l'istruzione, l'economia e il benessere individuale e sociale sono attualmente una preoccupazione a livello mondiale. Questo non solo per gli effetti della patologia, ma anche per le misure di controllo della pandemia imposte dai governi di tutto il mondo, come l'isolamento obbligatorio, per cui stiamo tuttora cercando di adattarci a questo nuovo modo di vivere insieme a un virus che prima era sconosciuto. Del resto, gli esseri umani e le altre specie animali hanno vissuto a lungo fianco a fianco con altri coronavirus, molti dei quali sconosciuti alla maggior parte delle persone, alcuni abbastanza innocui mentre altri potenzialmente letali. In questo aspetto non c'è differenza.

Questo libro intende raccogliere e disseminare in un modo semplice e accessibile informazioni sull'origine, l'evoluzione e la patogenesi dei coronavirus animali e umani, e nel far questo dissipare in chi lo legge dubbi e timori e chiarire la logica su cui si basano le azioni di prevenzione adottate per contrastare la circolazione del virus.

Il corpo del manoscritto è corredato da due annessi con informazioni aggiuntive a consultazione facoltativa: approfondimenti di alcuni dei concetti («Per saperne di più») e una serie di domande e risposte, per chiarire dubbi sui contenuti di ogni sezione. Per la stesura di questo libro, abbiamo contato sulla collaborazione di competenze tecniche, scientifiche e accademiche nei settori della microbiologia, epidemiologia, salute animale e salute pubblica. Durante il processo di produzione e redazione, sono stati anche prodotti un gioco da tavolo e delle carte da gioco («Sconfiggi il Coronavirus»). Questi sono strumenti che consentono di approfondire alcuni concetti trattati nel libro, tra cui i comportamenti nella vita in società e le loro implicazioni nella trasmissione delle malattie causate dai coronavirus, tra cui COVID-19. Questi giochi possono essere usati come risorse pedagogiche nelle scuole, o semplicemente come attività di svago e apprendimento.

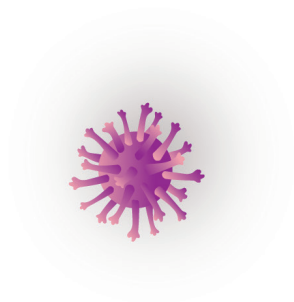
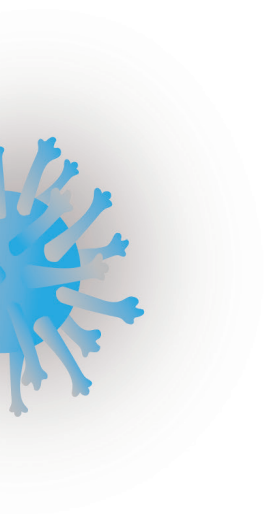
PUBBLICO TARGET

Questo libro può essere adottato come materiale di supporto per l'istruzione secondaria per le scienze naturali e la biologia. Il libro affronta i seguenti argomenti: biologia cellulare, genetica, evoluzione, microbiologia, agenti patogeni, principi di immunologia, trasmissione delle malattie e controllo delle infezioni.

Può essere impiegato anche a livelli superiori di istruzione in medicina, medicina veterinaria, biologia, odontoiatria, infermieristica, fisioterapia, scienze animali, educazione, scienze biomediche, farmacia, ecc.

INDICE

1. I CORONAVIRUS.....	7
1.1 LA SCOPERTA DEI CORONAVIRUS.....	7
1.2. PERCHÉ SONO STATI NOMINATI CORONAVIRUS? MORFOLOGIA E TASSONOMIA DEI CORONAVIRUS.....	7
1.3. DI COSA SONO FATTI I CORONAVIRUS?.....	9
1.4. DOVE E COME SI MOLTIPLICANO I CORONAVIRUS?.....	11
2. INFEZIONEDACORONAVIRUS.....	13
2.1. CAPACITÀ EVOLUTIVA DEI CORONAVIRUS.....	13
2.2. CAPACITÀ DEI CORONAVIRUS DI INFETTARE NUOVE SPECIE - SUPERAMENTO DELLA BARRIERA DI SPECIE.....	16
2.3. MALATTIE ANIMALI E UMANE CAUSATE DAI CORONAVIRUS.....	18
2.4. CORONAVIRUS E APPROCCIO "ONE HEALTH".....	24
2.5 TRASMISSIONE DEL VIRUS SARS-CoV-2.....	26
2.6. SEGNALI CLINICI E SINTOMI DELL'INFEZIONE DA VIRUS SARS-CoV-2.....	27
2.7. IMPATTO DELLA COVID-19 SULLA SALUTE PUBBLICA.....	30
3. DIAGNOSI E MISURE PREVENTIVE DELLE MALATTIE DA CORONAVIRUS.....	33
3.1. DIAGNOSI MOLECOLARI DELLE INFEZIONI DA CORONAVIRUS.....	34
3.2. TEST SIEROLOGICI PER CORONAVIRUS.....	35
3.3. MISURE DI PREVENZIONE DELLE MALATTIE CAUSATE DA CORONAVIRUS.....	38
3.3.1 Distanziamento sociale,comportamento corretto e quarantena.....	38
3.3.2 Vaccini.....	43
4. I CORONAVIRUS NEL MONDO.....	45
5. E ORA?.....	46
6. GLOSSARIO.....	49
7. BIBLIOGRAFIA.....	51
8. BIBLIOGRAFIA RACCOMANDATA.....	55



1. CORONAVIRUS

1.1. LA SCOPERTA DEI CORONAVIRUS

In base a recenti studi sull'evoluzione molecolare si stima che l'antenato comune di tutti gli attuali coronavirus sia apparso 293 milioni di anni fa¹. Tuttavia, il primo caso clinico accertato di un'infezione da coronavirus è stato descritto all'inizio del XX secolo, in un gatto che aveva sviluppato febbre e considerevole dilatazione addominale, anche se solo molto più tardi l'agente eziologico è stato identificato come un coronavirus felino. L'associazione tra alcune malattie enzootiche (cioè a carico di in una popolazione animale in una determinata regione geografica) e i coronavirus è stata accertata solo nel 1930, con l'identificazione della malattia respiratoria bronchite infettiva aviaria nei polli domestici².

Pertanto, i coronavirus sono stati inizialmente associati solo a infezioni enzootiche limitate agli ospiti animali naturali (ad esempio la gastroenterite infettiva nei maiali o la peritonite infettiva nei gatti). I coronavirus che contagiano solo le specie animali circolano nelle popolazioni domestiche o selvatiche e sono trasmissibili da animali infetti ad animali suscettibili. Molti di questi coronavirus non costituiscono alcuna minaccia per gli esseri umani. Malgrado i coronavirus abbiano sempre coesistito con gli animali e gli umani, solo negli anni 1960 sono stati associati a raffreddori e diarree lievi che colpiscono milioni di persone nel mondo ogni anno. In quegli anni sono stati riconosciuti e caratterizzati con le tecniche di microscopia elettronica^{3,4}.

1.2. PERCHÉ SONO STATI NOMINATI CORONAVIRUS? MORFOLOGIA E TASSONOMIA DEI CORONAVIRUS

Lo sviluppo delle tecniche di microscopia elettronica ha permesso di osservare la struttura di un coronavirus per la prima volta nel 1965. Le immagini hanno rivelato una morfologia molto caratteristica a forma di corona e sono stati quindi comunemente denominati coronavirus. Le punte che danno loro questo aspetto distintivo sono formate da proteine virali dette proteine S (dalla iniziale S di SPIKE, in inglese) che hanno un ruolo essenziale nella capacità del virus di riconoscere e legarsi alle cellule ospiti animali o umane. I diversi coronavirus variano per dimensioni, tra 80 e 220 nm (nanometri) e quindi comprendono alcuni dei più grandi virus con involucro noti. Sono tuttavia un migliaio di volte più piccoli dello spessore di un capello umano.

Secondo le regole della tassonomia (l'area scientifica che si occupa della classificazione gerarchica degli organismi viventi), la famiglia Coronaviridae è stata inserita nell'ordine Nidovirales⁵.

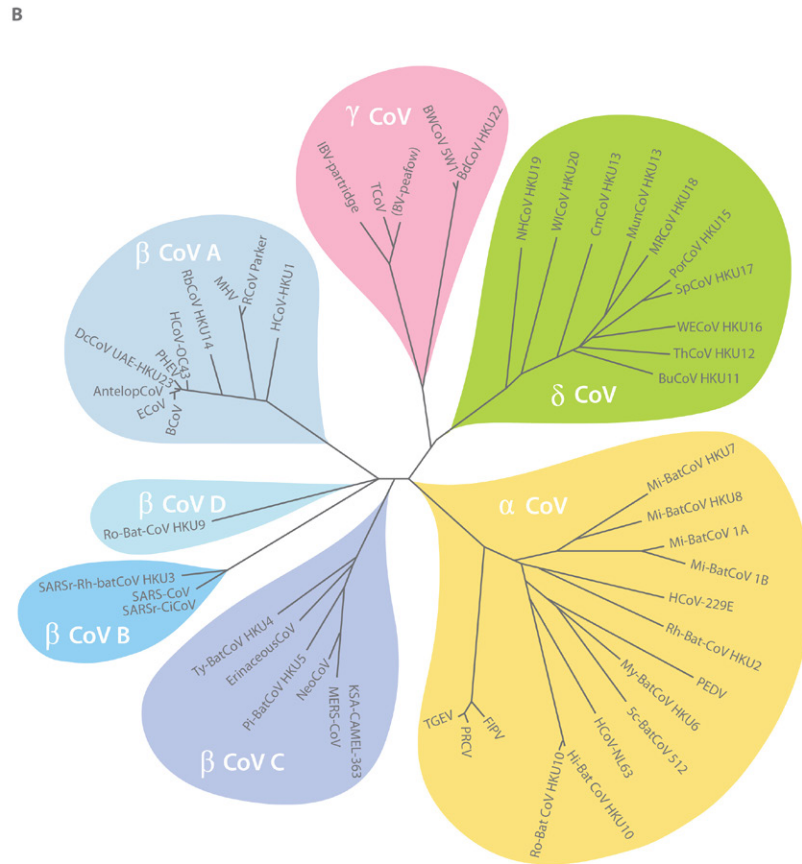
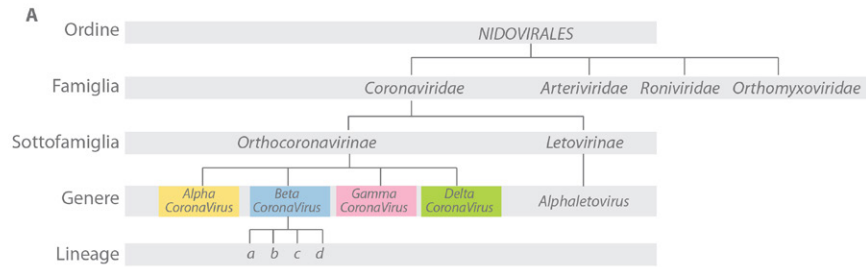


Fig. 1 - Classificazione filogenetica dei Coronavirus (albero filogenetico basato su sequenze parziali della polimerasi RNA-dipendente (RdRp) di 50 coronavirus). Adattamento da Fenner e White's 2012⁶.



La famiglia dei Coronaviridae (appartenente all'ordine Nidovirales, sottordine Cornidovirineae) è una delle circa 170 famiglie di virus attualmente riconosciute dal Comitato Internazionale per la Tassonomia dei Virus (Edizione 2019) e comprende le sottofamiglie Orthocoronavirinae e Letovirinae¹.



Il materiale genetico dei coronavirus è costituito da acido ribonucleico (RNA) non segmentato (cioè costituito da una sola molecola di RNA per particella virale). L'RNA virale è a singolo filamento e a senso positivo, cioè che lo rende di per sé, potenzialmente infettivo. L'RNA ha all'estremità 5' una struttura a cappuccio e all'estremità 3' una coda di poli-A che gli conferisce stabilità e ne prolunga la persistenza. I coronavirus possiedono uno dei maggiori genomi di RNA virale noti: da 27.000 a 32.000 nucleotidi di lunghezza (rivisto da Modrow et al, 2013²). Questo genoma è tre volte più grande del genoma del virus dell'immunodeficienza umana (HIV) e del virus dell'epatite C, e due volte del genoma del virus dell'influenza. Le proteine S e HE, che sporgono dalla superficie della particella virale, sono i principali bersagli del sistema immunitario della specie ospite. Infatti, queste proteine sono immunogene, cioè inducono una risposta immunitaria da parte dell'ospite, essendo la proteina S l'antigene dominante e il principale induttore della produzione di anticorpi neutralizzanti (che inattivano il virus).



Come si possono vedere e misurare i virus?

La maggior parte dei virus, come i coronavirus, possono essere visti solo al microscopio elettronico con un potere di ingrandimento di 10.000.000x. I virus si misurano in nanometri (nm), dove 1 nm equivale a 0,00000001 metro (m). Il virus SARS-CoV-2, l'agente della COVID-19, ha un diametro di circa 100 nm (0,0000001 m).

Cosa sono l'RNA e il DNA?

L'acido ribonucleico (RNA) e l'acido desossiribonucleico (DNA) sono macromolecole che recano informazioni genetiche. Questo materiale genetico immagazzina le informazioni che caratterizzano ogni organismo vivente. Negli organismi che si riproducono sessualmente, una parte di queste informazioni viene trasmessa a una prole, mentre negli organismi che si riproducono asessualmente, come i batteri e i virus, vengono trasmesse tutte le informazioni. A differenza degli animali e delle piante, il cui materiale genetico consiste in un DNA a doppio filamento (dsDNA), esistono una grande varietà di genomi virali che posseggono DNA a doppio filamento (dsDNA), a filamento singolo (ssDNA) lineare o circolare, ma anche RNA a doppio filamento (dsRNA) o a filamento singolo (ssRNA), poiché i virus possono avere anche acido ribonucleico (RNA) come materiale genetico. I virus possono avere un genoma unico o segmentato.

La famiglia Coronaviridae, a sua volta, comprende le sottofamiglie Letovirinae e Orthocoronavirinae. La prima comprende il genere Alphacoronavirus e la seconda i generi Betacoronavirus, Deltacoronavirus e Gammacoronavirus. Tutti i coronavirus sono stati identificati e classificati secondo criteri genetici e antigenici. Solo sette sono noti per infettare gli esseri umani. La figura 1 illustra le relazioni filogenetiche tra alfacoronavirus, betacoronavirus, gammacoronavirus e deltacoronavirus.

1.3. DI COSA SONO FATTI I CORONAVIRUS?

I virus sono essenzialmente costituiti da materiale genetico - acidi nucleici che possono essere DNA (acido desossiribonucleico) o RNA (acido ribonucleico), contenenti tutte le informazioni per generare nuovi virus - circondato da uno scudo protettivo di proteine altamente resistenti, definito capsido. L'acido nucleico e il capsido formano il nucleocapsido. I virus con solo questi due componenti sono considerati «nudi» e possono rimanere integri nell'ambiente per lunghi periodi di tempo grazie alla resistenza del capsido alle aggressioni esterne.

Il materiale genetico dei coronavirus consiste in RNA a singolo filamento (ssRNA). Inoltre posseggono un'ulteriore struttura esterna composta da lipidi, l'involucro, che li rende più suscettibili agli agenti ambientali esterni. Questo involucro esterno è originato dalla cellula ospite in cui i virus si replicano (Figura 2).

Nel coronavirus, varie proteine virali sono incorporate nella superficie di rivestimento, tra cui le proteine S (iniziale Spike, in inglese, punta), proteine M (iniziale di matrice, Matrix in inglese) e proteine E (iniziale di Envelope, in inglese, involucro). Queste sono coinvolte nelle diverse fasi del ciclo replicativo del virus, cioè nell'assemblaggio dei virioni (singole entità virali), nella formazione dell'involucro e nella patogenesi virale⁷.

Alcuni coronavirus, come HCoV-HKU19 e HCoV-OC43, possiedono anche la proteina HE (emoagglutina esterasi) che non è presente nel virus SARS-CoV-2, l'agente della COVID-19 (Coronavirus Disease 2019). Le proteine S e HE sono essenziali per il legame del virus con la cellula ospite bersaglio (Figura 3), un processo fondamentale per il verificarsi dell'infezione. Quando il fragile involucro virale viene danneggiato dall'azione di agenti che alterano i lipidi, i coronavirus non vengono più riconosciuti dai recettori delle cellule bersaglio e la fusione con la membrana cellulare non avviene impedendo così la replicazione virale intracellulare.

Questa fragilità dei virus con involucro, compresi i coronavirus, può essere sfruttata impiegando soluzioni detergenti a base di basate alcol 70%, come quelle usate per la sanificazione delle mani e la disinfezione delle superfici, efficaci per neutralizzare il virus.

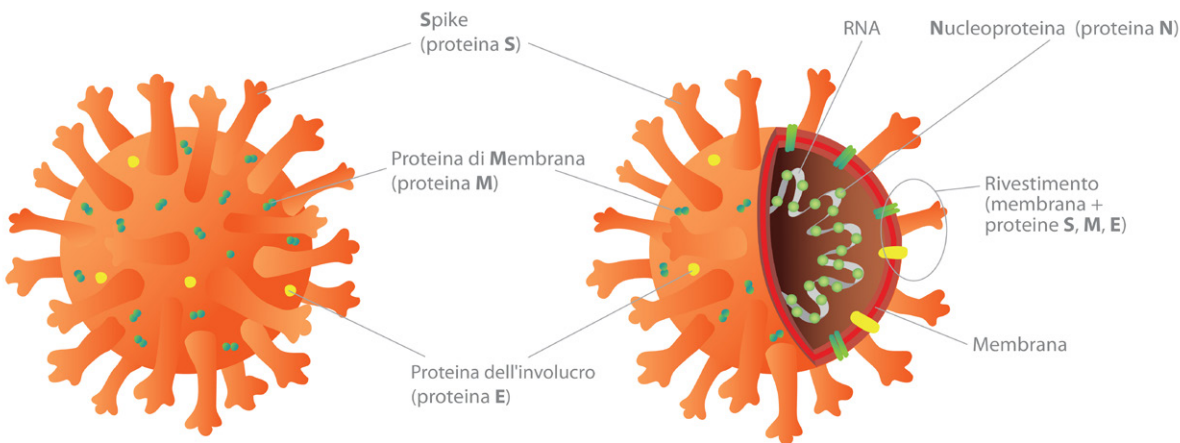


Fig. 2 - Rappresentazione schematica di un coronavirus.



Una volta all'interno della cellula, il genoma virale viene replicato e i geni virali vengono espressi (trascritti e tradotti) utilizzando il macchinario della cellula vivente. Possono così aver luogo quei processi biologici necessari per la produzione dei nuovi virus (progenie virale). Nei coronavirus, la sintesi di nuove particelle virali (virioni) avviene all'interno del sistema di membrane della cellula - il reticolo endoplasmatico e l'apparato di Golgi - e viene poi veicolata all'esterno della cellula (Figura 23).



L'RNA virale dei coronavirus è a singolo filamento con una polarità positiva (cioè con il senso di codifica +). Per questo motivo, se con processi fisici o chimici artificiali (trasfezione) l'acido nucleico virale viene posto all'interno di una cellula suscettibile, inizia un ciclo replicativo con la produzione di virus infettivi (rivisto da Modrow et al, 2013²).



Le proteine S si assemblano in trimeri, formando una struttura simile a un tulipano. La base del gambo è inserita nell'involucro e il fiore si proietta verso l'esterno. Recentemente, è stata scoperta l'esistenza di tre zone di articolazione lungo il trimero (un piede, un ginocchio e un'anca). Questo dà alla proteina S una maggiore flessibilità che favorisce il riconoscimento dei recettori cellulari⁴.

1.4. DOVE E COME SI MOLTIPLICANO I CORONAVIRUS?

Come ogni altro virus, i coronavirus sono parassiti intracellulari dipendenti dall'ospite per replicarsi. Quando entrano in una cellula bersaglio, ne sfruttano il sistema cellulare per produrre nuove particelle virali che vengono rilasciate e, a loro volta, sono in grado di infettare altre cellule sane, ricominciando così il ciclo replicativo. In generale, l'ospite non trae beneficio da questa infezione, ma piuttosto subisce un danno sviluppando la conseguente patologia virale. Nel corso dell'infezione, l'entità del danno fisiologico e la manifestazione dei sintomi dipendono da diversi fattori, tra cui la reattività dell'ospite all'infezione. In ogni caso, il virus è in grado di replicarsi e riprodursi solo in un ospite vivente e, quindi, esso dipende anche dalla sopravvivenza dell'ospite stesso. Quindi, il potenziale di trasmissione è principalmente associato ad una bassa virulenza. Ecco perché, di solito, i virus non sono particolarmente letali, ma causano invece infezioni lievi o subcliniche (senza sintomi, asintomatiche), come nel caso dei comuni raffreddori. La bassa virulenza è di per sé un vantaggio adattativo dei coronavirus: il parassita non sacrifica il suo ospite, favorendo così le proprie replicazione e propagazione su vasta scala. Il nuovo coronavirus SARS-CoV-2, tuttavia, si è dimostrato più aggressivo di altri coronavirus conosciuti, probabilmente perché non si è ancora adattato al nuovo ospite umano. Lo stesso si è verificato con SARS-CoV (coronavirus associato alla sindrome respiratoria acuta grave [Severe Acute Respiratory Syndrome-associated coronavirus]) e MERS-CoV (coronavirus associato alla sindrome respiratoria del Medio Oriente [Middle East Respiratory Syndrome-associated coronavirus]).

Il ciclo della replicazione virale comincia quando le proteine S e HE dell'involucro virale (se presente, come nel caso di alcuni betacoronavirus, ma non in SARS-CoV-2) sono riconosciute da specifici recettori presenti sulla superficie della cellula ospite (Figure 3).

Il virus SARS-CoV-2, per esempio, riconosce un recettore cellulare compatibile che si trova nei polmoni, nei vasi sanguigni, nel cuore e nei reni. Questo recettore, l'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE-2), funge da « serratura della porta» della cellula, che viene riconosciuta dalla «chiave» del virus, la proteina S. In realtà, non c'è nessuna «porta» cellulare per entrare, quindi il virus si insinua nella membrana cellulare esterna che avvolgerà il virus mentre viene «inghiottito» nella cellula. Questo processo è chiamato endocitosi. All'interno della vescicola formata dalla membrana della superficie cellulare, l'involucro virale e il nucleocapside sono dissociati. In questo modo il materiale genetico, l'RNA virale, viene rilasciato direttamente nella cellula. L'RNA virale servirà come stampo («template») per la sintesi dei componenti che costituiranno nuovi virus mediante due diversi processi biochimici: la sintesi di nuove proteine virali e di nuove molecole di RNA⁸. Questi due processi sono chiamati rispettivamente trascrizione e traduzione delle proteine virali e replicazione dell'RNA virale.

I ribosomi delle cellule, piccole strutture subcellulari di cui i virus sono sprovvisti, vengono sequestrati per tradurre in proteine le informazioni contenute nel genoma virale. La replicazione del materiale genetico virale è uno dei primi processi effettuati dalle proteine virali: non appena sintetizzate, infatti, le RNA polimerasi RNA dipendenti (RdRP) sono in grado di promuovere la sintesi di RNA da un RNA stampo virale. La sintesi di molecole di RNA da un RNA stampo è un processo peculiare di alcuni virus, in quanto non segue la teoria del «Dogma Centrale della Biologia», secondo cui l'informazione genetica va dal DNA all'RNA, e dall'RNA alle proteine.

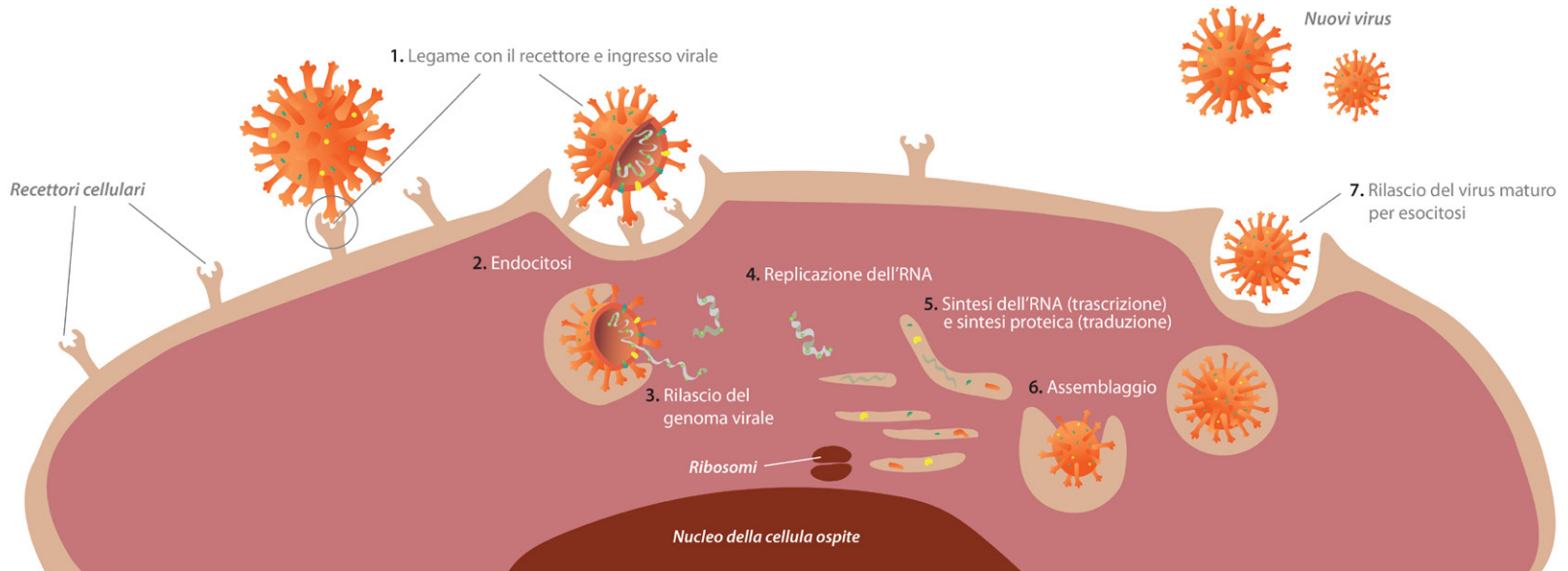


Fig. 3 - Fasi del ciclo di replicazione dei coronavirus: 1-Attacco del virus al recettore cellulare. 2-Endocitosi. 3-Digestione delle proteine virali e rilascio dell'RNA virale. 4-Replicazione virale. 5- Sintesi delle proteine virali. 6- Assemblaggio dei virioni. 7-Rilascio dei virus per escitosi.

Le proteine virali che formeranno il capsido, il rivestimento proteico strutturale che racchiude il materiale genetico, circondano la nuova molecola di RNA virale formando il nucleocapside (il nocciolo) del nuovo virione (entità virale). L'assemblaggio e la maturazione dei virioni avviene all'interno del sistema di membrane intracellulari e comporta la formazione di un involucro e il successivo ancoraggio delle proteine transmembrana virali (S e HE). Le particelle virali vengono poi trasferite sulla superficie cellulare all'interno di vescicole e vengono espulse all'esterno della cellula tramite il processo di escitosi. Viene prodotto in questo modo un numero molto elevato di nuovi virus incapsulati. A causa di questa dipendenza dal sistema cellulare dell'ospite, i virus vengono definiti «parassiti intracellulari obbligati» in quanto si appropriano della cellula che infettano, trasformandola in una fabbrica per la produzione massiccia di nuovi virus e interrompendo i processi del normale funzionamento della cellula. Un singolo virus può impiegare solo 10 ore per infettare una cellula e può produrre migliaia di nuove particelle virali in sole 24 ore. Da qui è nata l'espressione «diventare virale» per riferirsi a qualcosa che si diffonde rapidamente.



Quante particelle virali possono venire prodotte in una singola cellula?

Si stima che, come altri coronavirus quale il virus dell'epatite dei topi (MHV), la dimensione del «burst» (il numero medio di particelle virali appena sintetizzate rilasciate da una singola cellula infetta) è di circa 10.000 particelle virali¹.



ACE2 (l'Enzima di Conversione dell'Angiotensina 2²), è omologo all'enzima ACE responsabile della regolazione della pressione sanguigna attraverso il sistema renina-angiotensina. Oltre alle cellule epiteliali dei polmoni, dell'intestino, dei reni e dei vasi sanguigni, ACE2 è presente anche sulla superficie delle cellule dei tubuli seminiferi dei testicoli. L'infezione virale può quindi danneggiare il tessuto testicolare dei pazienti e comprometterne la fertilità. Il virus SARS-CoV-2 utilizza questo recettore cellulare per infettare le cellule. Tuttavia, altri coronavirus usano recettori diversi, come il MERS-CoV che usa DPP4 (Dipeptidil Peptidasi 4⁴) e HCoV-229E, TGEV, PEDV, CCoV che usano APN (aminopeptidasi N) come recettore cellulare, mediando l'ingresso del virus nelle cellule ospiti⁵. Il legame della proteina S col recettore cellulare è prodotto da interazioni elettrostatiche.

2. INFEZIONE DA CORONAVIRUS

2.1. CAPACITÀ EVOLUTIVA DEI CORONAVIRUS

Come sopra esposto, l'infezione causata dalla maggior parte dei coronavirus dipende dal riconoscimento specifico dei recettori cellulari bersaglio di una determinata specie ospite (animale o umana) (Figura 4). I coronavirus sono quindi considerati specifici per il proprio ospite.



Quali cellule vengono infettate dai coronavirus?

I coronavirus sono in grado di infettare cellule differenti, anche se solitamente si tratta di cellule del tratto respiratorio o digestivo. Nel caso della COVID-19, il virus SARS-CoV-2 infetta le cellule che posseggono i recettori per l'enzima ACE-2 che sono compatibili con la proteina S virale. Queste cellule si trovano negli epitelii intestinali e respiratori, nell'endotelio vascolare, nel cuore, nei reni e nei testicoli. Il recettore ACE-2 è presente sulla membrana plasmatica di tutte queste cellule. Nei polmoni, la sua concentrazione aumenta con l'età, contribuendo alla manifestazione più grave della malattia negli anziani.

Cosa determina il tropismo cellulare e lo spettro dell'ospite?

La diversità del tropismo cellulare e la gamma di ospiti colpiti è principalmente attribuita alle caratteristiche della proteina S, responsabile del legame con la cellula ospite.

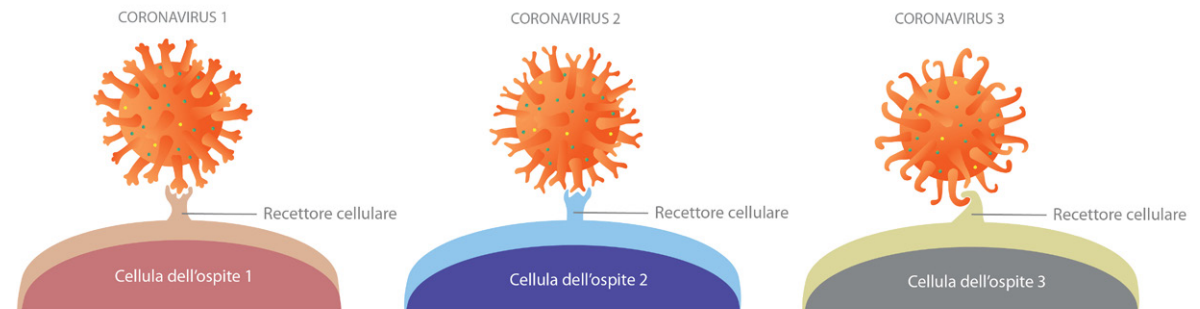


Fig. 4 - Specificità di legame tra la proteina S del Coronavirus e il recettore della cellula ospite.



Quali sono il tasso di mutazione e dievoluzione del virus SARS-COV-2?

Il tasso di evoluzione stimato per il virus SARS-CoV-2 è di 0,001 nucleotidi per anno e il tasso di mutazione è di 0,000001 nucleotidi per ciclo replicativo / ciclo di replicazione virale.

Perché sorgono periodicamente nuovi coronavirus e cosa favorisce queste insorgenze?

I coronavirus, come altri virus, si evolvono rapidamente in un processo che non può essere controllato dagli esseri umani. La stretta vicinanza tra gli umani e le specie animali provenienti da habitat naturali distanti, la confluenza artificiale di specie animali, il consumo di specie esotiche e l'assenza di controllo sanitario, favoriscono il contatto tra animali e umani che può portare alla comparsa di nuovi virus potenzialmente patogeni.

Il grande genoma a RNA dei coronavirus, combinato con una ridotta capacità di correggere gli errori nella sintesi di nuove molecole di RNA con le conseguenti mutazioni genetiche, contribuisce alla diversificazione e all'evoluzione dei genomi dei coronavirus nel tempo (Figura 5A). I virus con mutazioni sfavorevoli hanno uno svantaggio adattativo e tendono a scomparire dalla popolazione virale. I virus le cui mutazioni li rendono più adatti tenderanno invece ad aumentare di numero e a permanere nelle popolazioni ospiti. In questo modo possono perpetuarsi costantemente di quelle varianti che mantengono un vantaggio evolutivo.

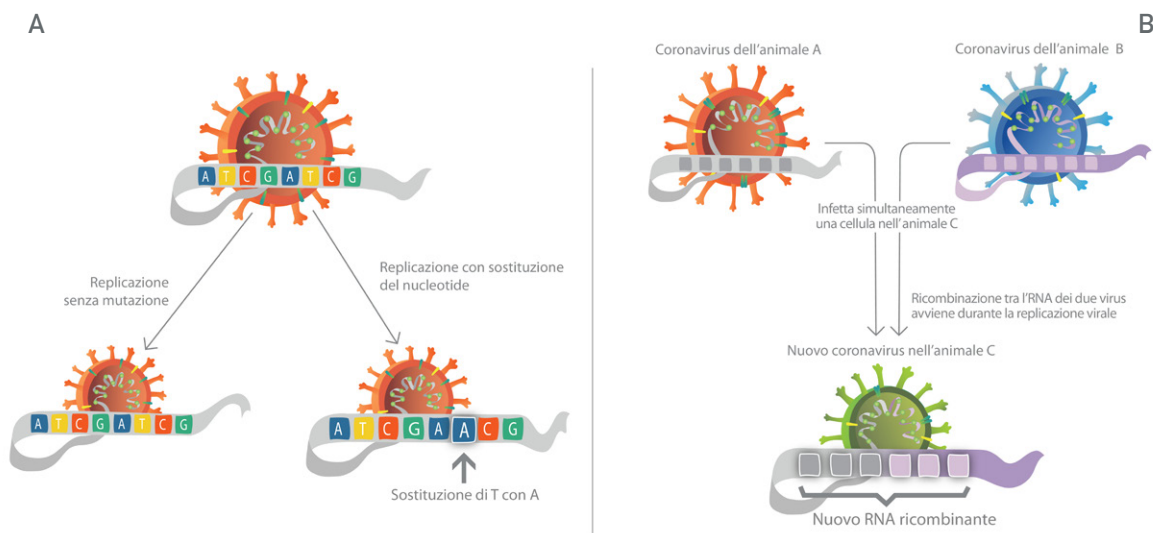


Fig. 5 - Variabilità genetica nella replicazione del genoma virale (A - mutazione genetica per sostituzione di una base; B - ricombinazione per scambio di frammenti di RNA tra due virus diversi presenti nella stessa cellula).



L'enzima RNA polimerasi RNA-dipendente virale (RdRP) è responsabile della sintesi di nuove molecole di RNA e, a differenza dell'enzima omologo delle cellule animali e vegetali (DNA polimerasi), è più soggetto a errori durante la replicazione del genoma virale. L'RdRP virale non ha la capacità di rilevare e riparare gli errori di incorporazione dei nucleotidi nel filamento complementare della molecola del template, provocando il verificarsi di mutazioni genetiche con una frequenza molto elevata. Il basso grado di riparazione durante il processo di replicazione del genoma del coronavirus è il risultato di un lungo processo evolutivo che favorisce la diversificazione del genoma virale, essenziale per l'adattamento e l'evoluzione. A causa della lunghezza del genoma del coronavirus, l'accumulo di errori porta ad una crescente diversità delle proteine codificanti e, di conseguenza, ad un ritmo evolutivo accelerato^{6,7}. Se due diversi coronavirus sono contemporaneamente presenti in una cellula durante la sintesi di una nuova molecola di RNA da una molecola template, può verificarsi la dissociazione del complesso RNA-RNA, seguita dalla riassociazione alla molecola template omologa del genoma dell'altro coronavirus, proseguendo la sintesi e generando così una molecola ricombinante⁸. Questo produce un virus ricombinante.

Inoltre, coronavirus mutati geneticamente possono prodursi mediante il processo di ricombinazione che si verifica quando una cellula è infettata simultaneamente da due diversi coronavirus. Quando avviene uno scambio di frammenti genetici da virus diversi, vengono prodotte nuove sequenze di RNA virale (Figura 5B). Il processo di ricombinazione molecolare può portare alla produzione di nuovi virus con il potenziale di infettare nuovi ospiti. L'acquisizione di questa capacità avviene quando le modificazioni strutturali nella proteina S (la «chiave») permettono ai coronavirus di adattarsi e iniziare a riconoscere nuovi recettori («serrature») presenti sulle cellule dei nuovi ospiti con cui entrano in contatto.

Quando il virus acquisisce la capacità di infettare una nuova specie animale, avviene il cosiddetto «salto di barriera di specie». In alcune specie ospiti serbatoio (specie animali che ospitano il virus senza contrarre la patologia) come i pipistrelli, la ricombinazione tra diversi coronavirus si verifica frequentemente⁹ e può generare una nuova variante virale in grado di infettare nuovi ospiti, tra cui gli esseri umani.

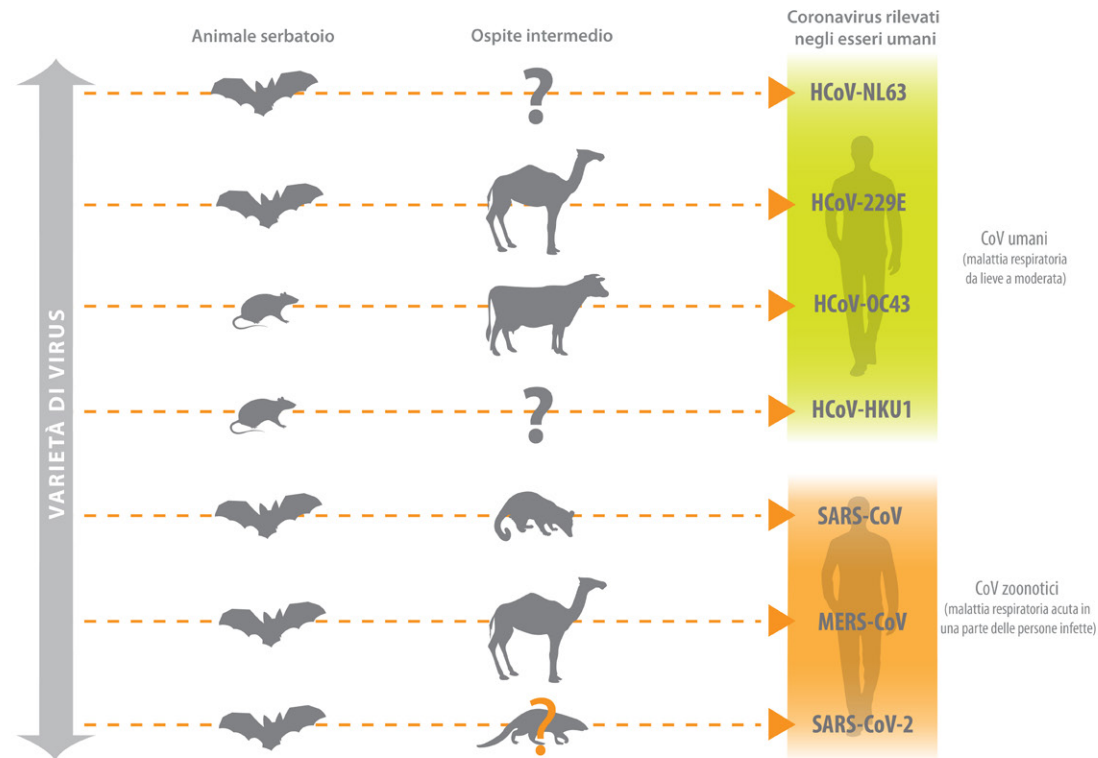


Fig. 6 - Trasmissione di Coronavirus tra specie animali e esseri umani. La maggior parte dei coronavirus umani originano da virus dei pipistrelli. Adattato da Cui, 2019.

Una volta acquisita la capacità di infettare specie diverse, il nuovo virus è in grado di rimanere in circolazione all'interno delle popolazioni ospiti suscettibili (Figura 6). A seconda del grado di contagiosità e della mobilità della popolazione, la diffusione virale in diverse regioni geografiche può essere molto veloce.

2.2. CAPACITÀ DEI CORONAVIRUS DI INFETTARE NUOVE SPECIE - SUPERAMENTO DELLA BARRIERA DI SPECIE

Gli animali giocano un ruolo essenziale nella trasmissione di malattie infettive agli esseri umani. Le malattie zoonotiche, o zoonosi, costituiscono circa il 60% delle malattie infettive umane segnalate a livello globale e possono essere causate da batteri, parassiti, funghi o virus. L'emergere di un numero crescente di zoonosi ha evidenziato l'esistenza di pratiche rischiose che favoriscono il contatto indistinto tra animali ed esseri umani. In natura, il salto della barriera di specie è un evento raro, poiché richiede un contatto stretto e talvolta continuo tra una specie animale infetta e individui di una seconda specie suscettibile. Con i virus, il salto verso un ospite umano sembra spesso richiedere una terza specie ospite, detta «specie intermedia», in cui il virus acquisisce eventualmente delle «nuove abilità» per poter fare il salto. In molti casi, tuttavia, resta ignoto quale sia l'effettivo collegamento tra animale e umano.

Tuttavia, è accertato che l'aumento delle interazioni tra umani e animali selvatici aumenta esponenzialmente il rischio di nuove zoonosi. Queste interazioni possono derivare dall'ingerenza antropica in nicchie ecologiche precedentemente inesplorate e preservate, o dall'avvicinamento forzato tra diverse specie animali selvatiche e esseri umani a causa della perdita di habitat naturali. Secondo alcuni studi, potrebbero esserci circa 800.000 specie sconosciute di virus nelle foreste, nelle paludi, nelle grotte e in altre aree inesplorate del mondo. In caso di alterazione degli ecosistemi essi avrebbero la potenzialità di diffondersi e infettare le persone.

I mercati di animali vivi, detti mercati «umidi» («wet markets»), sono noti per favorire il contatto tra una vasta gamma di specie animali vivi con gli esseri umani, a causa della grande vicinanza tra specie animali che, in habitat naturali, non potrebbero venire a contatto. Questo, insieme al consumo di animali esotici o domestici senza adeguati controlli sanitari e di sicurezza alimentare, favorisce la trasmissione virale tra le specie e di conseguenza eventi di ricombinazione tra i diversi virus che le infettano. Gli animali esposti, macellati e venduti in tali mercati includono spesso specie di pipistrelli¹⁰ in cui vengono rilevati coronavirus con notevole diversità genetica. Questo comporta il rischio significativo di eventi di ricombinazione genetica e dell'emergere di nuovi virus, aumentando la possibilità di trasmissione interspecie.

Il riconoscimento di coronavirus in grado di provocare gravi infezioni negli umani è avvenuto solo nel 2003, quando l'epidemia da sindrome respiratoria acuta grave (SARS) è apparsa per la prima volta in Asia ed è stata attribuita al virus SARS-CoV. L'adattamento del virus SARS-CoV (originario dei pipistrelli del genere *Rhinolophus*) per infettare gli umani ha richiesto la circolazione in una specie intermedia, lo zibetto (*Paradoxurus hermaphroditus*).

Stessa cosa è avvenuta in seguito, nel 2012, con l'identificazione di un'altra sindrome respiratoria, la sindrome respiratoria del Medio Oriente (MERS), questa volta determinata dal coronavirus MERS-CoV, anch'esso originato da coronavirus presenti nei pipistrelli (genere *Pipistrellus*). In questo caso, la specie intermedia identificata era il dromedario (*Camelus dromedarius*). La specie intermedia del virus SARS-CoV-2, l'agente causale dell'attuale pandemia COVID-19, non è stata ancora chiaramente identificata, anche se il pangolino malese (*Manis javanica*), un mammifero appartenente all'ordine Pholidota della famiglia Manidae, è stato considerato una possibilità¹¹.

Generalmente, la virulenza iniziale dei patogeni emergenti tende a diminuire nel tempo, a causa della risposta immunitaria dell'ospite e della selezione di ceppi meno aggressivi (meno virulenti). Data l'alta variabilità genetica dei coronavirus respiratori, l'immunità acquisita da precedenti contatti non protegge gli ospiti dai nuovi coronavirus. Questo fornisce al virus un vantaggio adattativo che gli permette di sfuggire al sistema immunitario dell'ospite, garantendo così la disponibilità di ospiti suscettibili e quindi il mantenimento del virus nella popolazione.

Questo meccanismo è un esempio di coevoluzione del virus e del suo ospite. La selezione naturale favorisce i virus (parassiti) con antigeni di superficie diversi (proteine S e HE), mentre il sistema immunitario dell'ospite è sottoposto a una pressione selettiva volta a produrre una specifica risposta immunitaria protettiva efficace contro il virus specifico presente durante l'infezione. Accumulo di mutazioni e variabilità genetica da entrambe le parti alimentano questa lotta evolutiva.



Cosa sono le specie intermedie?

Le specie intermedie sono specie che permettono al virus di adattarsi da un organismo ospite a un altro. È nelle specie intermedie che diversi genomi virali subiscono la ricombinazione, creando nuovi virus che vengono poi trasmessi agli esseri umani, attraverso il contatto o il consumo.

Quali sono le fonti di infezione dei coronavirus?

L'infettività dei coronavirus che si trovano nell'ambiente (al di fuori di un organismo vivente) è molto bassa a causa della fragilità delle particelle virali dovuta al loro involucro esterno che consiste essenzialmente di lipidi. Per questo motivo, le maggiori fonti di infezione sono gli animali infetti o gli esseri umani. Per questo motivo umani o animali infetti sono la maggiore fonte di infezione.

Dove è comparso per la prima volta il virus SARS-CoV-2?

I primi casi clinici di infezione da virus SARS-CoV-2 sono stati segnalati nel dicembre 2019 in abitanti della provincia di Wuhan in Cina. Tuttavia, studi sierologici retrospettivi suggeriscono che il virus era già in circolazione prima di allora².

Qual è l'origine del virus SARS-CoV-2?

L'origine del virus SARS-CoV-2 non è ancora del tutto chiarita. Anche se il virus ha mostrato un'alta somiglianza genomica (96,3%) con un coronavirus del pipistrello a ferro di cavallo (*Rhinolophus affinis*) presente nel sud-ovest della Cina, questo virus (Bat-CoV-RaTG13) non ha lo stesso ligando (proteina del capsido) del virus SARS-CoV-2. Le indagini condotte dopo la comparsa di questa pandemia hanno permesso di identificare un coronavirus del pangolino malese (*Manis javanica*) con una proteina molto simile a quella del virus SARS-CoV-2. Tuttavia, il genoma del coronavirus del pangolino non è così simile a quello del virus SARS-CoV-2 (91,02%). Si ipotizza, quindi, che i pangolini possano essere una specie intermedia in cui può essersi verificato un evento di ricombinazione genetica naturale tra i coronavirus dei pipistrelli e quelli dei pangolini, dando origine a un nuovo coronavirus con la capacità di infettare le cellule umane. Questo virus potrebbe poi essere entrato in contatto con gli umani attraverso il consumo di animali infetti. In alternativa, può essersi verificata un'infezione umana da una variante virale del coronavirus del pipistrello che non era presente in natura. La variante virale inizialmente innocua può essere stata trasmessa tra gli esseri umani con un aumento progressivo della virulenza del virus.



Qual è il ruolo dei pipistrelli nella trasmissione del virus SARS-CoV-2 rispetto ad altre specie?

I pipistrelli non hanno nessuna caratteristica particolare, relativa al loro comportamento naturale, che li renda più capaci di altre specie di trasmettere agenti patogeni agli esseri umani. Tuttavia, il numero e la grande varietà di specie insieme alla maggiore vicinanza genetica con gli esseri umani li rende potenziali generatori chiave di patologie e vettori di infezioni. Secondo solo all'ordine Rodentia, che comprende topi, ratti, castori, cavie e scoiattoli, l'ordine Chiroptera, a cui appartengono i pipistrelli, ha il maggior numero di specie di mammiferi. Ci sono circa 1.400 specie diverse di pipistrelli, tutte potenzialmente in grado di trasmettere virus. Di fatto, una su cinque di tutte le specie di mammiferi sulla Terra sono pipistrelli. Tranne che in Antartide, si trovano in tutto il mondo, dove occupano sia aree urbane che naturali. Mentre alcune specie si trovano solo in luoghi specifici, altre sono ampiamente distribuite su vaste regioni geografiche. In quanto mammiferi, i pipistrelli hanno una relazione evolutiva stretta con gli esseri umani, il che li rende più adatti ad ospitare agenti zoonotici rispetto agli uccelli o ai rettili. A causa del grande numero di specie di pipistrelli, essi tendono a ospitare una maggiore varietà di virus e, di conseguenza, la probabilità che alcuni di questi abbiano un potenziale zoonotico è maggiore. A causa della diversità e della vasta distribuzione geografica dei pipistrelli, è difficile identificare il gruppo di pipistrelli da cui può aver avuto origine il virus SARS-CoV-2.

Perché così tante malattie provengono dai pipistrelli?

I pipistrelli sono ospiti/serbatoi, non solo del coronavirus, ma anche di molti altri virus, tra cui il virus Ebola, il virus della rabbia e il virus della febbre emorragica di Marburg. Tutti questi virus, compresi i coronavirus, si rapportano ai pipistrelli in una corsa evolutiva. I virus si evolvono continuamente per sfuggire al sistema immunitario dei pipistrelli mentre i pipistrelli si evolvono per resistere alle infezioni causate dai virus. Con i coronavirus, questa «guerra bilaterale» si traduce nella produzione di una gamma di nuovi virus, aumentando la probabilità che alcuni di essi siano in grado di infettare un'altra specie, come gli umani. I pipistrelli sono anche gli unici mammiferi in grado di volare, facilitando la diffusione della patologia attraverso le loro feci, la principale via di escrezione per la maggior parte dei virus, che possono espellere per aria. La tolleranza dei pipistrelli ai virus supera di gran lunga quella di altri mammiferi, rendendoli i principali ospiti serbatoio per molti virus. Anche se i pipistrelli non sviluppano infezioni sintomatiche, essi trasmettono comunque le infezioni. Si pensa che la resistenza naturale dei pipistrelli alle infezioni sia legata al rilascio di una grande quantità di energia durante il volo che fa aumentare la loro temperatura corporea da 38 a 41°C, superiore a quella della maggior parte dei mammiferi. Gli agenti patogeni che si sono evoluti nei pipistrelli sono quindi in grado di sopravvivere a queste alte temperature, resistendo così facilmente all'aumento della temperatura corporea che il nostro sistema immunitario utilizza come meccanismo per combattere gli agenti patogeni: la febbre.

2.3. MALATTIE ANIMALI E UMANE CAUSATE DAI CORONAVIRUS

I coronavirus infettano principalmente uccelli e mammiferi, provocando una varietà di patologie, con un serio impatto economico sugli allevamenti di bovini, suini, equini, conigli, polli, anatre e tacchini. Colpiscono anche animali domestici come cani, gatti e furetti e varie specie selvatiche come i visoni. Gli alfacoronavirus e i betacoronavirus si riscontrano principalmente nei mammiferi, come pipistrelli, roditori, zibetti ed esseri umani. Gammacoronavirus e deltacoronavirus infettano principalmente gli uccelli, anche se alcuni possono infettare pure i mammiferi.

Il bestiame e gli animali domestici sono ospiti naturali di numerosi coronavirus. Tra questi i coronavirus specifici per cani, gatti, furetti, bovini, maiali e polli e tacchini.

I cani vengono infettati da due diversi coronavirus: il coronavirus enterico canino (CCoV) e il coronavirus respiratorio canino (CRCoV). Il CCoV, che è geneticamente correlato al coronavirus felino (FCoV) e a un coronavirus suino (TGEV), infetta gli animali, in particolare i cuccioli (*Canis lupus familiaris*) di meno di 1,5 mesi, causando una lieve gastroenterite. Anche le volpi (*Vulpes vulpes*), i cani procioni (*Nyctereutes procyonoides*) e i gatti selvatici (*Felis silvestris silvestris*) sono suscettibili a questo coronavirus⁹. Esistono due genotipi di CCoV, il tipo I e il tipo II. CCoV-II il risultato di vari eventi di ricombinazione tra il virus della gastroenterite trasmissibile suina (TGEV) e uno o più coronavirus non identificati¹².



La rapida evoluzione del genoma del coronavirus può produrre specifici mutamenti strutturali nella proteina S che permettono l'infezione di una terza specie ospite da parte del virus appena generato. La proteina S del virus ha condiviso un'elevata similitudine con la proteina S di un coronavirus individuato nel pangolino malese, un piccolo mammifero appartenente all'ordine Pholidota che vive nelle zone tropicali dell'Asia. Il genoma rimanente, tuttavia, ha una minore similitudine (solo 90%). L'RNA del virus SARS-CoV-2 è più simile (96%) all'RNA di un coronavirus noto per infettare un pipistrello (Rhinolophus) che vive nelle grotte nello Yunnan, in Cina, anche se la sua proteina S (chiave) non è compatibile con i recettori delle cellule umane (serratura) e quindi incapace di infettare gli esseri umani⁹.



L'insorgenza della peritonite infettiva felina (PIF) sembra essere collegato al cambiamento del tropismo cellulare del FCoV dagli enterociti (cellule che rivestono il tratto intestinale) ai monociti/macrofagi (tipi di globuli bianchi). I monociti infetti mostrano una particolare affinità per l'endotelio venoso delle diverse membrane sierose (omento, pleura, meningi). Benché la risposta immunitaria contro le infezioni da FCoV sia preferenzialmente cellulare, quando viene sollecitata un'intensa risposta umorale, questa causa un'intensa reazione infiammatoria e la formazione di un edema (forma effusiva della PIF). Questo è dovuto a una reazione di ipersensibilità di tipo III che quando provocata, porta alla formazione di complessi antigene-anticorpo che si accumulano nell'endotelio vascolare. Lo sviluppo di ascite (edema nella cavità addominale) è caratteristico della PIF. Tuttavia, i gatti che sono in grado di sviluppare una risposta immunitaria prevalentemente cellulare sono più resistenti allo sviluppo della forma effusiva della PIF. In questa forma «secca» della PIF, gli animali sviluppano una risposta cellulare relativamente efficiente nel contenere la diffusione del virus e sono quindi in grado di limitare la replicazione virale a solo alcuni organi^{10,11}.

La tassonomia dell'attuale variante di CCoV-II distingue CCoV-IIa da CCoV-IIb in base alla presenza genetica di TGEV nel genoma del virus. CCoV-IIa è anche indicato come CCoV pantropico, a causa della sua proprietà di indurre una patologia sistemica nei cani che non è limitata al tratto gastrointestinale.

L'utilità della vaccinazione contro il CCoV è controversa poiché la malattia è generalmente lieve e si verifica prima del lasso di tempo previsto per la vaccinazione.

L'altro coronavirus canino (CRCoV) ha tropismo respiratorio e, se associato ad altri patogeni virali o batterici, induce «tosse del canile»¹³, malattia infettiva del cane altamente contagiosa. Questa malattia è stata identificata in Europa, Nord America e Asia. CRCoV è strettamente correlato al coronavirus bovino (BCoV) e all'HCoV-OC43 umano. Non esiste vaccino contro il virus CRCoV.

I gatti, oltre ai coronavirus felini, sono suscettibili all'infezione da vari coronavirus come i coronavirus canini, suini (TGEV) e umani (HCoV-229E e SARS-CoV-2). Il coronavirus felino (FCoV) è altamente contagioso e la sua prevalenza nelle popolazioni ad alta densità (ad esempio gli allevamenti e i rifugi per gatti) è elevata. Ci sono due sierotipi, tipo I e tipo II, quest'ultimo risultante da un evento di ricombinazione tra FCoV sierotipo I e CCoV che riguarda il gene per la proteina S. La stragrande maggioranza delle infezioni causate dal coronavirus felino (FCoV) nei gatti sono relativamente innocue, dalle forme subcliniche alla diarrea lieve. Tuttavia, circa il 5-10% dei gatti infettati da FCoV sviluppano infezioni più gravi, a causa del cambiamento del tropismo virale verso i macrofagi (cellule differenziate dai monociti, una sottopopolazione di globuli bianchi) all'interno dell'epitelio intestinale. In questi casi, i gatti sviluppano una malattia sistemica spesso fatale, caratterizzata da una peritonite detta peritonite infettiva felina (FIP). La gravità della FIP è associata ad una risposta immunitaria eccessiva poiché la produzione di anticorpi, invece di conferire protezione, aumenta la gravità della malattia. Il cambiamento nel tropismo cellulare del virus FCoV è dovuto principalmente a fattori del virus stesso, come le mutazioni genetiche, ma anche a fattori legati all'ospite, come l'incapacità di attivare un'efficace risposta immunitaria cellulare. Questi due tipi di patologia differiscono nel tropismo cellulare, nella manifestazione clinica e nella prognosi¹⁴. Poiché i vaccini che inducono anticorpi non sono efficaci contro la FIP, è stato prodotto un vaccino per la somministrazione nasale per stimolare le IgA della mucosa.

Tuttavia, questo vaccino è risultato protettivo solo se somministrato prima del contatto con FCoV, cosa estremamente difficile nelle aree in cui la malattia è endemica.

Il coronavirus del visone (MCoV-1) e il coronavirus del furetto (FRCoV) sono geneticamente correlati. MCoV-1 è responsabile della gastroenterite catarrale del visone che colpisce gli animali più giovani, causando un'alta morbilità ma una bassa mortalità. FRCoV è l'agente eziologico dell'enterite catarrale epizootica, che presenta, come FeCoV, due biotipi: i) il coronavirus enterico del furetto (FRECV), associato ad una malattia diarroica contagiosa e ii) il coronavirus sistemico del furetto (FRSCV) responsabile di una malattia sistemica del furetto simile alla FIP nei gatti.

Il coronavirus bovino (BCoV) è stato identificato nel 1973 negli Stati Uniti ed è responsabile di tre sindromi cliniche di diversa gravità nel bestiame, ovvero diarrea del vitello, dissenteria invernale del bovino (entrambe malattie gastrointestinali) e malattia respiratoria bovina. Queste possono essere associate o meno ad altri agenti infettivi batterici o virali. Poiché i vitelli possono contrarre l'infezione nei primi giorni di vita, la protezione immunitaria si ottiene o vaccinando le madri durante la gravidanza, ottenendo il trasferimento dell'immunità passiva durante l'ingestione del colostro, o tramite la vaccinazione intranasale dei vitelli con vaccini attenuati nel primo giorno di vita.

BCoV è quindi un esempio paradigmatico della capacità dei coronavirus di infettare ospiti diversi. L'alta somiglianza genomica (96%) del BCoV col coronavirus umano HCoV-OC43 suggerisce un episodio pregresso di trasmissione zoonotica del BCoV agli esseri umani. Analizzando l'orologio molecolare di questi due virus, si ritiene che l'antenato comune più recente sia emerso intorno al 1890¹⁵ in coincidenza con una pandemia da patologia respiratoria umana.

BCoV non è correlato solo al virus HCoV-OC43, che causa malattie digestive e respiratorie umane, ma anche al virus PHEV (Virus dell'encefalomielite emagglutinante suina), al coronavirus equino (ECoV) e al coronavirus respiratorio del cane (CRCoV).

I maiali sono ospiti suscettibili a sei diversi coronavirus che provocano patologie intestinali e respiratorie. Tra questi, il virus della gastroenterite trasmissibile suina (TGEV), il virus della diarrea epidemica suina (PEDV), il virus della sindrome della diarrea acuta suina (SADSV) e il deltacoronavirus suino (PDCoV) inducono malattie intestinali di varia gravità nei suini. Il rilevamento di anticorpi contro il TGEV in diverse specie di carnivori selvatici e domestici, tra cui cani e gatti, suggerisce che anch'essi sono suscettibili alle infezioni provocate da questo coronavirus. Il virus PEDV provoca diarrea acquosa, vomito, anoressia e disidratazione nei maialini di meno di 2 settimane. Per questo motivo, la vaccinazione è ampiamente praticata sulle scrofe gravide per immunizzare i lattonzoli attraverso il colostro. Il coronavirus respiratorio suino (PRCoV) è apparso dopo il TGEV in seguito a delezioni genetiche nel gene che codifica per la proteina S nel virus enterico, con il conseguente passaggio dal tropismo enterico a un tropismo e un percorso di trasmissione quasi esclusivamente respiratorio¹⁶. PRCoV ha anche un'elevata somiglianza genetica con CCoV e FCoV¹⁷. I deltacoronavirus suini (PDCoV), come PEDV e SADSV, sono agenti di malattie emergenti. Il virus

dell'encefalomielite emoagglutinante (PHEV) di solito causa vomito e una malattia debilitante e/o encefalite nei maialini neonati.

Gli uccelli selvatici possono contribuire alla persistenza del virus nell'ambiente, tuttavia l'ospite naturale del virus della bronchite infettiva (IBV, il primo coronavirus di origine animale identificato) è il pollo. La bronchite infettiva è considerata una delle malattie aviarie più temibili a causa del suo effetto sulla mortalità, la crescita degli animali e il commercio nazionale e internazionale. Questo coronavirus causa malattie respiratorie e renali, ma può anche attaccare il tratto riproduttivo dei polli. Come gli altri coronavirus, IBV ha rapide capacità di diffusione e di variabilità genetica dovute a frequenti eventi di mutazione e ricombinazione. Attualmente, contro IBV, sono disponibili vaccini inattivati, attenuati e ricombinanti. I vaccini inattivati, come per molte altre patologie, inducono una debole risposta immunitaria anticorpo-mediata, richiedendo più dosi di vaccino. I vaccini vivi modificati che contengono i ceppi più comuni sono somministrati nell'acqua da bere o attraverso nebulizzatori. In quest'ultimo caso l'ingestione avviene durante il "grooming" (cura vicendevole del piumaggio o da parte dell'individuo stesso) e sono somministrati nei primi giorni o settimane di vita. La ri-vaccinazione è in funzione della durata media della vita degli animali. Il coronavirus del tacchino (TCoV) è geneticamente molto simile a IBV pur essendo considerato una nuova specie virale¹⁸.

VIRUS	Abbreviazione	Gruppo	Forma patologica
VIRUS DEGLI ANIMALI DOMESTICI			
Virus della gastroenterite trasmissibile	TGEV	α-CoVs	Enterica
Coronavirus respiratorio suino	PRCoV	α-CoVs	Respiratoria
Virus della diarrea epidemica suina	PEDV	α-CoVs	Enterica
Virus dell'encefalomielite emagglutinante suina	HEV	β-CoVs	Enterica e neurologica
Coronavirus bovino	BCoV	β-CoVs	Enterica e respiratoria
Coronavirus equino	ECoV	β-CoVs	Enterica
Virus della bronchite infettiva	IBV	γ-CoVs	Respiratoria
Coronavirus del tacchino	TCoV	γ-CoVs	Enterica
Coronavirus suino HKU15	PorCoV HKU15	δ-CoVs	Enterica
Coronavirus canino	CCoV	δ-CoVs	Enterica
Coronavirus respiratorio canino	CRCoV	β-CoVs	Respiratoria
Coronavirus felino	FeCoV	α-CoVs	Enterica e sistemica (peritonite)

VIRUS DEGLI ANIMALI SELVATICI			
Coronavirus del pipistrello ipposidero HKU10	Hi-BatCoV HKU10	α -CoVs	Asintomatica
Coronavirus del pipistrello miniottero 1A	Mi-BatCoV 1A	α -CoVs	Asintomatica
Coronavirus del pipistrello miniottero 1B	Mi-BatCoV 1B	α -CoV	Asintomatica
Coronavirus del pipistrello miniottero HKU	Mi-BatCoV HK	α -CoVs	Asintomatica
Coronavirus del pipistrello miniottero HKU8	Mi-BatCoV HKU8	α -CoVs	Asintomatica
Coronavirus del pipistrello Myotis HKU6	My-BatCoV HKU6	α -CoVs	Asintomatica
Coronavirus del pipistrello Rhinolophus (ferro di cavallo) HKU2	Rh-BatCoV HKU2	α -CoVs	Asintomatica
Coronavirus del pipistrello Rousettus (rossetto) HKU10	Ro-BatCoV HKU10	α -CoVs	Asintomatica
Coronavirus del pipistrello Scotophilus 512	Sc-BatCoV 512	α -CoVs	Asintomatica
Coronavirus del pipistrello Rousettus (rossetto) HKU9	Ro-BatCoV HKU9	β -CoV	Asintomatica
Virus dell'epatite murina	MHV	β -CoVs	Epatita; Enterica renale; Encefalica
Coronavirus dello zibetto delle palme SARS-correlato	SARSr-CiCoV	β -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus del pipistrello Rhinolophus (ferro di cavallo) SARS-correlato	SARSr-Rh-BatCoV HKU3	β -CoVs	Asintomatica
Coronavirus dell'antilope Sable	Antelope CoV	β -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus del pipistrello Neoromicia capensis	NeoCoV	β -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus del dromedario UAE- HKU23	DcCoV UAE-HKU23	β -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus del riccio europeo	ErinaceousCoV	β -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus 1 del visone	MCoV-1	α -CoVs	Enterica
Coronavirus del furetto*	FRCoV	α -CoVs	Enterica
Delfino tursiopo CoV (BdCoV) HKU22	BdCoV HKU22	γ -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus del beluga SW1	BWCoV SW1	γ -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus dei bulbul HKU11	BuCoV HKU11	δ -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus della gallinella d'acqua HKU21	CMCoV HKU21	δ -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus dei merli gazza HKU18	MRCoV HKU18	δ -CoVs	Sconosciuta

Coronavirus dei Munia (cappuccini) HKU13	MuCoV HKU13	δ -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus della nitticora	NH HKU19	δ -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus dei passerini HKU17	SpCoV HKU17	δ -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus dei tordi KHU12	ThCoV HKU12	δ -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus degli uccelli dagli occhiali HKU16	WECOV HKU16	δ -CoVs	Sconosciuta
Coronavirus dei fischioni HKU20	WiCoV HKU20	δ -CoVs	Sconosciuta
VIRUS UMANI			
Coronavirus umano NL63	HCoV-NL63	α -CoVs	Malattia respiratoria lieve del tratto respiratorio superiore. Nelle persone anziane e in quelle immunodepresse può insorgere polmonite.
Coronavirus umano 229E	HCoV-229E	α -CoVs	Malattia respiratoria lieve del tratto respiratorio superiore. Nelle persone anziane e in quelle immunodepresse può insorgere polmonite.
Coronavirus enterico umano 4408	HCoV-4408	β -CoVs	Malattia enterica da lieve a moderata nella maggior parte delle persone infette.
Coronavirus umano OC43	HCoV-OC43	β -CoVs	Malattia respiratoria lieve del tratto respiratorio superiore. Nelle persone anziane e in quelle immunodepresse può insorgere polmonite.
Coronavirus umano HKU1	HCoV-HKU1	β -CoVs	Malattia respiratoria lieve del tratto respiratorio superiore. Nelle persone anziane e in quelle immunodepresse può insorgere polmonite.
Coronavirus della sindrome respiratoria acuta grave	SARS-CoV	β -CoVs	Malattia respiratoria acuta in una parte delle persone infette.
Coronavirus della sindrome respiratoria medio-orientale	MERS-CoV	β -CoVs	Malattia respiratoria acuta in una parte delle persone infette.
Coronavirus 2 della sindrome respiratoria acuta grave	SARS-CoV-2	β -CoVs	Malattia respiratoria acuta in una parte delle persone infette.

α -CoVs-alphacoronavirus; β -CoVs-betacoronavirus; δ -CoVs-deltacoronavirus; γ -CoVs gammacoronavirus

*Considerata una specie domestica

La stretta correlazione genetica tra i coronavirus di diverse specie animali non solo induce a riformulare le rispettive storie evolutive (nella comprensione, per esempio, che BCoV si è evoluto da un coronavirus del topo), ma rivela anche la capacità di alcuni coronavirus (come TGEV) di saltare la barriera di specie e infettare specie diverse (Figura 7). Questo è dovuto probabilmente alle interazioni dinamiche con i suoi ospiti e all'efficienza dei coronavirus. Il riconoscimento delle specie serbatoio dei coronavirus è aumentato significativamente dopo l'identificazione di SARS-CoV e MERS-CoV¹⁹, con particolare riguardo alle diverse specie di pipistrelli. Molto recentemente, nel 2020, sei nuovi coronavirus, non correlati a SARS, MERS o COVID-19, sono stati identificati in pipistrelli catturati nel Myanmar (Sud-Est asiatico).

Nonostante siano stati identificati numerosi coronavirus di specie animali domestiche e selvatiche, quando provocano in molti casi infezioni subcliniche, cioè senza la comparsa di sintomi o segnali clinici, esse passano inosservate.

Le patologie umane più frequenti dovute ai coronavirus sono i comuni raffreddori²⁰. Vari coronavirus circolano nella popolazione a livello mondiale causando lievi infezioni del tratto respiratorio superiore (HCoV-229E²¹, HCoV-HKU1²², HCoV-NL63 e HCoV-OC43²³). Con minore frequenza, questi stessi coronavirus possono anche infettare il tratto respiratorio inferiore provocando broncopolmoniti e polmoniti.

Al contrario, altri coronavirus come SARS, MERS e COVID-19 provocano sindromi respiratorie acute negli esseri umani.

Sebbene le infezioni da coronavirus causino più comunemente malattie respiratorie e/o gastrointestinali, alcuni coronavirus possono anche provocare malattie riproduttive, polisierosite (infiammazione delle membrane sierose), sialodacrioadenite (infiammazione delle ghiandole salivari e lacrimali), epatite (infiammazione del fegato), encefalomielite e nefrite (infiammazione dei reni) sia negli umani sia negli animali.

2.4. CORONAVIRUS E APPROCCIO "ONE HEALTH"

La visione «One Health» parte dal presupposto che esiste uno stretto legame tra la salute degli animali, la salute umana e l'ambiente. In questa visione è fondamentale una effettiva sinergia transdisciplinare e multisettoriale tra figure professionali di aree diverse ma interconnesse che riguardano la salute umana, animale e ambientale, al fine di contrastare e prevenire le malattie infettive zoonotiche. L'urgenza di adottare questo approccio è emersa ampiamente nel contesto della pandemia della COVID-19 per le problematiche che essa ha sollevato in merito alla salute pubblica e l'economia mondiali. Il fatto che la pandemia, come si ritiene, possa aver avuto origine nel mercato di Wuhan, in Cina, alla fine del 2019, è emblematico per constatare come le malattie zoonotiche possano emergere facilmente e diffondersi rapidamente a livello globale.

Il contatto stretto tra gli umani e le specie animali esotiche e la conseguente trasmissione di malattie interspecie ha avuto conseguenze catastrofiche. Questo fatto è un campanello d'allarme per prendere decisioni volte a cambiare drasticamente il rapporto tra gli esseri umani e la natura al fine

di mitigare il rischio di future epidemie e ulteriori morti. La valutazione della potenziale trasmissione interspecie (rischio zoonotico) e lo sviluppo di modelli predittivi per possibili malattie virali emergenti, insieme a specifici programmi di vigilanza e monitoraggio, consentono di anticipare nuove epidemie e attuare rapide azioni preventive o di emergenza.

2.5. TRASMISSIONE DEL VIRUS SARS-CoV-2

La trasmissione del virus SARS-CoV-2 avviene tramite la diffusione di goccioline (droplets) respiratorie contenenti il virus emesse con la tosse, gli starnuti e parlando. Queste goccioline possono essere inalate o possono posarsi sulle membrane mucose (nella bocca, nel naso o negli occhi) delle persone che si trovano nelle vicinanze, diffondendo il virus e di conseguenza l'infezione²⁵. Inoltre, quando i virus si posano su superfici inerti, queste vengono contaminate. Il potenziale di trasmissione dei fomiti (materiali che possono veicolare l'infezione) è dubbio, poiché non è chiaro per quanto tempo il virus possa rimanere attivo sulle diverse superfici. Per le loro dimensioni, le goccioline subiscono la rapida azione della gravità e quindi il loro raggio d'azione è relativamente breve (2 metri). Tuttavia, in condizioni particolari che riguardano la pressione, l'alta temperatura e l'umidità ridotta, le goccioline possono scomporsi in particelle molto più piccole, dette «aerosol». A causa di queste dimensioni minori, la forza di propulsione (come nel caso di un colpo di tosse o uno starnuto) è maggiore della forza di gravità, permettendo agli aerosol di rimanere sospesi nell'aria più a lungo e di coprire distanze maggiori. Negli ambienti in cui avviene un contatto stretto e prolungato con persone affette dalla COVID-19 in situazioni che generano aerosol (ad esempio ventilatori invasivi o non invasivi, broncoscopie) il rischio di trasmissione e infezione è particolarmente elevato.

Come per l'influenza, frequentemente la trasmissione da persona a persona del virus SARS-CoV-2 avviene prima della comparsa dei sintomi. Il periodo asintomatico nell'influenza è però più breve, solo 1 o 2 giorni. Il periodo di incubazione dell'infezione da SARS-CoV-2 è attualmente stimato essere in media di circa 5-6 giorni²⁶. Il picco di contagiosità (cioè il punto di massima trasmissibilità) è ancora poco noto, poiché la maggior parte degli studi misura la carica virale (la quantità di virus, in questo caso particolare, presente nei tessuti) solo dopo la comparsa dei sintomi e stima il picco mediante estrapolazione con modelli matematici. Tuttavia, si sa che una gran parte delle infezioni viene trasmessa



Nei e nelle pazienti COVID-19, l'infezione del tratto respiratorio inferiore può svilupparsi in polmonite interstiziale. In questi casi, il tessuto e lo spazio intorno agli alveoli polmonari (spazio interstiziale) che comprende l'epitelio alveolare, l'endotelio capillare polmonare, la membrana basale e i tessuti perivascolari e perilinfatici, viene infettato dal virus SARS-CoV-2. L'infiammazione causata dalla risposta immunitaria dell'ospite, insieme all'apoptosi cellulare (che si verifica quando le particelle virali vengono rilasciate dalle cellule alveolari) provocano un danno alveolare. I tentativi di ripararlo provocano una cicatrizzazione fibrosa all'interno degli spazi alveolari e interstiziali. Questo compromette l'efficacia dello scambio di gas e l'elasticità polmonare¹².



Una tempesta di citochine ritardata e non controllata può essere responsabile dell'improvviso aggravamento dei e delle pazienti COVID-19 che sembrano avere un buon recupero. Questo si verifica spesso tra il 7° e il 10° giorno, quando la risposta immunitaria all'infezione è maggiore^{13,14}.

durante questa fase di incubazione, prima che i sintomi si siano manifestati e quindi prima che una persona si renda conto di essere stata infettata. Inoltre, un numero significativo di persone contagiate dal virus SARS-CoV-2 non sviluppa mai i sintomi. Queste persone sono comunemente dette «portatori asintomatici» e «portatrici asintomatiche», e se non vengono identificate e messe in quarantena, possono trasmettere il virus per tutto il decorso della malattia.

2.6. SEGNALI CLINICI E SINTOMI DELL'INFEZIONE DA VIRUS SARS-CoV-2

Il virus SARS-CoV-2 infetta tipicamente le cellule dei tratti respiratori superiore e inferiore. Tuttavia, infetta anche altre cellule, provocando varie patologie.

Il decorso clinico della COVID-19 dipende da vari fattori, tra cui la quantità di particelle virali inalate, cioè la dose infettante a cui la persona è stata esposta. Se l'ospite è esposto a poche particelle virali (cioè a una bassa dose infettante), le ciglia delle cellule delle fosse nasali e della laringe possono essere in grado di «spazzarle via» e avvolgerle nel muco. Inattivando ed eliminando il virus, l'infezione rimane localizzata e controllata, provocando solo lo sviluppo di una tosse e/o disturbi dell'olfatto e del gusto, senza diffondersi alle vie respiratorie inferiori. Tuttavia, se la dose infettante è elevata²⁷ o se l'infezione si diffonde ai tessuti circostanti, il virus può essere in grado di raggiungere i polmoni e indurre una grave polmonite interstiziale, compromettendo la funzione respiratoria. Un'ulteriore diffusione oltre i polmoni può provocare un'infezione sistemica che può portare a un'insufficienza di più organi.

La varietà dei sintomi clinici dell'infezione da SARS-CoV-2 è determinata da diversi fattori (Figura 8): la dose infettante a cui un individuo è esposto; l'efficacia della risposta immunitaria (che diminuisce con l'invecchiamento e l'esistenza di comorbidità); l'esposizione pregressa ad altri agenti infettivi che hanno potenziato le difese immunitarie aspecifiche²⁸.

I numerosi sintomi e segnali associati alla COVID-19 includono febbre, tosse, «fiato corto» (dispnea), mal di testa, dolori muscolari e del corpo (mialgia), brividi, alterazione o perdita dell'olfatto e del gusto, mal di gola, raucedine, congestione nasale, nausea o vomito, diarrea e complicazioni neurologiche.

Una risposta immunitaria eccessiva è associata a casi gravi di contagio da SARS-CoV-2. La tempesta di citochine scatenata dall'infezione induce una grave infiammazione che può portare alla sindrome da distress respiratorio acuto, alla coagulazione e alla disfunzione multiorgano. È stato anche collegata a risposte di tipo fibrotico con conseguente danno polmonare a lungo termine.

I bambini sono generalmente più resistenti alla malattia rispetto agli adulti, e spesso sviluppano forme asintomatiche. Tuttavia, sono stati identificati casi di sindrome multisistemica anche in bambini (MIS-C) da collegare al virus SARS-CoV-2²⁹.



Qual è il tasso di trasmissione della COVID-19?

Il tasso di trasmissione di un virus si valuta con l'«R0» o «numero di riproduzione di base». Si tratta del numero medio di persone a cui una persona infetta può trasmettere il contagio, in uno scenario dove chiunque è suscettibile al virus e non sono state attuate misure di prevenzione. In termini matematici, $R0=1$ significa che ogni individuo infetto può contagiare un'altra persona. Quando $R0$ è maggiore di 1 ($R0>1$) si verifica un aumento esponenziale del numero di individui infetti, che culmina in un'epidemia. Nel corso della pandemia di COVID-19 comprendere le tendenze e le conseguenze dell' $R0$ è più utile rispetto a considerare l' $R0$ solo come una misura statica. Ciò è indicato con Rt (R0 nel tempo, o velocità di contagio nel tempo). I servizi sanitari nazionali mirano a conoscere come questa velocità cambia settimanalmente, per valutare l'efficacia delle misure di prevenzione delle infezioni locali o nazionali e considerare l'impatto dell'allentamento di tali misure, anche se possono essere necessarie almeno due settimane^{3, 4} per osservare qualsiasi cambiamento nel valore di Rt.

Quali sono i segnali e i sintomi più frequenti della COVID-19?

Febbre, tosse e affaticamento sono considerati i sintomi più frequenti. Tuttavia, c'è una variabilità significativa nella presenza di questi sintomi tra individui e tra diversi Paesi. Ad esempio, una meta-analisi di 148 studi condotti in 9 Paesi ha rilevato che, sebbene la febbre sia il sintomo più frequente riportato nel 78% di tutti e tutte i e le pazienti con la COVID-19 di questo studio, la febbre è stata riscontrata solo nel 32% dei casi in Corea, mentre a Singapore l'83% ha indicato questo sintomo. Tale situazione si nota nelle differenze dei sintomi «principali» della COVID-19 pubblicati nei diversi Paesi. Mentre in Portogallo i segnali d'allarme sono febbre, tosse e difficoltà respiratorie, nel Regno Unito sono febbre, tosse e alterazione del gusto e dell'olfatto. Ci si può anche aspettare che i segnali e i sintomi più frequenti cambino man mano che il virus infetta diversi gruppi di età i quali sviluppano un certo grado di immunità. L'immunità di massa creerà una pressione selettiva sul virus, portando alla comparsa di ceppi con caratteristiche diverse.

Come vengono colpite dalla COVID-19 le diverse fasce di età?

I bambini sembrano essere meno colpiti delle persone adulte e di solito sviluppano condizioni lievi o asintomatiche. Le persone anziane sono particolarmente sensibili e spesso sviluppano condizioni cliniche più gravi. Ciò è attribuito al maggior numero di recettori ACE2 che aumentano con l'età, alla presenza più frequente di comorbidità e alla ridotta efficienza del sistema immunitario. Anche il tasso di mortalità è direttamente proporzionale all'età. Tuttavia, una sindrome infiammatoria multisistemica dei bambini (MIS-C)⁵ è stata identificata nei bambini che sono stati infettati dal virus SARS-CoV2 o che sono stati in contatto con chi lo ha contratto. Potenzialmente letale, questa sindrome è caratterizzata da un'infiammazione multiorgano generalizzata (cuore, polmoni, reni, cervello, pelle, occhi o organi gastrointestinali). La manifestazione e i sintomi si sovrappongono a quelli di altre rare malattie pediatriche, come la sindrome da shock della malattia di Kawasaki (KDSS)⁶.

Perché la malattia è grave in alcune persone e lieve in altre?

Diversi fattori contribuiscono alla gravità delle condizioni cliniche di una determinata persona. Oltre all'età, l'esistenza di patologie polmonari come le malattie croniche ostruttive (l'asma o l'enfisema che indeboliscono i polmoni e favoriscono la progressione delle infezioni), il diabete, le patologie cardiovascolari, l'ipertensione e l'obesità sono alcuni degli ulteriori fattori di rischio. Sono stati identificati altri fattori individuali come le mutazioni dei geni ACE2, TMPRSS2, HLA, CD147, MIF, IFNG e IL6, che possono rendere ragione della mortalità di persone giovani apparentemente sane e la resistenza trovata in alcune persone anziane⁷.



I pre-sintomi della sindrome infiammatoria multisistemica nei bambini (SIM-B) includono: febbre (>38°C) per 24 ore o più, dolore addominale, diarrea o vomito, dolore al collo, eruzione cutanea o cambiamenti nel colore della pelle, arrossamento degli occhi, stanchezza, difficoltà respiratorie, dolore o pressione al petto, confusione, incapacità di restare svegli o di svegliarsi, labbra o viso bluastri¹⁵.



Molto recentemente, uno studio condotto nel Regno Unito ha confrontato il genoma di più di 2.000 persone che hanno sviluppato forme gravi di COVID-19 con insufficienza respiratoria, con il genoma di persone che hanno sviluppato forme lievi. Sono state identificate varianti genetiche nella popolazione associate alle forme gravi della malattia. Queste varianti, mappate sui cromosomi 12, 19 e 21, influenzano l'espressione del gene della tirosina chinasi 2 (TYK2), il gene della dipeptidil peptidasi 9 (DPP9), il gene IFNAR2 che codifica per l'interferone e di una serie di geni che codificano per gli attivatori degli enzimi di restrizione antivirali (OAS1, OAS2, OAS3). È stato trovato un legame causa-effetto tra la bassa espressione di IFNAR2 e l'alta espressione di TYK2 e le forme più gravi di polmonite da COVID nei pazienti COVID-19. Questi risultati hanno evidenziato nuove possibilità per lo sviluppo di terapie personalizzate aventi come target il codice genetico del paziente per regolare la sua risposta immunitaria e prevenire la progressione della patologia¹².

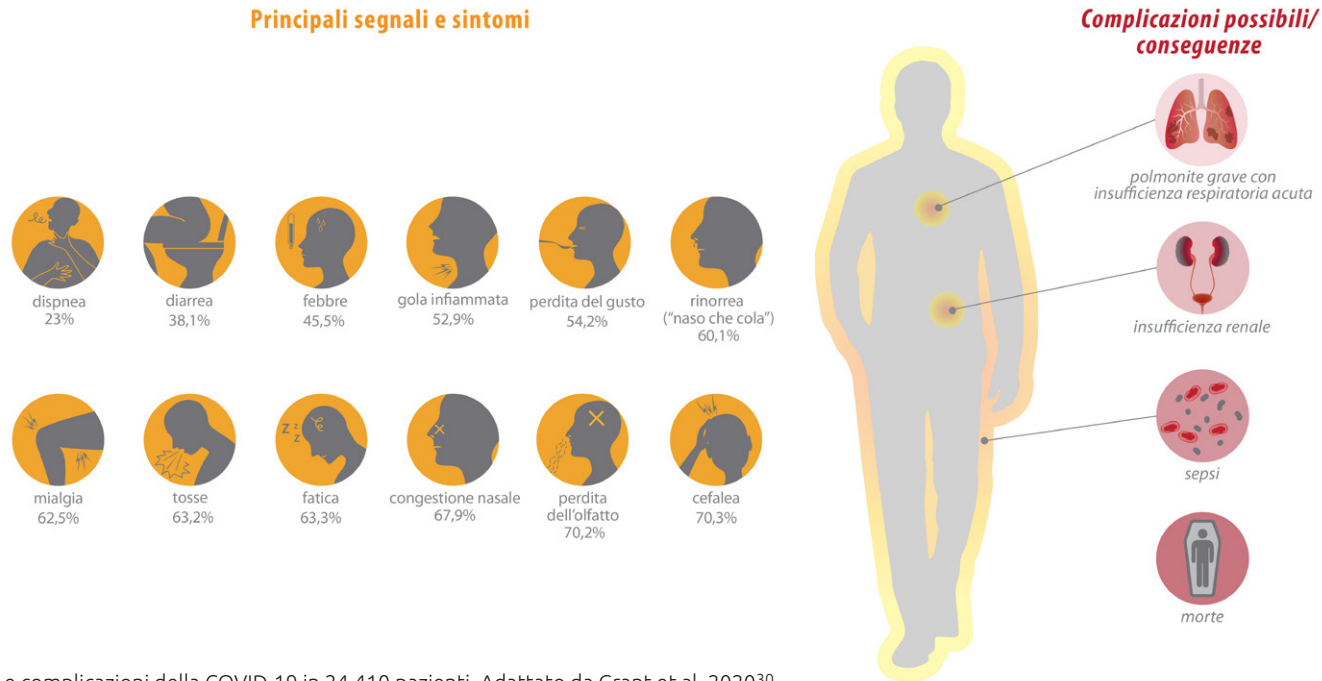


Fig. 8 -Manifestazioni e complicazioni della COVID-19 in 24.410 pazienti. Adattato da Grant et al. 2020³⁰.



Quanto dura il periodo di incubazione (tra l'infezione e la comparsa dei sintomi) della COVID-19?

Il periodo medio tra l'esposizione al virus e lo sviluppo dei sintomi è di 5 giorni, ma può durare fino a 14 giorni⁸. Per questo motivo, l'attuale periodo di quarantena o di isolamento è di 14 giorni (il tempo necessario affinché siano trascorsi il periodo di incubazione e la fase sintomatica della malattia). Tuttavia, alcuni studi hanno descritto un periodo di incubazione più lungo in alcune persone.

In quale fase dell'infezione causata dal virus SARS-CoV-2 può avvenire la trasmissione ad altre persone?

La maggior parte dei contagi avviene prima della comparsa dei sintomi (60%)⁹. Il potenziale di trasmissione persiste per tutto il decorso della malattia. La presenza di RNA virale è stata rilevata oltre 20 giorni dalla comparsa dei sintomi, in particolare nel tratto intestinale. Questo può suggerire una potenziale trasmissione anche dopo la scomparsa dei sintomi. Tuttavia, non è certo che la presenza di RNA sia correlata all'infezione¹⁰, considerate le limitazioni citate nella sezione 2.2.

Quanto è aggressiva la COVID-19 per la maggior parte della popolazione?

I dati suggeriscono che l'80% delle infezioni da SARS-CoV-2 sono asintomatiche o lievi (e quindi possono essere trattate a casa), il 15% sono infezioni gravi (che richiedono l'ospedalizzazione per la somministrazione di ossigeno), e il 5% sono infezioni critiche (che richiedono la ventilazione meccanica).

Come sorgono le varianti del virus SARS-CoV-2?

Alcune mutazioni possono compromettere la capacità dei virus di replicarsi e/o passare da un ospite all'altro, ma le varianti virali con tali mutazioni svantaggiose vengono rapidamente eliminate dalla popolazione virale. Occasionalmente, si verificano mutazioni vantaggiose che conferiscono alla nuova variante una maggiore capacità di replicazione, trasmissione ed elusione del sistema immunitario dell'ospite. Queste varianti subiscono una selezione positiva e, quindi, diventano dominanti sulle altre varianti.

2.7. IMPATTO DELLA COVID-19 SULLA SALUTE PUBBLICA

La conseguenza della COVID-19 nei primi 19 mesi da quando è stata identificata sono gli oltre 4 milioni di morti in tutto il mondo^{31,32}. Nei soggetti guariti, stimati in più di 107 milioni nel giugno 2021, sono stati identificati vari postumi (ad esempio, neurologici, polmonari, endocrini).

La rapidità con cui il virus SARS-CoV-2 si è diffuso in 213 paesi rispecchia l'attuale globalizzazione e la portata degli scambi internazionali. Ci sono già state altre epidemie nel recente passato che hanno avuto un enorme impatto globale, come il virus dell'influenza H1N1. Durante il primo anno di circolazione dalla sua comparsa nel 2009 in Messico, il virus H1N1 ha provocato, in tutto il mondo, la morte stimata tra 151.700 e 575.400 persone e ha colpito più di 60 milioni di persone solo negli Stati Uniti, secondo il CDC (Centro per il Controllo e la Prevenzione delle Malattie [Centers for Disease Control and Prevention]).

L'impatto delle ondate successive della COVID-19 sull'immunizzazione naturale della popolazione mondiale è ancora sconosciuto. La ridotta percentuale di persone sieropositive (2-6%) prodotte dalla prima ondata di malattia^{33,34} ha deluso l'aspettativa iniziale che l'immunità di gruppo (o di gregge) potesse instaurarsi rapidamente, cosa che avrebbe portato alla progressiva riduzione della circolazione del virus e, di conseguenza, alla sua eradicazione. Considerando la modesta percentuale di persone sieropositive dopo la prima ondata, la scarsa conoscenza sulla durata dell'immunità naturale acquisita e l'altissimo numero di vittime che si possono verificare con un'infezione di gruppo incontrollata, gli sforzi sono attualmente concentrati sui programmi di vaccinazione per contenere la pandemia.

La proteina S del virus, la più immunogenica per la sua sporgenza dall'interno dell'involucro virale, è una delle proteine impiegate per sviluppare vaccini contro il virus SARS-CoV-2. Tuttavia, a causa della tendenza alle mutazioni genetiche che interessano questa proteina producendo modifiche strutturali e funzionali³⁵, i vaccini dovranno venir aggiornati in base alle varianti emergenti, come nel caso dei vaccini antinfluenzali annuali.

Infatti, dalla sua comparsa alla fine del 2019, un numero progressivo di varianti del virus SARS-CoV-2 è già stato identificato nel mondo. Alcune varianti hanno sostituito quelle originarie molto rapidamente, dimostrando il loro evidente vantaggio genetico per quanto riguarda la trasmissibilità. Queste nuove varianti hanno anche contribuito alla gravità della pandemia da COVID-19, poiché un aumento della trasmissibilità porta a un aumento nei decessi, in assenza di immunità di gruppo. Non è ancora certo se queste varianti siano associate a patologie più gravi.

La variante Alpha (B.1.1.7), nota anche come variante del Kent, è stata individuata per la prima volta nel Regno Unito alla fine del 2020. Essa reca un elevato numero di mutazioni, numerose nel gene che codifica per la proteina SPIKE. Questa variante è decisamente più infettiva di altre varianti (con un tasso di trasmissibilità superiore del 50%^{30,31}) probabilmente a causa della mutazione N501Y (in cui l'aminoacido N (Asparagina) in posizione 501 della proteina S è stato sostituito con una Y (Tirosina)). Questa sostituzione aminoacidica aumenta la forza di legame del virus al recettore uma-

no ACE2. Legandosi più facilmente e fortemente, il numero di particelle virali necessarie per infettare una nuova persona è molto inferiore. Altre mutazioni includono la delezione H69/V70³⁶, la delezione 144Y e le sostituzioni di aminoacidi N501Y, A570D, D614G e P681H. Sebbene inizialmente la variante non fosse associata a sintomi COVID più gravi, dati recenti suggeriscono la possibilità che l'infezione con la variante Alpha possa essere associata a un maggior rischio di mortalità rispetto alle altre varianti^{37,38}. Questa variante si è diffusa rapidamente in tutto il Regno Unito e a metà febbraio 2021 era già stata individuata in 70 paesi.

La variante Beta (B.1.351), nota anche come variante sudafricana, è stata individuata nel comune di Nelson Mandela Bay, nell'ottobre 2020. Essa è emersa indipendentemente dalla variante Alpha, e da allora è stata rilevata in più di 30 paesi. Analogamente a quanto accaduto con la variante britannica, la variante Beta ha rapidamente sostituito le altre varianti di SARS-CoV-2 in Sudafrica. Essa ha in comune con la variante Alfa³⁹ alcune mutazioni, in particolare la mutazione N501Y nella proteina SPIKE, ma reca anche le mutazioni E484K e K417N, che possono ridurre il legame degli anticorpi al virus. Prove preliminari suggeriscono che il vaccino Moderna mRNA-1273 può essere meno efficace contro questa variante⁴⁰. Non ci sono evidenze, tuttavia, che essa sia più letale delle varianti originarie.

La variante Gamma (B.1.671.2 o P1), nota anche come variante brasiliana, è stata individuata per la prima volta in Giappone in un gruppo di viaggiatori brasiliani, nel gennaio 2021. Questa variante ha 17 mutazioni peculiari, tra cui tre nel dominio di legame del recettore della proteina SPIKE (N501Y, E484K e K417N)^{41,42}. Attualmente essa è decisamente prevalente nello stato brasiliano di Amazonas. Alcune evidenze suggeriscono che mutazioni della variante Gamma possono incidere sulla capacità degli anticorpi (da infezione naturale o da vaccinazione) di riconoscere e neutralizzare il virus⁴³, tuttavia sono necessari ulteriori studi per confermarlo.

La variante Delta (B.1.617.2), nota anche come variante indiana, è stata identificata per la prima volta nello stato del Maharashtra in India, nell'ottobre 2020. Questa variante si è poi diffusa in tutta l'India e in più di 96 altri paesi. Insieme alle varianti alfa, beta e gamma, è ritenuta dalla OMS una variante pericolosa («variante che desta preoccupazione», in inglese «variant of concern» VOC). La variante delta presenta mutazioni multiple associate al miglioramento della capacità del virus di legarsi alle cellule umane e di eludere alcune risposte immunitarie. Più recentemente, è emersa una mutazione di questa variante, detta «delta plus», che sta preoccupando la comunità scientifica a livello mondiale.

Sono state individuate diverse altre varianti, tra cui le varianti Kappa (dall'India) e Eta (dal Regno Unito). Ci si può aspettare che il virus SARS-CoV-2 continui ad evolversi rapidamente, a causa della selezione naturale di varianti che eludono la risposta immunitaria indotta dal contatto con precedenti varianti e dai vaccini.



Cosa hanno in comune le varianti di SARS-CoV-2 del Regno Unito, del Sudafrica e del Brasile?

Una mutazione che comporta una sostituzione aminoacidica da D (aspartato) a G (glicina) nella posizione 614 nella proteina spike (D614G) si verifica nelle varianti del Regno Unito, del Sud Africa e del Brasile. Questa mutazione dà alle varianti la capacità di diffondersi più rapidamente dei virus predominanti¹¹, potenziando il legame ai recettori umani ACE2. Questo si traduce in un aumento della replicazione virale nelle colture primarie epiteliali delle vie aeree bronchiali e nasali umane e aumenta sostanzialmente la replicazione e la trasmissibilità nei modelli di criceto e furetto per l'infezione da SARS-CoV-2¹⁰.

Quali sono le implicazioni dell'emergere di nuove varianti sul successo della vaccinazione?

Sono in corso di valutazione vaccini efficaci contro le nuove varianti di SARS-CoV-2. I vaccini attualmente autorizzati sembrano offrire una protezione relativamente buona contro la variante del Regno Unito, tuttavia, la protezione dei vaccini Novavax, Johnson & Johnson e Oxford/AstraZeneca sembra essere ridotta nei confronti della variante sudafricana^{12, 13}.

È importante monitorare le nuove varianti?

Il sequenziamento completo dei genomi delle varianti di SARS-CoV-2 che emergono in continuazione è fondamentale per monitorarne la diffusione, aggiornare le tecniche diagnostiche, adattare i vaccini e sviluppare farmaci antivirali efficaci.

Come si sta evolvendo l'immunità di massa contro il virus SARS-CoV-2 a livello mondiale?

L'immunità di massa (o di gregge) si sta evolvendo molto lentamente, come indicano i risultati degli studi sierologici realizzati in diversi paesi. In Portogallo, la presenza di anticorpi è stata trovata in circa il 3% dei 2.302 individui del campione rappresentativo della popolazione, secondo uno studio realizzato dall'Istituto Nazionale della Salute (INSA I.P.) tra il 21 maggio e l'8 luglio 2020; in Spagna il 9,3% di 578 operatori sanitari testati tra il 28 marzo e il 9 aprile 2020 erano sieropositivi; il 4,8% di 2766 partecipanti di Ginevra testati tra il 6 e il 9 maggio 2020 avevano anticorpi; il 3,8% di 2.857 donatori di sangue in Brasile testati tra il 14 e il 27 aprile 2020 erano sieropositivi. La valutazione continua o periodica dell'immunità della popolazione è fondamentale per una migliore comprensione dell'immunità di gregge. Tuttavia, non è ancora chiaro quanto duri questa immunità e se potrà essere efficace contro i nuovi ceppi del virus.

3. DIAGNOSI E MISURE PREVENTIVE DELLE MALATTIE DA CORONAVIRUS

Come per la maggior parte delle altre malattie infettive provocate dai coronavirus animali, i segnali e i sintomi dell'infezione da COVID-19 sono aspecifici e, pertanto, i casi clinici richiedono di essere confermati con test diagnostici.

La diagnosi di laboratorio può essere eseguita con metodi diretti e indiretti. Il primo si basa sul rilevamento di alcuni componenti del virus (ad esempio l'RNA virale) con metodi molecolari come la reazione a catena della polimerasi inversa (RT-PCR) (Figura 9A), o altre metodologie come i microarray, l'amplificazione isoterma mediata da loop (*Loop-mediated isothermal amplification*, LAMP) e brevi ripetizioni palindromiche interspaziate regolarmente raggruppate (*clustered regularly interspaced short palindromic repeats*, CRISPR).

Per individuare altre componenti virali come le proteine, possono essere utilizzate le tecniche ELISA e di immunofluorescenza. Sono disponibili sul mercato anche test rapidi per la ricerca di antigeni (dispositivo a flusso laterale) specifici per il virus SARS-CoV-2. Studi condotti in vari paesi hanno dimostrato la presenza di variabilità nella sensibilità e nella specificità di questi test. Ulteriori tecniche sono l'osservazione diretta del virus con la microscopia elettronica o l'osservazione della morfologia delle cellule infettate in colture cellulari (effetto citopatogeno). Tuttavia, queste possono essere estremamente laboriose, richiedere tempi lunghi e laboratori specializzati (laboratori con livello di biosicurezza 3).

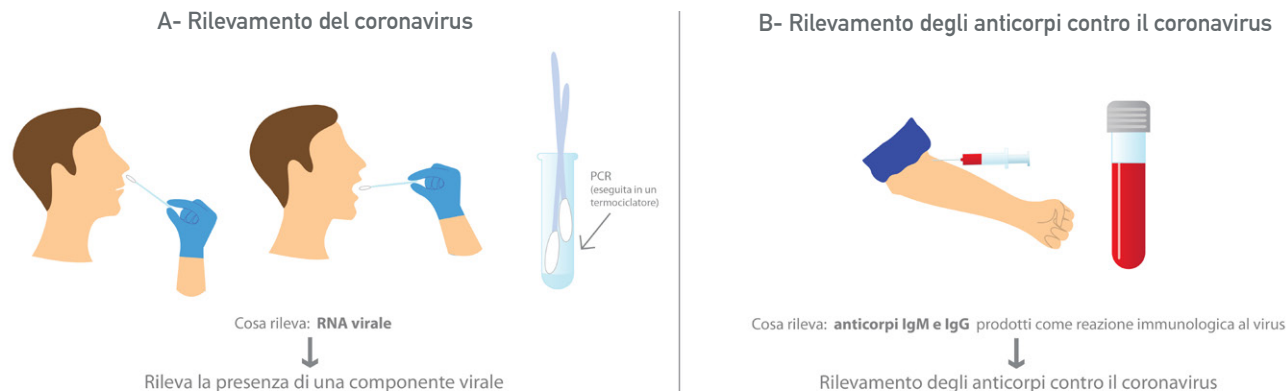


Fig. 9 A - Il rilevamento del genoma virale viene effettuato tramite RT-PCR o RT-PCR in tempo reale poiché si tratta di un virus a RNA. Il rilevamento dell'RNA virale, o di uno dei componenti del virus, indica un'infezione da SARS-CoV-2 in corso o recente. B- L'individuazione degli anticorpi può essere effettuata con metodi rapidi o con test immunologici (ELISA, CLIA). Il rilevamento di anticorpi indica un precedente contatto con il virus.

I metodi indiretti si basano sul rilevamento di anticorpi che vengono prodotti in risposta all'infezione virale, con un processo definito risposta immunitaria umorale (Figura 9B). La scelta dei test diagnostici molecolari e/o sierologici dipende dallo stadio della malattia e dalla reazione individuale al vaccino. Per esempio, i test sierologici non sono raccomandati per la diagnosi delle infezioni acute.

3.1. DIAGNOSI MOLECOLARI DELLE INFEZIONI DA CORONAVIRUS

I metodi molecolari basati sulla RT-PCR in tempo reale sono estremamente sensibili e specifici (cioè rilevano solo il patogeno per il quale sono stati sviluppati). Possono essere facilmente automatizzati e permettendo l'analisi simultanea di molti campioni. L'elevata sensibilità dei metodi molecolari permette di rilevare minime quantità di virus nel campione (da 1 a 10 copie di RNA virale), come avviene nella fase iniziale dell'infezione, cosa non rilevabile con altri metodi. L'amplificazione di una singola molecola bersaglio nel campione in un migliaio di copie identiche nella provetta di reazione, consente una rilevazione specifica, sensibile e rapida in poche ore.

Per eseguire il test molecolare, si prelevano campioni biologici in base al tropismo del virus verso i diversi tessuti dell'ospite. Nelle infezioni da coronavirus caratterizzate da enterite (FCoV, SuCoV, CCoV, BCoV), le feci sono i campioni di elezione per la diagnosi di laboratorio. Nelle malattie respiratorie da coronavirus, come PRCoV, TCoV e SARS-CoV-2, i campioni da analizzare sono gli essudati delle aree posteriori delle cavità nasali (rinofaringe) e della gola (orofaringe) prelevati con dei tamponi (un lungo «cotton-fioc»). Questi fluidi contengono molte cellule ospiti che contengono particelle virali se l'individuo è infetto. Il materiale genetico (ospite e virus) presente in queste cellule viene quindi estratto per essere analizzato tramite RT-qPCR. L'estrazione può essere manuale o automatica.



Qual è la differenza tra PCR e RT-PCR?

La PCR (reazione a catena della polimerasi) amplifica un tratto genomico specifico (target) da una molecola di DNA. Invece, la RT-PCR (trascrizione inversa - reazione a catena della polimerasi), con la trascrizione inversa, utilizza molecole di RNA come stampo (template) per generare la sequenza di DNA complementare per cui la regione target può essere poi amplificata come con la PCR.

Cosa indica un test RT-PCR risultato positivo per il virus SARS-CoV-2?

Un test positivo indica che la persona è (o è stata recentemente) infettata con il virus SARS-CoV-2. La RT-PCR rileva l'RNA virale anziché il virus infettivo vitale (cosa che richiederebbe laboriosi tentativi di isolare il virus in coltura cellulare) e quindi non può distinguere tra la presenza di un virus vitale in grado di replicarsi -ovvero un'infezione in atto- e virus inattivi o non vitali o particelle virali, che potrebbero essere ancora presenti per qualche tempo dopo la guarigione. Tuttavia, essendo un test quantitativo, i risultati possono suggerire quale sia il caso più probabile (ad esempio, ci si aspetterebbe di rilevare elevate quantità di RNA virale nel caso di infezione attiva).

Quanto è affidabile un test RT-PCR negativo?

Si stima che fino al 20% dei soggetti con risultati negativi abbia avuto un «falso negativo»¹⁴. La tempistica del test nel corso dell'infezione, la qualità della raccolta del campione e la sensibilità e la specificità del test sono fattori cruciali per garantire risultati affidabili. Quando c'è un alto sospetto clinico ed epidemiologico di infezione, un singolo test negativo, anche se ad alta sensibilità, non dovrebbe escludere l'infezione con certezza. In questi casi il test dovrebbe essere ripetuto.

Un risultato positivo della RT-qPCR indica la presenza di RNA virale del CoV-SARS-2 ma non distingue tra un'infezione in corso e un'infezione risolta di recente (quando il virus è stato neutralizzato dagli anticorpi dell'ospite). Tuttavia, poiché questo metodo è quantitativo, la valutazione nel tempo (valutazione longitudinale) della carica virale può rivelare la progressione della malattia.

3.2. TEST SIEROLOGICI PER CORONAVIRUS

I test sierologici possono rilevare anticorpi specifici (immunoglobuline) contro i coronavirus presenti nei campioni di sangue. Attualmente sono disponibili in commercio test ELISA che rilevano gli anticorpi contro i coronavirus associati a infezioni nei gatti, cani, maiali, bovini e uccelli. Per il virus SARS-CoV-2 sono già stati sviluppati più test, ora ampiamente disponibili, basati su diverse metodologie (Figura 10).

Negli individui immunocompetenti, l'esposizione al virus comporta la stimolazione di una risposta immunitaria, che implica la produzione di anticorpi specifici contro gli antigeni presenti sulla superficie del virus, in particolare contro la proteina S. Gli antigeni sono componenti del virus (ad esempio, proteine) che stimolano la produzione di anticorpi.

Il primo tipo di anticorpi (o immunoglobuline (Ig)) prodotti nel primo contatto con il virus sono le IgM (Figura 10) che possono durare per più di un mese. La presenza delle IgM indica un'infezione recente. Le IgG contro SARS-CoV-2 compaiono di solito da 6 a 15 giorni dopo l'inizio della patologia. La produzione di IgG viene generalmente rilevata più tardi e per un periodo di durata maggiore. I livelli sierici (cioè nel sangue) possono raggiungere il picco da 1 a 2 settimane dopo l'infezione per poi diminuire lentamente. È anche noto, da altre infezioni da coronavirus come la MERS, che i livelli



Cosa indica un test sierologico positivo?

Un test sierologico positivo significa che la persona è stata in contatto con il virus e ha sviluppato l'immunità umorale (cioè ha prodotto anticorpi). La maggior parte delle persone infettate da SARS-CoV-2, sia sintomatiche che asintomatiche, producono anticorpi tra il 10° e il 21° giorno dall'infezione. Tuttavia, in alcuni casi, gli individui possono impiegare più tempo per sviluppare gli anticorpi che possono anche non essere prodotti affatto.

Possedere gli anticorpi significa avere protezione da future infezioni?

La protezione data dagli anticorpi dipende dalla loro capacità di neutralizzare e dalla loro concentrazione (cioè il titolo degli anticorpi nel sangue). Tuttavia, è stato dimostrato che alcune persone guarite dalla COVID-19 e che hanno sviluppato gli anticorpi hanno contratto nuovamente l'infezione dopo alcuni mesi. Questo mette in dubbio che l'immunità sviluppata possa fornire una protezione verso infezioni successive. L'alto tasso di mutazione del virus può essere la ragione di questa mancata immunità.

Per quanto tempo possono persistere gli anticorpi nel sangue?

La persistenza della risposta umorale è ancora oggetto di studio. Uno studio canadese indica che dopo la comparsa dei sintomi gli anticorpi IgA e IgM sono rapidamente degradati, mentre gli anticorpi IgG rimangono relativamente stabili fino a 150 giorni nel sangue e nella saliva¹⁵. Ciò suggerisce la possibilità di subire una reinfezione da parte dello stesso virus.

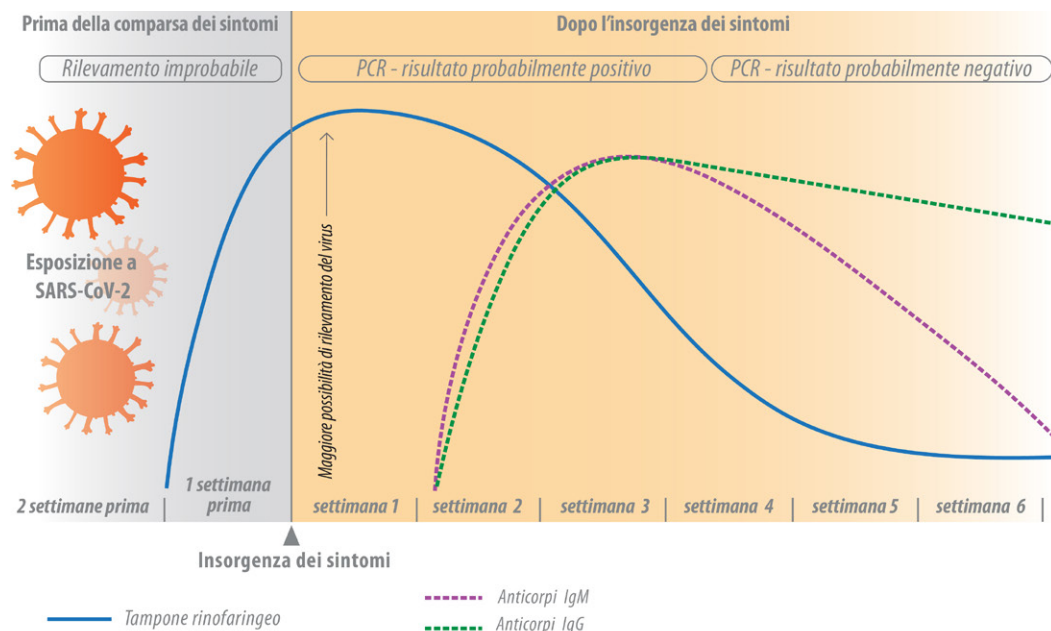


Fig. 10 - Efficacia dei metodi diagnostici nel rilevare l'infezione da SARS-CoV-2 dal momento di contatto all'insorgenza e alla progressione dei sintomi. Le curve rappresentano la probabilità di rilevare l'RNA virale (tramite RT-PCR) e gli anticorpi (IgM e IgG, tramite ELISA) nel tempo. Adattato da Sethuraman et al 2020 ⁴⁴.

di anticorpi sono anche connessi alla gravità della patologia. Il livello degli anticorpi può essere ridotto e scomparire più rapidamente negli individui asintomatici. Non è ancora noto per quanto tempo questa immunità possa risultare protettiva, ma si stima che possa durare da 6 a 12 mesi³⁹. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) sottolinea che non ci sono prove certe che le persone guarite dalla COVID-19 siano permanentemente immuni e protette dalla reinfezione. Dopo un secondo contatto con il virus SARS-CoV-2, i titoli IgG possono aumentare sensibilmente.

Gli anticorpi (immunoglobuline totali, o le relative classi IgG, IgM e IgA) sviluppati contro gli antigeni del virus SARS-CoV-2 possono essere rilevati nel sangue totale, nel siero o nel plasma con test convenzionali che comprendono test immunoenzimatici (ad es. ELISA), test di chemiluminescenza (CLIA) o test immunocromatografici rapidi (Figura 11).

I test rapidi che richiedono soltanto il prelievo di una goccia di sangue periferico sono più rapidi e permettono di ottenere il risultato in pochi minuti, ma ad oggi sono meno sensibili e specifici. I test immunocromatografici che usano la proteina S come antigene per rilevare gli anticorpi sembrano essere più sensibili di quelli che impiegano la nucleoproteina (N).



La risposta immunitaria contro un patogeno è caratterizzata da una risposta umorale e cellulare. La risposta umorale comporta la produzione di immunoglobuline (anticorpi) di diverse classi (IgM, IgG, IgA, IgD e IgE che differiscono per il tipo di catena pesante), la cui funzione è quella di segnalare e combattere l'infezione. A causa delle differenze nei polipeptidi della catena pesante, queste immunoglobuline sono coinvolte in diversi tipi di risposte immunitarie e in diverse fasi dell'infezione. Le IgM, le IgG e le IgA sono particolarmente importanti per combattere le infezioni virali e batteriche. Le IgM sono prodotte all'inizio dell'infezione e sono molto efficaci nella fase iniziale dei processi infettivi; le IgG sono prodotte dopo le IgM, di solito in maggiore concentrazione e rimangono nel sangue più a lungo. Le IgA svolgono un ruolo importante nella protezione degli epitelii delle mucose intestinali, respiratorie e urogenitali che separano l'ambiente esterno dall'interno del corpo. L'immunità cellulare è associata all'attivazione di cellule immunitarie specifiche (linfociti T) in grado di identificare ed eliminare il patogeno dalle cellule ospiti infettate. Le due risposte (cellulare e umorale) agiscono insieme per debellare l'infezione. A volte un'acutizzazione del processo di risposta immunitaria può essere essa stessa estremamente nociva per l'ospite¹⁶.

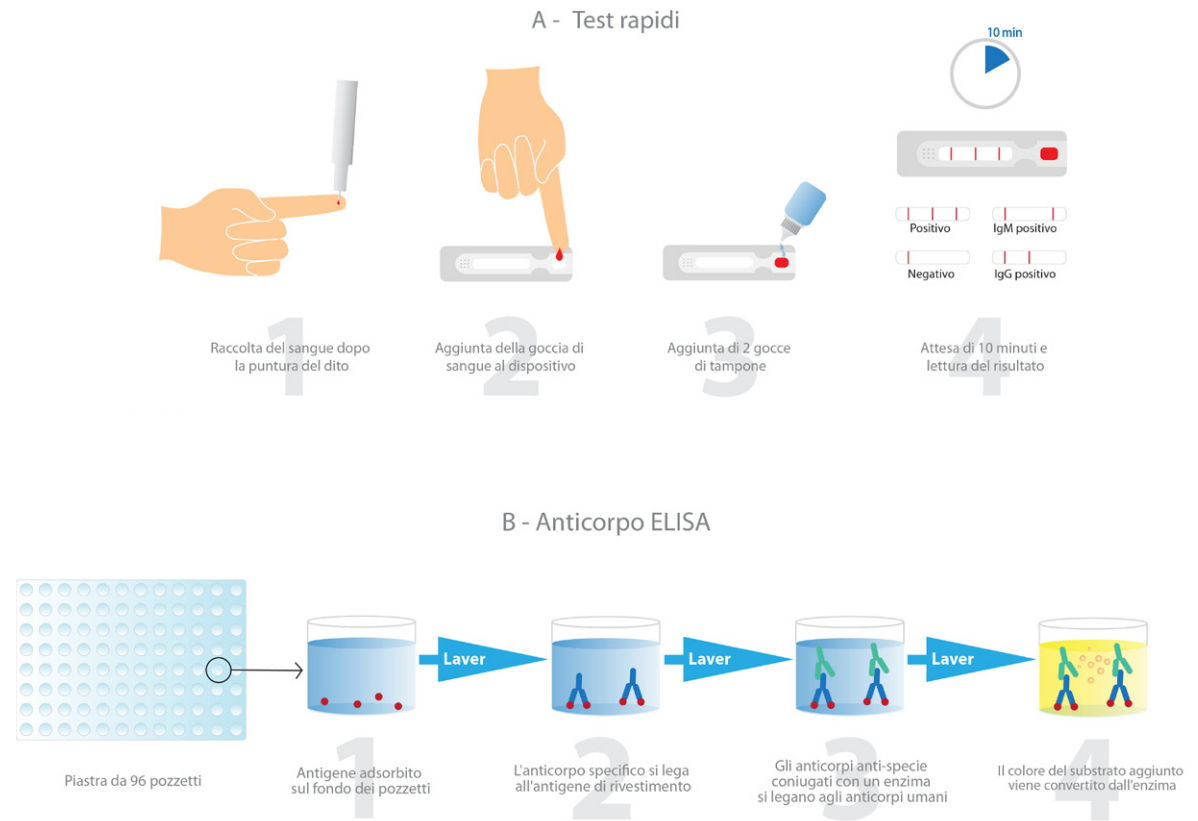


Fig. 11 - Esempi di test che rilevano gli anticorpi contro il virus SARS-CoV-2. A- Test rapido la cui esecuzione richiede di utilizzare una goccia di sangue in un dispositivo apposito. B- Test ELISA, un test immunoenzimatico eseguito in laboratorio, che richiede apparecchiature specifiche (incubatore, lavapiastre, spettrofotometro).



Anche l'immunità verso altri coronavirus umani è di breve durata?

L'immunità conferita dall'infezione è variabile. È stato dimostrato che circa il 90% dei pazienti infettati da SARS-CoV mantiene gli anticorpi IgG per due anni, anche se questa percentuale scende al 50% entro tre anni¹⁶. L'immunità verso MERS-CoV è più breve. In seguito all'infezione con il coronavirus stagionale HCoV-229E, gli anticorpi IgA vengono rilevati nel sangue fino a un dopo anno¹⁷. Gli anticorpi IgA partecipano all'immunità della mucosa locale all'interno della cavità nasale, difendendo le mucose che sono la porta d'ingresso per molti virus¹⁷.

3.3. MISURE DI PREVENZIONE DELLE MALATTIE CAUSATE DA CORONAVIRUS

Come per tutte le altre patologie animali, tra gli strumenti efficaci per la profilassi del contagio ci sono la vigilanza sanitaria, l'adozione di misure di biosicurezza in particolare nelle industrie zootecniche e la vaccinazione.

3.3.1. Distanziamento sociale, comportamento corretto e quarantena

Le misure raccomandate per ridurre il tasso di trasmissione del virus SARS-CoV-2 includono frequenti lavaggi/igienizzazioni delle mani, rispetto del «galateo sociale» (starnutire e tossire nel gomito o in un fazzoletto), uso della mascherina, distanziamento fisico e autoisolamento se si sviluppano sintomi o se c'è stato un recente contatto ravvicinato con chi ha avuto sintomi o si sospetta abbia contratto la COVID-19. Una revisione delle prassi pubblicata nel giugno 2020 ha concluso che la quarantena è importante sia per ridurre il numero di casi sia il numero di decessi⁴⁵. I risultati di vari studi basati su modelli statistici suggeriscono che la quarantena è stata più efficace e meno onerosa quando è stata effettuata tempestivamente. Il rispetto della quarantena da parte degli individui che sono stati in contatto con un caso conclamato o sospetto di COVID-19 si ritiene abbia scongiurato il 44-96% dei casi verificatisi e il 31-76% dei decessi⁴⁶. Similmente risulta efficace applicare la quarantena per le persone che provengono da un paese con un focolaio di COVID-19 o con

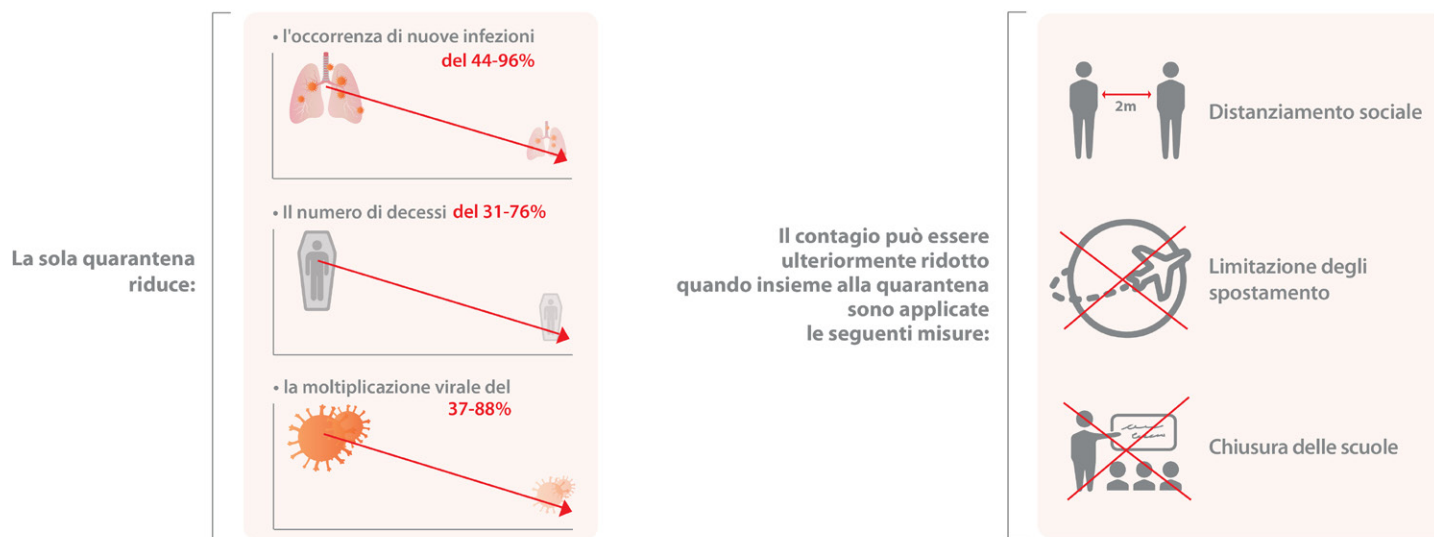


Fig. 12 - Importanza della quarantena per il contrasto alla trasmissione del virus SARS-CoV-2.

un numero significativamente maggiore di casi di COVID-19. Alcuni studi hanno indicato che ci può essere una riduzione del 37-88% del Rt (l'indice che definisce il grado di trasmissibilità del contagio) dovuta all'applicazione della quarantena⁴⁷. Inoltre, l'esito della quarantena è maggiore se combinato con ulteriori misure di prevenzione e controllo (Figura 12).

Ci sono prove scientifiche a sostegno dell'importanza del lavaggio delle mani. L'azione meccanica è importante per eliminare un numero considerevole di virus e favorire la successiva azione dei detergenti e dei disinfettanti, che agiscono sull'involucro superficiale dei virus. I coronavirus necessitano di un involucro integro per poter infettare le cellule ospiti suscettibili e iniziare il ciclo replicativo. Data la fragile natura lipidica dell'involucro, esso viene facilmente distrutto da detergenti che emulsionano i lipidi o da soluzioni disinfettanti a base di alcool che lo attaccano provocando una rapida e irreversibile denaturazione delle proteine (cambiamento della struttura, come quanto succede agli albumi delle uova con la cottura) (Figura 13).

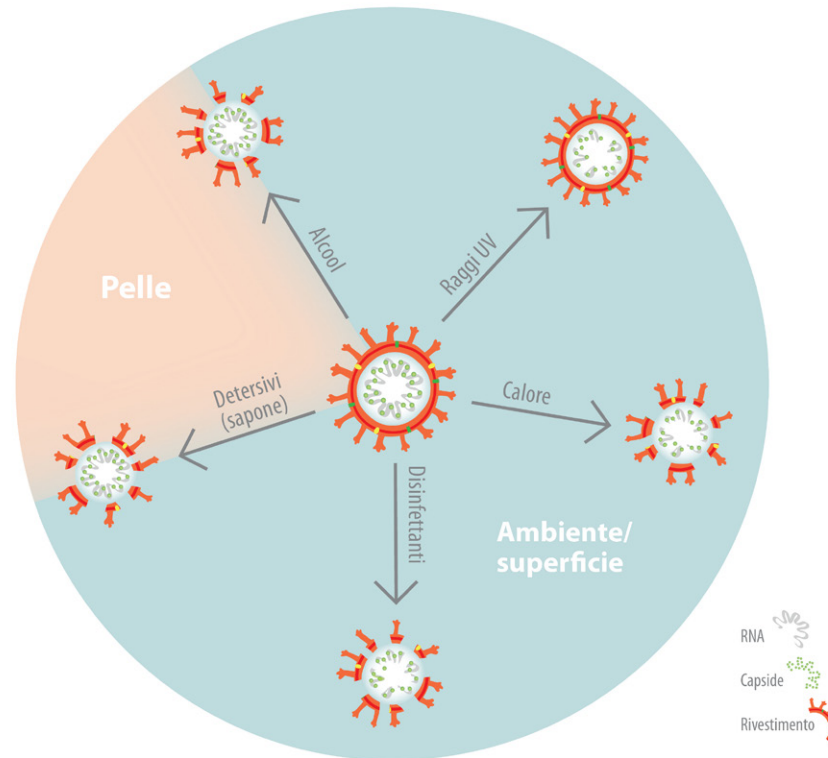


Fig. 13 - Metodi ed efficacia della inattivazione dei virus. Adattato da Pfaender et al. 2015⁶³.



Quali sono le raccomandazioni dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) per prevenire il contagio della COVID-19 da persona a persona?

- 1 - Limitare il contatto ravvicinato tra le persone infette e le altre;
- 2 - Assicurare una distanza fisica di almeno 1 metro tra persone che non appartengono alla stessa famiglia, sul posto di lavoro e negli spazi pubblici;
- 3 - Indossare una mascherina quando il distanziamento sociale non può essere garantito;
- 4 - Identificare rapidamente le persone infette, provvedere al loro isolamento e, se necessario, il loro trattamento. Mettere in isolamento tutti i loro recenti contatti ravvicinati;
- 5 - Sanificare e disinfettare frequentemente le mani (misure che riducono la carica microbica sulle mani e inattivano direttamente il virus);
- 6 - Evitare luoghi affollati e spazi chiusi o confinati con scarsa ventilazione;
- 7 - Assicurare una buona ventilazione negli ambienti interni, comprese le case e gli uffici;
- 8 - Rimanere a casa quando ci si sente male e contattare il proprio medico il più presto possibile per determinare se sono necessarie cure mediche;
- 9 - Nei paesi o nelle aree in cui circola la COVID-19, il personale sanitario dovrebbe indossare sempre mascherine adeguate durante tutte le attività di routine nelle aree cliniche delle strutture sanitarie;
- 10 - Il personale sanitario deve inoltre utilizzare dispositivi di protezione personale e ulteriori precauzioni quando si occupa di pazienti con COVID-19;
- 11 - I luoghi di lavoro devono rispettare le misure di protezione vigenti.

Qual è l'importanza della disinfezione delle mani nella prevenzione della COVID-19?

Il contagio da SARS-CoV-2 avviene per inalazione e ingestione di particelle virali. Tuttavia, anche la congiuntiva oculare è una via d'accesso al contagio da parte di questo virus. Anche quando si indossa una mascherina, se le nostre mani toccano un oggetto contaminato e poi la bocca o gli occhi¹⁸, si favorisce il contatto tra il virus e le mucose, cosa che può provocare il contagio.

Perché bisogna usare sapone e alcol al 70% per disinfettare le mani?

Lavarsi le mani con il sapone è il metodo meccanico più efficace per eliminare la maggior parte dei microrganismi presenti sulla pelle. L'uso di alcol al 70% (7 parti di alcol e 3 parti di acqua) assicura l'inattivazione di uno spettro più ampio di microrganismi, compresi i virus incapsulati come SARS-CoV-2. È importante ricordare che le mani devono essere accuratamente lavate se visibilmente sporche prima di usare la soluzione alcolica perché l'eccesso di sporco (materia organica) riduce l'azione antimicrobica dei composti alcolici. Il sapone e l'alcol dissolvono e quindi intaccano i lipidi dell'involucro virale, impedendo così al virus di legarsi ai recettori della cellula ospite e di provocare l'infezione.

Perché l'alcol al 70% è più efficace dell'alcol puro?

La proprietà disinfettante dell'alcol diluito in acqua al 50-80% è superiore a quella dell'alcol non diluito. L'alcol denatura le proteine e dissolve i grassi di batteri, funghi e alcuni virus. Tuttavia, quando viene applicato puro, l'alcol denatura rapidamente solo gli strati più esterni, incapsulando e proteggendo il loro interno, permettendo la sopravvivenza. Affinché l'alcol sia più efficace nel penetrare più in profondità nei microrganismi, deve essere diluito con acqua che funge da veicolo in modo che possa avvenire un contatto più intimo tra le molecole.

Perché si dovrebbe usare la candeggina diluita nella disinfezione delle superfici?

La candeggina diluita in acqua (da 0,5% a 1%) è più efficace per distruggere i microrganismi. Peraltro, la candeggina ad alte concentrazioni è irritante per le membrane mucose (occhi, naso, bocca), la pelle e le vie respiratorie. Non diluita, la candeggina si decompone con il calore e la luce, e reagisce rapidamente con altre sostanze chimiche, quindi dovrebbe essere usata nella disinfezione delle superfici con grande attenzione e sempre diluita.

L'uso delle mascherine è efficace per prevenire la diffusione?

La mascherina è una barriera essenziale per limitare il contagio e deve essere usata insieme ad altre misure per prevenire la diffusione del virus. Indossare una mascherina permette essenzialmente di proteggere le altre persone ed è, quindi, un gesto di rispetto e di consapevolezza sociale. Le mascherine sono barriere fisiche ed elettrostatiche che bloccano le goccioline (droplets) emesse dalla bocca e dal naso, che possono contenere coronavirus infettivi. La mascherina contribuisce a ridurre la diffusione delle particelle del coronavirus SARS-CoV-2 nell'atmosfera, rilasciate dalle persone infette (anche asintomatiche)¹⁹, e quindi è particolarmente importante per ridurre la carica virale ambientale. La mascherina protegge anche chi la usa, poiché filtra l'aria che respiriamo e così facendo riduce la dose contagiosa (cioè la concentrazione di virus che può infettarci) che a sua volta riduce anche la gravità dell'infezione. Va notato che la mascherina non garantisce una protezione ulteriore contro il rischio di trasmissione indiretta attraverso le mani.

La composizione della mascherina e la sua tenuta sono fattori molto importanti che ne influenzano l'efficacia. L'uso di mascherine di stoffa (fatte a mano, lavabili) e di mascherine chirurgiche (monouso) riduce significativamente l'emissione di goccioline e aerosol da parte di chi le indossa, conferendo così un certo grado di protezione alle persone circostanti e contribuendo a un'efficace riduzione della carica virale. Tuttavia, né le mascherine di stoffa né le mascherine chirurgiche filtrano efficacemente gli aerosol dall'aria che circonda chi le indossa. Solo le mascherine o i respiratori di categoria N95 /FFP2 hanno la capacità di filtrare circa il 95% degli aerosol ambientali (proteggendo sia chi le indossa che chi le circonda) e sono consigliate al personale sanitario che lavora in ambienti con alte cariche virali o a chi lavora in ambienti con alta occupazione e scarsa aerazione.



L'uso dei guanti è uno strumento importante nella prevenzione della trasmissione?

Anche se il virus SARS-CoV-2 non è in grado di infettare per via transdermica, le mani trasportano frequentemente i virus alle vie d'accesso, tra cui le mucose della bocca, del naso e degli occhi. Lavando e disinfettando frequentemente le mani, riduciamo significativamente la probabilità di infezione quando ci tocchiamo inconsapevolmente la bocca, il naso o gli occhi. Anche se i guanti possono proteggere efficacemente le mani, la loro superficie esterna può comunque contaminarsi e veicolare il virus, proprio come le mani nude. L'uso dei guanti può, quindi, fornire un falso senso di sicurezza.

Quali altre misure sono raccomandate per impedire la trasmissione del virus?

L'uso delle mascherine, da solo, non è sufficiente a prevenire la diffusione del virus. Altre misure che ne riducono efficacemente la trasmissione sono il rispetto della distanza fisica, il lavaggio delle mani e la disinfezione delle superfici. Inoltre, quando starnutiamo, anche quando usiamo una mascherina, dovremmo farlo nel gomito e poi disinfettarci le mani.

Come è possibile controllare l'infezione con la vaccinazione?

La vaccinazione contro il virus SARS-CoV-2 ha dimostrato di ridurre significativamente la gravità della malattia. Le persone immunizzate possono ancora infettarsi, ma a differenza di quelle non immunizzate, svilupperanno rapidamente anticorpi specifici che neutralizzano il virus, controllando ed eliminando così l'infezione. Se i vaccini riducono significativamente la capacità di trasmissione del virus, la catena dell'infezione verrà interrotta, con una conseguente riduzione del numero di virus in circolazione. La periodicità delle vaccinazioni dipenderà dalla durata del tempo in cui il vaccino è in grado di conferire immunità.

Qual è la cura per la COVID-19?

Non ci sono ancora terapie licenziate per la COVID-19. Il trattamento di supporto è finalizzato al sollievo sintomatico e comprende antipiretici, analgesici, farmaci antinfiammatori e, se necessario, l'integrazione di ossigeno. Il Remdesivir è attualmente l'antivirale più usato e sembra ridurre il tempo di recupero nei e nelle pazienti con infezione del tratto respiratorio inferiore da 15 a 10 giorni²⁰ mentre la terapia immunomodulante viene usata nei casi più gravi.

Come per altri coronavirus, trattamenti termici e radiazioni ultraviolette (UV) –da applicare su oggetti e superfici inanimate– inducono danni irreversibili all'RNA virale, provocando cambiamenti strutturali nelle proteine virali e compromettendo così la replicazione del virus. SARS-CoV-2 può sopravvivere a una gamma di temperature che va da meno di 0°C a poco meno di 60°C, temperatura ritenuta essere quella di inattivazione⁴⁶. Senza il proprio involucro, i coronavirus non sono infettivi perché non possono entrare nelle cellule dell'ospite per iniziare il proprio ciclo di replicazione. Per questo, l'igiene delle mani con solventi lipidici come detersivi o soluzioni alcoliche al 70% e la disinfezione con prodotti contenenti cloro, acido peracetico e cloroformio di tutte le superfici che sono state toccate sono misure efficaci per contenere il contagio.

Gli sforzi per contenere le pandemie mediante il ricorso a misure di bio-sicurezza sono risultati essere inadeguati per le difficoltà di accettazione e messa in atto da parte dei cittadini. Il ritorno alla normalità sociale ed economica si basa invece sulla riuscita della campagna vaccinale per prevenire la malattia (in particolare la forma grave) e contrastare la diffusione del virus. Lo sviluppo di immunità con la vaccinazione riduce il rischio di ammalarsi e di soffrire dei postumi a lungo termine. L'immunità protegge anche le altre persone, poiché una persona vaccinata che contrae il virus ha meno probabilità di trasmetterlo. La vaccinazione è quindi particolarmente importante per proteggere le persone a maggior rischio di patologie gravi da COVID-19, come le persone anziane e quelle con problemi medici concomitanti (co-morbilità).

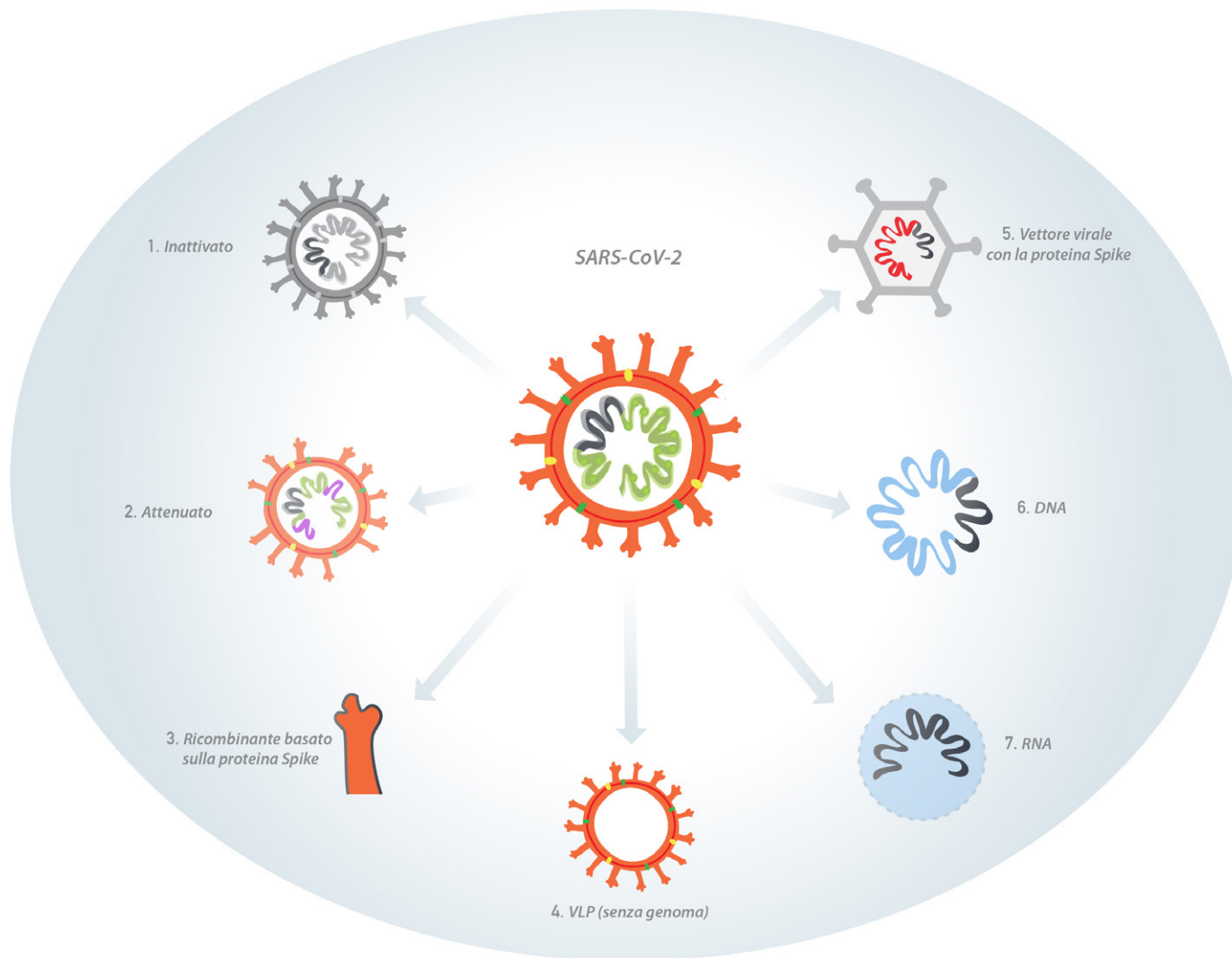


Fig. 14 -Raffigurazione schematica dei tipi di vaccini attualmente disponibili contro la COVID-19. Al centro della figura è rappresentata una entità virale (virione) di SARS-CoV-2, attornata dai tipi di vaccini ottenuti da SARS-CoV-2 o da suoi componenti: 1. Vaccini inattivati (virus morto); 2. Vaccini vivi attenuati (virus a bassa patogenicità); 3. Vaccini ricombinanti (basati sulla proteina S o il dominio di legame al recettore della proteina S); 4. Vaccini basati su «particelle virus-simili» (Virus Like Protein, VLP), che «consistono nel capsido vuoto»; 5. Vaccini vettoriali (a vettore virale) che esprimono la proteina S; 6. Vaccini a DNA che esprimono la proteina S; 7. Vaccini a RNA messaggero (RNA che codifica per la proteina S inserito in una nanoparticella lipidica). Adattato da Krammer, 2020⁴⁹.

3.3.2. Vaccini

A livello mondiale sono stati sviluppati più di 180 candidati vaccini contro il virus SARS-CoV-2. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) gestisce un dossier di lavoro che include la maggior parte dei vaccini in fase di sviluppo⁴⁸. Le strategie sviluppate per i vaccini contro il virus SARS-CoV-2 possono essere distinte in «tradizionali» (che comprendono i vaccini inattivati o a virus vivi attenuati), «vaccini a proteine ricombinanti», «vaccini vettoriali», «vaccini a DNA» e «vaccini a RNA» (Figura 14).

I vaccini inattivati vengono prodotti moltiplicando il virus SARS-CoV-2 nelle cellule VERO o in altre linee cellulari in laboratori con livello di biosicurezza 3 (BSL-3), cui segue l'inattivazione chimica del virus, ad esempio con il betapropriolattone (un composto organico denaturante)^{50,51}. Poiché nel vaccino è presente l'intero virus, vengono sviluppate risposte immunitarie contro tutte le proteine strutturali (non solo la proteina S ma anche le proteine M, N ed E). Questi vaccini vengono solitamente somministrati per via intramuscolare e possono contenere coadiuvanti come l'idrossido di alluminio. Esempi di vaccini inattivati per COVID-19 sono il BBIBP-CorV (sviuppato da Sinopharm), il CoronaVac (sviuppato da SinoVac) e il Covaxin (sviuppato da Bharat Biotech).

I vaccini vivi attenuati impiegano una forma viva e più debole del virus, che può replicarsi solo in misura contenuta, causando un'infezione ma non una patologia conclamata. Questo induce una risposta immunitaria simile a quella che si verificherebbe in caso di infezione naturale. L'attenuazione può essere ottenuta mediante adattamento del virus in condizioni sfavorevoli o mediante modificazioni genetiche^{48,52}. Questi vaccini possono essere somministrati per via intranasale, per indurre risposte immunitarie mucosali in grado di proteggere il tratto respiratorio superiore, la principale via d'ingresso naturale del virus SARS-CoV-2. Quando il virus si replica in una persona vaccinata, vengono indotte forti risposte umorali e cellulari contro le proteine virali strutturali e non strutturali (presenti solo quando avviene la replicazione virale). Riserve sulla sicurezza del vaccino sono uno degli svantaggi di questa tipologia di vaccino⁵³.

I vaccini a base di proteine ricombinanti sono realizzati a partire da proteine virali prodotte con processi biotecnologici. Si tratta principalmente della proteina S, situata nel dominio di legame del recettore del virus, o un insieme di proteine strutturali che si assemblano spontaneamente in una particella simile al virus (VLP) la cui struttura simula il virus naturale senza possedere materiale genetico all'interno e quindi senza capacità replicativa. Tutte queste proteine ricombinanti possono essere espresse in diversi sistemi tra cui cellule di mammiferi, lievito, piante o cellule di insetti⁵³⁻⁵⁵. Come i vaccini inattivati, questi vaccini vengono iniettati per via intramuscolare e non ci si aspetta che diano luogo a una forte immunità mucosale. Il vaccino NVX-CoV2373 (VLP, sviluppato da Novavax) è un vaccino a proteine ricombinanti contro la COVID-19. I vaccini vettoriali virali consistono in un virus (il vettore) che viene modificato per esprimere una specifica proteina/antigene del virus contro cui agisce il vaccino. Poiché i vettori virali possono infettare le cellule e far penetrare in modo molto efficace gli antigeni (nei vaccini SARS-CoV-2 la proteina S⁴⁸) al loro interno, essi scatenano una forte risposta immunitaria. La maggior parte di questi vaccini vengono somministrati per via intramuscolare.

Sono disponibili due tipi di vettori virali: i vettori virali senza capacità replicativa e quelli con capacità replicativa. Nei vettori virali senza capacità replicativa, il virus vettore, di solito un adenovirus (AdV), non è in grado di replicarsi e provocare patologie⁵⁶. Il vantaggio di questo approccio è che il processo di inattivazione rende tali vettori sicuri, anche in ospiti immunodepressi, poiché la replicazione virale viene impedita. Utilizzando vaccini vettoriali inattivati, la quantità di antigene da somministrare può essere standardizzata come nel caso dei vaccini proteici inattivati o ricombinanti. Esempi di vaccini vettoriali non replicativi contro COVID-19 sono Johnson & Johnson, Oxford-AstraZeneca e Sputnik V.

I vaccini vettoriali virali con capacità replicativa utilizzano vettori virali attenuati in grado di replicarsi. Poiché il vettore è in grado di replicarsi in una certa misura in una persona vaccinata, ci si aspetta un'immunità più robusta rispetto ai vaccini vettoriali inattivati, ricombinanti o non replicanti. Alcuni di questi vaccini possono anche essere somministrati attraverso le superfici delle mucose potendo innescare robuste risposte immunitarie mucosali. Attualmente sono utilizzati⁴⁵ il virus dell'influenza⁴⁸, il virus della rabbia⁴⁸, il virus della stomatite vescicolare (VSV)⁶⁰, il virus del vaccino e il virus della malattia di Newcastle (NDV)^{61,62}. Questi vaccini possono essere prodotti usando tecnologie simili a quelle impiegate per produrre i vaccini antinfluenzali⁵⁹.

Tra gli svantaggi c'è la possibilità di avere un'immunità preesistente al vettore⁵⁷ che può inattivare l'azione del vaccino prima che questo possa indurre la produzione di una entità virale (virione). Questa evenienza può essere aggirata, tuttavia, impiegando come vettori virus di animali⁵⁸ verso cui gli esseri umani non abbiano avuto contatto o immunità.

I vaccini a DNA si basano sul DNA plasmidico (molecole autoreplicanti più piccole dei cromosomi) che può essere prodotto su larga scala nei batteri. Questi plasmidi contengono dei promotori di espressione dei mammiferi e il gene S, che viene espresso nella persona vaccinata. I grandi vantaggi di questa tecnologia riguardano l'alto grado di stabilità del DNA plasmidico. Tuttavia, i vaccini a DNA spesso mostrano una bassa immunogenicità e richiedono sistemi di veicolazione per essere più efficienti.

I vaccini a RNA sono i vaccini di più recente concezione. Sono costituiti da una porzione di RNA virale che di solito viene veicolato tramite nanoparticelle lipidiche (LNP) data la labilità di queste molecole. Con questi vaccini, invece della proteina S stessa, viene fornita l'informazione genetica che codifica per l'antigene (la proteina S) sotto forma di mRNA (con alcune modifiche) o di RNA autoreplicante. La proteina S viene quindi espressa all'interno delle cellule dopo la vaccinazione. Con questa tecnologia il vaccino può essere totalmente prodotto in vitro. Tuttavia, è necessario conservarlo congelato. Inoltre, questi vaccini sono somministrati per iniezione e sono quindi poco adatti ad indurre una robusta immunità mucosale⁶³. Esempi di questi vaccini sono il BNT162b2 di Pfizer BioNTech e l'mRNA-1273 di Moderna.

4. CORONAVIRUS NEL MONDO

La maggior parte dei coronavirus animali (FCoV, CCoV e TGE) e umani (HCoV-229E, HCoV-HKU1, HCoV-NL63 and HCoV-OC43) sono stati trovati diffusi a livello mondiale.

Il primo focolaio segnalato da virus di SARS-CoV, l'agente causale della SARS negli esseri umani, è apparso tra il 2002 e il 2003. Circa 8.096 persone di 33 paesi furono colpite e ci furono 774 morti⁶⁵. Alcuni studi suggeriscono che i primi casi emersero nella provincia di Guangdong, dove il virus circolava già da circa due mesi prima di provocare una grande epidemia nella città di Guangzhou⁶⁶. Il contagio a livello internazionale è avvenuto più tardi, a partire dal 9° piano del Metropole Hotel di Hong Kong, dal contatto con un medico contagiato da SARS-CoV. Ospiti dello stesso piano furono contagiati e, tornati nei paesi d'origine in diversi continenti, provocarono rapidamente la diffusione del virus in tutto il mondo^{67,68}.

Il virus MERS-CoV è stato rilevato per la prima volta in un paziente nell'Arabia Saudita (Medio Oriente) nel 2012. Al 1° marzo 2020, l'Organizzazione Mondiale della Sanità aveva confermato la presenza di circa 2.553 casi e 856 morti⁶⁹. Benchè questo coronavirus (MERS-CoV) si sia diffuso in altre parti del mondo come Francia, Germania, Italia, Tunisia e Regno Unito da persone che avevano viaggiato o lavorato temporaneamente in Medio Oriente, la maggior parte dei casi originari e nuovi si sono verificati e continuano a comparire nella Penisola Arabica.

L'attuale pandemia di COVID-19 ha raggiunto 213 paesi e regioni, contagiando milioni di persone. La sua diffusione è notevolmente superiore a quella della SARS e della MERS. Il numero di persone infette al 10 dicembre 2020 era 68 milioni.



Qual è il tasso di mortalità associato alla malattia COVID-19?

Anche se la mortalità effettiva della COVID-19 non è nota con precisione, i dati attuali suggeriscono che il tasso di mortalità grezzo (il numero totale di decessi di persone residenti in una determinata area geografica [paese, stato, contea, ecc.] diviso per la popolazione totale della stessa area geografica -per un periodo specificato, di solito un anno solare- e moltiplicato per 100.000) è compreso tra il 3-4%, sebbene vari ampiamente tra paesi, da 0,1% e 25%²¹. Tuttavia, il tasso di mortalità effettivo può essere inferiore a causa dei casi che non vengono identificati o registrati. Il tasso di mortalità è influenzato dall'accesso e dalla qualità dell'assistenza sanitaria, dalla carica infettiva del virus e dalla virulenza dei ceppi.

Come si evolverà la pandemia?

Il futuro della pandemia è ancora sconosciuto e dipenderà dall'equilibrio tra la capacità del virus di evolversi e la risposta immunitaria delle popolazioni. Quest'ultima sarà acquisita naturalmente tramite l'infezione o artificialmente grazie a un vaccino. Il risultato di questa co-evoluzione è ancora sconosciuto, poiché la nostra immunità spingerà il virus ad evolversi.

5. E ORA?

I virus sono molto speciali. Innanzitutto, per la questione ancora controversa se siano o non siano da considerare esseri viventi. Benché dipendenti dalle cellule viventi in cui accedono attraverso recettori di superficie, essi si replicano in modo molto più efficiente rispetto a batteri, parassiti e funghi. Non appena la comunità scientifica ritiene di aver sviluppato strategie per far fronte alle sfide poste da un virus, una nuova mutazione o una rapida comparsa di un nuovo virus mettono in crisi quelle stesse strategie.

Nessun virus umano, animale o zoonotico è stato mai trattato ed è stato oggetto di attenzione da parte dei media internazionali come è avvenuto per il virus SARS-CoV-2. Questo nonostante i virus si siano evoluti parallelamente a noi plasmando persone e società, come i virus del vaiolo e dell'HIV e i virus influenzali stagionali che hanno avuto un impatto significativo fino ai nostri giorni. L'emergere del coronavirus della COVID-19 alla fine del 2019 ha rappresentato una sfida senza precedenti per i governi e i servizi sanitari di tutto il mondo nel saper far fronte a un virus sconosciuto e letale con un'alta capacità di diffusione.

La collaborazione internazionale e multi-istituzionale ha permesso il rapido sequenziamento del genoma del virus SARS-CoV-2. La condivisione di queste informazioni è stata essenziale per il rapido sviluppo di test diagnostici e vaccini basati su RNA o DNA. La raccolta e la pubblicazione internazionale di dati sanitari ed epidemiologici ha permesso di monitorare il numero di nuovi casi in tempo reale. Le informazioni condivise tra la stragrande maggioranza dei paesi colpiti includono le statistiche dei decessi e i dati dei vari studi, nonché l'impatto della regolamentazione dei viaggi attraverso i confini nazionali, l'imposizione delle quarantene e l'autoisolamento sulla riduzione dei tassi di trasmissione e diffusione della patologia.

La frequenza con cui l'informazione ampiamente disponibile viene aggiornata è senza precedenti. Ciò è facilitato dalla varietà e dallo sviluppo dell'attuale tecnologia. L'informazione aumenta la consapevolezza su come identificare la patologia nonché sulle pratiche e sui comportamenti che le persone devono adottare se sviluppano sintomi o se hanno avuto un contatto stretto con un individuo infetto.

Ad oltre un anno dai primi decessi da COVID-19 non esiste ancora un trattamento antivirale specifico associato. Le persone ammalate ricevono trattamenti sintomatici con antipiretici e analgesici. Nei casi più gravi, l'assistenza medica si concentra sul trattamento delle complicazioni da COVID-19, compresa la polmonite grave, la sindrome da stress respiratorio acuto e la sepsi. Quando la funzione respiratoria è compromessa, l'ossigenoterapia è la prima strategia d'azione. In caso di insufficienza respiratoria, può essere necessaria la ventilazione meccanica non invasiva e invasiva. I farmaci antinfiammatori corticosteroidi sembrano avere effetti positivi in questi casi, riducendo il tasso di mortalità del 35%⁷⁰. L'efficacia dell'uso di alcuni



Il Remdesivir è un precursore del nucleotide adenosina che, una volta all'interno delle cellule, viene metabolizzato a nucleoside trifosfato farmacologicamente attivo. Il trifosfato di Remdesivir agisce come un analogo dell'adenosina trifosfato che, potendo competere per l'incorporazione nella catena di RNA sintetizzata dalla R_pRd virale, induce la terminazione prematura della catena durante la replicazione dell'RNA virale. Sebbene i coronavirus abbiano un processo di correzione degli errori che riconosce e rimuove i nucleosidi analoghi durante la sintesi dell'RNA, con conseguente resistenza ai farmaci, il Remdesivir sembra non essere affetto da questo meccanismo¹⁷.

agenti antivirali come il remdesivir⁷¹, il lopinavir/ritonavir e l'arbidolo, e di farmaci con effetti immunomodulatori, come la cloroquina e l'idrossicloroquina, sono ancora in fase di valutazione.

È in corso promettente ricerca per scoprire nuovi bersagli su cui sviluppare farmaci. Un nuovo studio in Portogallo ha messo in luce come la ribonucleasi virale nsp14 possa essere un bersaglio promettente per la scoperta di nuovi farmaci inibitori in grado di interferire con la replicazione dei coronavirus e migliorare la prognosi dei casi gravi della patologia⁷².

Malgrado questa pandemia abbia colto il mondo di sorpresa, l'emergenza e la diffusione intercontinentale di un nuovo virus patogeno era stata prevista da tempo come anche era stata sollecitata la necessità di effettuare profondi cambiamenti nel modo in cui gli esseri umani interagiscono con il Pianeta. Infatti, le continue e insidiose intrusioni negli ecosistemi selvatici con la distruzione degli habitat selvatici, porteranno inevitabilmente all'emergere di altri nuovi organismi patogeni. Questo è una conseguenza della progressiva vicinanza a specie esotiche prima isolate, che fungono da serbatoi per questi patogeni, favorendone la trasmissione interspecifica. Inoltre, con i trasporti e il commercio internazionali, si favorisce la rapida diffusione di agenti patogeni emergenti, provocando epidemie e pandemie.

A distanza di molto tempo dalla segnalazione del primo presunto caso di COVID-19 nel novembre 2019, sussistono ancora molti dubbi su origine e futura evoluzione⁷³. Tuttavia, è confortante notare che i nuovi soggetti contagiati dal virus SARS-CoV-2 hanno attualmente maggiori probabilità di sopravvivere all'infezione rispetto a quelli contagiati all'inizio del 2020. Da allora sono stati chiariti molti dubbi sul miglior trattamento ospedaliero e sulle misure di prevenzione del contagio. Pertanto è essenziale attenersi alle precauzioni e ai pareri indicati dall'OMS che si basano su conoscenze scientifiche comprovate, in particolare l'uso di mascherine, il lavaggio frequente delle mani e il distanziamento fisico tra le persone, soprattutto rispetto a quelle con contagio sospetto o accertato. Queste misure di prevenzione del contagio limitano la trasmissione di tutti gli agenti infettivi respiratori, come avviene per gli altri coronavirus respiratori menzionati sopra e il virus dell'influenza.

L'accesso a un'informazione aggiornata e diffusa in modo chiaro e comprensibile è essenziale per produrre una conoscenza corretta e un adeguamento consapevole dei comportamenti, con l'obiettivo finale di spezzare le catene dell'infezione e proteggere le persone più vulnerabili.



Il virus SARS-CoV-2 potrebbe essere stato creato in laboratorio?

L'idea che il coronavirus sia stato creato in un laboratorio in Cina, da dove è fuggito per mancanza di condizioni di biosicurezza o per negligenza, è emersa come una teoria del complotto che ha destabilizzato l'opinione pubblica. La maggioranza della comunità scientifica concorda che questo virus abbia avuto origine da una specie animale, probabilmente un pipistrello e si sia poi evoluto naturalmente in una specie intermedia o addirittura negli esseri umani. Ciò è supportato dalla storia evolutiva del virus e dalla comprensione dell'ecologia delle specie serbatoio²². Il genoma del SARS-CoV-2 è molto simile a quello di altri coronavirus dei pipistrelli e dei coronavirus dei pangolini. Condividono tutti la medesima organizzazione/struttura genomica, ma le loro differenze rivelano le loro divergenze prodotte durante il percorso naturale evolutivo²³.

L'analisi del suo materiale genetico ha fornito la prova che SARS-CoV-2 ha un'origine zoonotica naturale. Ha dimostrato che la «spina dorsale» del genoma di SARS-CoV-2 è inedita e non corrisponde a quella di un coronavirus preesistente, che sarebbe stato usato come modello genetico per la sua costruzione artificiale. Inoltre, non ci sono elementi genetici palesemente inseriti o rimossi che sarebbero fortemente probabili se invece SARS-CoV-2 fosse stato manipolato geneticamente.

6. GLOSSARIO

ACE2 - Enzima di conversione dell'angiotensina 2. Proteina enzimatica sulla superficie di molte cellule umane coinvolta nel controllo della pressione sanguigna catalizzando l'idrolisi dell'angiotensina II (un peptide vasocostrittore) in angiotensina (Ang 1-7) (un vasodilatatore). Alcuni coronavirus lo riconoscono e lo usano come recettore per infettare le cellule umane.

Acido nucleico - Molecola che immagazzina informazioni genetiche, coinvolta in varie fasi dell'espressione genica. È costituito da nucleotidi e può essere di due tipi: DNA o RNA.

Anticorpo - Proteina prodotta dai linfociti B che riconosce, aderisce e neutralizza le molecole estranee («non self») che rappresentano una potenziale minaccia per l'organismo.

Antigene – Molecola (di solito proteina o polisaccaride) estranea all'organismo che, una volta riconosciuta dalle cellule B del sistema immunitario dell'ospite, innesca una serie di meccanismi di difesa, tra cui lo sviluppo di anticorpi.

Antivirale - Farmaco per il trattamento delle infezioni virali.

COVID-19 – Malattia da coronavirus 2019. L'infezione provocata dal virus SARS-CoV-2.

Crescita esponenziale - Avviene quando un dato valore aumenta con un ritmo proporzionale alla sua dimensione attuale: man mano che il valore aumenta, aumenta anche il tasso di crescita. Quando si riferisce ad una patologia, significa che più individui infetti esistono nelle prime fasi di un'epidemia, più individui si infetteranno e più il numero di casi aumenterà.

CRISPR – Ripetizioni palindromiche brevi regolarmente intervallate. CRISPR/CAS9 è una tecnica di editing genomico (modificazione di un gene) mirato guidato dall'RNA che permette di effettuare knockout genici (silenzamento/inattivazione di un gene), inserzioni e delezioni in linee cellulari e negli animali.

DNA – Acido desossiribonucleico. Macromolecola che comprende i geni di tutte le cellule e forme di vita ad eccezione di alcuni virus, costituita dai nucleotidi A, T, G e C.

Dose infettiva - Quantità di microrganismi in grado di scatenare un'infezione.

ELISA – Saggio immunoenzimatico.

Enzima – Proteina con la funzione di catalizzare reazioni chimiche.

Evoluzione - Cambiamenti progressivi che si verificano nelle popolazioni nel corso delle generazioni.

Geni – Regioni del DNA che codificano per proteine.

Genoma - L'insieme dei geni che costituiscono il materiale genetico di un organismo vivente.

Infezione sub-clinica - Infezione senza sintomi (asintomatica)

Involucro virale - Strato esterno presente in alcuni virus, costituito da una membrana fosfolipidica, simile alla membrana plasmatica, modificata dall'aggiunta di proteine virali transmembrana.

LAMP - Loop-Mediated Isothermal Amplification. Tecnica di rilevamento degli acidi nucleici basata sull'amplificazione del DNA a bassa temperatura.

Malattia endemica - Malattia che colpisce gli esseri umani, presente in una determinata regione con una diffusione limitata e stabile (numero di casi); lo stesso della malattia enzootica negli animali.

Malattia enzootica o enzootia - Malattia animale presente in una determinata regione con una diffusione limitata e stabile (numero di casi); lo stesso della malattia endemica negli esseri umani.

Malattia epidemica – Malattia a rapida diffusione che contagia un grande numero di persone in un determinato territorio e che termina dopo un certo lasso di tempo o che diventa endemica; negli animali è indicata come malattia epizootica o epizootia

Malattia pandemica - Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità è «un'epidemia che si verifica a livello mondiale, o in un'area molto vasta, superando i confini internazionali e colpendo di norma un gran numero di persone»; negli animali è indicata come malattia panzootica o panzootia.

Malattia zoonotica – Malattia che si trasmette dagli animali agli esseri umani.

Microarray – Chip a DNA costituito da una serie di «spot» (gocce microscopiche) di DNA (sequenze specifiche di DNA dette sonde) applicate su una superficie solida che vengono utilizzate per misurare i livelli di espressione di un gran numero di geni o per genotipizzare regioni multiple di un genoma. L'ibridazione sonda-bersaglio viene rilevata e quantificata per determinare la quantità relativa delle sequenze di acido nucleico in un campione.

Mutazione - Alterazione nella sequenza nucleotidica del DNA o dell'RNA che può comportare la sostituzione, l'inserimento o la delezione (eliminazione) di nucleotidi.

Patogeno – Microorganismo in grado di provocare patologie.

Patogenico – che causa lesioni o malattie.

PCR – Reazione a catena della polimerasi. Consente di sintetizzare copie multiple di una regione del genoma utilizzando una polimerasi termoresistente.

Polimerasi – Enzima che sintetizza molecole di acidi nucleici (polimeri).

Proteina transmembrana - Proteina di membrana intrinseca che la attraversa da parte a parte.

Proteine - Molecole essenziali per tutti i sistemi viventi. Hanno numerose funzioni quali costituire strutture (proteine strutturali), controllare reazioni chimiche (catalizzatori o enzimi), inviare e ricevere messaggi. Come in un rosario, sono essenzialmente costituite da lunghe catene di molecole più semplici (gli aminoacidi) che si ripiegano in strutture secondarie e terziarie, tridimensionali, più complesse. Esistono 20 aminoacidi principali e la loro sequenza in una proteina è codificata dai geni.

Ribosoma – Organello cellulare presente in tutte le cellule viventi che traduce in proteine le istruzioni contenute nei geni.

Ricombinazione - Modificazione della sequenza del DNA o dell'RNA tramite lo scambio di sequenze tra molecole.

RdRp - RNA polimerasi RNA-dipendente. Enzima virale che permette la sintesi di una catena di RNA utilizzando una catena di RNA come stampo.

RNA – Acido Ribonucleico.

Serbatoio ("Reservoir") - Specie animale, suscettibile di infezione, in cui un virus si replica senza causare patologie. L'ospite serbatoio agisce come una riserva di virus per il contagio di altri ospiti.

Tassonomia – Disciplina che riguarda l'organizzazione e la classificazione degli organismi viventi.

Virulenza – Capacità di invadere e colonizzare nuove nicchie, ossia infezione di un ospite. Grado di patogenicità di un organismo.

7. BIBLIOGRAFIA (testo principale)

1. Wertheim JO, Chu DKW, Peiris JSM, Pond SLK, Poon LLM. A Case for the Ancient Origin of Coronaviruses. *Journal of Virology*. 2013;87(12):7039-7045. doi:10.1128/JVI.03273-12
2. An Apparently New Respiratory Disease of Baby Chicks. Published 1931. Accessed April 15, 2021. <https://www.cabi.org/isc/abstract/19312200297>
3. Tyrrell DA, Almeida JD. Direct electron-microscopy of organ culture for the detection and characterization of viruses. *Arch Gesamte Virusforsch*. 1967;22(3):417-425. doi:10.1007/BF01242962
4. Almeida J, Berry D, Cunningham C, et al. Virology: Coronaviruses. *Nature*. 1968;220(5168):650-650. doi:10.1038/220650b0
5. Tyrrell DAJ, Almeida JD, Cunningham CH, et al. Coronaviridae. *Intervirology*. 1975;5(1-2):76-82. doi:10.1159/000149883
6. Burrell CJ, Howard CR, Murphy FA. Coronaviruses. In: Fenner and White's Medical Virology. Elsevier; 2017:437-446. doi:10.1016/B978-0-12-375156-0.00031-X
7. Spaan W, Cavanagh D, Horzinek MC. Coronaviruses: structure and genome expression. *J Gen Virol*. 1988;69 (Pt 12):2939-2952. doi:10.1099/0022-1317-69-12-2939
8. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol Biol*. 2015;1282:1-23. doi:10.1007/978-1-4939-2438-7_1
9. Banner LR, Mc Lai M. Random nature of coronavirus RNA recombination in the absence of selection pressure. *Virology*. 1991;185(1):441-445. doi:10.1016/0042-6822(91)90795-D
10. Fenner's Veterinary Virology - 5th Edition. Accessed October 1, 2020. <https://www.elsevier.com/books/fenners-veterinary-virology/maclachlan/978-0-12-800946-8>
11. Lam TT-Y, Jia N, Zhang Y-W, et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*. 2020;583(7815):282-285. doi:10.1038/s41586-020-2169-0
12. Decaro N, Lorusso A. Novel human coronavirus (SARS-CoV-2): A lesson from animal coronaviruses. *Veterinary Microbiology*. 2020;244:108693. doi:10.1016/j.vetmic.2020.108693
13. Maclachlan NJ, Dubovi EJ. Fenner's Veterinary Virology - 5th Edition. Accessed October 1, 2020. <https://www.elsevier.com/books/fenners-veterinary-virology/maclachlan/978-0-12-800946-8>
14. Kipar A, Meli ML. Feline Infectious Peritonitis. *Veterinary Pathology*. 2014;51(2):22.
15. Vijgen L, Keyaerts E, Moës E, et al. Complete genomic sequence of human coronavirus OC43: molecular clock analysis suggests a relatively recent zoonotic coronavirus transmission event. *J Virol*. 2005;79(3):1595-1604. doi:10.1128/JVI.79.3.1595-1604.2005
16. Saif L, Sestak K. Transmissible gastroenteritis and porcine respiratory coronavirus. *Diseases of Swine*. Published online January 1, 2006:489-516.
17. Decaro N, Mari V, Campolo M, et al. Recombinant Canine Coronaviruses Related to Transmissible Gastroenteritis Virus of Swine Are Circulating in Dogs. *Journal of Virology*. 2009;83(3):1532-1537. doi:10.1128/JVI.01937-08
18. Guy JS. Turkey coronavirus is more closely related to avian infectious bronchitis virus than to mammalian coronaviruses: A review. *Avian Pathology*. 2000;29(3):207-212. doi:10.1080/03079450050045459
19. Woo PCY, Lau SKP, Lam CSF, et al. Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus Deltacoronavirus Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of Alphacoronavirus and Betacoronavirus and Avian Coronaviruses as the Gene Source of Gammacoronavirus and Deltacoronavirus. *Journal of Virology*. 2012;86(7):3995-4008. doi:10.1128/JVI.06540-11
20. Gaunt ER, Hardie A, Claas ECJ, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol*. 2010;48(8):2940-2947. doi:10.1128/JCM.00636-10
21. Pene F, Merlat A, Vabret A, et al. Coronavirus 229E-Related Pneumonia in Immunocompromised Patients. *Clinical Infectious Diseases*. 2003;37(7):929-932. doi:10.1086/377612
22. Woo PCY, Lau SKP, Chu C, et al. Characterization and Complete Genome Sequence of a Novel Coronavirus, Coronavirus HKU1, from Patients with Pneumonia. *J Virol*. 2005;79(2):884-895. doi:10.1128/JVI.79.2.884-895.2005
23. Vabret A, Mourez T, Gouarin S, Petitjean J, Freymuth F. An outbreak of coronavirus OC43 respiratory infection in Normandy, France. *Clin Infect Dis*. 2003;36(8):985-989. doi:10.1086/374222
24. Os coronavírus dos animais e do Homem: das infeções assintomáticas às síndromes respiratórias agudas. *Veterinaria Atual*. Published April 7, 2020. Accessed April 2, 2021. <https://www.veterinaria-atual.pt/destaques/os-coronavirus-dos-animais-e-do-homem-das-infecoes-assintomaticas-as-sindromes-respiratorias-agudas/>
25. Ferrari D, Sabetta E, Ceriotti D, et al. Routine blood analysis greatly reduces the false-negative rate of RT-PCR testing for Covid-19. *Acta Bio Medica Atenei Parmensis*. 2020;91(3):e2020003. doi:10.23750/abm.v91i3.9843
26. Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ*. 2020;371. doi:10.1136/bmj.m3862
27. Zheng S, Fan J, Yu F, et al. Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*. Published online April 21, 2020:m1443. doi:10.1136/bmj.m1443
28. Coronavirus Dashboard. Accessed October 1, 2020. <https://ncov2019.live/#%20africa>
29. Childhood Multisystem Inflammatory Syndrome — A New Challenge in the Pandemic | NEJM. Accessed April 3, 2021. <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMe2023158>
30. Grant MC, Geoghegan L, Arbyn M, et al. The prevalence of symptoms in 24,410 adults infected by the novel coronavirus (SARS-CoV-2; COVID-19): A systematic review and meta-analysis of 148 studies from 9 countries. Hirst JA, ed. *PLoS ONE*. 2020;15(6):e0234765. doi:10.1371/journal.pone.0234765
31. Mortality Risk of COVID-19 - Statistics and Research. Our World in Data. Accessed October 1, 2020. <https://ourworldindata.org/mortality-risk-covid>
32. Arora RK, Joseph A, Van Wyk J, et al. SeroTracker: a global SARS-CoV-2 seroprevalence dashboard. *The Lancet Infectious Diseases*. Published online August 4, 2020. doi:10.1016/S1473-3099(20)30631-9
33. Immune responses and immunity to SARS-CoV-2. European Centre for Disease Prevention and Control. Accessed October 12, 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/immune-responses>
34. GeurtsvanKessel CH, Okba NMA, Igloi Z, et al. An evaluation of COVID-19 serological assays informs future diagnostics and exposure assessment. *Nature Communications*. 2020;11(1):3436. doi:10.1038/s41467-020-17317-y
35. McCarthy KR, Rennick LJ, Nambulli S, et al. Recurrent Deletions in the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein Drive Antibody Escape. *Microbiology*; 2020. doi:10.1101/2020.11.19.389916
36. Kemp SA, Meng B, Ferriera IA, et al. Recurrent Emergence and Transmission of a SARS-CoV-2 Spike Deletion H69/V70. *Microbiology*; 2020. doi:10.1101/2020.12.14.422555
37. NERVTAG Note on B.1.1.7 Severity. Alliance for Pandemic Preparedness. Accessed March 30, 2021. <https://depts.washington.edu/pandemicalliance/2021/01/25/nervtag-note-on-b-1-1-7-severity/>

38. Investigation of novel SARS-CoV-2 variant: Variant of Concern 202012/01. :19.
39. Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, et al. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. medRxiv. Published online December 22, 2020:2020.12.21.20248640. doi:10.1101/2020.12.21.20248640
40. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants | bioRxiv. Accessed March 30, 2021. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.25.427948v1>
41. Genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in Manaus: preliminary findings - SARS-CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology. Virological. Published January 12, 2021. Accessed March 30, 2021. <https://virological.org/t/genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-manauas-preliminary-findings/586>
42. Spike E484K mutation in the first SARS-CoV-2 reinfection case confirmed in Brazil, 2020 - SARS-CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology. Virological. Published January 10, 2021. Accessed April 3, 2021. <https://virological.org/t/spike-e484k-mutation-in-the-first-sars-cov-2-reinfection-case-confirmed-in-brazil-2020/584>
43. SARS-CoV-2 reinfection by the new Variant of Concern (VOC) P.1 in Amazonas, Brazil - SARS-CoV-2 coronavirus / nCoV-2019 Genomic Epidemiology. Virological. Published January 18, 2021. Accessed April 3, 2021. <https://virological.org/t/sars-cov-2-reinfection-by-the-new-variant-of-concern-voc-p-1-in-amazonas-brazil/596>
44. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. JAMA. 2020;323(22):2249-2251. doi:10.1001/jama.2020.8259
45. Nussbaumer-Streit B, Mayr V, Dobrescu AI, et al. Quarantine alone or in combination with other public health measures to control COVID-19: a rapid review. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2020;(9). doi:10.1002/14651858.CD013574.pub2
46. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. Virology Journal. 2019;16(1):69. doi:10.1186/s12985-019-1182-0
47. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants | bioRxiv. Accessed April 2, 2021. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.25.427948v1>
48. Draft landscape and tracker of COVID-19 candidate vaccines. Accessed April 2, 2021. <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>
49. Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. Nature. 2020 Oct;586(7830):516-527. doi: 10.1038/s41586-020-2798-3. Epub 2020 Sep 23.
50. Wang H, Zhang Y, Huang B, et al. Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CoV, with Potent Protection against SARS-CoV-2. Cell. 2020;182(3):713-721.e9. doi:10.1016/j.cell.2020.06.008
51. Gao Q, Bao L, Mao H, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. Science. 2020;369(6499):77-81. doi:10.1126/science.abc1932
52. Talon J, Salvatore M, O'Neill RE, et al. Influenza A and B viruses expressing altered NS1 proteins: A vaccine approach. PNAS. 2000;97(8):4309-4314. doi:10.1073/pnas.070525997
53. Broadbent AJ, Santos CP, Anafu A, Wimmer E, Mueller S, Subbarao K. Evaluation of the attenuation, immunogenicity, and efficacy of a live virus vaccine generated by codon-pair bias de-optimization of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus, in ferrets. Vaccine. 2016;34(4):563-570. doi:10.1016/j.vaccine.2015.11.054
54. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmeier S, et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. Nature Medicine. 2020;26(7):1033-1036. doi:10.1038/s41591-020-0913-5
55. Chen W-H, Tao X, Agrawal A, et al. Yeast-Expressed SARS-CoV Recombinant Receptor-Binding Domain (RBD219-N1) Formulated with Aluminum Hydroxide Induces Protective Immunity and Reduces Immune Enhancement. bioRxiv. Published online July 5, 2020. doi:10.1101/2020.05.15.098079
56. Zhu F-C, Li Y-H, Guan X-H, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. The Lancet. 2020;395(10240):1845-1854. doi:10.1016/S0140-6736(20)31208-3
57. Zhu F-C, Guan X-H, Li Y-H, et al. Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. The Lancet. 2020;396(10249):479-488. doi:10.1016/S0140-6736(20)31605-6
58. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. The Lancet. 2020;396(10249):467-478. doi:10.1016/S0140-6736(20)31604-4
59. Sun W, McCroskery S, Liu W-C, et al. A Newcastle Disease Virus (NDV) Expressing a Membrane-Anchored Spike as a Cost-Effective Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine. Vaccines (Basel). 2020;8(4). doi:10.3390/vaccines8040771
60. Case JB, Rothlauf PW, Chen RE, et al. Replication-Competent Vesicular Stomatitis Virus Vaccine Vector Protects against SARS-CoV-2-Mediated Pathogenesis in Mice. Cell Host Microbe. 2020;28(3):465-474. e4. doi:10.1016/j.chom.2020.07.018
61. Sun W, Leist SR, McCroskery S, et al. Newcastle Disease Virus (NDV) Expressing the Spike Protein of SARS-CoV-2 as Vaccine Candidate. Microbiology; 2020. doi:10.1101/2020.07.26.221861
62. Rohaim MA, Munir M. A Scalable Topical Vectored Vaccine Candidate against SARS-CoV-2. Vaccines. 2020;8(3):472. doi:10.3390/vaccines8030472
63. Vogel AB, Lambert L, Kinnear E, et al. Self-Amplifying RNA Vaccines Give Equivalent Protection against Influenza to mRNA Vaccines but at Much Lower Doses. Molecular Therapy. 2018;26(2):446-455. doi:10.1016/j.ymthe.2017.11.017
64. Pfaender S, Brinkmann J, Todt D, et al. Mechanisms of Methods for Hepatitis C Virus Inactivation. Griffiths MW, ed. Appl Environ Microbiol. 2015;81(5):1616. doi:10.1128/AEM.03580-14
65. WHO | Update 95 - SARS: Chronology of a serial killer. WHO. Accessed April 2, 2021. https://www.who.int/csr/don/2003_07_04/en/
66. Xu R-H, He J-F, Evans MR, et al. Epidemiologic Clues to SARS Origin in China. Emerg Infect Dis. 2004;10(6):1030-1037. doi:10.3201/eid1006.030852
67. RECOVERY Trial. Accessed April 2, 2021. https://www.recoverytrial.net/%20les/recovery_dexamethasone_statement_160620_v2%20nal.pdf
68. Threats I of M (US) F on M, Knobler S, Mahmoud A, et al. OVERVIEW OF THE SARS EPIDEMIC. National Academies Press (US); 2004. Accessed April 6, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92478/>
69. WHO | Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – Saudi Arabia. WHO. Accessed October 1, 2020. <http://www.who.int/csr/don/05-may-2020-mers-saudi-arabia/en/>
70. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. New England Journal of Medicine. 2020;0(0):null. doi:10.1056/NEJMoa2007764
71. Arba M, Wahyudi ST, Brunt DJ, Paradis N, Wu C. Mechanistic insight on the remdesivir binding to RNA-Dependent RNA polymerase (RdRp) of SARS-cov-2. Computers in Biology and Medicine. 2021;129:104156. doi:10.1016/j.combiomed.2020.104156
72. Saramago M, B arrica C, Costa VG, et al. New targets for drug design: Importance of nsp14/nsp10 complex formation for the 3'-5' exoribonucleolytic activity on SARS-CoV-2. FEBS J. Published online March 11, 2021. doi:10.1111/febs.15815
73. Anand KB, Karade S, Sen S, Gupta RM. SARS-CoV-2: Camazotz's Curse. Medical Journal Armed Forces India. 2020;76(2):136-141. doi:10.1016/j.mjafi.2020.04.008

Bibliografia

1. Bar-On YM, Flamholz A, Phillips R, Milo R. SARS-CoV-2 (COVID-19) by the numbers. *Elife*. Apr 2 2020;9doi:10.7554/eLife.57309
2. van Dorp L, Acman M, Richard D, et al. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Infect Genet Evol*. Sep 2020;83:104351. doi:10.1016/j.mee-gid.2020.104351
3. Wang LP, Wang J, Zhao HY, et al. Modelling and assessing the effects of medical resources on transmission of novel coronavirus (COVID-19) in Wuhan, China. *Math Biosci Eng*. Mar 30 2020;17(4):2936-2949. doi:10.3934/mbe.2020165
4. Adam D. THE LIMITS OF R. What the reproduction number can and can't tell us about managing COVID-19. *Feature. Nature*. 16th July 2020 2020;583:346-348.
5. Levin M. Childhood Multisystem Inflammatory Syndrome — A New Challenge in the Pandemic. *New England Journal of Medicine*. 2020/07/23 2020;383(4):393-395. doi:10.1056/NEJMe2023158
6. Pruc M, Smereka J, Dzieciatkowski T, Jaguszewski M, Filipiak KJ, Szarpak L. Kawasaki disease shock syndrome or toxic shock syndrome in children and the relationship with COVID-19. *Med Hypotheses*. Nov 2020;144:109986. doi:10.1016/j.mehy.2020.109986
7. Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Crooke SN, Poland GA, Kennedy RB. The role of host genetics in the immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 susceptibility and severity. *Immunol Rev*. Jul 2020;296(1):205-219. doi:10.1111/imr.12897
8. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med*. May 5 2020;172(9):577-582. doi:10.7326/m20-0504
9. Li H, Wang Y, Ji M, et al. Transmission Routes Analysis of SARS-CoV-2: A Systematic Review and Case Report. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:618-618. doi:10.3389/fcell.2020.00618
10. Widders A, Broom A, Broom J. SARS-CoV-2: The viral shedding vs infectivity dilemma. *Infect Dis Health*. Aug 2020;25(3):210-215. doi:10.1016/j.idh.2020.05.002
11. Sallam M, Mahafzah A. Molecular Analysis of SARS-CoV-2 Genetic Lineages in Jordan: Tracking the Introduction and Spread of COVID-19 UK Variant of Concern at a Country Level. *Pathogens*. Mar 5 2021;10(3)doi:10.3390/pathogens10030302
12. Mahase E. Covid-19: Novavax vaccine efficacy is 86% against UK variant and 60% against South African variant. *Bmj*. Feb 1 2021;372:n296. doi:10.1136/bmj.n296
13. Zhou D, Dejnirattisai W, Supasa P, et al. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell*. 2021:S0092-8674(21)00226-9. doi:10.1016/j.cell.2021.02.037
14. Ferrari D, Sabetta E, Ceriotti D, et al. Routine blood analysis greatly reduces the false-negative rate of RT-PCR testing for Covid-19. *Acta Biomed*. Sep 7 2020;91(3):e2020003. doi:10.23750/abm.v91i3.9843
15. Isho B, Abe KT, Zuo M, et al. Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. Oct 8 2020;5(52)doi:10.1126/sciimmunol.abe5511
16. Immune responses and immunity to SARS-CoV-2. European Centre for Disease Prevention and Control. Accessed October 12th, 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/immune-responses>
17. Callow KA, Parry HF, Sergeant M, Tyrrell DA. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol Infect*. Oct 1990;105(2):435-46. doi:10.1017/s0950268800048019
18. Lu CW, Liu XF, Jia ZF. 2019-nCoV transmission through the ocular surface must not be ignored. *Lancet*. Feb 22 2020;395(10224):e39. doi:10.1016/s0140-6736(20)30313-5
19. Ueki H, Furusawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, et al. Effectiveness of Face Masks in Preventing Airborne Transmission of SARS-CoV-2. *mSphere*. Oct 21 2020;5(5)doi:10.1128/mSphere.00637-20
20. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Final Report. *N Engl J Med*. Nov 5 2020;383(19):1813-1826. doi:10.1056/NEJMoa2007764
21. Estimating mortality from COVID-19. <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/estimating-mortality-from-covid-19>
22. Wacharapluesadee S, Tan CW, Maneeorn P, et al. Author Correction: Evidence for SARS-CoV-2 related coronaviruses circulating in bats and pangolins in Southeast Asia. *Nat Commun*. Feb 25 2021;12(1):1430. doi:10.1038/s41467-021-21768-2
23. Nakagawa S, Miyazawa T. Genome evolution of SARS-CoV-2 and its virological characteristics. *Inflamm Regen*. Aug 10 2020;40(1):17. doi:10.1186/s41232-020-00126-7

Bibliografia



1. Family - Coronaviridae. In: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ, eds. *Virus Taxonomy*. Elsevier; 2012:806-828.
2. Modrow S, Falke D, Truyen U, Schätzl H. Viruses with Single-Stranded, Positive-Sense RNA Genomes. In: Modrow S, Falke D, Truyen U, Schätzl H, eds. *Molecular Virology*. Springer Berlin Heidelberg; 2013:185-349.
3. Klumperman J, Locker JK, Meijer A, Horzinek MC, Geuze HJ, Rottier PJ. Coronavirus M proteins accumulate in the Golgi complex beyond the site of virion budding. *Journal of Virology*. 1994;68(10):6523.
4. Turoňová B, Sikora M, Schürmann C, et al. In situ structural analysis of SARS-CoV-2 spike reveals flexibility mediated by three hinges. *Science*. Oct 9 2020;370(6513):203-208. doi:10.1126/science.abd5223
5. Millet JK, Jaimes JA, Whittaker GR. Molecular diversity of coronavirus host cell entry receptors. *FEMS Microbiol Rev*. Oct 28 2020;doi:10.1093/femsre/fuaa057
6. Posthuma CC, Te Velthuis AJW, Snijder EJ. Nidovirus RNA polymerases: Complex enzymes handling exceptional RNA genomes. *Virus Res*. Apr 15 2017;234:58-73. doi:10.1016/j.virusres.2017.01.023
7. Snijder EJ, Decroly E, Ziebuhr J. The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. *Advances in virus research*. 2016;96:59-126. doi:10.1016/bs.aivir.2016.08.008
8. Lai MM, Cavanagh D. The molecular biology of coronaviruses. *Advances in virus research*. 1997;48:1-100. doi:10.1016/s0065-3527(08)60286-9
9. Liu Z, Xiao X, Wei X, et al. Composition and divergence of coronavirus spike proteins and host ACE2 receptors predict potential intermediate hosts of SARS-CoV-2. *J Med Virol*. Jun 2020;92(6):595-601. doi:10.1002/jmv.25726
10. Kipar A, Meli ML. Feline infectious peritonitis: still an enigma? *Veterinary pathology*. 2014;51(2):505-526. doi:10.1177/0300985814522077
11. Pedersen NC. An update on feline infectious peritonitis: virology and immunopathogenesis. *Vet J*. Aug 2014;201(2):123-32. doi:10.1016/j.tvjl.2014.04.017
12. Pairo-Castineira E, Clohisey S, Klaric L, et al. Genetic mechanisms of critical illness in COVID-19. *Nature*. Mar 2021;591(7848):92-98. doi:10.1038/s41586-020-03065-y
13. Chen LYC, Quach TTT. COVID-19 cytokine storm syndrome: a threshold concept. *The Lancet Microbe*. 2021/02/01/ 2021;2(2):e49-e50. doi:https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30223-8
14. Pedersen SF, Ho YC. SARS-CoV-2: a storm is raging. *J Clin Invest*. May 1 2020;130(5):2202-2205. doi:10.1172/jci137647
15. Pruc M, Smereka J, Dzieciatkowski T, Jaguszewski M, Filipiak KJ, Szarpak L. Kawasaki disease shock syndrome or toxic shock syndrome in children and the relationship with COVID-19. *Med Hypotheses*. Nov 2020;144:109986. doi:10.1016/j.mehy.2020.109986
16. Tomar N, De RK. A brief outline of the immune system. *Methods Mol Biol*. 2014;1184:3-12. doi:10.1007/978-1-4939-1115-8_1
17. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Final Report. *N Engl J Med*. Nov 5 2020;383(19):1813-1826. doi:10.1056/NEJMoa2007764

8. BIBLIOGRAFIA RACCOMANDATA

Brooks, George F., Janet S. Butel, Stephen A. Morse, Ernest Jawetz, Joseph Louis Melnick, e Edward Allen Adelberg. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 22. ed., intern. ed. A Lange Medical Book. New York: McGraw-Hill, 2001.

Cyranoski, David. «Profile of a Killer: The Complex Biology Powering the Coronavirus Pandemic». *Nature* 581, n. 7806 (Maggio de 2020): 22–26. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01315-7>.

Decaro, Nicola, Viviana Mari, Marco Campolo, Alessio Lorusso, Michele Camero, Gabriella Elia, Vito Martella, Paolo Cordioli, Luis Enjuanes, e Canio Buonavoglia. «Recombinant Canine Coronaviruses Related to Transmissible Gastroenteritis Virus of Swine Are Circulating in Dogs». *Journal of Virology* 83, n. 3 (1 de Fevereiro de 2009): 1532–37. <https://doi.org/10.1128/JVI.01937-08>.

«COVID-19 - Página Inicial». Acedido 1 de Outubro de 2020. <https://covid19.min-saude.pt/>.

Ferreira, Wanda F. Canas, e João Carlos Sousa. *Microbiologia*. Vol. 3. Lisboa: Lidel, 2002. ISBN 972-757-136-0

Groot, RJ de, SC Baker, R Baric, L Enjuanes, AE Gorbalenya, KV Holmes, S Perlman, L Poon, e PJM Rottier. «Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses: Family Coronaviridae», 2012.

Guy, James S. «Turkey Coronavirus Is More Closely Related to Avian Infectious Bronchitis Virus than to Mammalian Coronaviruses: A Review». *Avian Pathology* 29, n. 3 (Junho de 2000): 207–12. <https://doi.org/10.1080/03079450050045459>.

IHMT. «O que sabemos sobre a COVID-19 e como reorganizar os sistemas de saúde», 10 de Setembro de 2020. <https://www.ihmt.unl.pt/web-seminares-serie-1-o-que-sabemos-sobre-a-covid-19/>.

Kipar, A, e M L Meli. «Feline Infectious Peritonitis». *Veterinary Pathology* 51, n. 2 (2014): 505-26.

Khailany, Rozhgar A., Muhamad Safdar, e Mehmet Ozaslan. «Genomic Characterization of a Novel SARS-CoV-2». *Gene Reports* 19 (1 de Junho de 2020): 100682. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100682>.

Maclachlan, N. James, e Edward J Dubovi. «Fenner's Veterinary Virology - 5th Edition». Acedido 1 de Outubro de 2020. <https://www.elsevier.com/books/fenners-veterinary-virology/maclachlan/978-0-12-800946-8>.

Saif, L., e Karol Sestak. «Transmissible gastroenteritis and porcine respiratory coronavirus». *Diseases of Swine*, 1 de Janeiro de 2006, 489–516.

Sikkema, R. S., E. A. B. A. Farag, Mazharul Islam, Muzzamil Atta, C. B. E. M. Reusken, Mohd M. Al-Hajri, e M. P. G. Koopmans. «Global status of Middle East respiratory syndrome coronavirus in dromedary camels: a systematic review». *Epidemiology and Infection* 147 (21 de Fevereiro de 2019). <https://doi.org/10.1017/S095026881800345X>.

Vijgen, Leen, Els Keyaerts, Elien Moës, Inge Thoelen, Elke Wollants, Philippe Lemey, Anne-Mieke Vandamme, e Marc Van Ranst. «Complete Genomic Sequence of Human Coronavirus OC43: Molecular Clock Analysis Suggests a Relatively Recent Zoonotic Coronavirus Transmission Event». *Journal of Virology* 79, n. 3 (Fevereiro de 2005): 1595–1604. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.3.1595-1604.2005>.

Zimmer, Carl. «The Coronavirus Unveiled». *The New York Times*, 9 de Outubro de 2020, sec. Health. <https://www.nytimes.com/interactive/2020/health/coronavirus-unveiled.html>.

