

SARS-CoV-2: “Varianti come nuovi modelli per future varianti”



Il SARS-CoV-2 ha sviluppato varianti con sostituzioni nel dominio di legame del recettore Spike (RBD) che influiscono sulla sua affinità per il recettore ACE2 e sul riconoscimento da parte degli anticorpi.

Queste sostituzioni potrebbero anche plasmare l'evoluzione futura modulando gli effetti delle mutazioni in altri siti, un fenomeno chiamato EPISTASI. Per studiare questa possibilità, ricercatori del National Institutes of Health (USA) hanno eseguito scansioni mutazionali profonde per misurare gli effetti sul legame ACE2 di tutte le singole mutazioni di amminoacidi nelle varianti Wuhan-Hu-1, Alpha, Beta, Delta ed Eta. Alcune sostituzioni, in particolare N501Y, causano cambiamenti epistatici negli effetti delle mutazioni in altri siti. Questi cambiamenti epistatici modellano il successivo cambiamento evolutivo, ad esempio consentendo molte delle sostituzioni di fuga di anticorpi nell'RBD Omicron. Questi spostamenti epistatici si verificano nonostante l'elevata conservazione della struttura complessiva del RBD.

Il SARS-CoV-2 ha esplorato una serie diversificata di mutazioni durante la sua evoluzione negli esseri umani. I risultati di questo studio, appena pubblicato su Science, mostrano come questa evoluzione in corso stia plasmando di per

sé potenziali percorsi futuri di cambiamento, spostando gli effetti delle mutazioni chiave sulla affinità di legame del recettore.

Altri coronavirus umani si sono dimostrati abili nello sfuggire all'immunità anticorpale perché possono subire un ampio rimodellamento evolutivo della sequenza amminoacidica del loro dominio di legame ai recettori, pur mantenendo una elevata affinità recettoriale.

Questi risultati fanno luce sulle relazioni sequenza-funzione RBD e facilitano l'interpretazione dell'evoluzione SARS-CoV-2 in corso.

Incidenza dell'infezione da SARS-CoV-2



Riceviamo da Giovanni Ghirga e pubblichiamo: “Pubblicato pochi minuti fa dal CDC (USA). Precedenti studi hanno dimostrato che la COVID-19 sintomatica che richiedeva cure di emergenza e ospedalizzazione era rara nelle persone completamente vaccinate prima della diffusione diffusa della variante SARS-CoV-2 Delta.

L'incidenza tra le persone completamente vaccinate durante il periodo di predominanza Delta è stata di circa tre volte

inferiore a quella tra le persone non vaccinate in tutti i gruppi di sesso, razza, etnia e età valutati. Inoltre, le persone completamente vaccinate con infezione da SARS-CoV-2 avevano la metà delle probabilità di avere la necessità di una visita o un ricovero in pronto soccorso rispetto ai pazienti non vaccinati.

Tra quelli ospedalizzati, i pazienti vaccinati erano più anziani dei pazienti non vaccinati e una percentuale più elevata aveva almeno una condizione medica di base.

Il rischio grezzo di morte correlata alla COVID-19, nelle persone completamente vaccinate, era sette volte inferiore a quello tra i pazienti COVID-19 non vaccinati.

Questi risultati sono coerenti con un altro rapporto pubblicato di recente sull'incidenza della COVID-19 durante la circolazione Delta.

Risulta chiara la conferma del beneficio della vaccinazione e la sua importanza nel contrastare la pandemia da coronavirus-19.

Naleway AL, Groom HC, Crawford PM, et al. Incidenza dell'infezione da SARS-CoV-2, visite al pronto soccorso e ricoveri a causa di COVID-19 tra le persone di età ≥ 12 anni, in base allo stato di vaccinazione COVID-19 – Oregon e Washington, 4 luglio – 25 settembre 2021. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2021;70:1608–1612. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm7046a4>

UNITUS: Avviata una sperimentazione tra UNITUS e Centro Polispecialistico “Giovanni Paolo I” sul Sars-Cov-2



VITERBO – “I risultati preliminari ottenuti nella ricerca indicano che in alcuni casi, in cui non si rilevano anticorpi circolanti in sierologia, si può verificare una positività in un sistema cellulare, che sembrerebbe consentire un monitoraggio degli anticorpi specifici prodotti in vitro contro il virus”.

Così il professor Giuseppe Scapigliati del DIBAF esordisce comunicando una proficua collaborazione tra l’Ateneo viterbese e il Centro Polispecialistico Giovanni Paolo I. Una cooperazione scientifica ancor più significativa se si pensa che il Centro è stato creato da due ex studenti dell’UNITUS e ora punto di riferimento per la diagnostica.

Il test delle cellule, denominato Cell-ELISA, è basato sulla valutazione degli anticorpi direttamente dai linfociti della memoria e potrebbe divenire utile-prosegue il professor Scapigliati- per identificare quelle persone che hanno incontrato il virus, ma possono risultare negative al test

sierologico a causa di anticorpi circolanti non più rilevabili.

Una volta che i risultati preliminari pubblicati saranno estesi ad una casistica più ampia, il monitoraggio incrociato mediante l'utilizzo del test molecolare per il rilevamento del virus, del saggio sierologico classico e descritto Cell-ELISA, potrà essere di aiuto per valutare la durata nel tempo della memoria anticorpale per il virus SARS-CoV-2".

Il progetto avviato da UNITUS e dal Centro Polispecialistico, ha come obiettivo di valutare la presenza di anticorpi contro SARS-COV-2 e la relativa memoria immunologica delle cellule che li producono. Questo approccio potrebbe rappresentare un potenziamento delle analisi sierologiche classiche, infatti i risultati preliminari delle indagini, pubblicati nella rivista scientifica "Viruses", sono incoraggianti e stimolano a procedere per definirne la specificità e l'affidabilità in vista di una loro possibile applicazione nel campo diagnostico.

"Il fulcro e l'obiettivo della ricerca pubblicata sta nella valutazione della memoria immunologica verso SARS-COV-2 - spiega il dottor Gianpaolo Zarletti del "Giovanni Paolo I"- attraverso un test eseguito nel Centro Diagnostico abbiamo potuto osservare che i linfociti B stimolati in vitro con la proteina spike del SARS-CoV-2 hanno prodotto anticorpi anche in alcuni pazienti il cui siero era risultato negativo".

Del gruppo di ricerca, coordinato dal professor Giuseppe Scapigliati dell'Università della Tuscia, fanno parte i dottori Gianpaolo Zarletti, Massimo Tiberi e Veronica De Molfetta del Centro Polispecialistico Giovanni Paolo I, che, come detto, sono ex-studenti dell'Ateneo. La ricerca, approvata dal Comitato Etico dell'Ospedale Spallanzani di Roma, si avvale anche di collaborazioni con ricercatori esterni all'Ateneo della Tuscia per l'analisi dei dati clinici.

Accademia Kronos: alcuni scienziati hanno messo a punto un sistema per monitorare la presenza di Sars Cov-2 nelle acque reflue

Alcuni scienziati della Commissione Scientifica di Accademia Kronos hanno messo a punto un sistema per monitorare la presenza di SARS Cov-2 in campioni di acque reflue, dopo concentrazione per iper-filtrazione, estrazione del RNA e determinazione mediante R-PCR Real Time. Quindi attraverso l'analisi delle acque di scarico fognario è possibile:

- a) monitorare l'eventuale circolazione di SARS-CoV-2 nelle comunità a monte del depuratore, a carico di individui asintomatici e/o positivi a livello fecale, che andrebbe a integrare l'attuale sorveglianza clinica, attualmente limitata al Covid-19 nei pazienti con i sintomi.
- b) Segnalare l'accensione di nuovi focolai, come modalità di prevenzione.
- c) Possibile sequenziamento dell'RNA del virus al fine di evidenziare possibili mutazioni.

Il laboratorio di analisi, dotato di strumenti di ultima generazione anche per sequenziare il virus in oggetto, si trova a Roma in via dei Marsi, 48. Lo stesso laboratorio che più di venti anni fa denunciò nel viterbese l'alta percentuale di arsenico nelle acque potabili.

Il primo comune che ha aderito a questo progetto è Ronciglione(VT). Appena concluso l'esperimento, si potrà iniziare un controllo più sistematico non solo nei comuni del viterbese, ma in tutti quelli del Lazio.

Le amministrazioni pubbliche interessate possono già contattare sia il laboratorio che Accademia Kronos tramite email: info@aliman-2000.it; info@eziogagliardi.com; ak@accademiakronos.it

Ricerca di SARS CoV-2 attraverso la sorveglianza delle acque reflue

La pandemia globale causata dalla malattia COVID-19 è un'emergenza di interesse internazionale, ufficialmente dichiarata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità.

Sebbene le principali vie di trasmissione di SARS CoV-2 siano il contagio da persona a persona per via aerea e la trasmissione per contatto, i dati attualmente disponibili indicano che SARS Cov-2 è presente anche nelle acque reflue, suggerendo la possibilità di sfruttare tali acque come potenziali fonti per indagini epidemiologiche e di sorveglianza.

Il SARS CoV-2 oltre ad essere rilasciato nella saliva e nell'espettorato viene espulso attraverso urine e feci; per questo motivo è possibile ritrovarli nelle acque reflue (M. Kitajima et al., 2020).

Lo studio epidemiologico basato sulle acque reflue (Wastewater-based epidemiology (WBE)) è un importante strumento per tracciare la circolazione dei virus nelle comunità, consentendo di stimare la loro prevalenza e distribuzione geografica (Sinclair et al., 2008; Xagorarakis e O'Brien, 2020).

Il monitoraggio dei virus nelle acque reflue è già stato ampiamente utilizzato per il controllo della circolazione di

virus come ad esempio quello della polio.

Con quest'analisi è possibile monitorare l'epidemiologia delle infezioni virali anche in assenza di diagnosi cliniche. Pertanto una tale strategia può essere utilizzata come sistema di allarme rapido (Xagorarakis e O'Brien, 2020) per la determinazione di eventuali nuovi focolai di SARS-CoV-2 o come sistema di valutazione per verificare, in zone già colpite, se le misure di restrizione quali lockdown, isolamento sociale e allontanamento sono efficaci (M. Kitajima et al., 2020). Il monitoraggio delle acque reflue è stato già utilizzato durante l'epidemia di SARS-CoV in Cina nel 2003, e per localizzare le malattie virali in Israele, Egitto e Svezia. (<https://www.iflscience.com/health-and-medicine/high-levels-of-sarscov2-discovered-in-urbanwastewater-system/>).

I ricercatori dell'ASU Rolf Halden e Olga Hart hanno messo in evidenza i vantaggi economici del nuovo approccio rispetto alla diagnosi con tamponi, sottolineando come la dipendenza esclusiva dai test sugli individui sia lenta, costosa e poco pratica. Tuttavia, se preceduta da uno screening delle acque reflue, la ricerca del virus con tamponi diventa più efficiente e facilmente attuabile (Olga E. Hart et al., 2020). In diverse indagini effettuate nei Paesi Bassi, è stata trovata proporzionalità tra le persone risultate positive e la quantità di virus rilevata nelle acque reflue. Questi dati indicano che la sorveglianza delle acque reflue è uno strumento sensibile e realistico per monitorare la circolazione del virus nella popolazione.

Presenza di SARS CoV-2 negli escreti

In letteratura è riportato che la carica di SARS CoV-2 RNA può raggiungere: 10^8 copie per grammo di feci (Lescure et al., 2020; Pan et al., 2020; Wölfel et al., 2020), 10^7 copie/ml di diarrea e $2,5 \times 10^4$ copie/ml di urina (Hung et al., 2004). Nel 23% dei pazienti, il SARS-CoV-2 si trova nelle feci anche dopo la sua scomparsa dal tratto respiratorio (Xiao et al., 2020); tale dato viene ulteriormente confermato da uno studio, effettuato a Roma (Altamedica Center) ancora da pubblicare,

che dimostra che il SARS-CoV-2 rimane nelle feci nel 73% dei guariti e nel 40% dei casi il virus permane nelle feci fino a 40 giorni dopo.

Il virus è stato, inoltre rilevato, nelle feci di individui asintomatici (Tang et al., 2020) che secondo recenti rapporti sono tra il 17,9-30,8% degli individui infetti (Mizumoto et al., 2020) (M. Kitajima et al., 2020).

Prova della presenza di SARS CoV-2 nelle acque reflue

Studi sul rilevamento molecolare di SARS-CoV-2 nelle acque reflue nei Paesi Bassi, negli Stati Uniti, in Francia, in Australia ed in Italia (Ahmed et al., 2020; Lodder e de Roda Husman, 2020; Medema et al., 2020; Nemudryi et al., 2020; Wurtzer et al., 2020, G. la rosa et al., 2020) hanno riportato il rilevamento di SARS-CoV-2 nelle acque reflue non trattate con concentrazioni al massimo di 10^6 copie per litro.

Lo studio in Francia ha rilevato SARS CoV-2 anche nelle acque reflue trattate, con concentrazioni fino a quasi 10^5 copie per litro (Wurtzer et al., 2020). Le stime basate su dati europei e nordamericani suggeriscono che ogni persona infetta da SARS-CoV-2 elimina milioni, se non miliardi, di genomi virali nelle acque reflue al giorno. Ciò si traduce tra 0,15 e 141,5 milioni di genomi virali per litro di acque reflue generate. (Olga E. Hart et al., 2020)

Conclusioni

Il controllo delle acque di fognatura dei centri urbani può essere un ottimo strumento non invasivo ed a basso costo per rilevare precocemente la presenza di infezioni nella popolazione. Nella fase 2 la sorveglianza potrà essere utilizzata per monitorare in modo indiretto la circolazione del virus ed evidenziarne precocemente una sua eventuale ricomparsa, consentendo quindi di riconoscere e circoscrivere più rapidamente eventuali nuovi focolai epidemici.

Analisi

L'analisi prevede:

- il campionamento di 250ml di acque reflue.

- il trasporto refrigerato a 4°.
- la concentrazione del virus per iperfiltrazione con apposito sistema filtrante per centrifuga.
- L' estrazione dell'RNA con KIT apposito.
- RT-PCR Real Time.

L' RT-PCR prevede innanzitutto la trascrizione dell'RNA di coronavirus nel DNA complementare (cDNA) da parte dell'enzima trascrittasi inversa, quindi l'amplificazione del DNA (G.Medema et al., 2020).

RIFERIMENTI

Ahmed, W., Angel, N., Edson, J., Bibby, K., Bivins, A., Brien, J.W.O., Choi, P.M., Kitajima, M., Simpson, S.L., Li, J., Tschärke, B., Verhagen, R., Smith, W.J.M., Zaugg, J., Dierens, L., Hugenholtz, P., Thomas, K. V, Mueller, J.F. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: A proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Sci. Total Environ.* ., 2020.doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138764>.

Gertjan Medema, Leo Heijnen, Goffe Elsinga, Ronald Italiaander, Anke Brouwer. Presence of SARS-Coronavirus-2 in sewage. medRxiv.2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.29.20045880>

Giuseppina La Rosa, Marcello Iaconelli, Pamela Mancini, Giusy Bonanno Ferraro, Carolina Veneri, Lucia Bonadonna, Luca Lucentini, Elisabetta Suffredini. first detection of sars-cov-2 in untreated 1 wastewaters in italy. medRxiv.2020. doi:<https://doi.org/10.1101/2020.04.25.20079830>

Hung, I.F.N., Cheng, V.C.C., Wu, A.K.L., Tang, B.S.F., Chan, K.H., Chu, C.M., Viral loads in clinical specimens and SARS manifestations. *Emerg. Infect. Dis.* 2004.10, 1550–1557.

Lescure, F.-X., Bouadma, L., Nguyen, D., Parisey, M., Wicky, P.-H., Behillil, S., Gaymard, A., Bouscambert-Duchamp, M., Donati, F., Le Hingrat, Q., Enouf, V., Houhou-Fidouh, N., Valette, M., Mailles, A., Lucet, J.-C., Mentre, F., Duval, X.,

Descamps, D., Malvy, D., Timsit, J.-F., Lina, B., van-der-Werf, S., Yazdanpanah, Y. Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. *Lancet Infect. Dis.* 20, 1–10. 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/s1473->

Lodder, W., de Roda Husman, A., SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. *Lancet Gastroenterol. Hepatol.* 1253, 30087. 2020. doi: [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30087-](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30087-)

Mizumoto, K., Kagaya, K., Zarebski, A., Chowell, G., 2020. Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan. *Eurosurveillance* 25, 1–5. 2020. doi: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2020.25.10.2000180>

M. Kitajima, W. Ahmed, K. Bibby, et al., SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs, *Science of the Total Environment*. 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139076>

Nemudryi, A., Nemudraia, A., Surya, K., Wiegand, T., Buyukyoruk, M., Wilkinson, R., Wiedenheft, B.,. Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. *MedRxiv*. 2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.15.20066746>

Olga E. Hart, Rolf U. Halden. Computational analysis of SARS-CoV-2/COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: Feasibility, economy, opportunities and challenges. *Science of The Total Environment*, 138875. 2020. doi: [10.1016/j.scitotenv.2020.138875](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138875)

Pan, Y., Zhang, D., Yang, P., Poon, L.L.M., Wang, Q.,. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect. Dis.* 20, 411–412. 2020. doi: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30113-4](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30113-4)

Sinclair, R.G., Choi, C.Y., Riley, M.R., Gerba, C.P. Pathogen surveillance through monitoring of sewer systems. *Adv. Appl.*

Microbiol. 65, 249–269.2008. doi:
[https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)00609-](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)00609-)

Tang, A., Tong, Z.-D., Wang, H.-L., Dai, Y.-X., Li, K.-F., Liu, J.-N., Wu, W.-J., Yuan, C., Yu, M.-L., Li, P., Yan, J.-B. Detection of novel coronavirus by RT-PCR in stool specimen from asymptomatic child, China. *Emerg. Infect. Dis.* 26, 1–5.2020. doi: <https://doi.org/10.3201/eid2606.200301>

Wölfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Mueller, M.A., Niemeyer, D., Vollmar, P., Rothe, C., Hoelscher, M., Bleicker, T., Bruenink, S., Schneider, J., Ehmann, R., Zwirgmaier, K., Drosten, C., Wendtner, C., 2020. Virological assessment of hospitalized cases of coronavirus disease. *Nature.* 2019.doi: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>

Wurtzer, S., Marechal, V., Mouchel, J., Moulin, L. Time course quantitative detection of SARS-CoV-2 in Parisian wastewaters correlates with COVID-19 confirmed cases. *medRxiv* 10–13.2020.doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679>

Xagorarakis, I., O'Brien, E. Wastewater-based epidemiology for early detection of viral outbreaks, in: O'Bannon, D. (Ed.), *Women in Water Quality*. Springer Nature Switzerland, pp. 75–97.2020.doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-17819-2>

X. Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R. Presence of SARS-Coronavirus-2 in sewage. *medRxiv.* 2020.doi:<https://doi.org/10.1101/2020.03.29.20045880>

Xiao, F., Tang, M., Zheng, X., Li, C., He, J.. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *medRxiv.* 2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.17.20023721>

(<https://www.iflscience.com/health-and-medicine/high-levels-of-sarscov2-discovered-in-urbanwastewater-system/>)

(Accademia Kronos)