

La risposta all'interferone è una delle principali difese immunitarie innate contro l'invasione del virus. Gli interferoni inducono l'espressione di diversi geni stimolati dall'interferone, che possono interferire con ogni fase della replicazione del virus. Precedenti studi hanno identificato gli interferoni di tipo I come promettenti candidati terapeutici per la SARS149. I dati in vitro hanno mostrato che SARS-CoV-2 è ancora più sensibile agli interferoni di tipo I rispetto a SARS-CoV, suggerendo la potenziale efficacia degli interferoni di tipo I nel trattamento precoce di COVID-19 (REF.150). In Cina, l'inalazione di vapori di interferone-a è inclusa nelle linee guida per il trattamento del COVID-19<sup>151</sup>. Sono in corso studi clinici in tutto il mondo per valutare l'efficacia di diverse terapie che coinvolgono gli interferoni, da soli o in combinazione con altri agenti<sup>152</sup>.

Terapia con immunoglobuline. Il trattamento con plasma convalescente è un'altra potenziale terapia aggiuntiva per COVID-19. I risultati preliminari hanno suggerito un miglioramento dello stato clinico dopo il trattamento <sup>153,154</sup>.

La FDA ha fornito una guida per l'uso del plasma convalescente COVID-19 nell'ambito di una nuova domanda di farmaco sperimentale di emergenza. Tuttavia, questo trattamento può avere effetti avversi causando un potenziamento dell'infezione mediato da anticorpi, danno polmonare acuto associato alla trasfusione e reazioni allergiche alla trasfusione.

La terapia con anticorpi monoclonali è un'immunoterapia efficace per il trattamento di alcune infezioni virali in pazienti selezionati. Studi recenti hanno riportato anticorpi monoclonali specifici che neutralizzano l'infezione da SARS-CoV-2

Inibizione della replicazione del virus. Gli inibitori della replicazione includono remdesivir (GS-5734), favilavir (T-705), ribavirina, lopinavir e ritonavir. Fatta eccezione per lopinavir e ritonavir, che inibiscono 3CLpro, gli altri tre hanno tutti come target RdRp128,135 (FIG. 5). Remdesivir ha mostrato attività contro SARS-CoV-2 in vitro e in vivo 128,136. Uno studio clinico ha rivelato una minore necessità di supporto di ossigeno nei pazienti con COVID-19 (RIF. 137). I risultati preliminari dello studio clinico Adaptive COVID-19 Treatment Trial (ACTT) condotto dal National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) hanno riferito che remdesivir può ridurre di un paio di giorni i tempi di recupero negli adulti ospedalizzati con COVID-19 rispetto al placebo, ma la differenza nella mortalità non era statisticamente significativa<sup>138</sup>. La FDA ha rilasciato un'autorizzazione all'uso di emergenza per remdesivir per il trattamento di pazienti ospedalizzati con COVID-19 grave. È anche la prima opzione approvata dall'Unione Europea per il trattamento di adulti e adolescenti affetti da polmonite che richiedono ossigeno supplementare. Diversi studi clinici internazionali di fase III stanno continuando a valutare la sicurezza e l'efficacia di remdesivir per il trattamento di COVID-19.

Favilavir (T-705), un farmaco antivirale sviluppato in Giappone per il trattamento dell'influenza, è stato approvato in Cina, Russia e India per il trattamento del COVID-19. Uno studio clinico in Cina ha dimostrato che favilavir ha ridotto significativamente i segni di miglioramento dei segni della malattia all'imaging del torace e ha ridotto il tempo alla clearance virale<sup>139</sup>. Un rapporto preliminare in Giappone ha mostrato tassi di miglioramento clinico del 73,8% e 87,8% dall'inizio della terapia con favilavir nei pazienti con COVID-19 lieve a 7 e 14 giorni, rispettivamente, e del 40,1% e 60,3% nei pazienti con COVID-19 grave. a 7 e 14 giorni,

aveva > 95% di omologia con il coronavirus del pipistrello e > 70% di somiglianza con il SARS-COV. Anche i campioni ambientali del mercato dei frutti di mare di Huanan sono risultati positivi, il che significa che il virus ha avuto origine da lì [7]. Il numero di casi ha iniziato ad aumentare in modo esponenziale, alcuni dei quali non avevano esposizione al mercato di animali vivi, il che suggerisce il fatto che si stava verificando una trasmissione da uomo a uomo [8]. Il primo caso mortale è stato segnalato l'11 gennaio .

2020 • La massiccia migrazione di cinesi durante il capodanno cinese ha alimentato l'epidemia. Casi in altre province della Cina, altri Paesi (Thailandia, Giappone e Corea del Sud in rapida successione) sono stati segnalati in persone che rientravano da Wuhan. La trasmissione agli operatori sanitari che si prendono cura dei pazienti è stata descritta il 20 gennaio .

2020 • Entro il 23 gennaio, gli 11 milioni di abitanti di Wuhan sono stati messi sotto chiave

altri studi clinici in diverse fasi sono ancora in corso altrove.

Agenti immunomodulatori. SARS-CoV-2 innesca una forte risposta immunitaria che può causare la sindrome della tempesta di citochine<sup>60,61</sup>. Pertanto, gli agenti immunomodulatori che inibiscono l'eccessiva risposta infiammatoria possono essere una potenziale terapia aggiuntiva per COVID-19. Il desametasone è un corticosteroide spesso utilizzato in una vasta gamma di condizioni per alleviare l'infiammazione attraverso i suoi effetti antinfiammatori e immunosoppressori. Recentemente, lo studio RECOVERY ha rilevato che il desametasone ha ridotto la mortalità di circa un terzo nei pazienti ospedalizzati con COVID-19 che hanno ricevuto ventilazione meccanica invasiva e di un quinto nei pazienti che hanno ricevuto ossigeno. Al contrario, non è stato riscontrato alcun beneficio nei pazienti senza supporto respiratorio<sup>46</sup>.

Tocilizumab e sarilumab, due tipi di anticorpi specifici per il recettore dell'interleuchina-6 (IL-6) precedentemente utilizzati per il trattamento di vari tipi di artrite, tra cui l'artrite reumatoide e la sindrome da rilascio di citochine, hanno mostrato efficacia nel trattamento del COVID-19 grave attenuando la tempesta di citochine in un piccolo studio non controllato<sup>47</sup>.

Bevacizumab è un farmaco anti-fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF) che potrebbe potenzialmente ridurre l'edema polmonare nei pazienti con COVID-19 grave.

Eculizumab è un anticorpo monoclonale specifico che inibisce la proteina C5 del complemento proinfiammatorio. I risultati preliminari hanno mostrato che ha indotto un calo dei marcatori infiammatori e dei livelli di proteina C-reattiva, suggerendo che potrebbe essere un'opzione per il trattamento del COVID-19 grave (REF.148).

l'articolo offre una visione a volo d'uccello su questo nuovo virus. Poiché la conoscenza di questo virus è in rapida evoluzione, i lettori sono invitati ad aggiornarsi regolarmente.

## Storia

I coronavirus sono virus RNA a senso positivo avvolti che vanno da 60 nm a 140 nm di diametro con sporgenze simili a punte sulla sua superficie che gli conferiscono un aspetto simile a una corona al microscopio elettronico; da qui il nome coronavirus [3]. Quattro virus corona, vale a dire HKU1, NL63, 229E e OC43, sono stati in circolazione negli esseri umani e generalmente causano lievi malattie respiratorie.

Ci sono stati due eventi negli ultimi due decenni in cui l'incrocio di virus betacorona animali con l'uomo ha provocato gravi malattie. Il primo caso del genere è stato nel 2002-2003 quando a

Δ

Inibizione dell'ingresso del virus. SARS-CoV-2 utilizza ACE2 come recettore e proteasi umane come attivatori di ingresso; successivamente fonde la membrana virale con la membrana cellulare e raggiunge l'invasione. Pertanto, i farmaci che interferiscono con l'ingresso possono essere un potenziale trattamento per COVID-19. Umifenovir (Arbidol) è un farmaco approvato in Russia e Cina per il trattamento dell'influenza e di altre infezioni virali respiratorie. Può indirizzare l'interazione tra la proteina S e l'ACE2 e inibire la fusione della membrana (FIG. 47). (ΔEsperimenti in vitro hanno dimostrato che ha attività contro SARS-CoV-2 e gli attuali dati clinici hanno rivelato che potrebbe essere più efficace di lopinavir e ritonavir nel trattamento di COVID-19 (REFS 122,123). Tuttavia, altri studi clinici hanno dimostrato che l'umifenovir potrebbe non migliorare la prognosi o accelerare la clearance della SARS-CoV-2 nei pazienti con COVID-19 da lieve a moderato (REFS124,125). Eppure alcuni studi clinici in corso ne stanno valutando l'efficacia per il trattamento del COVID-19. Camostat mesilato è approvato in Giappone per il trattamento della pancreatite e dell'esofagite da reflusso postoperatoria. Precedenti studi hanno dimostrato che può impedire al SARS-CoV di entrare nelle cellule bloccando l'attività di TMPRSS2 e proteggere i topi dall'infezione letale con SARS-CoV in un modello murino patogeno (topi wild-type infettati con un ceppo SARS-CoV adattato al topo) 126,127. Recentemente, uno studio ha rivelato che il mesilato di camostat blocca l'ingresso di SARS-CoV-2 nelle cellule polmonari umane 47. Pertanto, può essere un potenziale farmaco antivirale contro l'infezione da SARS-CoV-2, sebbene finora non ci siano dati clinici sufficienti per sostenerne l'efficacia.

## Astratto

C'è una nuova crisi di salute pubblica che minaccia il mondo con l'emergere e la diffusione del nuovo coronavirus del 2019 (2019-nCoV) o della sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Il virus ha avuto origine nei pipistrelli ed è stato trasmesso all'uomo attraverso animali intermediari ancora sconosciuti a Wuhan, provincia di Hubei, Cina nel dicembre 2019. Ad oggi sono stati segnalati circa 96.000 casi di malattia da coronavirus (COVID-2019) e 3300 decessi (31/05/2020). (La malattia si trasmette per inalazione o contatto con goccioline infette e il periodo di incubazione varia da 2 a 14 d. I sintomi sono solitamente febbre, tosse, mal di gola, mancanza di respiro, affaticamento, malessere tra gli altri. La malattia è lieve nella maggior parte delle persone; in alcuni) di solito gli anziani e quelli con comorbilità) può progressivamente

v

e il coronavirus della sindrome respiratoria del Medio Oriente (MERS-COV), ma ha una mortalità inferiore. L'impatto globale di questa nuova epidemia è ancora incerto.

Parole chiave: 2019-nCoV, SARS-CoV-2, COVID-19, Polmonite, Revisione introduzione

Il nuovo coronavirus del 2019 (2019-nCoV) o il virus corona virus 2 della sindrome respiratoria acuta grave (SARS-COV-2), come viene ora chiamato, si sta rapidamente diffondendo dalla sua origine nella città di Wuhan, nella provincia cinese di Hubei, al resto del mondo [1]. Fino al 05/03/2020 sono stati segnalati circa 96.000 casi di malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) e 3300 decessi [2]. L'India ha segnalato 29 casi fino ad oggi. Fortunatamente finora, i bambini sono stati raramente colpiti senza morti. Ma il corso futuro di questo virus è sconosciuto. Questo articolo offre una vista a volo d'uccello su

^

con COVID-19 hanno mostrato caratteristiche tipiche alla TC iniziale, comprese opacità multilobari bilaterali a vetro smerigliato con distribuzione periferica o posteriore 118,119. Pertanto, è stato suggerito che la scansione TC combinata con ripetuti test con tampone dovrebbe essere utilizzata per gli individui con un elevato sospetto clinico di COVID-19 ma che risultano negativi allo screening iniziale dell'acido nucleico<sup>118</sup>. Infine, i test sierologici SARS-CoV-2 che rilevano gli anticorpi contro la proteina N o S potrebbero integrare la diagnosi molecolare, in particolare nelle fasi tardive dopo l'insorgenza della malattia o per studi retrospettivi<sup>116,120,121</sup>. Tuttavia, l'estensione e la durata delle risposte immunitarie non sono ancora chiare e i test sierologici disponibili differiscono nella loro sensibilità e specificità, elementi che devono essere presi in considerazione quando si decide sui test sierologici e si interpretano i loro risultati o potenzialmente in futuro test per le risposte delle cellule T.

#### Terapeutici

Ad oggi, non esistono terapie generalmente dimostrate efficaci per COVID-19 o antivirali contro SARS-CoV-2, sebbene alcuni trattamenti abbiano mostrato alcuni benefici in determinate sottopopolazioni di pazienti o per determinati punti finali (vedere più avanti). Ricercatori e produttori stanno conducendo studi clinici su larga scala per valutare varie terapie per COVID-19. Al 2 ottobre 2020, c'erano circa 405 farmaci terapeutici in fase di sviluppo per COVID-19 e quasi 318 in studi clinici sull'uomo (vaccino COVID-19 e tracker terapeutico). Nelle sezioni seguenti, riassumiamo le potenziali terapie contro SARS-CoV-2 sulla base dei dati clinici pubblicati e dell'esperienza.

La cloroquina e l'idrossicloroquina sono altri farmaci potenziali ma controversi che interferiscono con l'ingresso di SARS-CoV-2. Sono stati utilizzati nella prevenzione e nel trattamento della malaria e delle malattie autoimmuni, tra cui il lupus eritematoso sistemico e l'artrite reumatoide. Possono inibire la glicosilazione dei recettori cellulari e interferire con il legame virus-recettore ospite, nonché aumentare il pH endosomiale e inibire la fusione della membrana. Attualmente non è stato raggiunto alcun consenso scientifico sulla loro efficacia nel trattamento del COVID-19. Alcuni studi hanno mostrato che possono inibire l'infezione da SARS-CoV-2 in vitro, ma i dati clinici sono insufficienti 128,129. Due studi clinici non hanno indicato alcuna associazione con i tassi di mortalità nei pazienti che ricevevano cloroquina o idrossicloroquina rispetto a quelli che non ricevevano il farmaco e suggeriscono addirittura che potrebbe aumentare il rischio di morte in quanto è stato riscontrato un rischio più elevato di arresto cardiaco nei pazienti trattati 130,131. Il 15 giugno 2020 a causa degli effetti collaterali osservati negli studi clinici, la Food and Drug Administration (FDA) statunitense ha revocato l'autorizzazione all'uso di emergenza di cloroquina e idrossicloroquina per il trattamento di COVID-19. Un'altra potenziale strategia terapeutica consiste nel bloccare il legame della proteina S all'ACE2 attraverso hACE2 ricombinante solubile, anticorpi monoclonali specifici o inibitori di fusione che prendono di mira la proteina S SARS-CoV-2 132-134 (FIG. 5). La sicurezza e l'efficacia di queste strategie devono essere valutate in futuri studi clinici.

in vitro e in vivo 155-158. Rispetto al plasma convalescente, che ha una disponibilità limitata e non può essere amplificato, gli anticorpi monoclonali possono essere sviluppati in quantità maggiori per soddisfare le esigenze cliniche. Quindi, forniscono la possibilità per il trattamento e la prevenzione di COVID-19. Gli epitopi neutralizzanti di questi anticorpi monoclonali offrono anche informazioni importanti per la progettazione del vaccino. Tuttavia, l'alto costo e la limitata capacità di produzione, così come il problema della biodisponibilità, possono limitare l'ampia applicazione della terapia con anticorpi monoclonali.

### Vaccini

La vaccinazione è il metodo più efficace per una strategia a lungo termine per la prevenzione e il controllo del COVID-19 in futuro. Sono in fase di sviluppo molte diverse piattaforme di vaccini contro SARS-CoV-2, le cui strategie includono vettori ricombinanti, DNA, mRNA in nanoparticelle lipidiche, virus inattivati, virus vivi attenuati e subunità proteiche 159-161. Al 2 ottobre 2020, erano stati segnalati 174 ~candidati vaccino per COVID-19 e 51 erano in studi clinici sull'uomo (vaccino COVID-19 e tracker terapeutico). Molti di questi vaccini candidati sono in sperimentazione di fase II e alcuni sono già passati a sperimentazioni di fase III. Uno studio randomizzato in doppio cieco di fase II di un vaccino vettore di tipo adenovirus che esprime la proteina SARS-CoV-2 S, sviluppato da CanSino Biologicals e dall'Accademia delle scienze mediche militari della Cina, è stato condotto su 603 volontari adulti a Wuhan. Il vaccino si è dimostrato sicuro e ha indotto una notevole risposta immunitaria umorale e cellulare nella maggior parte dei riceventi dopo una singola immunizzazione 162. Un altro vaccino vettore, ChAdOx1,

(comorbilità), può progredire in polmonite,

sindrome da distress respiratorio acuto

(ARDS) e disfunzione multiorgano.

Molte persone sono asintomatiche.

Si stima che il tasso di mortalità varia dal

1 al 3%. La diagnosi si basa sulla

dimostrazione del virus nelle secrezioni

respiratorie mediante speciali test

molecolari. I risultati di laboratorio comuni

includono conta leucocitaria normale/

bassa con elevata proteina C-reattiva (CRP).

La scansione toracica

computerizzata del torace è solitamente anormale

anche in quelli senza sintomi o malattia

lieve. Il trattamento è essenzialmente

di supporto; ruolo degli agenti antivirali

deve ancora essere stabilito. La

prevenzione comporta l'isolamento

domiciliare dei casi sospetti e di quelli con malattie

lievi e rigide misure di controllo delle

infezioni negli ospedali che includono

precauzioni da contatto e

goccioline. Il virus si diffonde più velocemente

dei suoi due antenati, il SARS-COV

dall'Università di Oxford. In uno studio controllato randomizzato di fase I/II, ha indotto anticorpi neutralizzanti contro SARS-COV-2 in tutti i 1.077 partecipanti dopo una seconda dose di vaccino, mentre anche il suo profilo di sicurezza era accettabile<sup>163</sup>. Il NIAID e Moderna hanno co-prodotto mRNA-1273, un candidato vaccino mRNA formulato con nanoparticelle lipidiche che codifica per la proteina SARS-CoV-2 S di prefusione stabilizzata. La sua immunogenicità è stata confermata da uno studio di fase I in cui robuste risposte anticorpali neutralizzanti sono state indotte in modo dose-dipendente e sono aumentate dopo una seconda dose<sup>164</sup>. Per quanto riguarda i vaccini inattivati, è stato condotto con successo uno studio di fase I/II che ha coinvolto 320 partecipanti. segnalato in Cina. Il vaccino contro il virus intero COVID-19 ha avuto un basso tasso di reazioni avverse e ha indotto efficacemente la produzione di anticorpi neutralizzanti<sup>165</sup>. La sicurezza e l'immunogenicità verificate supportano l'avanzamento di questi vaccini candidati agli studi clinici di fase III, che valuteranno la loro efficacia nel proteggere le popolazioni sane da Infezione da SARS-CoV-2.

#### Prospettive future

COVID-19 è la terza malattia da coronavirus umana ad alta patogenicità fino ad oggi. Sebbene meno mortale della SARS e della MERS, la rapida diffusione di questa malattia altamente contagiosa ha rappresentato la più grave minaccia per la salute globale in questo secolo. L'epidemia di SARS-CoV-2 dura ormai da più di sei mesi ed è probabile che sia così

questo virus emergente stabilirà una nicchia negli esseri umani e coesistere con noi per molto tempo<sup>166</sup>. Prima che i vaccini clinicamente approvati siano ampiamente disponibili, non c'è modo migliore per proteggerci dalla SARS-CoV-2 di comportamenti preventivi personali come l'allontanamento sociale e l'uso di mascherine e misure di sanità pubblica, inclusi test attivi, tracciabilità dei casi e restrizioni incontri sociali. Nonostante una marea di ricerche sulla SARS-CoV-2 pubblicate ogni settimana, le attuali conoscenze su questo nuovo coronavirus sono solo la punta dell'iceberg. L'origine animale e la via di infezione tra specie di SARS-CoV-2 devono ancora essere scoperte. I meccanismi molecolari della patogenesi dell'infezione da SARS-COV-2 e virus-ospite

il SARS-CoV. Anche i campioni ambientali del mercato dei frutti di mare di Huanan sono risultati positivi, il che significa che il virus ha avuto origine da lì [7]. Il numero di casi ha iniziato ad aumentare in modo esponenziale, alcuni dei quali non avevano esposizione al mercato di animali vivi, il che suggerisce il fatto che si stava verificando una trasmissione da uomo a uomo [8]. Il primo caso mortale è stato segnalato l'11 gennaio .2020. La massiccia migrazione di cinesi durante il capodanno cinese ha alimentato l'epidemia. Casi in altre province della Cina, altri Paesi (Thailandia, Giappone e Corea del Sud in rapida successione) sono stati segnalati in persone che rientravano da Wuhan. La trasmissione agli operatori sanitari che si prendono cura dei pazienti è stata descritta il 20 gennaio .2020. Entro il 23 gennaio, gli 11 milioni di abitanti di Wuhan sono stati messi sotto chiave con restrizioni all'ingresso e all'uscita dalla regione. Presto questo blocco è stato

maschera e pratica l'igiene della tosse. Agli operatori sanitari dovrebbe essere chiesto di indossare una mascherina chirurgica quando si trovano nella stessa stanza del paziente e di utilizzare l'igiene delle mani ogni 15-20 minuti.

Il rischio maggiore di COVID-19 è la trasmissione agli operatori sanitari.

Nell'epidemia di SARS del 2002, il 21% delle persone colpite erano operatori sanitari

.<sup>[31]</sup> Fino ad oggi, quasi 1500 operatori sanitari in Cina sono stati infettati con 6 decessi. È morto anche il medico che per primo ha avvertito del virus. È importante proteggere gli operatori sanitari per garantire la continuità delle cure e prevenire la trasmissione dell'infezione ad altri pazienti. Sebbene il

COVID-19 si trasmetta come patogeno gocciolatoio e sia inserito nella categoria B degli agenti infettivi (H5N1 e SARS altamente patogeni), dalla China National Health Commission, le misure di controllo delle infezioni raccomandate sono quelle per

## Origine e diffusione di COVID-19

[6, 2, 1]

Nel dicembre 2019, gli adulti a Wuhan, capitale della provincia di Hubei e importante snodo dei trasporti della Cina, hanno iniziato a presentarsi agli ospedali locali con una grave polmonite di causa sconosciuta. Molti dei casi iniziali avevano un'esposizione comune al mercato ittico all'ingrosso di Huanan che commerciava anche animali vivi. Il sistema di sorveglianza (istituito dopo l'epidemia di SARS) è stato attivato e i campioni respiratori dei pazienti sono stati inviati ai laboratori di riferimento per le indagini eziologiche. Il 31 dicembre 2019, la Cina ha notificato l'epidemia all'Organizzazione mondiale della sanità e il 1° gennaio il mercato dei frutti di mare di Huanan è stato chiuso. Il 7 gennaio il virus è stato identificato come un coronavirus che aveva 95% di omologia con il pipistrello

sono indicati cannule, maschera facciale, cannula nasale ad alto flusso (HFNC) o ventilazione non invasiva. Potrebbe essere necessaria la ventilazione meccanica e persino il supporto di ossigeno extracorporeo della membrana. In alcuni può essere necessaria la terapia renale sostitutiva. Gli antibiotici e gli antimicotici sono necessari se si sospettano o si provano co-infezioni. Il ruolo dei corticosteroidi non è dimostrato; mentre l'attuale consenso internazionale e l'OMS ne sconsigliano l'uso, le linee guida cinesi raccomandano una terapia a breve termine con corticosteroidi a dose da bassa a moderata nell'ARDS da COVID-19 [24, 25].

[25] Linee guida dettagliate per la gestione delle cure critiche per COVID-19 sono state pubblicate dall'OMS [26]. Al momento non esiste un trattamento approvato per COVID-19. Sulla base dell'esperienza con SARS e MERS sono stati utilizzati farmaci antivirali come ribavirina, lopinavir-ritonavir. In uno storico

influenza pandemica in cui ai pazienti è stato chiesto di riprendere il lavoro/la scuola una volta apiretici per 24 ore o entro il settimo giorno di malattia. I test molecolari negativi non erano un prerequisito per la dimissione.

A livello di comunità, alle persone dovrebbe essere chiesto di evitare le aree affollate e di posticipare i viaggi non essenziali verso luoghi con trasmissione in corso. Dovrebbero essere invitati a praticare l'igiene della tosse tossendo nella manica/fazzoletto piuttosto che nelle mani e praticare l'igiene delle mani frequentemente ogni 15-20 minuti. Ai pazienti con sintomi respiratori dovrebbe essere chiesto di usare mascherine chirurgiche. L'uso della maschera da parte di persone sane nei luoghi pubblici non ha dimostrato di proteggere dalle infezioni virali respiratorie e attualmente non è raccomandato dall'OMS. Tuttavia, in Cina, al pubblico è stato chiesto di indossare maschere in pubblico e soprattutto nei luoghi affollati e sono vietati assembramenti su larga scala (parchi di intrattenimento, ecc.). Anche la Cina lo è

Prevenzione [21, 30]

Poiché in questo momento non esistono trattamenti approvati per questa infezione, la prevenzione è fondamentale.

Diverse proprietà di questo virus rendono difficile la prevenzione, vale a dire caratteristiche non specifiche della malattia, infettività anche prima dell'insorgenza dei sintomi nel periodo di incubazione, trasmissione da persone asintomatiche, lungo periodo di incubazione, tropismo per le superfici mucose come la congiuntiva, durata prolungata della malattia e trasmissione anche dopo la guarigione clinica.

Si raccomanda l'isolamento domiciliare dei casi confermati o sospetti con malattia lieve. La ventilazione in casa dovrebbe essere buona con la luce solare per consentire la distruzione del virus. Ai pazienti dovrebbe essere chiesto di indossare una semplice mascherina chirurgica e di praticare l'igiene della tosse.

۲.

Prevenzione [21, 30]

Poiché in questo momento non esistono trattamenti approvati per questa infezione, la prevenzione è fondamentale.

Diverse proprietà di questo virus rendono difficile la prevenzione, vale a dire caratteristiche non specifiche della malattia, infettività anche prima dell'insorgenza dei sintomi nel periodo di incubazione, trasmissione da persone asintomatiche, lungo periodo di incubazione, tropismo per le superfici mucose come la congiuntiva, durata prolungata della malattia e trasmissione anche dopo la guarigione clinica.

Si raccomanda l'isolamento domiciliare dei casi confermati o sospetti con malattia lieve. La ventilazione in casa dovrebbe essere buona con la luce solare per consentire la distruzione del virus. Ai pazienti dovrebbe essere chiesto di indossare una semplice mascherina chirurgica e di praticare l'igiene della tosse.

stato utilizzato sulla base dell'esperienza con SARS e MERS. In uno studio di controllo storico in pazienti con SARS, i pazienti trattati con lopinavirtonavir con ribavirina hanno avuto esiti migliori rispetto a quelli trattati con ribavirina da sola [15].

Nella casistica di 99 pazienti ospedalizzati con infezione da COVID-19 di Wuhan, l'ossigeno è stato somministrato al 76%, non ventilazione invasiva nel 13%, ventilazione meccanica nel 4%, ossigenazione extracorporea a membrana (ECMO) nel 3%, terapia sostitutiva renale continua (CRRT) nel 9%, antibiotici nel 71%, antimicotici nel 15%, glucocorticoidi nel 19% e immunoglobuline per via endovenosa terapia nel 27% [15]. La terapia antivirale composta da oseltamivir, ganciclovir e lopinavirritonavir è stata somministrata al 75% dei pazienti.

La durata della ventilazione non invasiva è stata di 4-22 giorni [mediana 9 giorni]

le interazioni rimangono in gran parte poco chiare. Studi intensivi su questi profili virologici di SARS-CoV-2 forniranno la base per lo sviluppo di strategie preventive e terapeutiche contro COVID-19. Inoltre, è necessario un monitoraggio genomico continuo di SARS-CoV-2 in nuovi casi in tutto il mondo, poiché è importante identificare tempestivamente qualsiasi mutazione che possa provocare cambiamenti fenotipici del virus. Infine, COVID-19 sta sfidando tutti gli esseri umani. Affrontare questa epidemia è un lavoro a lungo termine che richiede gli sforzi di ogni individuo e collaborazioni internazionali da parte di scienziati, autorità e pubblico.

tale esempio è stato nel 2002-2003, quando un nuovo coronavirus del genere  $\beta$  e con origine nei pipistrelli è passato all'uomo attraverso l'ospite intermedio di zibetti delle palme nella provincia cinese del Guangdong. Questo virus, designato come coronavirus della sindrome respiratoria acuta grave, ha colpito 8422 persone principalmente in Cina e Hong Kong e ha causato 916 morti (tasso di mortalità dell'11%) prima di essere contenuto [4]. Quasi un decennio dopo, nel 2012, il coronavirus della sindrome respiratoria del Medio Oriente (MERS-CoV), anch'esso di origine pipistrello, è emerso in Arabia Saudita con cammelli dromedari come ospite intermedio e ha colpito 2494 persone e causato 858 morti (tasso di mortalità 34%). [5]

Origine e diffusione di COVID-19

[6, 7, 8]

Nel dicembre 2019, gli adulti a Wuhan, capitale della provincia di Hubei e a

rispettivamente. Tuttavia, questo studio non includeva un braccio di controllo e la maggior parte degli studi su favilavir erano basati su un campione di piccole dimensioni. Per una valutazione più affidabile dell'efficacia del favilavir nel trattamento del COVID-19, dovrebbero essere condotti studi controllati randomizzati su larga scala.

È stato riportato che lopinavir e ritonavir hanno attività inibitoria in vitro contro SARS-CoV e MERS-CoV<sup>141,142</sup>. Da solo, la combinazione di lopinavir e ritonavir ha avuto scarso beneficio terapeutico nei pazienti con COVID-19, ma è apparso più efficace se usato in combinazione con altri farmaci, tra cui ribavirina e interferone beta-1b<sup>143,144</sup>. Lo studio Randomized Evaluation of COVID-19 Therapy (RECOVERY), un programma nazionale di sperimentazione clinica nel Regno Unito, ha interrotto il trattamento con lopinavir e ritonavir poiché non è stato osservato alcun effetto benefico significativo in uno studio randomizzato istituito nel marzo 2020 con un totale di 1.596 pazienti<sup>145</sup>. Tuttavia,

Punti di pratica da una prospettiva  
indiana

Al momento della stesura di questo articolo,  
il rischio di coronavirus in India è  
estremamente basso. Ma questo potrebbe  
cambiare nelle prossime settimane. Pertanto  
si raccomanda quanto segue:

- Gli operatori sanitari devono raccogliere  
la cronologia dei viaggi di tutti i  
pazienti con sintomi respiratori e qualsiasi  
viaggio internazionale nelle ultime  
4 settimane, nonché i contatti con  
persone malate che hanno viaggiato.  
internazionale.

Dovrebbero istituire un sistema di  
triage dei pazienti con malattie  
respiratorie in ambulatorio e  
fornire loro una semplice  
mascherina chirurgica da indossare.

Dovrebbero usare loro stessi maschere  
chirurgiche durante l'esame di tali

(parchi di divertimento ecc.). La Cina sta inoltre valutando l'introduzione di una legislazione per vietare la vendita e il commercio di animali selvatici [32].

La risposta internazionale è stata drammatica. Inizialmente, c'erano massicce restrizioni di viaggio in Cina e le persone di ritorno dalla Cina/evacuate dalla Cina vengono valutate per sintomi clinici, isolate e testate per COVID-19 per 2 settimane anche se asintomatiche. Tuttavia, ora con la rapida diffusione mondiale del virus, queste restrizioni di viaggio si sono estese ad altri paesi. Non è noto se questi sforzi porteranno al rallentamento della diffusione virale.

Un vaccino candidato è in fase di sviluppo.

Punti di pratica da una prospettiva

Indiana

۲۷

[mediana 17 giorni]. Nella serie di casi di bambini discussi in precedenza, tutti i bambini si sono ripresi con il trattamento di base e non hanno avuto bisogno di terapia intensiva [17].

Esiste un'esperienza aneddotica con l'uso di remdeswir, un farmaco anti RNA ad ampio spettro sviluppato per l'Ebola nella gestione del COVID-19 [27]. Sono necessarie ulteriori prove prima che questi farmaci siano raccomandati.

Altri farmaci proposti per la terapia sono arbidol (un farmaco antivirale disponibile in Russia e Cina), immunoglobuline per via endovenosa, interferoni, cloroquina e plasma di pazienti guariti da COVID-19

[29, 28, 29] Inoltre, le raccomandazioni sull'uso delle erbe tradizionali cinesi trovano posto nelle linee guida cinesi [29]

Prevenzione [21, 30]

28

agenti di categoria A (colera, peste). I pazienti devono essere collocati in stanze separate o raggruppati insieme. Generalmente non sono necessarie camere a pressione negativa. I locali e le superfici e le attrezzature devono essere sottoposti a regolare decontaminazione preferibilmente con ipoclorito di sodio. Gli operatori sanitari devono essere dotati di respiratori N95 testati per l'idoneità, tute e occhiali protettivi. Durante le procedure che generano aerosol, come l'intubazione e l'aspirazione, è necessario adottare precauzioni contro la trasmissione per via aerea. e tracheostomie. Tutti i contatti, compresi gli operatori sanitari, devono essere monitorati per lo sviluppo di sintomi di COVID-19. I pazienti possono essere dimessi dall'isolamento una volta che sono afebrili per almeno 3 giorni e hanno due test molecolari negativi consecutivi a un intervallo di campionamento di 1 giorno. Questa raccomandazione è diversa dall'influenza pandemica in cui si trovavano i pazienti

polimorfismo alla posizione nucleotidica 28.144, che si traduce in sostituzione amminoacidica di Ser per Lys al residuo 84 della proteina ORF8. Le varianti con questa mutazione costituiscono un'unica sottoclade etichettata come "clade S"<sup>33,34</sup>

Attualmente, tuttavia, i dati di sequenza disponibili non sono sufficienti per interpretare la storia della trasmissione globale precoce del virus e i modelli di viaggio, gli effetti del fondatore e anche le misure di sanità pubblica influenzano fortemente la diffusione di particolari lignaggi, indipendentemente dalle potenziali differenze biologiche tra le diverse varianti del virus.

Ospite animale e spillover

I pipistrelli sono importanti ospiti naturali di alfacoronavirus e betacoronavirus. Il parente più vicino al SARS-CoV-2 conosciuto fino ad oggi è un coronavirus di pipistrello rilevato nel *Rhinolophus affinis* della provincia di Yunnan, in Cina, chiamato 'RaTG13', la cui sequenza del genoma a lunghezza intera è identica al 96,2% a quella del SARS-CoV-2 (RIF.11). Questo virus del pipistrello condivide più del 90% dell'identità di sequenza con SARS-CoV-2 in tutti gli ORF in

tutto il genoma, inclusi S e ORF8 altamente variabili (RIF.).

L'analisi filogenetica conferma che SARS-CoV-2 si raggruppa strettamente con RaTG13 (FIG. 2). L'elevata somiglianza genetica tra SARS-CoV-2 e RaTG13 supporta l'ipotesi che la SARS-CoV-2 abbia probabilmente avuto origine dai pipistrelli<sup>35</sup>. Un altro coronavirus correlato è stato segnalato più recentemente in un pipistrello *Rhinolophus malayanus* campionato nello Yunnan.

Questo nuovo virus del cappello ha indicato "RmYN02"

Per valutare la variazione genetica di diversi ceppi di SARS-CoV-2, il 2019 Novel Coronavirus Resource of China National Center for Bioinformation ha allineato 77.801 sequenze genomiche di SARS-CoV-2 rilevate a livello globale e identificato un totale di 15.018 mutazioni, incluse 14.824 mutazioni singole -polimorfismi nucleotidici (BIGD)<sup>31</sup>. Nella proteina S, quattro alterazioni dell'amminoacido, V483A, L455I, F456V e G476S, si trovano vicino all'interfaccia di legame nel RBD, ma i loro effetti sul legame con il recettore ospite sono sconosciuti. L'alterazione D614G nella subunità S1 è stata trovata molto più frequentemente rispetto ad altri siti della variante S ed è il marker di una delle principali sottocladi di SARS-CoV-2 (clade G). Da marzo 2020, le varianti SARS-CoV-2 con G614 nella proteina S hanno sostituito le varianti originali D614 e sono diventate la forma dominante. circolante a livello globale. Rispetto alla variante D614, sono state riscontrate cariche virali più elevate nei pazienti infetti dalla variante G614, ma i dati clinici non hanno suggerito alcun legame significativo tra l'alterazione D614G e la gravità della malattia<sup>32</sup>. I virus pseudotipizzati che trasportano la proteina S con G614 hanno generato titoli infettivi più elevati rispetto ai virus che trasportano la proteina S con D614, suggerendo che l'alterazione potrebbe aver aumentato l'infettività di SARS-CoV-2 (RIF. 32). Tuttavia, i risultati degli esperimenti in vitro basati su modelli di pseudovirus potrebbero non riflettere esattamente l'infezione naturale. Questa scoperta preliminare dovrebbe essere convalidata da più studi che utilizzano varianti SARS-CoV-2 wild-type per infettare diverse cellule bersaglio e modelli animali. È anche da determinare se questo cambiamento di aminoacidi ha migliorato la trasmissibilità del virus. Un'altra mutazione del marcatore per l'evoluzione SARS-CoV-2 è il singolo nucleotide

un sito di scissione polibasico (RRAR), che consente un'efficace scissione da parte della furina e di altre proteasi<sup>27</sup>. Un tale sito di scissione S1-S2 non è stato osservato in tutti i virus correlati appartenenti al sottogenere Sarbecovirus, ad eccezione di un simile inserimento di tre aminoacidi (PAA) in RmYN02, un coronavirus derivato da pipistrelli recentemente segnalato da *Rhinolophus malayanus* in Cina<sup>28</sup> (FIG. 3a ). Sebbene l'inserimento in RmYN02 non rappresenti funzionalmente un sito di clivaggio polibasico, fornisce supporto all'idea che questa caratteristica, inizialmente considerata unica per SARS-CoV-2, sia stata acquisita naturalmente<sup>28</sup>. Uno studio strutturale ha suggerito che il sito di scissione della furina può ridurre la stabilità della proteina SARS-CoV-2 S e facilitare l'adattamento conformazionale necessario per il legame dell'RBD al suo recettore<sup>29</sup>. Non è ancora stato dimostrato se la maggiore trasmissibilità di SARS-CoV-2 rispetto a SARS-CoV sia un guadagno di funzione associato all'acquisizione del sito di clivaggio simile alla furina<sup>26</sup>. Un'ulteriore distinzione è il gene accessorio orf8 di SARS-CoV-2, che codifica per una nuova proteina che mostra solo il 40% di identità aminoacidica a ORF8 di SARS-CoV. A differenza di SARS-CoV, questa nuova proteina ORF8 non contiene un motivo che attiva percorsi di stress intracellulare<sup>25</sup>. In particolare, una variante SARS-CoV-2 con una delezione di 382 nucleotidi che copre l'intero ORF8 è stata scoperta in un certo numero di pazienti a Singapore, che assomiglia alle delezioni di 29 o 415 nucleotidi nella regione ORF8 osservate nella SARS- Varianti di CoV dalla fase tardiva dell'epidemia del 2002-2003<sup>30</sup>. Tale delezione ORF8 può essere indicativa dell'adattamento umano dopo la trasmissione tra specie da un ospite animale.

e altri SARSr-CoV (FIG. 2). Utilizzando sequenze di cinque domini replicativi conservati in p1ab (3C-like protease (3CLpro), nidovirus RNA-dependent RNA polimerasi (RdRp)-associated nucleotidyltransferase (NIRAN), RdRp, zinc-binding domain (ZBD) e HEL1,(

lo studio Coronaviridae Il gruppo del Comitato internazionale per la tassonomia dei virus ha stimato le distanze patristiche a coppie tra SARS-CoV-2 e coronavirus noti e ha assegnato SARS-CoV-2 alla specie esistente SARSr-CoV<sup>17</sup>. Sebbene filogeneticamente correlato, SARS-CoV-2 è distinto da tutti gli altri coronavirus di pipistrelli e pangolini di questa specie.

La proteina SARS-CoV-2 S ha una dimensione completa di 1.273 aminoacidi, più lunga di quella della SARS-CoV (1.255 aminoacidi) e dei noti SARSr-CoV di pipistrello (1.245-1.269 aminoacidi). È distinto dalle proteine S della maggior parte dei membri del sottogenere Sarbecovirus, condividendo somiglianze di sequenza aminoacidica del 76,7-77,0% con i SARS-CoV di zibetti e umani,

lunghezza alle proteine corrispondenti in SARS-CoV.

Dei quattro geni strutturali, SARS-CoV-2 condivide più del 90% di identità aminoacidica con SARS-CoV ad eccezione del gene S, che diverge 1,24. Il gene della replicasi copre i due terzi del genoma 5' e codifica una grande poliproteina (pp1ab), che viene scissa proteoliticamente in 16 proteine non strutturali che sono coinvolte nella trascrizione e nella replicazione del virus. La maggior parte di queste proteine non strutturali SARS-CoV-2 ha un'identità di sequenza di amminoacidi superiore all'85% con SARS-CoV25.

L'analisi filogenetica per l'intero genoma mostra che SARS-CoV-2 è raggruppato con SARS-COV e coronavirus correlati alla SARS (SARSr-CoV) trovati nei pipistrelli, collocandolo nel sottogenere Sarbecovirus del genere Betacoronavirus.

All'interno di questo clade, SARS-COV-2 è raggruppato in un lignaggio distinto insieme a quattro isolati di coronavirus del pipistrello a ferro di cavallo (RaTG13, RmYN02, ZC45 e ZXC21) nonché a nuovi coronavirus recentemente identificati nei pangolini, che raggruppano parallelamente alla SARS -COV

217 paesi e regioni di tutti e sei i continenti avevano segnalato più di 20 milioni di casi di COVID-19 e più di 233.000 pazienti erano morti<sup>11</sup>. L'alta mortalità si è verificata soprattutto quando le risorse sanitarie erano sopraffatte. Gli Stati Uniti sono il paese con il maggior numero di casi finora.

Sebbene le prove genetiche suggeriscano che SARS-CoV-2 sia un virus naturale che probabilmente ha avuto origine negli animali, non ci sono ancora conclusioni su quando e dove il virus sia entrato per la prima volta nell'uomo. Poiché alcuni dei primi casi segnalati a Wuhan non avevano alcun collegamento epidemiologico con il mercato del pesce<sup>22</sup>, è stato suggerito che il mercato potrebbe non essere la fonte iniziale di infezione umana da SARS-CoV-2. Uno studio dalla Francia ha rilevato SARS-CoV-2 mediante PCR in un campione conservato di un paziente che aveva la polmonite alla fine del 2019, suggerendo che SARS-CoV-2 potrebbe essersi diffuso lì molto prima dell'orario di inizio generalmente noto dell'epidemia in Francia<sup>23</sup>. Tuttavia, questo primo rapporto individuale non può fornire una risposta solida all'origine della SARS-CoV-2 e della contaminazione, e quindi non si può escludere un risultato falso positivo. Per affrontare questo problema altamente controverso, è necessario condurre in tutto il mondo ulteriori indagini retrospettive che coinvolgano un numero maggiore di campioni conservati in banche di pazienti, animali e ambienti con dosaggi ben convalidati.

Genomica, filogenesi e tassonomia

In quanto nuovo betacoronavirus, SARS-CoV-2 condivide il 79% dell'identità della sequenza del genoma con SARS-COV e il 50% con MERS-CoV<sup>24</sup>. La sua organizzazione del genoma è condivisa con altri betacoronavirus.

I sei frame funzionali di lettura aperta (ORF) sono disposti in ordine da 5' a 3': replicasi (ORF1a/ORF1b), punta (S), involucro (E), membrana (M) e nucleocapside (N). Inoltre, sette presunte proteine accessorie che codificano ORFS

sono intervallate tra i geni strutturali<sup>25</sup>. La maggior parte delle proteine codificate da SARS-CoV-2 ha un simile

۳۵

217 paesi e regioni di tutti e sei i continenti avevano segnalato più di 20 milioni di casi di COVID-19 e più di 733.000 pazienti erano morti<sup>21</sup>. L'alta mortalità si è verificata soprattutto quando le risorse sanitarie erano sopraffatte. Gli Stati Uniti sono il paese con il maggior numero di casi finora.

Sebbene le prove genetiche suggeriscano che SARS-CoV-2 sia un virus naturale che probabilmente ha avuto origine negli animali, non ci sono ancora conclusioni su quando e dove il virus sia entrato per la prima volta nell'uomo. Poiché alcuni dei primi casi segnalati a Wuhan non avevano alcun collegamento epidemiologico con il mercato del pesce<sup>22</sup>, è stato suggerito che il mercato potrebbe non essere la fonte iniziale di infezione umana da SARS-CoV-2. Uno studio dalla Francia ha rilevato SARS-CoV-2 mediante PCR in un campione conservato di un paziente che aveva la polmonite alla fine del 2019, suggerendo che SARS-CoV-2 potrebbe essersi diffuso lì molto prima dell'orario di inizio generalmente noto dell'epidemia in Francia<sup>23</sup>. Tuttavia, questo primo rapporto individuale non può fornire una risposta solida all'origine della SARS-CoV-2 e della contaminazione, e quindi non si può escludere un risultato falso positivo. Per affrontare questo problema altamente controverso, è necessario condurre in tutto il mondo ulteriori indagini retrospettive che coinvolgano un numero maggiore di campioni conservati in banche di pazienti, animali e ambienti con dosaggi ben convalidati.

Genomica, filogenesi e tassonomia

In quanto nuovo betacoronavirus, SARS-CoV-2 condivide il 79% dell'identità della sequenza del genoma con SARS-CoV e il 50% con MERS-CoV<sup>24</sup>. La sua organizzazione del genoma è condivisa con altri betacoronavirus. Le sei strutture funzionali di lettura aperta (ORF) sono disposte in ordine da 5' a 3': replicasi (ORF1a/ORF1b), punta (S), involucro (E), membrana (M) e nucleocapside (N). Inoltre, tra i geni strutturali sono intercalati sette presunti ORF

che codificano per proteine accessorie<sup>25</sup>. La maggior parte delle proteine codificate da SARS-CoV-2 ha un simile

.(174,173)

Quindi, conoscenza e comprensione di

Lo sviluppo di un vaccino a base di proteina S in SARS-COV aiuterà a identificare potenziali candidati al vaccino a base di proteina S in SARS-CoV-2. Pertanto, le strategie vaccinali basate sull'intera proteina S, sulle subunità della proteina S o su specifici potenziali epitopi della proteina S sembrano essere i candidati vaccini più promettenti contro i coronavirus. L'RBD della subunità S1 della proteina S ha una capacità superiore di indurre anticorpi neutralizzanti. Questa proprietà dell'RBD può essere utilizzata per progettare potenziali vaccini SARS-COV utilizzando proteine ricombinanti contenenti RBD o vettori ricombinanti che codificano per RBD (175). Pertanto, la somiglianza genetica superiore esistente tra SARS-CoV-2 e SARS-CoV può essere utilizzata per riutilizzare vaccini che hanno dimostrato efficacia in vitro contro SARS-CoV da utilizzare per SARS-CoV-2. La possibilità di protezione incrociata in COVID-19 è stata valutata confrontando le sequenze della proteina S di SARS-CoV-2 con quella di SARS-CoV. L'analisi comparativa ha confermato che i residui variabili sono stati trovati concentrati sulla subunità S1 della proteina S, un importante bersaglio vaccinale del virus (150). Pertanto, la possibilità che anticorpi neutralizzanti specifici per SARS-CoV forniscano protezione incrociata a COVID-19 potrebbe essere inferiore. È necessaria un'ulteriore analisi genetica

virus nei lavaggi nasali, nella saliva, nelle urine e nelle feci fino a 8 giorni dopo l'infezione e alcuni furetti ingenui con solo contatto indiretto sono risultati positivi per l'RNA virale, suggerendo una trasmissione per via aerea<sup>78</sup>. Inoltre, sono state documentate anche la trasmissione del virus attraverso la superficie oculare e la presenza prolungata di RNA virale SARS-CoV-2 nei campioni fecali <sup>101,102</sup>. I coronavirus possono persistere su superfici inanimate per giorni, il che potrebbe essere anche il caso della SARS-CoV-2 e potrebbe rappresentare un rischio prolungato di infezione <sup>103</sup>. Questi risultati spiegano la rapida diffusione geografica di COVID-19 e gli interventi di sanità pubblica per ridurre la trasmissione fornirà benefici per mitigare l'epidemia, come si è dimostrato efficace in Cina e in molti altri paesi, come la Corea del Sud<sup>89,104,105</sup>

## Diagnosi

La diagnosi precoce è fondamentale per controllare la diffusione di COVID-19. Il rilevamento molecolare dell'acido nucleico SARS-CoV-2 è il gold standard. Molti kit di rilevamento dell'acido nucleico virale mirati ai geni ORF1b (incluso RdRp), N, E o S sono disponibili in commercio <sup>11,106-109</sup>. Il tempo di rilevamento varia da alcuni minuti a ore a seconda della tecnologia

<sup>110,111,112,113,114,115</sup>. Il

rilevamento molecolare può essere influenzato da molti fattori. Sebbene SARS-CoV-2 sia stato rilevato da una varietà di fonti respiratorie, inclusi tamponi faringei, saliva orofaringea posteriore, tamponi nasofaringei, espettorato e liquido bronchiale, la carica virale è più alta nei campioni del tratto respiratorio inferiore<sup>11,96,112-115</sup>. Inoltre, l'acido nucleico virale è stato trovato anche nei campioni del tratto intestinale o del sangue anche quando i campioni respiratori erano negativi<sup>116</sup>. Infine, la carica virale potrebbe già scendere dal suo livello di picco all'insorgenza della malattia <sup>96, 97</sup>. Di conseguenza, i falsi negativi possono essere comuni quando si utilizzano tamponi

orali e quindi dovrebbero essere adottati più metodi di rilevamento per confermare una diagnosi di COVID-19 117,118.

Altri metodi di rilevamento sono stati quindi utilizzati per superare questo problema. La TC del torace è stata utilizzata per identificare rapidamente un paziente quando la capacità di rilevamento molecolare era sovraccarica a Wuhan. Pazienti

le zone. Ad esempio, uno studio di coorte a Londra ha rivelato che il 44% degli operatori sanitari in prima linea di un ospedale era stato infettato da SARS-CoV-2 (REF.94). L'elevata trasmissibilità di SARS-CoV-2 può essere attribuita alle caratteristiche virologiche uniche di SARS-CoV-2. La trasmissione di SARS-CoV si è verificata principalmente dopo l'insorgenza della malattia e ha raggiunto il picco dopo la gravità della malattia<sup>95</sup>. Tuttavia, la carica virale SARS-CoV-2 nei campioni del tratto respiratorio superiore era già massima durante la prima settimana di sintomi, e quindi il rischio di diffusione del virus faringeo era molto alto all'inizio dell'infezione<sup>96,97</sup>. È stato postulato che le infezioni non documentate potrebbero rappresentare il 79% dei casi documentati a causa dell'elevata trasmissibilità del virus durante la malattia lieve o il periodo asintomatico<sup>89</sup>. Un paziente con COVID-19 diffonde virus in goccioline liquide durante il discorso. Tuttavia, si possono visualizzare anche particelle più piccole e molto più numerose note come particelle di aerosol, che potrebbero rimanere nell'aria per lungo tempo e poi penetrare in profondità nei polmoni se inalate da qualcun altro<sup>98-100</sup>. La trasmissione aerea è stata osservata anche negli esperimenti sui furetti menzionati sopra. Capannone di furetti infetti da SARS-CoV-2

o addirittura muoiono, mentre la maggior parte dei giovani e dei bambini ha solo malattie lievi (non polmonite o polmonite lieve) o è asintomatica<sup>9,81,82</sup>. In particolare, il rischio di malattia non era più elevato per le donne in gravidanza.

Tuttavia, sono state segnalate prove di trasmissione transplacentare di SARS-CoV-2 da una madre infetta a un neonato, sebbene si trattasse di un caso isolato<sup>83,84</sup>. In caso di infezione, i sintomi più comuni sono febbre, affaticamento e tosse secca<sup>13,60,80,81</sup>. Sintomi meno comuni includono produzione di espettorato, mal di testa, emottisi, diarrea, anoressia, mal di gola, dolore toracico, brividi e nausea e vomito negli studi su pazienti in Cina<sup>13,60,80,81</sup>. Disturbi dell'olfatto e del gusto auto-riferiti sono stati segnalati anche da pazienti in Italia <sup>5</sup>. La maggior parte delle persone ha mostrato segni di malattia dopo un periodo di incubazione di 1-14 giorni (più comunemente intorno ai 5 giorni) e dispnea e polmonite si sono sviluppate entro un tempo mediano di 8 giorni dall'inizio della malattia.

In un rapporto di 72.314 casi in Cina, l'81% dei casi è stato classificato come lieve, il 14% erano casi gravi che richiedevano ventilazione in un'unità di terapia intensiva (ICU) e un 5% erano critici (ovvero i pazienti presentavano insufficienza respiratoria, shock settico e/o disfunzione o insufficienza multiorgano)<sup>9,86</sup>.

Al momento del ricovero, l'opacità a vetro smerigliato era il reperto radiologico più comune alla tomografia computerizzata (TC) del torace <sup>13,60,80,81</sup>. La maggior parte dei pazienti ha sviluppato anche una marcata linfopenia, simile a quanto osservato nei pazienti con SARS e MERS, e i non sopravvissuti hanno sviluppato una linfopenia più grave nel tempo <sup>13,60,80,81</sup>. Rispetto ai pazienti non in terapia intensiva, i pazienti in terapia intensiva avevano livelli più alti

di citochine plasmatiche, che suggerisce un processo immunopatologico causato da una tempesta di citochine 60,86,87. In questa coorte di pazienti, circa il 2,3% delle persone è deceduto entro un tempo mediano di 16 giorni dall'insorgenza della malattia<sup>9,86</sup>. Gli uomini di età superiore ai 68 anni avevano un rischio più elevato di insufficienza respiratoria, danno cardiaco acuto e insufficienza cardiaca che ha portato alla morte, indipendentemente da una storia di malattie cardiovascolari<sup>6</sup> (FIG. 4). La maggior parte dei pazienti si è ripresa abbastanza da essere dimessa dall'ospedale in 2 settimane <sup>9,80</sup> (FIG. 4).

La prima trasmissione di SARS-CoV-2 a Wuhan nel dicembre 2019 è stata inizialmente collegata al mercato all'ingrosso di frutti di mare di Huanan ed è stata suggerita come fonte dell'epidemia <sup>9,22,60</sup>. Tuttavia, la trasmissione della comunità potrebbe essere avvenuta prima.

Successivamente, la trasmissione da uomo a uomo in corso ha propagato l'epidemia. È generalmente accettato che SARS-CoV-2 sia più trasmissibile di SARS-CoV e MERS-CoV; tuttavia, la determinazione di un numero di riproduzione accurato (RO) per COVID-19 non è ancora possibile, poiché molte infezioni asintomatiche non possono essere contabilizzate con precisione in questa fase. Di recente è stato proposto un RO stimato di 2,5 (compreso tra 1,8 e 3,6) per SARS-CoV-2, rispetto a 2,0-3,0 per SARS-CoV<sup>90</sup>. In particolare, la maggior parte della trasmissione da uomo a uomo di SARS-CoV-2 all'inizio in Cina si è verificata in gruppi familiari e in altri paesi grandi focolai si sono verificati anche in altri contesti, come comunità di lavoratori migranti, macelli e confezionamento della carne. piante, indicando la necessità di isolare le persone infette<sup>9,12,91-93</sup>. La trasmissione nosocomiale non è stata la principale fonte di trasmissione in Cina a causa dell'implementazione di misure di controllo delle infezioni in contesti clinici. Al contrario, in qualche altro è stato riportato un alto rischio di trasmissione nosocomiale

basse vie respiratorie. Sono state osservate polmonite interstiziale virale acuta e risposte immunitarie umorali e cellulari 48,75. Inoltre, la diffusione prolungata del virus ha raggiunto il picco precoce nel corso dell'infezione nei macachi asintomatici e le scimmie anziane hanno mostrato una polmonite interstiziale più grave rispetto alle scimmie giovani," che è simile a quanto osservato nei pazienti con COVID-19. Nei topi umani transgenici ACE2 infetti da SARS-CoV-2, era presente la tipica polmonite interstiziale e sono stati osservati antigeni virali principalmente nelle cellule epiteliali bronchiali, nei macrofagi e negli epitelii alveolari. Alcuni topi transgenici umani ACE2 sono addirittura morti dopo l'infezione<sup>70,71</sup>. -tipo topi, al passaggio 6 è stato generato un ceppo adattato al topo SARS-CoV-2 con l'alterazione N501Y nel RBD della proteina S. La polmonite interstiziale e le risposte infiammatorie sono state riscontrate sia nei topi giovani che in quelli anziani dopo l'infezione con il topo- ceppo adattato 4. Anche i criceti dorati hanno mostrato sintomi tipici dopo essere stati infettati da SARS-CoV-2 (REF.77). In altri modelli animali, inclusi gatti e furetti, SARS-CoV-2 poteva replicarsi efficacemente nel tratto respiratorio superiore, ma non induce gravi sintomi clinici<sup>43,78</sup>. Poiché la trasmissione per contatto diretto e per via aerea è stata osservata in furetti e criceti infetti, questi animali potrebbero essere utilizzati per modellare diverse modalità di trasmissione di COVID-19 (REFS77-79). I modelli animali offrono informazioni importanti per comprendere la patogenesi dell'infezione da SARS-CoV-2 e le dinamiche di trasmissione di SARS-CoV-2 e sono importanti per valutare l'efficacia delle terapie antivirali e dei vaccini.

#### Caratteristiche cliniche ed epidemiologiche

Sembra che tutte le età della popolazione siano suscettibili all'infezione da SARS-CoV-2 e l'età media dell'infezione è di circa 50 anni" <sup>9,13,60,80,81</sup>.

Tuttavia, le manifestazioni cliniche differiscono con l'età. In generale, gli uomini più anziani (> 60 anni) con comorbidità hanno maggiori probabilità di sviluppare malattie respiratorie gravi che richiedono il ricovero in ospedale

La patogenesi dell'infezione da SARS-CoV-2 nell'uomo si manifesta con sintomi da lievi a grave insufficienza respiratoria. Legandosi alle cellule epiteliali del tratto respiratorio, il SARS-CoV-2 inizia a replicarsi e a migrare verso le vie aeree ed entra nelle cellule epiteliali alveolari nei polmoni. La rapida replicazione di SARS-CoV-2 nei polmoni può innescare una forte risposta immunitaria.

La sindrome da tempesta di citochine causa sindrome da distress respiratorio acuto e insufficienza respiratoria, che è considerata la principale causa di morte nei pazienti con COVID-19 (REFS60,61). I pazienti di età avanzata (>60 anni) e con gravi patologie preesistenti hanno un rischio maggiore di sviluppare sindrome da distress respiratorio acuto e morte62-64 (FIG. 4). In alcuni casi di COVID-19 è stata segnalata anche insufficienza multiorgano9,13,65

I cambiamenti istopatologici nei pazienti con COVID-19 si verificano principalmente nei polmoni. Le analisi istopatologiche hanno mostrato danni alveolari diffusi bilaterali, formazione di membrane ialine, desquamazione di pneumociti e depositi di fibrina nei polmoni di pazienti con COVID-19 grave. In alcuni casi è stata evidenziata anche un'inflammatione essudativa. I test di immunohistochemical hanno rilevato l'antigene SARS-CoV-2 nelle vie aeree superiori, nell'epitelio bronchiolare e nell'epitelio della ghiandola sottomucosa, nonché negli pneumociti di tipo I e di tipo II, nei macrofagi alveolari e nelle membrane ialine nei polmoni 13,60,66,67

I modelli animali utilizzati per studiare la patogenesi dell'infezione da SARS-CoV-2 includono primati non umani (macachi rhesus, scimmie cynomolgus, uistiti e scimmie verdi africane), topi (topi selvatici (con virus adattato al topo) e umani ACE2-transgenici o topi umani ACE2-knock-in), furetti e criceti dorati 43,48,68-74. Nei modelli animali di primati non umani, la maggior parte delle specie

mostra caratteristiche cliniche simili a quelle dei pazienti con COVID-19, tra cui la diffusione del virus, la replicazione del virus e le risposte dell'ospite all'infezione da SARS-COV-2<sup>69,72,73</sup>. Ad esempio, nel modello macaco rhesus, sono state rilevate alte cariche virali nella parte superiore e

è apparso asintomatico<sup>5</sup>. Un altro studio sierologico ha rilevato anticorpi neutralizzanti SARS-CoV-2 in campioni di siero di gatto raccolti a Wuhan dopo l'epidemia di COVID-19, fornendo prove dell'infezione da SARS-CoV-2 nelle popolazioni di gatti a Wuhan, sebbene il potenziale di SARS- La trasmissione di CoV-2 dai gatti all'uomo è attualmente incerta<sup>46</sup>.

Uso del recettore e patogenesi

SARS-CoV-2 utilizza lo stesso recettore di SARS-CoV, l'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2)<sup>11,47</sup>. Oltre all'ACE2 umano (hACE2), SARS-CoV-2 riconosce anche l'ACE2 di maiale, furetto, scimmia rhesus, zibetto, gatto, pangolino, coniglio e cane<sup>11,43,48,49</sup>. L'ampio utilizzo del recettore di SARS-CoV-2 implica che può avere una vasta gamma di ospiti e la diversa efficienza dell'uso di ACE2 in diversi animali può indicare le loro diverse suscettibilità all'infezione da SARS-CoV-2. La subunità S1 di un virus corona è ulteriormente suddivisa in due domini funzionali, un dominio N-terminale e un dominio C-terminale.

Le analisi strutturali e biochimiche hanno identificato una regione di 211 aminoacidi (aminoacidi 319-529) nel dominio S1 C-terminale di SARS-CoV-2 come RBD, che ha un ruolo chiave nell'ingresso del virus ed è l'obiettivo della neutralizzazione anticorpi<sup>50,51</sup> (FIG. 3a). L'RBM media il contatto con il recettore ACE2 (aminoacidi 437-507 della proteina SARS-CoV-2 S) e questa regione in SARS-CoV-2 differisce da quella in SARS-CoV nei cinque residui crit-

Attualmente, le nostre conoscenze sull'origine animale della SARS-CoV-2 rimangono in gran parte incomplete. Gli ospiti serbatoio del virus non sono stati chiaramente dimostrati. Non è noto se SARS-CoV-2 sia stato trasmesso all'uomo attraverso un ospite intermedio e quali animali possano fungere da ospite intermedio. Il rilevamento dei coronavirus RaTG13, RmYN02 e del pangolino implica che diversi coronavirus simili a SARS-CoV-2 circolano nella fauna selvatica. Inoltre, poiché studi precedenti hanno mostrato la ricombinazione come potenziale origine di alcuni sarbecovirus come SARS-CoV, non si può escludere che la ricombinazione dell'RNA virale tra diversi coronavirus correlati sia stata coinvolta nell'evoluzione di SARS-CoV-2. L'ampia sorveglianza dei virus correlati alla SARS-CoV-2 in Cina, nel sud-est asiatico e in altre regioni che prendono di mira pipistrelli, pangolini selvatici e catturati e altre specie selvatiche ci aiuterà a comprendere meglio l'origine zoonotica della SARS-CoV-2.

Oltre alla fauna selvatica, i ricercatori hanno studiato la suscettibilità degli animali domestici e da laboratorio all'infezione da SARS-CoV-2. Lo studio ha dimostrato sperimentalmente che SARS-CoV-2 si replica efficacemente nei gatti e nel tratto respiratorio superiore dei furetti, mentre cani, maiali, polli e anatre non erano suscettibili a SARS-CoV-2 (REF.43). La suscettibilità dei visoni è stata documentata da un rapporto dei Paesi Bassi su un focolaio di infezione da SARS-CoV-2 nei visoni d'allevamento. Sebbene i sintomi nella maggior parte dei visoni infetti fossero lievi, alcuni svilupparono gravi difficoltà respiratorie e morirono di polmonite interstiziale. Sia i test virologici che quelli sierologici hanno trovato prove di infezione naturale da SARS-CoV-2 in due cani provenienti da famiglie con casi umani di COVID-19 a Hong Kong, ma i cani

residui per il legame del recettore<sup>40</sup> (FIG. 3b). Rispetto ai ceppi del Guangdong, i coronavirus del pangolino segnalati dal Guangxi sono meno simili al SARS-CoV-2, con un'identità della sequenza del genoma dell'85,5%<sup>39</sup>. La ripetuta occorrenza di infezioni da coronavirus correlate a SARS-CoV-2 nei pangolini da diversi eventi di contrabbando suggerisce che questi animali siano possibili ospiti dei virus.

Tuttavia, a differenza dei pipistrelli, che trasportano i coronavirus in modo sano, i pangolini infetti hanno mostrato segni clinici e cambiamenti istopatologici, tra cui polmonite interstiziale e infiltrazione di cellule infiammatorie in diversi organi. Queste anomalie suggeriscono che è improbabile che i pangolini siano il serbatoio di questi coronavirus, ma è più probabile che abbiano acquisito i virus dopo lo spillover dagli ospiti naturali.

Un ospite intermedio di solito svolge un ruolo importante nello scoppio di coronavirus emergenti derivati da pipistrelli; ad esempio, zibetti delle palme per SARS-CoV e cammelli dromedari per MERS-CoV. I ceppi virali portati da questi due ospiti intermedi erano quasi geneticamente identici ai corrispondenti virus nell'uomo (più del 99% di identità della sequenza genomica)». Disprezzando un RBD praticamente identico a quello di SARS-CoV-2, i coronavirus del pangolino conosciuti fino ad oggi non hanno più del 92% di identità genomica con SARS-CoV-2 (REF.42). I dati disponibili non sono sufficienti per interpretare i pangolini come ospiti intermedi di SARS-CoV-2. Finora, nessuna prova ha dimostrato che i pangolini fossero direttamente coinvolti nell'emergenza della SARS-CoV-2.

nello Yunnan. Questo nuovo virus del pipistrello, denominato "RmYN02", è identico al 93,3% al SARS-CoV-2 in tutto il genoma. Nel gene del laboratorio lungo, mostra un'identità del 97,2% con SARS-COV-2, che è persino superiore a quella di RaTG13 (REF.28). Oltre a RaTG13 e RmYN02, l'analisi filogenetica mostra che anche i coronavirus di pipistrello ZC45 e ZXC21 precedentemente rilevati nei pipistrelli *Rhinolophus pusillus* della Cina orientale rientrano nel lignaggio SARS-CoV-2 del sottogenere Sarbecovirus<sup>36</sup> (FIG. 2). La scoperta di diversi coronavirus di pipistrello strettamente correlati a SARS-CoV-2 suggerisce che i pipistrelli sono possibili serbatoi di SARS-CoV-2 (REF.37). Tuttavia, sulla base delle scoperte attuali, la divergenza tra SARS-COV-2 e i relativi coronavirus di pipistrello rappresenta probabilmente più di 20 anni di evoluzione della sequenza, suggerendo che questi coronavirus di pipistrello possono essere considerati solo come il probabile precursore evolutivo della SARS- CoV-2 ma non come diretto progenitore di SARS-CoV-2 (REF.38).

Oltre ai pipistrelli, i pangolini sono un altro ospite della fauna selvatica probabilmente collegato alla SARS-CoV-2. Diversi virus correlati a SARS-CoV-2 sono stati identificati nei tessuti dei pangolini malesi contrabbandati dal sud-est asiatico nella Cina meridionale dal 2017 al 2019. Questi virus provenienti dai pangolini sequestrati indipendentemente dalle dogane provinciali del Guangxi e del Guangdong appartengono a due distinte sottolinee<sup>39-41</sup>. I ceppi di Guangdong, che sono stati isolati o sequenziati da diversi gruppi di ricerca da pangolini di contrabbando, hanno un'identità di sequenza del 99,8% tra loro. Sono strettamente correlati a SARS-CoV-2, esibendo una somiglianza di sequenza del 92,4%. In particolare, l'RBD dei coronavirus del pangolino del Guangdong è molto simile a quello della SARS-CoV-2. Il motivo legante il recettore (RBM; che fa parte dell'RBD) di questi virus ha una sola variazione di aminoacidi rispetto a SARS-CoV-2 ed è

identico a quello di SARS-CoV-2 in tutti e cinque i punti critici

differisce da quello di SARS-CoV nei cinque residui critici per il legame ACE2, vale a dire Y455L, L486F, N493Q, D494S e T501N52 (FIG. 3b, c). A causa di questi cambiamenti residui, l'interazione di SARS-CoV-2 con il suo recettore stabilizza i due hotspot che legano il virus sulla superficie di hACE2 (REF.50) (FIG. 3d). Inoltre, un motivo a quattro residui nell'RBM di SARS-CoV-2 (aminoacidi 482-485: G-V-E-G) si traduce in una conformazione più compatta della sua cresta legante hACE2 rispetto a SARS-CoV e consente un migliore contatto con il Elica N-terminale di hACE2 (REF.50). I dati biochimici hanno confermato che le caratteristiche strutturali del SARS-CoV-2 RBD hanno rafforzato la sua affinità di legame hACE2 rispetto a quella del SARS-CoV<sup>50,52,53</sup>

Analogamente ad altri coronavirus, SARS-CoV-2 necessita dell'elaborazione proteolitica della proteina S per attivare la via endocitica. È stato dimostrato che le proteasi dell'ospite partecipano alla scissione della proteina S e attivano l'ingresso di SARS-CoV-2, tra cui la proteasi transmembrana serina proteasi 2 (TMPRSS2), la catepsina L e la furina<sup>47,54,55</sup>.

I dati di sequenziamento dell'RNA a cellula singola hanno mostrato che TMPRSS2 è altamente espresso in diversi tessuti e siti corporei ed è co-espresso con ACE2 nelle cellule epiteliali nasali, nei polmoni e nei rami bronchiali, il che spiega parte del tropismo tissutale di SARS-CoV-2 (REFS).<sup>(56'57)</sup> I test di ingresso dello pseudovirus SARS-CoV-2

hanno rivelato che TMPRSS2 e catepsina L hanno effetti cumulativi con la furina sull'attivazione dell'ingresso del virus<sup>55</sup>. L'analisi della struttura della microscopia crioelettronica della proteina SARS-CoV-2 S ha rivelato che il suo RBD è principalmente nello stato sdraiato, mentre la proteina SARS-CoV S assume stati conformazionali ugualmente in piedi e sdraiati<sup>50, 51,58,59</sup>. Una conformazione sdraiata della proteina

SARS-CoV-2 S potrebbe non essere a favore del legame del recettore, ma è utile per l'evasione immunitaria 55.

ॡॡ

infezioni clinicamente o attraverso test di laboratorio di routine. Pertanto la storia del viaggio diventa importante. Tuttavia, man mano che l'epidemia si diffonde, la cronologia dei viaggi diventerà irrilevante.

Trattamento [21, 23]

Il trattamento è essenzialmente di supporto e sintomatico.

Il primo passo è garantire un adeguato isolamento (discusso in seguito) per prevenire la trasmissione ad altri contatti, pazienti e operatori sanitari. La malattia lieve dovrebbe essere gestita a casa con consulenza sui segnali di pericolo. I soliti principi sono il mantenimento dell'idratazione e della nutrizione e il controllo della febbre e della tosse. L'uso di routine di antibiotici e antivirali come l'oseltamivir dovrebbe essere evitato nei casi confermati. Nei pazienti ipossici, fornitura di ossigeno attraverso cannule nasali, maschera facciale, nasale ad alto flusso

infezioni clinicamente o attraverso test di laboratorio di routine. Pertanto la storia del viaggio diventa importante. Tuttavia, man mano che l'epidemia si diffonde, la cronologia dei viaggi diventerà irrilevante.

Trattamento [21, 23]

Il trattamento è essenzialmente di supporto e sintomatico.

Il primo passo è garantire un adeguato isolamento (discusso in seguito) per prevenire la trasmissione ad altri contatti, pazienti e operatori sanitari. La malattia lieve dovrebbe essere gestita a casa con consulenza sui segnali di pericolo. I soliti principi sono il mantenimento dell'idratazione e della nutrizione e il controllo della febbre e della tosse. L'uso di routine di antibiotici e antivirali come l'oseltamivir dovrebbe essere evitato nei casi confermati. Nei pazienti ipossici, fornitura di ossigeno attraverso cannule nasali, maschera facciale, nasale ad alto flusso

Δ •

consolidamento. È anche anormale nei pazienti asintomatici/pazienti senza evidenza clinica di coinvolgimento del tratto respiratorio inferiore. Infatti, scansioni TC anormali sono state utilizzate per diagnosticare il COVID-19 in casi sospetti con diagnosi molecolare negativa; molti di questi pazienti avevano test molecolari positivi alla ripetizione del test [22].

Diagnosi differenziale [21]

La diagnosi differenziale comprende tutti i tipi di infezioni virali respiratorie. ]influenza, parainfluenza, virus respiratorio sinciziale (RSV), adenovirus, metapneumovirus umano, coronavirus non COVID-19], organismi atipici (micoplasma, clamidia) e infezioni batteriche. Non è possibile differenziare il COVID-19 da queste infezioni clinicamente o attraverso test di laboratorio di routine. Pertanto la storia del viaggio diventa importante. Tuttavia, mentre l'epidemia si diffonde, la storia del viaggio

l'epidemia progredisce, saranno disponibili test commerciali. Altre indagini di laboratorio sono solitamente non specifiche. La conta dei globuli bianchi è generalmente normale o bassa. Potrebbe esserci linfopenia; una conta dei linfociti <1000 è stata associata a malattia grave. La conta piastrinica è generalmente normale o leggermente bassa. La PCR e la VES sono generalmente elevate, ma i livelli di procalcitonina sono generalmente normali. Un livello elevato di procalcitonina può indicare una coinfezione batterica. ALT/AST, tempo di protrombina, creatinina, D-dimero, CPK e LDH possono essere elevati e livelli elevati sono associati a malattia grave. La radiografia del torace (CXR) di solito mostra infiltrati bilaterali, ma può essere normale nelle fasi iniziali della malattia. La TC è più sensibile e specifica. L'imaging TC generalmente mostra infiltrati, opacità a vetro smerigliato e subsegmentali

di trasmissione locale persistente o contatto con pazienti con storia di viaggio simile o con infezione da COVID-19 confermata. Tuttavia i casi possono essere asintomatici o anche senza febbre.

Un caso confermato è un caso sospetto con un test molecolare positivo.

La diagnosi specifica avviene mediante test molecolari specifici su campioni respiratori (tampone faringeo/tampone rinofaringeo/escreato/aspirato endotracheale e lavaggio broncoalveolare). Il virus può anche essere rilevato nelle feci e, nei casi più gravi, nel sangue.

Va ricordato che i pannelli PCR multiplex attualmente disponibili non includono il COVID-19. Anche i test commerciali non sono attualmente disponibili. In un caso sospetto in India, il campione appropriato deve essere inviato a laboratori di riferimento designati in India o al National Institute of Virology di Pune.

Mentre l'epidemia avanza, test commerciali

era legato a un membro della famiglia e 26 bambini avevano una storia di viaggio/residenza nella provincia di Hubei in Cina. Tutti i pazienti erano asintomatici (9%) o avevano una malattia lieve. Non sono stati osservati casi gravi o critici. I sintomi più comuni sono stati febbre (50%) e tosse (38%). Tutti i pazienti sono guariti con la terapia sintomatica e non ci sono stati decessi. È stato riportato anche un caso di polmonite grave e disfunzione multiorgano in un bambino [19]. Allo stesso modo i casi neonatali che sono stati segnalati sono stati lievi [20].

#### Diagnosi [21]

Un caso sospetto è definito come un caso con febbre, mal di gola e tosse che ha una storia di viaggio in Cina o altre aree di trasmissione locale persistente o contatto con pazienti con storia di viaggio simile o quelli con confermata

È interessante notare che la malattia nei pazienti al di fuori della provincia di Hubei è stata segnalata come più lieve di quella di Wuhan [17]. Allo stesso modo, è stato riportato che la gravità e il tasso di mortalità nei pazienti al di fuori della Cina sono più lievi [6]. Ciò può essere dovuto a bias di selezione in cui i casi segnalati da Wuhan includevano solo i casi gravi o a causa della predisposizione della popolazione asiatica al virus a causa della maggiore espressione dei recettori ACE2 sulla mucosa respiratoria [11].

È stato anche segnalato che la malattia nei neonati, nei lattanti e nei bambini è significativamente più lieve rispetto alle loro controparti adulte. In una serie di 34 bambini ricoverati in un ospedale di Shenzhen, in Cina, tra il 1<sup>o</sup> gennaio e il 7 febbraio, c'erano 14 maschi e 20 femmine. L'età media era di 8 e 11 mesi e in 28 bambini l'infezione era legata a un membro della famiglia e 26

identificato il recettore 2 dell'angiotensina (ACE2) come il recettore attraverso il quale il virus entra nella mucosa respiratoria [11].

Il tasso di riproduzione del caso di base (BCR) è stimato tra 2 e 6,47 in vari studi di modellazione [11]. In confronto, il BCR della SARS era 2 e 1,3 per l'influenza pandemica H1N1 2009 [2].

Caratteristiche cliniche [8, 15-18]

Le caratteristiche cliniche di COVID-19 sono varie e vanno dallo stato asintomatico alla sindrome da distress respiratorio acuto e alla disfunzione multiorgano. Le caratteristiche cliniche comuni includono febbre (non in tutti), tosse, mal di gola, mal di testa, affaticamento, cefalea, mialgia e affanno. È stata descritta anche la congiuntivite.

Pertanto, sono indistinguibili da altre infezioni respiratorie in un imbroglione

Δϕ

sulle superfici. Il virus può rimanere praticabile sulle superfici per giorni condizioni atmosferiche favorevoli ma vengono distrutti in meno di un minuto da comuni disinfettanti come il sodio ipoclorito, perossido di idrogeno ecc.

[13] L'infezione si acquisisce per inalazione di queste goccioline o toccando superfici da esse contaminate e poi toccando il naso, la bocca e gli occhi.

Il virus è presente anche nelle feci e si ipotizza anche la contaminazione della rete idrica e la successiva trasmissione per aerosolizzazione/feco-via

orale [6]. Secondo le informazioni attuali,

la trasmissione transplacentare

dalle donne in gravidanza al loro

feto non è stata descritta [14]. Tuttavia,

viene descritta la malattia neonatale

dovuta alla trasmissione postnatale [14].

Il periodo di incubazione varia da 2 a

14 giorni [mediana 5 giorni]. Gli studi hanno

identificato il recettore dell'angiotensina 2

## Epidemiologia e patogenesi

Tutte le età sono suscettibili. L'infezione viene trasmessa attraverso goccioline di grandi dimensioni generate durante la tosse e gli starnuti da pazienti sintomatici, ma può verificarsi anche da persone asintomatiche e prima dell'insorgenza dei sintomi

[6] Gli studi hanno mostrato cariche virali più elevate nella cavità nasale rispetto alla gola senza differenze nella carica virale tra persone sintomatiche e asintomatiche

[7] I pazienti possono essere contagiosi fino a quando i sintomi durano e anche al recupero clinico. Alcune persone possono agire come super spargitori; un cittadino del Regno Unito che ha partecipato a una conferenza a Singapore ha infettato altre 11 persone mentre si trovava in un resort nelle Alpi francesi e al suo ritorno nel Regno Unito [6]. Queste goccioline infette possono diffondersi per 1-2 m e depositarsi

esponenzialmente in altri paesi tra cui Corea del Sud, Italia e Iran. Di quelli infetti, il 20% è in condizioni critiche, il 25% è guarito e 3310 (3013 in Cina e 297 in altri paesi) sono morti .[ʔ]Anche l'India, che aveva segnalato solo 3 casi fino al 2/3/2020, ha registrato un'improvvisa ondata di casi. Al 5/3/2020 erano stati segnalati 29 casi; soprattutto a Delhi, Jaipur e Agra tra i turisti italiani e i loro contatti. Un caso è stato segnalato in un indiano che è tornato da Vienna e ha esposto un gran numero di scolari a una festa di compleanno in un hotel di città. Molti dei contatti di questi casi sono stati messi in quarantena. Questi numeri sono forse una sottostima degli infetti e dei morti a causa delle limitazioni della sorveglianza e dei test. Sebbene il SARS-COV-2 abbia avuto origine dai pipistrelli, l'intermediario

esponenzialmente in altri paesi tra cui Corea del Sud, Italia e Iran. Di quelli infetti, il 20% è in condizioni critiche, il 25% è guarito e 3310 (3013 in Cina e 297 in altri paesi) sono morti .[ʔ]Anche l'India, che aveva segnalato solo 3 casi fino al 2/3/2020, ha registrato un'improvvisa ondata di casi. Al 5/3/2020 erano stati segnalati 29 casi; soprattutto a Delhi, Jaipur e Agra tra i turisti italiani e i loro contatti. Un caso è stato segnalato in un indiano che è tornato da Vienna e ha esposto un gran numero di scolari a una festa di compleanno in un hotel di città. Molti dei contatti di questi casi sono stati messi in quarantena. Questi numeri sono forse una sottostima degli infetti e dei morti a causa delle limitazioni della sorveglianza e dei test. Sebbene il SARS-COV-2 abbia avuto origine dai pipistrelli, l'intermediario

१ •

I casi hanno continuato ad aumentare in modo esponenziale e gli studi di modellazione hanno riportato un tempo di raddoppio dell'epidemia di 1,8 giorni [10]. Infatti, il 12 febbraio, la Cina ha cambiato la sua definizione di casi confermati per includere i pazienti con test molecolari negativi/in sospeso ma con caratteristiche cliniche, radiologiche ed epidemiologiche di COVID-19 portando a un aumento dei casi di 15.000 in un solo giorno [6]. Al 05/03/2020 sono stati segnalati 96.000 casi in tutto il mondo (80.000 in Cina) e 87 altri paesi e 1 trasporto internazionale (797) nella nave da crociera Diamond Princess parcheggiata al largo delle coste del Giappone) [2]. È importante notare che mentre il numero di nuovi casi si è recentemente ridotto in Cina, è aumentato in modo esponenziale in altri paesi tra cui Corea del Sud, Italia e Iran. Dei contagiati, il 20% è in condizioni critiche condizione 250% hOTO BOOovered e

6 \

esteso ad altre città della provincia di Hubei. Casi di COVID-19 in paesi al di fuori della Cina sono stati segnalati in quelli senza storia di viaggi in Cina, suggerendo che in questi paesi si stava verificando una trasmissione locale da uomo a uomo [9]. Gli aeroporti di diversi paesi, inclusa l'India, hanno introdotto meccanismi di screening per rilevare le persone sintomatiche che tornano dalla Cina e le hanno messe in isolamento e testate per COVID-19. Ben presto fu evidente che l'infezione poteva essere trasmessa da persone asintomatiche e anche prima della comparsa dei sintomi. Pertanto, i paesi, inclusa l'India, che hanno evacuato i propri cittadini da Wuhan attraverso voli speciali o hanno fatto rientrare i viaggiatori dalla Cina, hanno messo tutte le persone sintomatiche o meno in isolamento per 14 giorni e le hanno testate per il virus.

I casi hanno continuato ad aumentare esponenziale e studi di modellazione

## 14 TERAPIA ANTIVIRALE

COVID-19 è una malattia infettiva causata da SARS-COV-2, che è anche definito il nuovo coronavirus ed è diligentemente associato al virus SARS. Il Ministero della Scienza e della Tecnologia della Repubblica Popolare Cinese ha dichiarato tre potenziali farmaci antivirali adatti al trattamento del COVID-19. Questi tre farmaci sono, vale a dire, Favilavir, cloroquina fosfato e remdesivir. È stato condotto uno studio clinico per testare l'efficacia di questi tre farmaci e i risultati hanno dimostrato che dei tre farmaci di cui sopra solo Favilavir è efficace nel trattamento dei pazienti con nuovo coronavirus. I restanti due farmaci erano efficaci nel trattamento della malaria.<sup>6</sup>

62

Allo stesso modo, uno studio condotto negli Stati Uniti dal National Institute of Health ha dimostrato che il remdesivir è efficace nel trattamento del coronavirus della sindrome respiratoria mediorientale (MERS-COV), anch'esso un tipo di coronavirus trasmesso dalle scimmie. Il farmaco remdesivir è stato utilizzato anche negli Stati Uniti per il trattamento dei pazienti con COVID-19. C'è stata una proposta per utilizzare la combinazione di inibitori della proteasi lopinavir-ritonavir per il trattamento dei pazienti affetti da COVID-19.<sup>62</sup>

63

È anche evidente che remdesivir è stato efficace nel trattamento dei pazienti infettati dal virus Ebola. Secondo queste prove, la Cina ha già iniziato a testare l'efficacia del remdesivir nel trattamento dei pazienti con COVID-19, in particolare a Wuhan, dove si è verificata l'epidemia. La cloroquina, che è un farmaco esistente attualmente utilizzato nel trattamento dei casi di malaria, è stata somministrata a più di 100 pazienti affetti da nuovo coronavirus per testarne l'efficacia.<sup>62</sup>

In Cina è stato condotto uno studio multicentrico per testare l'efficacia del remdesivir nel trattamento dei pazienti con COVID-19. Pertanto, i risultati della sperimentazione clinica hanno dimostrato che remdesivir ha un livello di efficacia considerevolmente accettabile per il trattamento dei pazienti con COVID-19. Pertanto, la Commissione sanitaria nazionale della Repubblica popolare cinese ha deciso di includere remdesivir nelle linee guida per la prevenzione, la diagnosi e il trattamento della polmonite causata da COVID-19.<sup>62</sup> La cloroquina e l'idrossicloroquina sono farmaci anti-malaria esistenti somministrati anche a più di 300 pazienti infetti da COVID-19 nella provincia di Guangdong e nella provincia di Hunan per testarne l'efficacia e l'efficacia. Pertanto, i risultati della sperimentazione clinica hanno dimostrato che il

i risultati della sperimentazione clinica hanno mostrato che i pazienti a cui è stata somministrata la cloroquina hanno avuto una significativa riduzione della temperatura corporea. La sperimentazione clinica ha anche mostrato un migliore recupero tra i pazienti a cui sono state somministrate cloroquina e idrossicloroquina. 63-65 Il trattamento con idrossicloroquina è significativamente associato alla riduzione della carica virale e alla scomparsa nei pazienti con COVID-19. Inoltre, il risultato è rafforzato dall'azitromicina. Il ruolo di lopinavir e ritonavir nel trattamento di COVID-19 è incerto. Un potenziale beneficio è stato suggerito dai dati preclinici, ma ulteriori dati non sono riusciti a confermarlo. Tocilizumab è un agente immunomodulante utilizzato come terapia aggiuntiva in alcuni protocolli basati su un meccanismo teorico e dati preliminari limitati.<sup>6</sup>

#### 15 ASSISTENZA DOMICILIARE

La gestione domiciliare può essere appropriata per i pazienti con infezione lieve che possono essere adeguatamente isolati in regime ambulatoriale. La gestione di tali pazienti dovrebbe concentrarsi sulla prevenzione della trasmissione ad altri e sul monitoraggio del deterioramento clinico, che dovrebbe richiedere il ricovero in ospedale. Provvisorio. le raccomandazioni sulla gestione domiciliare dei pazienti con COVID-19 sono disponibili su

i pazienti con COVID-19 possono essere trovati sui siti Web dell'OMS e del CDC.<sup>67</sup>

## 16 CONCLUSIONE

Il virus corona (COVID-19) si diffonde a un ritmo allarmante in tutto il mondo. Lo scoppio del virus si è confrontato con le infrastrutture economiche, mediche e sanitarie pubbliche del mondo. Anche i pazienti anziani e immunocompromessi sono suscettibili agli impatti mortali del virus. Attualmente non esiste una cura documentata per il virus e non è stato creato alcun vaccino, sebbene alcuni protocolli di trattamento siano promettenti. Pertanto, il virus può essere controllato con le opportune strategie di prevenzione. Inoltre, è necessario tentare di formulare strategie sistematiche per prevenire tali future epidemie zoonotiche.

inclusi IL2, IL7, IL10, GCSF, IP10, MCP1, MIP1A e TNF $\alpha$  [15]. Il tempo mediano dall'insorgenza dei sintomi alla dispnea è stato di 5 giorni, l'ospedalizzazione di 7 giorni e la sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) di 8 giorni. La necessità di ricovero in terapia intensiva era nel 25-30% dei pazienti affetti nelle serie pubblicate. Le complicazioni osservate includevano lesioni polmonari acute, ARDS, shock e lesioni renali acute. Il recupero è iniziato nella 2a o 3a settimana. La durata mediana della degenza ospedaliera in coloro che si sono ripresi è stata di 10 giorni. Gli esiti avversi e la morte sono più comuni negli anziani e in quelli con comorbidità sottostanti (50-75% dei casi fatali). Il tasso di mortalità nei pazienti adulti ospedalizzati variava dal 4 all'11%. Si stima che il tasso di mortalità complessivo sia compreso tra il 2 e il 3% .[7]

È interessante notare che la malattia nei pazienti al di fuori della provincia di Hubei è stato

•Tutti i medici dovrebbero tenersi aggiornati sui recenti sviluppi, compresa la diffusione globale della malattia.

•I viaggi internazionali non essenziali dovrebbero essere evitati in questo momento.

Le persone dovrebbero smettere di diffondere miti e false informazioni sulla malattia e cercare di placare il panico e l'ansia del pubblico.

### Conclusioni

Questa nuova epidemia di virus ha messo a dura prova le infrastrutture economiche, mediche e di sanità pubblica della Cina e, in una certa misura, in particolare di altri paesi, i suoi vicini. Solo il tempo dirà come il virus avrà un impatto sulle nostre vite qui in India. Inoltre, è probabile che continueranno le future epidemie di virus e agenti patogeni di origine zoonotica. Pertanto, oltre a frenare questo focolaio, dovrebbero essere fatti sforzi per

pazienti guariti e utilizzati per trasfusioni di plasma due volte in un volume da 200 a 250 ml il giorno della raccolta. (311) Al momento, il trattamento per la sepsi e l'ARDS prevede principalmente la terapia antimicrobica, il controllo della fonte e le cure di supporto. Pertanto, l'uso della plasmaterapia terapeutica può essere considerato un'opzione nella gestione di condizioni così gravi. Ulteriori studi randomizzati possono essere progettati per studiarne l'efficacia (311).

#### Potenziati agenti terapeutici

Le potenti terapie per combattere l'infezione da SARS-CoV-2 includono molecole leganti il virus, molecole o inibitori mirati a particolari enzimi implicati nel processo di replicazione e trascrizione del virus, inibitori dell'elicasi, proteasi e proteine virali vitali, inibitori della proteasi delle cellule ospiti, inibitori dell'endocitosi, breve RNA interferente (siRNA), anticorpi neutralizzanti, MAb contro il recettore dell'ospite, MAb che interferiscono con S1 RBD, peptide antivirale mirato a S2 e farmaci/farmaci naturali (7, 166, 186). La proteina S funge da bersaglio critico per lo sviluppo di antivirali CoV, come inibitori della proteina S e del clivaggio S, anticorpi neutralizzanti, bloccanti RBD-ACE2, siRNA, bloccanti del nucleo di fusione e proteasi (168).

Tutti questi approcci terapeutici hanno rivelato

Tutti questi approcci terapeutici hanno rivelato un potenziale anti-CoV sia in vitro che in vivo.

Sebbene la ricerca in vitro condotta con queste terapie abbia mostrato efficacia, la maggior parte necessita di un supporto appropriato da studi randomizzati su animali o umani. Pertanto, potrebbero essere di applicabilità limitata e richiedere prove contro SARS-CoV-2 per ottenere utilità pratica. Il legame di SARS-CoV-2 con ACE2 porta all'esacerbazione della polmonite come conseguenza dello squilibrio nel sistema renina-angiotensina (RAS). Le risposte infiammatorie polmonari indotte dal virus possono essere ridotte dalla somministrazione di ACE inibitori (ACEI) e del recettore di tipo 1 dell'angiotensina (AT1R) (207).

Diverse indagini hanno suggerito l'uso di inibitori di piccole molecole per il potenziale controllo delle infezioni da SARS-CoV. I farmaci della libreria di composti approvati dalla FDA sono stati sottoposti a screening per identificare quattro inibitori di piccole molecole di MERS-COV (clorpromazina, cloroquina, loperamide e lopinavir) che hanno inibito la replicazione virale.

Questi composti ostacolano anche SARS-CoV e umani. CoV (208). Le strategie terapeutiche che prevedono l'uso di specifici anticorpi o composti che neutralizzano le citochine e i loro recettori contribuiranno a frenare le risposte infiammatorie dell'ospite. Tali farmaci che agiscono specificamente nel tratto respiratorio aiuteranno

v.

in particolare nel tratto respiratorio aiuterà a

ridurre le patologie immunitarie innescate da virus in COVID-19 (209). Le fasi successive delle cascate infiammatorie indotte dal coronavirus sono caratterizzate dal rilascio di membri della famiglia proinfiammatoria dell'interleuchina-1 (IL-1), come IL-1 e IL-33. Quindi, esiste la possibilità che l'infiammazione associata al coronavirus possa essere inibita utilizzando citochine antinfiammatorie che appartengono alla famiglia IL-1 (92). È stato anche suggerito che la proteina actina sia il fattore ospite coinvolto nell'ingresso cellulare e nella patogenesi della SARS-CoV-2. Quindi, quei farmaci che modulano l'attività biologica di questa proteina, come l'ibuprofene, potrebbero avere qualche applicazione terapeutica nella gestione della malattia (174). Il livello plasmatico di angiotensina 2 è risultato essere marcatamente elevato nell'infezione da COVID-19 ed è stato correlato alla carica virale e al danno polmonare. Pertanto, i farmaci che bloccano i recettori dell'angiotensina possono avere un potenziale per il trattamento dell'infezione da COVID-19 (121). Uno scienziato tedesco, di nome Rolf Hilgenfeld, ha lavorato all'identificazione di farmaci per il trattamento dell'infezione coronavirale sin dai tempi della prima epidemia di SARS (19).

La subunità SARS-CoV S2 ha una funzione significativa nella mediazione della fusione virale che fornisce l'ingresso nella cellula ospite. Heptad ripetere 1 (HR1) e heptad

## Modelli animali e colture cellulari

Per valutare il potenziale dei vaccini e delle terapie contro i CoV, inclusi SARS-CoV, MERS-CoV e l'attuale SARS-CoV-2, sono necessari modelli animali idonei che possano mimare la malattia clinica (211, 212). Vari modelli animali sono stati valutati per SARS- e MERS-CoV, come topi, porcellini d'India, criceti siriani dorati, furetti, conigli, primati non umani come macachi rhesus e uistiti e gatti (185, 213-218). La specificità del virus per hACE2 (recettore della SARS-CoV) è risultata essere una barriera significativa nello sviluppo di modelli animali. Di conseguenza, è stato sviluppato un modello di topo transgenico SARS-CoV inserendo il gene hACE2 nel genoma del topo (219). L'incapacità di MERS-CoV di replicarsi nelle vie respiratorie degli animali (topi, criceti e furetti) è un altro fattore limitante. Tuttavia, con l'ingegneria genetica, è stato sviluppato un modello di topo geneticamente modificato 288-330/+ +MERS-CoV che ora è in uso per la valutazione di nuovi farmaci e vaccini contro MERS-CoV (220). In passato, piccoli animali (topi o criceti) sono stati presi di mira per essere più vicini a una struttura umanizzata, come il topo DPP4 alterato con DPP4 umano (hDPP4), i topi trasdotti con hDPP4 e i topi hDPP4-Tg (transgenici per esprimere

virologico,  
radiologico,  
e patologico

le osservazioni hanno indicato che le scimmie con  
riesposizione non hanno avuto recidive di COVID-19, come  
le scimmie infette da SARS-CoV-2 senza rechallenge.

Questi risultati suggeriscono che l'infezione primaria con  
SARS-COV-2 potrebbe proteggere da successive esposizioni  
al virus, il che potrebbe aiutare a definire la prognosi  
della malattia e deduzioni cruciali per la progettazione  
e lo sviluppo di potenti vaccini contro COVID-19  
(274).

#### PREVENZIONE, CONTROLLO E GESTIONE

Contrariamente alla loro risposta all'epidemia di  
SARS del 2002, la Cina ha mostrato un'immensa  
apertura politica nel segnalare tempestivamente l'epidemia  
di COVID-19. Hanno anche eseguito un  
rapido sequenziamento di COVID-19 a più livelli  
e condiviso i risultati a livello globale entro  
pochi giorni dall'identificazione del nuovo virus (225). La  
mossa della Cina ha aperto un nuovo capitolo nella sicurezza  
sanitaria globale e nella diplomazia. Anche se il blocco  
completo è stato dichiarato in seguito all'epidemia  
di COVID-19 a Wuhan, il movimento su larga scala  
di persone ha provocato una diffusione radiante di  
infezioni nelle province circostanti e in molti altri paesi.  
I programmi di screening su larga scala potrebbero

Paesi. I programmi di screening su larga scala potrebbero

aiutaci a controllare la diffusione di questo virus. Tuttavia, questo è sia impegnativo che dispendioso in termini di tempo a causa dell'attuale estensione dell'infezione (226). Lo scenario attuale richiede un'efficace attuazione di vigorose strategie di prevenzione e controllo a causa della prospettiva di COVID-19 per le infezioni nosocomiali (68). Si consiglia il follow-up telefonico dei pazienti infetti il giorno 7 e il giorno 14 per evitare qualsiasi ulteriore diffusione non intenzionale o trasmissione nosocomiale (312). La disponibilità di set di dati pubblici forniti da team analitici indipendenti fungerà da prova solida che ci guiderà nella progettazione di interventi contro l'epidemia di COVID-19. I resoconti dei giornali e i social media possono essere utilizzati per analizzare e ricostruire la progressione di un focolaio. Possono aiutarci a ottenere dati dettagliati a livello di paziente nelle prime fasi di un focolaio (227). Le restrizioni di viaggio immediate imposte da diversi paesi potrebbero aver contribuito in modo significativo a prevenire la diffusione di SARS-CoV-2 a livello globale (89, 228). A seguito dell'epidemia, è stato imposto un divieto temporaneo al commercio di specie selvatiche, tenendo presente il possibile ruolo svolto dalle specie animali selvatiche nell'origine della SARS-CoV-2/COVID-19 (147). Fare un'decisione permanente e coraggiosa sul commercio di selvaggina specie animale è necessario per prevenire la possibilità

individui suscettibili. Quindi, l'igiene delle mani è altrettanto importante quanto l'uso di DPI adeguati, come le mascherine, per interrompere il ciclo di trasmissione del virus; sia l'igiene delle mani che le mascherine facciali aiutano a ridurre il rischio di trasmissione del COVID-19 (315).

Il personale medico è nel gruppo di persone più a rischio di contrarre l'infezione da COVID-19. Questo perché sono esposti direttamente a pazienti infetti. Pertanto, a tutto il personale ospedaliero deve essere impartita un'adeguata formazione sui metodi di prevenzione e protezione, in modo che diventino sufficientemente competenti per proteggere se stessi e gli altri da questa malattia mortale.

(316) Come misura preventiva, gli operatori sanitari che si prendono cura dei pazienti infetti dovrebbero prendere precauzioni estreme sia contro il contatto che contro la trasmissione per via aerea. Dovrebbero utilizzare DPI come maschere facciali (N95 o FFP3), protezione per gli occhi (occhiali), camici e guanti per annullare il rischio di infezione.

(319)

La trasmissione da uomo a uomo riportata nell'infezione da SARS-CoV-2 avviene principalmente attraverso goccioline o contatto diretto. A causa di questo risultato, gli operatori sanitari in prima linea dovrebbero seguire un rigoroso controllo delle infezioni e misure preventive, come l'uso di DPI, per prevenire l'infezione (110). La salute mentale degli operatori sanitari coinvolti nell'epidemia di COVID-19 è ottima

coinvolti nell'epidemia di COVID-19 è di grande importanza, perché la tensione sul loro benessere mentale influenzerà la loro attenzione, concentrazione e capacità decisionale. Pertanto, per il controllo dell'epidemia di COVID-19, dovrebbero essere adottate misure rapide per proteggere la salute mentale degli operatori sanitari (229).

Poiché si sospetta che i mammiferi viventi venduti nel mercato umido siano l'ospite intermedio di SARS-CoV-2, è necessario rafforzare il meccanismo di regolamentazione per il commercio di animali selvatici (13). Il numero totale di casi confermati di COVID-19 è in continuo aumento e il tasso di guarigione è relativamente basso, rendendo molto difficile il controllo della malattia. Il governo cinese sta compiendo continui sforzi per contenere la malattia adottando misure di controllo e prevenzione di emergenza. Hanno già costruito un ospedale per i pazienti colpiti da questo virus e ne stanno attualmente costruendo molti altri per accogliere la popolazione infetta in continuo aumento (230). Il controllo efficace della SARS-CoV-2/COVID-19 richiede interventi di alto livello come il tracciamento intensivo dei contatti, nonché la quarantena delle persone con sospetta infezione e l'isolamento delle persone infette. L'attuazione congiunta di rigorose misure di controllo e di prevenzione potrebbe controllare il numero di  $R_0$  e ridurre il rischio di trasmissione (228). Considerando la zoonosi

Princess, Celebrity Apex e Ruby Princess. Il numero di casi confermati di COVID-19 in tutto il mondo è in aumento. Il successo delle misure preventive proposte da ogni paese dipende principalmente dalla loro capacità di anticipare l'avvicinarsi delle ondate di pazienti. Ciò contribuirà a preparare adeguatamente gli operatori sanitari e ad aumentare la capacità delle unità di terapia intensiva (UTI) (321). Invece di fare affidamento interamente sui protocolli di blocco, i paesi dovrebbero concentrarsi principalmente su strategie di intervento alternative, come test su larga scala, tracciamento dei contatti e quarantena localizzata di casi sospetti per limitare la diffusione di questo virus pandemico. Tali strategie di intervento saranno utili all'inizio della pandemia o dopo l'allentamento del blocco (322). Il blocco dovrebbe essere imposto solo per rallentare la progressione della malattia tra la popolazione in modo da non sovraccaricare il sistema sanitario.

Il numero di riproduzione ( $R_0$ ) dell'infezione da COVID-19 era stato precedentemente stimato essere compreso tra 1,4 e 2,5 (70); recentemente, è stato stimato tra 2,24 e 3,58 (76). Rispetto ai suoi predecessori del coronavirus, COVID-19 ha un valore  $R_0$  maggiore di quello di MERS ( $R_0 < 1$ ) (108) ma inferiore a quello di SARS (valore  $R_0$  da 2 a 5) (93). Tuttavia, per prevenire un'ulteriore diffusione della malattia durante le riunioni di massa,

prevenire l'ulteriore diffusione della malattia durante le riunioni di massa, le funzioni rimangono sospese nelle città colpite e le persone sono invitate a lavorare da casa (232). Pertanto, è un sollievo che l'attuale focolaio di infezione da COVID-19 possa essere tenuto sotto controllo con l'adozione di misure preventive e di controllo strategiche insieme all'isolamento precoce dei casi successivi nei prossimi giorni. Gli studi riportano inoltre che poiché il traffico aereo tra la Cina e i paesi africani è aumentato di molte volte nel decennio successivo allo scoppio della SARS, i paesi africani devono essere vigili per prevenire la diffusione del nuovo coronavirus in Africa (225). A causa della paura della diffusione del virus 78, la città di Wuhan è stata completamente chiusa (233). Il controllo immediato dei focolai di COVID-19 in corso sembra un compito immane, soprattutto per i paesi in via di sviluppo, a causa della loro incapacità di allocare stazioni di quarantena che potrebbero controllare i movimenti delle persone infette (234). Tali paesi sottosviluppati dovrebbero deviare le loro risorse ed energie per far rispettare il livello primario di misure preventive, come controllare l'ingresso di individui dalla Cina o dai paesi in cui la malattia è divampata, isolare gli individui infetti e mettere in quarantena le persone con sospetta infezione. La maggior parte dei paesi dell'Africa subsahariana ha un sistema sanitario fragile che può esserlo

i paesi hanno un sistema sanitario fragile che può essere paralizzato in caso di epidemia. Una gestione efficace del COVID-19 sarebbe difficile per i paesi a basso reddito a causa della loro incapacità di rispondere rapidamente a causa della mancanza di un sistema sanitario efficiente (65). Il controllo dei casi importati è fondamentale per prevenire la diffusione di COVID-19 in altri paesi che non hanno segnalato la malattia fino ad ora. La possibilità che un caso importato di COVID-19 porti a una trasmissione prolungata da uomo a uomo è stata stimata in 0,41. Questo può essere ridotto a un valore di 0,012 diminuendo il tempo medio dall'insorgenza dei sintomi all'ospedalizzazione e può essere reso possibile solo utilizzando sistemi di sorveglianza intensiva della malattia (235). Anche le importazioni silenziose di individui infetti (prima della manifestazione dei segni clinici) hanno contribuito in modo significativo alla diffusione della malattia nelle principali città del mondo. Anche se il divieto di viaggio è stato attuato a Wuhan (89), le persone infette che hanno viaggiato fuori città appena prima dell'imposizione del divieto potrebbero non essere state individuate e causare focolai locali (236). Le nuove malattie emergenti come il COVID-19 sono difficili da contenere all'interno del paese di origine, poiché la globalizzazione ha portato a un mondo senza confini. Pertanto, la collaborazione internazionale svolge un ruolo fondamentale

fatica. Recentemente sono stati individuati anche individui con manifestazioni cliniche asintomatiche e atipiche, dinamiche di trasmissione. Clinica atipica un'ulteriore aggiunta alla complessità delle manifestazioni della malattia può esprimere solo sintomi come affaticamento invece di segni respiratori come febbre, tosse ed espettorato. In tali casi, il medico deve essere vigile per la possibile insorgenza di manifestazioni cliniche asintomatiche e atipiche per evitare la possibilità di mancate diagnosi.

L'attuale epidemia causata da SARS-CoV-2 era, infatti, prevista. Analogamente alle precedenti epidemie, anche l'attuale pandemia sarà contenuta a breve. Tuttavia, la vera domanda è: come intendiamo contrastare la prossima epidemia zoonotica di CoV che probabilmente si verificherà entro i prossimi 5-10 anni o forse prima?

La nostra conoscenza della maggior parte dei CoV dei pipistrelli è scarsa, poiché questi virus non sono stati isolati e studiati e in genere vengono condotti studi approfonditi su tali virus solo quando sono associati a specifici focolai di malattie. Il prossimo passo dopo il controllo dell'epidemia di COVID-19 in Cina dovrebbe essere focalizzato sullo screening, l'identificazione, l'isolamento e la caratterizzazione dei CoV presenti nelle specie selvatiche della Cina, in particolare nei pipistrelli. Devono essere condotti sia studi in vitro che in vivo (utilizzando modelli animali adeguati).

Λ.

Modifica PDF

in particolare stuoie. DOM IN VITO e studi in vivo (utilizzando modelli animali adeguati) dovrebbe essere condotto per valutare il rischio di future epidemie. Attualmente mancano farmaci antivirali autorizzati o vaccini contro SARS-COV, MERS-CoV e SARS-CoV-2. Tuttavia, i progressi nella progettazione di farmaci e vaccini antivirali contro diverse altre malattie emergenti contribuiranno a sviluppare agenti terapeutici adeguati contro COVID-19 in breve tempo. Fino ad allora, dobbiamo fare affidamento esclusivamente su varie misure di controllo e prevenzione per evitare che questa nuova malattia diventi una pandemia.

AVIDOLOGIA

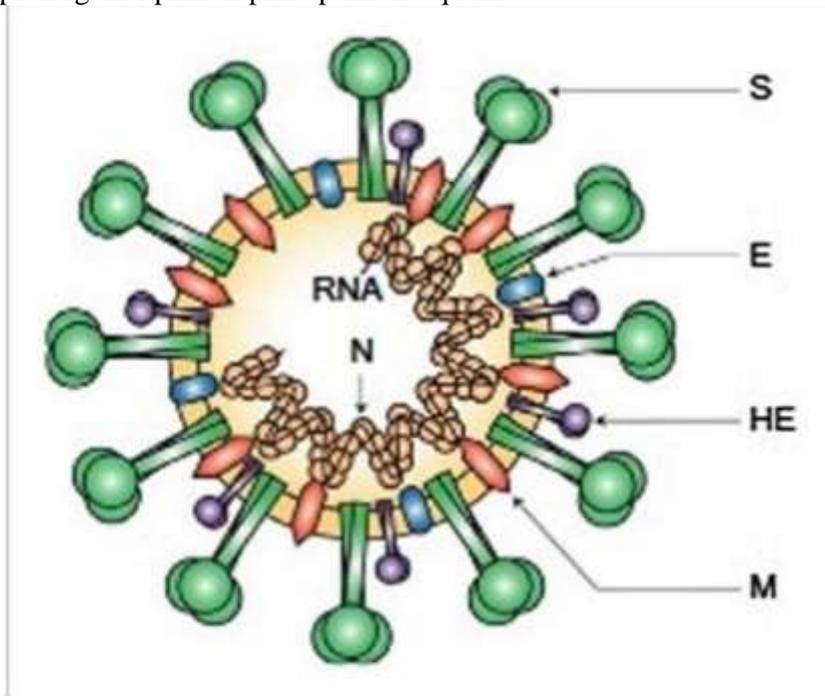
Λ 1

## †VIROLOGIA

I coronavirus, una famiglia di virus all'interno della superfamiglia dei nidovirus, sono ulteriormente classificati in base ai loro generi, alfa-, beta-, gamma- e deltacoronavirus (a-, B-, γ- e δ-). Tra questi, le specie alfa e beta sono in grado di contaminare solo i mammiferi, mentre gli altri due generi possono infettare gli uccelli e potrebbero anche infettare i mammiferi.<sup>13, 14</sup> Due di questi generi appartengono ai coronavirus umani (HCOV): gli a-coronavirus, che comprendono i coronavirus 229E (hcov229E) e coronavirus umano NL63 (hcovNL63) e B-coronavirus, che sono coronavirus umano HKU1, coronavirus umano OC43, MERS-COV (noto come coronavirus della sindrome respiratoria del Medio Oriente) e SARS-COV (indicato come grave sindrome respiratoria acuta sindrome respiratoria coronavirus.)

La sindrome respiratoria acuta grave COV-2 (SARS-COV-2) è ora chiamata romanzo COVID-19 (coronavirus disease 2019).<sup>16</sup> Il sequenziamento del genoma e la ricerca filogenetica hanno rivelato che il coronavirus che causa COVID-19 è un beta-coronavirus che appartiene agli stessi sottotipi del virus SARS, ma esiste ancora in un gruppo di varianti. La regione del gene che lega il recettore

epitopi antigenici primari principalmente quelli



**FIGURE 1**

ricognosciuti dagli anticorpi neutralizzanti. La proteina S della punta essendo in forma di punta è soggetta a un processo di riarrangiamento strutturale in modo che la fusione della membrana esterna del virus con la membrana della cellula ospite diventi più facile. 19, 20 Un recente lavoro sulla SARS-COV ha anche dimostrato che l'enzima di membrana esopeptidasi ACE (enzima di conversione dell'angiotensina) funziona come un recettore COVID-19 per entrare nella cellula umana.<sup>21</sup>

S

FIGURA 1

Λ³

## ¶ Replicazione virale

Di solito la replicazione del coronavirus avviene all'interno del citoplasma ed è strettamente associata al reticolo endoplasmatico e ad altri organelli della membrana cellulare. Si pensa che i coronavirus umani invadano le cellule, principalmente attraverso diversi recettori. Per 229E e OC43, l'amino peptidasi-N (AP-N) e un recettore contenente acido sialico, rispettivamente, erano noti per svolgere questo ruolo. Dopo che il virus è entrato nella cellula ospite e si è verificato il processo di rimozione del rivestimento, il genoma viene trascritto e quindi tradotto.

Una caratteristica della replicazione è che tutti gli mRNA formano un gruppo chiuso di tipiche estremità; vengono traslate solo le porzioni speciali delle estremità 5'. In totale, vengono prodotti circa 10 mRNA. I codici mRNA più corti e gli altri possono esprimere la sintesi di un altro segmento del genoma per la nucleoproteina. A livello della membrana cellulare, queste proteine vengono raccolte e l'RNA genomico viene avviato come tipo di particella matura germogliando dalle membrane cellulari interne. 22, 23

## Δ PATOGENESI

I coronavirus sono estremamente precisi e maturi nella maggior parte delle cellule epiteliali delle vie aeree osservate sia in vivo che in vitro

li, c'è un aumento dell'epidemia di questo virus attraverso la trasmissione da uomo a uomo, con il fatto che si è diffuso in tutto il mondo. Ciò conferma il fatto simile alle precedenti epidemie, tra cui SARS e MERS, che questo coronavirus ha mostrato una potenziale trasmissione da uomo a uomo, poiché è stato recentemente dichiarato una pandemia dall'OMS.<sup>26</sup> Le goccioline respiratorie sono il principale vettore di trasmissione del coronavirus. Tali goccioline possono rimanere nel naso o nella bocca o entrare nei polmoni attraverso l'aria inalata. Attualmente è noto che la trasmissione del COVID-19 da una persona all'altra avviene anche toccando una superficie infetta o addirittura un oggetto. Con l'attuale scarsa conoscenza dei sistemi di trasmissione, tuttavia, in molti paesi sono state proposte misure di sicurezza aerea con una procedura ad alto rischio. I livelli di trasmissione, o i tassi da una persona all'altra, riportati differiscono sia per la posizione che per l'interazione con il coinvolgimento nel controllo delle infezioni. Si afferma che anche gli individui asintomatici o quegli individui nel loro periodo di incubazione possono agire come portatori di SARS-CoV2.<sup>27, 28</sup> Con i dati e le prove forniti dal CDC, il normale periodo di incubazione è probabilmente da 3 a 7 giorni, a volte prolungato anche fino a 2 settimane e il tipico verificarsi dei sintomi

Test di laboratorio per la malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) in casi umani sospetti

La valutazione dei pazienti con COVID-19 dovrebbe basarsi sulle caratteristiche cliniche e anche su fattori epidemiologici. I protocolli di screening devono essere preparati e seguiti in base al contesto nativo.<sup>31</sup> La raccolta e l'analisi di campioni di campioni dall'individuo sospetto è considerato uno dei principi fondamentali per il controllo e la gestione dell'epidemia della malattia in un paese. I casi sospetti devono essere sottoposti a screening approfondito per rilevare il virus con l'ausilio di test di amplificazione degli acidi nucleici come la reazione a catena della polimerasi a trascrizione inversa (RT-PCR). Se un paese o una regione particolare non dispone della struttura per testare i campioni, i campioni della persona sospetta devono essere inviati ai laboratori di riferimento più vicini secondo l'elenco fornito dall'OMS.<sup>32</sup>

Si raccomanda inoltre che i pazienti sospetti vengano testati per gli altri patogeni respiratori eseguendo le indagini di laboratorio di routine secondo le linee guida locali, principalmente per differenziarsi da altri virus che includono virus dell'influenza, virus della parainfluenza, adenovirus, virus respiratorio sinciziale, rinovirus, virus umano

settimane e la comparsa dei sintomi tipici dal periodo di incubazione all'infezione richiede in media 12,5 giorni.<sup>29</sup>

#### ¶DIAGNOSI CLINICA

I sintomi di COVID-19 rimangono molto simili a quelli delle altre epidemie respiratorie del passato, che includono SARS e MERS, ma qui la gamma dei sintomi va dalla rinite lieve allo shock settico. Alcuni disturbi intestinali sono stati segnalati con le altre epidemie, ma COVID-19 era privo di tali sintomi. All'esame, nei pazienti si osserva un coinvolgimento unilaterale o bilaterale compatibile con polmonite virale e nei pazienti ricoverati nell'unità di terapia intensiva sono state osservate aree di consolidamento bilaterale multiple lobulari e sub-segmentali.

I pazienti in comorbilità hanno mostrato un decorso clinico più grave di quanto previsto dalle precedenti epidemie. La diagnosi di COVID-19 include la storia completa di viaggi e contatti, con test di laboratorio. È più preferibile scegliere lo screening sierologico, che può aiutare ad analizzare anche le infezioni asintomatiche; sono in corso diversi test sierologici per SARS-COV-2.<sup>14, 30</sup>

osservati attraverso esperimenti sia in vivo che in vitro. C'è una maggiore secrezione nasale osservata insieme all'edema locale a causa del danno della cellula ospite, che stimola ulteriormente la sintesi dei mediatori dell'infiammazione. Inoltre, queste reazioni possono indurre starnuti, difficoltà respiratorie provocando l'inibizione delle vie aeree ed elevando la temperatura della mucosa. Questi virus, quando vengono rilasciati, colpiscono principalmente le vie respiratorie inferiori, con i segni e i sintomi esistenti clinicamente. Inoltre, il virus colpisce ulteriormente i linfociti intestinali, le cellule renali, le cellule del fegato e i linfociti T. Inoltre, il virus induce l'apoptosi delle cellule T, causando una reazione irregolare delle cellule T, con conseguente collasso completo del sistema immunitario. 24, 25

#### Δ/\ Modalità di trasmissione

Infatti è stato accettato che la trasmissione originaria provenisse da un mercato ittico, che aveva una tradizione di vendita di animali vivi, dove la maggior parte dei pazienti aveva lavorato o visitato, anche se fino ad ora rimane la comprensione del rischio di trasmissione di COVID-19 incompleto. 16 Inoltre, mentre i nuovi pazienti non hanno avuto esposizione al mercato e hanno comunque contratto il virus dagli esseri umani lì presenti, vi è un aumento dell'epidemia di

gruppo variante. La regione del gene che lega il recettore sembra essere molto simile a quella del SARS-CoV e si ritiene che lo stesso recettore verrebbe utilizzato per l'ingresso nelle cellule.<sup>17</sup>

¶/1 Struttura del virione e suo

genoma

I coronavirus sono strutturalmente avvolti, appartenenti alla categoria dei virus a RNA a filamento positivo che ha il più grande genoma conosciuto di RNA. Le strutture del coronavirus hanno una forma più sferica, ma la loro struttura ha il potenziale per modificare la loro morfologia in risposta alle condizioni ambientali, essendo pleomorfa. La membrana capsulare che rappresenta l'involucro esterno di solito ha una proiezione di glicoproteina e copre il nucleo, comprendente una proteina della matrice contenente un RNA a filamento positivo. Poiché la struttura possiede estremità 5'-ricoperte e 3'-poliadenilate, rimane identica agli mRNA cellulari.<sup>18</sup> La struttura è composta da emoagglutinina esterasi (HE) (presente solo in alcuni beta-coronavirus), picco (S), piccola membrana (E), membrana (M) e nucleocapside (N), come mostrato (Figura 1). L'involucro contenente la glicoproteina è responsabile dell'attaccamento alla cellula ospite, che possiede principalmente gli epitopi antigenici primari

## OSSERVAZIONI CONCLUSIVE

Diversi anni dopo l'epidemia globale di SARS, l'attuale pandemia di SARS-CoV-2/COVID-19 è servita a ricordare come nuovi agenti patogeni possano rapidamente emergere e diffondersi nella popolazione umana e infine causare gravi crisi di salute pubblica. Ulteriori ricerche dovrebbero essere condotte per stabilire modelli animali per SARS-CoV-2 per studiare la replicazione, le dinamiche di trasmissione e la patogenesi negli esseri umani. Ciò può aiutare a sviluppare e valutare potenziali strategie terapeutiche contro le epidemie zoonotiche di CoV. Le tendenze attuali suggeriscono il verificarsi di futuri focolai di CoV a causa dei cambiamenti climatici e le condizioni ecologiche potrebbero essere associate al contatto uomo-animale. I mercati di animali vivi, come il mercato del pesce della Cina meridionale di Huanan, rappresentano le condizioni ideali per il contatto interspecie della fauna selvatica con uccelli domestici, maiali e mammiferi, il che aumenta notevolmente la probabilità di trasmissione interspecie di infezioni da COV e potrebbe comportare rischi elevati per l'uomo a causa della ricombinazione genetica adattativa in questi virus (323-325).

I sintomi associati a COVID-19 sono febbre, tosse, espettorazione, mal di testa e mialgia o affaticamento. Individui con asintomatici e atipici

Prevediamo anche la possibilità di un altro focolaio, come previsto da Fan et al. (6). In effetti, l'attuale epidemia causata da SARS-CoV-2 (COVID-19) era prevista. Analogamente ai focolai precedenti, anche l'attuale focolaio sarà contenuto a breve. Tuttavia, il vero problema è come intendiamo contrastare la prossima epidemia zoonotica di CoV che probabilmente si verificherà entro i prossimi 5-10 anni o anche prima

)Fig. 7.(

rischio di trasmissione (228). Considerando la zoonosi collegamenti associati a SARS-CoV-2, l'approccio One Health può svolgere un ruolo fondamentale nella prevenzione e misure di controllo seguite per contenere questo virus (317-319). La sostanziale importazione del virus pandemico di casi presintomatici di COVID-19 da Wuhan ha provocato focolai indipendenti e autosufficienti nelle principali città sia all'interno del paese che in tutto il mondo. La maggior parte delle città cinesi sta ora affrontando focolai localizzati di COVID-19 (231). Pertanto, l'implementazione di interventi di sanità pubblica efficienti potrebbe aiutare a ridurre la diffusione di questo virus a livello globale.

Il verificarsi dell'infezione da COVID-19 su diverse navi da crociera ci ha fornito un'idea preliminare sul modello di trasmissione della malattia. Le navi da crociera fungono da ambiente chiuso e forniscono un ambiente ideale per il verificarsi di focolai di malattie respiratorie. Tale situazione rappresenta una minaccia significativa per i viaggiatori, poiché a bordo sono presenti persone provenienti da paesi diversi, il che favorisce l'introduzione dell'agente patogeno (320). Sebbene siano state trovate quasi 30 navi da crociera di diversi paesi che ospitano l'infezione da COVID-19, le principali navi da crociera coinvolte nelle epidemie di COVID-19

sono la Diamond Princess, la Grand Princess, la Celebrity Apex e la Ruby Princess. IL

specie animali è necessario per prevenire la possibilità di diffusione del virus e l'inizio di un focolaio dovuto a spillover zoonotico (1).

I dispositivi di protezione individuale (DPI), come le mascherine, aiuteranno a prevenire la diffusione di infezioni respiratorie come il COVID-19. Le mascherine facciali non solo proteggono dagli aerosol infettivi, ma prevengono anche la trasmissione di malattie ad altri individui suscettibili mentre viaggiano attraverso i sistemi di trasporto pubblico (313). Un'altra pratica critica che può ridurre la trasmissione di malattie respiratorie è il mantenimento dell'igiene delle mani. Tuttavia, l'efficacia di questa pratica nel ridurre la trasmissione di virus respiratori come SARS-CoV-2 dipende molto dalla dimensione delle goccioline prodotte. L'igiene delle mani ridurrà la trasmissione della malattia solo se il virus viene trasmesso attraverso la formazione di grosse goccioline (314). Pertanto, è meglio non enfatizzare eccessivamente il fatto che l'igiene delle mani impedirà la trasmissione di SARS-CoV-2, poiché potrebbe produrre un falso senso di sicurezza tra il pubblico in generale che contribuisce ulteriormente alla diffusione di COVID-19. Anche se la diffusione per via aerea non è stata segnalata nell'infezione da SARS-CoV-2, la trasmissione può avvenire attraverso goccioline e fomiti, specialmente quando c'è un contatto stretto e non protetto tra individui infetti e suscettibili. Quindi, l'igiene delle mani è

topi e topi hDPP4-Tg (transgenici per l'espressione hDPP4) per l'infezione da MERS-CoV (221). Lo strumento di editing genetico CRISPR-Cas9 è stato utilizzato per inserire alterazioni genomiche nei topi, rendendoli suscettibili all'infezione da MERS-CoV (222). Sono in corso sforzi per riconoscere modelli animali adatti per SARS-CoV2/COVID-19, identificare l'affinità recettoriale di questo virus, studiare la patologia in modelli animali sperimentali ed esplorare risposte immunitarie specifiche del virus e studi di protezione, che insieme aumenterebbero il ritmo degli sforzi compiuti per sviluppare potenti vaccini e farmaci per contrastare questo virus emergente. Linee cellulari, come linee cellulari epiteliali di scimmia (LLC-MK2 e Vero-B4), cellule polmonari di capra, cellule renali di alpaca, cellule del cordone ombelicale di dromedario e tessuto tracheobronchiale tridimensionale avanzato ex vivo, sono state esplorate per studiare i CoV umani. MERS-CoV) (223, 224). Le cellule Vero e Huh-7 (cellule tumorali del fegato umano) sono state utilizzate per isolare SARS-CoV-2 (194).

Recentemente, uno studio sperimentale con scimmie rhesus come modelli animali ha rivelato l'assenza di qualsiasi carica virale nei tamponi rinofaringei e anali e nessuna replicazione virale è stata registrata nei tessuti primari a un intervallo di tempo di 5 giorni dopo la reinfezione nelle scimmie riesposte (274) . Il successivo virologico, radiologico e patologico

nella cellula ospite. Heptad repeat 1 (HR1) e heptad repeat 2 (HR2) possono interagire e formare un fascio di sei eliche che porta le membrane virali e cellulari in stretta vicinanza, facilitandone la fusione. Lo studio di allineamento della sequenza condotto tra COVID-19 e SARS-CoV ha identificato che le subunità S2 sono altamente conservate in questi CoV. I domini HR1 e HR2 hanno mostrato rispettivamente il 92,6% e il 100% di identità complessiva (210). Da questi risultati, possiamo confermare il significato di COVID-19 HR1 e HR2 e il loro ruolo vitale nell'ingresso della cellula ospite. Quindi, gli inibitori della fusione prendono di mira il dominio HR1 della proteina S, impedendo così la fusione virale e l'ingresso nella cellula ospite. Questa è un'altra potenziale strategia terapeutica che può essere utilizzata nella gestione del COVID-19. Oltre alla terapia specifica diretta contro COVID-19, i trattamenti generali svolgono un ruolo fondamentale nel potenziamento delle risposte immunitarie dell'ospite contro l'agente virale. Un'alimentazione inadeguata è legata all'indebolimento della risposta immunitaria dell'ospite, rendendo l'individuo più suscettibile. Il ruolo svolto dalla nutrizione nella suscettibilità alle malattie dovrebbe essere misurato valutando lo stato nutrizionale dei pazienti con COVID-19 (205).

L'esplorazione di anticorpi completamente umani (anticorpi umani a catena singola; HuscFvs) o nanobodies umanizzati (anticorpi a dominio singolo; sdAb, VH/VHH) potrebbe aiutare a bloccare la replicazione del virus, in quanto questi agenti possono attraversare le membrane cellulari infette dal virus (transcorpi) e può interferire con le caratteristiche biologiche delle proteine virali in replicazione. Tali esempi includono transcorpi del virus dell'influenza, del virus dell'epatite C, del virus Ebola e del virus della dengue (206). La produzione di transcorpi simili contro le proteine intracellulari dei coronavirus, come le proteasi simili alla papaina (PLpro), le proteasi simili alla cisteina (3CLpro) o altri nsp, che sono essenziali per la replicazione e la trascrizione del virus, potrebbe formulare un progresso pratico per un approccio di immunizzazione passiva più sicuro e potente per le persone esposte al virus e somministrazione della terapia ai pazienti infetti.

In un caso di studio su cinque pazienti gravemente malati con sintomi di polmonite grave a causa di COVID-19, la somministrazione di plasma convalescente si è rivelata utile nei pazienti che si sono ripresi con successo. Il plasma convalescente contenente un titolo anticorpale ELISA (siero) specifico per SARS-CoV-2 superiore a 1:1.000 e un titolo anticorpale neutralizzante superiore a 40 è stato raccolto dai pazienti guariti e utilizzato per la trasfusione di plasma

RBD, indicando il suo potenziale come agente terapeutico nella gestione di COVID-19. Può essere utilizzato da solo o in combinazione con altri anticorpi neutralizzanti efficaci per il trattamento e la prevenzione del COVID-19 (202). Inoltre, gli anticorpi neutralizzanti specifici per SARS-CoV, come m396 e CR3014, non sono riusciti a legare la proteina S di SARS-CoV-2, indicando che un particolare livello di somiglianza è obbligatorio tra gli RBD di SARS-CoV e SARS-CoV-2 perché si verifichi la cross-reattività. È necessaria un'ulteriore valutazione prima di confermare l'efficacia di tale terapia di combinazione. Inoltre, per prevenire un'ulteriore diffusione comunitaria e nosocomiale di COVID-19, il programma di gestione del rischio post-procedura non dovrebbe essere trascurato (309). Lo sviluppo di inibitori ad ampio spettro contro i patogeni coronavirali umani contribuirà a facilitare gli studi clinici sull'efficacia di tali inibitori contro i coronavirus endemici ed emergenti.

(310) Un promettente studio sugli animali ha rivelato l'effetto protettivo dell'immunoterapia passiva con siero immune da cammelli immuni MERS su topi infettati da MERS-CoV (204). L'immunoterapia passiva che utilizza plasma convalescente è un'altra strategia che può essere utilizzata per il trattamento di pazienti con infezione da COVID-19 e in condizioni critiche.

(311)

notevole protezione nei topi contro una sfida letale MERS-CoV. Tali anticorpi possono svolgere un ruolo cruciale nel migliorare le risposte umorali protettive contro i CoV emergenti mirando a epitopi e funzioni appropriati della proteina S. La capacità di neutralizzazione incrociata dei MAb neutralizzanti specifici per SARS-CoV RBD si basa notevolmente sulla somiglianza tra i loro RBDS; pertanto, gli anticorpi specifici per SARS-CoV RBD potrebbero neutralizzare in modo incrociato i CoV SL, ovvero il ceppo bat-SL-CoV WIV1 (RBD con differenze di otto aminoacidi rispetto a SARS-CoV) ma non il ceppo bat-SL-CoV SHC014 (24 aminoacidi differenze) (200).

I MAb specifici per RBD appropriati possono essere riconosciuti da un'analisi relativa di RBD di SARS-CoV-2 a quella di SARS-CoV e i MAb specifici per RBD di SARS-CoV neutralizzanti potrebbero essere esplorati per la loro efficacia contro COVID-19 e oltre devono essere valutati clinicamente. La società statunitense di biotecnologie Regeneron sta tentando di riconoscere MAb potenti e specifici per combattere il COVID-19. Un'opzione terapeutica ideale suggerita per SARS-CoV-2 (COVID-19) è la terapia di combinazione composta da MAb e il farmaco remdesivir (COVID-19) (201). Si è scoperto che il MAb CR3022 umano specifico per SARS-CoV si lega a SARS-CoV-2 RBD, indicando il suo potenziale come agente terapeutico

i test offrono un'elevata precisione nella diagnosi di SARS-CoV-2, ma l'attuale tasso di diffusione ne limita l'uso a causa della mancanza di kit di test diagnostici. Ciò comporterà ulteriormente l'ampia trasmissione di COVID-19, poiché solo una parte dei casi sospetti può essere diagnosticata. In tali situazioni, i test sierologici convenzionali, come il test immunosorbente legato all'enzima (ELISA), che sono specifici per gli anticorpi IgM e IgG COVID-19, possono essere utilizzati come alternativa ad alto rendimento (149). Al momento non è disponibile alcun kit diagnostico per rilevare l'anticorpo SARS-CoV-2 (150). Sono stati analizzati i profili anticorpali specifici dei pazienti COVID-19 ed è stato riscontrato che il livello di IgM è durato più di 1 mese, indicando uno stadio prolungato di replicazione del virus nei pazienti con infezione da SARS-COV-2. È stato riscontrato che i livelli di IgG aumentano solo nelle fasi successive della malattia. Questi risultati indicano che i profili anticorpali specifici di SARS-CoV-2 e SARS-CoV erano simili (325). Questi risultati possono essere utilizzati per lo sviluppo di test diagnostici specifici contro COVID-19 e possono essere utilizzati per uno screening rapido. Anche se sono già disponibili kit di test diagnostici in grado di rilevare le sequenze genetiche di SARS-CoV-2 (95), la loro disponibilità è preoccupante, poiché il numero di casi di COVID-19 è alle stelle (155, 157). UN Il problema principale associato a questo kit diagnostico è

Il problema principale associato a questo kit diagnostico è che funziona solo quando il soggetto del test ha un'infezione attiva, limitandone l'uso alle prime fasi dell'infezione. Diversi laboratori in tutto il mondo stanno attualmente sviluppando test diagnostici basati su anticorpi contro SARS-CoV-2 (157).

La TC del torace è uno strumento diagnostico ideale per identificare la polmonite virale. La sensibilità della TC del torace è di gran lunga superiore a quella dello screening a raggi X. I risultati della TC del torace associati a pazienti con infezione da COVID-19 includono una caratteristica infiltrazione a chiazze che successivamente progredisce in opacità a vetro smerigliato (158).

Le prime manifestazioni di polmonite da COVID-19 potrebbero non essere evidenti nella radiografia del torace a raggi X. In tali situazioni, può essere eseguito un esame TC del torace, poiché è considerato altamente specifico per la polmonite da COVID-19 (118). Quei pazienti con polmonite da COVID-19 mostreranno la tipica opacità a vetro smerigliato nelle immagini TC del torace

.(۱۵۴)I pazienti infettati da COVID-19 avevano elevati livelli plasmatici di angiotensina 2. Il livello di angiotensina 2 è risultato essere linearmente associato alla carica virale e al danno polmonare, indicando il suo potenziale come biomarcatore diagnostico (121). Le anomalie dell'imaging TC del torace associate alla polmonite da COVID-19 sono state osservate anche in pazienti asintomatici. Queste anomalie

۱۰۰

nei pazienti asintomatici. Queste anomalie progrediscono dall'iniziale opacità focale unilaterale a diffusa bilaterale a vetro smerigliato e progrediranno ulteriormente o coesisteranno con alterazioni del consolidamento polmonare entro 1-3 settimane (159). Il ruolo svolto dai radiologi nello scenario attuale è molto importante. I radiologi possono aiutare nella diagnosi precoce delle anomalie polmonari associate alla polmonite da COVID-19. Possono anche aiutare nella valutazione della gravità della malattia, identificando la sua progressione verso la sindrome da distress respiratorio acuto e la presenza di infezioni batteriche secondarie (160). Anche se la TC del torace è considerata uno strumento diagnostico essenziale per COVID-19, l'uso estensivo della TC a scopo di screening nei soggetti sospetti potrebbe essere associato a un rapporto rischio-beneficio sproporzionato a causa dell'aumento dell'esposizione alle radiazioni e dell'aumento del rischio di cross- infezione. Pertanto, l'uso della TC per la diagnosi precoce dell'infezione da SARS-CoV-2 nei gruppi ad alto rischio dovrebbe essere fatto con grande cautela (292).

Più recentemente, sono state progettate e sviluppate altre diagnostiche avanzate per il rilevamento di SARS-CoV-2 (345, 347, 350-352). Un'amplificazione inversa (RT-LAMP), ovvero iLACO, è stata sviluppata per il rilevamento rapido e colorimetrico di questo isoterma trascrizionale mediata da loop

tassi, focolai di malattie, diffusione nella comunità, eventi di trasmissione raggruppati, punti caldi e potenziale di superdiffusione di SARS-CoV-2/COVID garantiscono il pieno sfruttamento della mappatura delle malattie in tempo reale utilizzando sistemi di informazione geografica (GIS), come il software GIS Kosmo, <sup>371</sup> in tempo reale basato sul web strumenti e dashboard, app e progressi nella tecnologia dell'informazione (356-359).

I ricercatori hanno anche sviluppato alcuni strumenti/modelli di previsione, come lo strumento di valutazione del rischio del modello di previsione (PROBAST) e la valutazione critica e l'estrazione dei dati per le revisioni sistematiche degli studi sui modelli di previsione (CHARMS), che potrebbero aiutare a valutare la possibilità di ottenere infezione e stima della prognosi nei pazienti; tuttavia, tali modelli possono soffrire di problemi di distorsione e, quindi, non possono essere considerati completamente affidabili, il che richiede lo sviluppo di predittori nuovi e affidabili (360).

## VACCINI, TERAPIE E FARMACI

I virus emersi di recente, come i virus Zika, Ebola e Nipah, e le loro gravi minacce per gli esseri umani, hanno iniziato una corsa nell'esplorazione della progettazione e dello sviluppo di vaccini avanzati, profilattici, terapie e regimi farmacologici per contrastare l'emergente

terapie e regimi farmacologici per contrastare i virus emergenti (163). Sono stati fatti diversi tentativi per progettare e sviluppare vaccini per l'infezione da CoV, principalmente prendendo di mira la glicoproteina spike. Tuttavia, a causa dell'ampia diversità nelle varianti antigeniche, la protezione incrociata fornita dai vaccini è significativamente limitata, anche all'interno dei ceppi di un sottocluster filogenetico (104). A causa della mancanza di un'efficace terapia antivirale e di vaccini nello scenario attuale, dobbiamo dipendere esclusivamente dall'attuazione di efficaci misure di controllo delle infezioni per ridurre il rischio di una possibile trasmissione nosocomiale (68). Recentemente, il recettore per SARS-CoV-2 è stato stabilito come enzima umano di conversione dell'angiotensina (hACE2) e si è scoperto che il virus entra nella cellula ospite principalmente attraverso l'endocitosi. È stato anche scoperto che i componenti principali che hanno un ruolo fondamentale nell'ingresso virale includono PIKfyve, TPC2 e catepsina L. Questi risultati sono fondamentali, poiché i componenti sopra descritti potrebbero agire come candidati per vaccini o farmaci terapeutici contro SARS-CoV-2 (293).

La maggior parte delle opzioni e delle strategie di trattamento che vengono valutate per SARS-CoV-2 (COVID-19) sono state prese dalle nostre precedenti esperienze nel trattamento di SARS-CoV, MERS-CoV e altre malattie virali emergenti. Diversi terapeutici

stati controllati adottando adeguate e rigorose misure di prevenzione e controllo, e non saranno disponibili pazienti per le sperimentazioni cliniche. I farmaci di nuova concezione non possono essere commercializzati a causa della mancanza di utenti finali.

## Vaccini

La proteina S svolge un ruolo significativo nell'induzione dell'immunità protettiva contro SARS-CoV mediando le risposte delle cellule T e neutralizzando la produzione di anticorpi (168). Negli ultimi decenni, abbiamo assistito a diversi tentativi di sviluppare un vaccino contro i coronavirus umani utilizzando la proteina S come bersaglio (168, 169). Tuttavia, i vaccini sviluppati hanno un'applicazione minima, anche tra ceppi del virus strettamente correlati, a causa della mancanza di protezione incrociata. Ciò è dovuto principalmente all'ampia diversità esistente tra le diverse varianti antigeniche del virus (104).

I contributi delle proteine strutturali, come le proteine spike (S), matrix (M), small envelope (E) e nucleocapsid (N), del SARS-CoV per indurre l'immunità protettiva sono stati valutati esprimendoli in un virus parainfluenzale ricombinante vettore di tipo 3 (BHPV3). Da notare che il risultato è stato conclusivo sul fatto che l'espressione delle proteine M, E o N senza la presenza della proteina S non lo sarebbe

potrebbe essere inferiore. È necessaria un'ulteriore analisi genetica tra SARS-CoV-2 e diversi ceppi di SARS-CoV e SARS-like (SL) CoV per valutare la possibilità di riproporre vaccini contro COVID-19.

Questa strategia sarà utile nello scenario di un focolaio, poiché si può risparmiare molto tempo, perché la valutazione preliminare, compresi gli studi in vitro, sarebbe già stata completata per tali vaccini candidati.

Possono essere presi in considerazione vaccini a subunità multiepitopica. una promettente strategia preventiva contro la pandemia di COVID-19 in corso. Strumenti immunoinformatici in silico e avanzati possono essere utilizzati per sviluppare vaccini a subunità multiepitopica. I vaccini ingegnerizzati con questa tecnica possono essere ulteriormente valutati utilizzando studi di docking e, se trovati efficaci, possono essere ulteriormente valutati in modelli animali (365). L'identificazione degli epitopi che hanno il potenziale per diventare un candidato vaccino è fondamentale per lo sviluppo di un vaccino efficace contro COVID-19. L'approccio immunoinformatico è stato utilizzato per riconoscere epitopi essenziali di linfociti T citotossici e cellule B dalla glicoproteina di superficie di SARS-CoV-2. Recentemente, alcuni epitopi sono stati riconosciuti dalla glicoproteina di superficie SARS-CoV-2. Gli epitopi selezionati hanno esplorato il targeting per simulazioni dinamiche molecolari,

ha esplorato il targeting di simulazioni dinamiche molecolari, valutando la loro interazione con le corrispondenti molecole di classe I del complesso maggiore di istocompatibilità.

Potenzialmente inducono risposte immunitarie

(16) Il vaccino ricombinante può essere progettato utilizzando il virus della rabbia (RV) come vettore virale. RV può essere fatto esprimere la proteina MERS-CoV S1 sulla sua superficie in modo da indurre una risposta immunitaria contro MERS-CoV. I vaccini a base di vettore RV contro MERS-CoV possono indurre una risposta anticorpale più rapida e gradi più elevati di immunità cellulare rispetto al vaccino a base di vettore di particelle a matrice Gram-positiva (GEM). Tuttavia, quest'ultimo può indurre una risposta anticorpale molto elevata a dosi più basse (17) Quindi, il grado di risposta immunitaria umorale e cellulare prodotta da tali vaccini dipende dal vettore utilizzato.

I doppi vaccini stanno diventando più popolari di recente. Tra questi, la piattaforma vaccinale vettoriale basata sul virus della rabbia viene utilizzata per sviluppare vaccini contro le malattie infettive emergenti. È stato scoperto che il doppio vaccino sviluppato da particelle di virus della rabbia inattivate che esprimono il dominio MERS-CoV S1 della proteina S induce risposte immunitarie sia per il MERS-CoV che per il virus della rabbia. I topi vaccinati sono risultati essere completamente protetti dalla sfida con MERS-CoV (169). L'intranasale

sfida con MERS-COV (169). L'intranasale  
È stato riscontrato che la somministrazione del vaccino  
ricombinante a base di adenovirus nei topi BALB/c induce  
un'immunità neutralizzante di lunga durata contro il virus  
pseudotipato spike MERS, caratterizzato dall'induzione di  
IgG sistemiche, IgA secretorie e risposte delle cellule  
T di memoria residenti nei polmoni (177). I metodi  
immunoinformatici sono stati impiegati per lo screening  
dell'intero genoma di potenziali bersagli del vaccino tra i  
diversi immunogeni di MERS-CoV (178). La proteina N  
e i potenziali epitopi delle cellule B della proteina MERS-  
CoV E E sono stati  
suggeriti come bersagli  
immunoprotettivi  
che inducono sia le risposte delle cellule  
T che degli anticorpi neutralizzanti (178, 179).  
Lo sforzo collaborativo dei ricercatori dei Rocky  
Mountain Laboratories e dell'Università di Oxford sta progettando  
un vaccino a vettore di adenovirus dello scimpanzé  
per contrastare il COVID-19 (180). La Coalition for  
Epidemic Preparedness Innovations (CEPI) ha avviato tre  
programmi per progettare vaccini SARS-CoV-2 (181).  
CEPI ha un progetto di collaborazione con Inovio per la  
progettazione di un vaccino a DNA MERS-CoV che potrebbe  
potenziare un'immunità efficace. CEPI e l'Università del  
Queensland stanno progettando una piattaforma  
per il vaccino a morsetto molecolare per MERS-CoV e altri  
agenti patogeni, che potrebbe aiutare a identificare più  
facilmente gli antigeni da parte del sistema immunitario  
(182) CEPI ha anche finanziato Moderna per sviluppare un  
CoV

.(^ ^)CEPI ha anche finanziato Moderna per sviluppare un vaccino per il COVID-19 in collaborazione con il Vaccine Research Center (VRC) del National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), parte del National Institutes of Health (NIH) (182). Utilizzando la tecnologia della piattaforma del vaccino mRNA, è probabile che un candidato vaccino che esprime la proteina spike SARS-CoV-2 venga sottoposto a test clinici nei prossimi mesi (180). Il 16 marzo 2020, Jennifer Haller è diventata la prima persona al di fuori della Cina a ricevere un vaccino sperimentale, sviluppato da Moderna, contro questo virus pandemico. Moderna, insieme alla cinese CanSino Biologics, è diventato il primo gruppo di ricerca a lanciare piccoli studi clinici sui vaccini contro il COVID-19. Il loro studio sta valutando la sicurezza e la capacità del vaccino di innescare risposte immunitarie (296).

Scienziati di tutto il mondo si stanno impegnando a fondo per sviluppare vaccini funzionanti con una solida immunità protettiva contro il COVID-19. I vaccini candidati, come il vaccino mRNA-1273 SARS-CoV-2, il vaccino INO-4800 DNA coronavirus e il candidato vaccino vettore adenovirus di tipo 5 (Ad5-nCoV), sono alcuni esempi negli studi clinici di fase I, mentre il vaccino RNA autoamplificante, vaccino COVID-19 ricombinante orale, BNT162, vaccino COVID-19 a base vegetale e vaccino COVID-19 con peptide Ii-Key sono

vaccino e il vaccino COVID-19 con peptide li-Key sono in fase di sperimentazione preclinica (297). Allo stesso modo, l'OMS, sul suo sito ufficiale, ha citato un elenco dettagliato di agenti vaccinali COVID-19 che sono allo studio. Sono in corso diverse fasi di sperimentazione per vaccini con virus vivi attenuati, vaccino inattivato con formaldeide e allume, vaccino vettoriale adenovirus di tipo 5, vaccino con mRNA incapsulato con LNP, vaccino con plasmide del DNA e proteina S, trimero S e peptide li-Key come proteina subunità vaccino, tra gli altri (298). Il processo di sviluppo del vaccino richiede solitamente circa dieci anni, nel caso di vaccini inattivati o vivi attenuati, poiché comporta la generazione di dati di efficacia a lungo termine. Tuttavia, questo è stato ridotto a 5 anni durante l'emergenza Ebola per i vaccini a vettore virale. Nell'urgenza associata alle epidemie di COVID-19, prevediamo un vaccino entro la fine di quest'anno .(343)Lo sviluppo di un vaccino efficace contro COVID-19 ad alta velocità e precisione è il risultato combinato dei progressi nella biologia computazionale, nella sintesi genica, nell'ingegneria delle proteine e nell'invenzione di piattaforme di produzione avanzate .(342)

La natura ricorrente delle epidemie di coronavirus richiede lo sviluppo di un vaccino pan-coronavirus in grado di produrre anticorpi cross-reattivi.

vaccino in grado di produrre anticorpi cross-reattivi. Tuttavia, il successo di un tale vaccino dipende in gran parte dalla sua capacità di fornire protezione non solo contro le versioni attuali del virus, ma anche quelle che potrebbero emergere in futuro. Ciò può essere ottenuto identificando anticorpi in grado di riconoscere epitopi relativamente conservati che vengono mantenuti come tali anche dopo il verificarsi di variazioni considerevoli (362). Anche se in tutto il mondo sono in corso diversi studi clinici sui vaccini, le donne incinte sono state completamente escluse da questi studi. Le donne incinte sono altamente vulnerabili alle malattie emergenti come il COVID-19 a causa di alterazioni del sistema immunitario e di altri sistemi fisiologici associati alla gravidanza. Pertanto, in caso di successo nello sviluppo del vaccino, le donne in gravidanza non avranno accesso ai vaccini (361). Pertanto, si raccomanda che le donne incinte siano incluse negli studi sui vaccini in corso, poiché una vaccinazione riuscita in gravidanza proteggerà la madre, il feto e il neonato.

Gli effetti immunitari eterologhi indotti dalla vaccinazione con *Bacillus Calmette Guérin* (BCG) sono una strategia promettente per controllare la pandemia di COVID-19 e richiedono ulteriori indagini. Il BCG è un vaccino ampiamente utilizzato contro la tubercolosi in

regioni a rischio. Deriva da un ceppo vivo attenuato di *Mycobacterium bovis*. Attualmente sono stati registrati tre nuovi studi clinici per valutare il ruolo protettivo della vaccinazione BCG contro SARS-CoV-2.

(363) Recentemente, è stato condotto uno studio di coorte per valutare l'impatto della vaccinazione BCG infantile sui tassi di positività PCR COVID-19. Tuttavia, la vaccinazione infantile con BCG è risultata associata a un tasso di risultati positivi ai test COVID-19 simile a quello del gruppo non vaccinato (364). Sono necessari ulteriori studi per analizzare se la vaccinazione BCG nell'infanzia può indurre effetti protettivi contro COVID-19 nell'età adulta. Studi genetici di popolazione condotti su 103 genomi hanno identificato che il virus SARS-CoV-2 si è evoluto in due tipi principali, L e S. Tra i due tipi, si prevede che il tipo L sia il più diffuso (~70%), seguito dal Tipo S (~30%) (366). Questa scoperta ha un impatto significativo sulla nostra corsa allo sviluppo di un vaccino ideale, poiché il candidato al vaccino deve prendere di mira entrambi i ceppi per essere considerato efficace. Al momento, le differenze genetiche tra i tipi L e S sono molto piccole e potrebbero non influenzare la risposta immunitaria. Tuttavia, possiamo aspettarci ulteriori variazioni genetiche nei prossimi giorni che potrebbero portare alla comparsa di nuovi ceppi (367).

## Terapeutici e farmaci

Non esiste attualmente un trattamento antivirale specifico autorizzato per le infezioni da MERS e SARS-CoV e l'obiettivo principale in ambito clinico rimane la riduzione dei segni clinici e la fornitura di cure di supporto (183-186). I farmaci efficaci per gestire i pazienti COVID-19 includono remdesivir, lopinavir/ritonavir da soli o in combinazione con interferone beta, plasma convalescente e anticorpi monoclonali (MAbs); tuttavia, i problemi di efficacia e sicurezza di questi farmaci richiedono ulteriori studi clinici (187, 281). Uno studio controllato sul trattamento con lopinavir potenziato con ritonavir e interferone alfa 2b è stato condotto su pazienti ospedalizzati con COVID-19 (ChiCTR2000029308) (188). Inoltre, l'uso di idrossiclorochina e tocilizumab per il loro potenziale ruolo nella modulazione delle risposte infiammatorie nei polmoni e nell'effetto antivirale è stato proposto e discusso in molti articoli di ricerca. Tuttavia, non sono stati pubblicati studi clinici infallibili (194, 196, 197, 261-272). (Recentemente, uno studio clinico condotto su pazienti adulti affetti da COVID-19 grave non ha rivelato alcun beneficio del trattamento con lopinavir-ritonavir rispetto alle cure standard (273).

Gli sforzi per controllare l'infezione da SARS-CoV-2 utilizzano strategie definite seguite contro MERS e SARS, insieme all'adozione e al rafforzamento di un

e SARS, oltre ad adottare e rafforzare alcune misure precauzionali a causa della natura sconosciuta di questo nuovo virus (36, 189). Attualmente, il corso principale di trattamento per i pazienti gravemente affetti da SARS-CoV-2 ricoverati negli ospedali comprende la ventilazione meccanica, l'ammissione all'unità di terapia intensiva (ICU) e le terapie sintomatiche e di supporto. Inoltre, inibitori della sintesi dell'RNA. (lamivudina e tenofovir disoproxil fumarato), remdesivir, inibitori della neuraminidasi, peptide (EK1), farmaci antinfiammatori, abidol e medicina tradizionale cinese )capsule Lianhuaqingwen e ShuFengJie Du( potrebbero aiutare nel trattamento del COVID-19. Tuttavia, sono in corso ulteriori studi clinici sulla loro sicurezza ed efficacia (7). Potrebbero essere necessari da mesi a un anno per progettare e sviluppare farmaci, terapie e vaccini efficaci contro COVID-19, con un'adeguata valutazione e approvazione da parte degli organismi di regolamentazione e passare alla produzione in serie di molti milioni di dosi a livelli commerciali per soddisfare la domanda tempestiva delle popolazioni di massa in tutto il mondo (9). Sono inoltre giustificati sforzi continui per identificare e valutare farmaci vitali e regimi immunoterapeutici che hanno rivelato una comprovata potenza nella lotta contro altri agenti virali simili a SARS-CoV-2. I pazienti COVID-19 che mostrano segni gravi lo sono

I pazienti COVID-19 che mostrano segni gravi lo sono trattati in modo sintomatico insieme all'ossigenoterapia. In tali casi in cui i pazienti progrediscono verso l'insufficienza respiratoria e diventano refrattari all'ossigenoterapia, è necessaria la ventilazione meccanica. Lo shock settico indotto da COVID-19 può essere gestito fornendo un adeguato supporto emodinamico (299). Diverse classi di farmaci sono attualmente in fase di valutazione per la loro potenziale azione terapeutica contro SARS-CoV-2. Gli agenti terapeutici che hanno attività anti-SARS-CoV-2 possono essere ampiamente classificati in tre categorie: farmaci che bloccano l'ingresso del virus nella cellula ospite, farmaci che bloccano la replicazione virale e la sua sopravvivenza all'interno della cellula ospite e farmaci che attenuano la risposta immunitaria esagerata dell'ospite (300). Una tempesta infiammatoria di citochine è comunemente osservata nei pazienti con COVID-19 in condizioni critiche. Pertanto, possono trarre beneficio dall'uso di un trattamento antinfiammatorio tempestivo. La terapia antinfiammatoria con farmaci come glucocorticoidi, inibitori delle citochine, inibitori JAK e cloroquina/idrossicloroquina dovrebbe essere eseguita solo dopo aver analizzato il rapporto rischio/beneficio nei pazienti COVID-19 (301). Non sono stati condotti studi sull'applicazione di farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) a pazienti con infezione da COVID-19. Tuttavia, sono disponibili prove ragionevoli che collegano i FANS

sono disponibili elementi di prova che collegano l'uso di FANS con il verificarsi di effetti avversi respiratori e cardiovascolari. Pertanto, come approccio cautelativo, è meglio raccomandare l'uso dei FANS come opzione di prima linea per la gestione dei sintomi del COVID-19 (302). L'uso di corticosteroidi nei pazienti con COVID-19 è ancora oggetto di controversia e richiede ulteriori studi clinici sistematici. Le linee guida proposte per la gestione degli adulti in condizioni critiche suggeriscono l'uso di corticosteroidi sistemici negli adulti ventilati meccanicamente con ARDS (303). L'uso generalizzato di corticosteroidi non è indicato in COVID-19, poiché ci sono alcune preoccupazioni associate all'uso di corticosteroidi nella polmonite virale. La terapia con cellule staminali che utilizza cellule staminali mesenchimali (MSC) è un'altra strategia promettente che può essere utilizzata nei casi clinici di COVID-19 grazie alla sua potenziale capacità immunomodulatoria. Può avere un ruolo benefico nell'attenuare la tempesta di citochine osservata nei casi gravi di infezione da SARS-CoV-2, riducendo così la mortalità. Tra i diversi tipi di MSC, le MSC del cordone ombelicale espanso possono essere considerate un potenziale agente terapeutico che richiede un'ulteriore convalida per la gestione dei pazienti con COVID-19 in condizioni critiche (304). Farmaci antivirali ad ampio spettro riproposti

Ampio spettro riproposto

antivirale

droghe

avere usi comprovati contro altri agenti patogeni virali può essere impiegato per i pazienti con infezione da SARS-CoV-2. Questi possiedono vantaggi di facile accessibilità e attività farmacocinetiche e farmacodinamiche riconosciute, stabilità, dosi ed effetti collaterali (9).

Sono stati studiati farmaci riproposti per il trattamento delle infezioni da CoV, come lopinavir/ritonavir, e l'interferone-1 $\beta$  ha rivelato un'azione anti-MERS-CoV in vitro. L'esperimento in vivo condotto nel modello di primate non umano di uistiti comuni trattati con lopinavir/ritonavir e interferone beta ha mostrato risultati protettivi superiori negli animali trattati rispetto a quelli non trattati (190). Una combinazione di questi farmaci è in fase di valutazione per il trattamento della MERS nell'uomo (studio MIRACLE) (191). Questi due inibitori della proteasi (lopinavir e ritonavir), in combinazione con ribavirina, hanno dato esiti clinici incoraggianti nei pazienti affetti da SARS, suggerendo i loro valori terapeutici.

(192) Tuttavia, nello scenario attuale, a causa della mancanza di agenti terapeutici specifici contro SARS-CoV-2, ai pazienti ospedalizzati con conferma di malattia vengono fornite cure di supporto, come ossigeno e fluidoterapia, insieme alla terapia antibiotica per la gestione delle infezioni batteriche secondarie (192).

Pazienti con nuovo coronavirus o polmonite da COVID-19 che vengono ventilati meccanicamente spesso richiedono analgesici sedativi e

Anche

Muscolo

richiedono sedativi, analgesici e persino muscoli  
lesioni associate all'uomo-macchina  
farmaci di rilassamento per prevenire l'incoordinazione  
polmonare correlata al ventilatore (122). Il risultato  
ottenuto da uno studio clinico su quattro pazienti infetti  
da COVID-19 ha affermato che la terapia  
combinata con lopinavir/ritonavir, arbidol e capsule di  
Shufeng Jiedu (medicina tradizionale cinese) è risultata  
efficace nella gestione della polmonite da COVID-19  
(193). È difficile valutare il potenziale terapeutico  
di un farmaco o di una combinazione di farmaci per  
la gestione di una malattia sulla base di un campione  
così limitato. Prima di scegliere l'agente terapeutico ideale  
per la gestione di COVID-19, è necessario eseguire studi  
di controllo clinico randomizzati con una popolazione di  
studio sufficiente.

#### Farmaci antivirali

Diverse classi di farmaci antivirali usati di routine, come  
l'oseltamivir (inibitore della neuraminidasi), l'aciclovir, il  
ganciclovir e la ribavirina, non hanno alcun effetto sul  
COVID-19 e, quindi, non sono raccomandati (187). L'oseltamivir,  
un inibitore della neuraminidasi, è stato esplorato  
negli ospedali cinesi per il trattamento di casi sospetti di  
COVID-19, sebbene per questo farmaco manchi ancora  
un'efficacia dimostrata contro SARS-CoV-2 (7). Il potenziale  
antivirale in vitro dei farmaci approvati dalla FAD, vale a dire,

rivelato il potenziale antivirale in vitro dei farmaci approvati dalla FAD, vale a dire ribavirina, penciclovir, nitazoxanide, nafamostat e cloroquina, testati rispetto a remdesivir e favipiravir (farmaci antivirali ad ampio spettro). remdesivir e cloroquina per essere altamente efficaci contro l'infezione da SARS-CoV-2 in vitro (194). Ribavirina, penciclovir e favipiravir potrebbero non possedere azioni antivirali in vivo degne di nota per SARS-CoV-2, poiché in vitro sono necessarie concentrazioni più elevate di questi analoghi nucleosidici per ridurre l'infezione virale. Sia il remdesivir che la cloroquina vengono utilizzati negli esseri umani per trattare altre malattie e tali farmaci più sicuri possono essere esplorati per valutare la loro efficacia nei pazienti con COVID-19.

Diversi agenti terapeutici, come

cloroquina,

as

e

lopinavir/ritonavir,

idrossicloroquina, sono stati proposti per la gestione

clinica del COVID-19 (299). Uno studio di

docking molecolare, condotto nella RNA polimerasi

RNA-dipendente (RdRp) di SARS-CoV-2 utilizzando

diversi farmaci antipolimerasi disponibili

in commercio, ha identificato che farmaci come

ribavirina, remdesivir, galidesivir, tenofovir e

sofosbuvir legano strettamente RdRp, indicando la loro

vasto potenziale da utilizzare contro il COVID-19

.(305)Un farmaco antivirale ad ampio spettro sviluppato

negli Stati Uniti, il tilorone dicloridrato (tilorone),

Stati Uniti, tilorone dicloridrato (tilorone), è stato precedentemente scoperto possedere una potente attività antivirale contro i virus MERS, Marburg, Ebola e Chikungunya (306). Anche se aveva un'attività ad ampio spettro, è stato trascurato per un lungo periodo. Il tilorone è un altro farmaco antivirale che potrebbe avere attività contro SARS-CoV-2.

Remdesivir, un nuovo profarmaco analogo nucleotidico, è stato sviluppato per il trattamento della malattia da virus Ebola (EVD) ed è stato anche scoperto che inibisce la replicazione di SARS-CoV e MERS-CoV nei sistemi primari di coltura di cellule epiteliali delle vie aeree umane (195). Recentemente, uno studio in vitro ha dimostrato che remdesivir ha una migliore attività antivirale rispetto a lopinavir e ritonavir. Inoltre, studi in vivo condotti sui topi hanno anche identificato che il trattamento con remdesivir ha migliorato la funzione polmonare e ridotto la carica virale e la patologia polmonare sia nei regimi profilattici che terapeutici rispetto al trattamento con lopinavir/ritonavir-IFN- $\gamma$  nell'infezione da MERS-CoV (8). Remdesivir inibisce anche una vasta gamma di coronavirus, tra cui il COV umano circolante, il CoV zoonotico di pipistrello e il CoV zoonotico prepandemico.

(195) Remdesivir è anche considerato l'unico farmaco terapeutico che riduce significativamente la patologia polmonare (8). Tutti questi risultati indicano che remdesivir deve essere ulteriormente valutato per il suo

che remdesivir deve essere ulteriormente valutato per la sua efficacia nel trattamento dell'infezione da COVID-19 negli esseri umani. L'attività ad ampio spettro mostrata da remdesivir aiuterà a controllare la diffusione della malattia in caso di un nuovo focolaio di coronavirus.

La cloroquina è un farmaco antimalarico noto per possedere attività antivirale grazie alla sua capacità di bloccare la fusione virus-cellula aumentando il pH endosomiale necessario per la fusione. Interferisce anche con il legame virus-recettore interferendo con la glicosilazione terminale dei recettori cellulari SARS-CoV, come ACE2 (196). In un recente studio clinico multicentrico condotto in Cina, è stato riscontrato che la cloroquina fosfato mostra sia efficacia che sicurezza nella gestione terapeutica della polmonite associata a SARS-CoV-2 (197). Questo farmaco è già incluso nelle linee guida terapeutiche emanate dalla Commissione Sanitaria Nazionale della Repubblica Popolare Cinese. Gli studi clinici preliminari con l'idrossicloroquina, un altro farmaco aminochinolinico, hanno dato risultati promettenti. I pazienti COVID-19 hanno ricevuto 600 mg di idrossicloroquina al giorno insieme all'azitromicina come protocollo a braccio singolo. Questo protocollo è risultato essere associato a una notevole riduzione della carica virale. Alla fine, ha portato a una guarigione completa (271); tuttavia, lo studio comprendeva una piccola popolazione e, quindi, il

comprendeva una piccola popolazione e, quindi, il potrebbe sorgere la possibilità di interpretazioni errate. Tuttavia, in un altro caso di studio, gli autori hanno sollevato dubbi sull'efficacia dell'idrossiclorochina-azitromicina nel trattamento dei pazienti COVID-19, poiché non è stato osservato alcun effetto osservabile quando sono stati utilizzati. In alcuni casi, il trattamento è stato interrotto a causa del prolungamento dell'intervallo QT (307). Pertanto, sono necessari ulteriori studi clinici randomizzati prima di concludere questa questione.

Recentemente, un altro farmaco approvato dalla FDA, ivermectina, è stato segnalato per inibire la replicazione in vitro di SARS-CoV-2. I risultati di questo studio indicano che un singolo trattamento di questo farmaco è stato in grado di indurre una riduzione di circa 5.000 volte dell'RNA virale a 48 ore nella coltura cellulare. (308). Uno dei principali svantaggi che limitano l'utilità clinica dell'ivermectina è il suo potenziale di causare citotossicità. Tuttavia, alterando i veicoli utilizzati nelle formulazioni, le proprietà farmacocinetiche possono essere modificate, avendo così un controllo significativo sulla concentrazione sistemica di ivermectina (338). Sulla base della simulazione farmacocinetica, è stato inoltre riscontrato che l'ivermectina può avere un'utilità terapeutica limitata nella gestione del COVID-19, poiché la concentrazione inibitoria che deve essere raggiunta per un'efficace attività anti-SARS-CoV-2 è di gran lunga superiore alla

l'attività anti-SARS-CoV-2 è di gran lunga superiore al massima concentrazione plasmatica raggiunta somministrando la dose approvata (340). Tuttavia, l'ivermectina, essendo un agente diretto dall'ospite, mostra attività antivirale mirando a un processo cellulare critico della cellula di mammifero. Pertanto, la somministrazione di ivermectina, anche a dosi inferiori, ridurrà la carica virale a un livello minore. Questa leggera diminuzione fornirà un grande vantaggio al sistema immunitario per l'attivazione di una risposta antivirale su larga scala contro SARS-CoV-2 (341). Inoltre, una combinazione di ivermectina e idrossiclorochina potrebbe avere un effetto sinergico, poiché l'ivermectina riduce la replicazione virale, mentre l'idrossiclorochina inibisce l'ingresso del virus nella cellula ospite .(339) Inoltre, sono necessari studi in vivo e studi di controllo clinico randomizzati per comprendere il meccanismo e l'utilità clinica di questo promettente farmaco.

Nafamostat è un potente inibitore del MERS-CoV che agisce prevenendo la fusione della membrana. Tuttavia, non ha alcun tipo di azione inibitoria contro l'infezione da SARS-CoV-2 (194). Recentemente, diversi composti triazolici alogenati di nuova sintesi sono stati valutati, utilizzando saggi di elicasi basati sul trasferimento di energia per risonanza di fluorescenza (FRET), per la loro capacità di inibire

attività elicastica.

Tra i composti valutati, 4-(cyclopent-1-en-3-ylamino)-5-[2-(4-iodofenil)idrazinil]-4H-1,2,4-triazolo-3-tiolo e 4-(cyclopent-1-en-3-ilammino)-5-[2-(4-clorofenil)idrazinil]-4H-1,2,4-triazolo-3-tiolo è risultato essere il più potente. Questi composti sono stati utilizzati per studi in silico e l'aggancio molecolare è stato realizzato nel sito di legame attivo dell'elicasi MERS-CoV nsp13 (21). Sono necessari ulteriori studi per valutare il potenziale terapeutico di questi composti recentemente identificati nella gestione dell'infezione da COVID-19.

Immunizzazione passiva/Terapia anticorpale/MAb

Gli anticorpi monoclonali (MAbs) possono essere utili nell'intervento della malattia negli individui esposti a CoV.

I pazienti che si stavano riprendendo dalla SARS hanno mostrato robusti anticorpi neutralizzanti contro questa infezione da CoV (164). Un insieme di MAb mirati ai domini specifici della proteina MERS-CoV S, comprendente sei gruppi epitopici specifici che interagiscono con i siti di legame del recettore, fusione della membrana e legame dell'acido sialico, costituiscono compiti di ingresso cruciali della proteina S (198, 199). L'immunizzazione passiva che impiega anticorpi più deboli e fortemente neutralizzanti ha fornito una protezione considerevole nei topi contro un MERS-

le proteine senza la presenza della proteina S non lo sarebbero conferiscono alcuna protezione evidente, con l'assenza di anticorpi neutralizzanti SARS-CoV sierici rilevabili (170). I siti determinanti antigenici presenti sulle proteine strutturali S e N di SARS-CoV-2 possono essere esplorati come candidati vaccini idonei (294). Nella popolazione asiatica, le proteine S, E, M e N di SARS-CoV-2 vengono prese di mira per lo sviluppo di vaccini a subunità contro COVID-19 (295).

L'identificazione della regione immunodominante tra le subunità e i domini della proteina S è fondamentale per lo sviluppo di un vaccino efficace contro il coronavirus. Il dominio C-terminale della subunità S1 è considerato la regione immunodominante della proteina S del coronavirus suino (171). Allo stesso modo, sono necessarie ulteriori indagini per determinare le regioni immunodominanti di SARS-CoV-2 per facilitare lo sviluppo del vaccino.

Tuttavia, i nostri precedenti tentativi di sviluppare un vaccino universale efficace sia per SARS-CoV che per MERS-CoV sulla base della somiglianza dell'epitopo delle cellule T hanno evidenziato la possibilità di reattività crociata tra i coronavirus (172). Ciò può essere reso possibile da potenziali bersagli di vaccini selezionati che sono comuni a entrambi i virus. È stato segnalato che SARS-CoV-2 è strettamente correlato a SARS-CoV (173, 174). Quindi, conoscenza e comprensione di

altre malattie virali emergenti. Diverse strategie terapeutiche e preventive, inclusi vaccini, immunoterapici e farmaci antivirali, sono state sfruttate contro i precedenti focolai di CoV (SARS-CoV e MERS-CoV) (8, 104, 164-167). Queste preziose opzioni sono già state valutate per la loro potenza, efficacia e sicurezza, insieme a molti altri tipi di ricerca attuale che alimenteranno la nostra ricerca di agenti terapeutici ideali contro COVID-19 (7, 9, 19, 21, 22). La causa principale dell'indisponibilità di vaccini, farmaci e terapie approvati e commerciali per contrastare i precedenti SARS-CoV e MERS-CoV sembra essere dovuta alla minore attenzione della biomedicina e delle aziende farmaceutiche, poiché questi due CoV non hanno causato molti danni, minaccia globale e panico come quelli posti dalla pandemia di SARS-CoV-2 (19). Inoltre, per tali situazioni di epidemia, il requisito per vaccini e terapie/farmaci esiste solo per un periodo limitato, fino a quando l'epidemia non sarà controllata. Anche la percentuale della popolazione umana infettata da SARS-CoV e MERS-CoV era molto più bassa in tutto il mondo, non riuscendo ad attrarre produttori e produttori di farmaci e vaccini. Pertanto, nel momento in cui un farmaco o un vaccino efficace viene progettato contro tali focolai di malattie, il virus sarebbe stato controllato adottando misure appropriate e rigorose

sviluppato per il rilevamento rapido e colorimetrico di questo virus (354). RT-LAMP funge da metodo diagnostico semplice, rapido e sensibile che non richiede attrezzature sofisticate o personale qualificato (349). È stato progettato un dashboard interattivo basato sul Web per il monitoraggio di SARS-COV-2 in modalità in tempo reale (238). Uno strumento di test point-of-care (POCT) domiciliare integrato nello smartphone, un POCT cartaceo combinato con LAMP, è un'utile diagnostica point-of-care (353). Un test basato su POCT molecolare Abbott ID Now COVID-19, che utilizza la tecnologia di amplificazione dell'acido nucleico isotermico, è stato progettato come test point-of-care per il rilevamento molto rapido di SARS-CoV-2 in soli 5 minuti .(۳۴۴)Una diagnostica SHERLOCK (specific high-sensitivity enzymatic reporter unlocking) basata su CRISPR per il rilevamento rapido di SARS-CoV-2 senza la necessità di strumentazione specializzata si è rivelata molto utile nella diagnosi clinica di COVID-19 (360). È stato sviluppato anche un test di flusso laterale basato su CRISPR-Cas 12 per il rilevamento rapido di SARS-CoV-2 (346). L'intelligenza artificiale, mediante un modello tridimensionale di deep learning, è stata sviluppata per la diagnosi sensibile e specifica di COVID-19 tramite immagini TC (332).

Monitoraggio e mappatura dei tassi di incidenza in aumento, focolai di malattie, diffusione nella comunità,

campioni ottenuti dalle vie respiratorie inferiori. Quindi, in base alla carica virale, possiamo valutare rapidamente la progressione dell'infezione (291). Oltre a tutti i risultati di cui sopra, il sequenziamento e la filogenetica sono fondamentali per la corretta identificazione e conferma dell'agente virale eziologico e utili per stabilire relazioni con precedenti isolati e sequenze, nonché per conoscere, specialmente durante un'epidemia, il nucleotide e mutazioni aminoacidiche e divergenza molecolare. Il rapido sviluppo e l'implementazione di test diagnostici contro nuove malattie emergenti come il COVID-19 pongono sfide significative a causa della mancanza di risorse e dei limiti logistici associati a un focolaio (155).

L'infezione da SARS-CoV-2 può anche essere confermata mediante isolamento e coltura. La coltura di cellule epiteliali delle vie aeree umane si è rivelata utile per isolare SARS-CoV-2 (3). Il controllo efficiente di un focolaio dipende dalla diagnosi rapida della malattia. Recentemente, in risposta all'epidemia di COVID-19, sono stati sviluppati saggi quantitativi in tempo reale di trascrizione inversa-PCR in 1 fase che rilevano le regioni ORF1b e N del genoma SARS-CoV-2 (156). Tale analisi è stata trovata per ottenere il rilevamento rapido di SARS-CoV-2. I test basati sugli acidi nucleici offrono un'elevata precisione nella diagnosi di SARS-

comprensione dell'infiammazione polmonare associata a questa infezione (24).

La SARS è una malattia respiratoria virale causata da un CoV animale precedentemente non riconosciuto che ha avuto origine dai mercati umidi nel sud della Cina dopo essersi adattato all'ospite umano, consentendo così la trasmissione tra esseri umani (90). L'epidemia di SARS segnalata nel 2002-2003 ha avuto 8.098 casi confermati con 774 decessi totali (9,6%) (93). L'epidemia ha colpito gravemente la regione dell'Asia del Pacifico, in particolare la Cina continentale (94). Anche se il tasso di mortalità per caso (CFR) di SARS-CoV-2 (COVID-19) è inferiore a quello di SARS-CoV, esiste una grave preoccupazione legata a questo focolaio a causa della sua somiglianza epidemiologica con i virus dell'influenza. (95, 96). Questo può far fallire il sistema sanitario pubblico, provocando una pandemia (96).

La MERS è un'altra malattia respiratoria segnalata per la prima volta in Arabia Saudita nel 2012. È stato riscontrato che la malattia ha un CFR di circa il 35% (97). L'analisi dei set di dati disponibili suggerisce che il periodo di incubazione di SARS-CoV-2, SARS-CoV e MERS-CoV è quasi nello stesso intervallo. Il tempo di incubazione più lungo previsto per SARS-CoV-2 è di 14 giorni. Pertanto, le persone sospette vengono isolate per 14 giorni per evitare il rischio di un'ulteriore diffusione. Anche se è stata segnalata un'elevata somiglianza

Anche se è stata segnalata un'elevata somiglianza tra la sequenza del genoma del nuovo coronavirus (SARS-CoV-2) e i CoV simili alla SARS, l'analisi comparativa ha riconosciuto un sito di clivaggio simile alla furina nella proteina S della SARS-CoV-2 che manca in altri CoV simili alla SARS (99). Si prevede che il sito di scissione simile alla furina svolga un ruolo nel ciclo di vita del virus e nella patogenicità della malattia e potrebbe persino fungere da bersaglio terapeutico per gli inibitori della furina. La natura altamente contagiosa di SARS-CoV-2 rispetto a quella dei suoi predecessori potrebbe essere il risultato di una mutazione stabilizzante che si è verificata nel dominio simile alla proteina associata all'endosoma della proteina nsp2.

Allo stesso modo, la mutazione destabilizzante vicino al dominio della fosfatasi delle proteine nsp3 in SARS-CoV-2 potrebbe indicare un potenziale meccanismo che lo differenzia da altri CoV (100). Anche se il CFR riportato per COVID-19 è scarso rispetto a quello dei precedenti focolai di SARS e MERS, ha causato più morti di SARS e MERS messe insieme (101). Possibilmente correlata alla patogenesi virale è la recente scoperta di una delezione di 832 nucleotidi (nt) in ORF8, che sembra ridurre l'idoneità replicativa del virus e porta a fenotipi attenuati di SARS-CoV-2 (256).

Il coronavirus è l'esempio più importante di a

Il coronavirus è l'esempio più importante di un virus che ha attraversato due volte la barriera delle specie, passando dagli animali selvatici all'uomo durante le epidemie di SARS e MERS (79, 102). La possibilità di attraversare la barriera delle specie per la terza volta è stata sospettata anche nel caso di SARS-CoV-2 (COVID-19). I pipistrelli sono riconosciuti come un possibile ospite serbatoio naturale dell'infezione sia da SARS-CoV che da MERS-CoV. Al contrario, il possibile ospite intermedio è lo zibetto delle palme per SARS-CoV e il dromedario per l'infezione da MERS-CoV (102). I pipistrelli sono considerati gli ospiti ancestrali sia della SARS che della MERS (103). I pipistrelli sono anche considerati l'ospite serbatoio di coronavirus umani come HCOV-229E e HCOV-NL63 (104). Nel caso di COVID-19, ci sono due possibilità di trasmissione primaria: può essere trasmessa attraverso ospiti intermedi, simili a quelli della SARS e della MERS, o direttamente dai pipistrelli (103). Il paradigma di emergenza proposto nell'epidemia di SARS suggerisce che SARS-CoV abbia avuto origine dai pipistrelli (ospite del serbatoio) e successivamente sia passato agli zibetti (ospite intermedio) e abbia incorporato modifiche all'interno del dominio di legame del recettore (RBD) per migliorare il legame con lo zibetto ACE2. Questo virus adattato allo zibetto, durante la loro successiva esposizione agli esseri umani nei mercati vivi, ha promosso ulteriori adattamenti che hanno portato al ceppo epidemico (104). La trasmissione può anche

Il coronavirus è l'esempio più importante di un virus che ha attraversato due volte la barriera delle specie, passando dagli animali selvatici all'uomo durante le epidemie di SARS e MERS (79, 102). La possibilità di attraversare la barriera delle specie per la terza volta è stata sospettata anche nel caso di SARS-CoV-2 (COVID-19). I pipistrelli sono riconosciuti come un possibile ospite serbatoio naturale dell'infezione sia da SARS-CoV che da MERS-CoV. Al contrario, il possibile ospite intermedio è lo zibetto delle palme per SARS-CoV e il dromedario per l'infezione da MERS-CoV (102). I pipistrelli sono considerati gli ospiti ancestrali sia della SARS che della MERS (103). I pipistrelli sono anche considerati l'ospite serbatoio di coronavirus umani come HCoV-229E e HCoV-NL63 (104). Nel caso di COVID-19, ci sono due possibilità di trasmissione primaria: può essere trasmessa attraverso ospiti intermedi, simili a quelli della SARS e della MERS, o direttamente dai pipistrelli (103). Il paradigma di emergenza proposto nell'epidemia di SARS suggerisce che SARS-CoV abbia avuto origine dai pipistrelli (ospite del serbatoio) e successivamente sia passato agli zibetti (ospite intermedio) e abbia incorporato modifiche all'interno del dominio di legame del recettore (RBD) per migliorare il legame con lo zibetto ACE2. Questo virus adattato allo zibetto, durante la loro successiva esposizione agli esseri umani nei mercati vivi, ha promosso ulteriori adattamenti che hanno portato al ceppo epidemico (104). La trasmissione può anche

segni visibili di infezione, rendendo difficile identificare gli animali che espellono attivamente MERS-CoV che ha il potenziale per infettare l'uomo. Tuttavia, possono diffondere MERS-CoV attraverso il latte, l'urina, le feci e le secrezioni nasali e oculari e possono anche essere trovati negli organi crudi (108). In uno studio condotto per valutare la suscettibilità delle specie animali all'infezione da MERS-CoV, i lama e i maiali sono risultati suscettibili, indicando la possibilità di circolazione di MERS-CoV in specie animali diverse dai dromedari (109).

Dopo lo scoppio della SARS in Cina, i virus simili alla SARS-CoV sono stati isolati dagli zibetti delle palme himalayane (*Paguma larvata*) e dai cani procione (*Nyctereutes procyonoides*) trovati in un mercato di animali vivi nel Guangdong, in Cina. Gli isolati animali ottenuti dal mercato degli animali vivi conservavano una sequenza di 29 nucleotidi che non era presente nella maggior parte degli isolati umani (78). Questi risultati sono stati fondamentali per identificare la possibilità di trasmissione interspecie nella SARS-CoV. La maggiore diversità e prevalenza dei coronavirus dei pipistrelli in questa regione rispetto a quelle dei rapporti precedenti indicano una coevoluzione ospite/patogeno. Coronavirus simili alla SARS sono stati trovati anche in circolazione nelle popolazioni di pipistrelli cinesi a ferro di cavallo (*Rhinolophus sinicus*). Gli studi in vitro e in vivo effettuati

Nelle fasi iniziali dell'epidemia, sono stati osservati solo sintomi lievi in quei pazienti che sono stati infettati dalla trasmissione da uomo a uomo (14). Le tendenze iniziali suggerivano che la mortalità associata a COVID-19 fosse inferiore a quella dei precedenti focolai di SARS (101). Gli aggiornamenti ottenuti da paesi come Cina, Giappone, Thailandia e Corea del Sud hanno indicato che i pazienti COVID-19 avevano manifestazioni relativamente lievi rispetto a quelli con SARS e MERS (4). Indipendentemente dal tipo di coronavirus, le cellule immunitarie, come i mastociti, presenti nella sottomucosa del tratto respiratorio e nella cavità nasale sono considerate la barriera primaria contro questo virus (92). L'analisi avanzata e approfondita del genoma ha identificato 380 sostituzioni di amminoacidi tra le sequenze di amminoacidi di SARS-CoV-2 e i coronavirus SARS/SARS-like. Queste differenze nelle sequenze di amminoacidi potrebbero aver contribuito alla differenza nella divergenza patogena di SARS-CoV-2 (16). Sono necessarie ulteriori ricerche per valutare le possibili differenze nel tropismo, nella patogenesi e nella trasmissione di questo nuovo agente associato a questo cambiamento nella sequenza degli amminoacidi. Con l'attuale epidemia di COVID-19, si prevede un aumento significativo del numero di studi pubblicati su questo coronavirus emergente, come è avvenuto

con SARS e MERS (117).

SARS-CoV-2 invade il parenchima polmonare, provocando una grave infiammazione interstiziale dei polmoni. Ciò è evidente nelle immagini della tomografia computerizzata (TC) come opacità a vetro smerigliato nei polmoni. Questa lesione coinvolge inizialmente un singolo lobo ma successivamente si espande a più lobi polmonari (118). La valutazione istologica dei campioni di biopsia polmonare ottenuti da pazienti con infezione da COVID-19 ha rivelato danni alveolari diffusi, essudati fibromixoidi cellulari, formazione di membrane ialine e desquamazione dei pneumociti, indicativi di sindrome da distress respiratorio acuto (119). È stato anche scoperto che i pazienti con infezione da SARS-CoV-2 hanno spesso linfocitopenia con o senza anomalie leucocitarie. Il grado di linfocitopenia dà un'idea della prognosi della malattia, in quanto risulta essere positivamente correlato con la gravità della malattia (118). Si ritiene che le donne incinte abbiano un rischio maggiore di contrarre l'infezione da COVID-19. I coronavirus possono causare esiti avversi per il feto, come restrizione della crescita intrauterina, aborto spontaneo, parto pretermine e morte perinatale.

Tuttavia, la possibilità di trasmissione materno-fetale intrauterina (trasmissione verticale) di CoV è bassa e non è stata osservata né durante l'epidemia di SARS né di MERS-CoV (120). Tuttavia,

Epidemia di SARS o MERS-CoV (120). Tuttavia, c'è stata preoccupazione per l'impatto di SARS-CoV-2/COVID-19 sulla gravidanza. I ricercatori hanno menzionato la probabilità di trasmissione in utero del nuovo SARS-CoV-2 da madri con infezione da COVID-19 ai loro neonati in Cina sulla base dell'aumento dei livelli di anticorpi IgM e IgG e dei valori di citochine nel sangue ottenuti dai neonati immediatamente dopo la nascita ; tuttavia, la RT-PCR non è riuscita a confermare la presenza di materiale genetico SARS-CoV-2 nei neonati (283). Studi recenti mostrano che, almeno in alcuni casi, il parto pretermine e le sue conseguenze sono associate al virus. Tuttavia, alcuni casi hanno sollevato dubbi sulla probabilità di trasmissione verticale (240-243).

L'infezione da COVID-19

è

stata associata

alla polmonite e alcuni hanno sviluppato la sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS). Gli indici biochimici del sangue, come albumina, lattato deidrogenasi, proteina C-reattiva, linfociti (percentuale) e neutrofili (percentuale) danno un'idea della gravità della malattia nell'infezione da COVID-19 (121).

Durante il COVID-19, i pazienti possono presentare leucocitosi, ipoalbuminemia e aumento di

lattato

deidrogenasi, aspartato transaminasi, alanina aminotransferasi, bilirubina e, soprattutto, D-dimero

1

leucopenia con linfopenia (244),

serpenti e vari altri animali selvatici (20, 30, 79, 1987, 1988, 1989, 1990). L'infezione da coronavirus è collegata a diversi tipi di manifestazioni cliniche, che variano dall'enterite nelle mucche e nei maiali, alle malattie delle vie respiratorie superiori nei polli e alle infezioni respiratorie mortali nell'uomo (30).

Tra i generi CoV, Alphacoronavirus e Betacoronavirus infettano i mammiferi, mentre

Gammacoronavirus e Deltacoronavirus infettano principalmente uccelli, pesci e, talvolta, mammiferi (27,

1996, 1999). Diversi nuovi coronavirus che rientrano nel genere Deltacoronavirus sono stati scoperti in passato da uccelli, come Wigeon coronavirus HKU20, Bulbul coronavirus HKU11, Munia coronavirus HKU13, white-eye coronavirus HKU16, night-heron coronavirus HKU19 e common moorhen coronavirus HKU21, come nonché da suini (coronavirus suino HKU15) (6, 29). Il virus della gastroenterite trasmissibile (TGEV), il virus della diarrea epidemica suina (PEDV) e il virus dell'encefalomielite emoagglutinante suina (PHEV) sono alcuni dei coronavirus dei suini. Tra questi, TGEV e PEDV sono responsabili di causare una grave gastroenterite nei giovani suinetti con notevole morbilità e mortalità. Infezione da PHEV causa anche infezioni enteriche ma può causare encefalite a causa della sua capacità di infettare il sistema nervoso

sistema (30).

È noto che i coronavirus bovini (BoCoV) infettano diversi ruminanti domestici e selvatici (126). BoCoV infligge la diarrea neonatale del vitello nei bovini adulti, portando a diarrea sanguinolenta (dissenteria invernale) e complesso di malattie respiratorie (febbre da trasporto) nei bovini di tutte le età (126). Virus simili a BoCoV sono stati notati negli esseri umani, suggerendo anche il suo potenziale zoonotico (127). I virus della peritonite infettiva felina (FIP) sono i due principali CoV felini (128), dove i CoV felini possono colpire il tratto gastrointestinale, la cavità addominale (peritonite), le vie respiratorie e il sistema nervoso centrale.

(^ ^)I canini sono anche affetti da CoV che rientrano in generi diversi, vale a dire il coronavirus enterico canino in Alphacoronavirus e il coronavirus respiratorio canino in Betacoronavirus, che colpiscono rispettivamente il tratto enterico e respiratorio (129, 130). L'IBV, sotto Gammacoronavirus, causa malattie dei sistemi respiratorio, urinario e riproduttivo, con sostanziali perdite economiche nei polli (131, 132). Nei piccoli animali da laboratorio, il virus dell'epatite del topo, il coronavirus della scialodacrioadenite del ratto e il coronavirus della cavia e del coniglio sono i principali CoV associati a manifestazioni patologiche come enterite, epatite e infezioni respiratorie (10, 133). Coronavirus della sindrome da diarrea acuta suina

Coronavirus della sindrome da diarrea acuta suina (SADS-CoV) è stato identificato per la prima volta nei suinetti lattanti con grave enterite e appartiene al genere Alphacoronavirus (106). L'epidemia è stata associata a una mortalità su larga scala dei suinetti (24.693 morti) in quattro allevamenti in Cina (134). Il virus isolato dai suinetti era quasi identico e aveva una somiglianza genomica del 95% con il coronavirus HKU2 del pipistrello a ferro di cavallo (specie *Rhinolophus*), suggerendo un'origine da pipistrello del virus del maiale (106, 134, 135). È inoltre imperativo notare che l'epidemia di SADS-CoV è iniziata nella provincia di Guangdong, vicino al luogo di origine della pandemia di SARS (134). Prima di questo focolaio, non era noto che i maiali fossero stati infettati da coronavirus di origine pipistrello. Ciò indica che il coronavirus di origine pipistrello è saltato sui maiali rompendo la barriera delle specie. La fase successiva di questo salto potrebbe non concludersi bene, dal momento che i maiali sono considerati il recipiente di miscelazione dei virus dell'influenza A a causa della loro capacità di essere infettati dai virus dell'influenza A sia umana che aviaria (136). Allo stesso modo, possono fungere da recipiente di miscelazione per i coronavirus, poiché sono in frequente contatto sia con gli esseri umani che con più specie selvatiche. Inoltre, si è scoperto che anche i suini sono suscettibili all'infezione da SARS-CoV e MERS-CoV umani, rendendo questo scenario un incubo (109, 137). È

solo una questione di tempo prima che un altro coronavirus zoonotico provochi un'epidemia saltando la cosiddetta barriera delle specie (287).

Lo spettro dell'ospite del coronavirus è aumentato quando un nuovo coronavirus, vale a dire SW1, è stato riconosciuto nel tessuto epatico di una balena beluga in cattività (*Delphinapterus leucas*) (138). Negli ultimi decenni sono stati identificati diversi nuovi coronavirus da diverse specie animali. I pipistrelli possono ospitare questi virus senza manifestare alcuna malattia clinica ma sono costantemente infetti (30). Sono gli unici mammiferi con la capacità di volo autoalimentato, che consente loro di migrare su lunghe distanze, a differenza dei mammiferi terrestri. I pipistrelli sono distribuiti in tutto il mondo e rappresentano anche circa un quinto di tutte le specie di mammiferi (6). Questo li rende l'ospite ideale per molti agenti virali e anche la fonte di nuovi coronavirus che devono ancora essere identificati. È diventata una necessità studiare la diversità del coronavirus nella popolazione di pipistrelli per prevenire futuri focolai che potrebbero mettere a repentaglio il bestiame e la salute pubblica.

Le ripetute epidemie causate da coronavirus di origine pipistrello richiedono lo sviluppo di efficaci strategie di sorveglianza molecolare per studiare il Betacoronavirus tra gli animali (12), in particolare nella famiglia dei pipistrelli *Rhinolophus* (86). I pipistrelli cinesi hanno un alto valore commerciale, poiché vengono utilizzati in

L'analisi completa della sequenza del  
Il genoma dell'RNA SARS-CoV-2 ha identificato che il COV  
di Wuhan è un virus ricombinante del coronavirus  
del pipistrello e di un altro coronavirus di origine sconosciuta.  
Si è scoperto che la ricombinazione è avvenuta  
all'interno della glicoproteina del picco virale, che riconosce  
il recettore della superficie cellulare. Un'ulteriore analisi  
del genoma basata sull'uso del codone ha identificato il serpente  
come il serbatoio animale più probabile di SARS-  
CoV-2 (143). Contrariamente a questi risultati, un'altra  
analisi del genoma ha proposto che il genoma di SARS-  
CoV-2 sia identico al 96% al coronavirus di pipistrello, riflettendo  
la sua origine dai pipistrelli (63). Non si può escludere il  
coinvolgimento di materiali derivati dai pipistrelli nel  
causare l'attuale epidemia. Ad alto rischio è coinvolto la  
produzione di materiali derivati dai pipistrelli per le pratiche  
di MTC che comportano la manipolazione di pipistrelli  
selvatici. L'uso di pipistrelli per le pratiche di MTC rimarrà  
un grave rischio per il verificarsi di epidemie di  
coronavirus zoonotiche in futuro (139).

Inoltre, i pangolini sono una specie animale in  
via di estinzione che ospita un'ampia varietà di  
virus, compresi i coronavirus (144). Il  
coronavirus isolato dai pangolini malesi (*Manis javanica*)  
ha mostrato un'identità aminoacidica molto elevata  
con COVID-19 nei geni E (100%), M  
,(98,7%)N (96,7%) e S (90,4%). L'RBD della proteina S

14.

(96,7%) e geni S (90,4%). L'RBD della proteina S in CoV isolato dal pangolino era quasi identico (una differenza di aminoacidi) a quella di SARS-CoV-2. Un confronto dei genomi suggerisce la ricombinazione tra virus simili a pangolin-CoV con il virus simile a bat-CoV-RaTG13. Tutto ciò suggerisce il potenziale dei pangolini di agire come ospite intermedio di SARS-CoV-2 (145). Le interazioni uomo-fauna selvatica, che stanno aumentando nel contesto del cambiamento climatico (142), sono inoltre considerate ad alto rischio e responsabili dell'emergenza di SARS-CoV. Si sospetta anche che il COVID-19 abbia una modalità di origine simile. Pertanto, per prevenire il verificarsi di un altro spillover zoonotico, (1) sono necessari sforzi coordinati esaurienti per identificare i patogeni ad alto rischio ospitati dalle popolazioni di animali selvatici, condurre una sorveglianza tra le persone che sono suscettibili di eventi di spillover zoonotico (12) e per migliorare le misure di biosicurezza associate al commercio di specie selvatiche (146). Gli studi di sorveglianza sierologica condotti su persone che vivevano in prossimità di grotte di pipistrelli avevano precedentemente identificato la conferma sierologica di CoV correlati alla SARS nell'uomo. Le persone che vivono nell'interfaccia tra fauna selvatica e uomo, principalmente nella Cina rurale, sono regolarmente esposte a CoV correlati alla SARS (147). Questi risultati non avranno alcun significato fino a quando a

Questi risultati non avranno alcun significato fino a quando non si verificherà un focolaio significativo a causa di un SARS-CoV-2 simile a un virus.

C'è un costante aumento delle segnalazioni di COVID-19 negli animali da compagnia e selvatici in tutto il mondo. Sono necessari ulteriori studi per valutare il potenziale degli animali (soprattutto animali da compagnia) di fungere da ospite serbatoio efficiente in grado di alterare ulteriormente le dinamiche della trasmissione da uomo a uomo (330). Ad oggi, due cani da compagnia (Hong Kong) e quattro gatti da compagnia (uno dal Belgio e uno da Hong Kong, due dagli Stati Uniti) sono risultati positivi al SARS-CoV-2 (335). L'Organizzazione mondiale per la salute animale (OIE) ha confermato la diagnosi di COVID-19 sia nel cane che nel gatto a causa della trasmissione da uomo ad animale (331). La somiglianza osservata nella sequenza genica di SARS-CoV-2 da un proprietario di animale domestico infetto e dal suo cane conferma ulteriormente il verificarsi della trasmissione da uomo ad animale (333). Anche se asintomatiche, le specie feline dovrebbero essere considerate una potenziale via di trasmissione dagli animali all'uomo.

(336) Tuttavia, al momento, non ci sono segnalazioni di trasmissione di SARS-CoV-2 dai felini agli esseri umani. Sulla base delle prove attuali, possiamo concludere che i gatti sono suscettibili al SARS-CoV-2 e possono essere infettati dagli esseri umani. Tuttavia, le prove di cat-

infettato da esseri umani. Tuttavia, le prove di cat-  
la trasmissione all'uomo è carente e richiede  
ulteriori studi (332). Piuttosto che attendere prove  
più solide  
sulla  
trasmissione da animale a  
uomo, si consigliano le misure preventive necessarie,  
oltre a seguire le pratiche di distanziamento  
sociale tra animali da compagnia di famiglie  
diverse (331). Una delle principali società di diagnostica  
veterinaria, IDEXX, ha condotto test su larga  
scala per COVID-19 in campioni raccolti da  
cani e gatti. Tuttavia, nessuno dei test è risultato  
positivo (334).

In uno studio condotto per indagare sul potenziale di  
diverse specie animali di agire come ospite intermedio di  
SARS-CoV-2, è stato scoperto che sia i furetti che i gatti  
possono essere infettati tramite l'inoculazione sperimentale  
del virus. Inoltre, i gatti infetti hanno trasmesso  
efficacemente la malattia ai gatti naive (329). Si è scoperto  
che l'infezione da SARS-CoV-2 e la successiva trasmissione  
nei furetti ricapitolano gli aspetti clinici di COVID-19  
negli esseri umani. I furetti infetti diffondono anche  
il virus attraverso molteplici vie, come la saliva, i lavaggi  
nasali, le feci e l'urina, dopo l'infezione, rendendoli un  
modello animale ideale per studiare la trasmissione  
della malattia (337). L'inoculazione sperimentale è  
stata effettuata anche in altre specie animali e ha scoperto  
che i cani hanno una bassa suscettibilità, mentre i polli,

infettato da esseri umani. Tuttavia, le prove di cat-  
la trasmissione all'uomo è carente e richiede  
ulteriori studi (332). Piuttosto che attendere prove  
più solide  
sulla  
trasmissione da animale a  
uomo, si consigliano le misure preventive necessarie,  
oltre a seguire le pratiche di distanziamento  
sociale tra animali da compagnia di famiglie  
diverse (331). Una delle principali società di diagnostica  
veterinaria, IDEXX, ha condotto test su larga  
scala per COVID-19 in campioni raccolti da  
cani e gatti. Tuttavia, nessuno dei test è risultato  
positivo (334).

In uno studio condotto per indagare sul potenziale di  
diverse specie animali di agire come ospite intermedio  
di SARS-CoV-2, è stato scoperto che sia i furetti che i gatti  
possono essere infettati tramite l'inoculazione sperimentale  
del virus. Inoltre, i gatti infetti hanno trasmesso  
efficacemente la malattia ai gatti naive (329). Si è scoperto  
che l'infezione da SARS-CoV-2 e la successiva  
trasmissione nei furetti ricapitolano gli aspetti clinici di COVID-19  
negli esseri umani. I furetti infetti diffondono  
anche il virus attraverso molteplici vie, come la saliva, i  
lavaggi nasali, le feci e l'urina, dopo l'infezione, rendendoli  
un modello animale ideale per studiare la  
trasmissione della malattia (337). Guerra di inoculazione  
sperimentale fatta anche in altre specie animali e scoperto  
che i cani hanno una bassa suscettibilità, mentre i polli,

i cani hanno una bassa suscettibilità, mentre i polli, le anatre e i maiali non sono affatto suscettibili al SARS-CoV-2 (329).

Allo stesso modo, i National Veterinary Services Laboratories dell'USDA hanno segnalato COVID-19 in tigri e leoni che mostravano segni respiratori come tosse secca e respiro sibilante. Si sospetta che gli animali dello zoo siano stati infettati da un custode dello zoo asintomatico (335). Il numero totale di casi positivi di COVID-19 negli esseri umani sta aumentando a un ritmo elevato, creando così le condizioni ideali per lo spillover virale ad altre specie, come i maiali. Le prove ottenute da SARS-CoV suggeriscono che i suini possono essere infettati da SARS-CoV-2 (336). Tuttavia, l'inoculazione sperimentale con SARS-CoV-2 non è riuscita a infettare i suini (329).

Sono necessari ulteriori studi per identificare i possibili serbatoi animali di SARS-CoV-2 e la variazione stagionale nella circolazione di questi virus nella popolazione animale. La collaborazione nella ricerca tra i settori della salute umana e animale sta diventando una necessità per valutare e identificare i possibili fattori di rischio di trasmissione tra animali e uomo. Tale cooperazione aiuterà a elaborare strategie efficaci per la gestione delle malattie zoonotiche emergenti (12).

Recentemente, 95 sequenze genomiche a lunghezza intera di ceppi SARS-CoV-2 disponibili nei database del National Center for Biotechnology Information e GISAID sono state sottoposte ad allineamento di sequenze multiple e analisi filogenetiche per studiare le variazioni nel genoma virale (260). Tutti i ceppi virali hanno rivelato un'omologia elevata del 99,99% (dal 99,91% al 100%) a livello di nucleotidi e del 99,99% (dal 99,79% al 100%) a livello di aminoacidi. La variazione complessiva è risultata bassa nelle regioni ORF, con 13 siti di variazione riconosciuti nelle regioni 1a, 1b, S, 3a, M, 8 e N. Tassi di mutazione del 30,53% (29/95) e del 29,47% (28/95) (sono stati osservati rispettivamente nelle posizioni nt 28144 (ORF8) e nt 8782 (ORF1a)). A causa di tali mutazioni selettive, alcune regioni specifiche di SARS-CoV-2 non dovrebbero essere prese in considerazione per la progettazione di primer e sonde. La sequenza di riferimento del SARS-CoV-2 potrebbe aprire la strada allo studio della biologia molecolare e della patobiologia, oltre allo sviluppo della diagnostica e di adeguate strategie di prevenzione e controllo per contrastare il SARS-CoV-2 (260). Gli acidi nucleici di SARS-CoV-2 possono essere rilevati da campioni (64) come fluido di lavaggio broncoalveolare, espettorato, tamponi nasali, campione di biopsia con spazzola per broncoscopio a fibre, tamponi faringei, feci, sangue e urina, con diversi livelli di prestazioni diagnostiche ( Tabella 2) (80, 245, 246). Le cariche virali

pazienti sintomatici/asintomatici con segni e sintomi minimi (82). Un altro studio, condotto in Corea del Sud, relativo alla carica virale di SARS-CoV-2, ha rilevato che la cinetica di SARS-CoV-2 era significativamente diversa da quella delle precedenti infezioni da CoV riportate, incluso SARS-CoV (253). La trasmissione di SARS-CoV-2 può verificarsi all'inizio della fase di infezione virale; pertanto, la diagnosi dei casi e i tentativi di isolamento per questo virus giustificano strategie diverse da quelle necessarie per contrastare il SARS-CoV. Sono necessari studi per stabilire qualsiasi correlazione tra carica virale SARS-CoV-2 e virus coltivabile. Riconoscere i pazienti con meno o nessun sintomo, oltre ad avere un modesto RNA virale rilevabile nell'orofaringe per 5 giorni, indica la necessità di dati per valutare la trasmissione di SARS-CoV-2. dinamica e aggiornamento delle procedure di screening negli ambulatori (82).

pazienti sintomatici/asintomatici con segni e sintomi minimi (82). Un altro studio, condotto in Corea del Sud, relativo alla carica virale di SARS-CoV-2, ha rilevato che la cinetica di SARS-CoV-2 era significativamente diversa da quella delle precedenti infezioni da CoV riportate, incluso SARS-CoV (253). La trasmissione di SARS-CoV-2 può verificarsi all'inizio della fase di infezione virale; pertanto, la diagnosi dei casi e i tentativi di isolamento per questo virus giustificano strategie diverse da quelle necessarie per contrastare il SARS-CoV. Sono necessari studi per stabilire qualsiasi correlazione tra carica virale SARS-CoV-2 e virus coltivabile. Riconoscere i pazienti con meno o nessun sintomo, oltre ad avere un modesto RNA virale rilevabile nell'orofaringe per 5 giorni, indica la necessità di dati per valutare la trasmissione di SARS-CoV-2. dinamica e aggiornamento delle procedure di screening negli ambulatori (82).

importanza di una frequente e buona igiene delle mani e alle pratiche igienico-sanitarie deve essere data la dovuta enfasi (249-252). È necessario condurre future ricerche esplorative per quanto riguarda la trasmissione fecale-orale di SARS-CoV-2, oltre a concentrarsi sulle indagini ambientali per scoprire se questo virus potrebbe rimanere vitale in situazioni e atmosfere che facilitano tali potenti vie di trasmissione. È necessario determinare la correlazione delle concentrazioni fecali di RNA virale con la gravità della malattia, oltre a valutare i sintomi gastrointestinali e la possibilità di rilevare l'RNA fecale di SARS-CoV-2 durante le fasi di convalescenza del periodo di incubazione del COVID-19 della malattia (249-252 ).

O

Le tecniche di campionamento del tratto respiratorio inferiore, come l'aspirato di fluido di lavaggio broncoalveolare, sono considerate i materiali clinici ideali, piuttosto che il tampone faringeo, a causa del loro tasso di positività più elevato al test dell'acido nucleico (148). La diagnosi di COVID-19 può essere effettuata utilizzando campioni del tratto respiratorio superiore raccolti utilizzando tamponi nasofaringei e orofaringei. Tuttavia, queste tecniche sono associate a rischi non necessari per gli operatori sanitari a causa dello stretto contatto con i pazienti (152). Allo stesso modo, è stato segnalato che un singolo paziente con un'elevata carica virale ha contaminato un'intera sala endoscopica diffondendo il virus, che può rimanere vitale per

diffondere il virus, che può rimanere vitale per almeno 3 giorni ed è considerato un grande rischio per i pazienti non infetti e gli operatori sanitari (289). Recentemente, è stato riscontrato che i tamponi anali hanno dato risultati più positivi rispetto ai tamponi orali nelle fasi successive dell'infezione (153). Pertanto, i medici devono essere cauti durante la dimissione di qualsiasi paziente con infezione da COVID-19 sulla base di risultati negativi del test del tampone orale a causa della possibilità di trasmissione fecale-orale. Anche se le cariche virali nei campioni di feci sono risultate inferiori a quelle dei campioni respiratori, devono essere seguite rigorose misure precauzionali durante la manipolazione di campioni di feci di pazienti sospetti o infetti da COVID-19 (151). I bambini infetti da SARS-CoV-2 sperimentano solo una forma lieve di malattia e guariscono immediatamente dopo il trattamento. Recentemente è stato scoperto che i campioni di feci di bambini con infezione da SARS-CoV-2 che hanno dato risultati negativi al tampone faringeo sono risultati positivi entro dieci giorni dai risultati negativi. Ciò potrebbe comportare la trasmissione fecale-orale delle infezioni da SARS-CoV-2, specialmente nei bambini (290). Pertanto, per prevenire la trasmissione fecale-orale di SARS-CoV-2, i pazienti infetti da COVID-19 devono essere considerati negativi solo quando risultano negativi per SARS-CoV-2 nel campione di feci.

Si dice che un caso sospetto di infezione da COVID-19 sia confermato se l'aspirato del tratto respiratorio o i campioni di sangue risultano positivi per l'acido nucleico SARS-CoV-2 mediante RT-PCR o mediante l'identificazione della sequenza genetica del SARS-CoV-2 nel tratto respiratorio aspirato o campioni di sangue (80). Il paziente verrà confermato come guarito quando due successivi risultati del tampone orale saranno negativi (153).

Recentemente, il virus vivo è stato rilevato nella saliva auto-raccolta di pazienti infetti da COVID-19. Questi risultati confermavano l'utilizzo della saliva come campione non invasivo per la diagnosi di infezione da COVID-19 in individui sospetti (152). È stato anche osservato che lo screening iniziale dei pazienti COVID-19 infettati con RT-PCR può dare risultati negativi anche se presentano reperti TC del torace che suggeriscono un'infezione.

Pertanto, per la diagnosi accurata di COVID-19, è necessaria una combinazione di ripetuti test con tampone mediante RT-PCR e scansione TC per prevenire la possibilità di risultati falsi negativi durante lo screening della malattia (154). RT-PCR è il test più utilizzato per la diagnosi di COVID-19. Tuttavia, presenta alcune limitazioni significative dal punto di vista clinico, poiché non fornirà alcuna chiarezza sulla progressione della malattia. La PCR digitale Droplet (ddPCR) può essere utilizzata per la quantificazione della carica virale nei campioni ottenuti dalle vie respiratorie inferiori.

campioni, come liquido di lavaggio broncoalveolare, espettorato, tamponi nasali, campioni di biopsia con pennello fibrobroncoscopico, tamponi faringei, feci e sangue (246).

La presenza di SARS-CoV-2 nei campioni fecali ha posto gravi preoccupazioni per la salute pubblica. Oltre alla trasmissione diretta che avviene principalmente tramite goccioline di starnuti e tosse, altre vie, come l'escrezione fecale e la contaminazione ambientale e da fomite, stanno contribuendo alla trasmissione e alla diffusione di SARS-CoV-2 (249-252). L'escrezione fecale è stata documentata anche per SARS-CoV e MERS-CoV, insieme al potenziale per rimanere vitali in situazioni che favoriscono la trasmissione fecale-orale.

Pertanto, SARS-CoV-2 ha tutte le possibilità di essere trasmesso attraverso questa modalità. La trasmissione fecale-orale di SARS-CoV-2, in particolare nelle regioni con bassi standard di igiene e scarsa igiene, può avere gravi conseguenze per quanto riguarda l'elevata diffusione di questo virus. Etanolo e disinfettanti contenenti cloro o candeggina efficaci contro i coronavirus sono

249)-252.(

È necessario seguire rigorosamente le precauzioni appropriate durante la manipolazione delle feci dei pazienti infetti da SARS-CoV-2. I rifiuti organici e le acque reflue degli ospedali devono essere adeguatamente disinfettati, trattati e smaltiti correttamente.

L'importanza di una frequente e corretta igiene delle mani e

performance (Tabella 2) (80, 245, 246). Le cariche virali di SARS-CoV-2 sono stati misurati utilizzando RT-PCR quantitativa specifica del gene N in campioni di tampone faringeo e di espettorato raccolti da individui con infezione da COVID-19. I risultati hanno indicato che la carica virale ha raggiunto il picco a circa 5-6 giorni dall'insorgenza dei sintomi e durante questo periodo variava da  $10^4$  a  $10^7$  copie/ml (151). In un altro studio, la carica virale è risultata più alta nei tamponi nasali rispetto ai tamponi faringei ottenuti da pazienti sintomatici di COVID-19 (82). Sebbene inizialmente si pensasse che la carica virale sarebbe stata associata a scarsi risultati, alcuni case report hanno mostrato individui asintomatici con elevate cariche virali. (247). Recentemente è stata determinata la carica virale nei tamponi nasali e faringei di 17 pazienti sintomatici e sono state registrate cariche virali più elevate subito dopo l'insorgenza dei sintomi, in particolare nel naso rispetto alla gola. Il modello di diffusione dell'acido nucleico virale dei pazienti con infezione da SARS-CoV-2 era simile a quello dei pazienti con influenza, ma sembrava essere diverso da quello dei pazienti con SARS-CoV. La carica virale rilevata nei pazienti asintomatici assomigliava a quella dei pazienti sintomatici studiata in Cina, il che riflette la prospettiva di trasmissione di pazienti asintomatici o sintomatici con segni e sintomi minimi (82). Un altro studio,

alto valore commerciale, in quanto utilizzati nella medicina tradizionale cinese (MTC). Pertanto, la manipolazione dei pipistrelli a fini commerciali comporta un notevole rischio di trasmissione di epidemie zoonotiche di COV (139).

A causa del possibile ruolo svolto dagli animali da allevamento e selvatici nell'infezione da SARS-CoV-2, l'OMS, nel rapporto sulla situazione del nuovo coronavirus (COVID-19), ha raccomandato di evitare contatti non protetti sia con animali da allevamento che selvatici (25).

I mercati di animali vivi, come quello del Guangdong, in Cina, forniscono un ambiente in cui i coronavirus animali possono essere amplificati e trasmessi a nuovi ospiti, come gli esseri umani (78). Tali mercati possono essere considerati un luogo critico per l'origine di nuove malattie zoonotiche

e hanno un enorme significato per la salute pubblica in caso di focolaio. I pipistrelli sono i serbatoi di diversi virus; pertanto, il ruolo dei pipistrelli nell'attuale epidemia non può essere escluso (140). In uno studio qualitativo condotto per valutare i fattori di rischio zoonotico tra le comunità rurali della Cina meridionale, le frequenti interazioni uomo-animale insieme ai bassi livelli di biosicurezza ambientale sono stati identificati come rischi significativi per l'insorgenza di malattie zoonotiche nelle comunità locali (141, 142).

L'analisi completa della sequenza del aminotransferasi bilirubina e soprattutto D-dimero

aminotransferasi, bilirubina e, soprattutto, D-dimero  
(124). I pazienti di mezza età e anziani con malattie croniche  
primarie, in particolare ipertensione e diabete, sono  
risultati più suscettibili all'insufficienza respiratoria  
e, quindi, avevano prognosi peggiori. Fornire  
supporto respiratorio nelle fasi iniziali ha migliorato la  
prognosi della malattia e facilitato il recupero (18). L'ARDS  
in COVID-19 è dovuto al verificarsi di tempeste di  
citochine che si traducono in una risposta immunitaria  
esagerata, squilibrio della rete di regolazione  
immunitaria e, infine, insufficienza multiorgano (122).  
Oltre all'esagerata risposta infiammatoria osservata  
nei pazienti con polmonite da COVID-19, gli  
epatociti derivati dalle cellule epiteliali del dotto biliare  
sovraregolano l'espressione di ACE2 nel tessuto epatico  
mediante proliferazione compensativa che potrebbe  
provocare lesioni del tessuto epatico (123).

## CORONAVIRUS NEGLI ANIMALI E LINK

### ZOONOTICI: UN BREVE

#### PUNTO DI VISTA

Il coronavirus può causare malattie in diverse  
specie di animali domestici e selvatici, nonché nell'uomo  
(125). Le diverse specie animali infette da CoV  
includono cavalli, cammelli, bovini, suini, cani, gatti,  
roditori, uccelli, furetti, visoni, pipistrelli,  
conigli, serpenti e vari altri animali selvatici (20, 30, 79,  
mercati, ha promosso gli ulteriori adattamenti che ne sono derivat

mercati, ha promosso gli ulteriori adattamenti che ne sono derivati nel ceppo epidemico (104). La trasmissione può anche avvenire direttamente dall'ospite del serbatoio all'uomo senza adattamenti RBD. Il coronavirus di pipistrello attualmente in circolazione mantiene specifiche proteine spike "in bilico" che facilitano l'infezione umana senza la necessità di alcuna mutazione o adattamento (105).

Complessivamente, diverse specie di pipistrelli trasportano un numero enorme di coronavirus in tutto il mondo

.(106)

L'elevata plasticità nell'uso del recettore, insieme alla fattibilità della mutazione adattativa e

della

ricombinazione, può provocare una frequente trasmissione interspecie di coronavirus dai pipistrelli agli animali

e all'uomo (106). La patogenesi della maggior

parte dei coronavirus dei pipistrelli è sconosciuta, poiché la maggior

parte di questi virus non è isolata e

studiata (4). Hedgehog coronavirus HKU31, un

Betacoronavirus, è stato identificato dai ricci dell'Amur in Cina.

Gli studi dimostrano che

i ricci sono il

serbatoio del Betacoronavirus e ci sono prove di

ricombinazione (107).

Le attuali prove scientifiche disponibili

sull'infezione da MERS suggeriscono che l'ospite

serbatoio significativo, nonché la fonte animale dell'infezione

da MERS nell'uomo, siano i cammelli dromedari

.(108)I dromedari infetti potrebbero non mostrare

segni visibili di infezione. rendendolo impegnativo

Coronavirus nell'uomo.

SARS MERS.

Coronavirus nell'uomo-SARS, MERS,  
e COVID-19

L'infezione da coronavirus nell'uomo è comunemente associata a malattie respiratorie da lievi a gravi, con febbre alta, grave infiammazione, tosse e disfunzione degli organi interni che possono persino portare alla morte.<sup>(92)</sup> La maggior parte dei coronavirus identificati causa il comune raffreddore negli esseri umani. Tuttavia, questo è cambiato quando è stato identificato SARS-CoV, aprendo la strada a forme gravi della malattia negli esseri umani (22). La nostra precedente esperienza con le epidemie di altri coronavirus, come SARS e MERS, suggerisce che la modalità di trasmissione di COVID-19 sia principalmente una trasmissione da uomo a uomo tramite contatto diretto, goccioline e fomite (25). Recenti studi hanno dimostrato che il virus potrebbe rimanere vitale per ore negli aerosol e fino a giorni sulle superfici; pertanto, la contaminazione da aerosol e fomite potrebbe svolgere un ruolo importante nella trasmissione di SARS-CoV-2 (257). La risposta immunitaria contro il coronavirus è vitale per controllare e sbarazzarsi dell'infezione. Tuttavia, risposte immunitarie disadattate possono contribuire all'immunopatologia della malattia, con conseguente compromissione dello scambio gassoso polmonare.

Comprendere l'interazione tra i CoV e il sistema immunitario innato dell'ospite potrebbe illuminare il nostro

gamma di ospiti, producendo sintomi e malattie che vanno dal comune raffreddore a malattie gravi e infine fatali, come SARS, MERS e, attualmente, COVID-19. SARS-CoV-2 è considerato uno dei sette membri della famiglia dei CoV che infettano l'uomo (3) e appartiene alla stessa linea di CoV che causa la SARS; tuttavia, questo nuovo virus è geneticamente distinto. Fino al 2020, era noto che sei CoV infettavano l'uomo, tra cui il CoV umano 229E (HCoV-229E), HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV e MERS-CoV. Sebbene SARS-CoV e MERS-CoV abbiano provocato focolai con elevata mortalità, altri rimangono associati a lievi malattie del tratto respiratorio superiore .(4)

I CoV di nuova evoluzione rappresentano una grave minaccia per la salute pubblica globale. L'attuale comparsa di COVID-19 è la terza epidemia di CoV nell'uomo negli ultimi 2 decenni (5). Non è un caso che Fan et al. previsto potenziali focolai di CoV simili a SARS o MERS in Cina a seguito della trasmissione di agenti patogeni dai pipistrelli (6). Il COVID-19 è emerso in Cina e si è diffuso rapidamente in tutto il paese e, successivamente, in altri paesi. A causa della gravità di questo focolaio e del potenziale di diffusione su scala internazionale, il 31 gennaio 2020 l'OMS ha successivamente dichiarato un'emergenza sanitaria globale salute

gamma di ospiti, producendo sintomi e malattie che vanno dal comune raffreddore a malattie gravi e infine fatali, come SARS, MERS e, attualmente, COVID-19. SARS-CoV-2 è considerato uno dei sette membri della famiglia dei CoV che infettano l'uomo (3) e appartiene alla stessa linea di CoV che causa la SARS; tuttavia, questo nuovo virus è geneticamente distinto. Fino al 2020, era noto che sei CoV infettavano l'uomo, tra cui il CoV umano 229E (HCoV-229E), HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV e MERS-CoV. Sebbene SARS-CoV e MERS-CoV abbiano provocato focolai con elevata mortalità, altri rimangono associati a lievi malattie del tratto respiratorio superiore .(4)

I CoV di nuova evoluzione rappresentano una grave minaccia per la salute pubblica globale. L'attuale comparsa di COVID-19 è la terza epidemia di CoV nell'uomo negli ultimi 2 decenni (5). Non è un caso che Fan et al. previsto potenziali focolai di CoV simili a SARS o MERS in Cina a seguito della trasmissione di agenti patogeni dai pipistrelli (6). Il COVID-19 è emerso in Cina e si è diffuso rapidamente in tutto il paese e, successivamente, in altri paesi. A causa della gravità di questo focolaio e del potenziale di diffusione su scala internazionale, l'OMS ha dichiarato un glo.

159

emergenza sanitaria del 31 gennaio 2020. Successivamente

۱۵۹

nuovi farmaci mirati e prevenzione di ulteriori epidemie (13). I sintomi più comuni associati a COVID-19 sono febbre, tosse, dispnea, espettorazione, mal di testa e mialgia o affaticamento.

Al contrario, segni meno comuni al momento del ricovero in ospedale includono diarrea, emottisi e mancanza di respiro (14). Recentemente, anche gli individui con infezioni asintomatiche sono stati sospettati di trasmettere infezioni, il che aumenta ulteriormente la complessità delle dinamiche di trasmissione della malattia nelle infezioni da COVID-19 (1). Tali risposte efficaci richiedono una conoscenza approfondita del virus, che attualmente è un nuovo agente; di conseguenza, sono necessari ulteriori studi.

Il confronto del genoma di SARS-CoV-2 con quello del CoV simile a SARS/SARS strettamente correlato ha rivelato che la sequenza che codifica per la proteina spike, con una lunghezza totale di 1.273 aminoacidi, mostrava 27 sostituzioni di aminoacidi. Sei di queste sostituzioni si trovano nella regione del dominio di legame del recettore (RBD) e altre sei sostituzioni si trovano nel sottodominio sottostante (SD) (16). Le analisi filogenetiche hanno rivelato che SARS-CoV-2 è strettamente correlato (88% di somiglianza) a due CoV simili a SARS derivati da CoV simili a SARS di pipistrello (bat-SL-CoVZC45 e bat-SL-CoVZXC21) (Fig. 1).

CLA

Inoltre, SARS-CoV-2 è geneticamente distinto da SARS-CoV (79% di somiglianza) e MERS-CoV (quasi il 50%<sup>(17)</sup>) (COVID-19 è associato ad affezioni dei polmoni in tutti i casi e ha generato risultati caratteristici della tomografia computerizzata del torace, come la presenza di lesioni multiple nei lobi polmonari che appaiono come strutture opache dense, a vetro smerigliato che occasionalmente coesistono con ombre di consolidamento

<sup>(18)</sup>

161

ha provocato il caos in Cina e ha causato una pandemia situazione nella popolazione mondiale, portando a focolai di malattie che non sono stati controllati fino ad oggi, sebbene siano stati compiuti notevoli sforzi per contrastare questo virus (25). Questo virus è stato proposto per essere designato/denominato sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 (SARS-CoV-2) dal Comitato internazionale per la tassonomia dei virus (ICTV), che ha determinato l'appartenenza del virus alla categoria dei coronavirus correlati alla sindrome respiratoria acuta grave e hanno scoperto che questo virus è correlato ai SARS-CoV (26). SARS-CoV-2 è un membro dell'ordine Nidovirales, famiglia Coronaviridae, sottofamiglia Orthocoronavirinae, che è suddivisa in quattro generi, vale a dire Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus e Deltacoronavirus

.(27

I

generi Alphacoronavirus e Betacoronavirus provengono da pipistrelli, mentre Gammacoronavirus e Deltacoronavirus si sono evoluti da pool genetici di uccelli e suini (24, 28, 29, 275).

,3)

I coronavirus possiedono un genoma di RNA non segmentato, a filamento singolo, senso positivo di circa 27 kb, racchiuso da una coda 5'-cap e 3'-poly(A) (30). Il genoma di SARS-CoV-2 è lungo 29.891 bp, con un contenuto di G+C del 38% (31). Questi virus sono circondati da buste contenenti virus

an

162

circondato da un involucro contenente nucleocapside virale. I nucleocapsidi nei CoV sono disposti in simmetria elicoidale, che riflette un attributo atipico nei virus a RNA a senso positivo (30). Le micrografie elettroniche di SARS-CoV-2 hanno rivelato un contorno sferico divergente con un certo grado di pleomorfismo, diametri del virione variabili da 60 a 140 nm e picchi distinti da 9 a 12 nm, che conferiscono al virus l'aspetto di una corona solare.

(\*) Il genoma di COV è disposto linearmente come geni strutturali -' leader-UTR-replicasi (S-E-M-N)-3' UTR-poly(A) (32). Anche i geni accessori, come 3a/b, 4a/b e il gene dell'emoagglutinina-esterasi (HE), sono mescolati con i geni strutturali.

(\*) Anche SARS-COV-2 è disposto in modo simile e codifica diverse proteine accessorie, sebbene manchi dell'HE, che è caratteristico di alcuni betacoronavirus (31). Il genoma a senso positivo dei CoV funge da mRNA ed è tradotto in poliproteina p1a/p1ab (33). Un complesso di replicazione-trascrizione (RTC) è formato nelle vescicole a doppia membrana (DMV) da proteine non strutturali (nsps), codificate dal gene della poliproteina (34). Successivamente, l'RTC sintetizza un annidato di RNA subgenomici (sgRNA) tramite discontinua trascrizione (35).

infezioni clinicamente o attraverso test di laboratorio di routine. Pertanto la storia del viaggio diventa importante. Tuttavia, man mano che l'epidemia si diffonde, la cronologia dei viaggi diventerà irrilevante.

Trattamento [21, 23]

Il trattamento è essenzialmente di supporto e sintomatico.

Il primo passo è garantire un adeguato isolamento (discusso in seguito) per prevenire la trasmissione ad altri contatti, pazienti e operatori sanitari. La malattia lieve dovrebbe essere gestita a casa con consulenza sui segnali di pericolo. I soliti principi sono il mantenimento dell'idratazione e della nutrizione e il controllo della febbre e della tosse. L'uso di routine di antibiotici e antivirali come l'oseltamivir dovrebbe essere evitato nei casi confermati. Nei pazienti ipossici, fornitura di ossigeno attraverso cannule nasali, maschera facciale, nasale ad alto flusso

.(59,58)

meless, per SAF

MERS, Cive

gatto e cammello, rispettivamente, fungono da ospiti dell'amplificatore

.(41,40)

I genomi e i sottogenomi del coronavirus codificano sei ORF (31). La maggior parte dell'estremità 5' è occupata da ORF1a/b, che produce 16 nsps. Le due poliproteine, ppla e pplab, sono inizialmente prodotte da ORF1a/b mediante un frameshift di -1 tra ORF1a e ORF1b (32). Le proteasi codificate dal virus scindono le poliproteine in singole nsps (proteasi principale [Mpro], proteasi simile alla chimotripsina [3CLpro] e proteasi simile alla papaina [PLPS]) (42). SARS-CoV-2 codifica anche questi nsp e le loro funzioni sono state chiarite di recente (31). Sorprendentemente, una differenza tra SARS-CoV-2 e altri CoV è l'identificazione di una nuova proteina putativa breve all'interno della banda ORF3, una proteina secreta con un'elica alfa e un foglietto beta con sei filamenti codificati da ORF8 (31).

I coronavirus codificano quattro principali

165

proteine strutturali, vale a dire punta (S), membrana (M), involucro (E) e nucleocapside (N), descritte in dettaglio di seguito.

#### S Glicoproteina

La proteina S del coronavirus è una grande proteina transmembrana virale multifunzionale di classe I. La dimensione di questo trimerico S1 si posiziona sopra il gambo trimerico S2

(45). Recentemente, analisi strutturali delle proteine S di COVID-19 hanno rivelato 27 sostituzioni di aminoacidi all'interno di un tratto di 1.273 aminoacidi (16). Sei sostituzioni si trovano nell'RBD (aminoacidi da 357 a 528), mentre quattro sostituzioni si trovano nell'RBM al CTD del dominio S1 (16). Da notare che non si osserva alcun cambiamento di aminoacidi nell'RBM, che si lega direttamente al recettore dell'enzima di conversione dell'angiotensina-2 (ACE2) in SARS-CoV (16, 46). Al momento, l'enfasi principale è sapere quante differenze sarebbero necessarie per modificare il tropismo dell'ospite.

Il confronto delle sequenze ha rivelato 17 cambiamenti non sinonimi tra la sequenza iniziale di SARS-CoV-2 e gli isolati successivi di SARS-CoV. I cambiamenti sono stati trovati sparsi nel genoma del virus, con nove sostituzioni in ORF1ab, ORF8 (4 sostituzioni), il gene spike (3 sostituzioni) e ORF7a (singola sostituzione) (4). In particolare, gli stessi cambiamenti non sinonimi sono stati trovati in un cluster familiare, indicando che l'evoluzione virale è avvenuta durante la trasmissione da persona a persona (4, 47). Tali eventi di evoluzione adattativa sono frequenti e costituiscono un processo costantemente in corso una volta che il virus si diffonde tra nuovi ospiti (47). Anche se nel virus non si verificano cambiamenti funzionali associati a questa evoluzione adattativa, è necessario un attento monitoraggio del virus

l'assenza di questa proteina è correlata all'alterata virulenza dei coronavirus a causa di cambiamenti nella morfologia e nel tropismo (54). La proteina E è costituita da tre domini, vale a dire un breve dominio amminico idrofilo, un grande dominio transmembrana idrofobo e un efficiente dominio C-terminale.  
(51) La proteina SARS-CoV-2 E rivela una costituzione aminoacidica simile senza alcuna sostituzione (16).

N proteine

La proteina N del coronavirus è multiuso. Tra le varie funzioni, svolge un ruolo nella formazione complessa con il genoma virale, facilita l'interazione della proteina M necessaria durante l'assemblaggio del virione e migliora l'efficienza di trascrizione del virus (55, 56). Contiene tre domini altamente conservati e distinti, vale a dire un NTD, un dominio di legame all'RNA o una regione linker (LKR) e un CTD

(57) Il NTD si lega con l'estremità 3' del genoma virale, forse tramite interazioni elettrostatiche, ed è molto diverso sia in lunghezza che in sequenza (58).

L'LKR carico è ricco di serina e arginina ed è anche noto come dominio SR (serina e arginina) (59). L'LKR è in grado di interagire direttamente con l'interazione dell'RNA in vitro ed è responsabile della segnalazione cellulare (60, 61). Inoltre modula la risposta antivirale dell'ospite agendo come antagonista dell'interferone

evoluzione adattativa, è giustificato un attento monitoraggio delle mutazioni virali che si verificano durante la successiva trasmissione da uomo a uomo.

### Proteine M

La proteina M è la proteina virale più abbondante presente nella particella del virione, dando una forma definita all'involucro virale (48). Si lega al nucleocapside e funge da organizzatore centrale dell'assemblea del coronavirus (49). Le proteine del coronavirus M sono molto diverse nel contenuto di aminoacidi, ma mantengono una somiglianza strutturale complessiva all'interno di generi diversi (50). La proteina M ha tre domini transmembrana, fiancheggiati da un breve terminale amminico all'esterno del virione e da un lungo terminale carbossilico all'interno del virione (50). Nel complesso, l'impalcatura virale è mantenuta dall'interazione M-M. Da notare che la proteina M di SARS-CoV-2 non ha una sostituzione aminoacidica rispetto a quella di SARS-CoV (16).

### E Proteina

La proteina E del coronavirus è la più enigmatica e la più piccola delle principali proteine strutturali (51). Svolge un ruolo multifunzionale nella patogenesi, nell'assemblaggio e nel rilascio del virus (52). È un piccolo polipeptide di membrana integrale che agisce come viroporina (canale ionico) (53). L'inattivazione c

l'assenza di questa proteina è correlata all'alterata virulenza dei coronavirus a causa di cambiamenti nella morfologia e nel tropismo (54). La proteina E è costituita da tre domini, vale a dire un breve dominio amminico idrofilo, un grande dominio transmembrana idrofobo e un efficiente dominio C-terminale .(51)La proteina SARS-CoV-2 E rivela una costituzione aminoacidica simile senza alcuna sostituzione (16).

N proteine

La proteina N del coronavirus è multiuso. Tra le varie funzioni, svolge un ruolo nella formazione complessa con il genoma virale, facilita l'interazione della proteina M necessaria durante l'assemblaggio del virione e migliora l'efficienza di trascrizione del virus (55, 56). Contiene tre domini altamente conservati e distinti, vale a dire un NTD, un dominio di legame all'RNA o una regione linker (LKR) e un CTD

.(57)Il NTD si lega con l'estremità 3' del genoma virale, forse tramite interazioni elettrostatiche, ed è molto diverso sia in lunghezza che in sequenza (58).

L'LKR carico è ricco di serina e arginina ed è anche noto come dominio SR (serina e arginina) (59). L'LKR è in grado di interagire direttamente con l'interazione dell'RNA in vitro ed è responsabile della segnalazione cellulare (60, 61). Inoltre modula la risposta antivirale dell'ospite agendo come antagonista dell'interferone

Abbiamo valutato la somiglianza percentuale del nucleotide utilizzando il programma software MegAlign, in cui la somiglianza tra i nuovi isolati SARS-CoV-2 era compresa tra il 99,4% e il 100%. Tra le altre sequenze di Sarbecovirus CoV, le nuove sequenze SARS-CoV-2 hanno rivelato la più alta somiglianza con bat-SL-COV, con intervalli di identità percentuale nucleotidica tra l'88,12 e l'89,65%. Nel frattempo, i SARS-CoV segnalati in precedenza hanno mostrato una somiglianza dal 70,6 al 74,9% con SARS-CoV-2 a livello di nucleotide. Inoltre, la somiglianza percentuale dei nucleotidi era del 55,4%, dal 45,5% al 47,9%, dal 46,6% al 46,6% e dal 45,0% al 46,3% rispetto agli altri quattro sottogeneri, rispettivamente Hibecovirus, Nobecovirus, Merbecovirus ed Embecovirus.

L'indice percentuale di somiglianza degli attuali focolai isolati indica una stretta relazione tra gli isolati SARS-CoV-2 e bat-SL-COV, indicando un'origine comune. Tuttavia, sono necessarie prove particolari basate su un'ulteriore analisi genomica completa degli attuali isolati per trarre conclusioni, sebbene sia stato accertato che gli attuali nuovi isolati di SARS-CoV-2 appartengono al sottogenere Sarbecovirus nella vasta gamma di betacoronavirus. Si ipotizzava che il loro possibile antenato provenisse da ceppi CoV di pipistrelli, in cui i pipistrelli avrebbero potuto svolgere un ruolo cruciale nell'ospitare questa classe di virus.

Divide l'analisi della filogenesi dell'albero.

Nell'albero filogenetico senza radici di diversi betacoronavirus basati sulla proteina S, le sequenze virali di diversi sottogeneri sono raggruppate in cluster separati. Le sequenze SARS-CoV-2 di Wuhan e di altri paesi hanno mostrato una stretta relazione e sono apparse in un singolo cluster (Fig. 1).

I CoV del sottogenere Sarbecovirus sono apparsi congiuntamente in Splits Tree e divisi in tre sottocluster, ovvero SARS-CoV-2, bat-SARS-like-CoV (bat-SL-CoV) e SARS-CoV (Fig. 1). Nel caso di altri sottogeneri, come Merbecovirus, tutte le sequenze raggruppate in un unico cluster, mentre in Embecovirus, diverse specie, costituite da CoV respiratori canini, CoV bovini, CoV equini e ceppo di CoV umano (OC43), raggruppati in un ammasso comune. È stato scoperto che gli isolati nei sottogeneri Nobecovirus e Hibecovirus erano collocati separatamente dagli altri SARS-CoV segnalati, ma condividevano un'origine di pipistrello.

#### SCENARIO MONDIALE ATTUALE DI SARS-CoV-2

Questo nuovo virus, SARS-CoV-2, rientra nel sottogenere Sarbecovirus della sottofamiglia Orthocoronavirinae ed è completamente diverso dal virus: 171

subbranny ed è che scriverò anet pom ure virus  
responsabile di MERS-CoV e SARS-CoV (3). Il SARS-  
CoV-2 appena emerso è un coronavirus di gruppo  
γB (2). Le sequenze del genoma di SARS-CoV-2

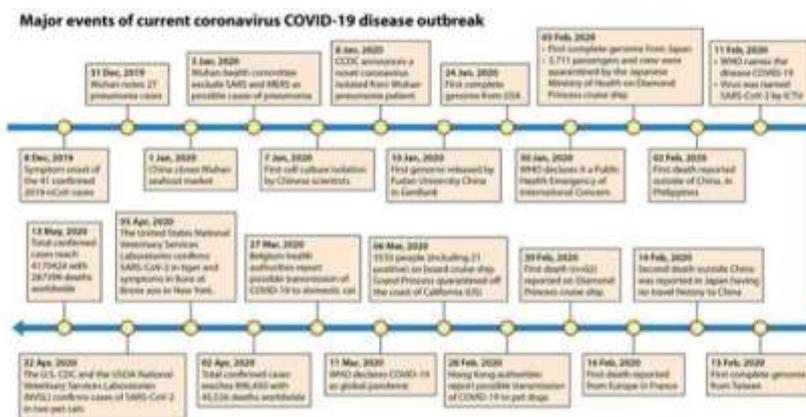
ottenute dai pazienti condividono una somiglianza di sequenza  
del 79,5% con la sequenza di SARS-CoV (63).

Al 13 maggio 2020, sono stati segnalati  
un totale di 4.170.424 casi confermati di COVID-19  
(con 287.399 decessi) in più di 210 paesi  
colpiti in tutto il mondo (WHO Situation Report 114

Il COVID-19 è stato confermato anche in crociera nave, denominata Diamond Princess, in quarantena nelle acque giapponesi (porto di Yokohama), così come su altre navi da crociera in tutto il mondo (239) (Fig. 3). Gli eventi significativi dell'epidemia del virus SARS-CoV-2/ COVID-19 che si sono verificati dall'8 dicembre 2019 sono presentati come sequenza temporale nella Fig. 5.

Principali eventi dell'attuale epidemia di coronavirus COVID-19

- 5 gennaio 2020 - Il comitato sanitario di Wuhan esclude SARS e MERS come possibile
- 23 marzo 2020 - 23 persone (di cui 21 positive) a bordo della nave da crociera Grand Princess sono state messe in quarantena al largo del COVID-19 al gatto domestico sulla costa della California (USA)
- Belgio salute riferiscono le autorità sono verificati durante l'epidemia del virus SARS-CoV-2/



COVID-19. La sequenza temporale descrive gli eventi significativi durante l'attuale epidemia di SARS-CoV-2, dall'8 dicembre 2019 al 13 maggio 2020.

All'inizio, la Cina ha subito la maggior parte dell'onere associato al COVID-19 sotto forma di morbilità e mortalità della malattia (65), ma col tempo la minaccia del COVID-19 si è spostata in Europa,

in particolare in Italia e Spagna, e ora negli

Stati Uniti ha il maggior numero di casi confermati covid10

e morti. L'epidemia di COVID-19 è stata anche associata a gravi impatti economici a livello globale a causa dell'improvvisa interruzione del commercio globale e delle catene di approvvigionamento che ha costretto le multinazionali a prendere decisioni che hanno portato a perdite economiche significative (66). Il recente aumento del numero di pazienti critici confermati con COVID-19 ha già superato le forniture di terapia intensiva, limitando i servizi di terapia intensiva solo a una piccola parte di pazienti critici (67). Ciò potrebbe anche aver contribuito all'aumento del tasso di mortalità osservato nell'epidemia di COVID-19.

Punto di vista sulla trasmissione, la diffusione e l'emergenza di SARS-CoV-2

Il nuovo coronavirus è stato identificato entro 1 mese (28 giorni) dall'epidemia. Questo è incredibilmente veloce rispetto al tempo impiegato per identificare il SARS-CoV riportato a Foshan, provincia del Guangdong, Cina (125 giorni) (68). Immediatamente dopo la conferma dell'eziologia virale, i virologi cinesi hanno rapidamente rilasciato la sequenza genomica di SARS-CoV-2, che ha svolto un ruolo cruciale nel controllo della diffusione di questo nuovo coronavirus appena emerso in altre parti del mondo (69).

La possibile origine di SARS-CoV-2 e la prima modalità di possibile origine di SARS-CoV-2 e la prima modalità o

possibile origine o la trasmissione della malattia non è stata ancora identificata (70). L'analisi del gruppo iniziale di infezioni suggerisce che gli individui infetti avevano un punto di esposizione comune, un mercato del pesce a Wuhan, provincia di Hubei, Cina (Fig. 6). I ristoranti di questo mercato sono noti per fornire diversi tipi di animali selvatici per il consumo umano (71). Il mercato del pesce di Huanan, nella Cina meridionale, vende anche animali vivi, come pollame, pipistrelli, serpenti e marmotte. (72) Questo potrebbe essere il punto in cui si è verificata la trasmissione zoonotica (da animale a uomo) (71). Sebbene si presume che SARS-CoV-2 abbia avuto origine da un ospite animale (origine zoonotica) con ulteriore trasmissione da uomo a uomo (Fig. 6). (73) la probabilità di trasmissione di origine alimentare dovrebbe essere esclusa con ulteriori indagini, poiché si tratta di un possibilità latente (1). Inoltre, altre vie potenziali e attese sarebbero associate alla trasmissione, come in altri virus respiratori, per contatto diretto, come stringere le mani contaminate o per contatto diretto con superfici contaminate (Fig. 6). Tuttavia, deve essere determinato se la trasfusione di sangue e il trapianto di organi (276), così come le vie transplacentari e perinatali, siano possibili vie per la trasmissione di SARS-CoV-2 (Fig. 6).

Dall'esperienza con diversi focolai associati a virus emergenti noti, la maggiore patogenicità di un virus è spesso associata a una minore trasmissibilità. Rispetto ai virus emergenti come il virus Ebola, H7N9 aviario, SARS-CoV e MERS-CoV, SARS-CoV-2 ha una patogenicità relativamente inferiore e una trasmissibilità moderata (15). Il rischio di morte tra le persone infette da COVID-19 è stato calcolato utilizzando il rischio di mortalità per infezione (IFR). L'IFR è risultato essere compreso tra lo 0,3% e lo 0,6%, che è paragonabile a quello di una precedente pandemia di influenza asiatica (dal 1957 al 1968).

In particolare, la rianalisi della curva pandemica COVID-19 dal gruppo iniziale di casi ha indicato una considerevole trasmissione da uomo a uomo. Si ritiene che la storia dell'esposizione di SARS-CoV-2 al mercato ittico di Wuhan sia originata dalla trasmissione da uomo a uomo piuttosto che da animale a uomo (74); tuttavia, alla luce dello spillover zoonotico in COVID-19, è troppo presto per sostenere pienamente questa idea (1). Dopo l'infezione iniziale, è stata osservata la trasmissione da uomo a uomo con una stima preliminare del numero di riproduzione ( $R_0$ ) da 1,4 a 2,5 (70, 75) e recentemente è stata stimata tra 2,24 e 3,58 (76).

In un altro studio, il numero medio riproduttivo di tartarughe anatre pescare Coccodrilli siamesi. e altro

tartarughe, anatre, pesci, coccodrilli siamesi e altro  
carni animali senza alcun timore di COVID-19. Il  
governo cinese sta incoraggiando le persone a sentirsi in  
grado di tornare alla normalità. Tuttavia, questo potrebbe  
essere un rischio, poiché è stato menzionato negli avvisi  
che le persone dovrebbero evitare il più possibile il  
contatto con animali vivi-morti, poiché SARS-CoV-2 ha  
mostrato ripercussioni zoonotiche. Inoltre, non possiamo  
escludere la possibilità che nuove mutazioni nello  
stesso virus siano strettamente correlate al contatto con  
animali e esseri umani al mercato (284). Nel gennaio  
, 2020 la Cina ha imposto un divieto temporaneo alla vendita  
di animali vivi-morti nei mercati umidi. Tuttavia,  
ora centinaia di tali mercati umidi sono stati riaperti  
senza ottimizzare le pratiche standard di sicurezza  
alimentare e igiene (286).

Con la Cina che è il paese più popolato del mondo e  
grazie alle sue politiche di esportazione alimentare  
nazionale e internazionale, il mondo intero sta ora  
affrontando la minaccia del COVID-19, inclusa la stessa Cina.

I mercati umidi di animali vivi morti non mantengono  
rigide pratiche igieniche alimentari. Schizzi di  
sangue fresco sono presenti ovunque, sul pavimento e  
sui tavoli, e tali usanze alimentari potrebbero incoraggiare  
molti agenti patogeni ad adattarsi, mutare e  
superare la barriera delle specie. Di conseguenza, il  
mondo intero soffre del nuovo SARS-CoV-2, con più di  
portatore di specie.

CL

Il mondo intero

affetti da romanzo SARS-CoV-2 con più il

portatore di specie.

Il mondo intero

è affetto dal nuovo SARS-CoV-2, con oltre 4.170.424 casi e 287.399 decessi in tutto il mondo. C'è un urgente bisogno di una campagna internazionale razionale contro le pratiche alimentari malsane della Cina per incoraggiare i venditori ad aumentare le pratiche alimentari igieniche o chiudere i mercati umidi di animali vivi e morti. È necessario modificare le politiche alimentari a livello nazionale e internazionale per evitare ulteriori minacce per la vita e conseguenze economiche derivanti da qualsiasi pandemia emergente o riemergente dovuta a una stretta interazione animale-uomo (285).

Anche se gli individui di tutte le età e di tutti i sessi sono suscettibili al COVID-19, le persone anziane con una malattia cronica di base hanno maggiori probabilità di essere gravemente infettate (80). Recentemente, è stato riscontrato che anche individui con infezione asintomatica agiscono come fonte di infezione per individui suscettibili (81). Sia i pazienti asintomatici che quelli sintomatici secernono cariche virali simili, il che indica che la capacità di trasmissione dei pazienti asintomatici o minimamente sintomatici è molto elevata. Pertanto, la trasmissione di SARS-CoV-2 può avvenire precocemente nel corso dell'infezione (82).

Manifestazioni cliniche atipiche sono state riportate anche in COVID-19 in cui l'unico sintomo segnalato era l'affaticamento. Tali pazienti possono non avere segni respiratori, come febbre, tosse ed espettorato (83). Quindi, i clinici febbre tosse e snutum (83). Quindi il clinico 178

febbre, tosse ed espettorato (83). Quindi, i clinici deve stare attento alla possibile insorgenza di manifestazioni cliniche atipiche per evitare la possibilità di mancata diagnosi. La capacità di trasmissione precoce di SARS-CoV-2 è risultata simile o leggermente superiore a quella di SARS-CoV, a dimostrazione del fatto che poteva essere controllata nonostante la trasmissibilità da moderata a elevata (84).

L'aumento delle segnalazioni di SARS-CoV-2 nelle acque reflue e nelle acque reflue giustifica la necessità di ulteriori indagini a causa della possibilità di trasmissione fecale-orale. SARS-CoV-2 presente in comparti ambientali come suolo e acqua finirà infine nelle acque reflue e nei fanghi di depurazione degli impianti di depurazione

.(327)Pertanto, dobbiamo rivalutare le attuali procedure di trattamento delle acque reflue e dei fanghi di depurazione e introdurre tecniche avanzate che siano specifiche ed efficaci contro SARS-CoV-2. Poiché vi è uno spargimento attivo di SARS-CoV-2 nelle feci, la prevalenza delle infezioni in una vasta popolazione può essere studiata utilizzando l'epidemiologia basata sulle acque reflue. Recentemente,

la

PCR quantitativa

della trascrizione inversa (RT-qPCR) è stata utilizzata per enumerare le copie dell'RNA SARS-CoV-2 concentrato dalle acque reflue raccolte da un impianto di trattamento delle acque reflue (327). La copia calcolata dell'RNA virale

num. 179 determinare il numero di individui infetti. IL

come recettore di ingresso mentre esibisce un RBD simile a quello di SARS-CoV (17, 87, 254, 255). Diversi paesi hanno fornito raccomandazioni ai propri cittadini che si recano in Cina (88, 89). Rispetto ai precedenti focolai di coronavirus causati da SARS-CoV e MERS-CoV, si riteneva che l'efficienza della trasmissione da uomo a uomo di SARS-CoV-2 fosse inferiore. Questa ipotesi si basava sulla constatazione che gli operatori sanitari erano meno colpiti rispetto a precedenti focolai di coronavirus mortali (2). Gli eventi di superdiffusione sono considerati i principali colpevoli dell'ampia trasmissione di SARS e MERS (90, 91). Quasi la metà dei casi di MERS-COV segnalati in Arabia Saudita sono di origine secondaria che si sono verificati attraverso il contatto con individui infetti asintomatici o sintomatici attraverso la trasmissione da uomo a uomo (92). Il verificarsi di eventi di superdiffusione nell'epidemia di COVID-19 non può essere escluso fino a quando non ne verrà valutata la possibilità. Come SARS e MERS, anche COVID-19 può infettare del tratto respiratorio inferiore, con sintomi più lievi.

(27) Il numero di riproduzione di base di COVID-19 è risultato essere compreso tra 2,8 e 3,3 sulla base dei rapporti in tempo reale e tra 3,2 e 3,9 sulla base dei casi infetti previsti (84).

il percorso garantisce l'introduzione di virus fecale negativo risultati del test dell'acido nucleico come uno degli ulteriori criteri di dimissione in casi confermati in laboratorio di COVID-19 (326).

La pandemia di COVID-19 non ha nuovi fattori, a parte l'agente patogeno geneticamente unico e un ulteriore possibile serbatoio. La causa e il probabile esito futuro sono solo ripetizioni delle nostre precedenti interazioni con coronavirus fatali. L'unica differenza è il tempo di occorrenza e la distinzione genetica del patogeno coinvolto. Le mutazioni sull'RBD dei CoV hanno facilitato la loro capacità di infettare i nuovi ospiti, espandendo così la loro portata in tutti gli angoli del mondo (85). Questa è una potenziale minaccia per la salute sia degli animali che dell'uomo. Studi avanzati che utilizzano la ricostruzione filogeografica bayesiana hanno identificato l'origine più probabile della SARS-CoV-2 nel coronavirus simile alla SARS del pipistrello, circolante nella famiglia dei pipistrelli Rhinolophus (86).

IL

L'analisi filogenetica di 10 sequenze dell'intero genoma di SARS-CoV-2 ha mostrato che sono correlate a due CoV di origine pipistrello, vale a dire bat-SL-CoVZC45 e bat-SL-CoVZXC21, che sono stati segnalati durante il 2018 in Cina (17). È stato riferito che era stato confermato che SARS-CoV-2 utilizzava AC 181 come recettore di ingresso mentre esibiva una simulazione RBD

un altro studio, il numero medio riproduttivo di COVID-19 è risultato essere 3,28, che è significativamente superiore alla stima iniziale dell'OMS da 1,4 a 2,5.<sup>(v)</sup> È troppo presto per ottenere l'esatto valore  $R_0$ , poiché esiste la possibilità di errori dovuti a dati insufficienti. Il valore  $R_0$  più alto è indicativo del potenziale più significativo della trasmissione di SARS-CoV-2 in una popolazione suscettibile. Questa non è la prima volta che le pratiche culinarie della Cina sono state accusate dell'origine della nuova infezione da coronavirus negli esseri umani. In precedenza, gli animali presenti nel mercato degli animali vivi erano stati identificati come ospiti intermedi dell'epidemia di SARS in Cina (78). È stato scoperto che diverse specie selvatiche ospitano ceppi di coronavirus potenzialmente in evoluzione che possono superare la barriera delle specie (79). Uno dei principi della cultura alimentare cinese è che gli animali macellati vivi sono considerati più nutrienti.<sup>(d)</sup>

Dopo 4 mesi di lotte durate da dicembre 2019 a marzo 2020, la situazione del COVID-19 sembra ora sotto controllo in Cina. I mercati di animali umidi sono stati riaperti e la gente ha iniziato a comprare pipistrelli, cani, gatti, uccelli, scorpioni, tassi, conigli, pangolini (formichieri squamosi), visoni, zuppa di zibetto delle palme, struzzi, criceti, tartarughe azzannatrici, anatre, pesci, Coccodrilli siamesi e altri~~

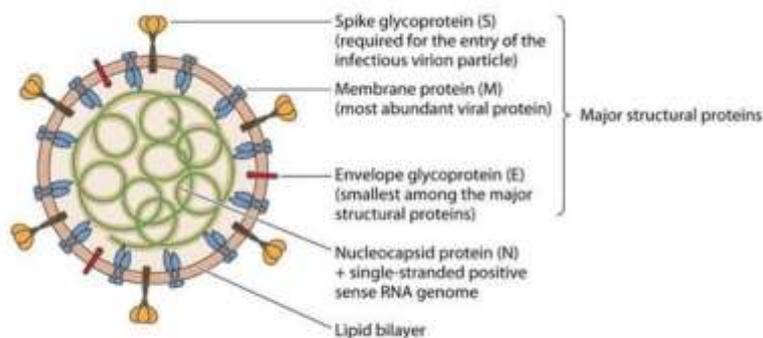
Inizialmente, l'epicentro della pandemia di SARS-CoV-2 è stata la Cina, che ha riportato un numero significativo di decessi associati a COVID-19, con 84.458 casi confermati in laboratorio e 4.644 decessi al 13 maggio 2020 (Fig. 4). Al 13 maggio, 102.000 casi confermati di SARS-COV-2 sono stati segnalati in più di 210 paesi oltre alla Cina (Fig. 3 e 4) (WHO Situation Report 114) (25, 64). Il COVID-19 è stato segnalato in tutti i continenti ad eccezione dell'Antartide. Per molte settimane l'Italia è stata al centro delle preoccupazioni per il gran numero di casi, con 221.216 casi e 30.911 morti, ma ora sono gli Stati Uniti il Paese con il maggior numero di casi, 1.322.054, e 79.634 morti. Ora, il Regno Unito ha ancora più casi (226.4671) e decessi (32.692) dell'Italia. Una piattaforma web della John Hopkins University ha fornito aggiornamenti quotidiani sull'epidemiologia di base dell'epidemia di COVID-19

nsp e proteine accessorie

Oltre alle importanti proteine strutturali, il genoma SARS-CoV-2 contiene 15 nsps, da nsp1 a nsp10 e da nsp12 a nsp16, e 8 proteine accessorie (3a, 3b, p6, 7a, 7b, 8b, 9b e ORF14) (16). Tutte queste proteine svolgono un ruolo specifico nella replicazione virale. (27) A differenza delle proteine accessorie di SARS-CoV, SARS-CoV-2 non contiene la proteina 8a e ha una proteina 8b più lunga e una proteina 3b più corta (16). Le proteine accessorie nsp7, nsp13, envelope, matrix e p6 e 8b non sono state rilevate con alcuna sostituzione di aminoacidi rispetto alle sequenze di altri coronavirus (16).

Figura 2.

La struttura del virus di SARS-CoV-2 è rappresentata in



**FIG 2 SARS-CoV-2 virus structure.**

-

La proteina S del coronavirus è una grande proteina transmembrana virale multifunzionale di classe I. La dimensione di questa abbondante proteina S varia da 1.160 aminoacidi (IBV, virus della bronchite infettiva, nel pollame) a 1.400 aminoacidi (FCOV, coronavirus felino) (43). Si trova in un trimero sulla superficie del virione, conferendo al virione un aspetto simile a una corona. Funzionalmente è necessario per l'ingresso delle particelle virioniche infettive nella cellula attraverso l'interazione con vari recettori cellulari dell'ospite (44).

Inoltre, agisce come fattore critico per il tropismo tissutale e la determinazione del range dell'ospite (45).

In particolare, la proteina

S

è una

delle

proteine immunodominanti vitali dei CoV in

grado di indurre risposte

immunitarie dell'ospite

.(45)Gli ectodomini in tutte le proteine CoVs S

hanno organizzazioni di dominio simili, divise in due

subunità, S1 e S2 (43). Il primo, S1, aiuta nel legame del recettore

ospite, mentre il secondo, S2, rappresenta la

fusione. Il primo (S1) è ulteriormente suddiviso in due

sottodomini, vale a dire il dominio N-terminale (NTD) e il

dominio C-terminale (CTD). Entrambi questi

sottodomini agiscono come domini di legame al

recettore, interagendo in modo efficiente con vari recettori

dell'ospite (45). Il CTD S1 contiene il motivo di

legame al recettore (RBM). In ogni proteina spike del

coronavirus, il trimero S1 si trova sopra il trimero S2

Alcune opzioni terapeutiche per il trattamento del COVID-19 hanno mostrato efficacia negli studi in vitro; tuttavia, ad oggi, questi trattamenti non sono stati sottoposti a studi clinici randomizzati su animali o umani, che ne limitano l'applicabilità pratica nell'attuale pandemia (7, 9, 19-21).

La presente revisione completa descrive le varie caratteristiche di SARS-CoV-2/COVID-19 che causano gli attuali focolai di malattia e i progressi nella diagnosi e nello sviluppo di vaccini e terapie. Fornisce inoltre un breve confronto con i precedenti SARS e MERS COV, la prospettiva veterinaria dei CoV e di questo nuovo patogeno emergente e una valutazione del potenziale zoonotico di CoV simili per fornire strategie One Health fattibili per la gestione di questo virus fatale (22 -367).

#### IL VIRUS (SARS-CoV-2)

I coronavirus sono virus a RNA a senso positivo che hanno una vasta e promiscua gamma di ospiti naturali e colpiscono più sistemi (23, 24). I coronavirus possono causare malattie cliniche negli esseri umani che possono estendersi dal comune raffreddore a malattie respiratorie più gravi come SARS e MERS (25, 26). Il recente emergente SARS-CoV-2 ha provocato il caos in Cina e ha causato una situazione pandemica nella popolazione mondiale che ha portato a

## INTRODUZIONE

Negli ultimi 2 decenni, i coronavirus (CoV) sono stati associati a significativi focolai di malattie nell'Asia orientale e nel Medio Oriente. La sindrome respiratoria acuta grave (SARS) e la sindrome respiratoria del Medio Oriente (MERS) hanno iniziato a emergere rispettivamente nel 2002 e nel 2012. Recentemente, un nuovo coronavirus, la sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 (SARS-CoV-2), che causa la malattia da coronavirus 2019 (COVID-19), è emerso alla fine del 2019 e ha rappresentato una minaccia per la salute globale, causando una pandemia in corso in molti paesi e territori (1).

Gli operatori sanitari di tutto il mondo stanno attualmente compiendo sforzi per controllare ulteriori focolai di malattie causati dal nuovo CoV (originariamente chiamato 2019-nCoV), identificato per la prima volta nella città di Wuhan, provincia di Hubei, Cina, il 12 dicembre 2019. L'11 febbraio 2020, il mondo L'Organizzazione della Sanità (OMS) ha annunciato la designazione ufficiale dell'attuale malattia associata a CoV come COVID-19, causata da SARS-CoV-2. Si è scoperto che il gruppo principale di pazienti era collegato al mercato del pesce della Cina meridionale di Huanan a Wuhan (2).

I CoV appartengono alla famiglia Coronaviridae (sottofamiglia Coronavirinae), i cui membri infettano un ampio

Modelli animali e colture cellulari

Per valutare il potenziale dei vaccini e delle terapie contro i CoV, compresi i SARS-CoV MERS-CoV e il SARS-CoV-2 attualmente emergente, sono necessari modelli animali idonei in grado di imitare la malattia clinica (211, 212). Vari modelli animali sono stati valutati per SARS- e MERS-CoV, come topi, porcellini d'India, criceti siriani dorati, furetti, conigli, primati non umani come macachi rhesus e uistiti e gatti (185) 213-218). La specificità del virus per hACE2 (recettore di SARS-CoV) è risultata essere una barriera significativa nello sviluppo di modelli animali. Di conseguenza, è stato sviluppato un modello di topo transgenico SARS-CoV inserendo il gene hACE2 nel genoma del topo (219). L'incapacità di MERS-CoV di replicarsi nelle vie respiratorie degli animali (topi, criceti e furetti) è un altro fattore limitante. Tuttavia, con l'ingegneria genetica, è stato sviluppato un modello di topo geneticamente modificato 288-330/+ +MERS-CoV che ora è in uso per la valutazione di nuovi farmaci e vaccini contro MERS-CoV (220). In passato, piccoli animali (topi o criceti) sono stati presi di mira per essere più vicini a una struttura umanizzata, come il DPP4 del topo alterato con DPP4 umano (hDPP4), hDPP4-trans

188

topi e topi hDPP4-Tg (transgenici per l'espressione

189