

## Grugliasco 26/02/2020

Ai rappresentanti degli studenti con preghiera di inoltrare agli interessati attraverso i vostri usuali canali

Care studentesse e cari studenti,

come virologi del Dipartimento di Scienze Veterinarie sentiamo il dovere di esprimere e farvi conoscere la nostra opinione su quanto sta accadendo sul nostro territorio. Chi di voi ha già frequentato le nostre lezioni di virologia e malattie virali conosce l'approccio che utilizziamo quando vi parliamo delle infezioni epidemiche e di quali strategie i virus adottano per sfruttare la popolazione animale e mantenersi in natura.

Abbiamo a che fare con un virus ad RNA con una forte propensione a mutare ed adattarsi. L'origine è sicuramente animale ed il pipistrello è la specie serbatoio più probabile (alberga numerosi betacoronavirus fra cui quello da cui ha originato il virus della SARS). E' probabile che sia passato all'uomo già da un pò di tempo e si sia adattato (abbia imparato) proprio attraverso le mutazioni, ad essere trasmesso nel circuito interumano. Il salto di specie garantisce ad un nuovo virus un notevole vantaggio verso la popolazione suscettibile. L'uomo quindi rappresenta una opportunità formidabile perchè rappresenta una specie abbondante, che vive in promiscuità ed è sprovvisto di memoria immunologica. I coronavirus del raffreddore sono degli alfacoronavirus e condividono ben poco del Covid 2019 in termini di cross-protezione. Quindi non è attesa in tempi brevi una riduzione della virulenza. Solo quando l'immunità di popolazione avrà raggiunto un certo livello, allora il virus comincerà ad essere trasmesso con maggiore difficoltà e tenderanno ad aumentare le forme lievi, croniche o asintomatiche. Notate che queste sono già presenti nella maggior parte degli infetti ma abbiamo ancora un 15-20% di infetti che sviluppano forme gravi che richiedono l'ospedalizzazione. Una caratteristica di questo virus è quella di essere molto contagioso. Il legame con il recettore cellulare è venti volte più forte rispetto al virus della SARS. Inoltre presenta siti per le proteasi cellulari simili a quelli dei virus influenzali associati a peste aviaria ad alta patogenicità (furin-like) quindi potenzialmente in grado di dare forme a maggior tropismo tissutale, essendo queste proteasi espresse in molti tessuti.

Quindi per concludere il virus non è la peste nera ma non è neanche una banale influenza e vi spieghiamo perchè:

- L'influenza stagionale ha una mortalità di circa lo 0,1%, non banale, ma la popolazione è in gran parte immune (per pregresse infezioni, parzialmente cross-protettive verso le nuove varianti e per la vaccinazione). In un tale contesto il virus influenzale serpeggia fra la popolazione e colpisce una frazione minoritaria delle persone senza incidere in modo significativo sulla forza lavoro di un paese.

- SARS-Cov2 è un virus nuovo. Non abbiamo memoria immunologica o immunità di gregge. In tali casi il virus, senza misure di controllo, avrebbe un andamento epidemico, arrivando ad interessare una larga fascia della popolazione recettiva (dove il denominatore è tutta la popolazione italiana) prima di cominciare a rallentare la progressione. Questo significa che, anche in assenza di forme gravi, una gran parte della popolazione in età lavorativa, sarebbe bloccata per settimane con immaginabili ripercussioni sull'economia nazionale. Quindi ben vengano le misure di restrizione attualmente in uso per arginare almeno i principali focolai epidemici.

- Covid 2019 causa forme gravi che richiedono il ricovero nel 15% dei casi. Si tratta di polmoniti che vengono curate in terapia intensiva per diversi giorni con l'ausilio della respirazione assistita. Quindi poco importa se la categoria a rischio di decesso siano gli over settantenni, con tutto il rispetto per i nostri vecchi. Anche i quarantenni o i cinquantenni (una parte cospicua della forza lavoro) avrebbe necessità della stessa terapia. Provate a chiedervi quanti letti per terapia intensiva ci sono nelle province italiane e quanti di questi sono già giustamente occupati da pazienti che hanno

subito operazioni chirurgiche, traumi, ustioni ecc. Da qui la necessità di applicare tutte le misure utili ad arginare l'espandersi dei focolai epidemici, anche se vengono percepite come eccessive. L'appello che facciamo agli studenti che hanno già maturato una sensibilità e coscienza sulle misure di lotta alle malattie degli animali è quella di fare tesoro delle vostre conoscenze ed essere parte attiva nella comunicazione del rischio, senza allarmare eccessivamente ma senza sottovalutare il problema.

Vi sarete accorti che non tutti i virologi che quotidianamente affollano le trasmissioni televisive la pensano allo stesso modo. Questo è assolutamente normale (la scienza è democratica fra gli scienziati e sensibilità e approcci diversi sono il sale del dibattito scientifico. La verità è che nessuno conosce come andrà a finire. Il principio di precauzione, se applicato bene, non sarà mai apprezzato abbastanza, se il problema sanitario poi non si verifica. Mentre una sottovalutazione del pericolo, in presenza di un'epidemia fuori controllo, farebbe scoppiare la rivoluzione. La difficoltà di prendere la giusta decisione è un sottile filo che lega questi due estremi.

Con l'augurio di rivedervi presto in Dipartimento  
un cordiale saluto  
Sergio Rosati e Luigi Bertolotti

### **Grugliasco 03/03/2020**

Ai rappresentanti degli studenti con preghiera di inoltrare agli interessati attraverso i vostri usuali canali

Care studentesse e cari studenti,

Il clamore mediatico che ha suscitato la nostra lettera, devo essere sincero, ci ha un pò spiazzato. Non amiamo i riflettori ma sentiamo il bisogno di ringraziarvi di cuore per il contributo che avete dato all'invito a condividere. Per una volta, la veterinaria si è fatta sentire. Accogliamo volentieri la sfida, sicuri che con il vostro aiuto, si possa dare un buon servizio alla collettività, accrescendo la percezione del ruolo sociale della vostra futura professione. Abbiamo pensato di continuare il filo diretto con voi scrivendovi una seconda lettera. L'obiettivo è sempre lo stesso, ovvero alimentare la vostra consapevolezza come abili e preparati comunicatori. L'idea di oggi, anche in un'ottica "one health", è quella di definire meglio il peccato originale, ovvero le condizioni all'origine delle principali epidemie degli ultimi anni.

un caro saluto

Sergio Rosati e Luigi Bertolotti

### **Il peccato originale**

Siamo ancora in piena emergenza e già si sta cercando il colpevole, colui che rischia di mettere in ginocchio l'economia mondiale. Si parla di ritardo nella diffusione delle informazioni alla comunità internazionale; di virus sfuggiti dal laboratorio, sviluppati per chissà quale motivo; di cosa si poteva fare e cosa non si doveva fare; di un'emergenza creata ad arte per diffondere il panico. Viviamo in un mondo globalizzato, ipertecnologico, che scopre all'improvviso il suo lato debole, che si dimostra indifeso verso le minacce più antiche (le malattie). Noi siamo virologi e da virologi parliamo, lasciando ad altri in compito di sviscerare gli aspetti antropologici. Ed un colpevole lo abbiamo trovato: il wet market, da cui originano quasi tutti i virus pandemici degli ultimi decenni.

I wet market sono mercati, tipicamente asiatici, con esposizione di animali vivi, domestici e selvatici che, mantenuti in promiscuità, vengono macellati in condizioni igieniche discutibili e venduti crudi o cotti. Anche in Africa centrale abbiamo qualcosa di simile: pipistrelli frugivori e scimmie, cacciati e consumati dalle genti del luogo.

Come vedremo dopo nell'approfondimento, questi ambienti rappresentano un'ottima occasione per i virus e le loro varianti, permettendo quei salti necessari per "agganciare" nuovi ospiti.

E' probabile che particolari abitudini alimentari siano radicate nelle tradizioni di alcuni popoli e che occasionalmente, in passato, abbiamo dato origine a piccoli focolai epidemici che si sono auto-estinti velocemente. L'auto-estinzione è ovviamente un evento sfavorevole per i virus, soprattutto per i più patogeni perché, uccidendo il nuovo ospite, non viene garantita la conservazione della specie (virale). L'ospite muore ed il virus al di fuori di questo non sa fare proprio nulla. L'auto-estinzione può avvenire anche per virus meno aggressivi, in ragione dell'immunità di popolazione che, aumentando progressivamente nei soggetti che superano l'infezione, rallenta l'epidemia fino a spegnerla. Ovviamente più è piccolo il numero di persone più rapidamente si ottiene questo risultato. Tutto ciò accadeva molto tempo fa, in villaggi sperduti della Cina rurale o nei piccoli agglomerati di capanne dell'Africa centrale.

A partire dagli anni '70, si è assistito alla progressiva migrazione dei popoli verso le grandi aree urbane, densamente popolate, trascinandosi con sé le abitudini alimentari ed i rischi collegati. Le diverse epidemie di Ebola, di nuovi sottotipi di virus influenzale e di coronavirus associati a sindromi respiratorie gravi sono quindi emerse in contesti demografici molto più complessi in cui le misure di contenimento richiedono uno sforzo immane.

Ogni cambiamento delle condizioni di vita dell'uomo, degli animali domestici e selvatici, che oggi avviene a ritmi sempre più rapidi, porta a conseguenze difficili da prevedere. Nel futuro, speriamo prossimo, avremo qualche elemento in più per riflettere sul modello di società che ci siamo scelti.

## Approfondimento

I Coronavirus, così come i virus influenzali, possiedono un genoma a RNA. Una caratteristica che li accomuna è la straordinaria capacità di mutare a causa della scarsa fedeltà degli enzimi deputati alla duplicazione del loro genoma. Durante la replicazione, alcuni virus mutano talmente tanto che più del 70% delle nuove particelle virali risulta difettivo (non "funzionante").

Quello che sembra essere un difetto è in realtà un forte vantaggio evolutivo perché permette al patogeno di adattarsi a nuovi tessuti, a nuovi ospiti o tentare di eludere la risposta immunitaria. Infatti, mutazioni a livello genetico possono tradursi in sostituzioni aminoacidiche, modificando le proteine virali necessarie alla prima fase della replicazione virale, ovvero l'adesione sulla cellula ospite. Inoltre, i virus che presentano un genoma segmentato come il virus dell'influenza, possono mutare in modo ancora più eclatante e rapido, scambiando interi segmenti del genoma. Questo processo, detto riassortimento, è alla base dell'emergenza delle nuove epidemie influenzali.

Normalmente questi virus si trasmettono all'interno di un ciclo che vede nell'animale selvatico il principale ospite, co-evolvono con esso, spesso senza provocare sintomi particolarmente eclatanti (tipicamente replicano nel tratto intestinale, senza un significativo coinvolgimento della risposta immunitaria). Questo è frutto di lunghi periodi di coabitazione e di adattamento, sia da parte dei virus che degli ospiti, ed è la conseguenza di una stabilità genetica, in assenza di possibili pressioni selettive da parte del sistema immunitario.

L'abitudine all'ospite tuttavia non impedisce al virus di mutare: se nel ciclo naturale si inseriscono attori diversi, questi possono rappresentare nuovi ospiti per le varianti mutate.

Questo è quello che molto probabilmente è successo all'inizio di Covid2019: i betacoronavirus infettano normalmente i pipistrelli. La promiscuità con altre specie animali ha permesso quello che in termini tecnici è chiamato *spillover*, ovvero il salto di specie.

Un virus riesce difficilmente a passare dal pipistrello all'uomo o, come nel caso dell'influenza, dal volatile all'uomo (salvo qualche eccezione). I virus hanno bisogno di adattarsi a specie animali più "vicine" da un punto di vista genetico, in modo che piccole mutazioni possano essere sufficienti a infettare un nuovo ospite e, con il passare del tempo, a essere anche trasmesso in modo efficiente.

Qui entrano in gioco animali come lo zibetto (un carnivoro selvatico), camelidi, o il suino come per alcuni virus dell'influenza. Piccoli salti, ma che portano il virus a essere trasmesso all'uomo e, soprattutto ad entrare nel circuito di trasmissione interumana.

Il modo migliore per favorire questo meccanismo è aumentare le probabilità di contatto ed i wet market sono appunto il fulcro epidemiologico ideale.

Ai rappresentanti degli studenti con preghiera di inoltrare agli interessati attraverso i vostri usuali canali

### **Grugliasco 10/03/2020**

Care studentesse e cari studenti,

#### **La domanda che incalza nel mondo veterinario è: ma questo SARS-Co2 si trasmette agli animali?**

Dico sempre ai miei studenti: per conoscere un virus e prevedere le sue mosse dovete immaginare che sia un essere pensante e provare a pensare come lui...

"Vivevo nell'intestino di un pipistrello. Che vita di... difficile.

Poi un giorno, dopo vari tentativi, chiedendo un passaggio a specie intermedie, sono riuscito a entrare nel corpo di un uomo.

All'inizio ho fatto un po' di fatica ma poi, grazie ai miei enzimi imperfetti, ho migliorato le capacità replicative e ho guadagnato il diritto di invadere il suo tratto respiratorio.

Questa nuova specie è davvero fantastica: è abbondante, viaggia velocemente e si sposta in ogni parte del mondo. Vive in gruppi numerosissimi, milioni di individui sotto cappe di fumo.

Ama la promiscuità, di tanto in tanto organizza raduni di decine di migliaia di individui attorno ad un rettangolo d'erba, urlando come scalmanati per un'ora e mezza e disperdendo miliardi di goccioline di saliva.

È una specie imprudente, egoista, e sembra non avere un istinto di sopravvivenza molto sviluppato.

Il suo sistema immunitario mi conosce da pochissimo tempo e mi fa un baffo.

Ma perché me ne dovrei andare da qui, infettare cani e gatti e ricominciare tutto da capo?

Ci ripenso fra un bel po'”

con l'augurio di vedervi presto

un caro saluto

Sergio Rosati e Luigi bertolotti

### **Intervista Avvenire 5/4/2020**

#### **1) A cosa serve il test sierologico di cui si parla tanto in questi giorni?**

(risposta immunitaria)

Il test sierologico rivela gli anticorpi, che qualsiasi individuo produce in risposta ad un' infezione ( o ad una vaccinazione). Sono specifici per l'agente infettante che ne ha stimolato la produzione. Quindi quando si parla di ricerca di anticorpi per il SARS-Cov 2 ci si riferisce ad anticorpi diretti verso le principali proteine del virus responsabile di Covid19. Alcuni di questi anticorpi sono diretti verso le proteine esterne che il virus utilizza per attaccarsi alle nostre cellule. Si chiamano anticorpi neutralizzanti perché, neutralizzando il virus, impediscono la prima fase di attacco e sono spesso identificati come anticorpi protettivi.

#### **2) In cosa si differenzia il test sierologico dal tampone? Cosa ricercano i due test?**

Sono due test diversi che vedono cose diverse in tempi diversi. Le analisi sul tampone mettono in evidenza il virus, o per meglio dire una componente specifica del virus, il suo acido nucleico. Il test è molto sensibile e risulta positivo nella prima parte della malattia, quando il sistema immunitario non è ancora capace di produrre una risposta efficace. Poi, nell'ipotesi che Covid19 sia una infezione acuta autolimitante, il sistema immunitario comincia ad elaborare le prime armi. I primi anticorpi a comparire appartengono alla classe delle IgM. Si possono rilevare già dopo 5-7 giorni e di solito raggiungono un picco verso la seconda settimana per poi scomparire più o meno rapidamente. Sono quindi associati ad una infezione recente. Più robusta è la produzione di anticorpi di classe IgG, che compaiono dopo ma raggiungono livelli elevati e duraturi nel tempo. Quasi sempre in presenza di IgG specifiche, il virus scompare ed il tampone risulta negativo. Questo vuol dire che il sistema immunitario ha vinto la sua battaglia. Quindi il test sierologico non può in alcun modo sostituire il tampone perché classificherebbe i soggetti infetti verso la fine del periodo infettivo quando è troppo tardi per fare diagnosi e isolare il paziente.

#### **3) Una persona immunizzata può ancora trasmettere il virus?**

Dobbiamo prima di tutto definire il termine immunizzato. L'individuo immune non trasmette un virus e non si ammala nuovamente, almeno fino a quando perdura l'immunità. In caso di Covid19 bisogna capire se la persona sieropositiva (con anticorpi specifici nel sangue) è immune. Ricordiamo che il sistema immunitario risponde in modo specifico anche sulle mucose, attraverso la produzione di un'altra classe di anticorpi, le IgA e con l'immunità cellulo-mediata. La ricerca degli anticorpi nel sangue è quindi il modo più pratico e potrebbe essere considerato un marker di protezione, non necessariamente la protezione in se stessa.

Per valutare il campo di applicazione del test sierologico, nel nostro studio, seguiremo nel tempo anche il personale sanitario maggiormente esposto a rischio di contagio e verificheremo se fra i soggetti sieropositivi, vi è un minor rischio di risultare positivi al tampone, rispetto ai sieronegativi.

#### **4) Come faccio a essere sicuro con un test che una persona immunizzata non trasmette più il virus? E può andare in giro?**

Per questa risposta sono necessari gli studi come il nostro. E' necessario seguire nel tempo i soggetti guariti, quantificare il livello di anticorpi e possibilmente effettuare tamponi. Per questo ci siamo concentrati sul personale sanitario. Tuttavia ricordo che gli studi sui vaccini, prima di ottenere l' autorizzazione, devono rispondere agli stessi requisiti di efficacia e di durata dell'immunità.

#### **5) Che esame serve, cosa si deve cercare nel sangue per essere abbastanza sicuri?**

Il test deve essere quantitativo (cioè capace di definire il titolo, la quantità di anticorpi), sensibile (cioè capace di identificare come positivi i soggetti che hanno effettivamente superato l'infezione) e specifico (cioè classificare come negativi i soggetti che non sono ancora venuti a contatto con il virus). Questo ultimo aspetto è cruciale perché un test poco specifico potrebbe dare un'illusione di immunità in soggetti che invece risultano pienamente suscettibili.

#### **6) I kit in circolazione sono affidabili? Che rischi presentano? Perché Ci sono dubbi? Fa bene il ministero a frenare?**

Difficile dirlo. Molti test sono stati sviluppati in pochissimo tempo e sono stati testati su numeri limitati di campioni. Inoltre sono ancora pochi gli studi scientifici per definire il campo di applicazione dei test sierologici. E' inutile disporre di un test se poi non sappiamo come interpretarlo. Molti test sono rapidi e possono essere condotti in autonomia. Questi sono particolarmente insidiosi proprio perché, essendo di facile utilizzo, potrebbero indurre ad un largo uso senza strumenti interpretativi. Inoltre sono quasi sempre test di tipo qualitativo (positivo o negativo) senza quantificare il titolo anticorpale. Forse in questa fase sarebbero da privilegiare test eseguibili in laboratorio, di tipo quantitativo, che consentono di ottenere in modo più accurato i dati di cui abbiamo bisogno. Il Ministero, con la circolare del 3 aprile, ha giustamente frenato sull'utilizzo un po' schizofrenico dei test rapidi in alcune regioni, che possono fare più danno che beneficio in questo delicato momento dell'epidemia italiana.

#### **7) Cosa serve per validare i test in circolazione?**

La validazione è una cosa seria e va fatta da organismi terzi. Noi stessi collaboriamo con uno spin off accademico, la in3diagnostic, per la realizzazione di un prototipo, corredato da parametri sulle performance del metodo. Poi deve subentrare un organismo indipendente, in grado di completare il processo autorizzativo per l'utilizzo come metodo diagnostico in vitro.

#### **8) Quanto tempo ci vuole a produrre un test affidabile italiano come state facendo voi? Quanti se ne potranno produrre?**

Il test al quale stiamo lavorando si chiama ELISA, un test immunoenzimatico che rappresenta lo standard in molti laboratori diagnostici, inclusi gli Istituti Zooprofilattici, che eseguono routinariamente migliaia di test a settimana nell'ambito dei principali piani di controllo delle malattie degli animali. E' un test quantitativo che misura le IgM e le IgG specifiche verso due

proteine virali. Il progetto “piemontese” coinvolge una rete di ospedali pubblici e privati ed è in fase di autorizzazione da parte dei comitati etici. Se riusciremo a completare una validazione interna in 2 settimane potremmo uscire con un prototipo già a fine mese. A quel punto sarà il Ministero a suggerire tempi e modi per una valutazione del metodo. La nostra attuale scala di produzione non va oltre i 20000 test a settimana. Sarà necessario quindi attivare una rete di collaborazioni con altre aziende del settore per garantire la completa autonomia nella produzione di un test italiano, senza dipendere da forniture estere che potrebbero non garantire nel tempo un adeguato flusso di reagenti