

Accademia Nazionale dei Lincei

Commissione Salute

1

RAPPORTO COVID-19: ESTATE 2020

A cura di

Maurizio Cecconi, Guido Forni, Alberto Mantovani

in ordine alfabetico

Una prima versione di questo Rapporto è stata preparata il 25 Marzo 2020. La Commissione Salute prevede di continuare ad aggiornare questo documento quando nuovi dati modificano significativamente sia quanto si conosce sulla COVID-19, sia le tecniche di contenimento e modalità terapeutiche. I pareri espressi dalle Commissioni Lincee rientrano nella loro autonoma responsabilità.

Si ringraziano: Antonio Amoroso, Univ. Torino; Giuseppina Barsacchi, Accad. Naz. Lincei, Gianni Bussolati, Univ. Torino; Piero Cappuccinelli, Univ. Sassari; Silvio Garattini, Istituto Farmacol. Mario Negri, Milano; Jacopo Meldolesi, Univ. Vita-Salute San Raffaele, Milano; Giorgio Parisi, Univ. La Sapienza, Roma; Alessandro Santin, Yale Univ., USA; Stefano Schiaffino, Univ. Padova; Elisa Vincenzi, San Raffaele Sci. Inst., Milano; Paolo Vineis, Imperial College, London, UK; Zhigang Tian, The Key Lab. Innate Immun. and Chronic Diseases, Chinese Academy of Sciences, Hefei, China, per i contributi e i suggerimenti nella stesura del documento.

24 Luglio 2020

Indice

1. Premessa	4
2. Riassunto grafico	4
3. Il virus SARS-CoV-2	5
La struttura del virus	5
L'attracco e la penetrazione nella cellula umana	5
Via alternativa d'invasione	6
Il contagio	6
4. La resistenza immunitarie all'infezione da SARS-CoV-2	6
La barriera costituita dal muco e dalle cellule ciliate	6
Il battito delle cilia	6
Efficacia della prima barriera	7
Il legame ad ACE2 e la reazione della cellula invasa dal virus	7
Come il virus SARS-CoV-2 sfugge ai meccanismi di difesa cellulari	7
La reazione dell'immunità innata	8
La produzione di citochine	8
La soppressione della reattività cellulare	9
La reazione dei linfociti T	9
La risposta anticorpale	9
La memoria immunitaria	10
5. SARS-CoV-2: diffusione e contenimento	11
L'origine del virus	11
La diffusione della COVID-19	11
La trasmissione del virus	12
Stagionalità dell'infezione	12
Persistenza della capacità infettiva del virus	12
Diffusione del virus nel corpo umano	13
Il virus SARS-CoV-2 infetta gli animali?	13
6. Strategie per il contenimento della pandemia	13
Imposizione dei blocchi	13
Il numero della riproduzione di base (R_0)	13
Il valore sanitario dei blocchi	14
La rimozione dei blocchi	14
7. L'aspetto oscuro della reazione immunitaria	16
L'infiammazione	16
Attivazione del complemento	16
Trombosi	16
8. Fattori predisponenti	17
L'infezione nei bambini	17
Essere un maschio	17
I grandi diffusori (Superspreaders)	18
Varianti genetiche	18
ACE2	18
TMPRSS2	18

	IFTM3	18
	HLA	18
	ABO	19
	MBL	19
9. Aspetti clinici		19
Sintomi		19
Il tasso di letalità		20
Reperti anatomopatologici		20
10. Diagnosi: virus e anticorpi		21
Tamponi		21
Analisi della saliva		21
Test sierologici		21
11. Terapia		22
I trattamenti essenziali: il supporto respiratorio e intervento sull'insufficienza d'organo		22
Farmaci antivirali	Lopinavir / ritonavir	23
	Remdesivir	23
	Cloroquina e idrossicloroquina	23
	Interferoni	24
Inibitori dell'infiammazione		24
Eparina		25
Steroidi		25
Anticorpi terapeutici: plasma-terapia e anticorpi monoclonali		25
Intelligenza artificiale e modelli		26
Inibitori della penetrazione del virus		26
12. Vaccini anti SARS-CoV-2		27
Il ruolo della Coalition for Epidemic Preparedness and Innovations (CEPI)		28
La competizione tra le differenti strategie di vaccinazione		28
Valutazione dei vaccini		28
Cautele connesse ad una valutazione accelerata		29
Problemi connessi con la produzione		29
Altri vaccini e il BCG		30
13. Preparedness o l'essere preparati		30
14. Referenze		32

1. Premessa.

Dall'inverno passato, l'Italia e tutto il mondo si trovano ad affrontare la sfida drammatica dell'infezione di un nuovo coronavirus, il SARS-CoV-2. Di fronte a questa pandemia inaspettata che sta mettendo in difficoltà numerosi, se non tutti, gli aspetti della civiltà umana, la Commissione Salute dell'Accademia Nazionale di Lincei ha ritenuto fosse un suo dovere mettere a disposizione della comunità un riepilogo, necessariamente provvisorio, delle attuali conoscenze sull'origine, sui meccanismi e sui trattamenti a disposizione e in preparazione per il controllo e cura di questa nuova malattia.

Questo documento non intende offrire una revisione completa dello stato dell'arte, ma piuttosto un'istantanea della situazione in un campo in rapidissima evoluzione. L'arrivo di nuove pubblicazioni scientifiche e di articoli che riportano nuove conoscenze del campo è continuo. In questo contesto, la preparazione di una revisione del Rapporto COVID-19 è, pertanto, un'impresa rischiosa e gli estensori di questo documento sono ben consci dei loro limiti.

Con una metafora, si può dire che stiamo sperimentando una medicina di guerra ed una ricerca di guerra. Troppo spesso siamo chiamati a rispondere con approcci empirici al dramma dei pazienti. Nonostante queste limitazioni, una valutazione rigorosa dei dati rimane, e diventa sempre più, un obbligo assoluto. Trovare un equilibrio tra le emergenze e il rigore metodologico diventa la sfida centrale [Baden and Rubin, 2020].

Ci si aspetta che, con queste note di cautela, il Rapporto possa fornire alcune indicazioni, anche se provvisorie, per comprendere meglio e per far fronte alla sfida senza precedenti che stiamo affrontando.

2. Riassunto grafico.

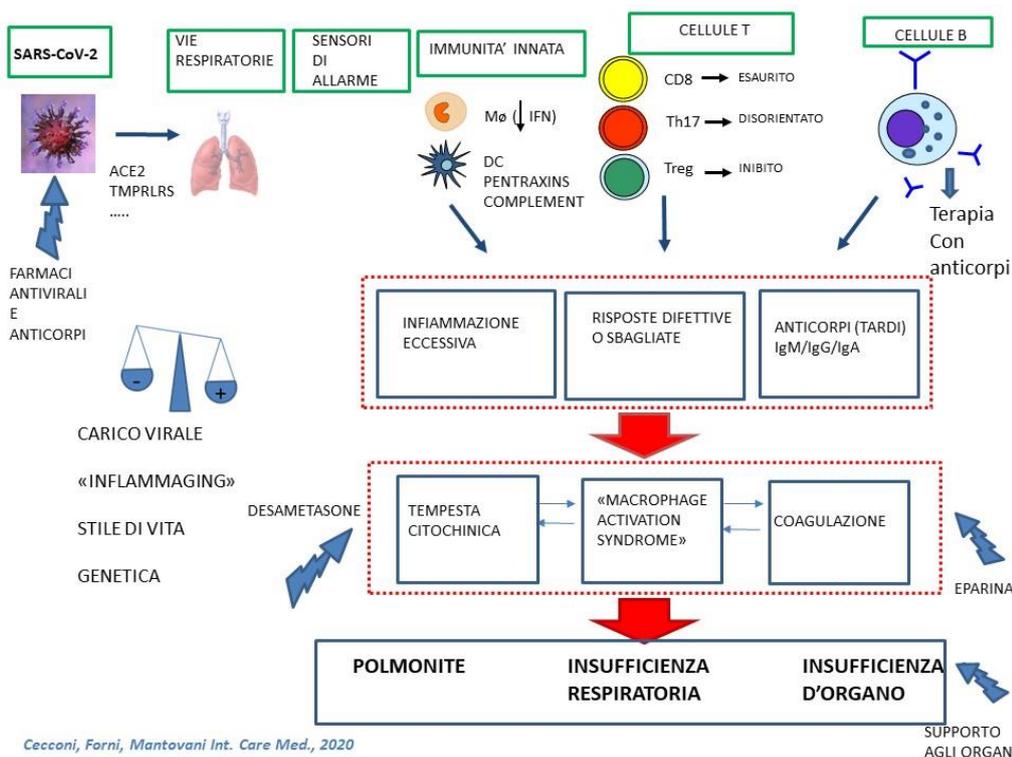


Fig. 1. Visione schematica della malattia COVID-19. ACE2, Angiotensin Converting Enzyme-2; TLR, Toll-like receptors; Mφ, macrofagi; DC, cellule dendritiche; IFN, interferoni; ARDS, acute respiratory distress syndrome;, i puntini indicano che sono coinvolti numerosi altri recettori. Immagine modificata partendo dalla pubblicazione di Cecconi et al, 2020.

3. Il virus SARS-CoV-2

La malattia da Coronavirus 2019, conosciuta con la sigla COVID-19, è causata dall'infezione da parte di un coronavirus chiamato SARS-CoV-2. I coronavirus sono una grande famiglia di virus che provocano malattie che vanno dal comune raffreddore invernale a malattie molto più gravi come la Sindrome Respiratoria del Medio Oriente, conosciuta con la sigla MERS, la Sindrome Respiratoria Acuta Grave o SARS e, appunto, la COVID-19.

● *La struttura del virus.* Il virus SARS-CoV-2 è una particella sferica il cui diametro si aggira intorno a 0,125 µm. La membrana esterna del virus (il pericapside) è costituita da tre glicoproteine

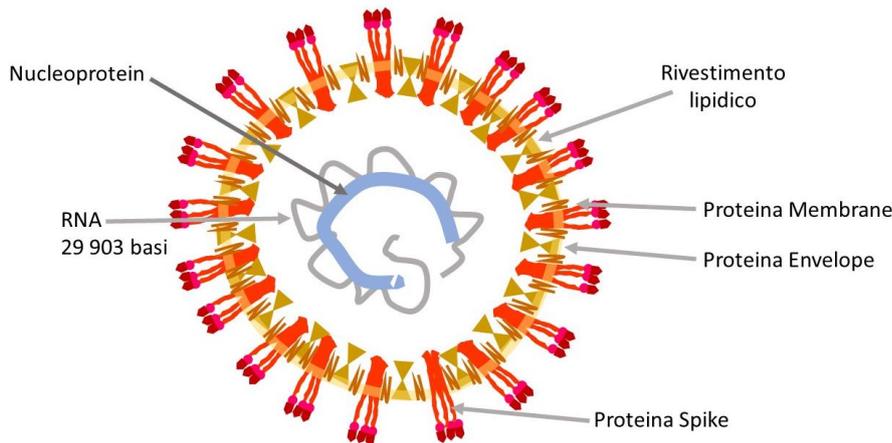


Fig.2. Da Seminara et al, 2020

strutturali, conosciute come Spike, Envelope, Membrane. All'esterno, si trova un rivestimento lipidico. Tre molecole della grande proteina Spike si aggregano tra loro, e numerosi di questi aggregati tri-molecolari (omotrimeri) sporgono all'esterno del pericapside formando una specie di corona, da cui deriva il nome di coronavirus. All'interno del pericapside, una quarta proteina strutturale del virus, la Nucleoprotein, interagisce, stabilizza e protegge un filamento di RNA costituito da circa 30.000 basi, un genoma inusualmente grande per un virus a RNA (Fig. 2). Un meccanismo di correzione degli errori impedisce a questo grande genoma virale di andare incontro a frequenti mutazioni.

● *L'attracco e la penetrazione nella cellula umana.* Nella porzione più esterna degli aggregati trimeri delle molecole Spike vi è una zona detta Receptor Binding Domain (RBD) che si lega ad alta affinità ad un ectoenzima comunemente presente sulla superficie di molte cellule umane,

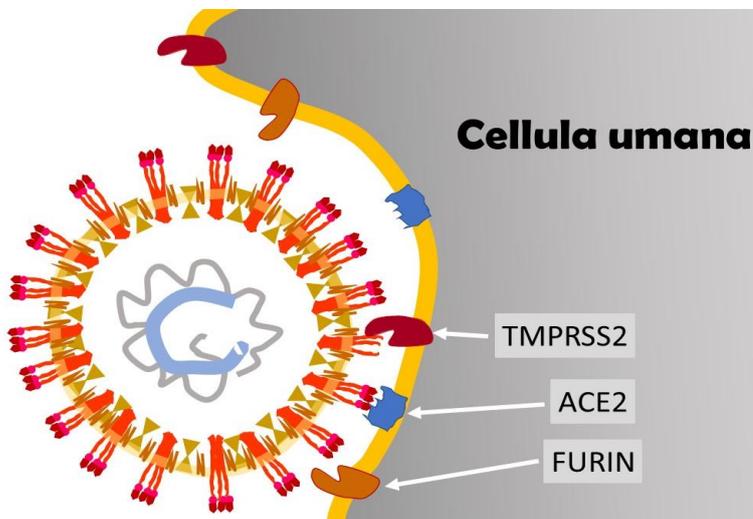


Fig. 3. Da Seminara et al, 2020

l'Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE-2) (Fig. 3, vedi anche 8, *Fattori predisponenti*). Una volta avvenuto l'attracco, due enzimi proteolitici, la TMPRSS2 (*Transmembrane Protease Serine 2*) e la Furin, anche questi comunemente espressi sulla superficie delle cellule umane, tagliano le proteine Spike. Dopo il taglio, i frammenti delle proteine

Spike connessi con il pericapside espongono alcuni peptidi che permettono la fusione tra la membrana della cellula e quella del virus [Hoffman et al, 2020]. L'RNA virale entra all'interno della cellula dove è immediatamente tradotto in proteine. La cellula infetta muore liberando milioni di nuovi virus.

- *Via alternativa d'invasione.* Analisi bioinformatiche basate sulla struttura delle proteine mettono in evidenza che un altro ectoenzima presente sulla superficie delle cellule umane, la *Transmembrane dipeptidyl peptidase-4* (DPP4), che è il recettore a cui si lega il virus MERS-CoV [Li et al, 2016], potrebbe fungere da recettore anche per il virus SARS-CoV-2. Tuttavia, per ora mancano ancora prove dirette sul fatto che il DPP4 sia utilizzato dal virus SARS-CoV-2 per penetrare all'interno delle cellule umane.

- *Il contagio.* Ci si contagia con il virus SARS-CoV-2 respirando le goccioline che vengono emesse da una persona infetta tossendo, starnutando o parlando. Le cellule epiteliali che rivestono le mucose del naso e della gola esprimono sulla loro superficie elevate quantità dei recettori ACE2. Le goccioline respiratorie emesse da una persona infetta atterrano anche su numerose superfici dove il virus mantiene la sua capacità infettiva per un certo tempo. Pertanto, ci si può contagiare anche toccando la mucosa della bocca, del naso o degli occhi dopo aver catturato con le mani il virus presente su diverse superfici. Per un'analisi dettagliata dei meccanismi con cui le goccioline respiratorie emesse da una persona infetta trasmettono il contagio si consiglia di consultare il Rapporto di Seminara et al [2020].

4. La resistenza immunitarie all'infezione da SARS-CoV-2.

Quando il virus SARS-CoV-2 arriva sulle superfici delle mucose si scatena il confronto tra la capacità invasiva del virus ed i meccanismi di difesa del corpo umano. Il risultato di questa competizione può essere l'inibizione immediata del virus, un'infezione leggera con pochi o nessun sintomo evidente, oppure una malattia più o meno grave o una malattia grave che può portare alla morte [Matricardi et al, 2020; Moriyama et al, 2020].

- *La barriera costituita dal muco e dalle cellule ciliate.* I virus SARS-CoV-2 che arrivano sulle superfici delle mucose devono superare la barriera creata dal muco, un gel viscoso prodotto dalle cellule caliciformi delle mucose e da ghiandole particolari. Il muco, che contiene diverse glicoproteine, sali, la lactoferrina, vari enzimi, componenti della cascata del complemento, e anticorpi (IgA e IgM secretorie), forma uno strato protettivo sopra la mucosa che riveste la superficie interna del naso, della gola e del tratto respiratorio superiore. Aggregando e neutralizzando le particelle virali, il muco impedisce al virus di stabilire un diretto contatto con la superficie delle cellule epiteliali della mucosa. La sua produzione è regolata dalle citochine secrete dai linfociti sentinella associati alle mucose (vedi Fig. 4, da Seminara et al, 2020).

- *Il battito delle cilia.* Continuamente, il muco mosso dal movimento coordinato delle cilia delle cellule dell'epitelio delle mucose viene ingerito e distrutto nello stomaco. Questo movimento del muco è fondamentale per la sua azione protettiva. L'intensità dei battiti delle cilia, regolata dalle

citochine, viene inibita dall'umidità e dalla bassa temperatura nell'aria respirata e dalla presenza di inquinanti ambientali [NCBI, 2020].

- **Efficacia della prima barriera.** Non sappiamo ancora quante siano le particelle virali SARS-CoV-2 che vengono eliminate dalla barriera muco-ciliare, anche se, invece, è ben nota l'influenza che i fattori ambientali, come l'umidità,

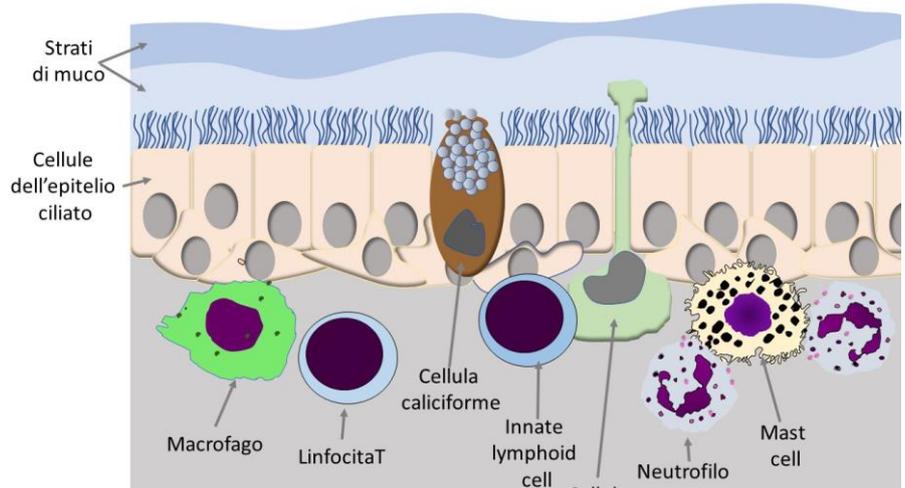


Fig. 4. Il respirare aria fredda, secca o troppo umida, o aria inquinate riduce l'efficacia della barriera muco-ciliare delle vie aeree superiori, stimola l'iperproduzione di muco e rende meno efficiente la reazione protettiva dell'immunità innata [Moriyama et al, 2020]. Da Seminara et al, 2020.

la temperatura e l'inquinamento, hanno sulla difesa verso le infezioni da parte dei coronavirus che causano i raffreddori invernali. È comunque probabile che, nella maggioranza dei casi, la barriera costituita dal muco e dai battiti della cilia sia in grado di neutralizzare la maggior parte dei virus SARS-CoV-2 e che questa prima difesa abbia un ruolo essenziale nel determinare se l'infezione sarà del tutto inibita, se si evolverà in un'infezione di lieve intensità o se, invece, avrà conseguenze importanti [Mantovani et al, 2019; Matricardi et al, 2020].

- **Il legame ad ACE2 e la reazione della cellula invasa dal virus.** Se qualche virus SARS-CoV-2 riesce a superare la barriera costituita dal muco, le molecole Spike che sporgono dal pericapside del virus legano l'enzima ACE2 espresso sulla superficie delle cellule delle vie respiratorie, e permettono al virus di entrare dentro le cellule. Le cellule della mucosa respiratoria umana sono dotate di numerosi meccanismi per rilevare e bloccare le invasioni da parte dei virus. L'RNA del virus SARS-CoV-2 viene riconosciuto e distrutto da parte delle elicasi presenti nel citoplasma della cellula invasa. Inoltre, nel citosol le peculiarità dell'RNA virale sono riconosciute dai *RIG-like* e dai *Toll-like receptors*. L'attivazione di questi recettori mette in moto una serie di reazioni a cascata che portano alla produzione di Interferone di tipo I e di altre citochine. Nella cellula invasa, gli Interferoni attivano programmi di difesa contro i virus e la produzione di proteine transmembrana che inibiscono l'ingresso del virus nelle cellule adiacenti. Nei linfociti sentinella associati alle mucose, i segnali trasmessi dai *RIG-like receptors* portano all'assemblaggio degli inflammasomi citoplasmatici ed alla susseguente produzione di importanti citochine ad attività pro-infiammatoria, quali l'IL-1, l'IL-18, la cui secrezione induce il rilascio di altre citochine e innesca una reazione infiammatoria. Inoltre, l'induzione della caspasi 1, tagliando la gasdermina D, provoca sia il rilascio di altre citochine sia la morte per piroapoptosi della cellula infetta. La piroapoptosi, una forma particolare di suicidio cellulare che porta la cellula infettata alla morte prima che questa rilasci milioni di nuove particelle virali, è una via molto efficace per bloccare la propagazione del virus [Vabret et al, 2020].

- **Come il virus SARS-CoV-2 riesce a sfuggire ai meccanismi di difesa cellulari.** Diverse proteine codificate dall'RNA del virus interferiscono con i meccanismi reattivi della cellula e permettono al

virus di sfuggire alle reazioni attivate quando la cellula si accorge della presenza dell'RNA virale. Alcune proteine virali impediscono alla cellula di percepire la presenza dell'RNA virale, mentre altre bloccano la trasduzione dei segnali intracellulari. Per esempio, la proteina NSP1, codificata dal virus, impedisce alla cellula umana di assemblare proteine con attività antivirale. La proteina NSP3 destabilizza le proteine della cellula rendendo poco efficace la reazione contro il virus. Altre proteine, come l'NSP10 e NSP16, proteggono l'RNA virale dai meccanismi distruttivi messi in atto dalla cellula invasa. E ancora, altre proteine virali (ORF6, ORF9b...) interferiscono con i segnali che portano all'attivazione delle reazioni cellulari e alla messa in moto delle reazioni antivirali. In particolare, il virus SARS-CoV-2 riesce ad alterare la trasduzione dei recettori degli interferoni che porta all'attivazione dei numerosi geni attivati dagli interferoni [Zhou et al, 2020b; Corum e Zimmer, 2020].

● *La reazione dell'immunità innata.* Se la carica virale è tale da superare la barriera costituita dal muco e dalle cellule ciliate e se il virus riesce a sfuggire ai meccanismi di reazione endocellulare, l'infezione da SARS-CoV-2 inizia a diffondersi nelle cellule della mucosa del naso, della faringe e dell'occhio. A questo punto l'infezione virale viene contrastata dai numerosi meccanismi dell'immunità innata. Se la diffusione del virus è limitata alle vie aeree superiori, i virus che riescono a raggiungere i polmoni sono variabili che dipendono direttamente dall'intensità, dall'efficacia e dalle caratteristiche di queste reazioni [Matricardi et al, 2020; Zhou et al, 2020b]. In queste reazioni sono dapprima coinvolti i meccanismi umorali dell'immunità innata: la produzione di interferoni, il sistema del complemento e della coagulazione, le proteine solubili quali la *Mannose Binding Lectin*, gli anticorpi naturali ed eventuali anticorpi indotti da infezione precedenti da parte di altri virus che reagiscono anche contro il virus SARS-CoV-2.

I danni causati dall'infezione virale, il rilascio di segnali d'allarme da parte delle cellule infette e la produzione di citochine da parte dei leucociti sentinella associati alle mucose inducono la dilatazione delle venule post-capillari con la conseguente fuoriuscita del plasma e dei leucociti reattivi che invadono la zona infetta. I leucociti fuoriusciti dai vasi sanguigni vengono attivati e guidati dai segnali d'allarme, dagli interferoni e da altre citochine rilasciati dalle cellule invase dal virus che stanno morendo [Vabret et al, 2020].

● *La produzione di citochine.* Lo studio dei geni attivati nelle prime fasi dell'infezione da parte del SARS-CoV-2 mette in evidenza una forte attivazione di numerosi geni che codificano chemochine e citochine. Si osserva sia l'attivazione del gene della chemochina CXCL8, che guida il reclutamento dei granulociti neutrofili nella zona invasa, sia l'attivazione dei geni delle chemochine CCL2 e CCL7 che guidano l'arrivo dei monociti e dei macrofagi [Zhou et al, 2020b]. Infatti, in accordo con i dati di espressione genica, la zona invasa dal virus risulta infiltrata da neutrofili, cellule dendritiche, macrofagi [Vabret et al, 2020]. Anche molti geni regolati dagli interferoni risultano essere fortemente attivati. Mentre questo dato porterebbe a supporre una massiccia produzione di interferoni, ciò non è evidente. L'anomalia deriva probabilmente dalla capacità delle proteine codificate dal virus SARS-CoV-2 di interferire sia con l'attivazione dei geni degli interferoni e sia sui segnali liberati dai loro recettori. La maggiore o minore efficacia delle reazioni dell'immunità innata dipenderà proprio dalla capacità del virus SARS-CoV-2 di bloccare, più o meno efficacemente, la produzione degli interferoni e di interferire con i segnali liberati dai recettori degli interferoni

[Vabret et al, 2020; Zhou et al, 2020; Hadjadj et al, 2020]. Ed è proprio il confronto tra i meccanismi reattivi dell'immunità innata e la capacità invasiva del virus SARS-CoV-2 che determina la gravità dell'infezione, il suo contenimento nelle vie aeree superiori o l'arrivo del virus al polmone, causando la malattia o la malattia grave del paziente [Matricardi et al, 2020]. Comunque, i dati epidemiologici suggeriscono che le reazioni dell'immunità innata siano, in genere, estremamente efficaci, per cui, nella stragrande maggioranza dei casi, l'infezione da parte del virus SARS-CoV-2 rimane asintomatica o causa soltanto sintomi lievi [Day, 2020].

● *La soppressione della reattività cellulare.* I linfociti T svolgono un ruolo centrale nella guarigione di numerosissime malattie virali. I linfociti T CD4⁺ sono necessari per attivare i linfociti B a produrre anticorpi che leghino il virus con elevata affinità. Inoltre, questi linfociti modulano e guidano una più efficace risposta infiammatoria. Sono stati identificati i frammenti di alcune strutture del virus SARS-CoV-2 riconosciuti dai linfociti T CD4⁺ [Grifoni et al. 2020]. I linfociti T CD8⁺, invece, individuano ed uccidono le cellule infettate dal virus prima che diventino fabbriche di milioni di nuove particelle virali. Dati questi ruoli centrali che i linfociti T hanno nel controllo e nella guarigione delle infezioni virali, non sorprende che il virus SARS-CoV-2 interferisca con la loro azione riducendo il numero di linfociti T presenti nel sangue periferico. Ci sono anche evidenze sperimentali sulla capacità del virus SARS-CoV-2 di indirizzare la risposta dei linfociti T verso il tipo T helper 17 [Xu et al, 2020]. I linfociti T helper 17 guidano la reazione dei neutrofili verso i batteri extracellulari, ma sono inefficaci come difesa verso le infezioni virali. A questo proposito è interessante notare che l'IL-1 e IL-6, due bersagli della terapia della COVID-19 (vedi più sotto), guidano la differenziazione dei linfociti T verso i T helper 17 [Mantovani et al, 2019]. Ci sono anche evidenze di un progressivo esaurimento funzionale sia dei linfociti T, sia della cellula NK e sia delle *Innate Lymphoid Cells*, cosa che corrisponde ad una perdita delle difese antivirali. Non solo i linfociti T e le cellule *Natural Killer* sono diminuiti nei pazienti di COVID-19, ma risulta alterata anche la loro capacità di uccidere e di secernere interferone-gamma ed il TNF- α [Wilk et al, 2020; Zheng et al, 2020; Maggi et al, 2020; Hadjadj et al, 2020].

● *La reazione dei linfociti T.* Nei pazienti che stanno guarendo dalla COVID-19 è presente una forte reattività dei linfociti T diretta verso i peptidi delle proteine Nucleocapsid, Membrane e Spike. Spesso la reazione, che può persistere per lunghi periodi, risulta essere diretta principalmente verso i peptidi della proteina Spike [Vabret et al, 2020]. Mentre un'intensa reazione dei linfociti T è essenziale per il controllo dell'infezione virale, un'eccessiva attivazione dei linfociti T CD4⁺ può causare lo sviluppo di lesioni a livello del polmone ed esacerbare la "tempesta di citochine", fenomeno pericoloso discusso più avanti [Zhao et al, 2016; Leslie, 2020].

● *La risposta anticorpale.* Gli studi più recenti, eseguiti su un grande numero di pazienti, stanno portando a superare i limiti delle osservazioni iniziali inevitabilmente basate su pochi pazienti e limitate da vari problemi tecnici. Tutti i 285 pazienti studiati in Cina da Long et al [2020] hanno sviluppato una risposta anticorpale contro la proteina Spike entro 19 giorni dalla comparsa dei sintomi. In questi pazienti sono presenti tre tipologie di risposta: in un gruppo, una più precoce comparsa di anticorpi della classe IgM è stata seguita dalla comparsa di anticorpi della classe IgG. In un altro gruppo di pazienti si è osservata la comparsa contemporanea di IgM ed IgG, mentre in un

altro gruppo ancora la produzione di IgG ha preceduto la comparsa delle IgM. Queste due ultime cinetiche di comparsa degli anticorpi sono sorprendenti perché contrastano con quanto comunemente osservato e riportato nei libri di testo di immunologia [Lou et al, 2020; Xiang et al, 2020]. A New York, uno studio su 1343 pazienti guariti da una lieve forma di COVID-19 ha messo in evidenza che il 99% ha sviluppato anticorpi della classe IgG contro la proteina Spike tra i 7 ed i 50 giorni dall'esordio dei sintomi [Wajnberg et al, 2020]. Un altro studio ha dimostrato che i pazienti di COVID-19 non solo producono anticorpi contro la proteina Spike ma anche anticorpi che reagiscono contro altre proteine strutturali e non-strutturali codificate dal virus SARS-CoV-2. In questo studio è stata osservata una risposta particolarmente intensa verso la Nucleoprotein e verso altre proteine del capsido. L'insieme di questi vari antigeni ha messo in evidenza la sierconversione, cioè la presenza di anticorpi specifici verso il virus SARS-CoV-2 in tutti i pazienti analizzati, compresi quelli che non avevano prodotto anticorpi contro la proteina Spike [Hachim et al, 2020]. Altri studi hanno analizzato la produzione di anticorpi verso il *Receptor Binding Domain* (RBD, vedi anche 2, *L'attracco e la penetrazione nella cellula umana*) presente sulla parte più esterna della proteina Spike [Okba et al, 2020; Brouwer et al, 2020]. Gli anticorpi diretti verso il RBD sono particolarmente interessanti perché possono bloccare l'interazione tra il virus SARS-CoV-2 ed il recettore ACE2, l'ectoenzima espresso sulla membrana delle cellule umane. Gli anticorpi diretti verso il RBD hanno importanza non solo da un punto di vista sierologico, ma anche per quanto riguarda la messa a punto di anticorpi terapeutici che siano in grado di bloccare l'infezione virale (vedi punto 11, *Gli anticorpi in terapia*). Anticorpi della classe IgA, che sono presenti sia in circolazione che nella saliva [Wu et al, 2020; Guo et al, 2020], possono avere un ruolo importante nella difesa delle mucose.

In vitro, vari anticorpi sono in grado di neutralizzare l'infettività del virus. Tuttavia, non è ancora chiaro quanto siano diverse le risposte anticorpali dei pazienti che guariscono da una forma grave, meno grave o lieve di COVID-19, né per quanto tempo persista la risposta anticorpale, dato questo di grande importanza [Mandavilli, 2020].

- **La memoria immunitaria.** L'instaurarsi e la durata di una memoria immunitaria protettiva nei pazienti guariti dalla COVID-19 costituisce un problema centrale che ha importanti implicazioni terapeutiche, politiche e di salute pubblica. Attualmente, i dati disponibili mettono in evidenza che, nella maggior parte dei casi, i pazienti guariti non si ammalano più. Ralph Baric ha recentemente affermato che una risposta immunitaria protettiva dovrebbe persistere per almeno 6-12 mesi [Baric, 2020]. I dati ottenuti a proposito della SARS suggeriscono che la memoria immunitaria potrebbe persistere per due o tre anni [Prompetchara et al, 2020]. Nella maggior parte dei pazienti convalescenti, linfociti B memoria possono essere isolati dal sangue periferico [Andreano et al, 2020; Wec et al, 2020; Leslie, 2020]. Tuttavia, non è ancora ben chiarito se la presenza di anticorpi contro la molecola Spike o contro il RBD della molecola Spike correli sempre con la capacità di inibire l'infettività virale. È stato proposto che gli individui che presentano una marcata risposta anticorpale possano tornare ad una vita attiva in caso di pandemia da SARS-CoV-2. Invece, la WHO ha messo in guardia sulla possibilità di reinfezione, sottolineando appunto il fatto che la presenza di anticorpi non sia una garanzia automatica nei confronti di una reinfezione [WHO, 2020a].

5. SARS-CoV-2: diffusione e contenimento.

● *L'origine del virus.* I coronavirus possono essere trasmessi orizzontalmente tra animali e, verticalmente, tra animali e persone. In altre parole, i coronavirus sono *zoonotici*. Negli ultimi vent'anni un coronavirus ha effettuato almeno tre volte il cosiddetto "salto di specie" passando dal suo ospite naturale alla specie umana: il virus SARS-CoV nel 2003 in Cina; il virus MERS-CoV in Medio Oriente nel 2012; il virus SARS-CoV-2 a Wuhan, di nuovo in Cina, alla fine del 2019. È probabile che, come già accaduto per gli altri coronavirus, anche nel caso del SARS-CoV-2 l'ospite originale fosse il pipistrello. Nel mondo ci sono oltre 1,200 specie di pipistrelli che, nel loro insieme, rappresentano il 20% delle specie di mammiferi della terra, e quindi un enorme serbatoio di virus. Si ritiene che per il passaggio di un coronavirus da un pipistrello all'uomo sia necessario un ospite intermedio. Nel caso del virus della SARS l'ospite è stato lo zibetto, per il virus della MERS è stato il dromedario, per il virus SARS-CoV-2 l'ospite è ancora sconosciuto ma potrebbe essere il pangolino. Il pangolino è un animale in via d'estinzione che viene attivamente cacciato e commercializzato per le squame di cheratina, un importante ingrediente della medicina tradizionale cinese, e per la sua carne che, in Cina e in Viet Nam, è considerata una prelibatezza [Cyrnosky, 2020]. Sembra invece essere improbabile l'ipotesi che il virus SARS-CoV-2 sia stato creato in laboratorio.

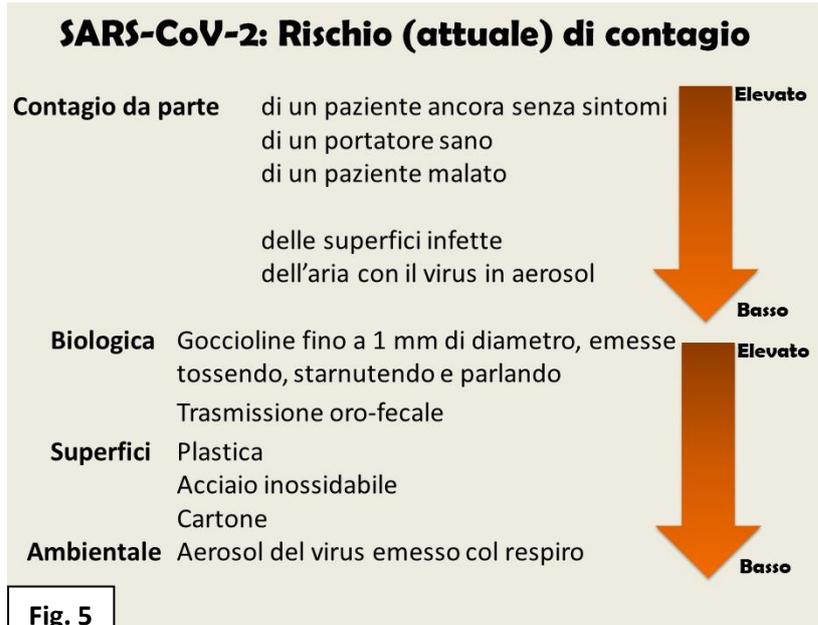
● *La diffusione della COVID-19.* Durante l'autunno 2019, varie polmoniti ad eziologia sconosciuta sono state diagnosticate in persone in qualche modo collegate al mercato del pesce e di animali vivi della città di Wuhan, nella provincia di Hubei in Cina. Dal liquido del lavaggio bronco-alveolare di questi pazienti è stato isolato il nuovo virus il SARS-CoV-2. Il genoma del virus è stato rapidamente sequenziato dagli scienziati cinesi che hanno resa pubblica la sequenza dell'RNA virale [NCBI, 2020]. L'epidemia causata dal SARS-CoV-2 ha continuato a diffondersi e il 30 gennaio 2020 è stata dichiarata *emergenza di sanità pubblica di interesse internazionale* [WHO, 2020b].

Il 20 febbraio, un paziente di 35 anni, che non aveva particolari ragioni per essere stato infettato dal SARS-CoV-2 è stato trovato positivo al virus mentre era già degente in un'unità di terapia intensiva dell'Ospedale di Codogno, Lodi. Il giorno seguente, a Codogno sono stati trovati altri 36 casi di pazienti positivi senza che fosse sempre possibile stabilire un evidente collegamento con il caso precedente. L'individuazione di questo gruppo di persone infette ha segnato l'inizio del più grande focolaio di SARS-CoV-2 al di fuori della Cina. Nelle settimane successive, analoghi focolai d'infezione sono stati individuati nella maggior parte dei Paesi occidentali.

L'11 marzo 2020, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS/WHO) ha modificato la qualifica dell'infezione da SARS-CoV-2 portandola da *epidemia* a *pandemia*.

Per cercare di limitare la diffusione dell'infezione, prima la Cina, poi la Corea del Sud, l'Italia e, progressivamente molti altri Paesi del mondo hanno imposto dei limiti allo spostamento delle persone ed hanno chiuso i confini [WHO, 2020b; Fauci et al, 2020]. Attualmente, mentre il numero delle nuove infezioni in Europa sta diminuendo, portando ad un progressivo allentamento delle restrizioni imposte dalla più grande quarantena della storia dell'umanità, l'infezione si sta diffondendo più velocemente che mai in molti altri Paesi del mondo, con un numero di oltre 100.000 casi segnalati giornalmente. La stima della reale diffusione della COVID-19 è resa difficile sia dalla rapida progressione dell'infezione sia dai diversi metodi con cui i vari Paesi rilevano la malattia.

● *La trasmissione del virus.* Il contagio da parte del virus SARS-CoV-2 avviene principalmente per via respiratoria [Wang et al, 2020c] tramite le goccioline di dimensione fino ad 1 mm di diametro che una persona infetta emette quando tossisce, starnutisce o parla [Seminara et al, 2020]. La quantità di virus liberato aumenta man mano che l'infezione progredisce. La quantità di virus diffusa da una persona infetta ma asintomatica è notevolmente inferiore rispetto a quella diffusa da un paziente



affetto da COVID-19 conclamata. Tuttavia, la grande diffusione della COVID-19 probabilmente dipende principalmente da persone contagiate, prima che i loro sintomi dell'infezione divengano evidenti. L'importanza che riveste la trasmissione del SARS-CoV-2 da parte di persone infette rimaste asintomatiche è difficile da valutare, anche se numerosi dati provenienti dalla Cina [Day, 2020] e da studi condotti in Italia a Vo' Euganeo [Lavezzo et al, 2020] ed in Islanda [Gudbjartsson et al, 2020] mettono in evidenza che in un'ampia percentuale della popolazione l'infezione rimane asintomatica.

● *Stagionalità dell'infezione.* Già Ippocrate nel 400 a.C. si era reso conto dell'influenza delle stagioni sul diffondersi all'apparato respiratorio delle epidemie delle malattie infettive. Variazioni della temperatura, dell'umidità relativa e delle radiazioni ultraviolette influenzano in modo notevole la stabilità dei virus. D'altro canto, la temperatura, l'umidità relativa ed il passaggio da ambienti caldi ad ambienti freddi influenzano notevolmente l'efficacia sia della barriera muco-ciliare sia delle reazioni dell'immunità innata. Inoltre, nelle diverse stagioni il comportamento degli esseri umani cambia notevolmente e cambia, di conseguenza, la probabilità di contatti ravvicinati con persone infette asintomatiche o prima che si manifestino i sintomi della malattia [Moryiama et al, 2020]. È quindi possibile che fattori stagionali influenzino anche la diffusione del virus SARS-CoV-2 nelle varie aree del mondo. Tuttavia, solo col passare del tempo sarà possibile rendersi conto dell'importanza dei fattori stagionali sulla pandemia di COVID-19 che potrebbe contrarsi durante i mesi più caldi per poi tornare a dilagare con l'arrivo della stagione fredda.

● *Persistenza della capacità infettiva.* Il virus che viene diffuso dal normale respiro come aerosol nell'aria può persistere per alcune ore [van Doremalen et al, 2020]. Le goccioline emesse con la tosse, con lo starnuto e parlando si possono depositare su varie superfici dove il virus può rimanere infettivo per ore, financo un giorno. È quindi possibile che una persona, dopo aver captato il virus toccando queste superfici, si possa infettare toccandosi la bocca, il naso o gli occhi [Wang et al, 2020c; Seminara et al, 2020].

- *Diffusione del virus nel corpo umano.* Uno studio molto recente fornisce nuove indicazioni sulla replicazione e diffusione del virus nell'organismo infetto [Wölfel, 2020]. Mentre si riteneva che il virus SARS-CoV-2 infettasse e si replicasse solo nelle cellule del polmone profondo, i nuovi dati mettono in evidenza che ciò avviene anche nelle cellule della mucosa del tratto respiratorio superiore. Inoltre, il virus può replicarsi anche nelle cellule della mucosa del tratto gastrointestinale e ciò può causare, in alcuni pazienti, l'insorgenza di sintomi diarroici. Nelle feci delle persone infette la carica virale è bassa e, in genere, il virus non è infettivo anche se l'RNA virale è presente [Wang et al, 2020c]. Questo è un dato interessante perché la determinazione della quantità di RNA virale presente nelle acque nere prima dei trattamenti può permettere una valutazione della reale entità dell'epidemia da SARS-CoV-2 in una popolazione [Mallapaty, 2020b].

- *Il virus SARS-CoV-2 infetta gli animali?* I gatti possono venir infettati dal virus SARS-CoV-2. Tuttavia, la carica virale rilasciata dai gatti che sono stati sperimentalmente infettati sembra essere troppo bassa perché ci possa essere il rischio di trasmissione agli esseri umani. Non ci sono prove di infezione trasmessa da gatti domestici anche in casi di contatti ripetuti con le persone con cui vivono. I cani, invece, hanno una bassa suscettibilità all'infezione da parte del virus SARS-CoV-2 [Temmam et al, 2020]. Questo virus si replica stentatamente nei maiali, nei polli e nelle anatre, mentre i furetti sono altamente sensibili all'infezione [Shi et al, 2020]. Inoltre, la diffusione della pandemia potrebbe costituire un serio pericolo per le grandi scimmie antropomorfe [Gillepsie e Leendertz, 2020].

6. Strategie per il contenimento della pandemia.

Il 23 gennaio 2020, con qualche ritardo rispetto all'iniziale diffusione della COVID-19, il governo cinese ha isolato e bloccato i movimenti di decine di milioni di persone nella provincia di Hubei. Agli abitanti di quest'area è stato vietato di lavorare, andare a scuola e ogni forma di aggregazione mentre tutti i negozi sono stati chiusi con l'eccezione di quelli che vendevano cibo o medicine. In conseguenza di questo blocco, la comparsa di nuovi casi ha iniziato a rallentare. Il 19 Marzo 2020, per la prima volta, non sono stati segnalati nuovi casi di COVID-19 nella provincia di Hubei.

- *Imposizione dei blocchi.* Sulla base dell'esperienza cinese, i blocchi (cosciuti come *lockdown*) di vario grado di mobilità delle popolazioni sono attualmente in atto nei diversi Paesi del mondo. I blocchi si basano sulla chiusura dei confini nazionali, sulla limitazione della circolazione all'interno di uno stato o provincia, sull'isolamento delle persone infette, sul tracciamento dei contatti e sul distanziamento fisico delle persone. Il distanziamento fisico, che costituisce la base delle strategie di blocco, riveste un'importanza centrale nel rallentare la trasmissione del contagio riducendo il "numero di riproduzione di base" (R_0). Ma, poiché il distanziamento fisico delle persone ha un costo molto elevato, sia per quanto riguarda la vita sociale sia per quanto riguarda l'andamento dell'economia, l'intensità delle misure di distanziamento, che i vari Paesi hanno deciso di applicare, varia in funzione sia delle particolari situazioni di ogni nazione, sia di quanto l'epidemia è diffusa in quella popolazione [Flaxman et al, 2020; Ferguson et al, 2020].

- *Il numero di riproduzione di base (R_0).* R_0 è il numero delle persone suscettibili all'infezione che in condizioni normali viene contagiato da ogni persona infetta. L' R_0 del virus SARS-CoV-2 si aggira intorno a 3,87. Durante un'epidemia, tanto più le misure di contenimento e l'aumento delle persone

immuni abbassano il “numero di riproduzione di base” (indice R_t), tanto minore sarà il rischio di diffusione del contagio. Lo scopo dei vari tipi di restrizioni che sono stati messi in atto è di portare R_t a valori bassi, in modo che l’incidenza di nuovi casi d’infezione decresca progressivamente fino alla scomparsa dell’epidemia. Se invece i valori di R_t rimangono, o tornano ad essere elevati, l’epidemia persisterà. Addirittura, nel caso in cui i valori dell’ R_t divengano elevati, si avrà un nuovo picco dell’epidemia. Le esperienze recenti hanno dimostrato che è possibile bloccare la diffusione del virus SARS-CoV-2 ed arrivare a valori di R_t inferiori ad 1 in tempi relativamente brevi [WFF, 2020]. La riduzione della diffusione dell’infezione è fondamentale per permettere un miglior trattamento medico dei pazienti e per riorganizzare il sistema sanitario che è messo in gran difficoltà dall’eccessivo numero di pazienti. Comunque, con il trascorrere del tempo, un’elevata percentuale della popolazione di un Paese acquisisce l’immunità contro il virus, e questa “immunità di comunità” (*herd immunity*) porterà al controllo dell’epidemia.

● *Il valore sanitario dei blocchi.* Questo Rapporto intende mettere in evidenza come, in una certa percentuale di pazienti di COVID-19, l’infezione possa portare ad una grave sindrome respiratoria che impone il ricovero in unità di terapia intensiva [Cao et al, 2020b]. Nella maggior parte dei Paesi del mondo, i letti nelle unità di terapia intensiva sono limitati. Prima dell’epidemia di COVID-19, in Italia c’erano circa 5.000 posti letto in unità di terapia intensiva. Poiché i dati più recenti indicano che circa il 12% dei pazienti di COVID-19 richiede l’ammissione in queste unità di terapia, se si ammalassero contemporaneamente 42.000 persone si saturerebbe la capacità del sistema sanitario del nostro Paese. Anche se la disponibilità dei posti letto in unità di terapia intensiva varia da Paese a Paese, nessun sistema sanitario al mondo potrebbe gestire un aumento illimitato di pazienti che necessitano di questo tipo di ricovero. Per questo motivo, di fronte ad un’esplosione dei casi di COVID-19 non è possibile pensare solamente di aumentare il numero di posti letto in unità di terapia intensiva, ma diventa assolutamente indispensabile mettere in atto misure in grado di contenere il diffondersi dell’infezione, evitando così di mettere il sistema sanitario di fronte ad un carico che non può più essere gestito.

● *La rimozione dei blocchi.* Se la lunga durata delle strategie di confinamento causa seri problemi sociali ed economici, una loro rimozione troppo affrettata potrebbe portare ad un rampante ritorno dell’epidemia, con conseguenze sanitarie e sociali ancora più devastanti. Nel momento in cui viene preparato questo rapporto molti governi, tra cui quello italiano, hanno messo in atto una graduale rimozione delle misure di blocco che sono durate per oltre due mesi. Cercare di incrementare la libertà individuale e di ridurre le restrizioni sociali pone problemi perché non sono disponibili linee guida facilmente applicabili ai Paesi occidentali. Si tratta di un’impresa che probabilmente sarà connotata da una serie di errori e da una serie di misure messe in atto per ripararli [Kupferschmidt, 2020a].

In Europa, l’intensa interconnessione tra le nazioni dovrebbe imporre la messa in atto di misure coordinate, cosa che attualmente non appare essere sufficientemente considerata, essendo ogni nazione concentrata sui gravi e parzialmente differenti problemi interni. Si deve tener presente che il ritorno dell’epidemia in una nazione europea potrebbe causare la re-introduzione di blocchi successivi e financo l’introduzione di una serie di blocchi periodicamente ripetuti anche in altre

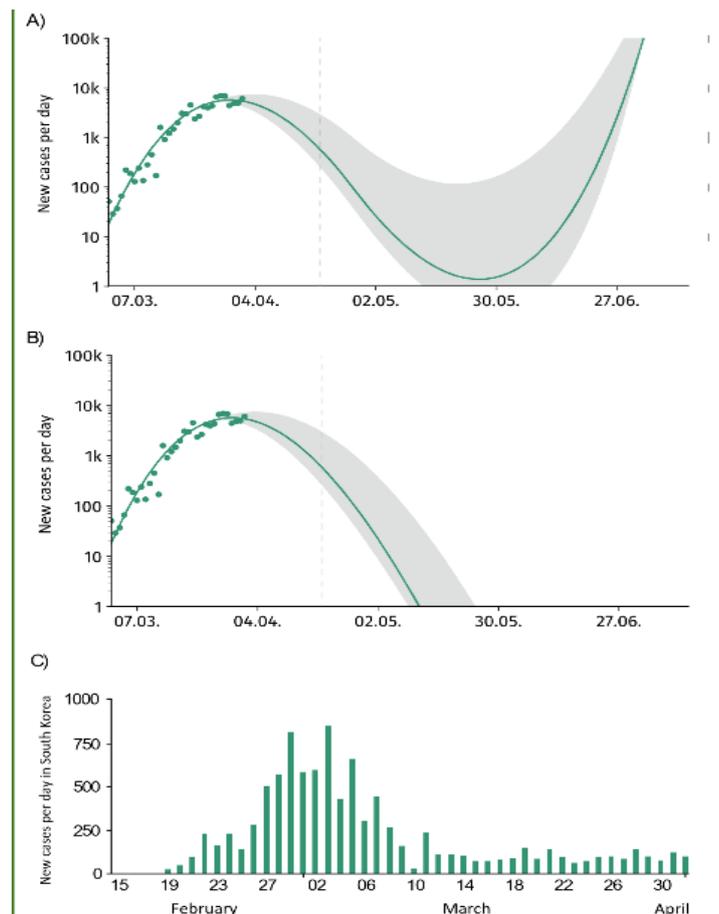


Fig. 6

nazioni. Il costo e la complessità sociale, politica ed economica di situazioni di questo genere appaiono essere molto elevati.

Nella Fig. 6, riprodotta per gentile concessione da un rapporto della Leopoldina National Akademien der Wissenschaften della Germania [Leopoldina, 2020], sono schematicamente riportati gli scenari che potrebbero far seguito alla rimozione dei blocchi. Nel pannello superiore è illustrato ciò che un modello statistico prevede che possa avvenire quando la rimozione dei blocchi non è associata alla messa in atto di efficaci misure di distanziamento personale. Il pannello centrale, invece, mette in evidenza come una graduale mitigazione delle misure di blocco, associata ad un efficace sistema di tracciamento e di contenimento dei contagi, potrebbe portare alla fine

dell'epidemia. L'individuazione e l'isolamento dei nuovi contagi appare come un elemento essenziale perché al momento dell'allentamento dei blocchi la percentuale delle persone che sono state infettate dal virus SARS-CoV-2 e che hanno sviluppato una qualche forma di immunità sarà molto bassa, inferiore al 10% della popolazione, il che implica che la maggior parte delle persone sarà ancora del tutto vulnerabile al virus, una situazione molto lontana da una possibile protezione da parte dell'*immunità di comunità*.

Quando viene attuata la mitigazione delle misure di blocco, il contenimento dell'epidemia o una sua violenta ripresa dipenderanno essenzialmente dall'efficacia più o meno elevata con cui viene messa in atto un'intensa campagna per individuare le persone infette che sono asintomatiche o ancora pre-sintomatiche, in modo da isolarle, tracciare efficacemente i loro contatti e metterli rapidamente in quarantena. L'iniziativa si prospetta come un'impresa non facile, come è anche stato messo in evidenza nel pannello inferiore della Fig. 6, che riporta l'insorgenza di nuovi casi di infezione nella Corea del Sud, dal 15 febbraio al 1° aprile di quest'anno. L'approccio altamente tecnologico della Corea del Sud, basato sia su un gran numero di tamponi per diagnosticare l'infezione, sia su varie forme di tecnologia digitale per tracciare i contatti, ha permesso di gestire l'epidemia senza dover imporre il blocco delle città o dell'intero paese ma non è stato in grado di evitare completamente le nuove infezioni. Anche se l'epidemia non è completamente sradicata e nuovi focolai d'infezione potrebbero ancora emergere, l'esperienza della Corea del Sud suggerisce comunque che il grado di preparazione (la *preparedness*, vedi il punto 8) del Paese, associata ad approcci tecnologici, possa giocare un ruolo essenziale nel controllo della diffusione delle infezioni.

7. L'aspetto oscuro della reazione immunitaria

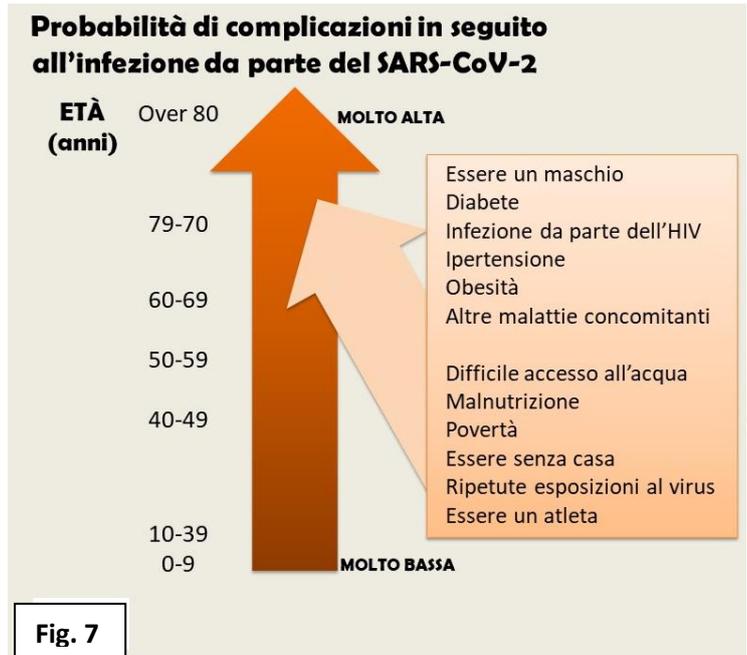
● *L'infiammazione.* La progressione della COVID-19 è caratterizzata da un'infiammazione generalizzata dovuta alla produzione di citochine pro-infiammatorie, una componente essenziale della reazione del sistema immunitario contro il virus e contro le cellule infettate dal virus. In questo caso, le citochine possono attivare una reazione eccessiva e dannosa [Huang et al, 2020; Cecconi et al, 2020]. La percezione, da parte di recettori endocellulari, della presenza dell'RNA virale, e i segnali che derivano dal danno cellulare conseguente all'infezione inducono, nei leucociti sentinella, l'attivazione dell'inflammasoma che, di conseguenza, porta ad un'elevata produzione di IL-1, un'importante citochina pro-infiammatoria che, a sua volta, induce la secrezione di tutta una serie di altri mediatori dell'infiammazione (vedi 4. *La reazione dell'immunità innata*). I macrofagi attivati, le citochine infiammatorie quali l'IL-1, l'IL-6 e varie chemochine amplificano la reazione infiammatoria scatenata dall'infezione virale. La "tempesta di citochine" (il *cytokine storm*), che nasce dalla normale reazione immunitaria verso un'infezione virale, causa un'amplificazione abnorme, non più regolata dei meccanismi reattivi dell'immunità innata e dell'immunità adattativa, e provoca una serie di gravi danni ai tessuti e agli organi infettati dal virus [Channappanavar and Perlman, 2020]. In analogia con quanto era stato osservato a proposito dell'infezione da parte del virus SARS-CoV-1, le fasi precoci e più critiche della COVID-19 sono caratterizzate da un'alterata e deficiente produzione di interferoni e citochine che svolgono un ruolo essenziale nella resistenza alle infezioni virali [Blanco-Melo et al, 2020; Hadjadj et al, 2020; vedi anche 4. *La produzione di citochine*]. Quasi paradossalmente, una tardiva e prolungata produzione di interferoni può aumentare la reazione infiammatoria, peggiorando così il decorso della malattia in quanto, inibendo la proliferazione delle cellule epiteliali, ostacola i meccanismi di guarigione degli alveoli polmonari [Major et al, 2020; Broggi et al, 2020].

● *Attivazione del complemento.* Il sistema complemento e una numerosa serie di molecole presenti in circolo nei fluidi dell'organismo fanno parte dei meccanismi dell'immunità innata, che vengono direttamente attivati dalla presenza di varie specie di microbi [Bottazzi et al, 2010]. L'attivazione del sistema complemento può portare ad una amplificazione, spesso difficilmente controllabile, delle reazioni infiammatorie [Gao et al, 2020]. La via lectinica di attivazione del complemento può essere messa in moto da cellule infettate da virus. Inoltre, la proteina C reattiva, una proteina della fase acuta, è una pentraxina la cui produzione - stimolata dall'IL-6 - aumenta con il diffondersi dell'infiammazione: questa proteina può quindi venir titolata come biomarcatore della gravità della malattia. Nel loro insieme queste osservazioni indicano quanto sia importante procedere ad uno studio sistematico del ruolo svolto dai meccanismi umorali dell'immunità innata e del sistema complemento sia per quanto riguarda la resistenza all'infezione da SARS-CoV-2 che a proposito della successiva patogenesi della COVID-19 [Risitano et al, 2020].

● *Trombosi.* L'assetto pro-trombotico delle cellule endoteliali della parete dei vasi sanguigni può venir indotto sia da parte delle citochine pro-infiammatorie, sia dalla diretta interazione delle cellule endoteliali con il virus SARS-CoV-2. In effetti, spesso la COVID-19 è associata ad un'attivazione delle cellule endoteliali che porta alla formazione di microtrombi polmonari [Ackermann et al, 2020; Klok, 2020; Zhou et al, 2020a; Lodigiani et al, 2020]. Mentre i microtrombi sono evidenti a livello polmonare, alterazioni della coagulazione sono evidenti a livello sistemico.

8. Fattori predisponenti.

Vi sono numerose caratteristiche dei pazienti che aumentano, in modo anche notevole, il rischio d'infezione da parte del virus SARS-CoV-2 o che peggiorano il decorso della COVID-19. L'importanza di ognuno di questi fattori di rischio può cambiare, anche significativamente, in seguito all'evoluzione della pandemia o in seguito all'attuazione di particolari misure sociali di contenimento [Editorial, 2020]. Alcuni dei contesti biologici, medici, sociali e occupazionali che possono aumentare i rischi connessi con questa infezione sono schematicamente riportati nella Fig.7. Un



primo dato molto importante è che la severità della prognosi aumenta con l'avanzare dell'età del paziente. Il rischio di ammalarsi di COVID-19 è anche aumentato dall'intenso esercizio fisico proprio degli atleti e dall'essere esposti ripetutamente all'infezione, come capita sia ai medici sia agli infermieri [Matricardi et al, 2020].

● *L'infezione nei bambini.* Il rischio dei bambini di essere infettati dal virus SARS-CoV-2 è eguale a quello della popolazione in generale. Un'analisi sistematica di 18 studi, indipendenti l'uno dall'altro, che hanno coinvolto 1065 bambini infettati dal SARS-CoV-2 ha messo in evidenza che la maggior parte presentava solo sintomi lievi. Nessuna complicazione mortale è stata riportata in bambini tra gli 0 ed i 9 anni di età [Castagnoli et al, 2020]. Questa maggior resistenza dei bambini potrebbe essere dovuta a vari motivi, inclusi un sistema immunitario più efficiente, una diversa regolazione della produzione di citochine, una più bassa espressione del recettore ACE2, una stimolazione del sistema immunitario in seguito al normale programma di vaccinazione, o ad altro.

La decisione di riaprire o meno le scuole è, in qualche modo, legata alla diversa resistenza dei bambini alla COVID-19. Se i bambini si infettano e diffondono il virus, è probabile che i nuovi casi di COVID-19 aumenteranno nei Paesi dove i bambini tornano a scuola [Mallapaty, 2020a].

● *Essere un maschio.* I dati epidemiologici di tutto il mondo confermano che i maschi vanno più frequentemente incontro a complicazioni ed a morte a causa della COVID-19 rispetto alle donne. Nella Lombardia, sono maschi l'82% dei 1581 pazienti che hanno dovuto essere ricoverati in unità di terapia intensiva [Grasselli et al, 2020]. Tra gli adulti di tutte le fasce d'età, la mortalità degli uomini è molto più alta di quella delle donne [Richardson et al, 2020]. Uno studio preliminare in Spagna indica che la maggior parte degli uomini ammalati di COVID-19, che necessitano del ricovero ospedaliero, presenta calvizie associata agli androgeni. I pazienti con carcinoma prostatico, trattati con terapie basate sulla deprivazione di androgeni, che riducono i livelli di testosterone, si ammalano molto meno frequentemente di COVID-19 rispetto ai pazienti trattati con altri tipi di terapia [Montopoli et al, 2020]. Gli ormoni maschili aumentano anche l'espressione dell'enzima proteolitico TMPRLRSS2 (*Transmembrane Protease Serine 2*) direttamente coinvolto nell'infezione

del SARS-CoV-2 (vedi 5. *L'attracco e la penetrazione nella cellula umana*) [Wadman, 2020]. D'altro canto, il minor rischio di complicazioni osservato nelle donne potrebbe essere dovuto, almeno in parte, alla ben nota maggior reattività del sistema immunitario femminile verso le malattie infettive.

● *I grandi diffusori (Superspreaders)*. Alcune persone diffondono molto più virus e per un periodo di tempo molto più lungo rispetto ad altri. Ciò può essere dovuto sia alle caratteristiche del loro sistema immunitario sia ad una particolare espressione dei recettori del virus nelle cellule del loro corpo [Kupferschmidt, 2020b].

Vi sono, inoltre, situazioni che favoriscono in modo particolare la diffusione del SARS-CoV-2: ambienti dove persone, tra loro raggruppate, parlano ad alta voce, urlano, o cantano, come ad esempio nei cori o nelle partite di calcio, o dove la bassa temperatura ed una particolare umidità relativa aumentano notevolmente i tempi per cui il virus SARS-CoV-2 mantiene la sua infettività. L'intenso esercizio fisico degli atleti, che porta ad una respirazione più intensa, facilita l'infezione e l'arrivo diretto del virus nel polmone [Matricardi et al, 2020].

● *Varianti genetiche*. Vari studi in corso stanno cercando di identificare anche le varianti genetiche individuali che possono avere un ruolo importante nel modificare la suscettibilità all'infezione e il decorso della malattia. I principali polimorfismi genetici attualmente studiati riguardano i seguenti geni:

- *ACE2*. Questo gene codifica l'ectoenzima a cui si lega la proteina Spike del virus SARS-CoV-2, un legame essenziale per la penetrazione del virus all'interno delle cellule delle mucose delle vie aeree (vedi Fig. 3). I polimorfismi di questo gene potrebbero quindi rendere più facile o più difficile l'ingresso del virus dentro le cellule [Reineri et al, 2020]. Sono state identificate numerose varianti di questo gene che influenzano la stabilità della proteina ACE2. Fino ad ora, però, non è stata identificata, tra queste varianti, alcuna associazione significativa tra la suscettibilità all'infezione e il decorso della COVID-19 [Asselta et al, 2020].
- *TMPRSS2*. L'enzima proteolitico codificato da questo gene taglia la proteina Spike del virus SARS-CoV-2 consentendo la fusione tra il capsido virale e la membrana cellulare (Fig. 3). L'attività di questo gene è controllata dagli ormoni androgeni e la diversa espressione dell'enzima potrebbe influenzare l'efficacia con cui il virus SARS-CoV-2 penetra all'interno delle cellule delle mucose respiratorie maschili (vedi 8. *Essere un maschio*). Le varianti di questo gene, espresse con diversa frequenza in varie popolazioni umane, potrebbero modulare la gravità della COVID-19 (vedi anche 11. *Inibizione della penetrazione* e Fig. 9).
- *IFITM3*. Questo gene codifica una proteina espressa sulla membrana cellulare, la *interferon-induced transmembrane protein 3*. Una variante di questo gene (*IFITM3-rs12252-C/C*) sembra essere associata a forme più gravi di COVID-19 [Thevarajan et al, 2020]. Ulteriori indagini sono necessarie per confermare quest'osservazione.
- *HLA*. Questo gruppo di geni codifica le glicoproteine HLA che, presentando i peptidi ai linfociti T, svolgono un ruolo fondamentale nell'attivazione della risposta immunitaria. Studi *in silico* hanno messo in evidenza che non ci sono veri e propri "buchi" della capacità dei diversi alleli HLA di presentare i peptidi che derivano dal virus SARS-CoV-2, anche se i vari

alleli legano questi peptidi con una diversa affinità [Baruah e Bose, 2020; Nguyen et al, 2020]. In Italia, la frequenza dei vari alleli è stata valutata in pazienti tipizzati perché trapiantati oppure perché in attesa di trapianto. Si è trovato che la frequenza di alcuni alleli HLA è significativamente differente nel gruppo di questi pazienti che si sono ammalati di COVID-19 rispetto al gruppo dei pazienti che non si sono infettati [Amoroso et al, 2020].

- **ABO.** Uno studio condotto su 1775 pazienti infetti da SARS-CoV-2 a Wuhan [Zhao et al, 2020] ed un altro studio condotto in Europa [Ellinghaus et al, 2020] hanno messo in evidenza che il gruppo sanguigno A è associato ad un aumento del rischio d'infezione, mentre il gruppo sanguigno 0 è associato ad un rischio ridotto. Un'analoga associazione è stata trovata anche nella popolazione italiana [Amoroso et al, 2020]. Guillon et al [2008] avevano messo in evidenza che gli anticorpi anti-A inibiscono l'adesione della proteina Spike del virus SARS-CoV al recettore ACE2 espresso sulla superficie delle cellule dell'ospite. Data la somiglianza che intercorre tra i virus SARS-CoV e SARS-CoV-2, lo stesso meccanismo potrebbe essere alla base della resistenza alla COVID-19. Per verificare questa ipotesi sono in corso nuovi studi.
- **MBL.** La *Mannose Binding Lectin* (MBL, lectina che lega il mannosio) è una proteina plasmatica che interagisce con zuccheri espressi sulla superficie di microbi di specie diverse e così costituisce un elemento assai importante della difesa immunitaria innata. Nel siero delle persone, i livelli di MBL diminuiscono con il progredire dell'età [Tomaiuolo et al, 2012]. Studi condotti in precedenza su pazienti colpiti dalla SARS hanno evidenziato che i polimorfismi del gene MBL erano associati ad esiti diversi dell'infezione [Zang et al, 2020]. È quindi probabile che polimorfismi del gene MBL influenzino anche l'andamento dell'infezione da SARS-CoV-2 [Matricardi et al, 2020. Vedi anche 7. *Ruolo del complemento*].

La capacità di mettere in atto una corretta e adeguata risposta immunitaria verso un particolare microorganismo dipende però da innumerevoli altri fattori genetici, come pure ambientali. Ci si può attendere che le sole varianti di predisposizione o resistenza di un singolo gene non riescano a influenzare, se non in minima parte, la variabilità osservata nella prevalenza di infezione e nell'evoluzione clinica della COVID-19.

9. Aspetti clinici.

L'infezione da SARS-CoV-2 si manifesta con una gran varietà di sintomi: può essere totalmente asintomatica oppure presentarsi con sintomi gravi. In Italia, il Paese che ha avuto spesso un'elevata incidenza giornaliera di nuovi casi, circa il 67% dei pazienti di COVID-19 presenta sintomi lievi mentre circa il 30% presenta sintomi che richiedono il ricovero in ospedale.

- **Sintomi.** I sintomi più comuni sono febbre, tosse e dispnea. Una piccola percentuale di casi riporta sintomi gastrointestinali prima della comparsa dei sintomi a carico dell'apparato respiratorio [Guan et al, 2020]. I primi rapporti che sono arrivati dalla Cina indicavano che solo il 5% delle persone infette aveva bisogno del ricovero in un'unità di terapia intensiva, mentre meno del 3% aveva necessità di un respiratore per la ventilazione meccanica [Huang et al, 2020]. Invece, i dati più recenti che derivano dalla Lombardia mettono in evidenza un tasso più alto di ricoveri in unità di

terapia intensiva, dell'ordine del 12% di tutti i casi di COVID-19 o il 16% di tutti i casi che hanno richiesto ricovero in ospedale [Grasselli et al, 2020].

In Inghilterra i pediatri avevano descritto la comparsa di una sindrome infiammatoria simile al morbo di Kawasaki. Studi successivi hanno invece portato a identificare una nuova malattia dei bambini, la Multisystem Inflammatory Syndrome che compare intorno alle due settimane dall'infezione e che richiede il ricovero in unità di terapia intensiva [Levin et al, 2020].

- *Il tasso di letalità (Case Fatality Rate).* Il tasso di mortalità varia in ogni Paese del mondo. Al momento in Italia è stimato intorno all'8,5%, ma esso varia significativamente tra le fasce d'età. Fino a 29 anni non si ha quasi nessun decesso mentre tra le persone di oltre novant'anni la mortalità varia dallo 0,3 al 24,1%. La probabilità di avere una malattia con decorso più grave e di morire è più alta nei pazienti che hanno anche altre patologie [Grasselli et al, 2020].

- *Reperti anatomopatologici.* Le lesioni principali sono a carico del polmone periferico, dove si riscontra un danno alveolare diffuso. Tuttavia, nelle ultime fasi della malattia, si notano lesioni anche nel fegato, cuore e cervello. In coerenza con il quadro radiologico presentato dai pazienti in stadio avanzato, la caratteristica anatomopatologica più evidente è un addensamento diffuso o focale del parenchima polmonare che appare colpito da edema ed emorragie localizzate, configurando un quadro tipico dell'*Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS, sindrome da alterazione respiratoria acuta) [Fox et al, 2020].

Le descrizioni attualmente disponibili di biopsie e autopsie eseguite su pazienti morti a seguito di COVID-19 sono ancora troppo poche e frammentarie per permettere di trarre conclusioni definitive [Fox et al, 2020; Hanley et al, 2020; Franks et al, 2020; Barton et al, 2020]. Tuttavia, in base ai numerosi dati istologici relativi a quadri analoghi, riscontrati a seguito dell'epidemia di SARS che si è avuta in Cina tra il 2002 ed il 2003, è possibile mettere a fuoco un quadro anatomo-patologico dell'evoluzione della COVID-19 [Guo et al, 2008; Franks et al, 2020]. Le cellule degli alveoli polmonari, che esprimono sulla membrana cellulare grandi quantità del recettore ACE2, costituiscono il bersaglio principale dell'infezione da parte del virus SARS-CoV-2. Al danno degli alveolociti fa seguito edema interstiziale e congestione vascolare. Nell'essudato si riscontrano cellule infiammatorie mononucleate, linfociti T CD8, monociti/macrofagi, qualche granulocita e cellule multinucleate giganti. La presenza di cellule epiteliali in apoptosi, di monociti/macrofagi, di linfociti e pneumociti, di proteine dell'essudato plasmatico e di frammenti di fibrina porta alla formazione di membrane ialine che ostacolano ulteriormente lo scambio gassoso con i capillari sanguigni. I capillari alveolari sono ingranditi e possono contenere trombi localizzati. Una diffusa coagulazione intravascolare, distribuita nei vasi sanguigni del polmone e altrove, è un evento che ha luogo solo negli stadi più avanzati. Solo raramente si riscontra una coagulazione generalizzata negli stadi più precoci del COVID-19. Tuttavia, la frequenza con cui si riscontrano i fenomeni trombotici nei pazienti di COVID-19 suggerisce che la coagulopatia generalizzata sia una componente importante di questa malattia [Wichmann et al, 2020; vedi anche 7. *Trombosi*]

Lesioni diffuse sono evidenti a carico del parenchima epatico, dei reni, del tratto gastrointestinale. Una necrosi localizzata può essere individuata anche nelle cellule del miocardio. Dati più recenti mettono in evidenza che una necrosi localizzata può essere riscontrata anche nei neuroni del sistema nervoso centrale [Clerkin et al, 2020; Fox et al, 2020; Asadi-Pooyaa et al, 2020].

10. Diagnosi: virus e anticorpi.

● *Tamponi.* La pietra miliare nei test diagnostici è costituita da saggi basati sulla PCR (*Polymerase Chain Reaction*) che permettono di rilevare la presenza dell'RNA del virus SARS-CoV-2 nei tamponi nasali e faringe. Il test attualmente utilizzato deve essere eseguito da personale specializzato e richiede circa 4 ore. Questo test soffre di gravi limitazioni. Ad esempio, in pazienti avanzati, i tamponi nasali possono essere negativi mentre i lavaggi bronco alveolari sono positivi e la frequenza dei falsi negativi in pazienti asintomatici può essere più alta [Service, 2020a]. Inoltre, al momento della stesura di questo documento, i tamponi che inattivano il virus non sono più disponibili, almeno in Lombardia. Un test di un'ora (*DiaSorin*, Italia), sempre basato sulla PCR, è stato appena approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) degli Stati Uniti e ciò potrebbe migliorare la potenzialità diagnostica [DiaSorin, 2020].

Alla fine di marzo 2020, nell'ambito dell'*Emergency Authorization Procedure*, sempre la FDA statunitense ha approvato il sistema diagnostico ID NOW-COVID19 della Abbot, USA, basato sull'amplificazione isotermica del gene *RdRp* del SARS-Cov-2. Questo nuovo sistema, che produce risultati in appena 5 minuti, è per ora disponibile solo negli Stati Uniti [Abbot, 2020]. Sempre negli Stati Uniti la FDA ha approvato dei "test a casa": i tamponi vengono spediti a casa insieme a istruzioni dettagliate su come farsi il tampone che, successivamente viene rispedito ad un laboratorio diagnostico per l'analisi [Service, 2020b].

Altri ricercatori stanno lavorando per convalidare i test diagnostici DETECTR e SHERLOCK basati sulla tecnologia CRISPR per individuare e tagliare specifiche sequenze dell'RNA del virus SARS-CoV-2. Nella reazione viene anche tagliata una molecola "reporter" che mette in evidenza la presenza del materiale genetico del SARS-CoV-2. La tecnologia CRISPR ha il vantaggio di essere molto specifica, e quindi di fornire risultati più precisi, e di poter essere eseguita in 5-10 minuti [Subbaraman, 2020].

● *Analisi della saliva.* L'utilizzazione della saliva potrebbe costituire un'alternativa interessante ai tamponi rinofaringei perché la raccolta della saliva non è invasiva ed è più facile. Recentemente, Wyllie et al [2020] hanno osservato che, confrontando il rilevamento del SARS-CoV-2 tramite tampone rinofaringeo o tramite la saliva, la saliva sembra offrire una migliore sensibilità, permettendo di rivelare positività che non vengono identificate col tampone.

● *Test sierologici.* L'individuazione degli anticorpi presenti nel siero è di estrema importanza, sia per la diagnosi individuale sia per gli studi epidemiologici [Amanat, 2020]. Sono stati sviluppati numerosi kit diagnostici per rivelare la presenza di anticorpi anti-SARS-CoV-2 sia da istituzioni accademiche sia da aziende di biotecnologia, piccole e grandi. Un esempio italiano è la collaborazione tra la ditta DiaSorin (Saluggia) e l'Ospedale San Matteo di Pavia, che ha portato alla messa a punto di un sistema diagnostico approvato dall'FDA statunitense [DiaSorin 2020].

Sfortunatamente, però, sembra che molti degli oltre 100 sistemi diagnostici disponibili siano ancora non ben caratterizzati per quanto riguarda la sensibilità e la specificità, due elementi di importanza fondamentale. Inoltre, non è chiaro se questi sistemi siano in grado di individuare specificatamente gli anticorpi che neutralizzano l'infettività virale [Bastian e Waring, 2020; Clerici, 2020].

I test per individuare la presenza di anticorpi, una volta che siano adeguatamente validati, saranno di estrema importanza sia per quanto riguarda gli studi epidemiologici sulla diffusione dell'infezione, sia per la donazione del plasma immune [Sandri et al, 2020; vedi 8. *Anticorpi terapeutici*], sia per

l'individuazione della presenza di una memoria immunitaria, e sia come complemento importante nella diagnosi dello stadio della malattia.

Come discusso in precedenza (vedi 7. *L'aspetto oscuro della reazione immunitaria*), non vi sono ancora dati che dimostrino che la presenza di una determinata quantità di anticorpi equivalga ad essere protetti contro una successiva infezione da SARS-CoV-2. Non è pertanto possibile rilasciare ciò che viene definito "passaporto di immunità", termine che implica l'acquisizione di una resistenza specifica all'infezione da parte del SARS-CoV-2. Il rilascio di "passaporti" di questo tipo potrebbe avere implicazioni etiche, sociali e legali in quanto implicherebbero un'immunità alla COVID-19 che oggi non può ancora essere accertata. Proprio per evitare che una falsa convinzione di essere immuni possa incoraggiare comportamenti irresponsabili, l'OMS ha recentemente emesso un avviso a proposito dell'impossibilità attuale di valutare e certificare un'immunità alla COVID-19 [WHO, 2020a]. D'altro canto, non appena i test basati sull'individuazione degli anticorpi saranno meglio validati, l'OMS prevede di coordinare il programma SOLIDARITY II che intende studiare la presenza di anticorpi anti-SARS-CoV-2 nel sangue degli abitanti di varie nazioni del mondo [Voge, 2020].

11. Terapia.

In condizioni non controllate, una gamma molto varia di farmaci è stata somministrata ai pazienti di COVID-19. Questi vanno dai farmaci antiretrovirali e antivirali, ai farmaci immunomodulatori e ai preparati della medicina tradizionale cinese. Una discussione dettagliata di tutti i composti e di tutte le strategie terapeutiche adottate va oltre lo scopo di questo Rapporto. Però, come affermato nell'Introduzione, mentre comprendiamo la drammaticità della sfida costituita da una "medicina di emergenza", non possiamo non essere d'accordo con l'editoriale dell'autorevole *New England Journal of Medicine* sul fatto che "*... studi clinici di alta qualità, avviati rapidamente, possono essere realizzati anche in situazioni di epidemia e anche in circostanze così difficili come quelle che sono state riscontrate a Wuhan*" e con l'editoriale del *Journal of American Medical Association* che chiede l'attivazione di studi clinici rigorosi [Badeng e Rubin, 2020; Kalil, 2020].

Proprio perché l'efficacia di vari farmaci è stata molto spesso proclamata senza che siano stati fatti seri studi clinici, recentemente l'OMS ha annunciato l'attivazione di un ampio studio globale, chiamato SOLIDARITY, progettato proprio per stabilire se qualcuno dei farmaci fino ad ora somministrati ai pazienti di COVID-19 sia davvero efficace. Si tratta di uno sforzo senza precedenti, che coinvolge molte migliaia di pazienti in una dozzina di Paesi, volto ad ottenere finalmente solide certezze cliniche [Kupferschmidt e Cohen, 2020; Cao et al, 2020].

- *I trattamenti essenziali: il supporto respiratorio e l'insufficienza d'organo.* Attualmente non esistono terapie specifiche per la COVID-19. La terapia di supporto è ciò che può far guadagnare tempo al paziente per recuperare le funzioni di base. Nel contesto di una grave ed acuta insufficienza respiratoria, la terapia di supporto potrebbe voler dire ventilazione meccanica invasiva e/o non invasiva, sotto forma di ossigeno ad alto flusso, pressione positiva e continua sulle vie aeree o ventilazione non invasiva.

I pazienti che richiedono ventilazione meccanica invasiva di solito sono molto malati e hanno bisogno delle risorse delle unità di terapie intensive, sia in termini di assistenza infermieristica sia di tempo e tecnologie medicali. Molti di questi pazienti sviluppano una forma di insufficienza respiratoria acuta definita come ARDS (*Acute Respiratory Distress Syndrome*). Uno dei cardini del

trattamento dell'ARDS è la cosiddetta "strategia polmonare protettiva". Questa modalità di trattamento consiste nell'utilizzare le pressioni più basse e ridurre i volumi della ventilazione necessaria per ossigenare il sangue, in modo da evitare che sia proprio la ventilazione a causare un danno al polmone. In alcuni casi, il paziente viene messo in posizione prona per sfruttare l'effetto della gravità sul flusso di sangue verso le parti dei polmoni che sono meglio aerate.

Pur concentrando l'attenzione sulla protezione dei polmoni e lasciando loro il tempo di guarire, è necessario prestare particolare attenzione anche a sostenere gli altri organi. Farmaci vasopressori devono essere utilizzati per mantenere un'adeguata perfusione sanguigna mentre i fluidi organici devono essere attentamente titolati per evitare sia l'ipovolemia che l'ipervolemia. Nel caso si sviluppasse una lesione renale acuta può essere necessario intervenire con una terapia dialitica sostitutiva.

Nei casi più gravi di ARDS, l'ossigenazione extracorporea a membrana (*Extra Corporeal Membrane Oxygenation*, ECMO) può essere utilizzata per sostituire temporaneamente lo scambio gassoso dei polmoni malati. Questa tecnica è molto invasiva e richiede un notevole sforzo organizzativo, particolarmente impegnativo durante una pandemia, quando il numero dei pazienti che si trovano in condizioni critiche è molto elevato.

Al momento non vi sono prove convincenti sull'efficacia di altri trattamenti farmacologici sui pazienti di COVID-19 con insufficienza respiratoria acuta. Tuttavia, sono stati sviluppati vari protocolli clinici basati su farmaci antivirali, cloroquina, farmaci antinfiammatori, solo per citarne alcuni [Accademia Naz Lincei, 2020b]. Qui sotto si riportano il rationale e le evidenze cliniche di alcuni di questi trattamenti.

● *Farmaci antivirali*

- Lopinavir / ritonavir. La combinazione di questi due farmaci, comunemente utilizzata per il trattamento dell'infezione da HIV, è stata frequentemente somministrata ai pazienti di COVID-19. Tuttavia, un recente studio randomizzato su pazienti in stadio avanzato non ha messo in evidenza alcun beneficio [Cao et al, 2020]. A questo punto, sono necessari ulteriori studi clinici, basati su un alto numero di pazienti, per valutare se questa combinazione è sia efficace almeno nelle fasi più precoci della malattia.
- Remdesivir. Questo farmaco ha dimostrato una potente attività antivirale sia in saggi *in vitro* sia in un modello animale di MERS. La sua efficacia sui pazienti di COVID-19 è in corso di valutazione [Wang et al, 2020b]. Un recente studio randomizzato e controllato, appena pubblicato [Wang et al, 2020d] non ha messo in evidenza alcun beneficio per quanto riguarda la mortalità, che era l'obiettivo primario, nei pazienti ospedalizzati trattati con remdesivir: questi hanno avuto comunque un recupero più rapido (obiettivo secondario dello studio). Un comunicato stampa dei National Institutes of Health (NIH, Bethesda, USA) notifica che risultati simili a quelli riportati da Lancet sono stati ottenuti in uno studio più ampio appena completato e non ancora pubblicato. Il trattamento con Remdesivir è stato approvato dalla FDA e dall'EMA.
- Cloroquina e idrossicloroquina. Queste due sostanze sono dotate di attività antivirale e hanno la capacità di sopprimere la reazione infiammatoria. Il loro potenziale nel trattamento della COVID-19 deve ancora essere stabilito, anche se l'impressione generale è che questi

farmaci, mentre possono essere pericolosi, siano privi di una reale efficacia anti-COVID-19 [Accademia Naz Lincei, 2020b; vedi 11. *Inibitori dell'infiammazione*].

- Gli interferoni. Il razionale che sta alla base dell'utilizzazione degli interferoni, sia per via sistemica che per aerosol, è già stato menzionato al punto 4. *La resistenza immunitaria all'infezione*. In precedenza, gli interferoni sono stati utilizzati in casi di Ebola e SARS [Loutfy et al, 2003; Konde et al, 2017]. Sarà interessante valutarne il potenziale curativo in sottogruppi di pazienti di COVID-19 selezionati sulla base delle citochine in circolo e dei profili immunitari.

I quattro farmaci che sono inclusi nell'ampio studio globale dell'OMS (SOLIDARITY, vedi sopra) sono il remdesivir, la cloroquina e l'idrossicloroquina, il lopinavir e gli stessi in combinazione con l'interferone-beta [Kupferschmidt e Cohen, 2020].

Attualmente, l'obiettivo centrale è cercare di ottenere rigorose prove scientifiche sull'efficacia dei farmaci che vengono utilizzati. In questo senso, la novità più importante rispetto a quanto è stato fatto durante le precedenti epidemie consiste nell'utilizzo di piattaforme adattative di valutazione basate sulla statistica bayesiana. Il grande vantaggio offerto da queste piattaforme è quello di consentire la valutazione simultanea di più tipi di intervento farmacologico.

La REMAP-CAP [2020] è una di queste piattaforme adattative sviluppata nell'ambito di un consorzio multinazionale per la valutazione randomizzata, integrata, multifattoriale della polmonite acquisita in comunità. Questa piattaforma consente di valutare l'efficacia dei vari trattamenti farmacologici adottati durante una pandemia. La valutazione dei vari trattamenti adottati nella cura della polmonite da COVID-19 costituisce il primo banco di prova per questa piattaforma innovativa. CORIMMUNO [2020] è una piattaforma analoga, messa a punto in Francia, per valutare più specificatamente le terapie basate sulla modulazione della risposta immunitaria.

- *Inibitori dell'infiammazione*. Numerose evidenze sperimentali e cliniche mostrano che una risposta immunitaria non controllata o un'eccessiva infiammazione possono amplificare il danno dei tessuti, come si è visto avvenire nei pazienti di SARS e come sembra capitare anche nei pazienti di COVID-19. Gli alti livelli di citochine pro-infiammatorie (ad esempio di IL-6, di TNF, di IL-1 e di chemochine) e il significato prognostico che hanno gli alti livelli di IL-6 nei pazienti infetti da coronavirus giustificano appieno le strategie terapeutiche volte a limitare la risposta infiammatoria [Liu et al, 2020b]. Per inibire risposte infiammatorie eccessive vengono utilizzati anticorpi monoclonali diretti contro l'IL-6 (ad esempio il sarilimab), contro il recettore dell'IL-6 (ad esempio il tocilizumab), contro l'IL-1 (ad esempio il canakinumab). Per questo scopo viene anche utilizzato un antagonista del recettore dell'IL-1 (anakinra). Alternativamente, si interferisce con l'attivazione del sistema complemento o si utilizzano inibitori delle vie di segnalazione dei recettori delle citochine (JAK1,2) come ad esempio il baricitinib.

Va ricordato che la cloroquina, proposta come farmaco antivirale, ha anche proprietà immunosoppressive e antinfiammatorie. A questo proposito, l'ipotesi che il precedente uso della cloroquina come farmaco antimalarico sia alla base dell'apparente maggior resistenza dell'Africa alla diffusione della COVID-19 non tiene conto del fatto che, in diversi stati africani, questo farmaco non è pressoché più usato per questo scopo. Finora la maggior parte dei dati sembra indicare che la

cloroquina non sia efficace nel trattamento della COVID-19. Anzi, la cloroquina potrebbe essere pericolosa se usata a dosi elevate [Borba et al, 2020; Fihn et al, 2020].

Il tocilizumab, un anticorpo monoclonale umanizzato diretto contro il recettore delle IL-6, è l'unico, tra questa serie di farmaci, per cui siano disponibili numerosi dati clinici. Questo anticorpo è usato, anche se limitatamente, per il trattamento dell'artrite reumatoide e per controllare la "sindrome da rilascio di citochine" (il *cytokine storm*) che si può manifestare nel corso della terapia cellulare CAR-T basata sulla somministrazione di linfociti geneticamente modificati. Al meglio delle nostre conoscenze, il Prof. Haiming Wei, Hefei, Cina, ha portato avanti la prima somministrazione sperimentale di tocilizumab su un piccolo numero di pazienti di COVID-19. A questo ha fatto seguito un uso diffuso di questo farmaco in Cina e la sua inclusione nelle linee guida emesse in Cina il 13/02/2020 [The treatment guideline, 2020]. È da notare che successivamente nuovi studi con tocilizumab sono stati avviati in Cina ed in altre parti del mondo, tra cui l'Italia. Nel nostro Paese questi studi sono svolti sotto l'egida dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA). I dati ottenuti dall'AIFA suggeriscono però che il trattamento con il tocilizumab non influenzi la mortalità dei pazienti. Lo studio francese, basato sulla piattaforma CORIMMUNI-TOCI ha appena completato l'arruolamento dei pazienti con COVID-19 che partecipano ad uno studio randomizzato per valutare l'immunomodulazione con tolicizumab rispetto alla terapia standard. I risultati non sono ancora disponibili. Si stanno valutando anche altre terapie immunomodulanti.

Il 27 Aprile 2020 Sanofi e Regeneron [2020] hanno chiuso lo studio clinico sul sarilimab, un anticorpo monoclonale contro l'IL-6, in quanto sembrava avere effetti negativi nel gruppo di pazienti con COVID-19 avanzata: *"la somministrazione del farmaco abbassava i livelli della proteina C-reattiva sia nei pazienti con COVID-19 grave sia in quelli in uno stadio critico. Tuttavia, i risultati clinici nei pazienti in stadio critico, che prendevano in considerazione sia l'abbassamento del rischio di dover ricorrere alla ventilazione forzata sia la mortalità, hanno avuto un andamento negativo"*.

- *Eparina*. La messa in evidenza del ruolo che i trombi vascolari hanno nella patogenesi del danno polmonare (Vedi 7. *Trombosi* e 9. *Reperti anatomopatologici*) ha portato l'eparina a partecipare negli attuali protocolli farmacologici per il trattamento della COVID-19.

- *Steroidi*. Vi sono ancora controversie a proposito dell'uso dei corticosteroidi per il trattamento dei pazienti con sindrome da alterazione respiratoria acuta (*Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS*). Uno studio clinico basato su un gran numero di casi ha recentemente dimostrato che il desametasone riduce la mortalità dei pazienti in uno stadio avanzato di COVID-19 [Hornby et al, 2020]. Per ora, quindi, i glucocorticoidi sono il solo farmaco che risulta essere efficace nel ridurre la mortalità in uno studio clinico controllato.

- *Anticorpi terapeutici: plasma-terapia e anticorpi monoclonali*. Il plasma dei pazienti guariti da varie malattie è stato usato come sorgente di anticorpi fin dai primi tempi dell'immunologia. Anche se l'efficacia terapeutica di quest'approccio è ancora da stabilire, in Cina e in altre parti del mondo, tra cui l'Italia, il plasma dei pazienti guariti viene usato in alcuni ambienti per trattare i malati di COVID-19, così come era stato fatto in precedenza con i pazienti affetti da SARS e da MERS. Agli studi iniziali, portati avanti in Cina, ha fatto seguito un'ampia diffusione di questa tecnica in altre parti del mondo [Casadevall e Pirofski, 2020; Shen et al, 2020; Duan et al, 2020]. Negli Stati Uniti si sta ampiamente diffondendo l'utilizzazione terapeutica del plasma di convalescenti di COVID-19

[Bloch et al, 2020]. Vari studi randomizzati, tesi a valutare la reale efficacia della terapia con plasma di convalescenti di COVID-19, sono attualmente in corso o stanno per partire. In due degli studi clinici controllati e fino ad ora portati a termine, la plasma-terapia non ha dimostrato di avere effetto sulla mortalità [Li et al, 2020; Gharbharan et al, 2020]. Di questi studi, uno era stato pianificato su 200 pazienti ma è stato interrotto quando i pazienti erano solo 103 a causa delle difficoltà di reclutare altri casi. Pertanto, altri ampi studi clinici controllati sono assolutamente necessari.

Anticorpi monoclonali umani diretti contro i componenti del virus SARS-CoV-2, in particolare contro la proteina Spike, sono in fasi diverse di sviluppo in numerosi laboratori accademici ed industriali [Wang et al, 2020a; Regeneron, 2020; Andreano et al, 2020; Wec et al, 2020].

Benché l'uso di anticorpi sia un approccio molto interessante, va notato che, sia nel caso di virus della SARS sia di altre infezioni virali, gli anticorpi possono, in particolari condizioni, facilitare l'ingresso del virus dentro le cellule (fenomeno conosciuto come ADE, *Antibody Dependent Enhancement*) [Fu et al, 2020] e causare così lesioni nei tessuti [Liu et al, 2020a]. Ribadendo un concetto già più volte espresso, anche nel caso delle terapie basate sugli anticorpi sarà necessario procedere a rigorose valutazioni cliniche dell'efficacia e delle possibili controindicazioni.

- *Intelligenza artificiale e modelli.* Prima della pandemia di COVID-19, *big data*, intelligenza artificiale, *machine learning* erano parole affascinanti ma un po' misteriose. Invece, durante questa pandemia abbiamo imparato a comprenderle meglio. In primo luogo, abbiamo imparato che "la scienza dei dati" può avere un ruolo fondamentale nel mappare l'evoluzione della pandemia e nella pianificazione delle risorse da usare nelle terapie intensive [Grasselli et al, 2020]. In secondo luogo, stiamo comprendendo quanto siano importanti i modelli matematici per prevedere le possibili evoluzioni della pandemia e i possibili scenari futuri. Sfortunatamente, questa pandemia è stata anche un campanello d'allarme che ha portato a scoprire che, nonostante tutti i progressi e gli investimenti che sono stati fatti negli ultimi decenni, non siamo stati in grado di controllare meglio l'infezione causata dal virus SARS-CoV-2.

Le politiche sanitarie e le decisioni sono nelle mani dei medici, delle autorità di sanità pubblica e dei governi. Ancora adesso abbiamo bisogno che gli esseri umani siano in grado di prendere decisioni sagge ed efficaci.

- *Inibitori della penetrazione del virus.* La penetrazione del virus SARS-CoV-2 all'interno delle cellule dell'ospite dipende sia dal legame che le proteine Spike, che formano una corona intorno al capsido virale, stabiliscono col recettore ACE2 espresso sulla superficie della cellula dell'ospite umano, sia dal taglio della proteina Spike da parte della proteasi TMPRSS2 (*Transmembrane Protease Serine 2*) presente sulla membrana della cellula ospite (Fig. 8).

Una strategia per bloccare l'interazione tra la proteina Spike ed il recettore ACE2 consiste nell'utilizzare la porzione extracellulare del recettore ACE2, che si lega alla proteina Spike del virus (Fig. 8, in basso). Un recettore ACE2 ricombinante umano, che in precedenza era già stato valutato in studi clinici di Fase I e di Fase 2 per il trattamento di sindromi di sofferenza respiratoria acuta, si

è dimostrato capace di ridurre l'infettività del virus SARS-CoV-2 sia in culture cellulari che in organoidi di vasi sanguigni umani [Monteil et al, 2020]. Su queste basi è stato lanciato recentemente uno studio clinico di Fase 2 per valutare l'efficacia del trattamento con la molecola ricombinate di ACE2 sulla malattia COVID-19.

Alternativamente, un frammento Fc di un'immunoglobulina può venire legato alla porzione extracellulare del recettore ACE2 in modo da facilitarne la permanenza in circolo (Fig. 8, in alto) [Kruse et al, 2020].

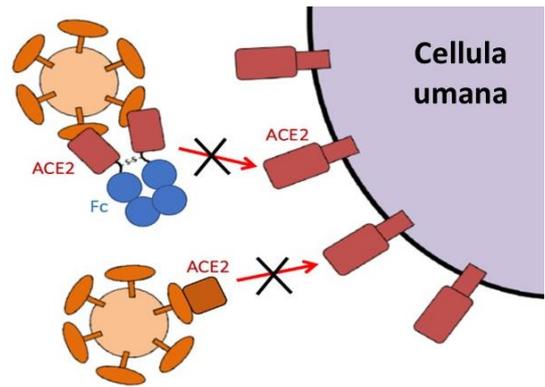


Fig. 8

Un approccio alternativo per bloccare la penetrazione del virus nelle cellule dell'ospite è basato sull'uso di inibitori della proteasi TMPRSS2.

Si è notato che un inibitore di questa proteasi, il camostat mesilato, blocca parzialmente l'ingresso del virus SARS-CoV-2 in colture di cellule polmonari [Hoffman et al, 2020] (Fig. 9). Quest'inibitore, che è già stato approvato in Giappone e nella Corea del Sud per il trattamento della pancreatite, è stato attualmente riproposto in uno studio clinico per il trattamento della COVID-19. L'effetto di un altro inibitore della TMPRSS2, la bromexina, non è stato ancora valutato.

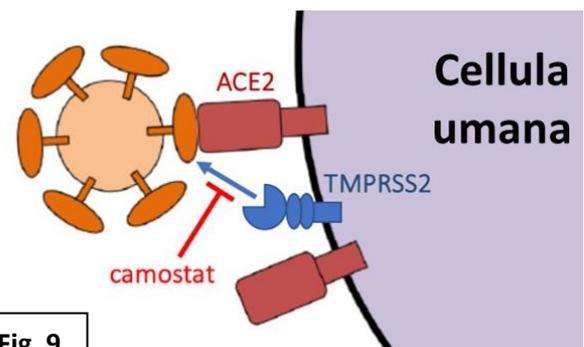


Fig. 9

È anche interessante notare che l'espressione della TMPRSS2 è controllata dagli androgeni ed è stato suggerito che ciò potrebbe contribuire alla

predominanza delle COVID-19 nel sesso maschile [Stopsack et al, 2020; vedi anche 8. *Essere un maschio e Varianti genetiche*]. La possibilità che il blocco della via androgenica porti ad una riduzione delle complicazioni polmonari e della mortalità nei pazienti di COVID-19 è avvalorata da uno studio epidemiologico che ha messo in evidenza che i pazienti di carcinoma prostatico trattati con antiandrogeni sono colpiti dalla COVID-19 molto meno frequentemente rispetto ai pazienti trattati con altre modalità. È stato attivato uno studio clinico per valutare questa ipotesi di trattamento della COVID-19 [Montopoli et al, 2020].

12. Vaccini anti SARS-CoV-2.

La speranza e l'enfasi che i media e le persone comuni stanno ponendo sull'avere al più presto un vaccino che protegga contro la COVID-19 derivano dai grandi trionfi che i vaccini hanno avuto e stanno avendo nel controllo delle malattie infettive [Accademia Naz Lincei, 2020c].

In molti casi la guarigione da una malattia causata da un virus dipende da due meccanismi: l'azione combinata degli anticorpi presenti nei fluidi organici, che neutralizzano le singole particelle virali, e l'azione dei linfociti che scovano ed uccidono le cellule dell'organismo che, una volta infettate dal virus, si trasformano in fabbriche di milioni di nuove particelle virali. Tuttavia, esistono malattie la

cui guarigione dipende principalmente, se non esclusivamente, dall'azione degli anticorpi ed altre in cui l'azione *killer* dei linfociti riveste un ruolo fondamentale.

- Qual è il caso della COVID-19?
- I pazienti che sono guariti sono protetti da una seconda infezione del SARS-CoV-2?
- Se sono protetti, per quanto tempo dura la protezione?

C'è una lunga lista di gravi malattie infettive verso le quali i vaccini non sono efficaci o lo sono solo parzialmente. Ogni malattia costituisce un problema immunologico a sé: anche oggi, con tutti i dati in nostro possesso, è difficile prevedere quale vaccino possa essere davvero efficace. Difficoltà, questa, che si accentua nel caso della COVID-19, una malattia molto giovane a proposito della quale gli studi in corso nei laboratori di tutto il mondo stanno generando un flusso continuo di nuove informazioni. Inoltre, i virus a RNA vanno incontro a frequenti mutazioni, motivo questo per cui è spesso non facile preparare vaccini in grado di proteggere efficacemente dalle malattie causate da virus a RNA.

● *Il ruolo della Coalition for Epidemic Preparedness and Innovations (CEPI).* Nel gennaio 2017, durante il World Economic Forum a Davos, è stata istituita la CEPI, un'organizzazione internazionale con sede ad Oslo, che ha lo scopo di promuovere lo sviluppo e lo stoccaggio di vaccini contro quei microbi che si prevede potrebbero causare nuove e spaventose epidemie: una quantità significativa di fondi è stata elargita dalla Bill & Melinda Gates Foundation, dal Wellcome Trust e dai governi di numerosi Paesi. Le principali compagnie farmaceutiche multinazionali hanno annunciato la loro collaborazione.

Ed è stata proprio la CEPI, insieme a numerose altre iniziative pubbliche e private, che già durante le primissime fasi dell'epidemia di COVID-19 ha attivato, finanziato e coordinato numerosi progetti per la preparazione di vaccini contro il virus SARS-CoV-2 seguendo strategie concettuali e piattaforme tecnologiche tra loro molto diversificate. Questa diversificazione è apparsa subito essenziale proprio perché, per molte malattie, ma principalmente nel caso di una malattia nuova come la COVID-19, è difficile prevedere quale sia il tipo di risposta immunitaria, e quindi quale sia il tipo di vaccino che meglio protegga contro l'infezione [Lurie et al, 2020].

● *La competizione tra le differenti strategie di vaccinazione.* Si ha notizia di almeno 150 diversi progetti di un vaccino anti SARS-CoV-2, progetti basati su piattaforme tecnologiche molto diverse: vaccini basati sugli acidi nucleici (RNA, DNA), su vettori virali variamente ingegnerizzati, su proteine prodotte con la tecnologia del DNA ricombinante, peptidi, virus vivi ed attenuati, virus inattivati... [Accademia Naz Lincei, 2020c; Forni e Tagliabue, 2020]. Al 15 luglio 2020, almeno 23 di questi progetti sono già arrivati a sperimentare il vaccino in Fase 1-3 sull'uomo [WHO, 2020d].

● *Valutazione dei vaccini.* La somministrazione di un nuovo vaccino su un numero limitato di volontari, come è già stato fatto o sta già avendo luogo con i 12 vaccini che hanno raggiunto la fase clinica, consente di capire se il vaccino induce una buona risposta anticorpale e/o l'attivazione dei linfociti T *killer*, e se la sua somministrazione causa eventi avversi evidenti. Successivamente, la vera valutazione dell'efficacia del nuovo vaccino si basa su studi randomizzati e controllati che confrontano l'incidenza della COVID-19 in gruppi di persone vaccinate e non vaccinate. In vari casi, la buona risposta immunitaria indotta da vari "vaccini candidati" riportata in questi giorni fa

presumere che siano in grado di prevenire l'infezione da SARS-CoV-2 o di rendere non pericolosa l'infezione. Solo l'estensione di queste valutazioni a gruppi progressivamente più numerosi e per periodi più lunghi potrà stabilire se uno, numerosi o nessuno dei nuovi vaccini anti-COVID-19 sia in grado di prevenire con efficacia e per tempi prolungati, l'infezione e se la sua somministrazione sia associata o meno a importanti eventi collaterali. Tuttavia, attualmente l'urgenza è così forte che, al fine di verificare rapidamente l'efficacia del vaccino, è stato anche proposto di vaccinare dei volontari umani e, successivamente, di infettarli con il virus SARS-CoV-2 in modo da verificare in tempi molto rapidi la reale efficacia del vaccino [Eyal, 2020]. Benché uno studio di questo tipo sia eticamente controverso, vari gruppi di opinione lo stanno sostenendo e molte persone si sono offerte come volontari [Callaway, 2020].

- *Cautele connesse ad una valutazione accelerata.* È probabile che, a fronte dell'enorme pressione esercitata dall'incombere della pandemia di COVID-19, in molti casi vengano utilizzati indicatori indiretti (*surrogate markers*) dell'efficacia del vaccino, come la valutazione della quantità di anticorpi o l'intensità della reazione dei linfociti T *killer* indotti dal vaccino sui volontari, per decidere se il vaccino possa cominciare ad essere utilizzato. Ancora una volta si ribadisce che, anche nel caso della COVID-19, la somministrazione del vaccino deve essere associata ad un rigoroso studio della sua sicurezza. Questo punto assume una particolare importanza proprio perché un vaccino non è un farmaco per persone ammalate che stanno rischiando la vita quanto piuttosto un trattamento che viene somministrato a chi sta bene per prevenire il rischio di ammalarsi [Jiang, 2020].

La corsa per mettere a punto un vaccino anti COVID-19 non solo è giustificata ma assolutamente necessaria. Tuttavia, nella messa a punto del vaccino deve essere incluso il tempo necessario per valutarne gli effetti collaterali. In alcuni casi, vaccini preparati contro altri coronavirus o virus di altro tipo hanno peggiorato la malattia [Jiang, 2020] o hanno indotto immunopatologie di tipo T *helper* 2 [Chien-Te Tseng et al, 2020]. Queste eventualità devono venire attentamente valutate ed escluse prima che un vaccino appena prodotto venga distribuito per combattere la pandemia e le sue successive comparse.

- *Problemi connessi con la produzione.* Una volta che il nuovo vaccino sia stato validato, i problemi successivi saranno correlati alla produzione e distribuzione di milioni (miliardi?) di dosi del nuovo vaccino. Dovranno essere affrontati i complessi problemi tecnologici, organizzativi, regolatori ed economici connessi alla sua produzione e distribuzione. Inizialmente potrebbe non essere possibile produrre le dosi di vaccino necessarie per immunizzare tutta la popolazione del globo. Inoltre, vincoli politici ed interessi economici potrebbero far sì che il vaccino sia solo disponibile nel Paese che lo produce o nei Paesi che sono in grado di pagarlo [Forni e Tagliabue, 2020]. Non sarà facile rendere i nuovi vaccini anti COVID-19 disponibili a tutta la popolazione del mondo [Accademia Naz Lincei, 2020a]. Di fronte a questo possibile problema, l'OMS sta cercando di fare in modo che le scorte dei nuovi vaccini siano equamente distribuite, una difficile sfida di giustizia globale che dovrebbe essere sostenuta da tutti i governi [Khamsi, 2020].

Da queste considerazioni nasce l'idea che i vaccini anti COVID-19, se efficaci, difficilmente saranno comunemente disponibili prima di un anno o più. Questo lungo intervallo solleva un altro problema: come ci si pone se tra uno o due anni i vaccini anti COVID-19 non saranno più importanti o se verranno utilizzati solo da una piccola popolazione in una particolare area del mondo? Non

possiamo prevedere quale sarà l'evoluzione della COVID-19, se la pandemia si esaurirà, se l'infezione persisterà solo in particolari aree, o se periodicamente nel mondo serpeggeranno nuove epidemie. È però probabile che, per lungo tempo, il vaccino sarà necessario per richiamare la protezione immunitaria verso la COVID-19 [Accademia Naz Lincei, 2020a].

- *Altri vaccini e il BCG.* Al momento non sono disponibili dati attendibili sull'impatto della vaccinazione antinfluenzale e dei vaccini anti-pneumococco sull'incidenza e progressione clinica della COVID-19. Tuttavia, gli estensori di questo Rapporto si associano alle campagne che raccomandano alle persone anziane di farsi vaccinare contro lo pneumococco sia perché questa vaccinazione protegge verso la superinfezione da parte dello pneumococco nel corso delle infezioni delle vie respiratorie sostenute da virus, sia perché, rendendo non necessaria la terapia antibiotica, questa vaccinazione riduce il rischio della comparsa di batteri resistenti agli antibiotici.

Infine, in qualche modo collegata ai vaccini è da menzionare l'ipotesi che il "vecchio" vaccino antitubercolare Bacille Calmette-Guerin (il BCG), riduca il rischio di infezione da parte del virus SARS-CoV-2. Due studi epidemiologici tra loro indipendenti, non ancora accettati per la pubblicazione, mettono in evidenza una relazione inversa tra la mortalità da COVID-19 e la vaccinazione antitubercolare [Sala e Miyakawa, 2020; Shet et al, 2020]. Per valutare più direttamente questa possibilità, un gruppo di ricercatori dei Paesi Bassi sta avviando una sperimentazione clinica su 1,000 operatori sanitari. Studi simili in altri Paesi valuteranno se il vaccino BCG aumenta la resistenza delle persone anziane verso l'infezione da parte del virus SARS-CoV-2 [de Vrieze, 2020]. L'immunità innata, discussa in precedenza (vedi 4, *La reazione dell'immunità innata*), sembra svolgere un ruolo chiave nel controllo delle prime fasi dell'infezione. Pertanto, è importante che l'efficacia di strategie tese ad aumentare l'immunità innata (*training strategies*), come avviene in seguito all'inoculo del BCG, siano vagliate dagli epidemiologi e in studi clinici controllati [Mantovani e Netea, 2020].

13. Preparedness o l'essere preparati.

Di fronte all'enorme tragedia di morte e sofferenza provocata dalla pandemia di COVID-19, di fronte al disastro sociale ed economico che sta causando, è inevitabile chiedersi quanto il mondo nel suo complesso, e l'Italia in particolare, erano o avrebbero dovuto essere preparati.

Secondo il "2019 Global Health Security Index ranking" [GHS, 2020; Kandel et al, 2020] l'Italia non era particolarmente attenta ai problemi posti dalla diffusione delle malattie infettive. È giustificato questo giudizio? Al 15 Aprile 2020, oltre 120 medici e 60 infermieri hanno perso la vita in Italia a causa della pandemia e un numero ancor maggiore è stato posto in isolamento perché infetto. È una perdita gravissima che non dovremo mai più permetterci.

Certamente si sarebbe potuto fare di più, soprattutto in numerosi aspetti di cui alcuni molto importanti e relativamente semplici [Jacobsen 2020; WHO, 2020c]. D'altra parte, molti altri Paesi e gli stessi organismi internazionali si sono mossi in modo poco coordinato, spesso confuso e a volte contraddittorio.

Però, non bisogna dimenticare che, solo pochi mesi or sono l'ipotesi di destinare energie e risorse per essere meglio preparati verso una possibile, ma comunque ipotetica pandemia non avrebbe avuto la forza di superare indifferenza, scetticismo, atteggiamenti antiscientifici e sospetti di oscuri interessi e corruzione. Come sarebbe stato possibile indurre un paese che ha difficoltà a convincere una quota elevata della sua popolazione dell'importanza delle vaccinazioni basilari dell'infanzia, a

destinare una parte significativa delle risorse per essere preparati verso un evento mai visto, come una nuova pandemia? Quasi tutti i Paesi del mondo hanno questo tipo di problema che declinano ognuno in modo diverso, sulla base della propria cultura [Ranney et al, 2020; Hunter, 2020].

Una valutazione di come l'Italia ed il mondo potevano essere meglio preparati e di come si stia reagendo di fronte alla pandemia, potrà essere fatta solo quando la pandemia sarà finita. È comunque probabile che in futuro la *preparedness* sarà molto più al centro dell'interesse nella politica della salute pubblica [Kandel et al, 2020].

In ogni caso, la lezione sui pericoli di atteggiamenti antiscientifici e sugli errori nell'allocazione delle risorse che l'Italia ed il mondo stanno vivendo è complessa e durissima, così dura che oggi non si può avere un'idea chiara del "dopo" che ci sta aspettando.

È importante comprendere che prepararsi ad una pandemia non richiede soltanto l'adeguamento della sanità pubblica e delle infrastrutture mediche necessarie per affrontare l'emergenza, ma anche un "*Research preparedness*", cioè un investimento nella ricerca. Gli investimenti di tempo, denaro ed energia impiegati "in tempo di pace" nella creazione di piattaforme innovative, come ad esempio la REMAP-CAP [2020] si sono rivelati di grande importanza. Attualmente sono in fase di sperimentazione altre piattaforme adattative per l'interpretazione dei dati che ci consentiranno di acquisire nuove e più solide conoscenze, necessarie per una più chiara comprensione dei dati clinici, in modo da poter determinare quale trattamento curi davvero, quale invece non funzioni o quale invece possa essere solo dannoso.

Oggi, come non mai prima d'ora, abbiamo un disperato bisogno di rivalutare i concetti della "medicina di precisione", concetti che si sono sviluppati nell'arco di molti decenni. Dobbiamo quindi continuare i nostri sforzi per individuare la terapia giusta per il paziente giusto al momento giusto. È importante rendersi conto che nel breve tempo intercorso dal nostro primo Rapporto ad oggi, si è iniziato a vedere la messa in opera di studi randomizzati e controllati, anche se, al momento, i risultati possono ancora apparire contraddittori. Ciò non deve scoraggiare. Il cammino della ricerca si è sempre evoluto sulla spinta di nuove domande. Non si è alla ricerca di un *magic bullet*, una soluzione miracolosa e definitiva. Piuttosto si dovrebbero sostenere gli sforzi per rispondere alle nuove domande poste dalla ricerca, e qualora le risposte suscitassero altre domande, per incoraggiare ulteriormente la ricerca.

14. Referenze

Abbott, <https://www.alere.com/en/home/product-details/id-now-covid-19.html>.

Accademia Naz Lincei, COVID-19: Fair Access to Vaccines, 2020a, <https://www.lincei.it/it/article/covid-19-fair-access-vaccines>.

Accademia Naz Lincei, Drugs for the Prevention and Treatment of COVID-19, 2020b, <https://www.lincei.it/it/article/drugs-prevention-and-treatment-covid-19-concept-trial>.

Accademia Naz Lincei, COVID-19 vaccines: June 2020 report, 2020c, https://www.lincei.it/sites/default/files/documenti/Commissioni/ANL_Comm_Covid-19_Vaccines_13july2020.pdf.

Ackermann M et al, Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med.* 2020, 383:120.

Amanat F et al, A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. 2020, <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.17.20037713v1>.

- Amoroso A et al, Impact of COVID-19 in the Italian national program of organ transplantation, Turin, GEFACOVID project, 2020.
- Andreano E et al Identification of neutralizing human monoclonal antibodies from Italian Covid2 19 convalescent patients, bioRxiv preprint, 2020, doi: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.05.05.078154v2>.
- Asadi-Pooyaa AA et al, Central nervous system manifestations of COVID-19: A systematic review. *J Neurol Sci*, 2020, 413:1168321.
- Asselta R et al, ACE2 and TMPRSS2 variants and expression as candidates to sex and country differences in COVID-19 severity in Italy. *medRxiv*, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047878doi>.
- Baden LR and Rubin EJ, Covid-19: The search for effective therapy. *New Engl J Med* 2020,doi: 10.1056/NEJM/Me2005477.
- Baric R, The Week in Virology podcast. 2020, <http://www.microbe.tv/twiv/>.
- Barton L et al., COVID-19 Autopsies, Oklahoma, USA, *Am J Clin Pathol* 2020, in press.
- Baruah V and Bose S, Immunoinformatics-aided identification of T cell and B cell epitopes in the surface glycoprotein of 2019-nCoV. *J Med Virol*, 2020, 92:495.
- Bastian I and Waring L, The Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA) position statement on COVID-19. *Aust J Gen Pract* 2020, doi: 10.31128/AJGP-COVID-09.
- Blanco-Melo D, et al, Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell*, 2020,181:1036. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.026.
- Bloch EM et al, Deployment of convalescent plasma for the prevention and treatment of COVID-19, *J Clin Invest*, 2020, <https://doi.org/10.1172/JCI138745>.
- Borba MGS et al, Effect of high vs low doses of cloroquine diphosphate as adjunctive therapy for patients hospitalized with severe acute respiratory syndrome coronavirus. *JAMA Netw Open*, 2020, 3:e208857.
- Bottazzi B et al, An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28:157.
- Broggi A et al, Type III interferons disrupt the lung epithelial barrier upon viral recognition, *Science*, 2020, doi: 10.1126/science.abc3545.
- Brouwer PJM et al, Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. *Science*, 2020, eabc5902. doi:10.1126/science.abc5902.
- Callaway E, Hundreds of people volunteer to be infected with coronavirus. *Nature*, 2020, [nature.com/articles/d41586-020-01179-x](https://www.nature.com/articles/d41586-020-01179-x).
- Cao X et al, Covid-19: immunopathology and its implications for therapy. *Nature Rev Immunology*, 2020, 20:269.
- Casadevall A, Pirofski LA, The convalescent sera option for containing COVID-19. *J Clin Invest*, 2020, 130:1545.
- Castagnoli R et al, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection in Children and Adolescents: A Systematic Review. *JAMA Pediatr*, doi: 10.1001/jamapediatrics.2020.1467.
- Cecconi M et al, Dieci cose che abbiamo imparato su COVID19. *Huffington Post*, 2020, https://www.huffingtonpost.it/entry/10-cose-che-abbiamo-imparato-su-covid-19_it_5f19ab39c5b6128e682236a1.
- Channappanavar R, Perlman S, Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol*, 2017, 39:529.
- Chien-Te Tseng CT et al, Immunization with SARS Coronavirus Vaccines Leads to Pulmonary Immunopathology on Challenge with the SARS Virus. *PLoS ONE*, 2020, 7:e35421. doi:10.1371/journal.pone.0035421.
- Clerici P, SARS CoV2: la diagnosi sierologica. La posizione dell'Associazione Microbiologi Clinici Italiani. 2020_03_31U035-2020_Posizione_AMCLI-SARSCoV2fin.pdf.
- Clerkin KJ et al, Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and Cardiovascular Disease. *Circulation*, 2020, AHA.120.046941 2020.

- CORIMMUNO 2020, Cohort multiple randomized controlled trials open-label of immune modulatory drugs and other treatments in COVID-19 patients-Sarilumab trial – CORIMUNO-19 -SARI (CORIMUNO-SARI), 2020, clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04324073.
- Corum J and Zimmer C, Bad News Wrapped in Protein: Inside the Coronavirus Genome. *The NY Times*, 2020, April 3.
- Cyranoski, D, Mystery deepens over animal source of coronavirus. *Nature*, 2020, 579:18.
- Day M, Covid-19: four fifths of cases are asymptomatic, China figures indicate. *Brit Med J*, 2020, 369:m137.
- de Vriese J, 2020, Can a century-old TB vaccine steel the immune system against the new coronavirus? *Science*, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/03/can-century-old-tb-vaccine-steel-immune-system-against-new-coronavirus>.
- DiaSorin, 2020, <https://diasoringroup.com/en/investors/financial-corner/press-releases/diasorin-covid-19-test-has-received-fda-emergency-use>.
- Duan K et al, Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc Natl Acad Sci US*, 2020, www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.2004168117.
- Editorial. Redefining vulnerability in the era of COVID-19. *Lancet*, 2020, 395:1098.
- Ellinghaus D et al, Genomewide association study of severe Covid-19 with respiratory failure, *N Engl J Med*, 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2020283.
- Eyal N et al, Human Challenge Studies to Accelerate Coronavirus Vaccine Licensure. 2020, DASH <http://nrs.harvard.edu/urn-3:HUL.InstRepos:42639016>.
- Fauci A et al, Covid-19 — Navigating the Uncharted, *New Engl J Med*, 2020, <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2005532>.
- Ferguson NM et al, Impact of non-pharmaceutical intervention to reduce COVID-19 mortality and health care demand. Imperial College COVID-19 response Team, 2020, <https://www.imperial.ac.uk/media/imperial-college/medicine/sph/ide/gida-fellowships/Imperial-College-COVID19-NPI-modelling-16-03-2020.pdf>.
- Fihn et al, Caution needed on the use of chloroquine and Hydroxychloroquine for coronavirus disease 2019. *JAMA Netw Open*, 2020, 3:e 209035.
- Flaxman S et al, Estimating the number of infections and the impact of nonpharmaceutical interventions on COVID-19 in 11 European countries. Imperial College London, 2020, doi: <https://doi.org/10.25561/77731>.
- Forni G and Tagliabue A, Vaccino COVID-19: chi decide, chi rischia, chi paga. *Huffington Post*, 2020, https://www.huffingtonpost.it/entry/vaccino-covid-19-chi-decide-chi-rischia-chi-paga-di-g-forni-e-a-tagliabue_it_5ec39fb5c5b6d0826594147e.
- Fox SE et al, Pulmonary and Cardiac Pathology in Covid-19: The First Autopsy Series from New Orleans. *Medrxiv*, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.04.06.20050575>.
- Franks TJ et al, Lung Pathology of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS): A Study of 8 Autopsy Cases From Singapore. *Hum Pathol*, 2020, 34:743.
- Fu Y et al, Understanding SARS-CoV-2-mediated inflammatory responses: From mechanism to potential therapeutic tools. *Virologica Sinica*, 2020, <https://doi.org/10.1007/s12250-020-0020-4>.
- Gao T et al. Highly pathogenic coronavirus N protein aggravates lung injury by MASP-2-mediated complement over-activation. *medRxiv*, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.29.20041962>.
- Gharbharan A et al, Convalescent Plasma for COVID-19. A randomized clinical trial. *MedRxiv* 2020, <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.07.01.20139857v1ed>.
- GHS Index maps <https://www.ghsindex.org/#l-section--map>.
- Gillepsie TR and Leendertz FH, COVID-19: Protect great apes during human pandemics. *Nature* 2020, <https://www.nature.com/articles/d41586-020-00859-y>
- Grasselli G et al, Critical Care Utilization for the COVID-19 Outbreak in Lombardy, Italy: Early Experience and Forecast During an Emergency Response. *JAMA*, 2020 doi: 10.1001/jama.2020.4031.

- Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*, 2020 181:1489.
- Guan WJ et al., Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*, 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
- Gudbjartsson DF et al, Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic Population. *New Engl J Med*, 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2006100.
- Guillon P et al, Inhibition of the interaction between the SARS-CoV spike protein and its cellular receptor by anti-histo-blood group antibodies. *Glycobiology*, 2008, 18:1085.
- Guo L et al, Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*, 2020, doi: 10.1093/cid/ciaa310.
- Guo Y et al, Pathogenetic mechanisms of severe acute respiratory syndrome. *Virus Research*, 2008, 133:4.
- Hachim A et al, Beyond the Spike: identification of viral targets of the antibody responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 patients. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.30.20085670v1>.
- Hadjadj J et al, Impaired type I interferon activity and exacerbated inflammatory responses in severe Covid-19 patients. *medRxiv preprint 2020*, doi: <https://doi.org/10.1101/2020041920068015> 2020.
- Hanley B et al, Autopsy in suspected COVID-19 cases. *J Clin Pathol*, 2020, 73:239.
- Hoffmann M, et al, SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 2020, doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
- Hornby PW and Landray MJ, Group RC. Effect of dexamethasone in hospitalized patients with COVID-19 - preliminary report. *medRxiv preprint 2020*, doi: <https://doi.org/10.1101/2020062220137273> 2020.
- Huang C et al, Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan. *China. Lancet*, 2020, 395:497.
- Hunter DJ, Covid-19 and the Stiff Upper Lip — The Pandemic Response in the United Kingdom. *New Engl J Med*, 2020, doi: 10.1056/NEJMp20057551.
- Jacobsen K, Will COVID-19 generate global preparedness? *Lancet*, 2020, 395:1013.
- Jiang S, Don't rush to deploy COVID-19 vaccines and drugs. *Nature*, 2020, 579:321.
- Kalil AC, Treating COVID-19—Off-Label Drug Use, Compassionate Use, and Randomized Clinical Trials During Pandemics. *JAMA*, 2020, doi :10.1001/jama.2020.4742.
- Kandel N et al., Health security capacities in the context of COVID-19 outbreak: an analysis of International Health Regulations annual report data from 182 countries. *Lancet*, 2020, 395:1047.
- Khamsi R, If a coronavirus vaccine arrives, can the world make enough? *Nature*, 2020, doi: 10.1038/d41586-020-01063-8.
- Klok FA. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*. 2020, 190:45.
- Konde MK et al, Interferon β -1a for the treatment of Ebola virus disease: A historically controlled, single-arm proof-of-concept trial. *PLoS One*, 2017, 12:e0169255.
- Kruse RL, Therapeutic strategies in an outbreak scenario to treat the novel coronavirus originating in Wuhan, China, *F1000 Res*, 2020, 9:72.
- Kupferschmidt K and Cohen J, WHO launches global megatrial of the four most promising coronavirus treatments. *Science*, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/03/who-launches-global-megatrial-four-most-promising-coronavirus-treatments>.
- Kupferschmidt K, Ending coronavirus lockdowns will be a dangerous process of trial and error. *Science* 2020a, <https://www.sciencemag.org/news/2020/04/ending-coronavirus-lockdowns-will-be-dangerous-process-trial-and-error>.
- Kupferschmidt K, Why do some COVID-19 patients infect many others, whereas most don't spread the virus at all? *Science*, 2020b, <https://www.sciencemag.org/news/2020/05/why-do-some-covid-19-patients-infect-many-other-whereas-most-don-t-spread-virus-all>.

Lavezzo et al, Suppression of COVID-19 outbreak in the municipality of Vo, Italy. medRxiv 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.17.20053157>.

Leopoldina National Akademie der Wissenschaften, 2020, 2nd Ad-hoc-Statement: Coronavirus Pandemic – Measures Relevant.

Leslie M, T cells found in COVID-19 patients ‘bode well’ for long-term immunity. Science, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/05/t-cells-found-covid-19-patients-bode-well-long-term-immunity>.

Levin M, Childhood Multisystem Inflammatory Syndrome — A New Challenge in the Pandemic, New England J Med, 2020, DOI: 10.1056/NEJMe2023158.

Li K et al, Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus causes multiple organ damage and lethal disease in mice transgenic for human dipeptidyl peptidase 4, J Infect Dis, 2016, 213:712.

Li L et al. Effect of convalescent plasma therapy on time to clinical improvement in patients with severe and life threatening COVID-19. A randomized clinical trial. JAMA, 2020. doi: 10.100/jama.2020.10044.

Liu L et al, Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. insight.jci, 2020, <https://doi.org/10.1172/jci.insight.123158>.

Liu T et al, The potential role of IL-6 in monitoring severe case of coronavirus disease 2019. MedRxiv, 2020b, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.01.20029769>.

Lodigiani C et al, Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients admitted to an academic hospital in Milan, Italy. Thrombosis Res, 2020, PMID: 3235746.

Long et al, Antibody response to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. Nature Med, 2020. doi:10.1038/s41591-020-0897-1.

Lou B et al, Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since the exposure and post symptom onset, medRxiv. 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.23.20041707>.

Loutfy et al, Interferon alfa-1 plus corticosteroids in severe acute respiratory syndrome: a preliminary study. JAMA, 2003, 290:3222.

Lurie N et al, Developing COVID-19 vaccines at pandemic speed. New Engl J Med, 2020, doi: 10.1056/NEJMp2005630.

Maggi E et al, COVID-19: Unanswered questions on immune response and pathogenesis, J Allergy, 2020, in press.

Major J et al, Type I and III interferons disrupt lung epithelial repair during recovery from viral infection, Science, 2020, doi: 10.1126/science.abc2061.

Mallapaty S, How do children spread the coronavirus?, Nature, 2020a, 581:127.

Mallapaty S, How sewage could reveal true scale coronavirus outbreak. Nature, 2020b, 580:176.

Mandavilli A, You May Have Antibodies After Coronavirus Infection. But Not for Long. The NY Times, 2020, <https://www.nytimes.com/2020/06/18/health/coronavirus-antibodies.html?smid=em-share>.

Mantovani A et al, Interleukin-1 and related cytokines in the regulation of inflammation and immunity. Immunity, 2019, 50:778.

Mantovani A, and Netea M., Trained Innate Immunity: epigenetics and Covid-19. New Engl J Med, 2020, in press.

Matricardi P et al, The First, Comprehensive Immunological Model of COVID-19: Implications for Prevention, Diagnosis, and Public Health Measures. Preprints, 2020, 2020040436.

Monteil V et al, Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. Cell, 2020, doi: 10.1016/j.cell.2020.04.004.

Montopoli M et al, Prostate cancer patients in androgen-deprivation therapies have reduced risk to develop SARS-CoV-2 infections. Ann Oncol, 2020, doi: 10.1016/j.annonc.2020.04.479.

Moriyama et al, Seasonality of Respiratory Viral Infections, Annu Rev Viro, 2020, <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-012420-022445>.

NCBI, National Center Biotechnology Information, 2020, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/sars-cov-2-seqs/>.

- Nguyen A et al, Human Leukocyte antigen susceptibility map SARS-CoV-2, MedRxiv, 2020, <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.22.20040600v1>.
- Okba NMA et al, SARS-CoV-2 specific antibody response in COVID-19 patients. *Emerging Infectious Dis*, 2020, doi: 10.3201/eid2607.20084.
- Promptchara E et al., Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2020, doi 10.12932/AP-200220-0772.
- Ranney ML et al, Critical Supply Shortages — The Need for Ventilators and Personal Protective Equipment during the Covid-19 Pandemic. *New Engl J Med*, 2020, doi: 10.1056/NEJMp2006141.
- Regeneron, 2020, <https://www.regeneron.com/>.
- Reineri A et al, ACE2 variants underlie interindividual variability and susceptibility to COVID-19 in Italian population. medRxiv, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.04.03.20047977doi>.
- REMAP-CAP response to novel COVID-10 pandemic, 2020, remapcap.org/coronavirus.
- Richardson S, et al, Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area, *JAMA*, 2020, 323:2052.
- Risitano AM et al, Complement as a target in COVID-19?, *Nature Rev Immunol*, 2020, <https://doi.org/10.1038/S42577-020-0320-7>.
- Sala G and Miyakawa T, Association of BCG vaccination policy with prevalence and mortality of COVID-19. medRxiv 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20048165doi>.
- Sandri M et al, IgG serology in health care and administrative staff populations from 7 hospitals representative of different exposures to SARS-CoV-2 in Lombardy, Italy. medRxiv 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/20200524201112452020>.
- Sanofi and Regeneron, 2020, <https://www.fiercepharma.com/pharma/sanofi-regeneron-scale-back-kevzara-study-after-disappointing-results-severe-covid-19>.
- Seminara et al, Problemi aperti nella Bio-fluodinamica del contagio da COVID19, *Accad Naz Lincei*, 2020, <https://www.lincci.it/it/article/problemi-aperti-nella-bio-fluodinamica-del-contagio-da-covid19>.
- Service R.F. How does the most common coronavirus test work? *Science*, 2020a, <https://www.sciencemag.org/news/2020/03/standard-coronavirus-test-if-available-works-well-can-new-diagnostics-help-pandemic>.
- Service R.F., The standard coronavirus test, if available, works well—but can new diagnostics help in this pandemic? *Science*, 2020b, <https://www.sciencemag.org/news/2020/03/standard-coronavirus-test-if-available-works-well-can-new-diagnostics-help-pandemic>.
- Shen C et al, Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA*, 2020, doi:10.1001/jama.2020.4783.
- Shet A et al, Differential COVID-19-attributable mortality and BCG vaccine use in countries. medRxiv, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.04.01.20049478doi>.
- Shi J et al, Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS–coronavirus 2. *Science*, 2020, doi: 10.1126/science.abb7015.
- Stopsack KH et al, TMPRSS2 and COVID-19: Serendipity or opportunity for intervention? *Cancer Discovery*, 2020, doi: 10.1158/2159-8290.CD-20-0451.
- Subbaraman N, Coronavirus tests: researchers chase new diagnostic to fight the pandemic. *Nature News Explainer*, 2020, https://www.nature.com/articles/d41586-020-00827-6?utm_source=Nature+Briefing&utm_campaign=94a7072063-briefing-dy-20200324&utm_medium=email&utm_term=0_c9dfd39373-94a7072063-45095806.
- Temmam S et al, Absence of SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in close contact with a cluster of COVID-19 patients in a veterinary campus. *BioRxiv*, 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.07.029090>.
- The treatment guideline for COVID-19 from Government in Chinese (7th Edit), 2020, <https://www.chinalawtranslate.com/en/coronavirus-treatment-plan-7/>.

- Thevarajan I et al, Breadth of concomitant immune response prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nature Med*, 2020, <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0819>.
- Tomaiuolo R et al, Activity of mannose -binding lectin in centenarians. *Aging Cell*, 2012, 11:394.
- Vabret N et al, Immunology of COVID-19: current state of the science, *Immunity*, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.05.002>.
- van Doremalen N et al, Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV. *New England J Med*, 2020, <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc2004973>.
- Voge G, These are answers we need. WHO plans global study to discover true extent of coronavirus infections. *Science*, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/04/these-are-answers-we-need-who-plans-global-study-discover-true-extent-coronavirus>.
- Wadman M, Why coronavirus hits men harder: sex hormones offer clues, *Science*, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/06/why-coronavirus-hits-men-harder-sex-hormones-offer-clues>.
- Wajnberg A et al, Humoral immune response and prolonged PCR positivity in a cohort of 1343 SARS-CoV 2 patients in the New York City region, *medRxiv*, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.04.30.20085613doi>.
- Wang C et al, A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *bioRxiv*, 2020a, 2020.03.11.987958.
- Wang M et al, Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res*, 2020b, 30:269.
- Wang W et al, Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*. 2020c, 323:1843. doi:10.1001/jama.2020.3786.
- Wang Y et al, Remdesivir in adults with severe COVID-19: A randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*, 2020d, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)310022-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)310022-9).
- Wec AZ et al, Broad neutralization of SARS-related viruses by human monoclonal antibodies, *Science*, 2020, doi: 10.1126/science.abc7424.
- WEF, World Economic Forum, Why lockdowns can halt the spread of COVID-19, 2020, <https://www.weforum.org/agenda/2020/03/why-lockdowns-work-epidemics-coronavirus-covid19/>.
- WHO “Immunity passports” in the context of COVID-19. 2020a, <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/immunity-passports-in-the-context-of-covid-19>.
- WHO 2020b, <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/events-as-they-happen>.
- WHO, Critical preparedness, readiness and response actions for COVID-19. 2020c, Interim guidance, https://snlg.iss.it/wp-content/uploads/2020/03/12_LG-WHO-COVID-19-Community_Actions-2020.1-eng.pdf.
- WHO, Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines – 15 July 2020, 2020d, file:///C:/Users/frngd/Downloads/novel-coronavirus-landscape-covid-19e7269232504f4ce8bb2fe20709e830bd.pdf.
- Wichmann D et al, Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19. A Prospective Cohort Study, *Ann Intern Med*, 2020, doi:10.7326/M20-2003.
- Wilk AJ et al, A single-cell atlas of the peripheral immune response in patients with severe COVID-19, *Nat Med*, 2020, doi: 10.1038/s41591-020-0944-y.
- Wölfel, R. et al, Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 2020, <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>.
- Wu F. et al, Neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 in COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *medRxiv*, 2020, <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2196-x>.
- Wyllie AL et al, Saliva is more sensitive for SARS-CoV-2 detection in COVID-19 patients than nasopharyngeal swabs. *MedRxiv*, 2020, doi.org/10.1101/2020.04.16.20067835.
- Xiang F et al, Antibody detection and dynamic characteristic in patients with COVID-19. *Clinical Infectious Diseases*, 2020, ciaa461, <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa461>.
- Xu Z, et al, Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*, 2020, 8:420.

Zang H et al, Association between mannose binding lectin gene polymorphism and susceptibility to severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J Infect Dis*, 2005, 192:1355.

Zhao J et al., Airway Memory CD4(+) T Cells Mediate Protective Immunity against Emerging Respiratory Coronaviruses. *Immunity*. 2016, 44:1379.

Zhao J et al., Relationship between the ABO Blood Group and the COVID-19 susceptibility. *MedRxiv*, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.11.20031096>.

Zheng M et al, Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*, 2020, <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0402-2>).

Zhou F et al, Clinical course and risk factor for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020a, 395:1054.

Zhou Z et al, Heightened innate immune responses in the respiratory tract of COVID-19 patients, *Cell Host Microbes*, 2020b, <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.04.017>.