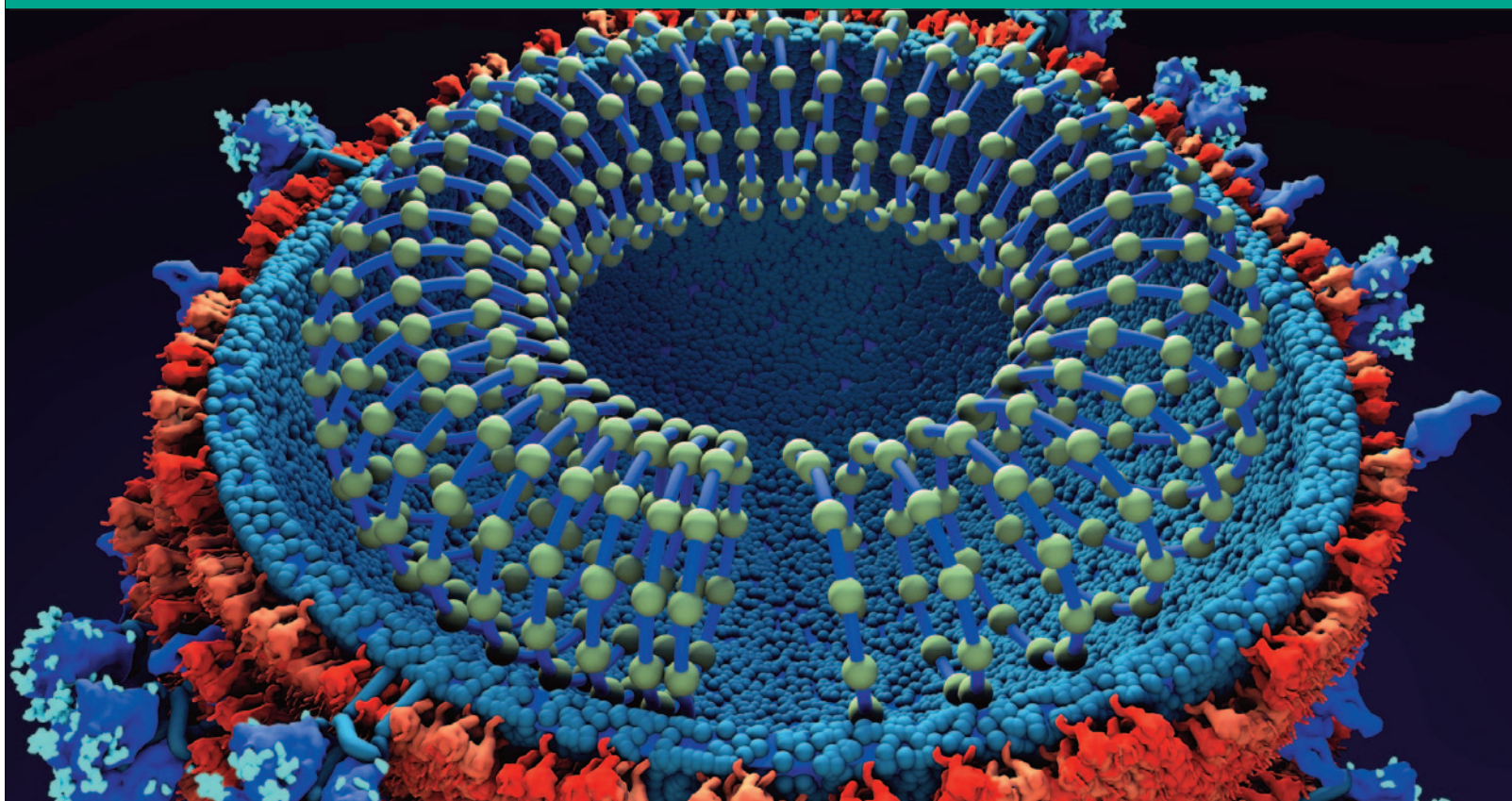




A proposito dell'epidemia da nuovo coronavirus, SARS-CoV-2

Facciamo chiarezza sui termini

La tempesta mediatica, scatenata intorno all'epidemia di infezione da nuovo coronavirus partita dalla Cina all'inizio di gennaio, sta monopolizzando l'attenzione pubblica e rischia di farsi involontaria promotrice di informazioni errate e fuorvianti. Questo perché vengono usati in maniera impropria termini e definizioni, e purtroppo spesso viene data voce a persone che sono abili comunicatori ma poco hanno di competenza tecnica



MARIA ROSARIA CAPOBIANCHI

Laboratorio di Virologia, Istituto Nazionale per le Malattie Infettive "L. Spallanzani" IRCCS, Roma



CLAUDIA MINOSSE

Dirigente biologo presso il Laboratorio di Virologia "L. Spallanzani" IRCCS, Roma

Infodemia è il termine usato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) per descrivere questa "grande abbuffata" di informazioni, che spesso sono interpretate in maniera fuorviante, dando adito a incomprensioni, polemiche, illazioni e contestazioni. Vi sono alcuni termini, in particolare, che sono stati particolarmente abusati in questi giorni, spesso in maniera inappropriata, eccitando leggende metropolitane e millantate primogeniture. Si tratta dei termini "sequenziamento" e "isolamento" virale.

Cerchiamo di fare il punto, chiarendo definitivamente il significato tecnico dei due termini.

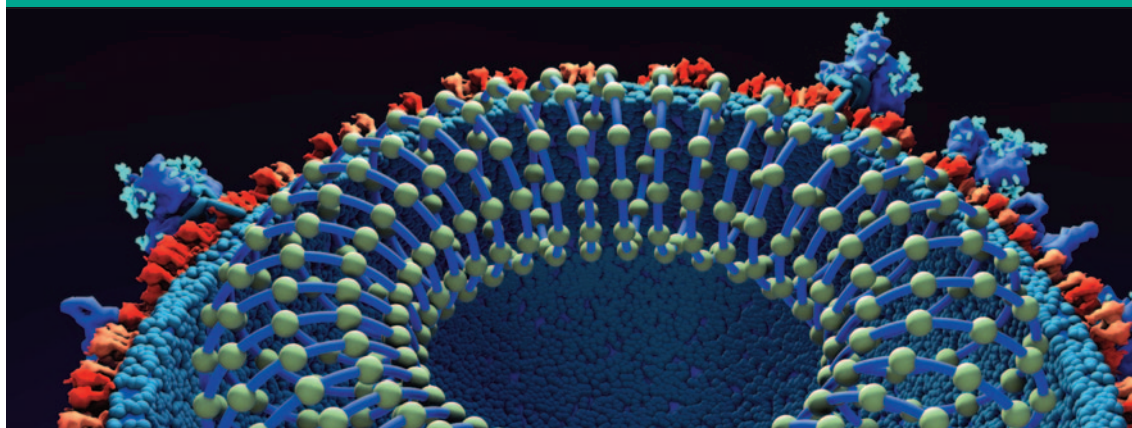
Il termine sequenziamento si riferisce

alla determinazione della successione dei nucleotidi che costituiscono il genoma virale (a RNA in questo caso). Questo viene effettuato grazie a tecniche molecolari, e l'evoluzione delle nuove tecniche di sequenziamento ha dato uno slancio formidabile negli ultimi anni. La sequenza può comprendere tutto il genoma virale, e in questo caso rappresenta una carta di identità completa, da cui si possono dedurre molte caratteristiche, tipo: quante proteine sono codificate, il loro peso molecolare, le loro proprietà e funzioni, il possesso di attività enzimatica, ecc. Più è completa la sequenza, più informazioni si possono dedurre. In particolare, mettendo a confronto le sequenze dei ceppi di virus simili o correlati, se ne può determinare la precisa collocazione tassonomica, e si può tracciare la storia evolutiva. La conoscenza della sequenza è importante per la progettazione dei test molecolari, in quanto scegliendo opportunamente le regioni del genoma da amplificare mediante PCR, si possono disegnare primers e probes che riconoscano in maniera selettiva i ceppi virali da ricercare. Inoltre, il sequenziamento di brevi tratti di genoma virale è generalmente utilizzato per confermare la diagnosi basata su semplice PCR, in quanto attestano con sufficiente potere di risoluzione che il genoma che abbiamo evidenziato con la PCR realmente appartiene al virus sospettato.

Chiariamo il concetto utilizzando una metafora.

Il virus può essere assimilato ad un ri-

Segue a pagina 16



sibilità all'effetto inibitorio di potenziali molecole terapeutiche, la capacità di alterare le funzioni cellulari, ecc. In poche parole, avere il virus isolato permette di determinare le caratteristiche biologiche del virus stesso.

Ritornando alla nostra metafora, l'isolamento corrisponde alla cattura del ricercato, a poterlo interrogare e processare.

Quindi, ricapitolando, la sequenza è un dato, che si può pubblicare, condividere, analizzare nel contesto di altre sequenze, usare per scegliere i tratti da prediligere per il disegno dei test diagnostici molecolari o immunologici, o per ipotizzare le funzioni che potrebbero essere bersaglio di farmaci antivirali: sono tutte valutazioni "in silico". L'isolato virale è un ceppo "vivo", che si replica e può essere usato per determinare le caratteristiche biologiche nei modelli di coltivazione in vitro su cellule, o nei modelli di infezione in vivo su animali. Per concludere, bisognerebbe eliminare dal lessico scientifico l'espressione "isolare la sequenza", che ha tanto circolato in questi giorni. La sequenza si determina, si ottiene, si analizza; il virus si isola.

L'OMS ha sottolineato, in questa come in occasione di precedenti epidemie, che la condivisione dei dati (sequenza) e dei ceppi (isolati) è un passo importante perché, in maniera sinergica e con il concorso di molti studiosi in più parti del mondo, si possano sviluppare adeguate conoscenze ed allestire più efficaci strumenti di contrasto alla diffusione di agenti nuovi o poco conosciuti. Quindi i laboratori che ottengono sequenze dei genomi virali agli esordi di una nuova epidemia condividono i dati di sequenza rendendoli disponibili attraverso piattaforme informatiche, allestite proprio per favorire lo scambio trasparente di informazioni. Una di queste è GISAID, istituita alcuni anni fa per favorire lo scambio di informazioni relative alla sequenza dei virus influenzali, che è fortemente impegnata per l'attuale epidemia da coronavirus. Allo stesso modo gli isolati possono essere condivisi fra i laboratori che hanno la struttura e la capacità necessarie, utilizzando come canale di distribuzione controllata i repository biologici, ovvero le banche di ceppi, come EVAg a livello europeo o BEI a livelli statunitensi.



Segue da pagina 5

cercato, di cui abbiamo la foto segnaletica, l'impronta digitale e l'elenco di tutte le caratteristiche fisiche. L'insieme di queste caratteristiche descritte in forma narrativa sono l'equivalente della sequenza dell'intero genoma virale. Questa è particolarmente importante quando si scopre un nuovo virus, e può essere ottenute con tecniche molecolari direttamente analizzando il campione clinico. Il sequenziamento, oltre che per descrivere in maniera esaustiva le proprietà molecolari di un nuovo virus, può essere utilizzata anche a scopo diagnostico, ma in questo caso non è necessario determinare la sequenza dell'intero genoma, basta un breve tratto: ritrovare in un campione clinico la sequenza di un breve tratto del genoma virale equivale a rilevare sulla scena del delitto l'impronta digitale del ricercato, che ci dice senza ombra di dubbio che si tratta proprio di lui.

Ma tutto ciò non equivale ad arrestare il ricercato.

L'isolamento virale invece equivale ad arrestare il ricercato in carne ed ossa. È una procedura che oggi viene utilizzata solo in casi eccezionali, perché è lunga, farraginoso, costosa, e richiede competenze specialistiche e strutture di bio-

contenimento se il virus appartiene ad un livello di rischio elevato (livello 3 nel caso del nuovo coronavirus SARS-CoV-2). Si tratta di mettere il campione biologico su colture di cellule; queste vengono mantenute in condizioni controllate di temperatura, umidità e concentrazione di anidride carbonica, in condizioni, cioè, che riproducono quelle che si trovano nell'organismo infettato, affinché il virus entri nelle cellule e si replichi. Il più delle volte la replicazione virale si manifesta all'osservazione microscopica come una alterazione progressiva della morfologia delle cellule, denominata effetto citopatico. Per confermare che l'effetto citopatico sia realmente dovuto alla replicazione del virus che stiamo tentando di isolare, le colture vengono sottoposte ai test molecolari che si usano per la diagnosi, o ad altri test più sofisticati. Una volta isolato, il virus si può propagare in condizioni controllate, e quindi si possono eseguire esperimenti. Ad esempio il virus si utilizza per verificare la presenza di anticorpi nel sangue dei pazienti, la capacità di questi anticorpi di neutralizzare l'infettività virale (quindi di proteggere dall'infezione), i rapporti con i meccanismi di difesa antivirale, la sen-