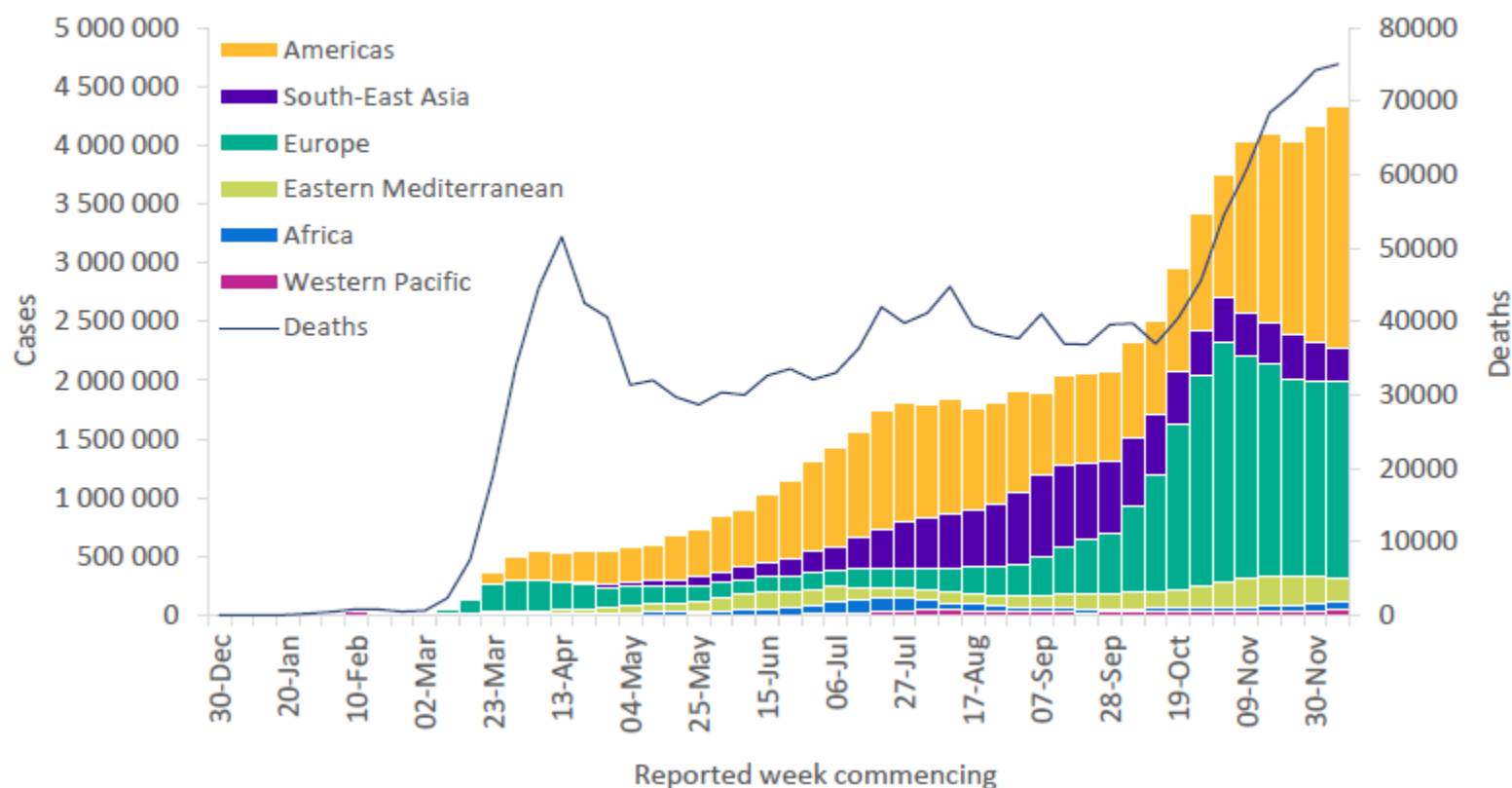


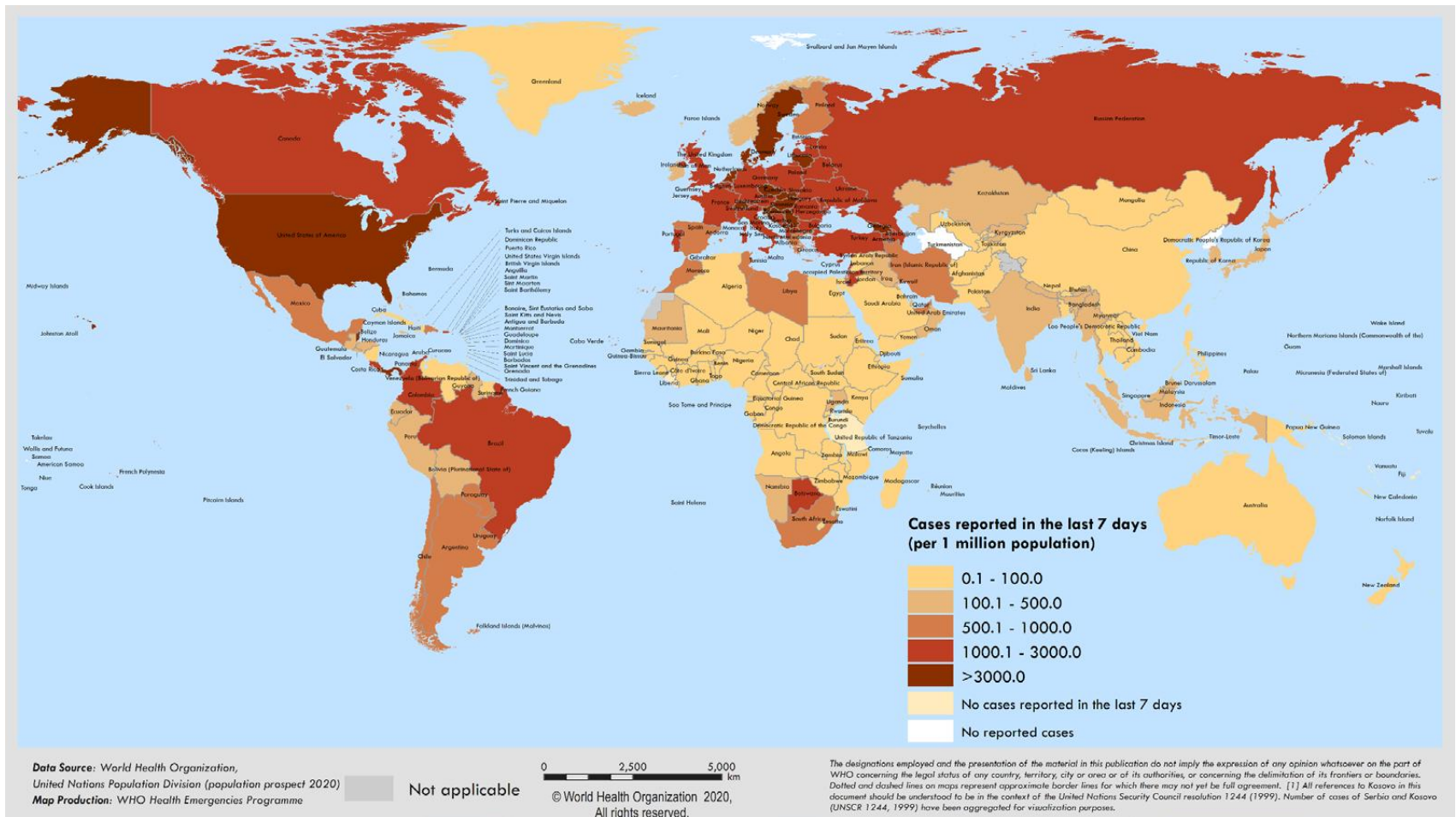
COVID-19 oggi

Figure 1: COVID-19 cases reported weekly by WHO Region, and global deaths, as of 13 December 2020**



Globalmente dall'inizio della pandemia si sono verificati complessivamente 70 milioni di casi e 1.6 milioni di morti

Nuovi casi di COVID-19 nella settimana 7-13 dicembre



Casi di COVID-19



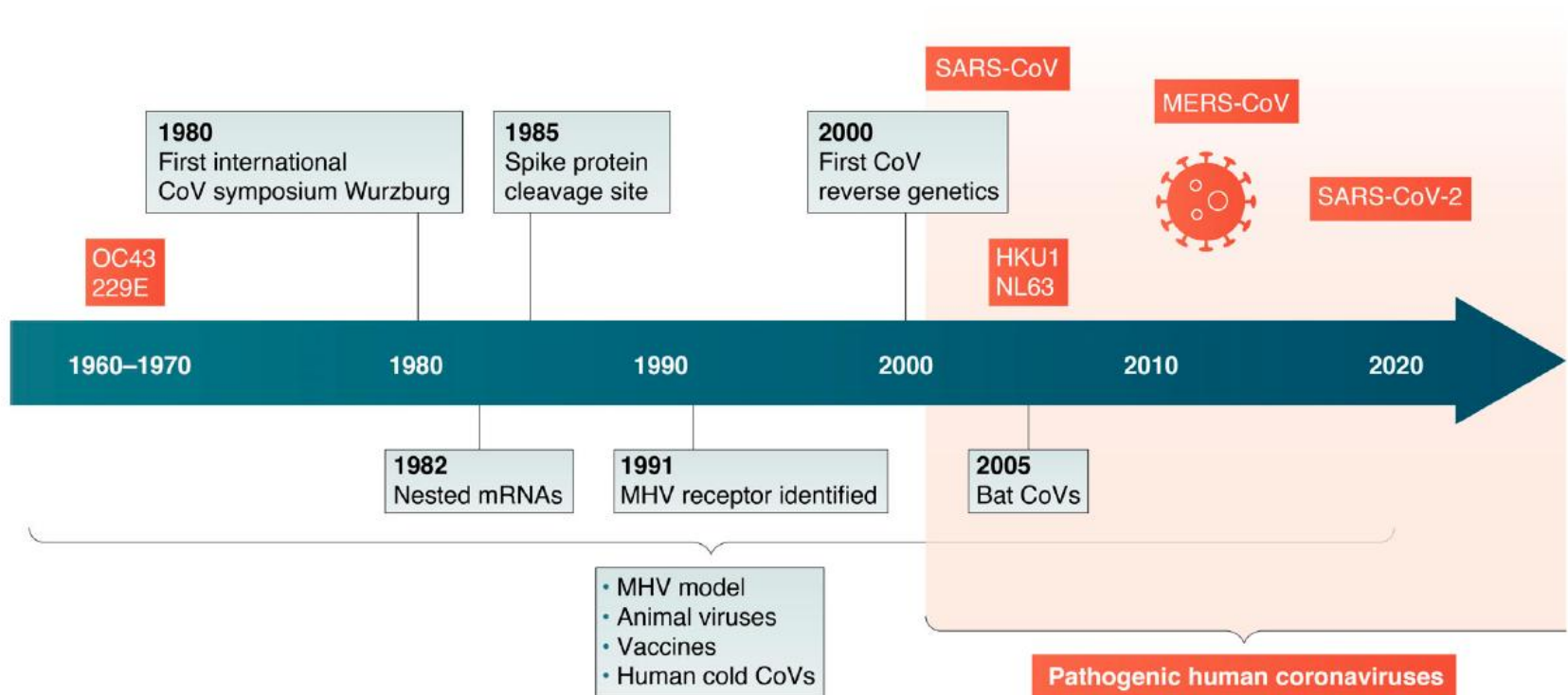
E i trasporti aerei



Nascita di una pandemia

- Il 31 Dicembre 2019 le Autorità Sanitarie Cinesi allertano l'OMS segnalando numerosi casi di polmonite ad eziologia sconosciuta nella città di Wuhan nella provincia di Hubei nella Cina centrale.
- I casi erano stati segnalati dal 8 dicembre e molti pazienti lavoravano o vivevano in prossimità del Huanan Seafood Wholesale Market anche se altri casi precoci non presentavano questa esposizione.
- Il 7 gennaio viene identificato nel tampone faringeo di un paziente un nuovo coronavirus denominato inizialmente 2019-nCoV dal OMS.
- Il virus è stato successivamente rinominato come Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) dal Coronavirus Study Group e la malattia coronavirus disease 2019 (COVID-19) dal OMS.

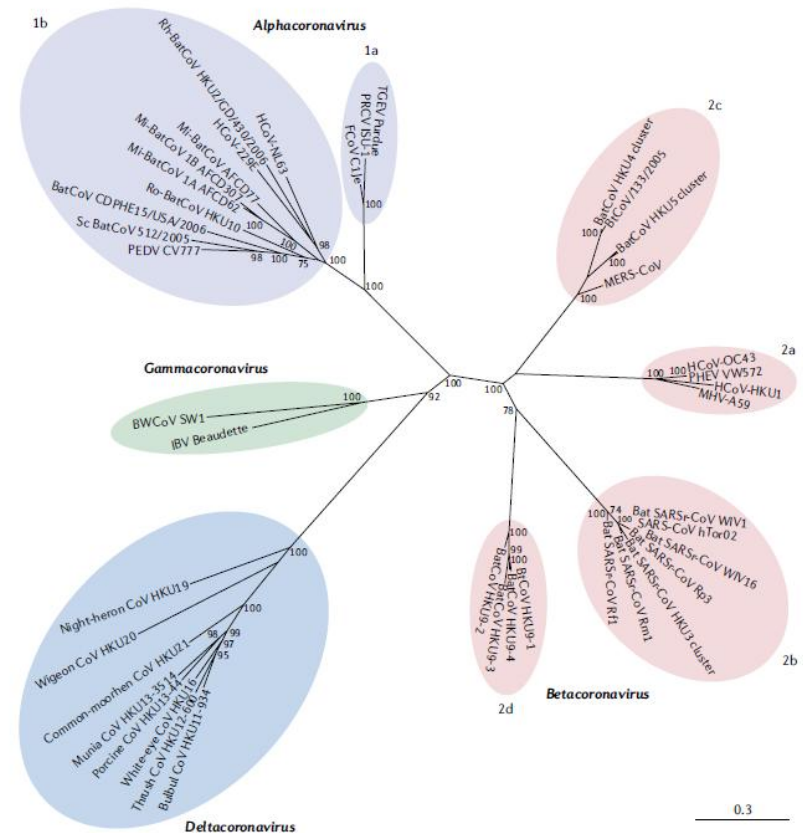
LA STORIA DEI CORONAVIRUS



La famiglia dei Coronavirus

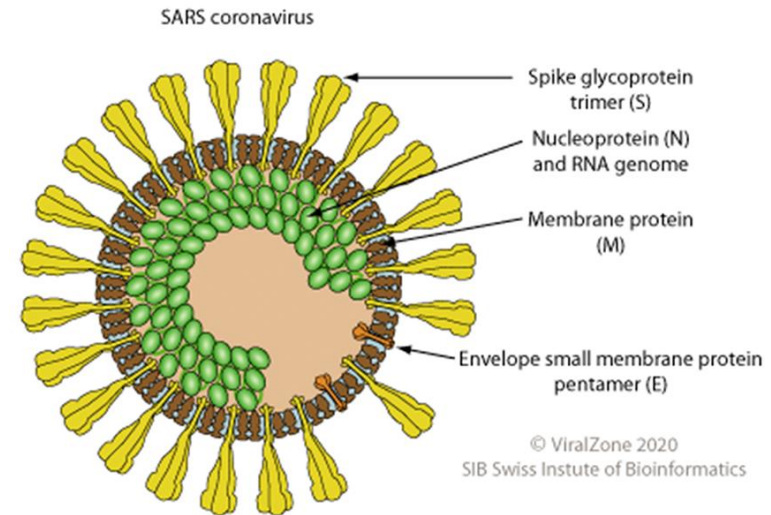
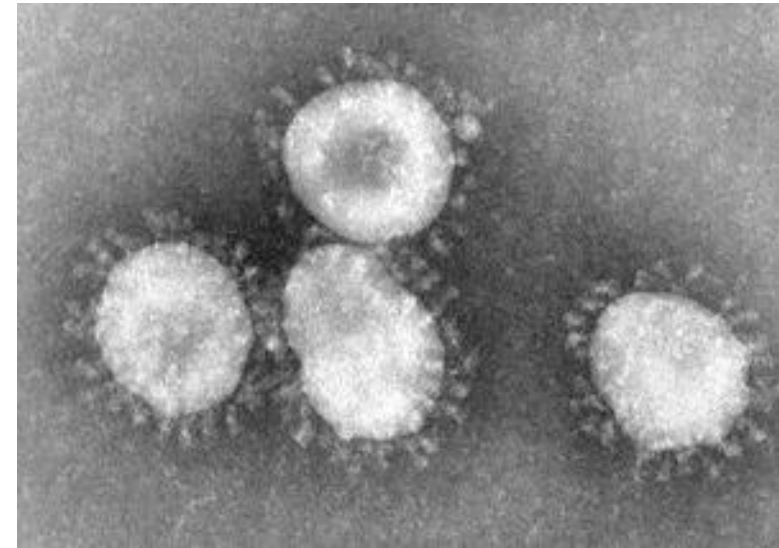
Rapporti filogenetici nella sottofamiglia delle *Coronavirinae*.

- *I coronavirus umani appartengono alla sottofamiglia delle Coronavirinae della famiglia delle Coronaviridae. I virus di questa sottofamiglia si raggruppano in quattro generi:*
 - *Alphacoronavirus (viola),*
 - *Betacoronavirus (rosa),*
 - *Gammaparacoronavirus (verde)*
 - *Deltacoronavirus (blu).*
- *Gli alphacoronavirus a loro volta comprendono i sottogruppi 1a and 1b e i betacoronavirus i 2a–2d.*
 - IBV, infectious bronchitis virus;
 - MERS- CoV, Middle East respiratory syndrome coronavirus;
 - MHV, mouse hepatitis virus;
 - PEDV, porcine enteric diarrhoea virus;
 - SARS- CoV, severe acute respiratory syndrome coronavirus;
 - SARSr- CoV, SARS- related coronavirus.

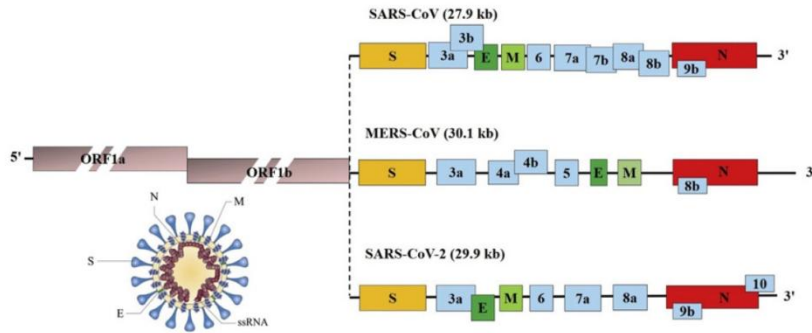


CORONAVIRUS

- I Coronavirus umani, con un diametro di 125 nm, sono tra i virus a RNA più grandi.
- Sono virus dotati di mantello lipoproteico dove sono inserite le proteine di superficie M, E ed S.
- La proteina S costituisce le protrusioni claviformi che conferiscono la caratteristica morfologia al ME
- Le proteine E e M sono inserite nel mantello
- Il nucleocapside presenta una simmetria elicoidale.



Il genoma

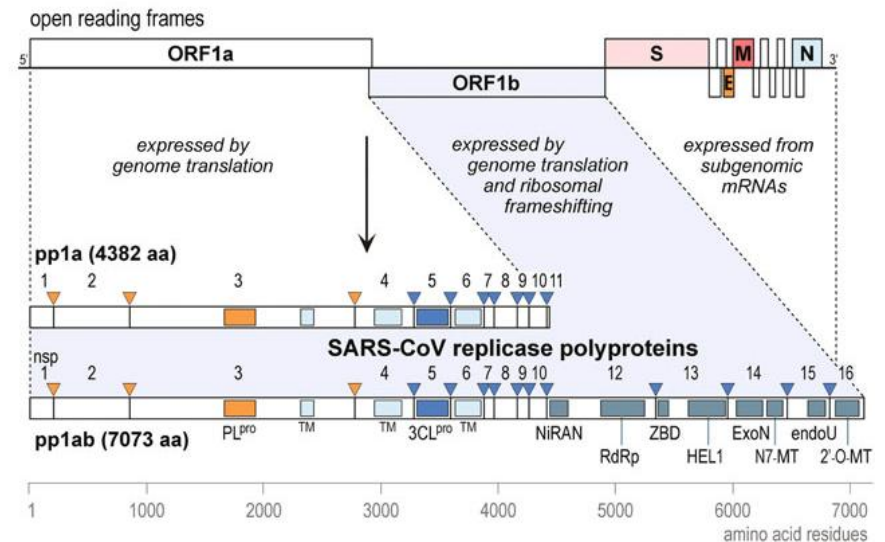
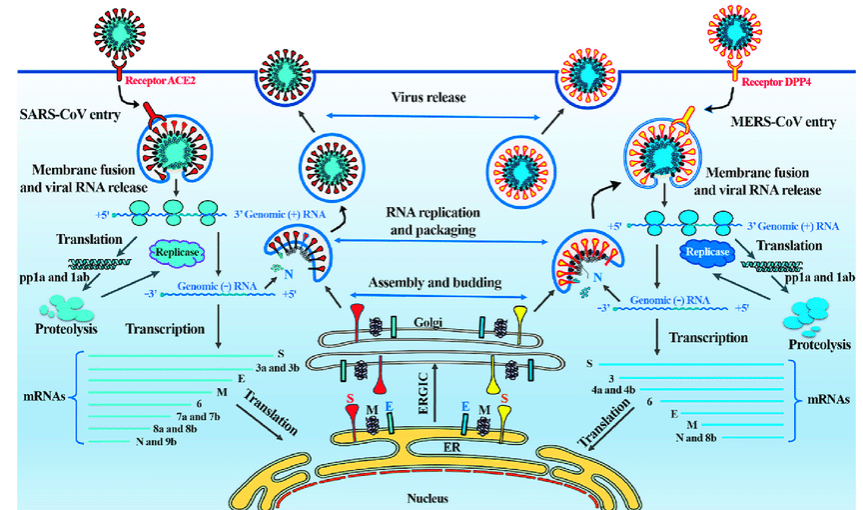


- Il genoma a RNA monocatenario a polarità positiva di 26-32 Kbasi, il più grande tra i virus a RNA

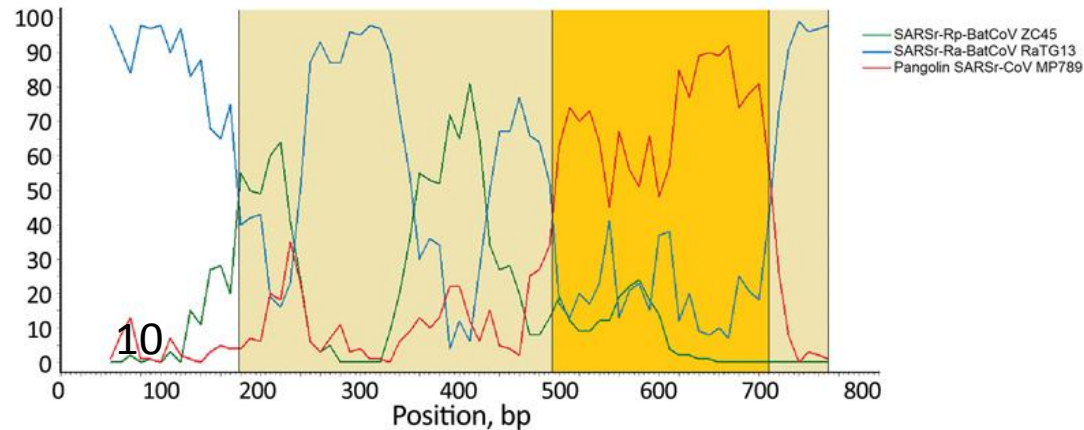
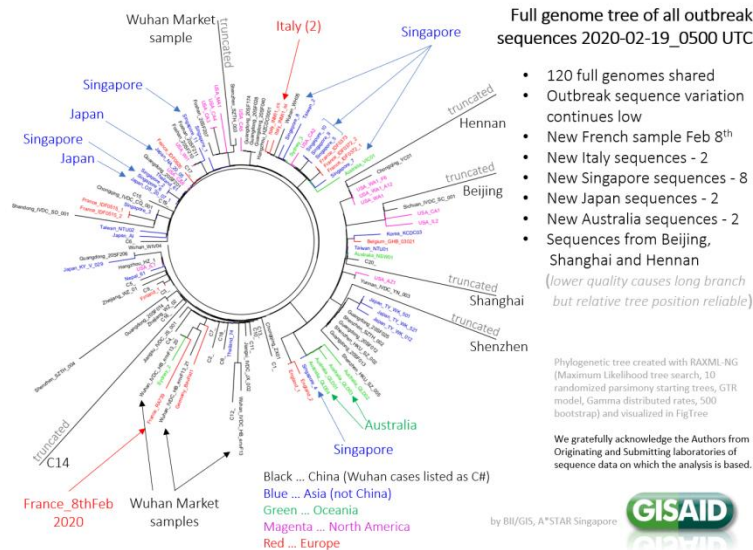
- Il genoma contiene 10 strutture codificanti
 - All'estremità 5' l'ORF1a/b codifica per due grandi poliproteine che formano il complesso della replicasi
 - La parte rimanente codifica per le proteine strutturali:
 - S (spike)
 - E (Envelope)
 - M (Membrana)
 - N (nucleocapside)
 - Più alcune proteine accessorie

Replicazione

- L'ingresso nel citosol, mediato da recettore, è legato alla fusione tra la membrana del virus e quella dell'endosoma da parte della proteina S
- le poliproteine della replicasi pp1a e pp1ab si assemblano a formare RTC (replication transcription complexes)
- Formazione degli mRNA subgenomici a partire dai corrispondenti RNA
- Sintesi delle proteine strutturali e assemblaggio delle nuove particelle virali nell'ERGIC



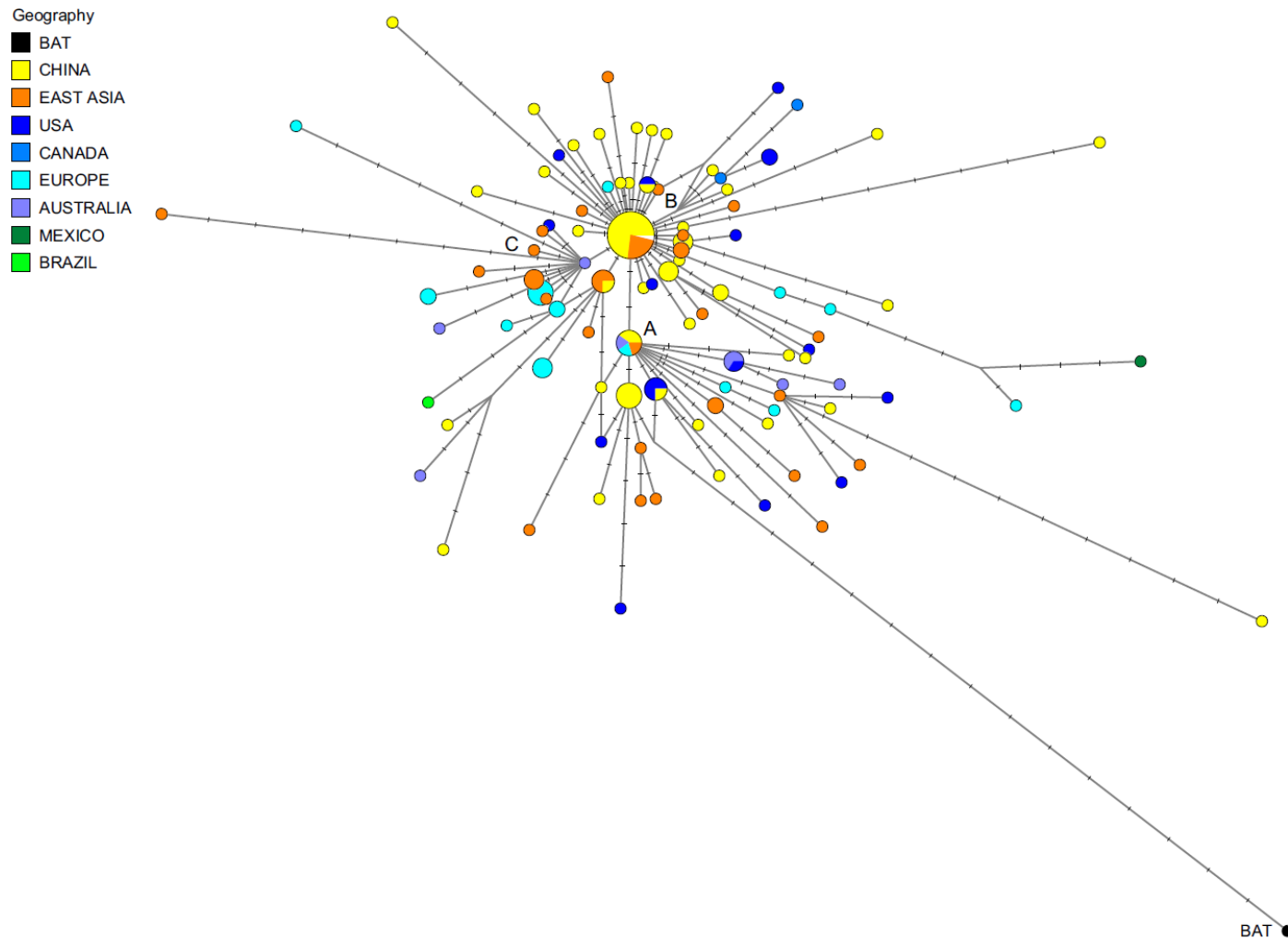
Variabilità genetica



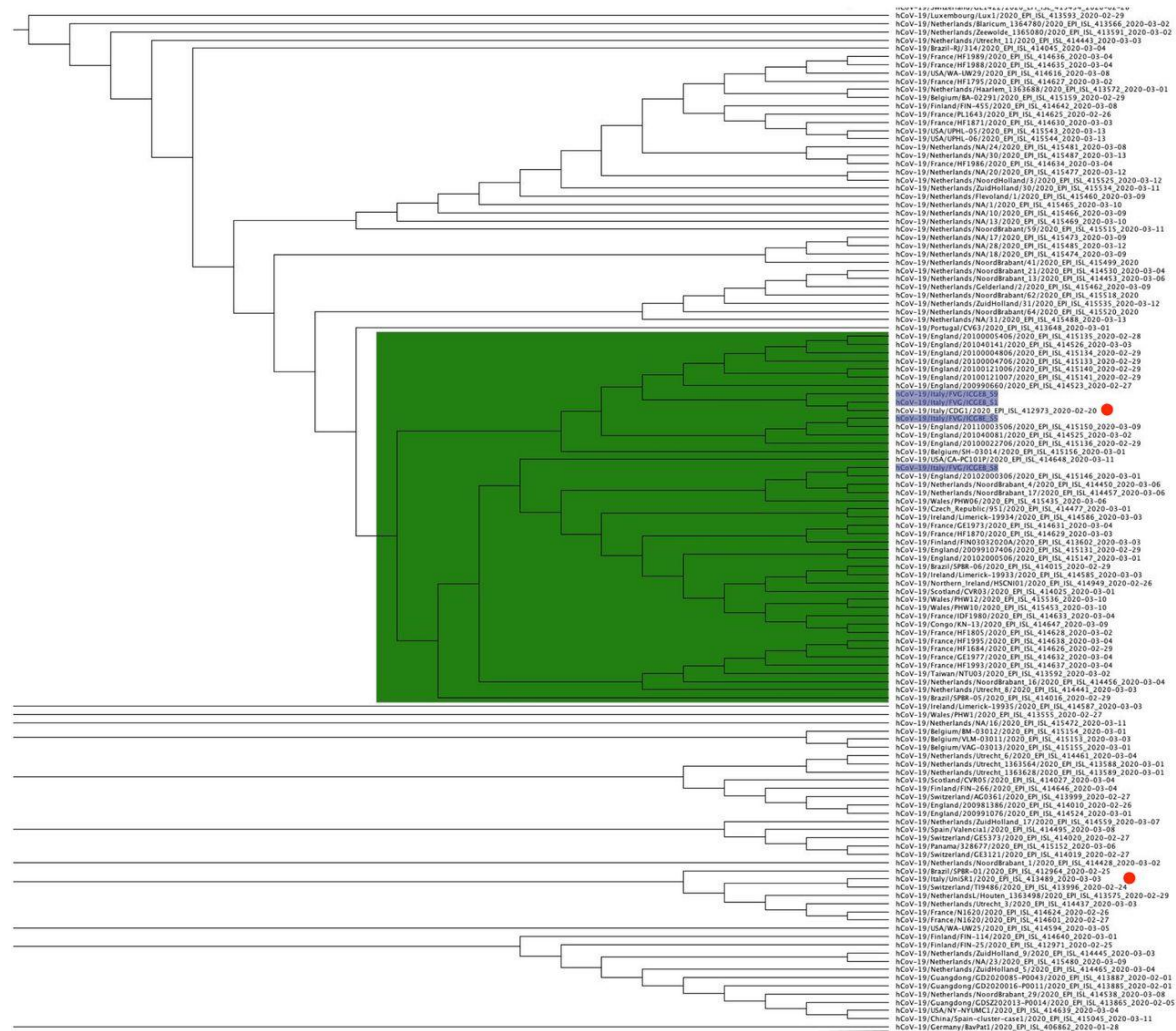
Emerg Infect Dis. 2020 Jul.

- Il genoma dei Coronavirus è caratterizzato da una significativa variabilità genetica dovuta in parte al tasso di errore della RNA polimerasi RNA dipendente (peraltro i Coronavirus sono tra i pochi virus a RNA dotati di attività di proof-reading) ma soprattutto a fenomeni di ricombinazione omologa e non omologa.

Tracciamento genetico della pandemia

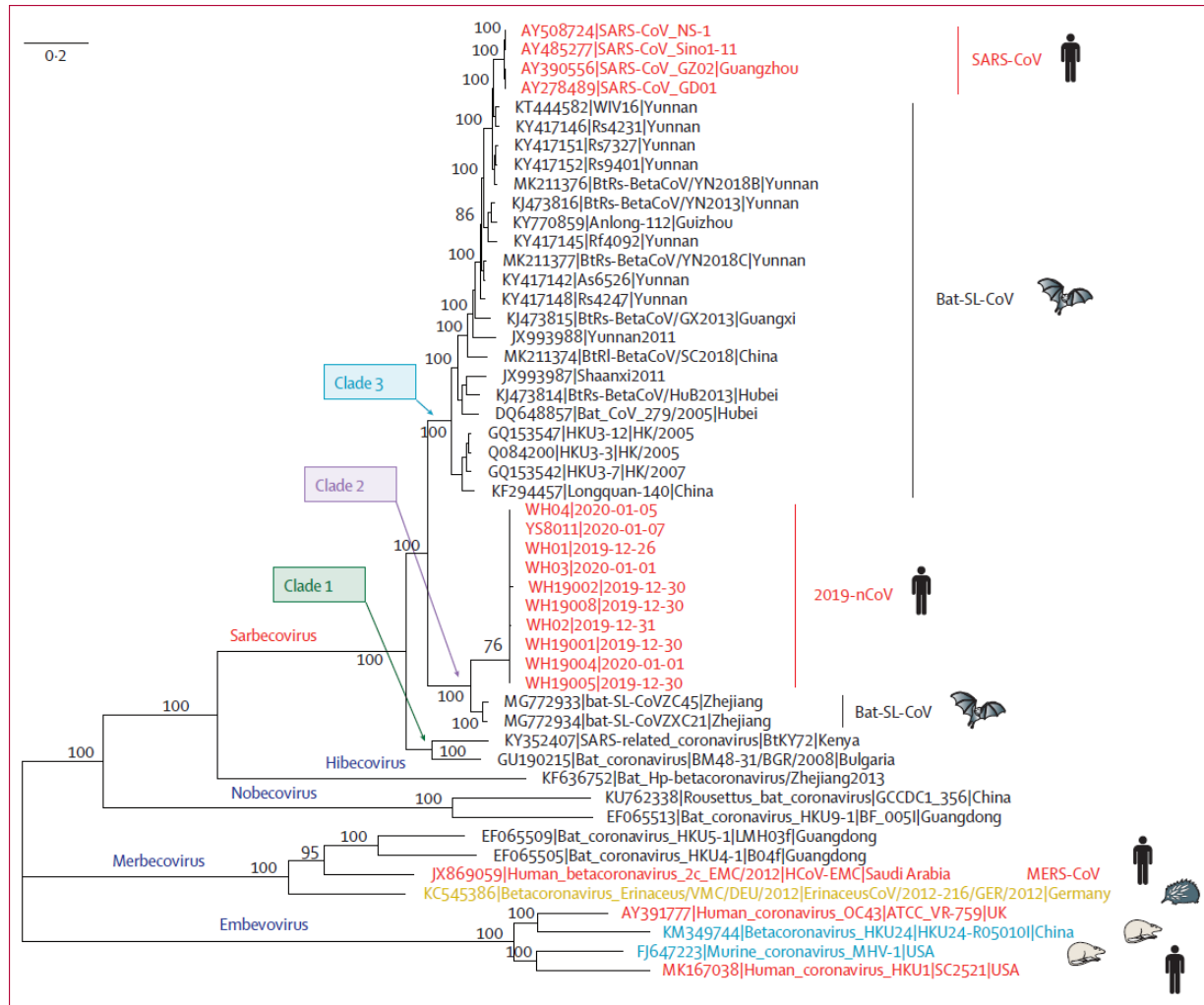


Maximum likelihood phylogenetic trees of nucleotide sequences from GISAID sequences available at 03-16-2020 and hCoV-19/Italy/FVG/ICGEB_S1, _S5, _S8, and _S9.



Danilo Licastro et al. J. Virol. 2020; doi:10.1128/JVI.00543-20

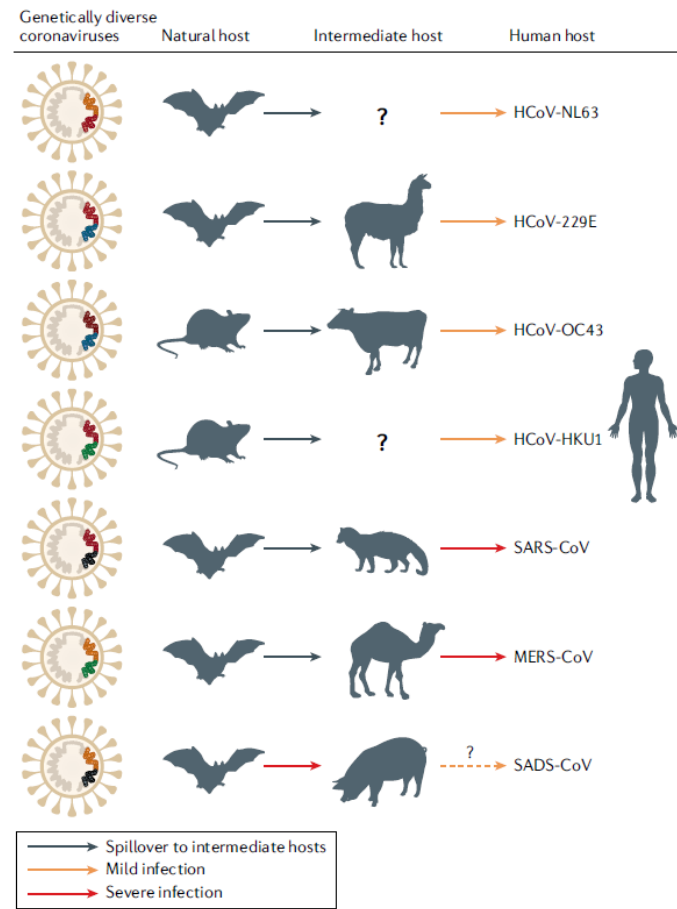
I parenti...



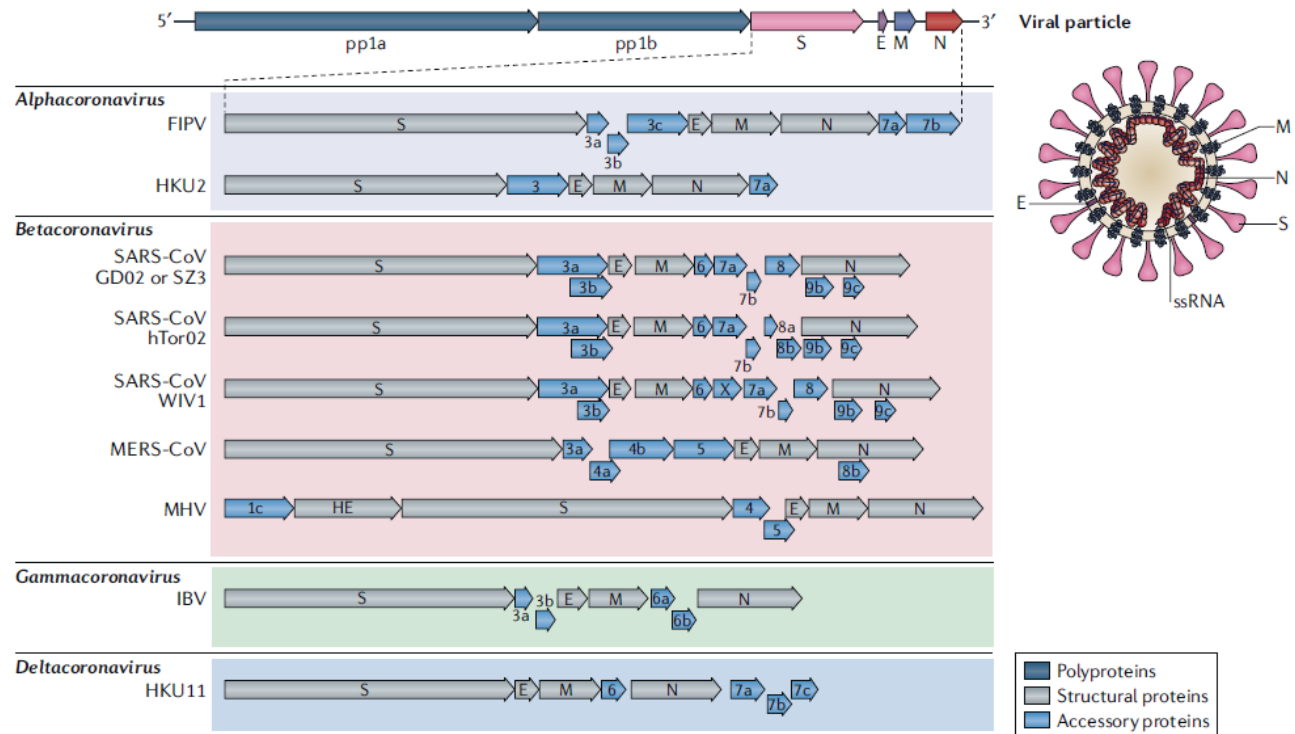
I Coronavirus umani hanno un'origine animale

Origine animale di coronavirus umani

- **Severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS- CoV)** è un coronavirus emerso per ricombinazione tra virus dei pipistrelli bat SARS-related coronaviruses (SARSr- CoVs). Il virus ricombinante ha infettato i zibetti e quindi l'uomo dove si è adattato provocando l'epidemia SARS.
- **Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS- CoV)** probabile passaggio da pipistrelli a dromedari avvenuto circa 30 anni fa e adattamento a questo ospite.
- **HCoV-229E e HCoV- NL63** I progenitori di questi virus sono stati recentemente individuati nei pipistrelli africani e i camelidi sono probabilmente gli ospiti intermedi di HCoV-229E.
- **HCoV- OC43 e HKU1** derivano da virus che infettano i roditori.
- **Swine acute diarrhoea syndrome (SADS)** emerso nei suini deriva da un ceppo di coronavirus *coronavirus di pipistrelli*.
- Le frecce intere indicano i dati confermati. Quelle tratteggiate potenziali trasmissioni interspecie. Le frecce nere indicano infezioni nell'ospite intermedio, quelle gialle infezioni lievi e quelle rosse le gravi.



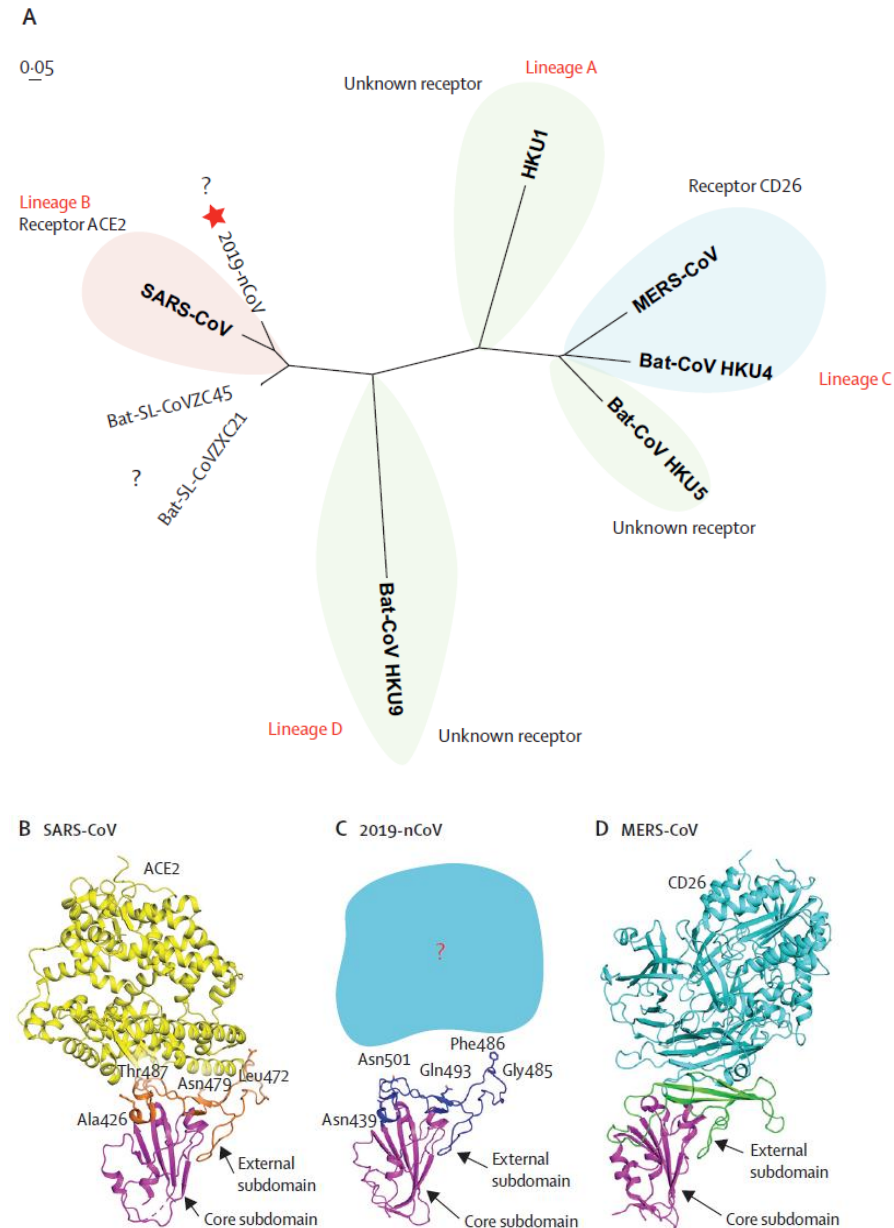
Profezie?



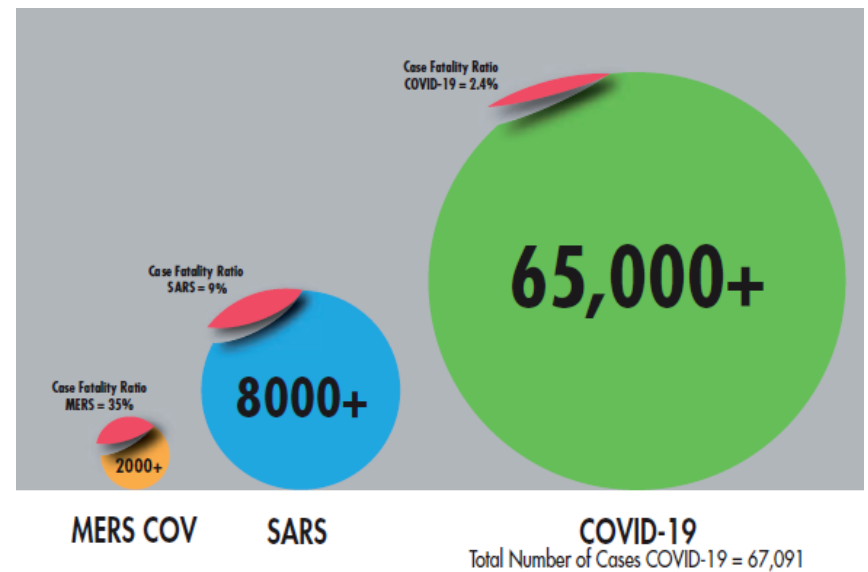
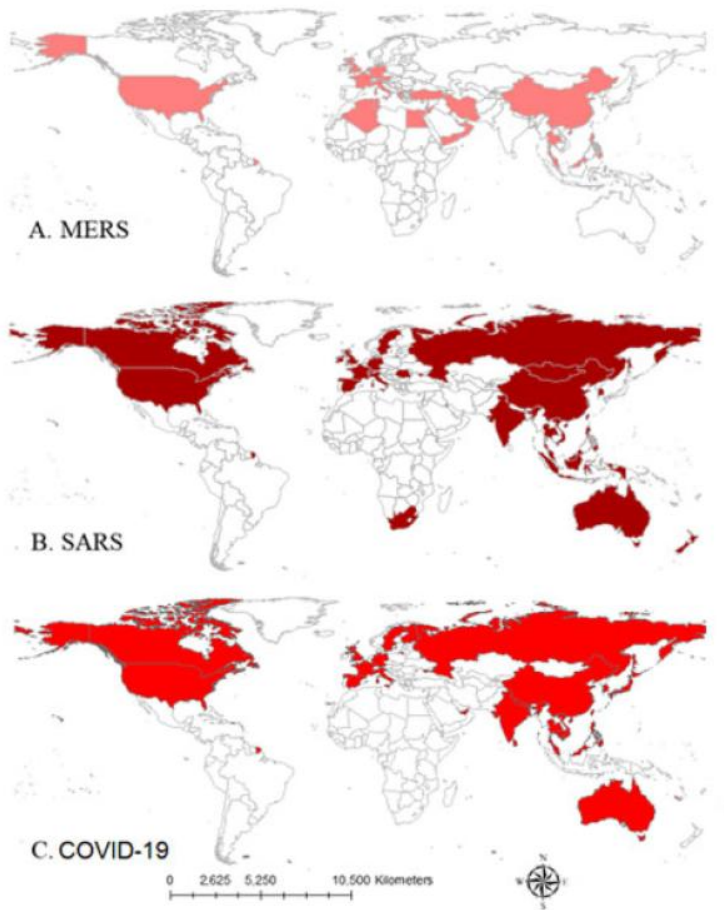
MERS-CoV. Specifically, we emphasize the ecological distribution, genetic diversity, interspecies transmission and potential for pathogenesis of SARS-related coronaviruses (SARSr-CoVs) and MERS-related coronaviruses (MERSr-CoVs) found in bats, as this information can help prepare countermeasures against future spillover and pathogenic infections in humans with novel coronaviruses.

Recettori Coronavirus

- I Coronavirus umani OC43, HKU1, 229E e NL63 infettano le vie respiratorie alte.
- I Coronavirus SARS-CoV e MERS-CoV infettano le vie basse ma non quelle alte
- SARS-CoV-2 infetta efficacemente entrambe.
 - I pazienti possono eliminare il virus anche prima della comparsa dei sintomi
- SARS-CoV-2 è 10-20 volte più efficace di SARS-CoV nel legare ACE2.
- L'utilizzo delle furine per l'esposizione dei peptidi di fusione dello spike aumenta di 100-1000 volte rispetto a SARS-CoV la probabilità di infettare le basse vie respiratorie.



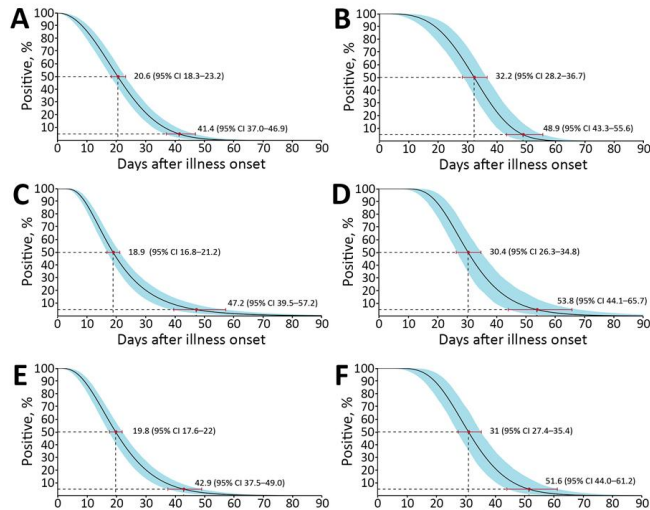
DISTRIBUZIONE AL 10/02/2020



SORGENTE DELL'INFEZIONE

- Il serbatoio dell'infezione è costituito dai pipistrelli con uno ospite intermedio animale costituito probabilmente dal pangolino
- La sorgente dell'infezione è costituita da:
 - Soggetto malato
 - Portatore precoce
 - Portatore sano (infezione asintomatica)

Durata dell'eliminazione del virus



- Il tempo stimato di eliminazione del RNA virale varia tra 45.6 giorni per i tamponi naso-faringei a 46.3 giorni per le feci in casi in casi di media gravità e da 48.9 giorni per i tamponi naso-faringei a 49.4 giorni nei casi severi.
- Nella pratica si osservano positività per l'RNA virale persistenti anche oltre i due mesi, sono infettivi?

Mild cases, n = 43

Severe cases, n = 6

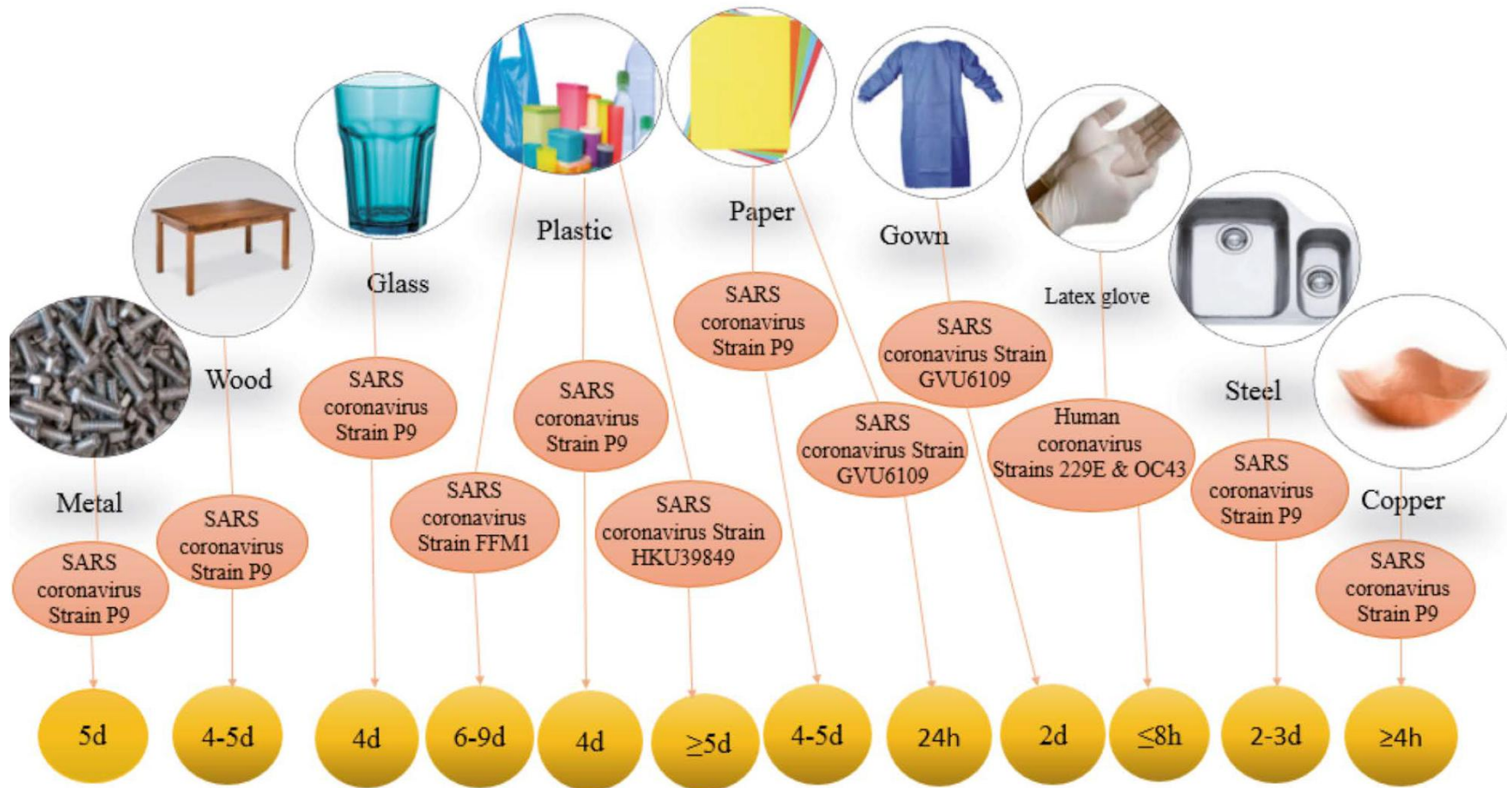
Specimens	Median (95% CI)	95th percentile (95% CI)	Median (95% CI)	95th percentile (95% CI)
Throat swab	15.6 (11.8–20.7)	32.8 (25.9–42.3)	33.9 (24.2–47.3)	53.9 (39.4–81.7)
Sputum	20.0 (14.1–27.0)	43.7 (33.6–60.4)	30.9 (23.5–39.1)	44.7 (36.3–58.0)
Nasopharyngeal swab	22.7 (18.8–27.5)	46.3 (39.0–55.2)	33.5 (25.7–42.7)	49.4 (38.4–68.5)
Feces	24.5 (21.2–28.3)	45.6 (40.0–52.8)	32.5 (26.3–39.1)	48.9 (41.3–59.7)

Persistenza dei Coronavirus

Type of surface	Virus	Strain / isolate	Inoculum (viral titer)	Temperature	Persistence	Reference
Steel	MERS-CoV	Isolate HCoV-EMC/2012	10^5	20°C	48 h	[21]
				30°C	8–24 h	
	TGEV	Unknown	10^6	4°C	≥ 28 d	[22]
				20°C	3–28 d	
				40°C	4–96 h	
	MHV	Unknown	10^6	4°C	≥ 28 d	[22]
				20°C	4–28 d	
				40°C	4–96 h	
	HCoV	Strain 229E	10^3	21°C	5 d	[23]
	HCoV	Strains 229E and OC43	5×10^3	21°C	2–8 h	[24]
Aluminium	SARS-CoV	Strain P9	10^5	RT	5 d	[25]
Metal	SARS-CoV	Strain P9	10^5	RT	4 d	[25]
Wood	SARS-CoV	Strain P9	10^5	RT	4–5 d	[25]
Paper	SARS-CoV	Strain GVU6109	10^6	RT	24 h	[26]
			10^5		3 h	
Glass	SARS-CoV	Strain P9	10^4	RT	< 5 min	[25]
			10^5		4 d	
			10^3		5 d	
Plastic	HCoV	Strain 229E	10^3	21°C	5 d	[23]
	SARS-CoV	Strain HKU39849	10^5	22°-25°C	≤ 5 d	[27]
PVC	MERS-CoV	Isolate HCoV-EMC/2012	10^5	20°C	48 h	[21]
				30°C	8–24 h	
	SARS-CoV	Strain P9	10^5	RT	4 d	[25]
	SARS-CoV	Strain FFM1	10^7	RT	6–9 d	[28]
	HCoV	Strain 229E	10^7	RT	2–6 d	[28]
	HCoV	Strain 229E	10^3	21°C	5 d	[23]
	HCoV	Strain 229E	10^3	21°C	5 d	[23]
	HCoV	Strains 229E and OC43	5×10^3	21°C	≤ 8 h	[24]
	SARS-CoV	Strain GVU6109	10^6	RT	2 d	[26]
			10^5		24 h	
Ceramic	HCoV	Strain 229E	10^4	21°C	1 h	[23]
			10^3		5 d	
Teflon	HCoV	Strain 229E	10^3	21°C	5 d	[23]

MERS = Middle East Respiratory Syndrome; HCoV = human coronavirus; TGEV = transmissible gastroenteritis virus; MHV = mouse hepatitis virus; SARS = Severe Acute Respiratory Syndrome; RT = room temperature.

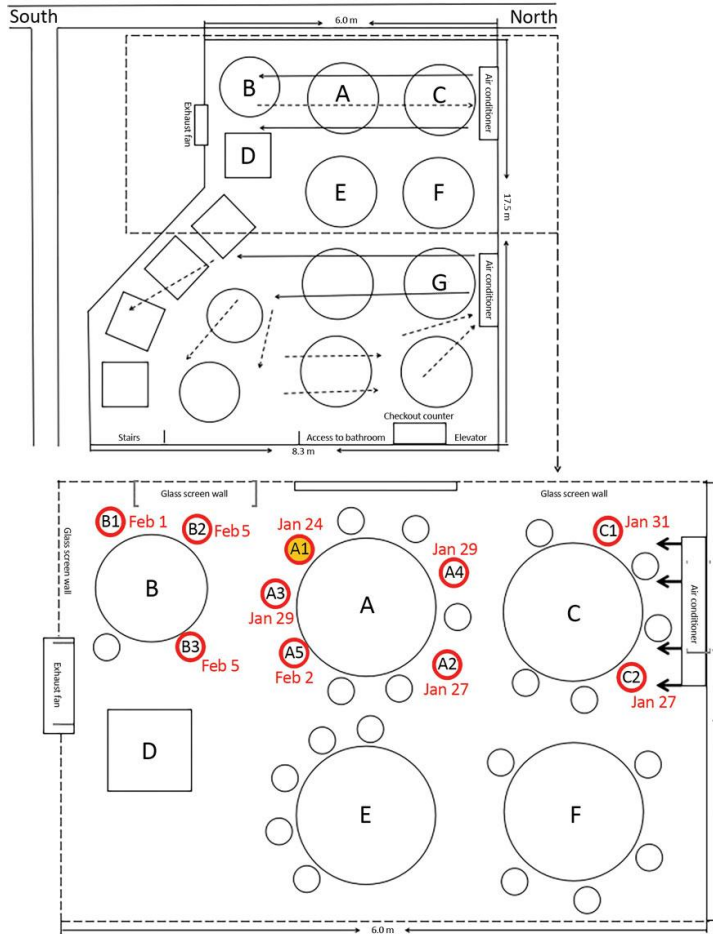
Persistenza del virus



Trasmissione dell'infezione

- La trasmissione interumana avviene
 - Via droplets
 - Via aerea con i nuclei delle goccioline
 - Via fecale orale (il virus è stato dimostrato nelle feci ma non è nota l'infettività per questa via)
- Il virus SARS-CoV2 è stato dimostrato nelle PM10 di un'area ad alta incidenza di COVID19
- Per SARS-CoV, la via aerea e il contatto stretto contribuiscono rispettivamente per il 21% e il 50% della trasmissione.

Trasmissione aerogena



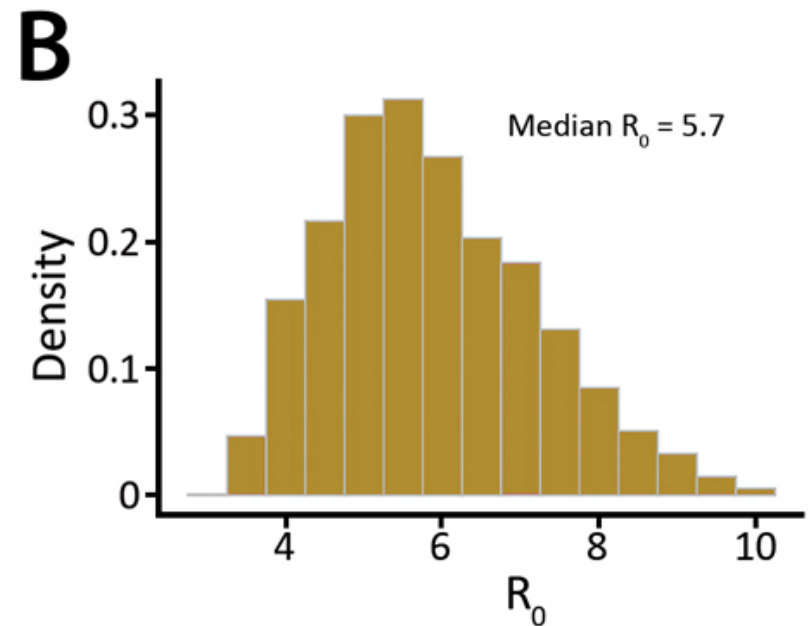
- Il soggetto A1 era asintomatico al momento del pranzo
- Questo studio dimostrerebbe l'importanza della trasmissione aerogena del virus in questo caso facilitata dall'impianto di condizionamento

Trasmissibilità

- R_0 o tasso di riproduzione basale è una misura della contagiosità di un agente infettivo ed è dato dal **numero medio di infezioni secondarie causate da ciascun individuo infetto.**
- R_t descrive il **tasso di contagiosità dopo l'applicazione delle misure atte a contenere il diffondersi della malattia.**

Trasmissibilità - R_0

- 2.28 (2.06–2.52),
(Zhang S, et al.)
- 2.2 (1.4–3.9) (Li Q, et al.)
- 2.53 (2.32–2.71) (Wu JT, et al.)
- 5.7 (95% CI 3.8–8.9)
(Sanche S, et al.)



R0 in Italia

- Valori iniziali di R0 in Italia
 - Lombardia 2,96,
 - Veneto 2,51,
 - Emilia Romagna di 2,84,
 - Toscana di 2,5,
 - Lazio di 3 e
 - Puglia di 2,61.

Stima del Rt per regione

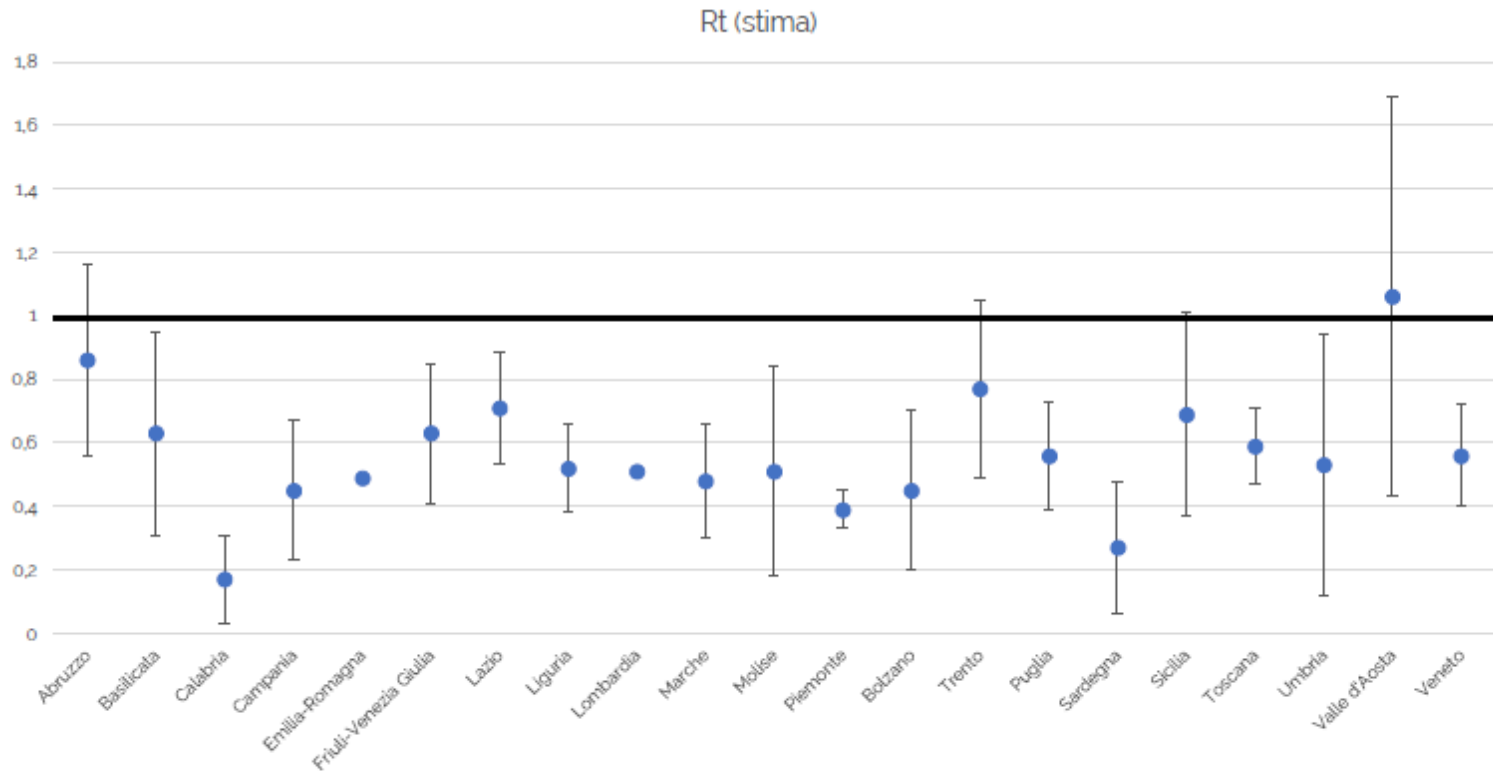
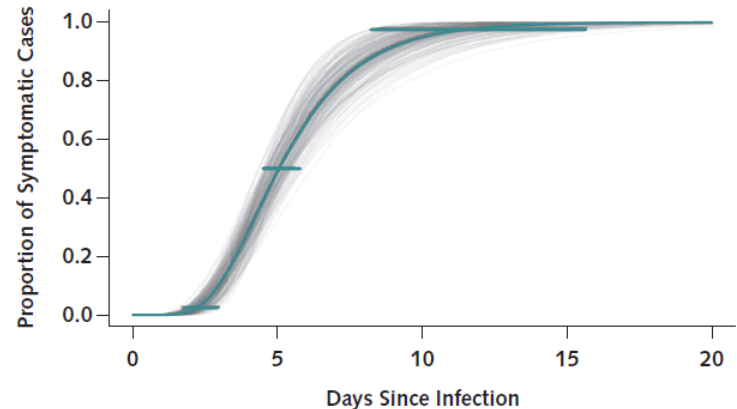


FIGURA 11. STIMA RIEPILOGATIVA DEL NUMERO DI RIPRODUZIONE NETTO R_t PER REGIONE SU DATI AL 19/5/2020. DOPO IL 3/5/2020 IL DATO È DA CONSIDERARSI INCOMPLETO

L'indice di trasmissibilità R_t attualmente è compreso tra 0,2 e 0,7

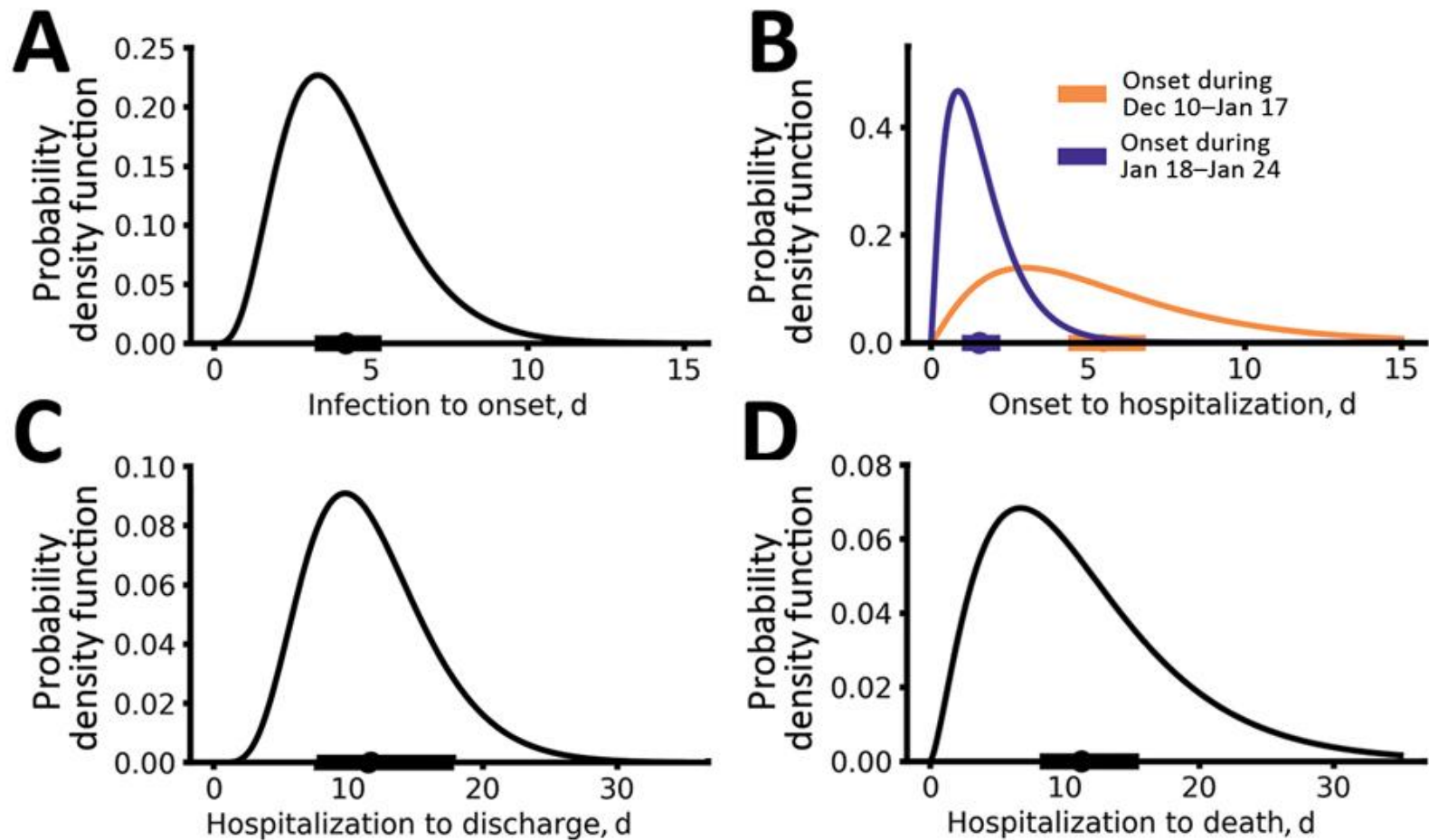
Periodo di incubazione

- 6.4 giorni (95% CI, 5.6 - 7.7 giorni), range 2.1 - 11.1 (Backer JA, et al.)
- 5.0 giorni (CI, 4.4 -5.6 giorni), range 2 -14 (Linton NM, et al.)
- 5.5 giorni(CI, 4.4 to 7.0 days), range 2.1 -14.7 (Lauer SA, et al.)
- 4.2 giorni (95% CI 3.5–5.1 giorni) (Sanche S, et al.)



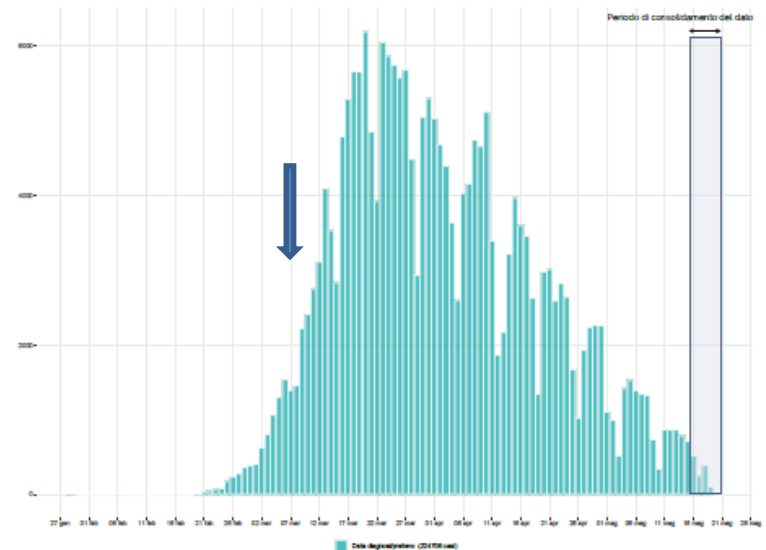
Le barre orizzontali rappresentano gli IC95 del 2.5mo 50mo e 97,5mo percentile della distribuzione dei periodi di incubazione

Gravità - letalità



Dipende da quando si calcola

- In fase di epidemia crescente i morti di un determinato giorno si riferiscono ai casi di circa due settimane prima



Gravità/letalità

- Come si misura la letalità
 - Case fatality ratio
 - Infection fatality ratio
- Es. Diamond Princess
 - CFR 2.6% (0.89-6.7)
 - IFR 1.3% (0.38-3.6)
- Dipende da
 - Età
 - comorbidità

	SARS	COVID-19 (95% CrI)
Overall	14-15%	1.38% (1.23-1.53)
Age, years		
0-4	0.0%	0.00260% (0.000312-0.0382)
5-9		
10-14		0.0148% (0.00288-0.0759)
15-17	0.5%	
18-19		
20-24		0.0600% (0.0317-0.132)
25-29	1.6%	
30-34		0.146% (0.103-0.255)
35-39	10.0%	
40-44		0.295% (0.221-0.422)
45-49	13.0%	
50-54		1.25% (1.03-1.55)
55-59	25.3%	
60-64		3.99% (3.41-4.55)
65-69	52.5%	
70-74		8.61% (7.48-9.99)
75-79	69.6%	
≥80		13.4% (11.2-15.9)

Gravità/letalità

TABELLA 1 - DISTRIBUZIONE DEI CASI DIAGNOSTICATI DAI LABORATORI DI RIFERIMENTO REGIONALE (N=227.204) E DEI DECESSI SEGNALATI (N=31.017) PER FASCIA DI ETÀ E SESSO

Classe di età (anni)	Soggetti di sesso maschile					Soggetti di sesso femminile					Casi totali				
	N. casi	% casi totali	N. deceduti	% del totale deceduti	Letalità %	N. casi	% casi totali	N. deceduti	% del totale e deceduti	Letalità %	N. casi	% casi per classe di età	N. deceduti	% deceduti per classe di età	Letalità %
0-9	981	53.1	1	25.0	0.1	867	46.9	3	75.0	0.3	1.851	0.8	4	0.0	0.2
10-19	1.654	49.9	0	0.0	0.0	1.658	50.1	0	0.0	0.0	3.312	1.5	0	0.0	0.0
20-29	5.521	43.8	10	71.4	0.2	7.070	56.2	4	28.6	0.1	12.599	5.5	14	0.0	0.1
30-39	7.868	44.9	41	67.2	0.5	9.654	55.1	20	32.8	0.2	17.528	7.7	61	0.2	0.3
40-49	12.312	41.9	198	73.9	1.6	17.076	58.1	70	26.1	0.4	29.390	12.9	268	0.9	0.9
50-59	18.963	46.5	850	77.2	4.5	21.836	53.5	251	22.8	1.1	40.803	18.0	1.101	3.5	2.7
60-69	18.290	60.0	2.461	76.5	13.5	12.175	40.0	758	23.5	6.2	30.466	13.4	3.219	10.4	10.6
70-79	18.883	57.5	5.926	70.2	31.4	13.940	42.5	2.521	29.8	18.1	32.824	14.4	8.447	27.2	25.7
80-89	16.357	40.8	7.190	56.7	44.0	23.715	59.2	5.501	43.3	23.2	40.080	17.6	12.691	40.9	31.7
>90	3.786	20.7	1.772	34.0	46.8	14.513	79.3	3.440	66.0	23.7	18.300	8.1	5.212	16.8	28.5
Età non nota	19	38.0	0	0.0	0.0	31	62.0	0	0.0	0.0	51	0.0	0	0.0	0.0
Totale	104.634		18.449		17,6	122.535		12.568		10,3	227.204		31.017		13,7

NOTA: LA TABELLA NON INCLUDE I CASI CON SESSO NON NOTO

Letalità e trasmissibilità di alcune malattie infettive

<i>Virus</i>	<i>Case Fatality Rate (%)</i>	<i>R₀</i>
2019-nCoV	3	1.4~5.5*
SARS-CoV	10	2~5
MERS-CoV	40	<1
Avian H7N9 (2013)	40	<1
H1N1 (2009)	0.03	1.2~1.6
H1N1 (1918)	3	1.4~3.8
Measles Virus	0.3	12~18
Ebola Virus	70	2.3
Small Pox Virus	17	5~7

Operatori sanitari

20,593 casi si sono verificati in
operatori sanitari.

165 sono i morti

Come si previene?

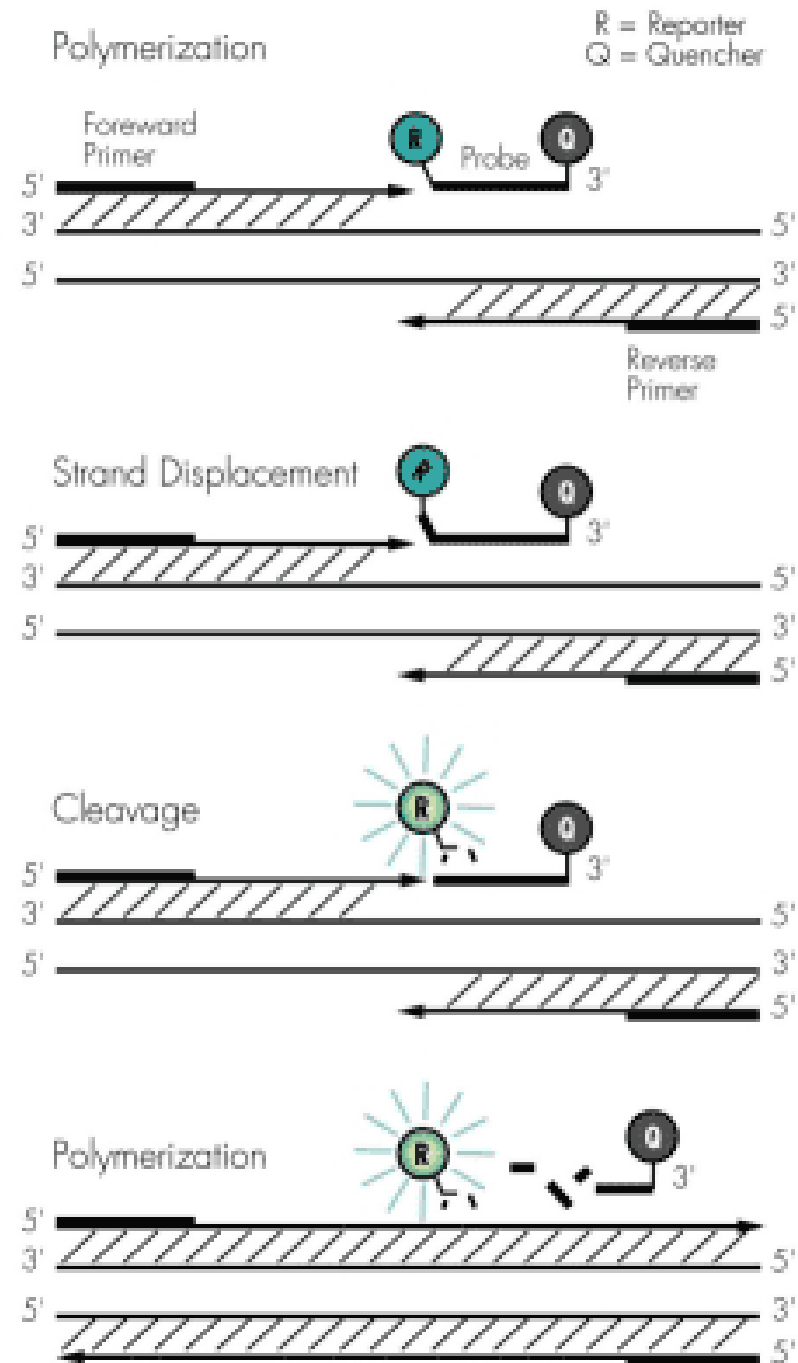
- ~~Cura efficace~~
- ~~Vaccini~~
- Misure tradizionali di prevenzione primaria delle malattie infettive
 - Notifica
 - Accertamento diagnostico
 - Isolamento degli infetti – quarantena degli esposti

Notifica

- Secondo quanto stabilito dal Regolamento Sanitario Internazionale, devono essere segnalati tutti i casi che corrispondono alla definizione di caso entro 24 ore dalla rilevazione.

Accertamento diagnostico con metodi molecolari

Real Time PCR

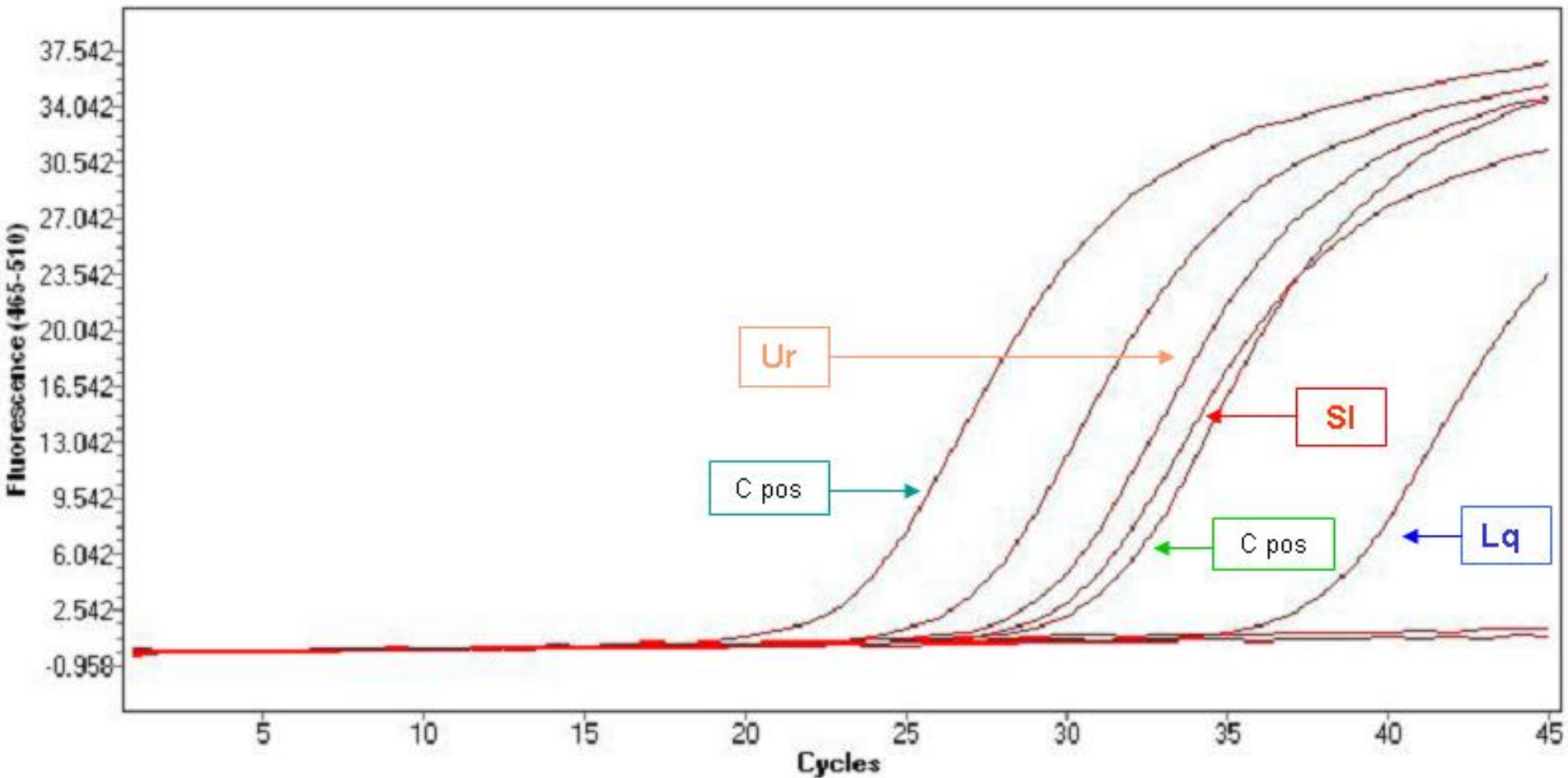


1996 – Gibson UE, Heid CA, Williams PM.

A novel method for real time quantitative RT-PCR.

Genome Res. 1996; 6: 995-1001.

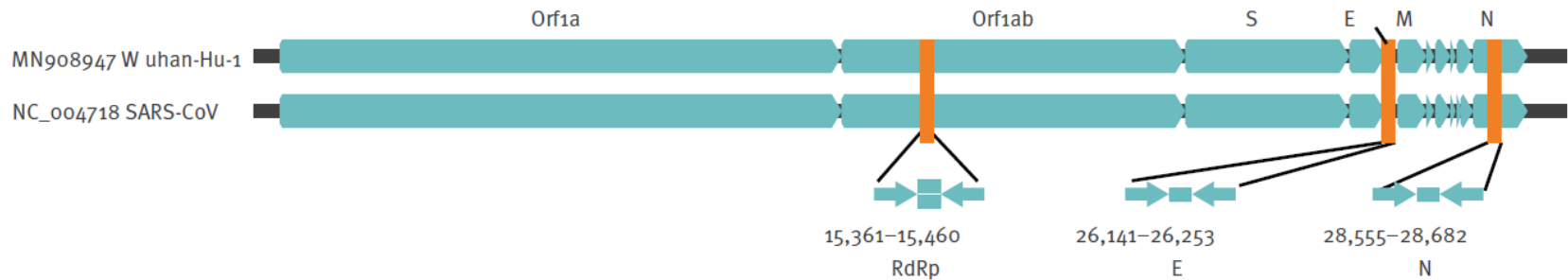
Tecniche molecolari



Sequenze

- La prima sequenza è stata resa disponibile il 10 gennaio 2020

Protocolli molecolari pubblicati sul sito WHO



E: envelope protein gene; M: membrane protein gene; N: nucleocapsid protein gene; ORF: open reading frame; RdRp: RNA-dependent RNA polymerase gene; S: spike protein gene.

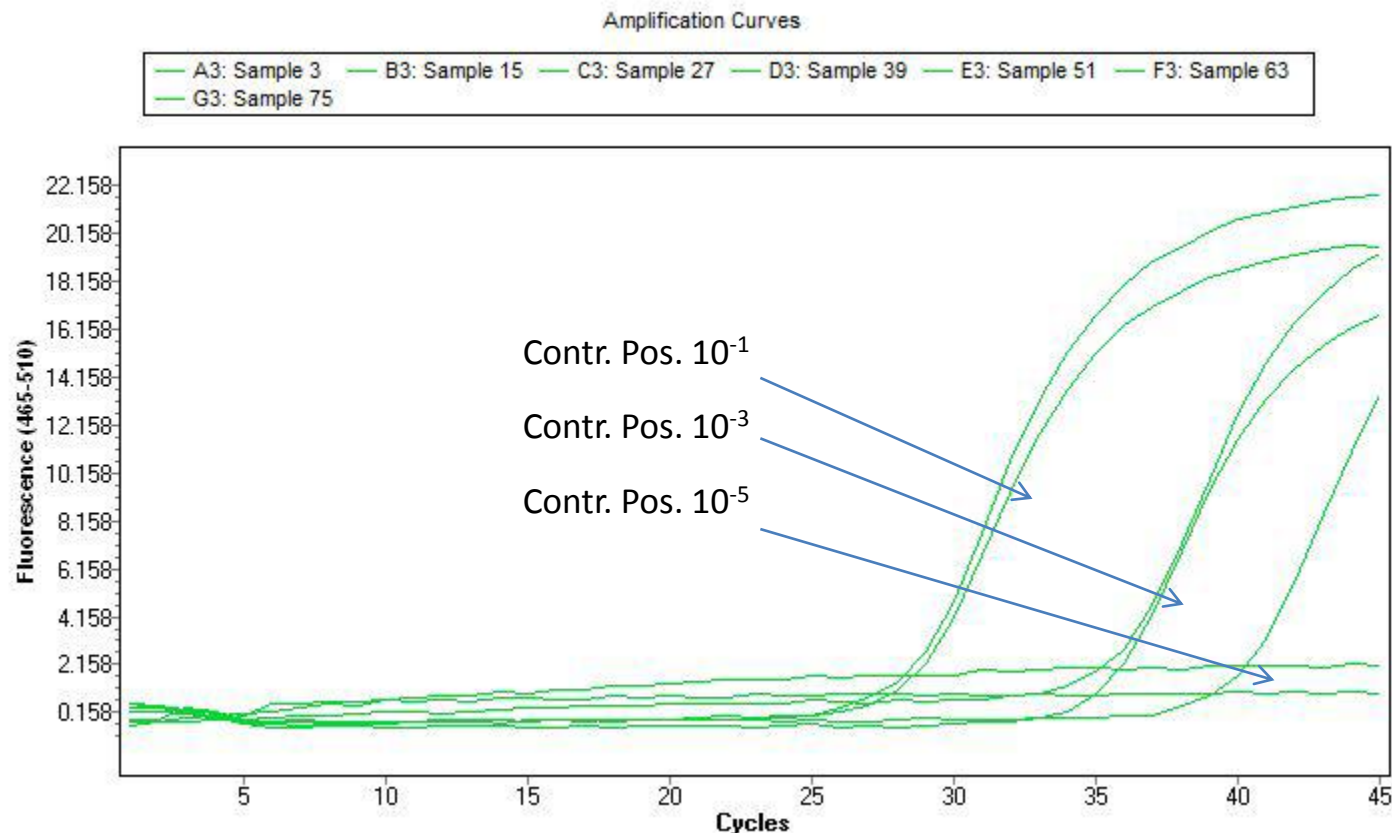
Summary table of available protocols

Country	Institute	Gene targets
China	China CDC	ORF1ab and N
Germany	Charité	RdRP, E, N
Hong Kong	HKU	ORF1b-nsp14, N
Japan	National Institute of Infectious Diseases, Department of Virology III	Pancorona and multiple targets, Spike protein
Thailand	National Institute of Health	N
US	US CDC	Three N primers, RdRP

Laboratorio di Trieste

- L'UCO Igiene si è subito attivata per dotarsi dei reagenti necessari per attivare la diagnostica molecolare di 2019-nCoV basata su uno dei primi protocolli pubblicati sul sito OMS (protocollo Corman-Drosten pubblicato in data 17/01/2020),
- Ordine dei primers/sonde effettuato il 23/01/2020
- Reagenti ricevuti tra il 3 e il 4 febbraio
- Il 4 febbraio viene effettuato un test di prova per valutarne le prestazioni.

Test di screening protocollo Corman (test in house reattivi ordinati da TS)



Il giorno 5 viene accettato ed analizzato il primo campione da TS, il giorno 6 il secondo da UD.

Accertamento diagnostico di SARS-CoV2

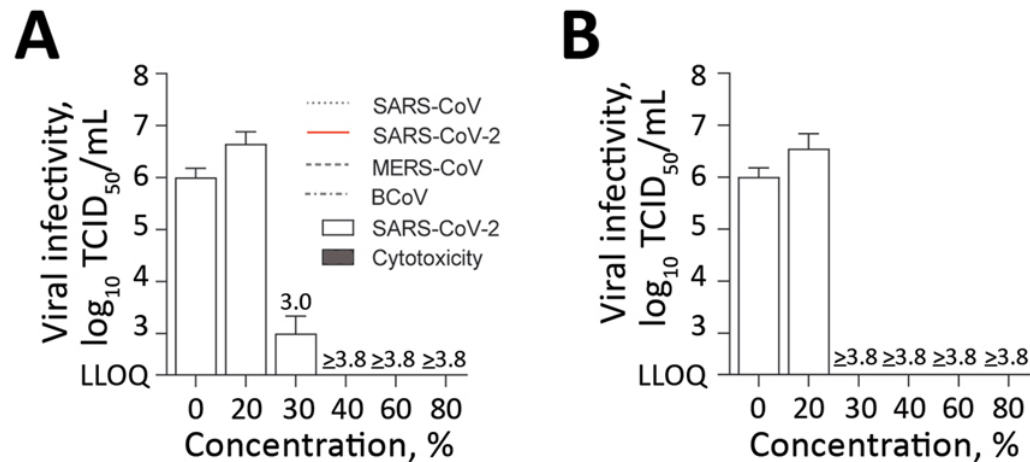
Metodi molecolari

- Qual è il campione migliore?
 - Tampone naso-faringeo
 - Escreato
 - BAL
- Qual è il momento migliore per raccogliere il campione?
- Per quanto tempo il virus viene eliminato?
- La variabilità genetica condiziona l'accuratezza dei test?

Sierologia

- Le IgM sono predittive di infettività?
- Le IgG sono indicative di immunità/protezione?
- I test rapidi sono utili?
- Quando fare i test sierologici?
- Che informazioni possono dare?

Inactivation of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 by WHO-Recommended Hand Rub Formulations and Alcohols



- La formulazione I WHO (A) consiste di etanolo 80% (wt/wt), glicerolo 0.725% (vol/vol), e perossido di idrogeno 0.125% (vol/vol).
- The formulazione II WHO modificata contiene 2-propanol 75% (wt/wt), glicerolo 0.725% (vol/vol), glicerolo
- Entrambe sono in grado di inattivare il virus in 30" anche alla concentrazione del 30%

Lockdown

