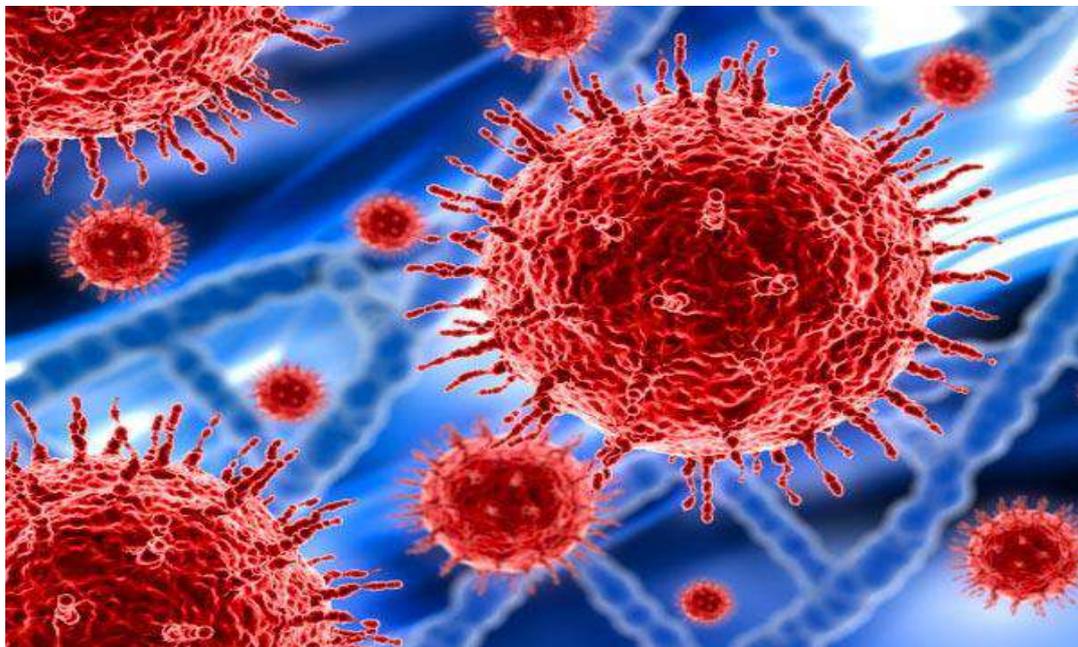


L'INFEZIONE DA VIRUS SARS-COV-2

UNA GUIDA PER IL PEDIATRA DI FAMIGLIA



(Immagine dal sito dell'Ordine Nazionale dei Biologi)

REDAZIONE: Gruppo COVID-19 Federazione Italiana Medici Pediatri (FIMP), Sezione di Napoli
Coordinamento: Antonio D'Avino – Patrizia Gallo
(info@fimnapoli.it)

Gruppo COVID-19 FIMP Napoli: P. Gallo, L. Cioffi, R. de Franchis, S. Iasevoli, R. Limauro, V. Memoli, S. Russo, E. Farris, C. Apicella, A. Fontanella, N. Gasparini, A. De Prosperis, A. E. Marigliano, R. Buonavolontà, F. Carlomagno, A. D'Avino, G. Coppola, P. Cortese, M. De Giovanni, L. Bozza, A. D'Onofrio, G. Vallefucio, D. Vicedomini, C. Sannino.

Con l'amichevole collaborazione dei Prof. G. Tajana e P. Palestini.

(Il documento sarà sottoposto a revisioni in base agli aggiornamenti resi noti dalla letteratura scientifica.

Publicato su www.fimnapoli.it

PERCHE' UNA GUIDA PER I PDF?

Cari amici,

ricorderemo il 2020 come l'anno più impegnativo per la Pediatria di libera scelta, un anno di grandi angosce, di preoccupazioni e di tensioni per l'intero Paese. Il COVID-19 ci ha imposto una riflessione profonda e ci ha spinto a strutturare una guida, elaborata dal Centro Studi Scientifico della Fimp Napoli, che si propone di dare risposte concrete e soluzioni fattibili ai problemi che tutti i colleghi si trovano e si troveranno ad affrontare.

Consentitemi un ringraziamento particolare a Patrizia Gallo, coordinatrice del Centro Studi Scientifico, e ai tanti colleghi che hanno collaborato con lei, lavorando a Pasqua, il 25 aprile ed anche il giorno della Festa dei Lavoratori, pur di completare il manuale nei tempi previsti.

Al cospetto di un virus che ha fatto da pochissimo la sua comparsa è fondamentale poter contare su evidenze scientifiche indiscutibili, ma anche fornire ai Pediatri territoriali un agile strumento di lavoro e di organizzazione degli studi professionali.

Questa guida vuole essere un supporto concreto per la nostra attività quotidiana, attraverso la trattazione sia di aspetti molto tecnici, come quello della struttura, della replicazione e dell'incubazione del virus, dei sintomi che quest'ultimo determina, sia di questioni di grande utilità pratica.

Tra le domande alle quali si cerca di dare una risposta ce ne sono alcune che rivolgono lo sguardo ai nostri piccoli assistiti: "Come possiamo formare ed informare le famiglie alla riduzione del rischio per SARS-CoV-2?", e ancora "Quali sono le norme comportamentali che devono segnare il passaggio dalla fase 1 (contenimento) alla Fase 2 (riapertura)?" . Viene affrontato il tema dei dispositivi di protezione individuale che il Pediatra di libera scelta dovrà usare e le procedure per disinfettare e sterilizzare lo studio. Una guida di facile consultazione, insomma, per navigare nelle turbolente e poco conosciute acque nelle quali siamo finiti. Superata l'emergenza pandemica, dobbiamo essere consapevoli che il nostro modo di lavorare cambierà profondamente e che i modelli organizzativi di cui si parla da oltre un decennio dovranno essere rimodulati, alla luce dei nuovi scenari epidemiologici che si prospetteranno; la telemedicina e nuove modalità di comunicazione entreranno prepotentemente nel nostro vissuto lavorativo quotidiano.

Sono convinto che la Pediatria di famiglia, ed il territorio più in generale, stia svolgendo un ruolo fondamentale ora, che il virus si è diffuso in tutta la popolazione, e svolgerà una funzione essenziale soprattutto dopo, quando occorrerà minimizzare l'impatto della pandemia.

In attesa che una terapia farmacologica risolutiva o, meglio, un vaccino possano riportarci alla vita ...normale ...di sempre.

Comunque, sono sicuro che ... andrà tutto bene!

*Antonio D'Avino
Segretario Provinciale FIMP Napoli*

UNA GUIDA APERTA PER I PDF

Questa Guida è nata un pò in risposta alle richieste di organizzazione dei Pediatri di Famiglia emerse dalle chat telefoniche e dagli incontri sulle piattaforme telematiche, dalle necessità di saturare conoscenze da mettere a disposizione dei nostri pazienti, dai continui interrogativi che ciascuno di noi si pone a proposito della Pandemia da SARS-COV-2 , una condizione che, pur attesa dai tempi del virus SARS del 2003, ci ha trovati impreparati, sprovvisti della formazione professionale per affrontare una Pandemia e preoccupati per l'evoluzione epidemiologica della malattia da Virus SARS-COV-2, la COVID-19.

Doveva essere un piccolo fascicolo di pronto uso per il PDF. Ma le tante diverse angolazioni da approfondire, sia dal lato scientifico che dal lato sindacale, ne hanno fatto un vero e proprio manuale da consultare per le più diverse necessità di approccio professionale.

Ciò che ne fa qualcosa di diverso da molti altri manuali che sono presenti sullo stesso argomento è sicuramente la completezza di inquadramento ma soprattutto la redazione ad opera di Pediatri di Famiglia, il Gruppo di lavoro COVID-19 della FIMP NAPOLI, che ha risposto con entusiasmo alla stesura di questa Guida. Nel ringraziarli di cuore spero che questo sia il primo di tanti progetti insieme. Ci auguriamo che le informazioni presenti nella Guida siano di supporto per tutti. Sarà un manuale aperto, nel senso che le informazioni in esso presenti saranno di volta in volta aggiornate alla luce dei velocissimi nuovi apporti della letteratura scientifica e della legislazione regionale e nazionale. Consentitemi di ringraziare il Prof.Tajana, che con la sua infinita esperienza e disponibilità, ci ha fornito indicazioni che hanno consentito di rendere questa guida EFFICACE per il Pediatra di Famiglia in trincea.

Un grazie affettuoso alla nostra eccellente Segreteria, con le Sig.re Angela e Roberta, infaticabili, efficientissime, che lavorano sempre con garbo e gentilezza e mai, dico mai, oppongono un rifiuto, anche ai progetti più assurdi e irrealizzabili.

Patrizia Gallo
Coordinatore Centro Studi Scientifico FIMP Napoli

COSA CERCHI IN QUESTA GUIDA?

SE CERCHI NOTIZIE SCIENTIFICHE, NELLA PRIMA PARTE

TROVERAI *(selezionando l'argomento nell'indice, il documento si aprirà al capitolo scelto):*

A. IL VIRUS SARS-COV-2: STRUTTURA, REPLICAZIONE, INCUBAZIONE, SINTOMATOLOGIA E CLINICA NELL'ADULTO E NEL BAMBINO (P. GALLO)	6
B.LA DIAGNOSTICA DELLA COVID-19 : IL LABORATORIO E I TEST DIAGNOSTICI (L.CIOFFI)	16
C. COME CAMBIA LA DIAGNOSTICA PER IMMAGINI NELL'INFEZIONE DA SARS-COV-2 ? (L. CIOFFI)	29
D. QUAL È IL DANNO ANATOMOPATOLOGICO NELLA COVID-19? (G.TAJANA)	37
E.QUALI COMORBIDITÀ NEL BAMBINO CON COVID-19 SEVERO? (L. CIOFFI, R. DE FRANCHIS, S. IASEVOLI, R. LIMAURO, V.MEMOLI)	98
F. QUALE TERAPIA NEL BAMBINO CON COVID-19 ? (L. CIOFFI)	104
G. INQUINAMENTO AMBIENTALE E MAGGIORE DIFFUSIONE DI SARS-COV-2: ESISTE UNA POSSIBILE CORRELAZIONE ? (P.PALESTINI, S.RUSSO)	112
H. QUALI PROBLEMATICHE DALLA MISURA DELL'ISOLAMENTO SOCIALE DA SARS-COV-2 PER I NOSTRI BAMBINI? (E. FARRIS, P. GALLO)	119
I. FLOW CHARTS DI ORIENTAMENTO DIAGNOSTICO E TERAPEUTICO (C. APICELLA, L. CIOFFI, R. DE FRANCHIS, A. FONTANELLA, N. GASPARINI)	124

**SE CERCHI NOTIZIE DI ORGANIZZAZIONE DI STUDIO E TUTELA
DEL PDF, NELLA SECONDA PARTE TROVERAI (selezionando l'argomento
nell'indice, il documento si aprirà al capitolo scelto):**

J. COME POSSIAMO FORMARE ED INFORMARE LE FAMIGLIE ALLA RIDUZIONE DEL RISCHIO PER SARS-COV-2? (A. DE PROSPERIS, A.E. MARIGLIANO, S. RUSSO).....	127
K. PREVENZIONE PER GLI OPERATORI SANITARI: DPI (DISPOSITIVI DI PROTEZIONE INDIVIDUALE) E SANIFICAZIONE DEGLI AMBULATORI (R.BUONAVOLONTÀ, F. CARLOMAGNO).....	132
L. METODI DI DISINFEZIONE / STERILIZZAZIONE (F. CARLOMAGNO, A. D'AVINO, G. TAJANA).....	144
M. COME DOVREMO RIORGANIZZARE LO STUDIO IN CORSO DI SARS-COV-2? (F. CARLOMAGNO, G. COPPOLA, P. CORTESE, R. DE FRANCHIS, M. DE GIOVANNI)	152
N. MA ESISTONO DEI PERCORSI TERRITORIALI? (L. BOZZA, A. D'AVINO, R. DE FRANCHIS, A. D'ONOFRIO, E. FARRIS, S. IASEVOLI, A.E. MARIGLIANO, G.VALLEFUOCO, D. VICEDOMINI)	163
O. IL PEDIATRA DI LIBERA SCELTA E LA GESTIONE DELLA PANDEMIA TRA TERRITORIO E OSPEDALE (II E III LIVELLO ASSISTENZIALE) (A. D'AVINO, G. VALLEFUOCO)	179
P. ISOLAMENTO. QUALI SONO LE NORME PER L'ISOLAMENTO DOMICILIARE FIDUCIARIO PER SARS-COV-2? E SE QUALCUNO VIOLASSE LE NORME DI ISOLAMENTO? (A. DE PROSPERIS, P. GALLO, C. SANNINO).....	181
Q. L'ENPAM TUTELA IL PDF NELL'ESERCIZIO DELLE SUE FUNZIONI IN CORSO DI PANDEMIA DA SARS-COV-2? CON QUALI MISURE? (A. D'AVINO, A. DE PROSPERIS, D. VICEDOMINI)	186

A. Il VIRUS SARS-CoV-2: struttura, replicazione, incubazione, sintomatologia e clinica nell'adulto e nel bambino (P. Gallo)



(Immagine dal sito POLIZIA DI STATO)

A1. Chi è il virus SARS-CoV-2 ?

A1. I Coronavirus sono una vasta famiglia di virus, noti per causare malattie all'uomo, appartenenti alla famiglia dei CORONAVIRIDAE con una singola catena lineare di RNA a polarità positiva di lunghezza tra gli 80 e 220 nm. La sottofamiglia Orthocoronavirinae della famiglia Coronaviridae è classificata in quattro generi di Coronavirus (CoV): Alpha-, Beta-, Delta- e Gamma Coronavirus. Il genere del β -Coronavirus è ulteriormente separato in cinque sottogeneri.

Fino alla fine del 2019 si conoscevano solo 6 specie di Coronavirus in grado di infettare l'uomo:

- Coronavirus umani comuni: HCoV-OC43 e HCoV-HKU1 (BetaCoronavirus) e HCoV-229E e HCoV-NL63 (AlphaCoronavirus); essi possono causare raffreddori comuni ma anche gravi infezioni del tratto respiratorio inferiore.
- Altri due Coronavirus umani (BetaCoronavirus) sono stati responsabili di gravi infezioni respiratorie nell'uomo: MERS-CoV (il coronavirus beta che causa la Middle East Respiratory Syndrome) e il SARS-CoV (il coronavirus beta che causa la Severe Acute Respiratory Syndrome) .

Il nuovo Coronavirus 2019-nCoV, che l'OMS ha deciso di chiamare SARS-CoV2, è il 7° Coronavirus che ha capacità di infettare la specie umana.

Isolato nell'uomo alla fine del 2019, dal confronto con le sequenze genetiche di coronavirus di diverse specie animali (due coronavirus dei pipistrelli condividono l'88% della sequenza genetica con quella del SARS-CoV-2) e dal confronto con SARS e MERS (con i quali SARS-CoV-2 condivide circa il 79% della sua sequenza genetica con SARS e il 50% con MERS) sembrerebbe che l'ospite di partenza sia il pipistrello. Come per SARS-CoV e MERS-CoV, si ipotizza che la trasmissione non sia avvenuta direttamente dal pipistrello all'uomo, ma che sia stata pipistrello-ospite intermedio (di specie animale) -uomo. Quale sia la specie che avrebbe consentito il trasferimento del virus all'uomo al momento non è noto.

Normalmente gli agenti biologici sono classificati in 4 classi (HAZARD) sulla base di :

- **Patogenicità**, intesa come capacità di dare malattia
- **Infettività**, intesa come capacità di colonizzare un altro organismo
- **Trasmissibilità**, intesa come capacità di passare all'uomo e alla comunità
- **Neutralizzabilità**, intesa come possibilità di prevenzione o trattamento

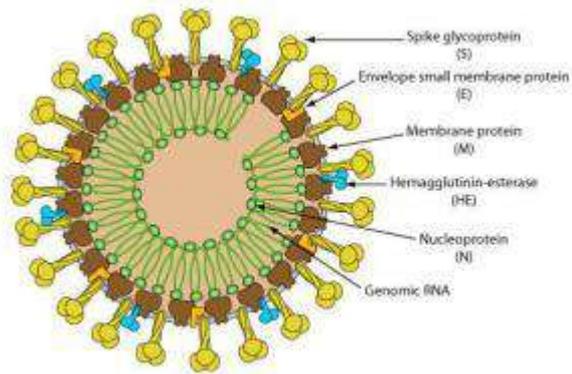
Classificazione degli agenti biologici in 4 classi di rischio (National Institute for Public Health and the Environment)

Classification	Ability to cause disease in humans (virulence)	Hazard to workers	Spread to the community (transmission)	Effective prophylaxis or (treatment)
Category 1	Unlikely	No hazard	Not applicable	Not applicable
Category 2	likely disease	Potential hazard	Unlikely	Available
Category 3	Likely severe disease	Serious hazard	Likely	Available
Category 4	Severe disease	Serious hazard	High risk	Not available

Il nuovo SARS COV 2 è rubricato tra i patogeni appartenenti al gruppo HAZARD-4 a massima pericolosità (di cui fa parte Ebola).

A2. Quale è la struttura del SARS-CoV-2 e come si realizza la replicazione virale?

Come tutti gli altri Coronavirus il genoma di SARS COV 2 codifica la Glicoproteina S (o **Spike Protein**) della corona, la **Envelope Small Protein** o proteina di rivestimento, la **Emoagglutinina** e altre proteine di matrice, la **Proteina del Nucleocapside** e altre proteine coinvolte nella risposta immune.



La spike protein è il bersaglio per gli anticorpi neutralizzanti e per i vaccini. È costituita da due subunità, S1 e S2. La sub-unità S1 contiene un recettore responsabile del legame con il recettore della cellula ospite. La sub-unità S2 contiene altri elementi fondamentali per la fusione di membrana. Il recettore della cellula ospite è l' ACE2 (Angiotensin-converting enzyme 2), un recettore

espresso sulla superficie delle cellule epiteliali di polmone, arterie, cuore, reni e intestino.

ACE2 fu molto studiato negli anni 2000 per il legame con la Spike protein del Coronavirus SARS COV. L'isolamento dal fluido di lavaggio bronco - alveolare di pazienti COVID-19 ha confermato che SARS-CoV-2 utilizza lo stesso recettore per entrare nella cellula ospite come SARS COV. (Zhou 2020). Il virus entra nelle cellule epiteliali alveolari umane mediante il legame ai recettori sulla superficie cellulare e qui si replica utilizzando i componenti cellulari. L'ACE 2 recettore fa parte di un complesso di regolazione legato al sistema **Renina – Angiotensina – Aldosterone** (SRAA) che regola il volume dei fluidi extracellulari, in particolare del volume sanguigno (ad esempio una emorragia o una disidratazione importante porta a una riduzione del volume sanguigno per l'attivazione del sistema SRAA). Si verificano in tal modo risposte nell'organismo che porteranno le cellule mioepiteliali dell'apparato juxtaglomerulare del rene a secernere Renina che trasforma l'angiotensinogeno (prodotto dal fegato e sempre circolante) in angiotensina1 e un enzima detto ACE (enzima convertitore dell'angiotensina) lo trasformerà in angiotensina II; questa si lega ai recettori AT1 provocando vasocostrizione, infiammazione, ritenzione di sodio e acqua, grazie all'azione sull'ormone aldosterone e aumento della pressione sanguigna. I recettori AT1 sono presenti a livello delle fibrocellule muscolari lisce delle arteriole, del rene, della zona glomerulare del surrene, del fegato, del polmone, del cervello, del cuore e dell'utero. Inoltre, l'Ang II è induttore di stress ossidativo attraverso il recettore AT1, che determina a lungo termine rimodellamento cardiovascolare e aterosclerosi, modulati dallo stress ossidativo cellulare. Il blocco del recettore AT1 porta perciò anche a un effetto anti-infiammatorio mediato dal recettore AT2.

A3. ACE Inibitori e Sartani possono essere rischiosi per lo sviluppo di una COVID 19 più aggressiva?

Il recettore AT2 e l'enzima ACE2 sono al centro di una disputa medica, con il sospetto che essendo ACE2 il recettore per il virus SARS-Cov2 l'utilizzo di farmaci come ACE inibitori e Sartani possa, tramite un meccanismo di sovra-espressione dei recettori, facilitare l'infezione del virus che così potrebbe dilagare inducendo una massiccia risposta infiammatoria. Uno studio sperimentale su animali di laboratorio dimostrerebbe che la sovra-espressione di ACE2 potrebbe incrementare la severità dell'infezione. Sulla base di report iniziali dalla Cina, e su successive evidenze che l'ipertensione arteriosa può associarsi ad un rischio aumentato di mortalità nei soggetti ricoverati per COVID-19, sono state fatte ipotesi su un potenziale effetto avverso dei farmaci ACE inibitori (

ACE i) o degli Antagonisti dei Recettori per l'angiotensina (ARBs). I social media hanno contribuito ad innescare sospetti di aumentato rischio di COVID-19 in pazienti in trattamento con Sartani e ACE inibitori. Ipotesi partita dalla osservazione che, come nella SARS, il virus SARS-COV-2 si leghi all' enzima ACE 2 per infettare le cellule e che i livelli di ACE2 sono aumentati in coloro i quali sono in trattamento con ACEi e ARBs. Per l'amplificazione di questi messaggi da parte dei social media i pazienti che assumevano questi farmaci per l'ipertensione, preoccupati, hanno in molti casi sospeso le terapie antipertensive senza che ci siano basi scientifiche a supporto. Al contrario, studi di laboratorio dimostrerebbero che potrebbero essere addirittura protettivi. (European Society of Cardiology2020).

In realtà vi sono evidenze molteplici sull'importanza di AT2 e ACE2 nella regolazione dell'infiammazione, sia tramite attivazione del recettore AT2 via Angiotensina II, sia tramite attivazione del recettore MAS, via Ang 1-7 prodotta da ACE2, con riduzione delle interleuchine infiammatorie quali Interleuchina 6, Il-5, TNF-alfa, NF-kB e altre ancora. Inoltre alcuni studi dimostrano che la carenza di ACE2 polmonare correla ad una peggiore prognosi poiché ACE2 e AT2 hanno un'azione protettiva sul polmone; in definitiva ACE2 non è solo il recettore per il virus ma anche il protettore del danno polmonare. Alcune evidenze fanno emergere che questi coronavirus SARS-CoV1 e Cov2 sono in grado di disregolare l'equilibrio del sistema protettivo del polmone formato dal bilanciamento fra ACE / AngII / AT1 e ACE2/ AT2 / Ang 1-7 e recettore MAS. Il polmone è un obiettivo facile per il virus SARS-CoV-2 non solo perché vi entra attraverso il respiro ma anche perché l'83% dei recettori ACE2 sono presenti nelle cellule epiteliali tipo 2 o pneumociti di tipo II che producono surfattante che impedisce agli alveoli di collassare. Anche l'epitelio intestinale è ricco di ACE2 il che potrebbe far pensare ad una trasmissione oro-fecale. Quindi ACE2 solubile, o molecole con attività biologica identica, se fornito in eccesso potrebbe sia neutralizzare una parte dei virus che ripristinare la via ACE2 interrotta dal SARS-CoV-2 stesso con l'effetto di regolare il sistema renina-angiotensina proteggendo così il polmone dal danno. Inoltre l'uso di alcune molecole, in via sperimentale, che interferiscono con il recettore ACE2, sembra migliorare la prognosi dell'infezione. Le attuali ricerche suggeriscono che i livelli di espressione del recettore ACE2, non differiscono tra i vari gruppi di età (Ped. Invest 2020, marzo). Quindi i bambini sono presumibilmente suscettibili tanto quanto gli adulti all'infezione ma si suppone che nel bambino potrebbe esserci una immaturità strutturale e funzionale dell'enzima e questo potrebbe spiegare la differenza di prevalenza dell'infezione . La maggior parte dei pazienti pediatrici ammalati non sviluppa manifestazioni cliniche severe negli stadi precoci della malattia.

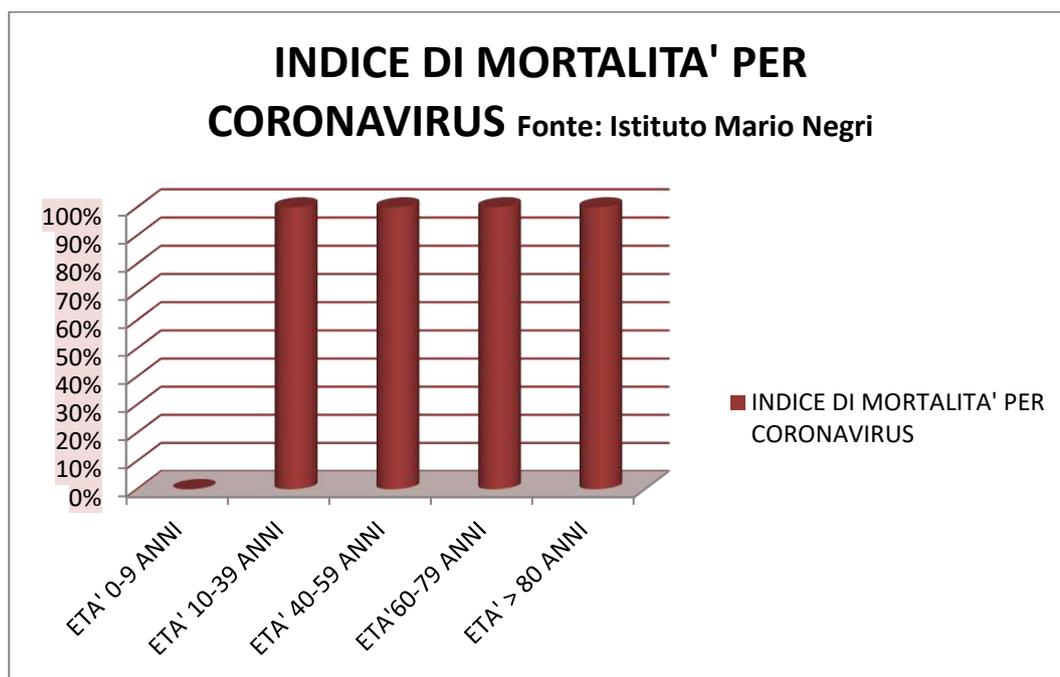
A4. Cosa sappiamo sull'Epidemiologia della malattia da SARS COV 2?

Il trend epidemiologico della malattia COVID-19 osservato è attribuibile a diversi fattori: un aumento della proporzione di pazienti immunocompromessi o comunque fragili, l'accentuata complessità assistenziale, gli spostamenti frequenti dei pazienti nella rete dei servizi, le difficoltà economiche dei servizi sanitari che pregiudicano la qualità dei servizi. Oggi le Pandemie costituiscono una grande sfida di salute pubblica, perché realizzano condizioni di grave numerosità di pazienti compromessi, con un elevato impatto sulla prognosi quoad vitam, sui costi sanitari e sono indicatori della qualità del servizio offerto ai pazienti ricoverati.

L'incidenza della malattia COVID-19 varia da sede a sede ed è influenzata dalla diagnosi principale del paziente, dalle patologie associate e dall'esposizione a procedure chirurgiche e/o diagnostico-terapeutiche. I dati raccolti fino ad ora in Cina, primo paese ad essere colpito, e diffusi poi anche dall'Organizzazione Mondiale della Sanità, indicano che l'infezione COVID-19 si è manifestata nel seguente modo:

- nell'81% delle persone si presenta con sintomi di lieve entità;
- nel 14% delle persone con sintomatologia grave;
- nel 5% dei casi in condizioni considerate critiche. (OMS FEB 2020)

Nel campione osservato in Cina, i bambini hanno rappresentato meno dell'1% dei casi e nel gruppo con età inferiore a 10 anni non sono stati segnalati casi di morte.



Questo fa ritenere che nei bambini l'infezione si presenti in maniera più lieve rispetto all'adulto e all'anziano. Non sappiamo ancora quale possa essere il motivo: sono state fatte alcune ipotesi, ma ancora non esiste una conferma definitiva.

I dati disponibili non consentono, però, di capire quanto frequentemente i bambini possono ammalarsi: è possibile che se i bambini hanno più spesso sintomi modesti o nessuna sintomatologia, i casi pediatrici siano sottostimati in misura maggiore di quanto non avvenga per gli adulti e gli anziani. La possibilità che nel bambino i sintomi siano moderati o assenti si sarebbe già verificato nel 2003 con l'infezione da SARS CoV e nel 2012 con la MERS COV durante le quali erano ugualmente presenti basso indice di infezione, sintomi moderati e prognosi buona. (Pediatr Infect Dis J 2014)

A5. Qual è la sintomatologia di COVID-19, come si trasmette SARS-CoV-2 e quali sono le potenziali fonti di contagio?

Sintomi comuni all'insorgenza della malattia sono:

- febbre [98%]
- tosse [76%]
- mialgia /affaticamento [44%]
- cefalea [8%]
- emottisi [5%]
- diarrea [6%]
- vomito
- ageusia
- anosmia
- raffreddore
- faringodinia

Il principale meccanismo di trasmissione del SARS-CoV-2 è quello per via aerea. In realtà la trasmissione interumana dei Coronavirus può avvenire:

» Per via aerea attraverso le droplets, goccioline di grandi dimensioni, e le goccioline di piccole dimensioni (droplet nuclei).

» Per contatto: esso può essere diretto (<2 m con soggetto infetto) o indiretto con superfici sulle quali vi è il virus (per identificare il tempo di permanenza del virus sulle superfici sono in corso ancora studi). Il virus è stato ritrovato per più di 3 ore in aerosol e fino a 72 ore su acciaio e plastica; su cartone e rame il Virus SARS-CoV-2 si è trovato fino a 24 e 4 ore rispettivamente (NEJM 2020).

» Per via oro-fecale.

Il bio-aerosol che viene rilasciato da una persona tende a rimanere sospeso intorno a questa prima di precipitare verso il basso ed a depositarsi sulle superfici dove può crescere e, a causa di perturbazioni, riprendere la forma di bio-aerosol.

- Contatto con bambini (pannolini, feci, fluidi biologici, ecc.)
- Contatto con soggetti potenzialmente infetti da pazienti portatori sani colonizzati al momento del ricovero, ammessi ai reparti, non sottoposti a misure di sorveglianza, di isolamento e di eradicamento del/i germe/i;
- da pazienti che hanno sviluppato l'infezione, nei confronti dei quali non sono state prese misure di isolamento da distanza o da contatto;
- dal contatto con superfici ed oggetti attraverso le mani;
- nel corso di procedure invasive, al momento dell'impianto e della manutenzione di un dispositivo.

A6. Qual è il periodo di Incubazione e cosa accade durante l'infezione da SARS-CoV-2?

Il periodo di incubazione della SARS-CoV-2 è di **1-14 gg**. Il tempo di incubazione potrebbe essere generalmente compreso tra 3 e 7 giorni e fino a 2 settimane.

Il periodo mediano di incubazione è stato stimato in **5,1 giorni** (IC al 95%, da 4,5 a 5,8 giorni) e il **97,5%** di coloro che sviluppano sintomi lo farà entro **11,5 giorni** (IC, da 8,2 a 15,6 giorni) dall'infezione. La media dell'incubazione della malattia **nei bambini è di 6,5 gg**, un po' di più della media riportata per gli adulti che si conferma di 5,4 giorni, ma sono riportati soggetti con incubazione **fino a 24 gg** (Guan et al). La **capacità di contagio (R0)** in ambito familiare è di **2.63 soggetti**. (She Jiatong et al)

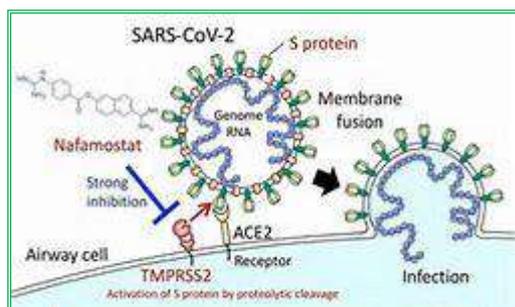
Queste stime implicano che, secondo ipotesi conservative, **101 casi su 10.000 (99° percentile) svilupperanno sintomi dopo 14 giorni di monitoraggio attivo o quarantena.**

Le spiegazioni ipotizzate per il più basso indice di SARS-CoV-2 nel bambino sono:

- a) i bambini sono meno esposti al virus per le diverse attività quotidiane
- b) i bambini non sono sottoposti spesso a tests di laboratorio perché hanno sintomi moderati
- c) si ipotizza per i bambini il modello della "trained immunity" legata a pregresse vaccinazioni ed infezioni.

La COVID 19 interessa inizialmente gola e naso, habitat nei quali il virus trova l'ambiente idoneo per replicarsi e produrre infinite copie di sé stesso a danno delle cellule della mucosa rinofaringea, per poi proseguire, se la risposta immunitaria non è adeguata ma è disregolata, verso altri organi.

La maggior parte dei pazienti criticamente ammalati non sviluppa manifestazioni cliniche severe negli stadi precoci di malattia. I pazienti adulti, inizialmente mostrano solo febbre moderata, tosse, o astenia. Le condizioni dei pazienti si deteriorano all'improvviso, nelle fasi successive della malattia. Si verificano rapidamente interessamento polmonare con una Sindrome da Distress Respiratorio Acuto (ARDS) e una Malattia Multi Organo (MOP) con interessamento di vasi, cuore, intestino, reni, occhi, cervello, che portano il paziente al decesso in breve tempo.



Alti titoli virali e successiva forte risposta infiammatoria citochimica e chemochinica sono correlate a elevata morbilità e mortalità da COVID-19. L'esperienza con SARS CoV e MERS ha mostrato che la riduzione della carica virale attraverso interventi nelle fasi precoci della malattia e il controllo della risposta infiammatoria attraverso immuno-modulatori sono misure efficaci a migliorare la prognosi dell'infezione da SARS-CoV-2.

Una risposta citochimica esagerata (Tempesta o Stormo Citochinico) è una risposta disregolata del sistema immunitario nei confronti di un invasore nuovo e percepito come altamente patogeno. Si

ritiene che lo Storm Citochinico possa essere una delle cause principali sia della veloce progressione clinica sia del veloce aggravamento. Gli studi clinici hanno confermato l'esistenza di uno storm citochinico per la COVID-19. Si sa che le citochine giocano un ruolo importante nella ben coordinata risposta immune innata che si verifica durante l'infezione virale. Le evidenze rilevanti da pazienti severamente ammalati con SARS COV 2 suggeriscono che la risposta pro infiammatoria gioca un ruolo nella patogenesi della COVID 19. Il rilascio di **citochine e chemochine** si verifica nelle cellule dell'epitelio respiratorio, cellule dendritiche e macrofagi, nello stadio precoce dell'infezione da SARS COV 2. Successivamente le cellule secernono bassi livelli di interferoni antivirali (IFNs) ed elevati livelli di **citochine pro infiammatorie, IL1 β e IL-6, tumor necrosis factor (TNF) e chemochine CCL-2, CCL-3 e CCL-5** (Journal of Infection 2020).

L'apoptosi delle cellule endoteliali ed epiteliali danneggiano il microcircolo e la barriera cellulare alveolare epiteliale e causano edema vascolare ed alveolare.

Gli adulti con COVID-19 di solito mostrano una significativa e progressiva diminuzione nel numero assoluto dei linfociti periferici nello stadio precoce della malattia.

Per i linfociti T si verifica una **diminuzione sia dei linfociti CD4 che dei CD8** e il rapporto neutrofili/linfociti è il primo indicatore per lo sviluppo di una malattia COVID-19 severa, suggerendo che SARS-CoV-2 possa consumare i linfociti, il che potrebbe spiegare la rapida proliferazione del virus nei primi stadi della malattia. I casi severi, negli adulti, progrediscono tra i **7 e 10 gg** dall'insorgenza della malattia, a causa della replicazione rapida del virus, all'infiltrazione infiammatoria cellulare, e ad un aumento della risposta pro infiammatoria di citochine e chemochine che innescano una sindrome da distress respiratorio acuta (ARDS) con un fatale danno polmonare. **Nel bambino la conta dei bianchi e la conta assoluta dei linfociti sono di regola normali, e raramente si verifica riduzione dei linfociti**, cosa che suggerisce una ridotta disfunzione immunitaria dopo l'infezione da SARS COV 2. Una delle ipotesi che potrebbe spiegare la moderata espressione della SARS-CoV-2 nel bambino potrebbe essere quella della "**trained immunity**". Il nuovo modello della trained immunity si riferisce al pregresso uso di alcuni vaccini (tipo il vaccino di Calmette –Guerin) e alla precedente esposizione a virus del tipo influenzale, i quali indurrebbero l'immunità innata a generare una memoria immunitaria (Cell Host & Microbe 2019). Inoltre la gran parte, se non tutti i bambini, ricevono una regolare immunizzazione nei primi anni di vita e successivamente durante l'infanzia e l'adolescenza. In conclusione , capire il ruolo della popolazione pediatrica e la dinamica di trasmissione dell'epidemia è importante, poiché i bambini possono diventare gli " untori " nella fase di esplosione dell'epidemia. Ulteriori studi per svelare perché i bambini malati hanno una forma più lieve di malattia possono contribuire al futuro sviluppo dell'immunoterapia e dei vaccini per SARS-CoV-2.

A7. Cosa accade nel bambino?

Una malattia severa da SARS-CoV-2 nel bambino è rara. La sintomatologia è abbastanza simile all'adulto con :

- febbre [98%]
- tosse [76%]
- mialgia /affaticamento [44%]
- cefalea [8%]

- emottisi [5%]
- diarrea [6%]
- raffreddore
- vomito
- acroischemia (su quest' ultimo punto, che si è verificato molto frequentemente in bambini italiani, in assenza di altri sintomi, ci sono in corso studi di valutazione),

Uno studio del NEJM di marzo 2020 ha preso in considerazione 1391 bambini testati da fine gennaio a fine febbraio per SARS-CoV-2 ha identificato un totale di 171 bambini affetti da SARS-CoV-2, pari al 12,3%, con un'età media di 6,7 anni. Nel 41,5% di essi la febbre era il sintomo predominante, durata tutto il periodo della malattia, altri sintomi più frequenti erano tosse e faringite. 27 pazienti, pari al 15,8% non aveva alcun sintomo e 12 pazienti avevano segni radiologici di polmonite senza febbre. Solo 3 pazienti con condizioni patologiche preesistenti (idronefrosi, leucemia, intussuscezione) avevano richiesto terapia intensiva. La linfopenia era presente nel 3,5% dei casi. L'aspetto radiologico della polmonite era più comunemente " a vetro smerigliato".

Allo stato attuale la più ampia revisione di bambini con Covid-19 comprende 2143 soggetti in Cina. Di essi solo 112 (il 5,6%)avevano avuto una malattia severa (definita dall'ipossia), 13 bambini (0,6%) svilupparono una grave malattia polmonare o una MOP (malattia multiorgano) o un grave distress respiratorio. Solo 2 casi sono stati riportati durante l'epidemia cinese di bambini deceduti positivi per Sars Cov 2 (marzo 2020) e nessun caso in Italia, né nessun dato è stato riportato in letteratura da altri paesi. (Lancet Resp Med 2020)

In uno studio pubblicato su NATURE a marzo 2020 sono stati valutati 10 bambini senza sintomi ma positivi al SARS-CoV-2 (PCR REAL TIME TEST) .In 8 di questi bambini si aveva persistenza di positività al tampone rettale anche dopo la negativizzazione dei tamponi naso-faringei, facendo ipotizzare una trasmissione oro-fecale.

Bibliografia

1. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. Lancet 2020
2. The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China. Chin J Epidemiol 2020
3. Paules CI, Marston HD, Fauci AS. Coronavirus infections – More than just the common cold. JAMA 2020
4. 2019 novel coronavirus infection in a three-month-old baby JAMA 2020
5. Novel 2020 infection in hospitalized infants under 1 year of age in China. J Am Med Assoc 2020
6. First case of 2019 novel coronavirus infection in children in Shanghai.2020
7. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. Lancet 2020
8. First case of neonate infected with novel coronavirus pneumonia in China. Er Ke Za Zhi 2020
9. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts severe illness patients with 2019 Novel Coronavirus in the early stage. MedRxiv 2020

10. Innate and adaptive immune memory: an evolutionary continuum in the host's response to pathogens. Cell Host Microbe 2019
11. Cytokine Storm in COVID-19 and Treatment. Journal of Infection 2020

(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

B. La Diagnostica della COVID-19 : il Laboratorio e i Test diagnostici (L.Cioffi)

B1. Come si fa diagnosi di infezione da SARS-CoV-2?

La diagnosi virologica si attua praticando il tampone orofaringeo, nasale e/o il lavaggio bronco-alveolare o escreato.

I secreti biologici vengono testati con il metodo della RT-PCR (RNA transcriptasi inversa) che rivela gli acidi nucleici virali presenti. Caso confermato è quello di una persona con positività del tampone di laboratorio effettuata presso il laboratorio di riferimento dell'Istituto Superiore di Sanità per infezione da 2019-nCoV, indipendentemente dai segni e dai sintomi clinici.

La diffusione del virus nelle prime vie aeree è molto elevata durante la prima settimana di sintomi (con un picco medio di soggetti positivi di $7,11 \times 10^8$ Copie di segmenti RNA per tampone faringeo, nel 4° giorno di infezione).

Uno studio svolto dalla Commissione CDC cinese ha valutato la biodistribuzione di SARS-CoV-2 tra diversi tessuti di ricoverati con malattia coronavirus 2019 (COVID-19) diagnosticati in base ai sintomi e alla radiologia. Sono stati inclusi pazienti con campioni raccolti sulla base di indicazioni cliniche da 3 ospedali nelle province di Hubei e Shandong e Pechino, dal 1 gennaio al 17 febbraio 2020. I tamponi faringei sono stati raccolti dalla maggior parte dei pazienti da 1 a 3 giorni dopo il ricovero in ospedale. Sangue, espettorato, feci, urina, e campioni nasali sono stati raccolti durante la durata della malattia. La biopsia broncoalveolare con fibroscopio e lavaggio broncoalveolare sono stati campionati da pazienti con malattia grave o sottoposti a ventilazione meccanica. L' RNA è stato estratto da campioni clinici e determinato da rRT-PCR. Un valore inferiore a 40 è interpretato come positivo per RNA SARS-CoV-2. Sono stati raccolti 1070 campioni da 205 pazienti con COVID-19 che avevano un'età media di 44 anni (intervallo, 5-67 anni), il 68% era di sesso maschile. La maggior parte dei pazienti si è presentata con febbre, tosse secca e affaticamento; il 19% dei pazienti ha avuto una malattia grave. **I campioni ottenuti da lavaggio broncoalveolare hanno mostrato il più alto tasso di positivi (14 su 15, pari al 93%), seguiti dall'espettorato (72 su 104; 72%), tamponi nasali (5 di 8; 63%), biopsia bronchiale con fibroscopio (6 di 13; 46%), tamponi faringei (126 su 398; 32%), feci (44 di 153; 29%) e sangue (3 di 307; 1%). Nessuno dei 72 campioni di urine sono risultati positivi.** I valori soglia di tutti i tipi sono stati più di 30 ($< 2.6 \times 10^4$ copie/mL) ad eccezione dei tamponi nasali con un valore soglia medio di 24,3 ($1,4 \times 10^6$ copie/mL), che indica cariche virali più elevate. Venti pazienti sono risultati positivi da 2 a 6 campioni raccolti simultaneamente. L'RNA virale è stato rilevato in singoli campioni da 6 pazienti (campioni respiratori, feci o sangue), mentre 7 pazienti il virus era escreto nei campioni delle vie respiratorie e nelle feci (n 5) o sangue (n 2). Live SARS-CoV-2 è stato osservato in campione di feci di 2 pazienti che non avevano diarrea.

-Cosa dimostra questo studio?

Questo studio dimostra che nei pazienti affetti da SARS-CoV-2 i campioni prelevati dalle basse vie respiratorie sono più spesso positivi per il virus. È importante sottolineare che il virus vivo è stato rilevato nelle feci, quindi SARS-CoV-2 può essere trasmesso attraverso le feci. Una piccola

percentuale di campioni di sangue ha avuto risultati positivi del test PCR, suggerendo che l'infezione a volte può essere sistemica. Trasmissione del virus da parte di più percorsi possono aiutare a spiegare la rapida diffusione del virus. Inoltre, test di campioni provenienti da più siti può migliorare la sensibilità e ridurre i falsi negativi.

Due piccoli studi hanno segnalato la presenza di SARS-CoV-2 in tamponi anali, orali e sangue di 16 pazienti nella provincia di Hubei, e la carica virale in tamponi della gola e dell'espettorato in 17 casi confermati. I limiti di questi studi erano dovuti al fatto che alcune informazioni cliniche dettagliate disponibili, non potevano essere correlate con i sintomi o il decorso della malattia e che il numero di alcuni tipi di campioni era piccolo.

-Quali sono i campioni biologici nei quali è più elevata la positività per il SARS-CoV-2?

Un altro lavoro ha confrontato campioni respiratori inclusi tamponi nasali, tamponi faringei, espettorato e liquido di lavaggio broncoalveolare (BALF) raccolti dal CDC del Guangdong in pazienti con polmonite interstiziale da coronavirus COV2 (NPC), l'RNA virale è stato rilevato mediante RT-PCR. I risultati sono stati analizzati in combinazione con la data di raccolta del campione e le informazioni cliniche. Questi autori hanno dimostrato che **ad eccezione del lavaggio bronco alveolare (BALF), l'espettorato possedeva il tasso positivo più elevato (74,4% ~ 88,9%), seguito da tamponi nasali (53,6% ~ 73,3%) sia per i casi gravi che lievi nei primi 14 giorni dopo l'insorgenza della malattia (dao)**. Per campioni raccolti ≥ 15 dao, espettorato e tamponi nasali possedevano ancora un tasso positivo più elevato che variava da 42,9% ~ 61,1%.

Il tasso positivo dei tamponi faringei raccolti ≥ 8 dao era basso, specialmente in casi lievi. Gli RNA virali potrebbero essere rilevati in tutti i livelli del tratto respiratorio inferiore dei casi gravi, ma non nei casi lievi. Inoltre, scansioni TC (casi 02, 07 e 13) hanno mostrato una **polmonite virale tipica con opacità a vetro smerigliato**, mentre nessun RNA virale è stato rilevato nei primi tre o in tutti i campioni delle vie respiratorie superiori. Questi autori concludono che l'espettorato è più preciso per la diagnosi di laboratorio di NPC, seguito dai tamponi nasali. Il rilevamento di RNA virali nel lavaggio bronco alveolare (BALF) è necessario per la diagnosi e il monitoraggio dei virus nei casi più gravi: la TAC potrebbe essere un importante aiuto per la diagnosi di NPC. I risultati suggeriscono che i pazienti sospetti in particolare quelli con anamnesi di esposizione e sintomi clinici potrebbero non essere esclusi dall'aver una NPC nonostante l'RNA virale non sia stato rilevato nella parte superiore delle vie respiratorie. Da quando è stata dimostrata la trasmissione da uomo a uomo del 2019-nCoV dobbiamo prestare maggiore attenzione a queste persone, per non diffondere ulteriormente il virus. In tali circostanze, la TAC potrebbe essere importante nel compensare la diagnosi dei pazienti con NPC sebbene non siano presenti RNA virali rilevati nei campioni delle vie respiratorie superiori, le scansioni CT hanno mostrato la polmonite virale tipica legata al NPC. **Un'altra importante considerazione è che, durante il trattamento antivirale, anche se non rilevato l'RNA virale nel tratto respiratorio superiore, esso può essere ancora presente nei campioni BALF di alcuni pazienti.** Pertanto, il rilevamento dell'RNA virale nel BALF potrebbe essere necessario per il monitoraggio della diffusione virale, in particolare i pazienti in condizioni gravi.

È interessante notare che i campioni BALF dei casi gravi hanno un tasso positivo nel 100%, mentre al contrario, nessun RNA virale è stato rilevato nei campioni BALF nei casi lievi. Ciò suggerisce che la distribuzione virale è associato alla gravità della malattia. Ancora più importante, il virus in alcuni individui è trattenuto nel tratto respiratorio superiore e questo fatto merita maggiori chiarimenti.

-Quindi l'espettorato è più preciso per la diagnosi di laboratorio rispetto al tampone rino-faringeo?

Si, l'espettorato è più preciso per la diagnosi di laboratorio di NCP, seguito da tamponi nasali, mentre i tamponi della gola da soli non sono raccomandati per la diagnosi. **Il BALF è necessario per la diagnosi e il monitoraggio dei virus in casi gravi.** Inoltre, la TAC può servire da importante rimedio per la diagnosi di NPC.

Una importante considerazione ci viene da un lavoro pubblicato su NEMJ a Marzo 2020, gli autori hanno dimostrato che la trasmissione virale di SARS-CoV-2 avviene principalmente dopo i primi giorni di malattia ed è stata associata a modeste cariche virali nel tratto respiratorio nelle prime fasi, con cariche virali che hanno raggiunto il picco circa 10 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi. Inoltre hanno evidenziato che la carica virale che è stata rilevata nei pazienti asintomatici era simile a quello dei pazienti sintomatici, il che suggerisce la potenziale trasmissione dei pazienti con pochi sintomi. Quindi la trasmissione avviene nelle prime fasi dell'infezione e il rilevamento e l'isolamento dei casi potrebbero richiedere strategie diverse da quelle richieste per il controllo della SARS-CoV-2. Deve essere determinato in che modo la carica virale SARS-CoV-2 è correlata alle esigenze dei virus coltivabili. L'identificazione di pazienti con pochi o nessun sintomo e con livelli modesti di RNA virale rilevabile nell'orofaringe per almeno 5 giorni suggerisce che abbiamo bisogno di dati migliori per determinare le dinamiche di trasmissione e informare le nostre pratiche di screening.

B2. Cosa ci dice il laboratorio sul SARS-CoV-2?

Nelle fasi iniziali la conta dei GB è normale o tendente alla Leucopenia (25%), Linfopenia con CD4+ bassi (63%) ed elevazione delle AST, CPK e LDH. Nella maggioranza dei casi la Proteina C reattiva, ferritina ed IL-6 possono elevarsi con un'importante correlazione positiva con la severità della malattia. Non si riscontrano elevazione dei livelli di Procalcitonina (PCT). Una parte di pazienti gravi può inoltre presentare rialzo di troponina T (TnT)¹².

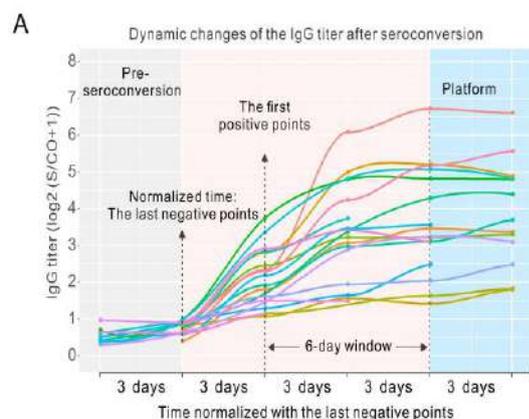
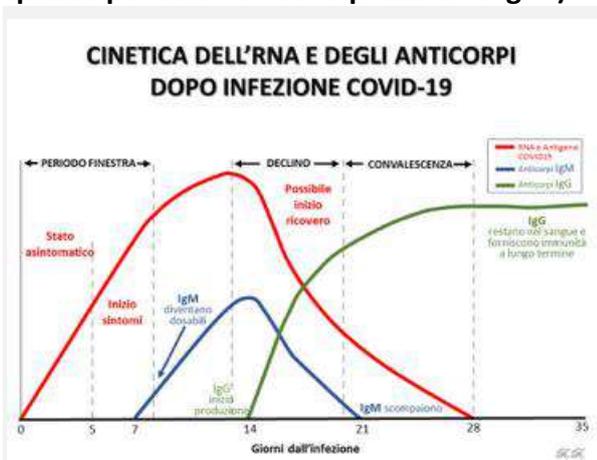
Come varia la risposta umorale NELLA COVID-19 ?

Premesso che al momento non è nota la cinetica temporale della risposta umorale contro il COVID-19, **i test immunologici rapidi per la determinazione qualitativa di IgM e IgG antiCOVID-19 non sono validi a scopi epidemiologici (rapida individuazione dei soggetti con COVID-19) in quanto permetterebbero di identificare solo casi in cui gli anticorpi si sono già sviluppati.** Utilizzando il database della sindrome respiratoria acuta SARS del laboratorio di Taiwan (SARS), alcuni autori hanno dimostrato la positivizzazione dell'anticorpo neutralizzante in relazione agli esiti clinici. Con un modello misto lineare, **l'anticorpo neutralizzante ha un picco tra la 5° settimana e la 8° settimana dopo l'inizio e diminuzione in seguito, con un'emivita di 6,4 settimane.** I pazienti con una malattia più lunga hanno mostrato una risposta anticorpale più bassa rispetto ai pazienti con una durata di malattia più breve ($p < 0,08$). Quando i primi responders sono stati confrontati con la maggior parte dei pazienti, che si sono sierconvertiti dopo la terza settimana, una piccola percentuale (17,4%) dei primi responders (anticorpo rilevabile entro 2 settimane) ha avuto una

morte più alta (29,6% contro 7,8%) (Fisher test esatto, $p = 0,004$), ha avuto un tempo di sopravvivenza più breve di "2 settimane" (Fisher test esatto, $p = 0,013$), e un'età probabile di circa 60 anni (Fisher test esatta, $p = 0,01$). I nostri risultati hanno implicazioni per comprendere la patogenesi della SARS e per la SARS ricerca e sviluppo di vaccini.

In un altro lavoro un totale di 535 campioni di plasma raccolti durante il periodo di ricovero da 173 pazienti sono stati testati per gli anticorpi contro la SARS-CoV-2. Il tasso di siero conversione per Ab totali, IgM e IgG è stato rispettivamente del 93,1% (161/173), dell'82,7% (143/173) e del 64,7% (112/173). Dodici pazienti rimasero sieronegativi per i test di Ab totali probabilmente a causa del fatto che i loro campioni furono tutti raccolti nelle fasi iniziali della malattia (10 prima del decimo giorno, gli altri due il giorno-11 e il 13 dopo l'esordio). La curva di siero conversione cumulativa ha mostrato che il tasso per Ab e IgM ha raggiunto il 100% circa 1 mese dopo l'inizio. **Il tempo mediano per la siero conversione di Ab, IgM e IgG era di 11, 12 e 14 giorni, separatamente. Complessivamente, la siero conversione di Ab è stata significativamente più veloce di quella di IgM ($p = 0,012$) e IgG ($p < 0,001$),** che probabilmente attribuita alla tecnica di sandwich a doppio antigene del test utilizzato che di solito mostra una sensibilità molto più elevata rispetto al saggio di cattura (IgM) e all'analisi indiretta (IgG). Nei raffronti dei tassi di siero conversione degli anticorpi tra pazienti critici e non critici, nessuno dei tre marcatori ha mostrato una differenza significativa. Nella prima fase della malattia entro 7 giorni dall'inizio, il test dell'RNA ha avuto la sensibilità più alta del 66,7%, mentre il titolo anticorpale presentava un tasso positivo del 38,3%. Tuttavia, la sensibilità degli Ab totali supera quella del test dell'RNA sin dall'ottavo giorno dall'inizio della malattia e ha raggiunto oltre il 90% nel dodicesimo giorno dopo l'esordio. Nei campioni di pazienti dall'8°-14° dopo l'esordio, la sensibilità di Ab totale (89,6%), IgM (73,3%) e IgG (54,1%) erano tutti superiori a quelli del test dell'RNA (54,0%, tabella 2). Tra i campioni di pazienti in fase successiva (giorno 15-39 dall'inizio), le sensibilità di Ab, IgM e IgG erano rispettivamente del 100,0%, 94,3% e 79,8%. Al contrario, l'RNA era rilevabile solo nel 45,5% dei campioni del giorno 15-39. Ulteriori analisi hanno dimostrato che nei pazienti con RNA non rilevabile nei campioni delle vie respiratorie raccolti durante il giorno 1-3, giorno 4-7, giorno 8-14 e giorno 15-39 dall'inizio, c'erano 28,6% (2/7), 53,6% (15/28), 98,2% (56/57) e 100% (30/30) avevano rispettivamente un tasso anticorpo rilevabile. **L'uso combinato dei test di RNA e Ab ha migliorato notevolmente la sensibilità della diagnosi patogena per i pazienti COVID-19 in diverse fasi.**

Infine, secondo la maggior parte dei lavori pubblicati le IgM cominciano a positivizzarsi entro 3-5 giorni dall'inizio della malattia, le IgG nella fase di convalescenza presentano un titolo quattro volte superiore rispetto a quello della fase acuta. Ecco perché il test rapido non può essere utilizzato fino a quando i sintomi non siano presenti da almeno 3 giorni (in quanto prima di questo periodo non sono presenti le IgM).



Il grafico sottostante, mostra una metanalisi di 7 lavori che misurano la presenza delle IgM e IgG con diverse metodiche comprese quelle dei test rapidi, come cards, point of care. Le prime due curve dimostrano l'andamento nel tempo degli anticorpi neutralizzanti il virus fatta sulla scorta delle acquisizioni per SARS CoV del 2003, Si vede come i due anticorpi aumentano molto probabilmente insieme e le IgM permangono mediamente per almeno 90 giorni mentre le IgG anche fino a due anni.



B3. Cosa sappiamo circa i test diagnostici per SARS-CoV-2?

Per quanto riguarda la sensibilità e la specificità dei tests rapidi la letteratura è attualmente **discordante**. In uno studio italiano condotto in un reparto di emergenza di un ospedale terziario del Nord Italia per convalidare VivaDiagTM COVID-19 IgM/IgG Rapid Test immuno analisi a flusso laterale (LFIA) per la diagnosi rapida di COVID-19. Complessivamente 110 soggetti sono stati testati per il test sierologico specifico di COVID19 presso il Policlinico Fondazione IRCCS San Matteo. Nel dettaglio, sono stati arruolati 30 volontari sani con un risultato negativo documentato per COVID-19 RT-PCR in campioni respiratori (M 11/F 19 mediana età 38,5, gamma 25-69 anni). Dieci di loro (33,3%) era stato infettato in passato con uno dei comuni OC43, 229E, HKU1, NL63 Coronavirus. Trenta pazienti con COVID-19 positivi (25 M/5 F mediani di età 73,5 anni 38-86 anni) ammessi al Dipartimento di Malattie Infettive o all'Unità di Terapia Intensiva sono stati testati come controlli positivi. Infine, le prestazioni di VivaDiagTM COVID-19 IgM/IgG Rapid Test LFIA sono state testate in 50 pazienti al loro primo accesso al pronto soccorso con febbre e sindrome respiratoria (34 M/16 F; età mediana 61,50 anni) confrontati con i risultati dello screening molecolare del tampone nasale considerando come controlli 30 volontari negativi.

Come previsto, tutti i 30 volontari negativi COVID-19 sono stati negativi sia per IgG che per IgM utilizzando il VivaDiagTM COVID-19 IgM/IgG Rapid Test. Non è stata rilevata alcuna reattività crociata in 10 soggetti con precedente infezione da altri coronavirus, a sostegno dell'elevata specificità del VivaDiagTM COVID-19 IgM/IgG Rapid Test LFIA. I campioni di siero sono stati ottenuti a 7 giorni (IQR 4-11) dopo il primo risultato positivo COVID-19 da 30 pazienti ricoverati in ospedale. Diciannove su 30 (63,3%) sono stati positivi sia per IgM che per IgG, 5/30 (16,7%) sono stati negativi sia per IgG che per IgM, 5/30 (16,7%) sono stati positivi deboli sia per IgM che per IgG e solo 1/30 (3,3%) è stato positivo per IgM e negativo per IgG. Pertanto, la sensibilità del test rapido era non ottimale. Una possibile spiegazione è il basso titolo anticorpale o una risposta umorale ritardata. Concentrandosi sui pazienti acuti arruolati al pronto soccorso, 12/50 (24%) negativo per COVID-19 alla RT-PCR. Di questi, 1 (8,3%) ha mostrato un risultato positivo per il Test Rapido VivaDiagTM COVID-19 IgM/IgG, mentre l'altro 11/12 (91,7%) risultato negativo. Dall'altro lato, 38 pazienti sono stati positivi per RT-PCR COVID-19. Di questi, solo sette (18,4%) ha mostrato una sierologia positiva

o debolmente positiva per IgM e/o IgG, mentre l'altro 31/38 (81,6%) risultato negativo . Pertanto, la sensibilità del VivaDiagTM COVID-19 IgM/IgG Rapid Test è stata del 18,4%, la specificità del 91,7%,. In contrasto con gli elevati livelli di sensibilità riportati in uno studio precedente fatto da un gruppo cinese con la stessa metodica, (sensibilità 87%, specificità 91 %) il VivaDiagTM COVID-19 IgM/IgG Rapid Test ha rivelato una sensibilità molto scarsa (meno del 20%).

Quindi in conclusione i dati a nostra disposizione dimostrano che nelle fasi iniziali dell'infezione (da tre a 7 giorni), le IgM/IgG possono essere al di sotto del limite di rilevazione dei test, che non essendo ancora ampiamente validati non possono essere utilizzati come unico criterio per diagnosi di COVID-19.

Bibliografia

1. -Evaluating the accuracy of different respiratory specimens in the laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of 2019-nCoV infections Yang Yanget all
2. -SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients NEMJLirong Zou, M.Sc. Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention Guangzhou, China Marzo 2020
3. -Neutralizing Antibody Response and SARS Severity
4. Mei-Shang Ho,* Wei-Ju Chen,* Hour-Young Chen,† Szu-Fong Lin,† Min-Chin Wang,† Jiali Di,†Yen-Ta Lu,‡ Ching-Lung Liu,‡ Shan-Chwen Chang,§ Chung-Liang Chao,¶ Chwan-Chuen King,§ Jeng-Min Chiou,* Ih-Jen Su,# and Jyh-Yuan Yang† Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 11, No. 11, November 2005
5. -Performance of VivaDiagTM COVID-19 IgM/IgG Rapid Test is inadequate for diagnosis of COVID-19 in acute patients referring to emergency room department Irene Cassaniti et all March
6. -Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. J Med Virol. 2020 Feb 27. doi: 10.1002/jmv.25727. [Epub ahead of print].
7. -Proposte per la gestione assistenziale dei pazienti COVID-19 in età perinatale, pediatrica e

(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

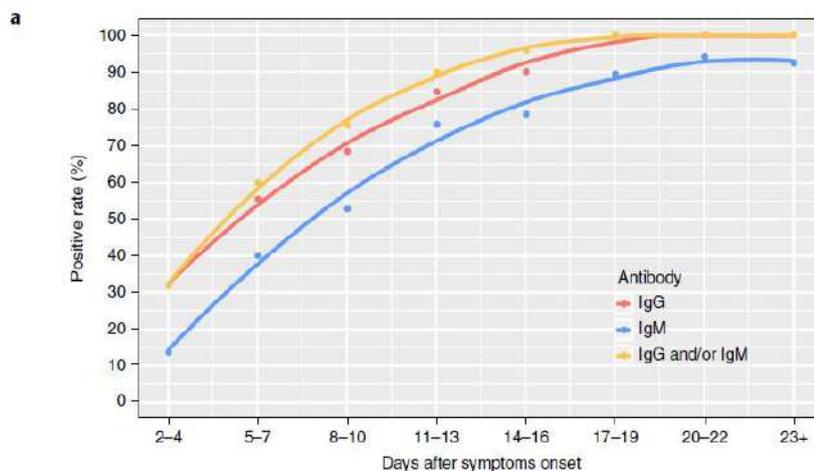
La Diagnosi Sierologica

(Integrazione del 27 maggio 2020)

LA SIEROCONVERSIONE

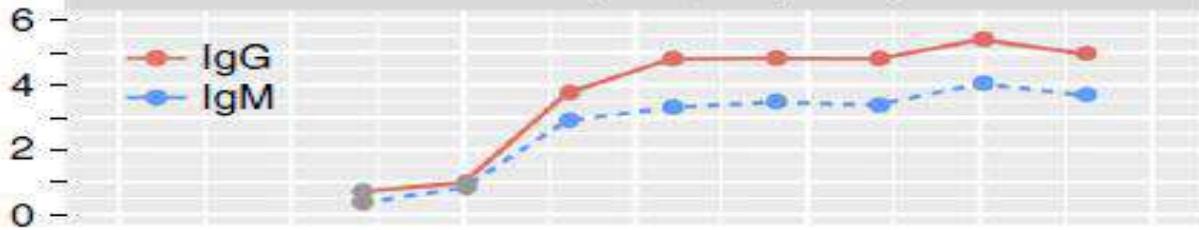
Giunti alla fase 2, la fase di convivenza col virus SARS-CoV-2, diventa di vitale importanza sapere se la siero-conversione si traduce in una immunità più o meno duratura. La comunità scientifica si domanda se il contatto del nostro organismo con il virus induce la produzione di anticorpi neutralizzanti importanti per la guarigione e per la patente immunitaria utile per l'ingresso in comunità. Gli studi sulla sindrome respiratoria acuta grave (SARS) e sulla sindrome respiratoria mediorientale (MERS) hanno mostrato che gli anticorpi specifici del virus erano rilevabili nell'80–100% dei pazienti 2 settimane dopo l'insorgenza dei sintomi. Attualmente le risposte anticorpali contro SARS-CoV-2 rimangono poco comprensibili e l'utilità clinica dei test sierologici non è chiara.

In un lavoro pubblicato su Nature medicine (Aprile 2020) un totale di 285 pazienti con COVID-19 sono stati arruolati da tre ospedali designati; di questi pazienti, 70 avevano campioni sequenziali disponibili. Gli autori hanno usato e validato un metodo immunoenzimatico a chemiluminescenza magnetica (MCLIA) per il rilevamento di anticorpi specifici del virus. I campioni di siero dei pazienti con COVID-19 non hanno mostrato legami crociati con la sub unità S1 dell'antigene SARS-CoV della sindrome respiratoria acuta, mentre hanno osservato una certa reattività crociata con gli antigeni nucleocapsidici di SARS-CoV. La percentuale di pazienti con IgG specifiche ha raggiunto il 100% circa 17-19 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi, con una lieve riduzione, fino a 94,1% circa, 20–22 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi. Durante le prime 3 settimane dopo l'insorgenza dei sintomi, ci sono stati aumenti dei titoli anticorpali IgG e IgM specifici del virus. Tuttavia, le IgM hanno mostrato una leggera diminuzione nel gruppo dopo 3 settimane. I titoli di IgG e IgM nel gruppo con malattia grave erano più alti rispetto a quelli del gruppo non grave, sebbene una differenza significativa sia stata osservata solo nel titolo di IgG dopo due settimane dall'insorgenza della malattia (P= 0,001). Sessantatre pazienti con COVID-19 confermato sono stati seguiti fino alla dimissione. I campioni di siero sono stati raccolti a intervalli di 3 giorni. Il tasso complessivo di siero-conversione è stato del 96,8% (61/63) nel periodo di follow-up. Due pazienti (3.2%), una madre e una figlia, hanno mantenuto lo stato negativo di IgG e IgM durante il ricovero. Ventisei pazienti inizialmente sieronegativi successivamente hanno avuto la siero-conversione durante il periodo di osservazione. Tutti questi pazienti hanno raggiunto la siero-conversione di IgG e IgM entro 20 giorni dall'esordio dei sintomi. Mediamente la siero-conversione avveniva, sia per le IgG che per le IgM 13 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi. Gli autori hanno evidenziato tre tipi di siero-conversione; siero-conversione sincrona di IgG e IgM (nove pazienti), siero-conversione delle IgM prima delle IgG (9 pazienti) e una siero-conversione delle IgG prima delle IgM (10 pazienti). Non è stata riscontrata alcuna associazione tra i livelli di IgG al plateau e le caratteristiche cliniche dei pazienti .

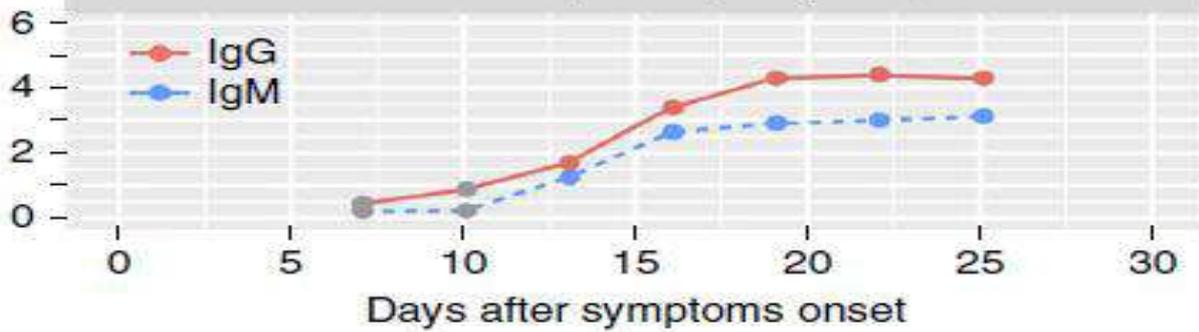


Synchronous seroconversion

Patient 13 (male, 50 years)



Patient 14 (female, 63 years)

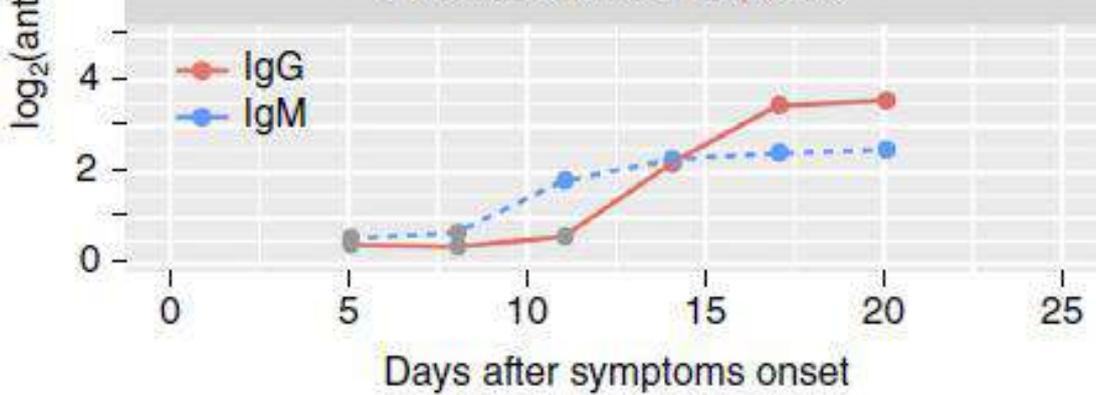


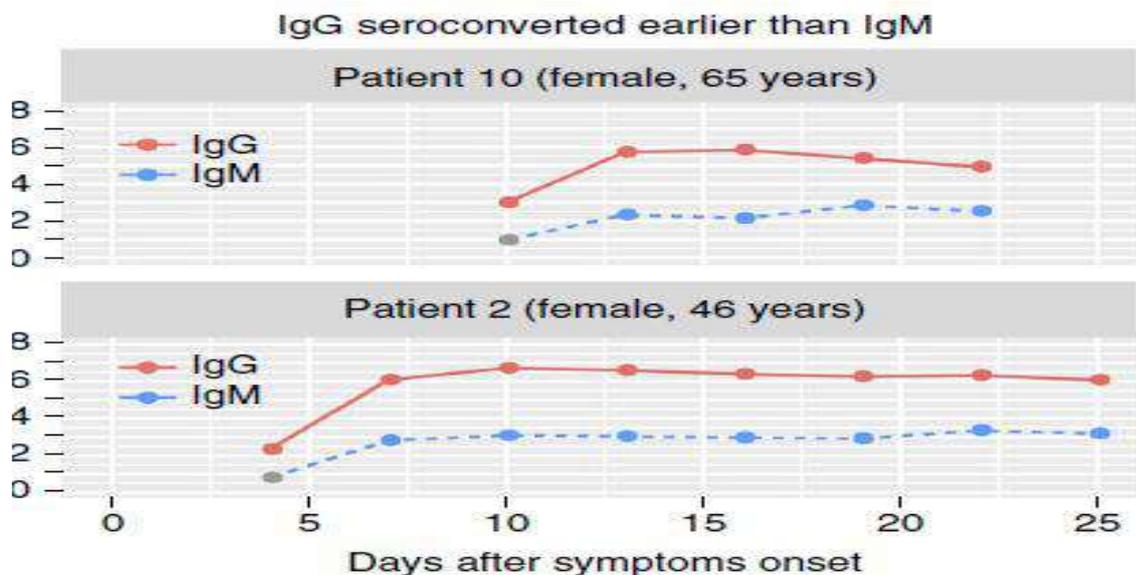
IgM seroconverted earlier than IgG

Patient 15 (male, 68 years)



Patient 18 (male, 84 years)





Gli autori hanno poi analizzato se venivano soddisfatti i criteri dell'OMS, cioè: siero-conversione o un aumento di quattro volte del titolo anticorpale specifico per IgG. Il campione iniziale è stato raccolto nella prima settimana di malattia e il secondo dopo 2-3 settimane. Dei pazienti le cui IgG erano inizialmente sieronegative nella prima settimana di malattia il 51,2% (21/41) si è sieroconvertito. Dei 18 pazienti sieropositivi nella prima settimana di malattia 8 hanno avuto un quadruplo aumento del titolo delle IgG specifiche. Complessivamente il 70,7% (29/41) dei pazienti con COVID-19 ha soddisfatto i criteri di siero-conversione IgG e / o quadruplicato il titolo. Gli autori hanno infine verificato se i test sierologici potessero aiutare a identificare i pazienti con COVID-19. Hanno esaminato 52 casi sospetti di pazienti che presentavano sintomi di COVID-19 o risultati radiologici anormali e test per l'RNA virale negativi in almeno due campioni sequenziali. Dei 52 casi sospetti, quattro presentavano IgG o IgM specifici del virus nei campioni iniziali. Un paziente aveva avuto un aumento maggiore del quadruplo del titolo di IgG tre giorni dopo il test sierologico iniziale. È interessante notare che il paziente risultò poi positivo anche alla RT-PCR tra le due misurazioni anticorpali. Questo studio ha dimostrato quindi che i criteri per la conferma dell'infezione da SARS e MERS-CoV sono adatti per la maggior parte dei pazienti con COVID-19 e quindi è possibile che la siero conversione sia protettiva anche se a detta degli stessi autori questo studio ha la limitazione di non aver testato anticorpi neutralizzanti e quindi l'attività di neutralizzazione degli anticorpi IgG rilevati non è nota. Un'altra domanda importante in questa fase 2 è: i soggetti asintomatici od oligosintomatici hanno una siero-conversione efficace? Un lavoro condotto da un gruppo di ricercatori dell'Università di Padova ha cercato di dare una risposta a questa domanda. Gli autori descrivono la storia del primo decesso per COVID-19 in Italia che è avvenuto a Vo in provincia di Padova e il successivo lockdown. Gli autori hanno raccolto informazioni demografiche, presentazione clinica, ricovero in ospedale, rete di contatto e presenza di infezione da SARS-CoV-2 nei tamponi nasofaringei per l'85,9% e il 71,5% della popolazione di Vo' a due punti temporali consecutivi. Nella prima indagine, condotta nel periodo in cui il blocco della città era iniziato, gli autori hanno trovato una prevalenza di infezione del 2,6% (95% intervallo di confidenza (CI) 2.1-3.3%). Nella seconda indagine, che è stata condotta alla fine del blocco, hanno trovato una prevalenza dell'1,2% (95% CI 0,8-1,8%). In particolare il 43,2% (95% CI 32,2-54,7%) delle infezioni SARS-CoV-2 confermate rilevate nelle due indagini erano asintomatiche. L'intervallo seriale medio è stato 6,9 giorni (95% CI 2,6-13,4). Non è stata rilevata alcuna differenza statisticamente

significativa nella carica virale (come misurati da equivalenti del genoma dedotti dai dati soglia del ciclo virale) dei soggetti sintomatici rispetto agli asintomatici o oligosintomatici. Il tracciamento dei contatti dei nuovi casi infetti e la ricostruzione della catena di trasmissione ha rivelato che la maggior parte delle nuove infezioni nella seconda indagine sono state infettate prima del blocco o da infezioni asintomatiche che vivevano nella stessa famiglia. Questo studio getta nuova luce sulla frequenza dell'infezione asintomatica SARS-CoV-2 e sulla infettività (misurata dalla carica virale) e fornisce nuove informazioni sulla dinamica di trasmissione, la durata della rilevabilità della carica virale e l'efficacia delle misure di controllo implementate. Allo stesso modo uno studio, pubblicato su Jama a Maggio 2020, su una popolazione pediatrica in un centro di dialisi, ha rilevato un'elevata prevalenza di siero- conversione subclinica anche negli operatori sanitari. La prevalenza della siero- conversione subclinica suggerisce che gli operatori sanitari potrebbero essere più sieropositivi di quanto ci si aspetterebbe altrimenti. Questo studio ha dei limiti dovuti alla dimensione del campione, al breve follow-up, alla mancanza di sensibilità/specificità su larga scala del metodo usato. Quindi la stima della prevalenza e della contagiosità delle infezioni da COVID-19 non documentata è fondamentale per comprendere la prevalenza complessiva e il potenziale pandemico di questa malattia. In uno studio condotto in Cina, pubblicato sulla rivista Science, gli autori utilizzano osservazioni di infezione segnalata all'interno della Cina, in combinazione con i dati sulla mobilità, e costruiscono un modello dinamico in rete (inferenza bayesiana) per dedurre le caratteristiche epidemiologiche critiche associate alla SARS-CoV-2, compresa la frazione di infezioni non documentate e la loro contagiosità. Stimano che l'86% di tutte le infezioni non fosse documentato (95% CI: [82%–90%]) prima delle restrizioni di viaggio del 23 gennaio 2020. Il tasso di trasmissione delle infezioni non documentate era pari al 55% delle infezioni documentate ([46%–62%]), e a causa del loro maggior numero di casi, le infezioni non documentate erano la fonte di infezione per il 79% dei casi documentati. Questi risultati spiegano la rapida diffusione geografica della SARS-CoV-2 e indicano che il contenimento di questo virus sarà particolarmente impegnativo.

Ma la questione aperta più importante è: il distanziamento sociale ha solo spostato il problema della circolazione del virus? In Cina sono stati messi in atto intensi interventi non farmaceutici per fermare la trasmissione della nuova malattia coronavirus (COVID-19). Con l'intensificarsi della trasmissione in altri paesi, l'interazione tra età, modelli di contatto, allontanamento sociale, suscettibilità alle infezioni e dinamiche COVID-19 rimangono poco chiari. Un lavoro pubblicato su Science cerca di rispondere a queste domande analizzando i dati dei sondaggi di contatto per Wuhan e Shanghai prima e durante l'epidemia e le informazioni di tracciamento dei contatti dalla provincia di Whuan. I contatti giornalieri sono stati ridotti di 7-8 volte durante il periodo di allontanamento sociale COVID-19, con la maggior parte delle interazioni limitate alla famiglia. Gli autori evidenziano che i bambini 0-14 anni sono meno suscettibili all'infezione da SARS-CoV-2 rispetto agli adulti di età di 15-64 anni (rapporto di probabilità 0,34, 95%CI 0,24-0,49), mentre al contrario, gli individui sopra i 65 anni sono più suscettibili alle infezioni (rapporto 1,47, 95%CI: 1,12-1,92). Sulla base di questi dati, hanno costruito un modello di trasmissione per studiare l'impatto delle distanze sociali e della chiusura scolastica sulla trasmissione. Gli autori ritengono che il distanziamento sociale da solo, come implementato in Cina durante l'epidemia, sia sufficiente per controllare il COVID-19 sebbene le chiusure scolastiche proattive non possano interrompere la trasmissione da sole, possono ridurre l'incidenza del picco del 40-60% e ritardare l'epidemia. Certamente il distanziamento sociale è stato un utile mezzo per il controllo della malattia ma non ha certamente favorito l'immunità di gregge che serve sicuramente per la protezione immunologica.

LA DIAGNOSI SIEROLOGICA

Ancora molta incertezza sulla validità dei test sierologici per la diagnosi di malattia da COVID-19. Un lavoro molto interessante di Jennifer Abbasi (Jama, Aprile 2020) con un titolo accattivante “la promessa e il pericolo dei test sierologici”, ci dice che siamo ancora lontani dall’ avere un test rapido universale sensibile e specifico, che possa essere usato come screening di massa. La sfida è però molto interessante e nella prima campagna di questo tipo a livello comunitario negli Stati Uniti, il Dipartimento della Salute della Contea di San Miguel ha offerto lo screening volontario alla maggior parte degli 8000 residenti della zona in 2 settimane. Solo 8 dei 986 soggetti testati il 26 e 27 marzo erano positivi agli anticorpi SARS-CoV-2. Altri 23 erano borderline, suggerendo che erano stati recentemente esposti al virus e stavano appena iniziando a produrre anticorpi contro di esso. Invece di rilevare mediante tampone nasale materiale genetico virale, i test sugli anticorpi dovrebbero rivelare i marcatori della risposta immunitaria: gli anticorpi IgM e IgG che formalmente compaiono nel sangue più di una settimana dopo l’inizio dei sintomi e nel periodo di convalescenza.

I test sierologici non solo possono confermare casi sospetti dopo il contagio, ma possono anche rivelare chi è stato infettato e non lo sapeva. Fino a un quarto delle persone con infezione da SARS-CoV-2 può involontariamente diffondere il virus perché ha sintomi lievi o assenti. Le implicazioni per il personale sanitario potrebbero essere sostanziali. Infatti la microbiologa F Krammer della Icahn di Mount Sinai School of Medicine, ha detto in un'intervista. “Se il personale sanitario si scopre immune, è molto improbabile che si possa reinfettare, il che significa che non può trasmettere il virus. E penso che sia altrettanto importante sapere, se lavori con i pazienti COVID-19, che sei probabilmente immunizzato dall'infezione”.

I test sugli anticorpi stanno aumentando con un elenco crescente di kit commerciali e protocolli di ricercatori accademici. Gli esperti hanno affermato che i test saranno critici nelle settimane e nei prossimi mesi, quando potrebbero essere utilizzati per la sorveglianza della malattia, le terapie, gli screening di ritorno al lavoro e altro ancora. C'è un altro potenziale problema, tuttavia, gli individui possono essere PCR positivi anche dopo lo sviluppo di anticorpi. “La domanda è: quel virus che stiamo rilevando è vivo? Si sta replicando? Ed è trasmissibile? Purtroppo a queste domande non c'è ancora una risposta in letteratura. Associare un test anticorpale positivo con un risultato PCR negativo potrebbe aumentare la possibilità che le persone che non sono più contagiose rientrano in comunità. I test devono essere distribuiti in modo appropriato, e devono avere specificità e sensibilità. Sappiamo oggi a quattro mesi circa dall’inizio della pandemia che sono disponibili due tipi di test sierologici qualitativi e quantitativi. Il test qualitativo è positivo se gli anticorpi IgM e/o IgG superano il livello del cut-off. Questi test non danno un valore numerico ma la positività è espressa con una striscia colorata nell’ambito delle zone di reazione per IgM e /o IgG. I test quantitativi invece danno il valore numerico delle IgM e delle IgG. Purtroppo i test qualitativi difettano di sensibilità e specificità. Dopo i primi lavori pubblicati sull’argomento (vedi COVID-19 prima stesura) che davano risultati contrastanti, altri lavori hanno chiarito l’inaffidabilità di questi test . Un lavoro pubblicato su Public Health Journal da un gruppo tedesco ha messo in evidenza le criticità dei point of care. Gli autori hanno valutato un test rapido in un “setting “ad alta prevalenza per il virus. Trentanove individui selezionati casualmente in un centro di screening COVID-19 sono stati contemporaneamente testati tramite qPCR e un test rapido. Dieci individui precedentemente diagnosticati SARS-CoV-2 venivano analizzati con test rapido. Il test rapido valutato è basato sulla comparsa di IgG/IgM SARS-CoV-2 dopo 20 min. Erano necessarie due gocce di sangue. Dei 49 individui, 22 sono risultati positivi da qPCR ripetuti. Al contrario, il test rapido ha rilevato solo otto

di questi positivi correttamente (sensibilità: 36,4%). Dei 27 individui negativi qPCR, 24 sono stati correttamente identificati (specificità: 88,9%). Gli autori concludono che data la bassa sensibilità, si consiglia di non fare affidamento su un test rapido qualitativo basato su anticorpi per misure di salute pubblica come gli screening comunitari.

Table 2
Comparison of SARS-CoV-2 RT-qPCR–positive samples and positive rapid tests

PCR	Rapid test		Total	
	Positive	negative		
positive	8	14	22	Sens: 8/22 = 36.4% [17.2; 59.3]
negative	3	24	27	Spec: 24/27 = 88.9% [70.8; 97.7]
Total	11	38	49	
	PPV: 8/11 = 72.7% [39.0; 94.0]			NPV: 24/38 = 63.2% [46.0; 78.2]

Weak and strong responses were counted as positive.

Sens: sensitivity; Spec: specificity; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value; RT-qPCR: real-time quantitative polymerase chain reaction.

Square brackets give the 95% confidence intervals.

Per quanto riguarda i test qualitativi anche qui vi è molta incertezza relativa alla sensibilità e alla specificità. L'Abbott ha prodotto un test sierologico quantitativo per il COVID-19, con una accuratezza, a detta del produttore, del 99% ed è stato certificato per l'uso nell'Unione Europea. Il test ha ricevuto il suo marchio CE, il che significa che è conforme alle norme di sicurezza dell'UE. Il test rileva l'anticorpo IgG e se una persona è stata infettata dal SARS-CoV-2 la ditta produttrice dichiara che il test ha "dimostrato una specificità e sensibilità superiore al 99% 14 giorni o più dopo l'inizio dei sintomi. L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha ripetutamente avvertito che non c'è nessuna prova che le persone che si sono riprese dal COVID-19 e hanno anticorpi sono protetti da una seconda infezione; tuttavia, questi test possono essere utilizzati per dimostrare chi ha avuto il virus. Il test identifica l'anticorpo IgG, che appare alla fine dell'infezione e rimane per qualche tempo dopo che la persona è guarita. Un lavoro di Elisabeth Mahase pubblicato su BMJ ha messo in dubbio la sensibilità dei test per gli anticorpi Covid-19 sviluppati dalle case farmaceutiche Roche e Abbott che hanno avuto un' enfasi rilevante in Europa e anche in Italia. Entrambi hanno dimostrato di avere una sensibilità inferiore rispetto a quanto riportato dalle società, come ha dimostrato la valutazione del Public Health England (PHE). Roche e Abbott avevano riferito che i loro tests avevano una sensibilità del 100% 14 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi. Tuttavia, il PHE ha scoperto che questi test hanno una sensibilità rispettivamente dell'87% e 93,9% a 14 giorni. Il PHE ha pubblicato i rapporti dopo che gli esperti avevano chiesto trasparenza in merito ai risultati della valutazione, in modo che qualsiasi richiesta di risarcimento potesse essere esaminata a fondo. Gli esperti hanno affermato che non è chiaro se questi test siano migliori di altri test anticorpali disponibili e hanno sottolineato che le valutazioni non soddisfano gli standard necessari per l'accreditamento. Il test sierologico Anti-SARS-CoV-2 di Roche è stato testato tra il 5 e il 7 maggio dal gruppo di supporto diagnostico PHE, che ha utilizzato 93 campioni di siero di pazienti convalescenti e 472 campioni negativi. Il team ha riferito che tutti i campioni negativi sono risultati negativi, con una specificità del 100%, mentre la sensibilità complessiva è stata dell'83,87%, passando dall'87,0% 14 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi, all'87,7% 21 giorni dopo e al 100% a più di 40 giorni dopo. Il kit IgG SARS-CoV-2 di Abbott è stato testato tra il 4 e il 7 maggio, con 96 campioni da pazienti convalescenti e 759 campioni negativi. Il dosaggio è risultato specifico del 99,63%, con una sensibilità del 93,90% a 14 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi, scendendo al 93,40% a 21 giorni e all'87,5% a 40 giorni.

"La valutazione del PHE è stata che questi test non soddisfano i criteri standard previsti per la conferma, dall'autorità regolatoria britannica per i medicinali e i prodotti sanitari, per l'accreditamento come test point-of-care." Ha sottolineato diverse limitazioni, incluso il fatto che non è stata fornita una valutazione equamente potenziata dei due test. Mancava la trasparenza sull'uso di campioni di siero ripetuti per paziente, il che significa che i lettori non potevano discernere quanti pazienti positivi hanno contribuito alla valutazione della sensibilità; e che l'età e il sesso dei pazienti i cui campioni di siero venivano analizzati non venivano presi in considerazione. Inoltre, poiché le risposte immunitarie differiscono intrinsecamente con l'età, la proporzione di pazienti che sviluppano anticorpi IgG può variare in base all'età, così come la loro persistenza". Inoltre non era evidente se i sieri testati provenivano da pazienti che erano stati ricoverati in ospedale per la malattia da Covid-19 o erano stati solo leggermente sintomatici. Concetti importanti soprattutto se i test sugli anticorpi IgG devono essere usati per la sorveglianza della popolazione e le prestazioni dei test possono variare in base alla sintomatologia. "

Jon Deeks, professore di biostatistica all'Università di Birmingham, ha detto in una lettera al BMJ che "Mentre entrambi i test raramente danno risultati falsi positivi, possono dare risultati falsi negativi. Quindi, mentre i risultati positivi del test indicano chiaramente se un individuo era stato infettato da SARS-CoV-2, un risultato negativo non esclude la possibile infezione da COVID-19. Non è chiaro se le loro prestazioni appaiano superiori a quelle di altri test anticorpali disponibili. "Ha anche espresso preoccupazione per il fatto che se il PHE approvasse questi test queste affermazioni verrebbero utilizzate da varie aziende che ora offrono kit di test rapidi per uso familiare.

Allo stesso modo il dottor W. Hanage, epidemiologo della Harvard University, ha evidenziato molto interesse per i risultati che emergono dai test anticorpali nella speranza che questi possano riflettere la vera gamma di gravità ed essere in grado di determinare quante persone potrebbero essere già stati infettati e avere una certa immunità. Ma prima, dice il professor Hanage, dobbiamo sapere se i test possono chiarire la differenza tra qualcuno che ha avuto il COVID-19 e qualcuno che ha avuto uno degli altri betacoronavirus. Sbagliare è disastroso sia per comprendere l'immunità nella popolazione sia per l'individuo stesso. Se pensi di avere un buon test, il modo di utilizzare quel test per conoscere l'immunità della popolazione è quello di andare dove la malattia è stata molto presente e una grande percentuale di persone è stata infettata, pensa alla Lombardia o a New York. Ciò assicura una cosa importante che ci sarà abbastanza esposizione per un campione casuale per catturare soggetti che erano asintomatici, lievemente ammalati, o gravemente ammalati (e non dimentichiamo i morti) e possiamo stimare con precisione la proporzione di ciascuno. Al contrario, studi più piccoli in luoghi attualmente con poca attività di COVID-19 avranno un segnale più debole e numeri più piccoli sono difficili da stimare con precisione specialmente se il campione non è casuale, e il dato che verrà fuori non sarà mai utile a livello scientifico.

C. Come cambia la diagnostica per immagini nell'infezione da SARS-CoV-2 ? (L. Cioffi)

Rx del torace

La radiografia del torace non è sensibile per la rilevazione dei quadri peculiari della polmonite interstiziale da COVID-19 come le opacità a vetro smerigliato e può essere normale nelle fasi iniziali della malattia, non è un esame di primo livello, Le opacità si osservano nei pazienti più gravi sotto forma di consolidamenti fusi in grossi agglomerati con piccole effusioni pleuriche fino alla presentazione del cosiddetto "polmone bianco" della sindrome respiratoria acuta (ADR) grave.

TC del torace

La TC toracica è più efficace nella diagnosi precoce della polmonite da COVID-19. Uno studio, fino ad ora il più numeroso, ha mostrato che tra 3665 casi confermati, il 95,5% aveva una polmonite visibile alla TAC. Pan et al (40) hanno esaminato 21 pazienti confermati che hanno subito ripetute TC a intervalli di circa 4 giorni e hanno scoperto che i risultati negativi sono stati rivelati in quattro pazienti in fase iniziale (0-4 giorni dopo l'insorgenza del sintomo iniziale), ma la TAC toracica ripetuta ha mostrato anomalie polmonari in tutti e 4 i casi

Risultati dell'imaging CT

Ad oggi, solo cinque studi hanno studiato le caratteristiche delle immagini della TC toracica nella polmonite da COVID-19. **La polmonite non ha caratteristiche immagini peculiari di Covid19. I tipici risultati della TC toracica includono opacità a vetro smerigliato bilaterali multifocali con consolidamenti frammentari, distribuzione e predilezione preferite alla base del polmone posteriormente** . L'immagine a vetro smerigliato è comune ad una varietà di processi interstiziali e alveolari con conservazione dei margini bronchiali e vascolari, mentre il consolidamento è un'area di opacità che oscura i margini dei vasi delle pareti delle vie aeree. **Nei pazienti con polmonite COVID-19, immagini a vetro smerigliato focali o multifocali e immagini a vetro smerigliato con ispessimento dei setti reticolari e/o interlobulari con un tipico modello di "pavimentazione pazza" , mentre il consolidamento puro era relativamente meno comune o assente.** Le lesioni a vetro smerigliato possono essere la prima manifestazioni della polmonite da COVID-19. Chung et al hanno trovato un paziente con una TC toracica normale all'inizio che si è evoluta in una nuova immagine a vetro smerigliato periferica arrotondata dopo tre giorni. **Può essere osservato il segno ad "alone invertito" definito come un'area arrotondata circondata da un anello completo o quasi completo di consolidamento.** Effusione pleurica, cavitazione polmonare, linfadenopatia e calcificazione sono raramente segnalate. Altre malattie imitano la polmonite da COVID-19 che deve essere differenziata dalla polmonite acquisita in comunità da streptococco, micoplasma e clamidia, e altre infezioni da coronavirus. La diagnosi differenziale è molto importante per mettere in quarantena i pazienti sospetti con febbre e ridurre l'infezione crociata. Per Wuhan et all. una storia di esposizione o uno stretto contatto con pazienti confermati o sospetti è un indizio essenziale per la diagnosi. Tuttavia, per i pazienti con storia epidemiologica sconosciuta, i tipici aspetti della TC polmonare possono indirizzare verso un sospetto COVID-19; Il test RT-PCR deve essere praticato in

questi pazienti. **In sintesi, la diagnosi di COVID-19 dovrebbe combinare la storia epidemiologica, clinica e di imaging, e il test RT-PCR (lo standard di riferimento).**

Sebbene i risultati della TC toracica non siano specifici per il rilevamento del COVID-19, i risultati della TC sono stati raccomandati come prova importante per la diagnosi clinica. La RT-PCR positiva per COVID-19 rimane il riferimento standard, ma i risultati RT-PCR possono essere influenzati da errori di campionamento e bassa carica virale. Studi precedenti sulla SARS hanno mostrato che la RT-PCR mancava di sensibilità durante i primi cinque giorni della malattia. I rapporti attuali mostrano che la TAC toracica può dimostrare polmonite, quando il test RT-PCR da tampone nasofaringeo o gola è negativo la TC toracica iniziale e della RT-PCR e ha un tasso di rilevamento più elevato per la TC iniziale (50/51[98%]) rispetto alla RT-PCR (36/51[71%])($P < 0,001$). Xie et al. ha scoperto che su 167 pazienti valutati, il 3% (5/167) dei pazienti aveva inizialmente una RT-PCR negativa, ma TC toracica e RT-PCR erano concordanti per COVID-19 nel 92,8% (n.155/167). Inoltre, i risultati RT-PCR devono essere eseguiti in Centri di controllo e prevenzione delle malattie (CDC) e nella fase iniziale di un focolaio, e ci vuole più tempo per confermare la diagnosi finale. La Tac è facile da eseguire, veloce e rileva la polmonite precoce da COVID-19 ad alta sensibilità, fornendo informazioni preziose per ulteriori diagnosi di Covid 19. La CT può essere usata anche per valutare la severità della malattia, osservazioni hanno mostrato che i pazienti che andavano in terapia intensiva (ICU) al momento del ricovero hanno molteplici consolidamenti bilaterali subpleurici e sub segmentali, mentre i pazienti che non andavano in terapia intensiva avevano immagini a vetro smerigliato bilaterali e il consolidamento sub segmentale. Nei pazienti gravi, la TC può dimostrare un consolidamento eterogeneo diffuso a vetro smerigliato nei polmoni bilaterali con broncogramma aereo e bronchiectasie, che si presentano come "polmone bianco" quando la maggior parte dei lobi polmonari sono interessati. I pazienti possono anche presentare ispessimento dei setti interlobari e bilaterali con una piccola effusione pleurica (11,56). In più la TC è importante nel decorso clinico della malattia, Chung e altri hanno dimostrato in 7 di 8 pazienti una marcata progressione nel numero, densità ed estensione delle opacità a vetro smerigliato. Pan ed all. hanno rivalutato le TC di 21 pazienti COVID confermati sottoposti a TC ripetute a intervalli di circa 4 giorni e ha riassunto quattro fasi della malattia: precoce, progressiva, picco e assorbimento. Hanno scoperto che le immagini a vetro smerigliato crescevano rapidamente, dimostrando consolidamento e la progressione verso il modello di pazzia-pavimentazione. Le lesioni che non evolvevano nel modello di pavimentazione pazzia nella fase di assorbimento avevano una prognosi favorevole, suggerendo il modello di pavimentazione come un altro indice per valutare il decorso della malattia. Lo studio di Song et al (42) ha concluso che maggiore è il consolidamento maggiore è la progressione della malattia. Alcune casistiche hanno mostrato che una riduzione dell'estensione, dimensione e assorbimento di queste lesioni indicano un miglioramento della malattia (32,42,51-53).

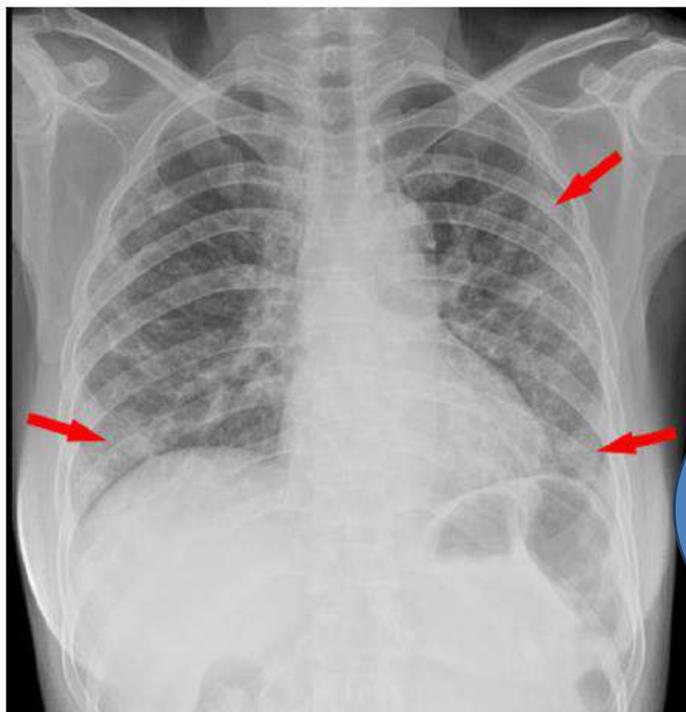
Table 3: Chest CT Imaging Features of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)

Pneumonia

Ground glass opacities +/-consolidation	+++
Pure consolidation	+
Multiple lesions	+++
Bilateral involvement	+++
Posterior part / lower lobe predilection	+++
Peripheral / subpleural distribution	+++
Crazy-paving pattern	++
Air bronchogram	++
Reversed halo sign on high-resolution CT	+
Pleural effusion	+
Cavitation, calcification, lymphadenopathy	Absent

Data from Refs. ^{1,16,32,40-43,55-56}

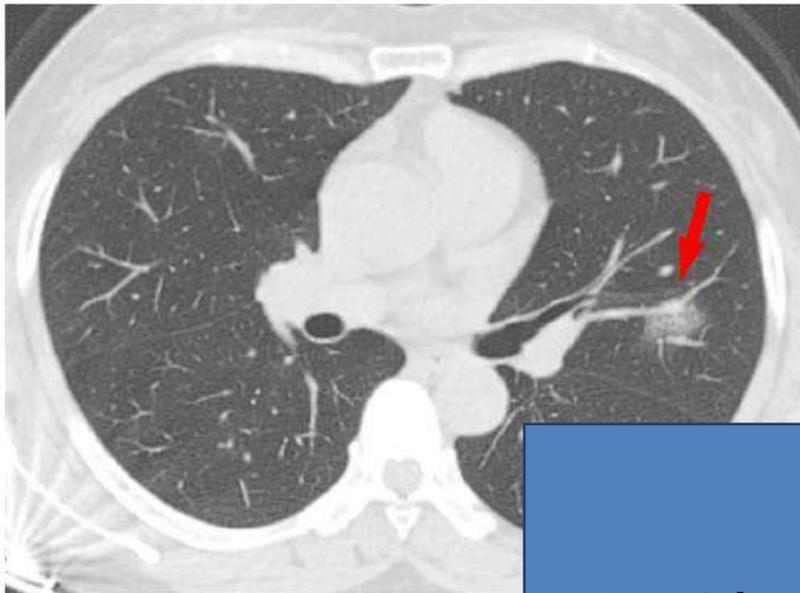
Note.—Plus signs indicate the relative frequency of the findings from the lowest (+) to the highest (+++).



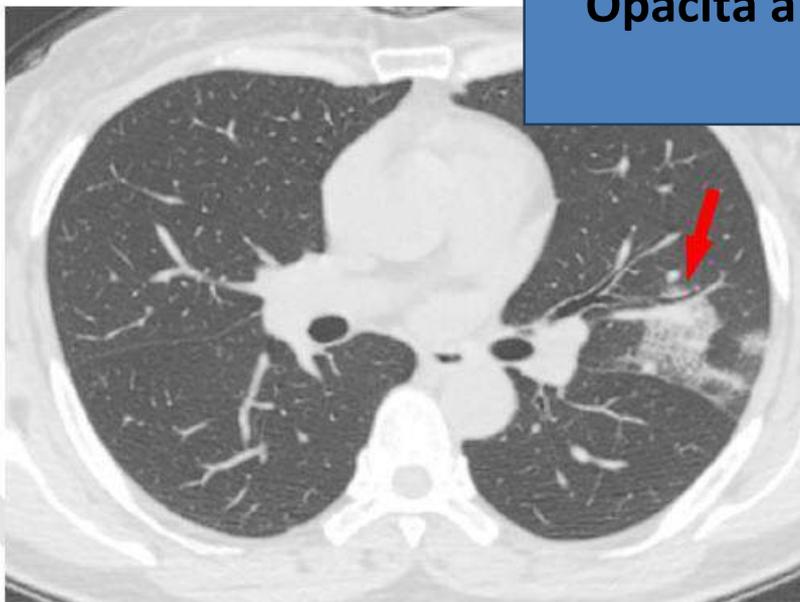
**Opacità
irregolari**

Figure 3: Chest radiography of confirmed Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pneumonia

A 53-year-old female had fever and cough for 5 days. Multifocal patchy opacities can be seen in both lungs (arrows).



Opacità a vetro smerigliato



b

Figure 4: CT findings of confirmed Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pneumonia
Solitary rounded ground-glass opacity (GGO) pattern. A 51-year-old woman presenting without fever had close contact with patients with lab-confirmed COVID-19. a, Baseline axial unenhanced chest CT acquired 6 days before the first positive RT-PCR test showed a rounded GGO in the left lung upper lobe (arrow). b. Follow-up chest CT 4 days later showed the size increase of the lesion (arrow).

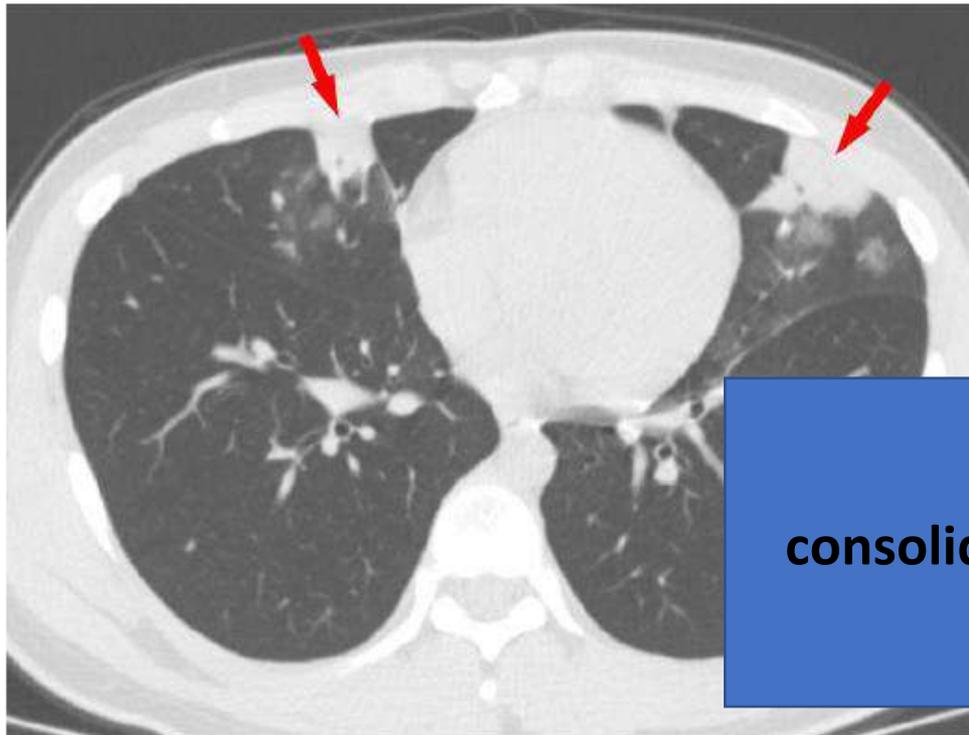


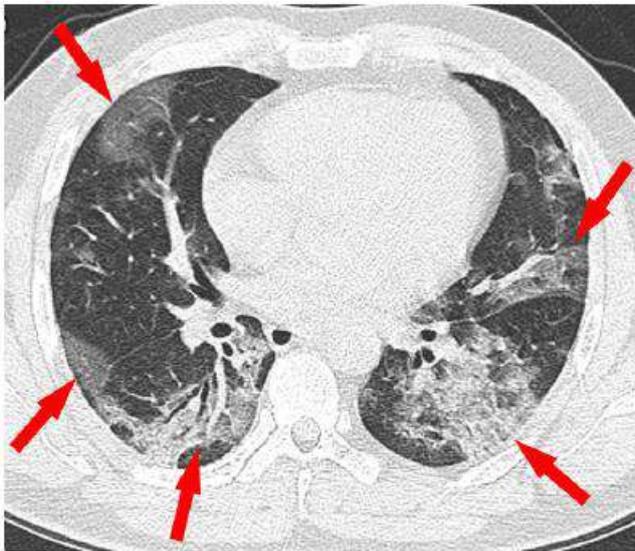
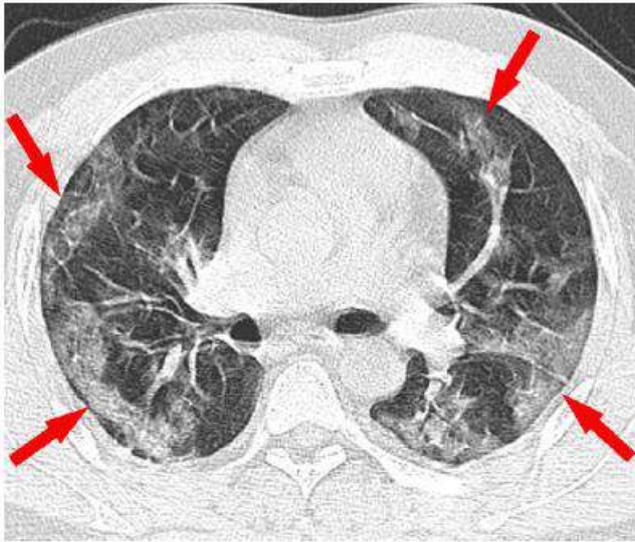
Figure 7: CT findings of confirmed Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pneumonia Consolidation pattern. A 17-year-old male presented with fever (38.1°C, 100.58°F), cough for three days, and Wuhan exposure history. Axial unenhanced chest CT acquired on January 27, 2020 showed multiple pure consolidation lesions (arrows) in the middle lobe of right lung and upper lobe of left lung.



Pattern a
“pavimentazione pazza”



Figure 6: CT findings of confirmed Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pneumonia
Crazy paving pattern. A 69-old-year woman presenting with fever, cough, and muscle soreness with Wuhan exposure history. a, Axial unenhanced chest CT acquired on January 26, 2020 showed patchy GGO with typical crazy paving pattern (arrow). b, Axial unenhanced chest CT acquired on January 31, 2020 showed multiple subpleural distributed GGOs (arrows).



Quadro grave di consolidamento e pattern a “pazza pavimentazione”

Figure 8: CT findings of severe type confirmed Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pneumonia

A 43-year-old man presented with no fever and Wuhan exposure history. Axial unenhanced chest CT was acquired on the same day as reverse-transcription–polymerase-chain-reaction. a-b. Two thin slice axial unenhanced chest CT images showed diffusely subpleural distributed ground-glass opacities (arrows). Images provided by courtesy of Dr. Wei Chen, Department of Radiology, The Second Affiliated Hospital and Yuying Children’s Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang, China.

Bibliografia

1. -Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens
Author Affiliations: National Institute for Viral Disease Control and Prevention, China CDC, Beijing, China (Wang, Lu, Wu, Tan); Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing, China (Xu, Han); Qingdao Municipal Center for Disease Control and Prevention, Qingdao, China (Gao).
2. Ospedale G. GASLINI (Versione 1. 4/4/2020)

3. -Protocol for the development of a rapid advice guidelines for management of children with SARS-CoV-2 infection; Weiguo Li et al. Ann Palliat Med 2020 | <http://dx.doi.org/10.21037/apm.2020.02.33>

(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

D. Qual è il danno Anatomopatologico nella COVID-19? (G.Tajana)

Ultimo aggiornamento: 15 ottobre 2020

News K.W: Cardiologia e COVID-19: quello che sappiamo ad ottobre 2020 (pagina 19). Sinossi 40: Alcune domande senza risposta per i cardiologi poste da un team internazionale di cardiologi. Sinossi 41. Un virus è "semplicemente una cattiva notizia racchiusa nelle proteine"

COVID-19: Anatomia Patologica Clinica

Gianfranco Tajana

gianfrancotajana@gmail.com

Verso non dove

RISCONTRO AUTOPTICO IN DECEDUTI PER SOSPETTO COVID-19

Ai colleghi che operano sul territorio e non solo

Il riscontro autoptico consente di ricostruire la storia naturale di una malattia, identificare i meccanismi patogenetici che ne regolano l'evoluzione e risalire alle possibili cause di un decesso. Tutti questi aspetti costituiscono "informazioni preziose" per chi opera nella Medicina Generale e possono orientare per un intervento terapeutico consapevole ed efficace.

Le autopsie convenzionali sono un lavoro scrupoloso. Durante una pandemia, le precauzioni di bio- sicurezza da adottare le rendono ancora più complesse perché a causa dell'elevato rischio di contagio negli ospedali e nell'*immaginario generale*, qualsiasi cadavere è considerato come una "potenziale fonte di infezione". La "furia pandemica" e le innumerevoli restrizioni che ha comportato, hanno reso le procedure per reperire campioni di tessuti una impresa ai limiti dell'impossibile.

I sistemi sanitari, i cui vertici erano stati allertati da mesi dalle "intelligence epidemiologiche Osint" (*Open Source intelligence* raccolta e comunicazione delle informazioni mediante l'analisi di fonti aperte) non hanno attivato nessuna delle precauzioni consigliate e sono stati drammaticamente sopraffatti. Ancora oggi, dopo tre mesi, siamo in affanno. Scarseggiano i presidi indispensabili per fronteggiare la pandemia dai reagenti di laboratorio per la diagnostica (tamponi) fino ai dispositivi elementari di protezione individuale per medici e infermieri che ancora oggi corrono enormi rischi per la loro salute e quella dei pazienti. A questi "pazienti", terrorizzati e il più delle volte non coscienti, mantenuti in vita da un ventilatore meccanico, un medico avrebbe dovuto chiedere il loro *consenso informato* o quello dei loro congiunti alla donazione del loro corpo per la ricerca, un richiesta emotivamente difficile per qualsiasi medico.

Se in piena pandemia è decisamente un momento poco opportuno per concentrarsi sul prelievo di tessuti, per il patologo in particolare è questo l'azimut il "momento della verità" in cui è possibile, attraverso l'autopsia avere informazioni preziose per capire che cosa è successo, cosa sta veramente accadendo. Il riscontro autoptico consente di comprendere le possibili cause (errori ed omissioni) che hanno portato ad un decesso. Tutti aspetti questi, che costituiscono informazioni preziose per un intervento terapeutico consapevole.

Il team di Marisa Dolhnikoff dell'Università di San Paolo ha by-passato le difficoltà di eseguire biopsie convenzionali effettuando *autopsie minimamente invasive*, attraverso agobiopsie guidate da ultrasuoni seguendo una procedura standard che tuttavia prevede una suite di autopsia a pressione negativa con attigua stanza di isolamento, utilizzando un equipaggiamento protettivo completo.

Il 1° aprile, il Ministero della Salute Italiano **riconoscendo che** *Nei pazienti che muoiono con infezione da SARS-CoV-2, le autopsie possono confermare i risultati di laboratorio e radiologici e contribuire ad una diagnosi accurata e ad una migliore comprensione dei meccanismi della malattia* **rimarcando in pieno burocatese che per l'intero periodo della fase di emergenza, le autopsie o gli studi diagnostici post mortem non devono essere eseguiti in casi conclamati di COVID-19. In particolare dichiara che** *L'autorità giudiziaria*

valuterà la possibilità di limitare la valutazione alla sola ispezione esterna del cadavere, in tutti i casi in cui un'autopsia non è strettamente necessaria per motivi forensi. **E come Ponzio Pilato afferma che** I dipartimenti sanitari di ciascuna regione forniranno i criteri per limitare l'esecuzione delle autopsie a quelle volte a diagnosticare la causa della morte, limitando rigorosamente quelle a scopo di studio. È necessario effettuare un'attenta valutazione preventiva dei rischi e dei benefici associati a qualsiasi richiesta di autopsia. **Concludendo tuttavia che** Le autopsie e qualsiasi attività diagnostica post mortem possono essere eseguite solo in locali settoriali che garantiscono adeguate condizioni di sicurezza e il personale deve indossare dispositivi di protezione individuale, inclusi respiratori (FFP2 o superiore) e dispositivi di protezione per gli occhi e le mucose facciali (visiera o viso scudo) e mani (guanti resistenti al taglio interposti tra un doppio paio di guanti per autopsia). Qualsiasi procedura che può produrre aerosol dovrebbe essere evitata. **In sintesi** Le autopsie dovrebbero essere limitate a casi ben motivati ed eseguite in conformità alle norme di biosicurezza.

Dopo le prime preziose e fondamentali osservazioni di Andrea Riannetti e Aurelio Sonzogni di Bergamo e le 38 autopsie eseguite dai patologi degli ospedali della Lombardia (Milano-Bergamo. manuela.nebulosi@unimi.it), i principali laboratori di Anatomia Patologica Italiani hanno redatto le procedure per la *“Gestione del cadavere con sospetto, probabile o confermato infezione da COVID respiratorio, raccomandazioni per il personale potenzialmente esposto a materiale proveniente da cadaveri, compresi fluidi corporei, nelle strutture dell'obitorio e durante pratica dell'autopsia.”* Nel frattempo, il Board SIAPC e la Società Scientifica di Medicina Forense dell'Ospedale del Sistema Sanitario Nazionale (COMLAS) hanno prodotto un documento congiunto, disponibile sul sito web SIAPEC su come gestire le autopsie durante una pandemia.

Queste raccomandazioni, insieme a quelle consolidate dai patologi della Repubblica popolare Cinese e del Royal College of Pathologists inglese, costituiscono una solida base per pianificare in maniera sicura una indagine autoptica. In queste ore, man mano che (finalmente) sono analizzabili i risultati autoptici stiamo cominciando a ricostruire cosa è realmente successo durante i cento giorni della pandemia negli organismi dei deceduti ed in particolare, tutto quello che andava (o non andava) fatto nella gestione terapeutica.

Sta emergendo anche la necessità di organizzare un “repository internazionale” che riporti metadati per la definizione di linee guida concordate per la dissezione, per il campionamento autoptico ed un efficiente sistema per la registrazione dei risultati consultabile e a disposizione di tutti. Attualmente si sono proposti la RWTH Aachen University in Germania e la Visiopharm a Westminster in Colorado. Intanto patologi da tutto il mondo stanno aderendo entusiasti al progetto, consapevoli tuttavia che attivare un repository mondiale richiederà mesi di duro lavoro per essere completato e facilmente consultabile.

Le autopsie danno un altro sguardo, unico e particolare della malattia, superiore a quello che si può ottenere da una batteria di esami fisici, test di laboratorio di routine, persino le scansioni CT ad alta risoluzione. Nessuno di loro si avvicina alla risoluzione che si può ottenere da un'autopsia.

In conclusione: Se in condizioni normali, l'autopsia risponde a molte delle domande senza risposta che ci poniamo su un nostro paziente deceduto, per una “nuova malattia” emergente come il COVID-19, anche i risultati di “una sola” autopsia diventano di fondamentale importanza per tutta l'umanità. Parola di morfologo.

-Fineschi V et al. Pathologica. 2020 Mar 26. Management of the corpse with suspect, probable or confirmed COVID-19 respiratory infection - Italian interim recommendations for personnel potentially exposed to material from corpses, including body fluids, in morgue structures and during autopsy practice. Pathologica. 2020 Mar 26.

-Fa Yi Xue Za Zhi. 2020 Feb;36(1):6-5. Epub 2020 Feb 25. Guide to the Forensic Pathology Practice on Death Cases Related to Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) Faculty of Forensic Medicine, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen.

-Hanley B et al. Autopsy in suspected COVID-19 cases. J Clin Pathol. 2020 May;73(5):239-242. 2020 Mar 20.

-Hanley B et al. Autopsy in suspected COVID-19 cases. J Clin Pathol. 2020 May;73(5):239-242. 2020 Mar 20 -Li H et al. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses. Lancet. 2020 Apr 17.

-Ledford H. Autopsy slowdown hinders quest to determine how coronavirus kills. Nature. 2020 May 7. doi: 10.1038/d41586-020-01355-z.

-Indicazioni emergenziali connesse ad epidemia COVID-19 riguardanti il settore funebre, cimiteriale e di cremazione. Ministero della Salute-Direzione Generale Della Prevenzione Sanitaria. Ufficio 4 - 0011285-Accessed 8 April 2020
-WHO (2020) Infection prevention and control for the safe management of a dead body in the context of COVID-19 Accessed 8 April 2020

- Provisional Guidelines on Autopsy Practice for Deaths Associated With COVID-19 . society of Pathological Doctors Chinese Medical doctors association

A CHI LEGGE:

Al momento attuale (maggio 2020) non è disponibile una raccolta sistematica ed esaustiva delle osservazioni anatomo patologiche ottenibili per l'esiguo numero di esami autoptici corredati a dati anamnestici essenziali (comorbidità, cronologia dell'esordio della sintomatologia, terapie effettuate, sistema di supporto di O2 , passaggio in terapia intensiva etc) . Sono consultabili un centinaio di lavori purtroppo la maggior parte in cinese mandarino con abstract in inglese molto scarni. Tuttavia le osservazioni ricavabili dalla loro traduzione (per via automatica) sono sostanzialmente omogenee e comparabili con omologhi lavori in lingua inglese.

Per l'acquisizione dei risultati autoptici ho utilizzato tre database, PubMed, Scopus e Web of Science impostati per una ricerca senza limiti di tempo che includesse anche i documenti più "datati" con le parole chiave: coronavirus, SARS-CoV-2, SARS, MERS, COVID-19 associate ad autopsia. Per avere una visione quanto più completa l'acquisizione dei dati è stata estesa anche alle prestampate utilizzando il server medRxiv (<https://www.medrxiv.org/>), con gli stessi criteri sopra indicati . Gli articoli selezionati sono stati letti interamente per evidenziare le differenze autoptiche in relazione al tipo e ceppo di coronavirus. Per le correlazioni con la clinica ho utilizzato esclusivamente PubMed.

Per questa rassegna, che sarà periodicamente aggiornata grazie alla continua acquisizioni di nuovi lavori ho riportato in particolare le osservazioni in microscopia ottica, immunoistochimica e microscopia elettronica a trasmissione (TEM) ottenute da autopsie convenzionali, correlandole, quando disponibili, anche a dati anamnestici e clinici essenziali.

In particolare ho sintetizzato e riportato tutte le osservazioni ricorrenti "simili e/o comparabili" , ed ho cercato di evidenziare quelle "originali" . Ho inoltre riportato anche i dati ottenuti da autopsie mini-invasive ed in particolare le osservazioni ottenute da materiale bioptico ottenuto durante il decorso della patologia. Nella **sezione A** ho riportato la descrizione dei singoli quadri istologici con i possibili correlati etiopatogenetici e clinici , mentre nella **sezione B** ho riportato delle valutazioni istopatologiche su alcuni distretti tessutali e "materiali biologici" con cui è possibile entrare in contatto nella pratica medica quotidiana . La **sezione C** riporta delle *sinossi integrative* che correlano le osservazioni microscopiche alle valutazioni cliniche/terapeutiche riscontrabili in letteratura.

Elenco delle sinossi

01. E' possibile stadiale l'infezione da COVID-19 ?
02. Che fare nei pazienti degli Stadi 1 e2 ?
03. Che fare nei pazienti "dimessi" e negli "asintomatici"
04. Esiste una disposizione genetica a contrarre una infezione da COVID-19 ?
05. Identikit di un soggetto "immunologicamente fragile" e sensibile al COVID-19
06. Acido ialuronico intralveolare: più che un indizio
07. I NET in eccesso possono spiegare gli effetti multiorgano di COVID-19
08. Dai NET un enorme potenziale terapeutico
09. Cosa è e come si può gestire la "tempesta citochinica"
10. Ruolo dell' interleuchina-6
11. Centralità degli inibitori dell' interleuchina-6
12. Il "controverso" impiego dei corticosteroidi
13. La "famiglia" dei coronavirus e l'uomo
14. Come penetra come circola SARS-CoV-2 nel nostro organismo
15. Le manifestazioni neurologiche del COVID-19: l' Encefalopatia Acuta Necrotizzante (ANE)
16. Topologia geografica della pandemia COVID-19
17. Che cosa rende SARS-CoV-2 più aggressivo rispetto agli altri coronavirus ?
18. I Lipidi bioattivi possono inattivare il COVID-19
19. Stimolazione dell'immunità adattativa attraverso l'arricchimento con rame plasmatico

20. Le conseguenze della rottura della polarizzazione M1-M2 in COVID-19
21. Il paradigma Wichmann : non tutti i decessi COVID-19 sono una ARDS.
22. Droplets : fisiopatologia funzionale.
23. Rubbing oculare e meccanismi di penetrazione del COVID-19
24. Cellule linfoidi innate e immunità adattativa
25. "Dark side moon": sistema nervoso e COVID-19
26. L'orologio immunitario di Aghaeepour nelle gestanti COVID-19
27. Trasfusione di plasma convalescente: valutazioni preliminari e perplessità
28. La storia di Alice G1P0 , COVID-19 positiva
29. La riproduzione al tempo del COVID-19
30. Melatonina , immunità e COVID-19
31. The mysterious disappearance of toilet paper from supermarket shelves
32. Perché l'utilizzo degli interferoni potrebbe essere un arma a "doppio taglio"
33. No wax: new generation
34. Una mail : "posso trasportare e/o trasferire COVID-19 attraverso i miei vestiti" ?
35. Quello che "pensiamo di aver capito" e tutto quello che dobbiamo ancora sapere su COVID-19
36. Geni SCARF (SARS-CoV-2 e Coronavirus-Associated Receptors and Factors) e tropismo.
37. Side effect da vaccini: ADE e Vared
38. Sars-cov-2 : reinfezione o riattivazione
39. Sars-CoV-2 è diventato più "buono" o più "cattivo" ?
40. **Alcune domande senza risposta per i cardiologi poste da un team internazionale di cardiologi.**
41. **Un virus è "semplicemente una cattiva notizia racchiusa nelle proteine"**

Questo è un "rough draft " (brogliaccio) mi scuso per gli innumerevoli errori di battitura, per la forma italiana approssimata, e per errori ed imprecisioni che provvederò a eliminare e chiarire nei prossimi aggiornamenti periodici .
Mistakes are proof that you are trying....

Per chiarimenti ed approfondimenti : gianfrancotajana@gmail.com

Riferimenti principali

- Ahmet Kursat Azkur et al . **Immune Response to SARS-CoV-2 and Mechanisms of Immunopathological Changes in COVID-19.** Allergy 2020 May 12.
- Ackerman M et al. **Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19.** NEJM 21 may 2020
- Barton LM et al.**COVID-19 Autopsies, Oklahoma, USA.** Am J Clin Pathol. 2020 Apr 10.
- Buja LM et al.**The Emerging Spectrum of Cardiopulmonary Pathology of the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Report of 3 Autopsies From Houston, Texas, and Review of Autopsy Findings From Other United States Cities** Cardiovasc Pathol. 2020 May 7;48:107233.
- Carsana L et al . **Pulmonary post-mortem findings in a large series of COVID-19 cases from Northern Italy** MedRxiv April 22,2020
- Chen F et al . **Rising Concern on Damaged Testis of COVID-19 Patients.**Urology. 2020 Apr 25..
- Ding Yanqing et al. **Analysis of coronavirus disease-19 (COVID-19) based on SARS autopsy** Chin J Pathol, 2020,49(04): 291-293
- Farkash EA et al. **Ultrastructural Evidence for Direct Renal Infection with SARS-CoV-2.** J Am Soc Nephrol. 2020 May 5.
- Goad J et al. **Female reproductive tract has low concentration of SARS-CoV2 receptors. Preprint.** bioRxiv. 2020;2020.06.20.163097. Published 2020 Jun 22. doi:10.1101/2020.06.20.163097
- Hanley B et al.**Autopsy in suspected COVID-19 cases.** J Clin Pathol. 2020 May;73(5):239-242.
- Huang C.et al. **Clinical features of patient infected with 2019 nvel coronavirus in Whuam, China** lancet 2020, 395: 497-506
- Iwasawa T et al **Ultra-high-resolution computed tomography can demonstrate alveolar collapse in novel**
- Jing Y et al. **Potential influence of COVID-19/ACE2 on the female reproductive system.** Mol Hum Reprod.2020 May 4.
- LX I et al.**Pathological changes of the spleen in ten patients with new coronavirus infection by minimally invasive autopsies.** Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. 2020 Apr 27;49(0):E014. (MILZA)

- Lukassen S et al **SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells**. EMBO J. 2020 Apr 4:e105114.
- Liu C et al **Preliminary study of the relationship between novel coronavirus pneumonia and liver function damage: a multicenter study**. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi. 2020 Feb 20;28(2):148-152
- Liu F et al. **ACE2 Expression in Pancreas May Cause Pancreatic Damage After SARS-CoV-2 Infection**. Clin Gastroenterol Hepatol. 2020 Apr 22. pii: S1542-3565(20)30537-1.
- Liu Q et al. **Gross examination report of a COVID-19 death autopsy**. Fa Yi Xue Za Zhi. 2020 Feb;36(1):21-23.
- Li H et al. **SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses**. Lancet. 2020 May 9;395(10235):1517-1520.
- Menter T ET AL. **Post-mortem examination of COVID19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings of lungs and other organs suggesting vascular dysfunction**. Histopathology. 2020 May 4.
- Park M **Macrophages: A Trojan Horse in COVID-19?** . Nat Rev Immunol . 2020 Apr 17;1.)
- Parisa Karami et al. **Mortality of a pregnant patient diagnosed with COVID-19: A case report with clinical, radiological, and histopathological findings** Travel Med Infect Dis. 2020 Apr 11 : 101665.
- Pernazza A et al.**Early histologic findings of pulmonary SARS-CoV-2 infection detected in a surgical specimen**. Brief Report Published: 30 April 2020Virchows Archiv (2020)
- Takuya Adachiet al. **Clinicopathologic and Immunohistochemical Findings From Autopsy of Patient With COVID-19** .Emerg Infect Dis . 2020 May 15;26(9).
- Sharon E.Fox et al **Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans**. The lancet . Respiratory Medicine on line 27 may.2020
- Sims AC et al.**Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of human ciliated airway epithelia: role of ciliated cells in viral spread in the conducting airways of the lungs**. J Virol. 2005 Dec;79(24):15511-24.
- South AM et al.**ACE2, and the cardiovascular consequences**. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2020 May 1;318(5):H1084-H1090.
- Stopsack KH et al. **TMPRSS2 and COVID-19: Serendipity or Opportunity for Intervention?** Cancer Discov. 2020 Apr 10.
- Staico MF et al. **The Kidney in COVID-19: Protagonist or Figurant?** Panminerva Med. 2020 May 20.
- Takuya Adachiet al. **Clinicopathologic and Immunohistochemical Findings From Autopsy of Patient With COVID-19** .Emerg Infect Dis . 2020 May 15;26(9).
- Varga Z. et al **Endothelial Cell Infection and Endotheliitis in COVID-19** 2020 May 2;395(10234):1417-1418
- Wang Z, et al. **scRNA-seq Profiling of Human Testes Reveals the Presence of the ACE2 Receptor, A Target for SARS-CoV-2 Infection in Spermatogonia, Leydig and Sertoli Cells**. Cells. 2020 Apr 9;9(4).
- Wang HJ et al. **Review and Prospect of Pathological Features of Corona Virus Disease**.Fa Yi Xue Za Zhi. 2020 Feb;36(1):16-20
- Wichmann D et al **Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19: a prospective cohort study**. Ann Intern Med. 2020;Epub ahead of print.
- Wang Z, et al. **scRNA-seq Profiling of Human Testes Reveals the Presence of the ACE2 Receptor, A Target for SARS-CoV-2 Infection in Spermatogonia, Leydig and Sertoli Cells**. Cells. 2020 Apr 9;9(4).
- Xu-Yao XH et al. **A pathological report of three COVID-19 cases by minimally invasive autopsies**. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. 2020 Mar 15;49(0):E009.
- Xu X et al **Pathological changes of the spleen in ten patients with new coronavirus infection by minimally invasive autopsies**. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. 2020 Apr 27;49(0):E014.
- Yan L et al. **A autopsy Report with Clinical Pathological Correlation**. Arch Pathol Lab Med. 2020 May 18.
- Yang M et al **Pathological Findings in the Testes of COVID-19 Patients: Clinical Implications** [published online ahead of print, 2020 May 31]. *Eur Urol Focus*. 2020;S2405-4569(20)30144-9. doi:10.1016/j.euf.2020.05.009

PREMESSA

Gran parte delle indagini autoptiche analizzate erano correlate di dati clinici, di laboratorio, radiologici e di trattamento. Le scansioni tomografiche del torace hanno mostrato ombre irregolari bilaterali o opacità a “vetro smerigliato” nei polmoni di tutti i pazienti; le scansioni eseguite post mortem riportavano a livello polmonare un'infiltrazione reticolare con un forte consolidamento bilaterale.

Durante il ricovero la maggior parte dei pazienti ha ricevuto terapie antivirali differenti, molti anche terapia antibatterica associata a glucocorticoidi. Sono stati trasferiti in terapia intensiva per complicanze da distress respiratorio acuto, aritmia, shock. Hanno ricevuto ossigenoterapia ad alto flusso, ventilazione non invasiva e/o invasiva (ossigenazione extracorporea). Mediamente il tempo dal primo sintomo alla dispnea è stato di 5,0 giorni, al ricovero in ospedale di 7,0 giorni e all'ARDS di 8,0 giorni.

La maggior parte dei deceduti presentava una o più comorbidità (ipertensione, obesità, malattie cardiovascolari, diabete mellito). Sebbene i dati disaggregati per sesso disponibili per COVID-19 mostrino un numero uguale di casi tra i sessi, le prove attuali indicano che i tassi di mortalità sono più alti negli uomini che nelle donne. In Italia, circa il 70% era negli uomini, negli Stati Uniti il 59%. Tendenze simili sono state segnalate in Cina e Corea del Sud.

E' tuttavia riportata una predominanza complessiva di maschi (circa 80%) in pazienti con *gruppo sanguigno A* (circa 65%), presumibilmente correlabile ad una soglia di tolleranza inferiore per COVID-19. Tutti i campioni osservati in microscopia ottica e/o attraverso reazioni immunoistochimiche specifiche (CD45, CD68, CD61, TTF1, p4, Ki67) ed in microscopia elettronica a trasmissione (TEM) erano PCR (Polymerase chain reaction) positivi per l'RNA-2019-nCoV. I virioni di 82 nm con spike di 13 nm.

Da maggio è disponibile un anticorpo monoclonale capace di identificare i nucleocapsidi di COVID-19 direttamente su sezioni paraffinate utilizzando in maniera combinata immunoistochimica, immunofluorescenza ed ibridazione in situ. Sarà così possibile utilizzare materiale autoptico bioptico fissato routinariamente in paraffina per studi retrospettivi. Per i dettagli vedi:

Liu J et al. Molecular detection of SARS-CoV-2 in formalin fixed paraffin embedded specimens [published online ahead of print, 2020 May 7]. JCI Insight. 2020;139042. doi:10.1172/jci.insight.139042

Infine dalle indagini autoptiche si ricava una importante informazione indiretta: Journal of American Medical Association (22 aprile) analizzando i dati di 12 grandi ospedali di New York nel mese di marzo, riferisce che su 320 pazienti sottoposti a ventilazione, 282 sono deceduti. Quindi solo una persona su nove è sopravvissuta alla ventilazione meccanica. Uno studio nel Regno Unito riferisce che a Londra solo un terzo dei pazienti COVID-19 nonostante il supporto della ventilazione meccanica è sopravvissuto.

Agli amici della FIMP ed a chi legge: nelle ultime settimane, durante la stesura di questo *draft*, ho più volte provato difficoltà ed un certo imbarazzo. Alcuni lavori contenuti in molte metanalisi, se letti dettagliatamente, presentano errori metodologici ed evidenti incongruenze statistiche, inoltre molte delle *references* riportate derivano da *database* che assicurano di gestire “numeri” provenienti da ospedali di tutto il mondo, ma che in realtà sono dei contenitori vuoti (SURGISPHERE) che forniscono “dati manipolati” per dimostrare l'efficacia e la nocività di farmaci e molecole in sperimentazione in pazienti COVID-19. Se ne sono accorti anche 182 ricercatori che, pochi giorni fa, in una lettera a *Lancet* hanno denunciato la proliferazione “virale” di lavori poco attendibili che purtroppo alimentano il sensazionalismo irresponsabile dei media e consentono a discutibili “esperti” di discettare dall'alba al tramonto in demenziali talk televisivi. Lo stesso *Lancet* e il *New England Medicine* nel giro di un mese hanno ritrattato i risultati sperimentali pubblicati, da prestigiosi ricercatori della *Harvard Medical School* o del *Policlinico universitario di Zurigo* che peraltro, hanno ritirato frettolosamente quanto pubblicato. E' uno scenario caotico con sempre più ricercatori cooptati da aziende che perseguono l'obiettivo di far entrare una loro molecola, o un test diagnostico nel “mercato del COVID”. Il risultato è che al momento non sappiamo se la *cloroquina* e l'*eparina* sono veramente efficaci e ogni mattina mi chiedo quanto rischio se prendo o non prendo l'*ACE inibitore* per la mia pressione. Poco fa ho ricevuto la mail di un mio amico ricercatore di qualità attento e obiettivo che mi scrive “ormai credo che i dati diffusi siano manipolati a fini economici e politici”. Nello specifico il mio problema personale è la consapevolezza della responsabilità indiretta che mi assumo nei Vostri confronti e

nei Vostri pazienti di fornirvi, inconsapevolmente, informazioni che possono contribuire a farvi aderire a linee guida terapeutiche costruite su dati non veri. Denunciare le anomalie presenti nel “mercato della salute” e dubitare degli “esperti” e di certa editoria scientifica è come sbattere contro il “solito muro di gomma”. Ho 74 anni, ed ho trascorso più di mezzo secolo tra laboratori e aule universitarie nella convinzione che per un vero ricercatore falsificare o inventare un risultato sperimentale è inutile, a volte criminale, ma fundamentalmente stupido. E' come barare a solitario.

APPARATO RESPIRATORIO

ISPEZIONE :

I polmoni presentano aree *iperemiche /emorragiche* (spotty”) alternate a zone francamente *rosacee*. Riduzione del volume alveolare (come segnalato da indagini strumentali U-HRCT) associato a focolai embolici . Frequente è il riscontro di una broncopolmonite sovrapposta. [1]

Referto Wichmann (University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Germania) segnala che in alcune autopsie i polmoni si presentavano “*congestionati e pesanti... Mentre il peso polmonare standard alla morte è in media 840 g per gli uomini e 639 g per le donne, i pazienti COVID-19 avevano un peso polmonare medio di 1,988 g. Un deceduto di 85 anni aveva un peso polmonare più di quattro volte superiore alla I media maschile a 3.420 g*”

MUCOSA NASALE

Massima espressione di ACE2 nelle cellule secernenti e nelle cellule ciliate è stato rilevato attraverso Il sequenziamento dell'RNA a singola cellula (scRNA-seq) fornisce i profili di espressione delle singole cellule. *Sungnak W et al . SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. Nat Med. 2020;26(5):681-687. doi:10.1038/s41591-020-0868-6*

BRONCHI/TRACHEA

Mucosa tracheo bronchiale integra, l' epitelio a tratti presenta figure di *esfoliazione* (Lukassen S 2020) con presenza intracellulare di *particelle di coronavirus* evidenziabili in microscopia elettronica a trasmissione (TEM) a localizzazione prevalente nelle *cellule ciliate*

Aumento delle secrezioni mucose nelle vie aeree superiori associate spesso a *mucosite neutrofila* della trachea. (osservazioni di A. Borczuk, Weill Cornell Medical Center [2])

SACCO ALVEOLARE

Nelle diverse autopsie i quadri alveolari descritti vanno dalle fasi proliferative a quelle fibrotiche.

Aspetto *enfisematoso* con epitelio a tratti *desquamante*. *Proteinosi*

Danno alveolare diffuso di tipo essudativo associato ad una congestione capillare massiccia spesso accompagnata da microtrombi nonostante in alcuni casi sia stato praticato trattamento anticoagulante (Menter T 2020). Alveoli dilatati a tratti collassati . Un dato interessante è dato dalla presenza di *megacariociti CD61 +* che, probabilmente, rappresentano megacariociti polmonari residenti, con ipercromasia nucleare, localizzati all'interno dei capillari alveolari.

a1. Pneumociti di tipo I

Atrofici, presentano positività immuncitochimica all' *antigene 2019-nCoV*

a2. Pneumociti di tipo II

Proliferanti e secernenti , presenza di *particelle di coronavirus* evidenziabili in TEM [3] effetto citopatico con nuclei allargati, con nucleoli “luminosi” (eosinofili) citoplasma granulare.

a3. Note di metaplasia squamosa

b. Essudati

Immunoistochimicamente simili a quelli descritti nella sindrome da stress respiratorio acuto .

c- Membrana ialina

Sono presenti membrane ialine sparse coerenti con il danno alveolare diffuso fibrinoso. Di aspetto gelatinoso, ricoprono l'epitelio e mostrano spessori differenti nei diversi settori del sacco alveolare [4]

d- Macrofagi

Macrofagi infiltranti CD-68 e CD-13

Positività immuncitochimica all' *antigene 2019-nCoV*

Emofagocitosi; Presenza da diverse a numerose di cellule giganti multinucleate Langhans-like [5]

e- Linfociti

Presenza di linfociti T CD45 positivi

d- Eosinofili

pochi

e- Neutrofili

si attivano producendo NET (Neutrophil Extracellular Traps) attraverso il meccanismo della NETosi [6]
particelle di coronavirus evidenziabili in TEM (Sims AC 2020)

SETTO ALVEOLARE

a. Matrice extracellulare

Fibrosi interstiziale diffusa. Presenza di plasmacellule [7]

b. Rete vascolare

Note di emorragie peri-alveolari

Rami congesti, edematosi a tratti dilatati e /o disseminati da frequenti trombi .

Presenzadi megacariociti CD-61 positivi

c. Microcircolo

Microangiopatia trombotica generalizzata

Dilatazione abnorme del microcircolo (stimata + 20volte)

Proliferazione massiva dell'endotelio (gemme endoteliali)

Ampia infiltrazione di neutrofili nei capillari polmonari, con capillarite acuta associata a deposizione di fibrina e stravasamento nello spazio alveolare. (osservazioni di A. Borczuk, Weill Cornell Medical Center).

Frequenti microtrombi ialini [8]

Presenza di rolling linfo-monocitaria [9]

Conclusioni: Il quadro ricorrente comune a tutte le autopsie è quello di un danno alveolare diffuso, accompagnato da trombosi dei piccoli vasi associata ad una significativa emorragia . Un ulteriore rilievo è, in molti casi, una microangiopatia trombotica che coinvolge i polmoni. Una osservazione ricorrente è anche la sporadica segnalazione di infezioni secondarie. Sebbene la maggior parte dei pazienti abbia ricevuto una terapia antibiotica, l'assenza di infezione batterica o fungina suggerisce che questa non era la principale causa di morte

RETE VASCOLARE

Trombosi venosa profonda in oltre la metà dei pazienti in cui la tromboembolia venosa non era sospettata prima del decesso (casistica di Wichmann D 2020)

RETE LINFATICA

Linfoadenopatia mediastinica con linfonodi ovali ad asse corto

-Linfonodi sentinella, ilari e sottoscapolari

presentano necrosi diffusa (LX 2020) ed aree di apoptosi rilevate attraverso TUNEL (deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end label)

-Milza

La polpa bianca è parzialmente atrofizzata, i *follicoli linfoidi* sono diminuiti con una alterazione significativa del loro rapporto o del tutto assenti.

I linfociti T e B della milza in tutti i casi sono diminuiti in maniera variabile.

Le *cellule B CD20 (+)* tendono ad accumularsi nella guaina linfoide attorno all'arteria splenica.

Il numero di *cellule NK* non cambia in modo significativo

Presenza di *necrosi* diffusa e *apoptosi* linfocitaria rilevata attraverso TUNEL e reazione FAS

Presenza dei macrofagi CD68 CD169 (entrambi ACE+) positivi per nucleoproteina SARS-CoV-2 e FAS protein

E' descritta anche una maggiore infiltrazione di *neutrofili* e occasionalmente di *plasmacellule*; attivazione *macrofagica* e figure di *emofagocitosi* con *particelle di coronavirus* evidenziate in TEM.

Ciò suggerisce che durante l'infezione SARS-CoV-2, i macrofagi CD169 + potrebbero contribuire alla diffusione virale, all'eccessiva infiammazione e alla morte delle cellule linfocitarie ed alla marcata linfoenia[10]

APPARATO DIGERENTE

ESOFAGO

Assenza di lesioni mucosali significative (endoscopia +Ematossilina Eosina)

Infiltrato occasionale di linfociti confinato alla *regione epiteliale squamosa*

Rilevamento (immunofluorescenza) di ACE2 nelle *cellule ciliate* della componente ghiandolare

STOMACO

Assenza di lesioni mucosali significative (endoscopia +Ematossilina-Eosina)

Rilevamento (immunofluorescenza) di ACE2 e della *proteina virocapsidica* nelle cellule principali delle *ghiandole gastriche*

Presenza nella *lamina propria* di numerose plasmacellule e di *linfociti infiltranti* associati ad aree di edema interstiziale

DUODENO

Assenza di lesioni mucosali significative (endoscopia + Ematossina-Eosina)

Rilevamento (immunofluorescenza) di ACE2 e della *proteina virocapsidica* nelle *ghiandole di Brunner*

Presenza nella lamina propria di numerose plasmacellule e di linfociti infiltranti associati ad aree di edema interstiziale

RETTO

Assenza di lesioni mucosali significative (endoscopia + EE)

Rilevamento (immunofluorescenza) di ACE2 e della proteina virocapsidica nelle *cripte di Lieberkun*

Presenza nella lamina propria di numerosi plasmacellule e linfociti infiltranti associati ad aree di edema interstiziale [11]

PANCREAS

Sia le popolazioni cellulari del compartimento esocrino che quello endocrino esprimono l'ACE2 con una intensità simile a quella misurabile a livello polmonare. Il 3% dei pazienti COVID-19 lievi e il 15% con una sintomatologia "importante" presentano danni della funzione pancreatica che vanno da un alterato controllo della glicemia ad una pancreatite necrotizzante (Liu F 2020)

Complessivamente l'enorme casistica clinica cinese riporta che i disturbi gastrointestinali sono rari (circa il 5%), con alterazioni biochimiche della funzionalità epatica (dal 10 al 20%) e oltre a riferire una lieve infiammazione non sono riportati dati relativi a una pancreatite indotta da coronavirus e da COVID-19 in particolare. Dalla letteratura si ricava che esistono coorti di pazienti COVID-19 in cui circa il 40% presentava sintomi gastrointestinali, incluso dolore addominale ed un 16% dei pazienti con grave infezione da COVID-19 e con elevati livelli di amilasi sieriche suggerendo l'esistenza di una profonda disfunzione pancreatica.

La meta-analisi su 83 studi (78.874 pazienti ospedalizzati con COVID-19 confermato in laboratorio) dimostra che il diabete preesistente è significativamente associato a un maggior rischio di malattia grave / critica e mortalità nei pazienti ricoverati in ospedale con COVID-19.

Mantovani A et al . Diabetes as a risk factor for greater COVID-19 severity and in-hospital death: A meta-analysis of observational studies [published online ahead of print, 2020 May 29]. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2020;S0939-4753(20)30207-6.

FEGATO

Ingrossato con infiltrazione cellulare infiammatoria (Liu C ; Xu L 2020)

Dilatazione sinusoidale con infiltrati linfocitari

La steatosi microvescicolare (iatrogena ?) con lieve infiammazione

Necrosi epatica multifocale

Costante risalita del diaframma correlata ad epatomegalia [12]

CARDIOVASCOLARE

Il cuore appare ingrandito, marcata ipertrofia ventricolo sinistro (South AM 2020)

Quando segnalata la dilatazione del ventricolo destro era spesso associata ad un elevato BNP (peptide natriuretico cerebrale)

-Pericardio: Idropericardio diffuso . Pleure ispessite

-Miocardio : Necrosi cardiomiociti con infiltrati linfocitari T CD4+ (diagnosi: miocardite, secondo i criteri di Dallas) . In alternativa poichè i linfociti erano adiacenti, ma non circostanti potrebbero indicare una manifestazione precoce di una miocardite virale in assenza di un significativo infiltrato infiammatorio linfocitario

I periciti del miocardio esprimono alta positività immunohistochimica per ACE2 e flogosi diffusa, se infetti potrebbero necrotizzarsi.

-Endocardio: infiammazione diffusa

-Microcircolo coronario: aspetto ischemico,

Frequente la segnalazione di amiloide senile [13]

ENDOTELIO

Vacuolizzazione delle cellule endoteliali e parziale “denudazione” dell'endotelio (per distacco membrana basale) con concomitante deposizione di fibrina. Disorganizzazione del lining endoteliale, formazione di spazi vuoti tra le cellule endoteliali occupati occasionalmente da leucociti e piastrine. L'infiammazione subendoteliale è sostenuta da piccoli linfociti.[14]

Nello studio Ackerman (Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. NEJM 21 may 2020) in 7 deceduti sono descritte *lesioni endoteliali* associate alla presenza di *virus intracellulare* e ad una *trombosi diffusa con microangiopatia*. I microtrombi alveolari capillari erano 9 volte più frequenti nei pazienti con Covid-19 rispetto a quelli documentati precedentemente e deceduti a seguito influenza A (A [H1N1]) - un ceppo associato con le pandemie influenzali del 1918 e del 2009. (P <0,001). Nei polmoni di pazienti con Covid-19, la quantità di crescita di nuovi vasi si realizza un meccanismo di *angiogenesi intussuscettiva* (no sprouting) più elevata di quella che si realizza di norma nei polmoni di pazienti con influenza (P <0,001).

APPARATO URINARIO

RENE/NEFRONE

-GLOMERULO

Ialinosi delle arteriole afferenti con sporadiche aggregazioni ed ostruzioni lungo il gomito capillare .Presenza di aggregazione ed ostruzione eritrocitaria diffusa lungo i capillari peritubolari. Assenza di frammentazione eritrocitaria o piastrinica e/o trombi di fibrina. In **11 pazienti ipertesi** la ialinosi si presentava più estesa e pronunciata con accumulo di plasma nello spazio di Bowman. La colorazione *CD235a* (specifica per glicoforina A eritrocitaria) ha confermato che l'ostruzione microvascolare era composta prevalentemente da eritrociti. La colorazione della sezione seriale per *CD61* (marker piastrinico) ha mostrato una colorazione minima nello stesso campo, escludendo una attivazione piastrinica.

-MEMBRANA DI FILTRAZIONE

In 2 su 3 pazienti diabetici, i cambiamenti ultrastrutturali caratteristici della nefropatia diabetica erano rilevabili in TEM , compreso un aumento dello spessore della membrana basale glomerulare (lamina rara interna)

-PODOCITI

In parte vacuolizzati e tendenza a deaderire dalla lamina basale. Presenza in TEM di particelle virali (diametro compreso tra 65 e 135nm, lunghezza media delle spike 25nm)

-MESANGIO

Reattivo con quadri suggestivi di rimodellamento (“rappresaglia mesangiale”), tendenza a legare IgA

-TUBULO PROSSIMALE

Dilatazione del lume tubulare, perdita parziale dei microvilli dell'orletto a spazzola e della positività per ACE2 nella porzione apicale. Le cellule riassorbenti presentano vacuoli di dimensioni variabili, sporadiche necrosi. Sono costantemente positive al CD147. A tratti, netto distacco e separazione dell'epitelio tubulare dalla membrana basale (riferito in 4 casi). Note di pielonefrite con focolai multipli di batteri e calchi polimorfonucleari diffusi nel lume dei tubuli con infiltrato infiammatorio reattivo quadro in sintonia con analogo flogosi polmonare (riferito in 2 casi). Presenza in TEM di particelle virali (diametro da 65 a 135nm, spike 25nm).

-TUBULO DISTALE e COLLETTORE

I tubuli distali e il collettore hanno mostrato "swelling" cellulare (rigonfiamento) occasionale associato ad una espansione edematosa dello spazio interstiziale senza una significativa infiammazione. Al contrario presenza di infiltrati linfocitari in aree di fibrosi aspecifica, sottoglomerulari. Presenza in TEM di particelle virali (diametro da 65 a 135nm, spike 25nm)

-ENDOTELIO RENALE

Rilevato attraverso la colorazione CD31 per le cellule endoteliali presenta "swelling" e degenerazione schiumosa (in 5 dei pazienti anziani e con importanti storie di ipertensione e diabete) In 3 casi, sono state identificate alcune aree con trombi frammiste associate a gravi lesioni dell'endotelio. Presenza in TEM di particelle virali (diametro da 65 a 135nm, spike 25nm) [15]

RIPRODUTTIVO MASCHILE

TESTICOLO

Le osservazioni provengono dal lavoro di Yang M Pathological Findings in the Testes of COVID-19 Patients: Clinical Implications che analizza una coorte di 31 pazienti. In nessuno dei reperti istologici è stata dimostrata la presenza del virus mediante RT-PCR e/o microscopia elettronica a trasmissione

TESSUTO INTERTUBULO LEYDIGHIANO

-Interstizio

lieve infiammazione con infiltrato linfo-monocitario.

-Leydig

Il numero medio di cellule di Leydig era significativamente inferiore rispetto al gruppo di controllo (2,2 vs 7,8, $p < 0,001$). Espressione di ACE2 e di TMPRSS2 (microarray eprofiling RNA). Non tutte le Leydig esprimevano l'ACE2 tuttavia, le positive esprimevano anche un numero più elevato di geni associati alla replicazione e alla trasmissione virale. Si ricorda che la sottoregolazione dell'espressione dell'ACE2 correla con una compromissione della spermatogenesi

BARRIERA EMATO TESTICOLARE

Modifiche di alcune caratteristiche immunoistochimiche (non quantizzate)

TUBULO SEMINIFERO

-Nessuna modifica morfologica sia nella spermatogenesi che nella spermiostogenesi

Espressione di ACE2 e di TMPRSS2 (microarray eprofiling RNA)

La Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) indica come la GO Gene Ontology (GO) le categorie di geni associate alla riproduzione virale è attiva negli spermatogoni ACE2 positivi mentre tende progressivamente a diminuire durante la spermiostogenesi (da spermatide a spermatozoi)

-Sertoli

Lesioni da lievi-moderate a gravi con swelling, vacuolazione e rarefazione citoplasmatica, distacco dalle membrane tubolari del basamento (gobbe di ancoraggio)

RIPRODUTTIVO FEMMINILE

Al momento mancano evidenze di una localizzazione del COVID-19. La prevalenza dei recettori di SARS-CoV2 attraverso il sequenziamento a singola cellula non dimostra la co-espressione di ACE2 con proteasi, TMPRSS2, Cathepsin B (CTSB) e Cathepsin L (CTSL) noti per facilitare l'ingresso di SARS-CoV2 nella cellula ospite a livello di utero, miometrio, ovaia, tube di Falloppio ed epitelio mammario suscettibili all'infezione

da SARS-CoV2. Questi risultati suggeriscono che questi distretti siano suscettibili all'infezione da SARS-CoV2. (Goad J 2020)

Goad J et al *Female reproductive tract has low concentration of SARS-CoV2 receptors. Preprint. bioRxiv. 2020;2020.06.20.163097. Published 2020 Jun 22. doi:10.1101/2020.06.20.163097*

[17]

PLACENTA

Presso il *Department of Pathology, della Feinberg School of Medicine*, di Chicago, tra il 18 marzo ed il 5 maggio 2020 sono state esaminate *sedici placente* di gestanti che presentavano *sindrome respiratoria acuta grave da COVID-19*. L'analisi morfologica, confrontata con quadri istologici di placente "normali", evidenziava i segni di una *disfunzione placentare* associata a *malperfusione vascolare materna* (MVM). I vasi materni, ed il relativo *microcircolo*, presentavano anomalie strutturali associati a *trombi* e *microtrombi* che definivano una condizione di *ipercoagulabilità diffusa* in assenza di una infiammazione acuta e/o cronica localizzata. Il *microcircolo deciduale* materno presentava anomalie strutturali a livello delle "cork-screw", le arterie spirali che controllano l'erogazione del flusso di ossigeno e l'emodinamica del villo placentare. Un loro difettoso rimodellamento è il presupposto per una limitata crescita fetale

L'evoluzione della MVM può essere monitorata attraverso l'imaging placentare associato al doppler dell'arteria uterina, correlandolo con i livelli dei fattori di crescita angiogenici (in particolare fattore di crescita della placenta e la tirosina chinasi-1 solubile).

(Shanes ED et al. Placental Pathology in COVID-19 [published online ahead of print, 2020 May 22]. Am J Clin Pathol. 2020;aqaa089. doi:10.1093/ajcp/aqaa089)

GRAVIDANZA

Gli *adattamenti fisiologici* materni durante la gravidanza espongono una gestante che contrae una polmonite ad affrontare un decorso complesso con il rischio di una maggiore morbilità e mortalità materno-fetale. In letteratura i dati sull'effetto delle infezioni da coronavirus e del COVID-19 in particolare sono scarsi e frammentari e pongono il problema della gestione di queste pazienti. *Am J Obstet Gynecol (maggio 2020) riporta una revisione ed una meta-analisi (database Medline, Embase, Cinahl e Clinicaltrials.gov) delle conseguenze di una infezione da coronavirus e da COVID-19.*

In particolare analizza gli esiti della gravidanza (nascita pretermine, preeclampsia, rottura delle membrane, crescita fetale, aborto spontaneo, modalità del parto) ed i risultati perinatali (disturbi fetali, punteggio Apgar <7 a 5 minuti, asfissia, ammissione al reparto di terapia intensiva neonatale, decesso perinatale e neonatale, evidenza di trasmissione verticale). Il 90% delle pazienti ospedalizzate con polmonite da coronavirus erano esposte ad un rischio maggiore di esiti ostetrici avversi, rispetto alla popolazione generale e in particolare i casi di COVID associati a tassi relativamente più alti di nascite pretermine, preeclampsia, parto cesareo e morte perinatale. Non sono segnalati casi di evidenza clinica di trasmissione verticale.

(Di Mascio D et al. Outcome of Coronavirus spectrum infections (SARS, MERS, COVID 1 -19) during pregnancy: a systematic review and meta-analysis [published online ahead of print, 2020 Mar 25]. Am J Obstet Gynecol MFM. 2020;2(2):100107. 10.1016/j.ajogmf.2020.100107)

Sono in molti a ritenere che alcune delle *pre-eclampsie* diagnosticate in corso di Covid-19 siano in realtà delle *Preeclampsia-like syndrome* differenti dalla forma reale. Uno studio prospettico/osservazionale coordinato dalla *Unità Materno fetale del dipartimento di Ostetricia dell'Università di Barcellona* ha valutato la differenza tra i risultati clinici, ecografici e biochimici nelle *preeclampsia reali* e in quelle riscontrabili in gestanti con COVID-19.

In una corte di 42 gravidanze consecutive sono state classificate in base alla gravità della polmonite due gruppi: A (COVID-19 grave:34 casi) e B (COVID-19 non grave: 8casi).Nelle gestanti con sospetta preeclampsia stati valutati oltre ai segni e sintomi caratteristici (ipertensione, proteinuria, trombocitopenia, enzimi epatici) anche parametri specifici correlati (Indice di pulsatilità dell'arteria uterina (UtAPI) e fattori angiogenici (tirosina chinasi-1 solubile fms-simile / fattore di crescita placentare [sFlt-1 / PlGF]). Nel gruppo A sei donne (14.3%) presentavano i segni ed i sintomi della preeclampsia. Tuttavia i livelli di sFlt-1 / PlGF e UtAPI anomali sono stati riportati e dimostrati in un solo caso.

In conclusione. Le gestanti COVID positive possono sviluppare una *pre eclampsia-like sindrome* differenziabile da quella reale attraverso una valutazione dei valori di sFlt-1 / PlGF, LDH e UtAPI. Gli operatori sanitari dovrebbero essere consapevoli della sua esistenza e monitorare con cautela le gravidanze con sospetta preeclampsia.

(Mendoza M et al. Preeclampsia-like syndrome induced by severe COVID-19: a prospective observational study [published online ahead of print, 2020 Jun 1]. BJOG. 2020;10.1111/1471-0528.16339. doi:10.1111/1471-0528.16339)

In condizioni di normalità i *neutrofili* che attraversano le camere di scambio placentari (sistemi tamburo) vengono disattivati dall'azione *trofoblasto* attraverso la dismissione di *vasoactive intestinal peptid*. Il VIP sintetizzato dal *sincizio trofoblasto*, regola l'interazione della placenta con il sistema immunitario. Il VIP crea all'interno della camere un *microambiente antinfiammatorio* capace di modulare il profilo funzionale dei monociti, la polarizzazione M1-M2 e delle cellule T regolatorie, e interferisce con la produzione di ROS. In particolare inibisce la *NETosi* e la conseguente formazione di trappole extracellulari e/o accelera l'apoptosi dei neutrofili, consentendo la loro eliminazione da parte dei macrofagi fagocitici.

Nelle gravidanze complicate ed in corso di una *tempesta citochinica* il *sincizio trofoblasto* rilascia in particolare *interleuchina-8* che annulla l'azione del VIP attivando così la *NETosi* e una condizione di *pre-eclampsia*. Le *trappole extracellulari di neutrofili* (NET) sono anche coinvolte e nella patogenesi di molte malattie autoimmuni, tra cui l'APS la *sindrome vascolare antifosfolipidica*.

Calo G et al.. Trophoblast cells inhibit neutrophil extracellular trap formation and enhance apoptosis through vasoactive intestinal peptide-mediated pathways. Hum Reprod. 2017;32(1):55-64. doi:10.1093/humrep/dew292

Ramhorst R, Calo G, Papparini D, et al. Control of the inflammatory response during pregnancy: potential role of VIP as a regulatory peptide. Ann N Y Acad Sci. 2019;1437(1):15-21. doi:10.1111/nyas.13632

NEONATI COVID

(vedi anche sezione BAMBINI COVID)

I dati attuali (15 giugno 2020) indicano che i livelli di RNA virale nel sangue materno sono bassi e non ci sono prove definitive di infezione della placenta da SARS-CoV-2. I rapporti disponibili finora suggeriscono che la trasmissione perinatale di SARS-CoV-2 può avvenire ma è rara. Tra 179 neonati testati per SARS-CoV2 alla nascita da madri con COVID-19, la trasmissione è stata sospettata in 8 casi, 5 con SARS-CoV-2 RT-PCR nasofaringea positiva e 3 con IgM SARS-CoV-2. Tuttavia, questi casi potevano essere collegati ad una infezione materna in prossimità del parto e non ci sono informazioni sull'esposizione durante il primo o il secondo trimestre di gravidanza. In letteratura sono disponibili dati dettagliati relativi 6 infezioni da SARS-CoV-2 neonatali a esordio precoce (<7 giorni) e 3 a esordio tardivo. Il Centro di Taiwan per il controllo delle malattie ha segnalato 24 bambini positivi al COVID-19 (senza documentazione clinica). I primi sintomi segnalati nei neonati infetti includevano mancanza di respiro, aumento della frequenza cardiaca, vomito, lamenti ed eruzioni cutanee diffuse in tutto il corpo. Successivamente si sono manifestati *trombocitopenia* con *funzionalità epatica anormale*, *emorragia gastrointestinale*. In particolare, uno dei neonati infetti è deceduto con un aumento della frequenza cardiaca, shock refrattario, sanguinamento gastrico, insufficienza multiorgano e coagulazione intravascolare disseminata. E' da segnalare che, la madre aveva avuto un sanguinamento vaginale nel terzo trimestre. Anche se la trasmissione verticale non è stata dimostrata una infezione perinatale da COVID-19 può tuttavia avere effetti devastanti sul neonato, causando problemi come sofferenza fetale, parto prematuro, difficoltà respiratoria, trombocitopenia accompagnata da una funzionalità epatica anomala e persino la morte.

-Zhu H, Wang L, Fang C, et al. Clinical analysis of 10 neonates born to mothers with 2019-nCoV pneumonia. Transl Pediatr. 2020;9(1):51-60. doi:10.2103

-Egloff C et al. Evidence and possible mechanisms of rare maternal-fetal transmission of SARS-CoV-2 [published online ahead of print, 2020 May 18]. J Clin Virol. 2020;128:104447.

BAMBINI COVID

*(vedi anche sezione **BAMBINI COVID**)*

Sono stati segnalati oltre 230 casi di bambini COVID-19 positivi. Secondo una prima valutazione i rappresentano, rispetto agli adulti, circa l'1% -5% dei casi diagnosticati. La patologia pediatrica si presenta in forma meno grave. Il 90% viene diagnosticato come malattia asintomatica, *lieve o moderata* anche se in circa il 6% può presentarsi in forma *grave*, in particolare in bimbi di età inferiore a 1 anno che presentano già una patologia di base. I modelli epidemiologici e clinici di COVID-19 e gli approcci terapeutici nei pazienti pediatrici rimangono ancora poco chiari e inesplorati sebbene siano state pubblicate diverse *revue*. Il trattamento e la terapia si basa fondamentalmente sull'esperienza maturata negli adulti. Finora, non sono stati riportati decessi nella fascia di età pediatrica. Una domanda: cosa fare nei bambini COVID-19 sintomatici ?

-Tezer H et al . Novel coronavirus disease (COVID-19) in children. Turk J Med Sci. 2020;50(SI-1):592-603. Published 2020 Apr 21. doi:10.3906/sag-2004-174

-Forestieri S et al Relationship between pregnancy and coronavirus: what we know [published online ahead of print, 2020 Jun 4]. J Matern Fetal Neonatal Med. 2020;1-12.

-Sanna G et al Children's heart and COVID-19: Up-to-date evidence in the form of a systematic review [published online ahead of print, 2020 May 30]. Eur J Pediatr. 2020;1-9. doi:10.1007/s00431-020-03699-0

SISTEMA NERVOSO

Le osservazioni istologiche disponibili sono frammentarie e descrivono un danno strutturale ai neuroni e alla rete endoteliale che si attuerebbe attraverso una apoptosi indotta dalla tempesta citochinica ed in particolare dall'azione combinata di TNF-alfa ed IL-1 e IL-6. [18]

IN SINTESI:

Le lesioni significative :

- Infiammazione essudativa alveolare
- Infiammazione interstiziale,
- Proliferazione dell'epitelio
- Formazione di una membrana ialina.
- Disfunzione endoteliale
- Vasculite
- Trombosi intravascolare

Da una prima valutazione le osservazioni istologiche suggeriscono come il COVID-19- si localizza anche e soprattutto in organi diversi dal albero respiratorio ed in particolare, in quei distretti tissutali con alta espressione di ACE2 e l'enzima di conversione dell'angiotensina come possibili recettori cellulari per COVID-19. Come questo "nuovo" coronavirus diffonda agli organi extrapolmonari rimane un enigma. È stata descritta una variazione genomica della SARS-CoV-2 circolante con una differente virulenza che necessita di ulteriori approfondimenti.

Significato e considerazioni sui singoli reperti

[1] ISPEZIONE

L'ispezione è da correlare, quando disponibili, a precedenti ECO, TAC, NMR . In particolare la U-HRCT (ultra-high-resolution CT) può evidenziare i bronchioli terminali fino ai lobuli secondari di Reid e segnalare eventuali anomalie dimensionali presenti.

[2] TRATTO NASO-TRACHEA –BRONCHI

Il sequenziamento dell'RNA a singola cellula (scRNA-seq) fornisce i profili di espressione delle singole cellule. Per ottenere maggiori informazioni sui geni associati all'ACE2 nella mucosa nasale, utilizzando l'analisi di correlazione di Spearman Benjamini e Hochberg, risulta che i geni iper espressi sono quelli associati al metabolismo dei carboidrati, probabilmente a causa del loro ruolo nella sintesi della mucine nelle cellule

caliciformi, ma principalmente un consistente numero di geni associati alle funzioni immunitarie, in particolare le funzioni immunitarie innate e antivirali (IDO1, IRAK3, NOS2, TNFSF10, OAS1 e MX1) dove l'espressione di questi geni è leggermente più elevata nelle cellule caliciformi. Data la loro esposizione ambientale e in considerazione degli enzimi associati al recettore è plausibile che le cellule epiteliali della mucosa nasale possano essere condizionate nell'esprimere i geni immuno-associati in grado di ridurre la suscettibilità virale. (vedi Sungnak W et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. Nat Med. 2020;26(5):681-687. doi:10.1038/s41591-020-0868-6)

Sono stati descritti i livelli di espressione di ACE2 e TMPRSS2 nelle cellule derivate da rami bronchiali sottosegmentali ottenuti per *sequenziamento nucleare dell'RNA* per singola cellula. ACE2 è prevalentemente espresso in un sottotipo cellulare, "cellula secretoria transitoria", che mostra una maggiore vulnerabilità per l'infezione da COVID-19. (Lukassen S.2020) come ulteriormente convalidato da modelli in vitro su cellule ciliate umane (Sims AC .2005)

[3] PNEUMOCITI

La sofferenza marcata dei *pneumociti di tipo-1* e l'alterato rilascio e produzione di fattori surfattanti da parte dei *pneumociti tipo-2* suggerisce una profonda interferenza nello scambio ematosico.

Gli anziani con *sindrome metabolica* presentano una scarsa capacità di ossigenazione tessutale a causa dei bassi livelli di eme ossigenasi intracellulare rendendoli praticamente più vulnerabili alla malattia, in particolare a livello alveolare sede dello scambio ematosico. In corso di COVID-19 si determina un'ulteriore riduzione della ossigenazione HO-1 correlata. Da una analisi dei ricoveri ospedalieri in corso di COVID-19 si ricava un dato apparentemente paradossale: vengono ricoverati più pazienti non fumatori rispetto ai fumatori. Questo dato inaspettato si può spiegare in quanto nei fumatori si realizza una sintesi compensativa di HO-1. Molte terapie con proprietà antivirali ed alcuni anestetici (sevoflurano o isoflurano), ma in particolare, statine, curcumina, resveratrolo e melatonina inducono la sintesi di emo ossigenasi. Philip Hopper endocrinologo della Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Medicine, University of Colorado non esclude un "effetto serendipity" da studi controllati finalizzati a prevenire e trattare la malattia COVID-19 (Hooper PL. COVID-19 and heme oxygenase: novel insight into the disease and potential therapies [published online ahead of print, 2020 Jun 4]. Cell Stress Chaperones. 2020;1-4. doi:10.1007/s12192-020-01126-9)

Attraverso il sequenziamento dell'RNA a singola cellula i *pneumociti di tipo 2* maschili coesprimono TMPRSS2 e ACE2 in quantità superiori a quelli femminili; svolgono funzioni essenziali per l'integrità alveolare attraverso il controllo del differenziamento delle *cellule staminali* e la qualità dei *tensioattivi prodotti*. La loro morte può contribuire al collasso alveolare e all'insufficienza respiratoria. La maggiore espressione nei maschi è stata correlata al maggior tropismo del Sars-cov-2 (citato in Song H et al. Expression of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor, and TMPRSS2 in prostate epithelial cells. Preprint. bioRxiv. 2020;2020.04.24.056259. Published 2020 Apr 25.)

[4] MEMBRANA IALINA

La *membrana ialina* interferisce drammaticamente con i meccanismi che regolano lo scambio ematosico. Sul suo possibile ruolo e come potenziale target terapeutico (Vedi Sinossi 6)

[5] SISTEMA MACROFAGICO M1/M2

I dati immunistochemici suggeriscono una rottura dell'equilibrio M1/M2 con la polarizzazione degli M1 ad attività proflogena nei confronti degli M2. La polarizzazione dei macrofagi è sempre più riconosciuta come un importante fattore patogenetico nelle malattie infiammatorie. I macrofagi M1 proinfiammatori promuovono le risposte T helper (Th) 1 e macrofagi M2 d'azione antiflogistica promuovono le risposte Th2. CD68 e CD163 sono utilizzati per identificare i macrofagi nelle sezioni tissutali. Tuttavia, la caratterizzazione dei macrofagi polarizzati in situ può essere evidenziata dall'analisi dei fattori di trascrizione, pSTAT1 e RBP-J per gli M1 e CMAF per gli M2. Nel COVID-19 è stato descritto un sottogruppo di M1 con geni attivati per la riparazione dei tessuti che inducono fibrosi e suggerendo che la patogenicità dei macrofagi infiltranti

potrebbe estendersi oltre la promozione dell'infiammazione acuta e promuovere le complicanze fibrotiche osservate in pazienti sottoposti a ventilazione meccanica flogistica [IL-6, IL-7, fattore di necrosi tumorale (TNF), chemochine infiammatorie tra cui il ligando 2 di CC-chemochina (CCL2), il CCL3 e il ligando di chemochina CXC 10 (CXCL10), nonché della forma solubile della catena α del recettore IL-2.]. Attivazione del sistema "monocito- macrofago" con progressiva trasformazione (resting, primed, activated, full activated) che culmina nella formazione di *cellule giganti* (Langhans like).

I possibili meccanismi che contribuiscono all'iperattivazione dei macrofagi derivati dai monociti che si osserva in pazienti con COVID-19.

La produzione ritardata dell' *interferone di tipo I* che porta ad un aumento degli effetti citopatici e all'aumentato rilevamento delle minacce microbiche promuove il rilascio avanzato di chemioattraenti monociti da parte di cellule epiteliali alveolari (e probabilmente anche da macrofagi e cellule stromali), portando a un reclutamento prolungato di monociti nel sangue nei polmoni. I *monociti* si differenziano in *macrofagi pro-infiammatori* attraverso l'attivazione del trasduttore del segnale Janus chinasi (JAK) e l'attivatore delle vie di trascrizione (STAT). I natural killer (NK) e cellule T promuovono ulteriormente il reclutamento e l'attivazione di macrofagi derivati da monociti attraverso la produzione di *fattore stimolante le colonie granulociti-macrofagi* (GM-CSF), fattore di necrosi tumorale (TNF) e interferone- γ (IFN γ). I *fosfolipidi ossidati* (OxPLs) si accumulano nei polmoni infetti e attivano i macrofagi derivati dai monociti attraverso la via del recettore *Toll-like 4* (TLR4) –TRAF6 – NF- κ B. Il rilevamento dei virus può innescare l'attivazione di *TLR7* attraverso il riconoscimento virale di RNA a singolo filamento. È possibile che gli *interferoni di tipo I* inducano l'espressione dei recettori di ingresso coronavirus 2 (SARS-CoV-2) della sindrome respiratoria acuta grave, consentendo al virus di accedere al citoplasma dei macrofagi e di attivare l'*inflammasoma NLRP3*, portando alla secrezione di *IL-1 β maturo* e / o *IL-18*. L'*IL-1 β* può amplificare l'attivazione dei macrofagi derivati da monociti in modo autocrino o paracrino, ma può anche ridurre la produzione di *interferone di tipo I* nei polmoni infetti. L'impegno dei *recettori Fc γ* (*Fc γ Rs*) da parte dei complessi immunitari *IgG anti-spike* proteici può contribuire ad aumentare l'attivazione infiammatoria dei macrofagi derivati dai monociti.

[6] NET (Neutrophil Extracellular Trap) e NETosi

I neutrofili neutralizzano o eliminano i patogeni. Arsenale per neutralizzare o eliminare i patogeni attraverso :Fagocitosi, Produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), Rilascio di potenti enzimi battericidi mediante degranolazione, Formazione di trappole extracellulari di per NETosi. Le trappole si formano dall'estrusione di filamenti di DNA nell'ambiente extracellulare, dove possono irretire agenti patogeni invasivi. L'attività degli enzimi litici neutrofili elastasi (NE) o mieloperossidasi (MPO), la loro attività antimicrobica si amplifica all'interno delle reti. La NETosi può comportare la morte dei neutrofili (NETosi litica) o comportare la loro sopravvivenza (NETosi vitale). La cascata di segnalazione correlata alla NETosi comprende la produzione di ROS da parte della nicotinamide adenina dinucleotide fosfato (NADPH) ossidasi, la traslocazione nucleare di NE e MPO e la deaminazione dell'istone da parte del peptidil arginina deiminasi 4 (PAD4). Recentemente è stata scoperta una nuova forma di NETosi chiamata ApoNETosi. Questa forma unica, innescata dall'irradiazione UV, comporta l'apoptosi concomitante e la NETosi.

[7] FIBROSI INTERSTIZIALE

Il tessuto fibrotico interstiziale è assimilabile ad un biocomposito (PAS-ALCIAN positivo) formato da una miscela di proteoglicani e glicoproteine in cui sono dispersi ibridi di collageni (I, III, VI) tipici dello stato flogistico. La fibrina è in gran parte responsabile delle lesioni polmonari e dell' ipossemia. Il *plasminogeno* è un regolatore chiave della degradazione della fibrina, attivo nella guarigione delle ferite e nella risoluzione delle infezioni. In una corte di 13 pazienti l' inalazione per nebulizzazione di *plasminogeno liofilizzato* ha dimostrato essere efficace nel trattamento delle lesioni polmonari e nella gestione dell' ipossemia da COVID-19. (Per gli interessati:Yuanyuan Wu et al. *Plasminogen Improves Lung Lesions and Hypoxemia in Patients With COVID-19 QJM 2020 Apr 10;hcaa121.PMID: 32275753*)

[8] ALVEOLITE

Proteine, fluidi, globuli bianchi e detriti del tessuto polmonare distrutto si accumulano a livello alveolare determinando l'ispessimento della parete. L'insieme di queste modificazioni è in grado di determinare un significativo calo della pressione intra-alveolare indispensabile per un corretto scambio ematosico. Le note diffuse di angiogenesi riparativa abortita (ferma allo stadio gemma solida) ed un neo endotelio presumibilmente già in disfunzione stimolano importanti riflessioni cliniche

[9] ROLLING

Il "rolling" linfomonocitario suggerisce una *peripolesi attiva* (migrazione di cellule dal sangue al parenchima alveolare) attraverso un endotelio nettamente in disfunzione.

Le considerazioni [da 1 a 9] delineano il quadro complessivo di una polmonite interstiziale acuta associata a coinvolgimento microvascolare con deposizione di fibrina intra- ed extravascolare, con intrappolamento intravascolare di neutrofili e, frequenti microtrombi arteriosi. I risultati tomografici correlano con una progressione da moderata a grave degli infiltrati polmonari. L'allargamento dei vasi polmonari è stato osservato nelle aree in cui tendono a svilupparsi nuovi infiltrati polmonari; nella scansione TC è considerato un segnale radiologico predittivo precoce di danno polmonare.

Dalla analisi strutturale, ultrastrutturale ed immunoistochimica delle alterazioni complessive dell'albero respiratorio è possibile ricostruire la progressione dell'infezione e definire tre fasi cliniche strettamente correlate tra loro (vedi anche Sinossi da 1- 4, 14,24)

1-Fase asintomatica

L'infezione inizia a svilupparsi nella *mucosa nasale* dove la sua diffusione all'orofaringe viene rallentata o inibita da *meccanismi molecolari* di difesa innati (individuali) dislocati nelle porzioni apicali ed intercellulari dell'epitelio di rivestimento (Cellule Ciliate, Caliciformi, Brush Cell) mucosali e dagli automatismi della *risposta immune adattativa innata e individuale*. (vedi Sinossi da 1- 4, 14,24)

2- Fase lievemente moderata

Il danneggiamento dell'epitelio mucosale tracheo-bronchiale indotto dal virus può essere riparato se vengono risparmiate le cellule *basali cheratina positive* che, essendo cellule proto-differenziate possono rigenerare l'epitelio.

Questo non accade a livello dei *bronchioli respiratori* dove il virus distrugge le "*club cells staminali*" per azione citopatica diretta determinando un concomitante aggravamento delle condizioni respiratorie.

3- Fase devastante

si sviluppa e si amplifica all'interno della cavità alveolare dove il *Pneumocita 2* che esprime *ACE-2* e (forse) il *Pneumocita 1* sono sotto il controllo del COVID. La perdita dei Pneumociti 2 provoca insufficienza respiratoria a causa della diminuita produzione di tensioattivo polmonare, con conseguente edema e perdita della possibilità di un repair alveolare essendo i Pneumociti 2 progenitori dei Pneumociti 1. Queste modificazioni determinano alterazioni profonde nello *scambio ematosico* con blocco progressivo del normale riassorbimento attivo del fluido alveolare. Il *danno endoteliale* successivo porta alla trasudazione delle proteine plasmatiche, alla formazione di *membrane ialine* e ad un essudato infiammatorio, caratteristico dell'ARDS. Una riparazione del danno epiteliale è teoricamente possibile ma è dipendente dal numero di Pneumociti 2 ancora funzionanti e dalla loro capacità di rispondere al danno subito (resilienza attraverso la espressione di heat shock protein) . Potrebbero attivarsi anche *percorsi di riparazione epiteliale alternativi* che determineranno per i dimessi dalla terapia intensiva una malattia polmonare residua di non facile gestione.

Mason RJ. Thoughts on the alveolar phase of COVID-19 [published online ahead of print, 2020 Jun 3]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2020;10.1152/ajplung.00126.2020. doi:10.1152/ajplung.00126.2020

[10] RETE LINFATICA

I cambiamenti strutturali a carico della milza non sono correlati all'uso di *corticosteroidi a basso dosaggio* ma sono presumibilmente da considerare come una conseguenza dell'azione diretta del virus e delle reazioni indotte dal sistema immunitario. I *macrofagi CD169 +* potrebbero contribuire alla diffusione virale, all'eccessiva infiammazione e alla morte delle cellule linfocitarie ed alla marcata lifopenia (*Matthew D Park Macrophages: A Trojan Horse in COVID-19? Matthew D Park 1 Nat Rev Immunol . 2020 Apr 17;1.*)

[11] DIGERENTE

Sebbene SARS-CoV-2 possa penetrare principalmente nelle cellule attraverso la mucosa nasale *l'intestino tenue* può anche essere un importante sito di ingresso. Gli *enterociti* sono ricchi di recettori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) -2. I sintomi gastrointestinali iniziali che compaiono precocemente nel corso di Covid-19 supportano questa ipotesi. Inoltre, i virioni SARS-CoV vengono rilasciati preferenzialmente in modo apicale e non nella porzione basale delle cellule delle vie aeree. Pertanto, SARS-CoV dalla cavità nasale può migrare "passivamente" mediante *clearance mucociliare* e ottenere l'accesso al tratto gastrointestinale attraverso un'esposizione luminale. Inoltre, studi post mortem su topi infetti da SARS-CoV descrivono danni diffusi al tratto gastrointestinale, con *l'intestino tenue* che mostra segni di *marcata desquamazione enterocitaria, edema*, dilatazione dei piccoli vasi e infiltrazione di linfocitaria estesa ai linfonodi mesenterici con grave emorragia e necrosi. Infine, l'intestino tenue è ricco di *furina*, una proteasi serina che può scindere la *proteina spike* del coronavirus in due "pinchers" facilitando l'interazione del virione sia al recettore ACE che alla membrana cellulare. **Per i dettagli: Mönkemüller K et al. COVID-19, coronavirus, SARS-CoV-2 and the small bowel. Rev Esp Enferm Dig. 2020;112(5):383-388.**

Gli effetti della tempesta citochinica aumentano la permeabilità e la disbiosi intestinale, sopprimendo così i livelli di acido grasso a catena corta, butirrato e aumentando il lipopolisaccaride circolante (LPS). Le alterazioni del butirrato e dell'LPS possono favorire la replicazione virale e la gravità dei sintomi dell'ospite. **(riportato in Anderson G et al. Melatonin: Roles in influenza, Covid-19, and other viral infections. Rev Med Virol)**

[12] FEGATO

L'analisi di **11 studi osservazionali** per un totale di **2034** individui adulti (età media 49 anni [IQR 45-54], 57,2% uomini). La prevalenza complessiva di epatopatia cronica al basale era del **3%** (IC 95% 2% -4%; I2 = 29,1%). Gli individui con grave malattia COVID-19 presentavano alterazioni rilevanti degli enzimi epatici e del profilo coagulativo, probabilmente a causa della risposta immunitaria innata contro il virus.

Mantovani A et al Coronavirus disease 2019 and prevalence of chronic liver disease: A meta-analysis. Liver Int. 2020;40(6):1316-1320.

Il danno epatico ha maggiori probabilità di essere causato da reazioni avverse ai farmaci e da una infiammazione sistemica in pazienti gravi sottoposti a trattamento medico. Pertanto, il monitoraggio e la valutazione della funzionalità epatica devono essere intensificati durante il trattamento di tali pazienti.

Durante le anomalie metaboliche, l'espansione del grasso metabolicamente attivo ("condizione di grasso eccessivo") è parallela ai cambiamenti infiammatori cronici, allo sviluppo dell'insulino-resistenza e all'accumulo di grasso nella configurazione del NAFLD. L'interazione deleteria delle vie infiammatorie cronicamente attive nel NAFLD e acutamente nei pazienti COVID-19, può spiegare il danno epatico in un sottogruppo di pazienti e potrebbe condizionare un esito peggiore nei pazienti con NAFLD metabolicamente compromessi. In un sottogruppo di pazienti con NAFLD, la fibrosi epatica sottostante potrebbe rappresentare un fattore di rischio aggiuntivo e indipendente per la grave malattia di COVID-19, indipendentemente dalle comorbilità metaboliche. Le evidenze iniziali suggeriscono che un aumento della fibrosi epatica nel NAFLD potrebbe influenzare l'esito di COVID-19. (vedi Portincasa Pet al A. COVID-19 and nonalcoholic fatty liver disease: two intersecting pandemics [published online ahead of print, 2020 Jun 26]. *Eur J Clin Invest.* 2020;e13338. doi:10.1111/eci.13338

[13] CARDIOVASCOLARE

Numerosi studi hanno mostrato un aumento dei biomarcatori cardiaci, principalmente troponine cardiache I e T nei pazienti infetti, specialmente quelli con patologie gravi. La miocardite è descritta come un'altra causa

di morbilità tra i pazienti con COVID-19 e danno cardiaco acuto misurati attraverso troponine ad alta sensibilità elevata al momento del ricovero o durante il ricovero.

Si ritiene che COVID-19 possa avere un effetto sia diretto che indiretto sul sistema cardiovascolare; tuttavia, il meccanismo principale del coinvolgimento cardiovascolare sottostante è ancora incerto. Di particolare interesse è il ruolo dell'enzima 2 di conversione dell'angiotensina, che è ben noto per i suoi effetti cardiovascolari ed è anche considerato importante nella patogenesi di COVID-19. I meccanismi esatti di come SARS-CoV-2 può causare lesioni miocardiche non sono chiaramente compresi. I meccanismi proposti di danno miocardico sono danni diretti ai cardiomiociti, infiammazione sistemica, fibrosi interstiziale miocardica, risposta immunitaria mediata da interferone, risposta esagerata di citochine da parte delle cellule T di supporto di tipo 1 e 2, oltre alla destabilizzazione della placca coronarica e ipossia

"Intraluminal Carotid Artery Thrombus in COVID-19: Another Danger of Cytokine Storm?" È quello che si è chiesto il team del *Department of radiology* del Henry Ford Health System, di Detroit in particolare se la *tempesta citochinica* possa provocare la rottura di *placche aterosclerotiche vulnerabili*, con conseguente trombosi e ictus ischemico acuto. Vengono analizzati 6 pazienti con COVID-19 con ictus ischemico acuto causato dal un trombo arterioso carotideo intraluminale. Tutti i pazienti presentavano fattori di rischio vascolare tra cui *diabete* (83%), *iperlipidemia* (100%) e *fumo* (17%). Quattro pazienti hanno presentato infarti di grandi dimensioni con punteggi *NIHSS iniziali* di 24-30. Durante il loro ricovero in ospedale, tutti presentavano livelli elevati di *proteina D-dimero* e *C-reattiva*, 5 pazienti avevano elevati livelli di *lattato deidrogenasi* e *ferritina*, 3 di *interleuchina-6* e 2 avevano di *troponina*.

-Mohamud AY et al. Intraluminal Carotid Artery Thrombus in COVID-19: Another Danger of Cytokine Storm? [published online ahead of print, 2020 Jul 2]. AJNR Am J Neuroradiol. 2020;10.3174/ajnr.A6674.

Cardiologia e COVID-19: quello che sappiamo ad ottobre 2020

Guzik TJ et al COVID-19 and the cardiovascular system: implications for risk assessment, diagnosis, and treatment options. Cardiovasc Res. 2020 Aug 1;116(10):1666-1687

I pazienti cardiovascolari hanno un **rischio maggiore** di sviluppare COVID-19 grave e di andare incontro alle sue complicanze. Misure preventive intensive dovrebbero essere attuate in accordo con le linee guida dell'OMS e del CDC. In particolare un uso più ampio degli strumenti di telemedicina nel monitoraggio quotidiano dei pazienti durante l'epidemia per limitare la loro possibile esposizione virale.

L' **eterogeneità delle risposte** tra i singoli pazienti indica che è improbabile che possa essere considerato come un singolo fenotipo di malattia. Le caratteristiche dell'ospite favoriscono una progressione più o meno grave della malattia.

Le **complicanze cardiache** più comuni includono aritmia (FA, tachiaritmia ventricolare e fibrillazione ventricolare), danno cardiaco (hs-cTnI e CK elevati), miocardite fulminante e insufficienza cardiaca.

Le complicanze cardiache compaiono spesso > 15 giorni dopo l'inizio della febbre (sintomi)

La valutazione del danno cardiaco (in particolare i livelli di cTnI) immediatamente dopo il ricovero per COVID-19.

Il monitoraggio durante la degenza ospedaliera, può aiutare a identificare un sottogruppo di pazienti con possibile danno cardiaco e quindi prevedere la progressione delle complicanze COVID-19.

L' **ipertensione** è una delle più comuni comorbidità associate al rischio, ma questa associazione è in relazione all'età. Non è chiaro infatti se l'ipertensione sia un fattore di rischio indipendente dall'età degli esiti associati a COVID-19. A scopo precauzionale, è essenziale che l'ipertensione rimanga ben controllata.

Non ci sono prove che gli ACEI o gli ARB siano associati a prognosi peggiore pertanto i pazienti non devono interrompere l'uso di questi farmaci.

Sulla base di prove sperimentali in altre condizioni, in particolare gli ARB e possibilmente anche gli ACEI potrebbero esercitare un'influenza potenzialmente protettiva nel contesto di COVID-19.

COVID-19 può portare a **instabilità della placca** e IM, che ha una causa comune di morte nei pazienti con SARS / COVID-19.

Tuttavia, l'evidenza dell'efficacia della PCI primaria per IM di tipo 2 durante la malattia virale acuta è limitata.

Alcuni dei farmaci utilizzati nel trattamento del COVID-19 possono contribuire alla tossicità cardiaca, mentre la loro efficacia nel trattamento del COVID-19 non è confermata.

[14] ENDOTELIO

Lo studio Ackeman ha confrontato le autopsie di sette pazienti covid-19 con i dati ricavati da 7 autopsie di deceduti per polmonite causata dal sottotipo H1N1 del virus dell'influenza A (A [H1N1]) - un ceppo associato con le pandemie influenzali del 1918 e del 2009. Lo studio riporta i risultati di una analisi dell'espressione genica correlata all'infiammazione che esaminava 249 geni utilizzando un nCounter Inflammation Panel (Tecnologie NanoString) ha rivelato somiglianze e differenze tra i campioni nel gruppo Covid-19 e quelli nel gruppo influenzale. Un totale di 79 geni correlati all'infiammazione erano regolati in modo differenziato solo in campioni di pazienti con Covid-19, mentre 2 geni erano regolati con modalità differenti nei pazienti con influenza. Viene proposto un modello di espressione condiviso per 7 geni.

La centralità dell'endotelio è sufficientemente definita da questa miscellanea (Varga Z. 2020)

Paziente trapiantato renale di 71 anni, con malattia coronarica e ipertensione arteriosa. Le sue condizioni sono peggiorate in seguito alla diagnosi di COVID-19 e ha richiesto la ventilazione meccanica. Il paziente è deceduto l'8 giorno. **L'analisi post mortem del rene trapiantato ha in TEM strutture di inclusione virale nelle cellule endoteliali**. Inoltre: presenza di cellule infiammatorie associate all'endotelio, evidenze di corpi apoptotici, nel cuore, nell'intestino tenue e nei polmoni insieme ad accumulo di cellule mononucleate è quadri di congestione vascolare.

Donna di 60 con disfunzione renale al 16 ° giorno, una ischemia mesenterica ha portato alla rimozione dell'intestino tenue necrotico. L'insufficienza circolatoria si è verificata nel quadro di una insufficienza cardiaca destra conseguente ad un infarto del miocardio con elevazione del segmento ST e l'arresto cardiaco che ha provocato la morte. L'istologia post mortem ha rivelato una **endoteliite linfocitaria nei polmoni, nel cuore, nei reni e nel fegato**, nonché una necrosi epatica. A livello dell'intestino tenue presenza di endotelialite dei vasi sottomucosi.

Paziente di 69 anni, iperteso aveva sviluppato insufficienza respiratoria a seguito di COVID-19 e necessitava di ventilazione meccanica. L'ecocardiografia mostrava una ridotta frazione di eiezione ventricolare sinistra. Il collasso circolatorio ha indotto una ischemia mesenterica che ha comportato una resezione dell'intestino tenue. L'istologia relativa ha rivelato un'endoteliite prominente dei vasi sottomucosi e dei corpi apoptotici. Il paziente è sopravvissuto. Alcune considerazioni:

L'endotelio vascolare è un organo paracrino, endocrino e autocrino attivo indispensabile nella regolazione del tono vascolare e per il mantenimento dell'omeostasi vascolare. La *disfunzione endoteliale* sposta l'equilibrio vascolare verso una maggiore vasocostrizione con *ischemia, infiammazione, edema tissutale associato* e tendenza alla coagulazione. La presenza di elementi virali all'interno delle cellule endoteliali e l'accumulo di cellule infiammatorie, associata ad apoptosi suggerisce che l'infezione da SARS-CoV-2 facilita l'induzione dell'*endoteliite* in diversi organi insieme alle inevitabili conseguenze cliniche. (Varga Z. 2020).

Questa ipotesi fornisce un razionale per le terapie finalizzate alla stabilizzazione dell'endotelio mentre si contrasta la replicazione virale, in particolare con farmaci anti-infiammatori anti-citochine, ACE-inibitori e statine. Questa strategia potrebbe essere particolarmente rilevante per i pazienti "fragili" con disfunzione endoteliale preesistente, associata a fumo, ipertensione, diabete, obesità e malattie cardiovascolari accertate.

[15]URINARIO

Le osservazioni sono in gran parte desunte da uno studio condotto su **26 pazienti** (Hua Su 2020) deceduti per insufficienza respiratoria a causa di COVID-19. È interessante notare che i principali partner di *CD147*, le *ciclofiline*, svolgono un ruolo importante nel processo di replicazione del coronavirus e l'inibitore delle ciclofiline, la *ciclosporina*, può efficacemente sopprimere la propagazione intracellulare del virus.

Una frazione significativa dei pazienti COVID-19 mostra anomalie della funzionalità renale. Studi retrospettivi su pazienti ricoverati in ospedale con COVID-19 a Wuhan, in Cina, riportano un'incidenza del 3% -7% che costituisce un indicatore di prognosi sfavorevole. La causa dell'insufficienza renale in COVID-19 non è nota, ma un meccanismo ipotizzato è l'infezione renale diretta da parte del virus causale, SARS-CoV-2. La

vacuolizzazione isometrica tubulare osservata con microscopia ottica, correlata con vescicole a doppia membrana contenenti vacuoli osservata in microscopia elettronica, può essere un utile marker istologico per l'infezione attiva da SARS-CoV-2 in corso di biopsie renale o nei reperti autoptici. L'interessamento glomerulare in corso di COVID-19 va differenziato dalla *glomerulopatia collassante* (CG) è una variante istologica aggressiva e distinta della glomerulosclerosi focale segmentale caratterizzata da collasso del cieco glomerulare segmentario o globale con ipertrofia e iperplasia dei podociti sovrastanti. Questa condizione potrebbe essere una conseguenza della tempesta citochinica. In sintesi oltre all'effetto citopatico diretto della SARS-CoV2 sul "sistema nefrone", esiste anche l'effetto indiretto sulla immunità cellulo-mediata, la tempesta di citochine e il dialogo incrociato tra organi con possibili effetti sistemici. Questi meccanismi sono interconnessi e hanno profonde implicazioni terapeutiche che impongono la *rimozione extracorporea* di citochine infiammatorie.

[16] APPARATO RIPRODUTTIVO MASCHILE

Le osservazioni disponibili suggeriscono come il testicolo sia un potenziale bersaglio dell'infezione da SARS-CoV-2 con ricadute imprevedibili nella fisiopatologia della riproduzione umana. Anche il virus SARS, il "cugino" della SARS-CoV-2 che condivide l'omologia genetica al 78% e nella stessa famiglia e genere, utilizza l'ACE2 per invadere le cellule in modo simile. Sorprendentemente, una serie di studi autoptici hanno indicato che la SARS provoca *orchite* caratterizzata da distruzione diffusa delle cellule germinali, pochi o nessun spermatozoo nel tubulo seminifero, membrana basale ispessita e infiltrazione dei leucociti. Tuttavia, la sequenza del virus SARS non è stata rilevata nel testicolo attraverso l'ibridazione in situ. La presenza di IgG nell'epitelio seminifero del testicolo SARS rifletteva gli effetti secondari di una risposta immunitaria drammatica. I sopravvissuti maschi di COVID-19, in particolare quelli con aspettative riproduttive, dovrebbero essere esaminati per la funzione testicolare e la funzione riproduttiva dopo il periodo di recupero. *TMPRSS2* (il marker più frequentemente alterato nel carcinoma prostatico primario) è di fatto un fattore critico che consente l'infezione cellulare da coronavirus, incluso SARS-CoV-2. La modulazione della sua espressione da parte degli *steroidi sessuali* potrebbe spiegare la prevalenza maschile a contrarre infezioni gravi, contribuire alla predominanza maschile di infezioni gravi e, dato che *TMPRSS2* non ha funzioni indispensabili conosciute e sono disponibili inibitori, è un possibile bersaglio interessante per la prevenzione o il trattamento delle infezioni virali respiratorie.

Attraverso il sequenziamento dell'RNA a singola cellula nell'epitelio prostatico le *cellule di hillock* e le *club cells* esprimono la più alta percentuale *ACE2* e *TMPRSS2*. Poiché entrambe queste proteine sono considerate necessarie per l'infezione, queste cellule a doppio positivo potrebbero potenzialmente fungere da riserve per l'infiltrazione di SARS-CoV-2 e il conseguente danno strutturale. È importante ricordare che queste cellule costituiscono circa lo 0,07% di tutte le cellule epiteliali della prostata. (*Song H et al Expression of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor, and TMPRSS2 in prostate epithelial cells. Preprint. bioRxiv. 2020;2020.04.24.056259. Published 2020 Apr 25.*)

[17] APPARATO RIPRODUTTIVO FEMMINILE

Ang II, ACE2 e Ang- (1-7) regolano lo sviluppo e l'ovulazione del follicolo ovario, modulano l'angiogenesi e la degenerazione luteale e influenzano anche i cambiamenti regolari nel tessuto endometriale e nello sviluppo dell'embrione. Tenendo conto di queste attività, COVID-19 può "teoricamente" interferire con le funzioni riproduttive femminili regolando *ACE2*. In assenza di evidenze sperimentali è ipotizzabile che oltre alle *droplets* e alla trasmissione dei contatti, esista anche la possibilità di trasmissione da madre a figlio ed attraverso pratiche sessuali.

Covid- 19 e gravidanza: La storia di Vittoria

Questo rapporto mette in evidenza i dettagli su una gravida COVID-19 che purtroppo non è sopravvissuta. Questa donna di 27 anni (che chiamerò Vittoria) gestante di *30 settimane* è stata ricoverata con febbre, mialgia e tosse. Le indagini di laboratorio hanno mostrato *leucopenia* e *linfopenia*, nonché un aumento dei livelli di *creatinina* e *CRP*. La prima radiografia del torace (opacità a chiazze bilaterali deboli) e la TAC (alcune opacità subpleurali di vetro smerigliato associate all'ispessimento pleurico) non sembravano essere tipiche dell'infezione polmonare iniziale COVID-19, tuttavia è stato avviato il trattamento per COVID-19. Nei giorni

successivi a causa di difficoltà respiratorie, Vittoria fu intubata e sottoposta a ventilazione meccanica. Il feto alla nascita presentava un punteggio di *Apgar pari a 0* e non ha reagito al protocollo di rianimazione cardiopolmonare neonatale. Infine, a causa del peggioramento scandito dai risultati clinici e di laboratorio e dei correlati di imaging, in Vittoria è subentrata una *insufficienza multiorgano*. L'autopsia e le valutazioni istopatologiche dei polmoni hanno evidenziato una polmonite virale (effetto citopatico virale e un lieve aumento dello spessore della parete alveolare) e ARDS (membrana ialina). Inoltre, la reazione a catena della *trascrizione-polimerasi inversa (RT-PCR)* ha confermato l'infezione SARS-CoV-2 nei polmoni. A nostra conoscenza, questo è il primo rapporto di morte materna con infezione COVID-19 confermata. (Parisa Karami 2020)

[18] SISTEMA NERVOSO

La "famiglia COV" ed il COVID-19 in particolare mostra una spiccata neuroinvasività che le consente di entrare nel sistema nervoso centrale attraverso gli assoni dei neuroni del bulbo olfattivo, posti sotto la piastra cribriiforme, che esprimono il recettore *ACE2* e raggiungere da qui il tronco cerebrale causando disfunzione e / o morte dei neuroni dei centri cardiorespiratori nel midollo. Le osservazioni epidemiologiche, primo sintomo-dispnea (5giorni), ricovero- terapia intensiva) (8 giorni) suggeriscono che questa migrazione avvenga in circa 10-15 giorni e che l'anosmia può essere un indicatore precoce del coinvolgimento del SNC nel corso di COVID-19.

Per molti anni si è pensato che il cervello non abbia vasi linfatici convenzionali. Tuttavia esiste un drenaggio linfatico funzionale regolato attraverso le cellule gliali "via glymphatic". Si ritiene che questo sistema possa costituire una via di ingresso diretta con una diffusione a tutta la neocorteccia responsabile dei sintomi neurologici che spaziano dalla perdita della coscienza al delirio.

È stato confermato che le cellule gliali e i neuroni esprimono i recettori ACE-2, il che li rende un potenziale bersaglio di COVID-19. Insieme, si può ipotizzare che SARS-CoV-2 può influenzare il cervello penetrando nel cervello attraverso la piastra cribriiforme, che può spiegare i primi risultati del COVID-19 come alterato senso dell'olfatto o iposmia.

ALTRI DISTRETTI E LIQUIDI BIOLOGICI CON CUI E' POSSIBILE ENTRARE IN CONTATTO

CUTE

Sono disponibili in letteratura osservazioni sporadiche che descrivono in pazienti COVID-19 lesioni maculo papulari eritematose fisse, asintomatiche distribuite su arti e tronco, con sensazione di bruciore sui palmi. La biopsia cutanea descrive una leggera spongiosi, vacuolazione delle cellule basali e un modesto infiltrato linfocitario perivascolare.

Ahouach B et al. Cutaneous lesions in a patient with COVID-19: are they related? Br J Dermatol.2020 Apr 30.

OCCHIO

COVID-19 può essere rilevato in RT-PCR "spazzolando" i fornici della palpebra inferiore per raccogliere lacrime e secrezioni congiuntivali che consentano il campionamento del virus. Il potenziale infettivo delle secrezioni oculari e del film oculare è attualmente sconosciuto, e non è chiaro come il virus si concentri nel film lacrimale possibili spiegazioni vanno dall' inoculazione diretta nei tessuti oculari di goccioline respiratorie o particelle virali veicolate in aerosol, dal rinofaringe attraverso il dotto nasolacrimale. E' stata ipotizzata anche una trasmissione ematogena attraverso il microcircolo annesso alla ghiandola lacrimale. Le manifestazioni oculari di COVID-19 segnalate sono nel complessivamente rare. Solo 9 (0,8%) su 1.099 pazienti di 552 ospedali in 30 province della Cina hanno riportato "congestione congiuntivale". Pertanto anche se l'incidenza dell'infezione da SARS-CoV-2 attraverso la superficie oculare è estremamente bassa, tuttavia l'infezione ambulatoriale/nosocomiale attraverso gli occhi rimane una via potenziale di infezione. -

Hu K et al. Ophthalmic Manifestations Of Coronavirus (COVID-19). 2020 Apr 13. StatPearls [Internet

-Zhang X et al. The evidence of SARS-CoV-2 infection on ocular surface. Ocul Surf. 2020 Apr 11.

ESPETTORATO

Nelle cellule dell'espettorato di una corte di 330 pazienti asmatici COVID-19 positivi l'espressione del gene ACE2 o e della *transmembrana proteasi serina 2 (TMPRSS2)* risulta aumentata prevalentemente nei maschi, negli afroamericani e nei pazienti con diabete mellito

Peters MC et al. COVID-19 Related Genes in Sputum Cells in Asthma: Relationship to Demographic Features and Corticosteroids. Am J Respir Crit Care Med. 2020 Apr 29.

SALIVA

E' stata analizzata la saliva un una corte di 25 pazienti COVID-19 positivi, tutti i campioni sono risultati positivi per la presenza di SARS-CoV-2, con una associazione inversa tra i valori di *lattico deidrogenasi* e *proteina C*. La saliva è un potenziale marker diagnostico per rilevare la presenza di SARS-CoV-2. Tuttavia l'analisi salivare nella diagnosi di COVID-19 non deve limitarsi a un rilevamento qualitativo del virus, ma può anche fornire informazioni rilevanti sull'evoluzione clinica della malattia come riportato in due pazienti che hanno mostrato positività salivare negli stessi giorni in cui i loro tamponi faringei o respiratori hanno mostrato *conversione*.

L et al. Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. J Infect. 2020 Apr 14.

FECI

Secondo le attuali Linee guida della Repubblica popolare Cinese per la prevenzione e il controllo delle malattie dei pazienti con COVID-19, la decisione di interrompere le precauzioni basate sulla trasmissione per i pazienti ospedalizzati con COVID-19 si basa su risultati negativi test rRT-PCR per COVID-19 da almeno 2 campioni sequenziali del tratto respiratorio raccolti a distanza di ≥ 24 ore.⁸ Tuttavia, in oltre il 20% dei pazienti con SARS-CoV-2, è stato osservato come il risultato del test per l'RNA virale sia rimasto positivo nelle feci, anche dopo i risultati dei test per l'RNA virale nel tratto respiratorio convertito in negativo, indicando che l'infezione virale gastrointestinale e la potenziale trasmissione fecale-orale possono durare anche dopo la clearance virale nel tratto respiratorio. Pertanto, è consigliabile che i test rRT-PCR per COVID-19 su feci siano eseguiti di routine nei pazienti con COVID-19 e che le precauzioni basate sulla trasmissione per i pazienti COVID-19 positivi ospedalizzati dovrebbero continuare se il test delle feci risultano positivi.

Università Sun Yat-sen: Dal 1 al 14 febbraio 2020 una corte di 73 pazienti COVID-19 positivi le feci di 39 soggetti (53,42%) si sono dimostrati positive per l'RNA di COVID-19. L'età dei pazienti variava da 10 mesi a 78 anni. La positività variava da 1 a 12 giorni. Inoltre, 17 (23,29%) pazienti hanno continuato ad avere positività delle feci nonostante i tamponi risultassero negativi. La presenza del RNA virale dalle feci suggerisce che i virioni infettivi localizzati presumibilmente nelle cellule gastrointestinali. (vedi sinossi 32)

URINA

Nel 2003 durante l'epidemia di SARS ad Hong Kong solo nel complesso residenziale "Amory Gardens" sono deceduti 42 persone. Le indagini sulla struttura degli edifici hanno mostrato che le condotte fognarie difettose avevano portato all'aerosol delle feci e delle urine contaminate da SARS-CoV, che avevano infettato quasi 300 persone. Questi risultati sottolineano l'importanza di utilizzare precauzioni appropriate per evitare la trasmissione del contagio attraverso le urine come evidenziato da diversi studi. In particolare in uno studio esemplare COVID-19 è stato isolato dalle urine, tipizzato ed identificato in TEM e definita la sua carica virale in *cellule vero E6* incubate con gli stessi campioni di urine RT-PCR positivi hanno dato il classico effetto citopatico da conavirus.

-Peng L et al. SARS-CoV-2 can be detected in urine, blood, anal swabs, and oropharyngeal swabs specimens. J Med Virol. 2020 Apr 24.

-Sun J et al. Isolation of Infectious SARS-CoV-2 from Urine of a COVID-19 Patient. Emerg Microbes Infect. 2020 Apr 28:1-8.

FERRITENEMIA

Un altro componente chiave dello stato infiammatorio acuto è l'iper-ferritinemia che identifica i pazienti con un aumentato rischio di mortalità. Nonostante la sua forte associazione con la mortalità, non è ancora chiaro se l'iper-ferritinemia nei pazienti con COVID-19 sia semplicemente un marcatore sistemico della progressione della malattia o un modulatore chiave nella patogenesi della malattia. Qui affrontiamo le implicazioni di un

possibile ruolo per l'iper-ferritinemia e l'alterata omeostasi del ferro nella patogenesi della COVID-19 e potenziali bersagli terapeutici in questo senso.

Edeas et al. Iron: Innocent bystander or vicious culprit in COVID-19 pathogenesis? [published online ahead of print, 2020 Jun 1]. Int J Infect Dis. 2020;S1201-9712(20)30417-3

SPERMA

Finora, ci sono solo due studi che hanno valutato l'RNA virale nel seme. Il primo studio cinese (studio PAN) eseguito su 34 pazienti con sintomi lieve-moderati riferisce che il virus non è stato rilevato nello sperma raccolto tra 8 e 75 giorni (mediana 31 giorni) dalla diagnosi di COVID-19 in nessun paziente. È interessante notare che il 19% di questi ha riferito "disagio scrotale" come uno dei sintomi ricorrenti nel periodo della diagnosi di COVID-19. Nel secondo studio (studioWuan), 12 pazienti asintomatici sono stati testati per l'RNA SARS-CoV-2 nel loro sperma da 14 a 42 giorni dopo la diagnosi di COVID-19, nessuno di loro era positivo per COVID-19. In questi due studi non sono stati misurati alcuni parametri essenziali dello sperma (concentrazione di spermatozoi, motilità o livelli sierici ormonali correlati). Sebbene la SARS-CoV-2 non sia stata rilevata nello sperma dei pazienti osservati, non è da escludere la possibilità di una infezione testicolare durante lo stadio precoce e sintomatico della malattia (vedi sezione TESTICOLO)

LATTE

Nel ambito della Fisiopatologia della riproduzione è di fondamentale importanza stabilire la possibilità di una trasmissione verticale da madri infette a neonati attraverso l'allattamento al seno o mediante consumo di latte umano. Al momento è disponibile una letteratura limitata relativa alla trasmissione verticale di qualsiasi coronavirus umano, incluso il COVID-19, attraverso il latte umano e / o l'allattamento al seno. I risultati della ricerca bibliografica (finalizzata il 17 aprile 2020) riporta 13 studi che analizzano la presenza di COVID-19. Un solo studio (una pre stampa non sottoposta a revisione paritaria) ha rilevato il virus in un campione di latte e un altro studio ha rilevato la presenza nel latte di IgG specifiche anti COVID.

Per saperne di più: Lackey KA et al., SARS-CoV-2 and human milk: What is the evidence? [published online ahead of print, 2020 May 30]. Matern Child Nutr. 2020;e13032.

La Società Italiana di Neonatologia (SIN) e l'unione Europea del Neonato e del Perinatale Società (UENPS) hanno delineato delle linee guida per l'allattamento prudentemente definite "provvisorie" Se una madre precedentemente identificata come COVID-19 positiva o in osservazione per sospetto COVID-19 è asintomatica o paucisintomatica al momento del parto, si consiglia l'allattamento diretto al seno, osservando rigorose misure di controllo delle infezioni. Al contrario, quando una madre con COVID-19 non è in condizioni di prendersi cura del neonato, il neonato verrà gestito separatamente e nutrito con latte materno "fresco", senza necessità di pastorizzarlo, poiché non si ritiene che il latte umano sia un veicolo di COVID-19.

Per approfondire i dettagli: Davanzo R et al., Breastfeeding and coronavirus disease-2019: Ad interim indications of the Italian Society of Neonatology endorsed by the Union of European Neonatal & Perinatal Societies [published online ahead of print, 2020 Apr 3]. Matern Child Nutr. 2020;e13010. doi:10.1111/mcn.13010

LAVAGGIO BRONCO ALVEOLARE

Nei pazienti con COVID-19 (lieve) presenza di linfociti T CD8 + memory che correla con una infiltrazione monocitaria minima. Questo dato suggerisce che popolazioni preesistenti di cellule T memory residenti nel tessuto con potenziale reattività crociata contro SARS-CoV-2 possano consentire un rapido controllo della attività del virus rallentare la progressione della malattia limitando il danno epiteliale, l'infiammazione locale e l'accumulo di macrofagi. Significativa è la presenza di CCL2 e CCL7, due importanti chemochine responsabili di reclutare monociti positivi per il recettore CC-chemochine 2 (CCR2 +)

Sono inoltre riportati casi di 2 pazienti con sintomi clinici e sospetto di imaging per COVID elevato, ma con ripetuti tamponi faringei negativi che mostravano la presenza di coronavirus (gene ORF 1ab, il gene N e RNA specifico) nel liquido di lavaggio bronco-alveolare

Presenza di NET (riportata da Mozzini C). Sul possibile significato vedi SINOSI

Interessante il rilevamento di S-CoV-2 attraverso il sequenziamento da trascrittoma direttamente da tampone rinofaringeo di un sospetto caso di trasmissione locale di Covid-19, in Brasile

- Zhou Y, et al. Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe COVID-19 patients. Natl Sci. Rev. 2020

-Tan FR et al. *Bronchoalveolar lavage fluid was used to diagnose two cases of 2019-nCoV infection. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi. 2020 Apr 12;43(4):337-339.*

-Mozzini C., Girelli D. *The role of neutrophil extracellular traps in Covid-19: only an hypothesis or a potential new field of research? Throm Res. 2018*

-Campos GS et al. *Ion torrent-based nasopharyngeal swab metatranscriptomics in COVID-19 [published online ahead of print, 2020 May 21]. J Virol Methods. 2020;282:113888.*

LIQUIDO CEFALO RACHIDIANO

Costantemente PCR positivo nei pazienti SARS-CoV

-Hung E.C et al. *Detection of SARS coronavirus RNA in the cerebrospinal fluid of a patient with severe acute respiratory syndrome. Clin. Chem. 2003;49:2108-2109.*

-Lau K. et al. *Possible central nervous system infection by SARS coronavirus. Emerg. Infect. Dis. 2004;10:342.*

LIQUIDO AMNIOTICO

Uno studio osservazionale presso il Wuhan Tongji Hospital di Wuhan ha analizzato il fluido amniotico di due gestanti entrambe risultate nel secondo trimestre *sierologiche positive*, ma negative al *tampone nasofaringeo* eseguito il 23 marzo. Il 26 marzo, i campioni di liquido amniotico sono stati prelevati dalle due gestanti tramite *amniocentesi per cutanea*. I risultati dei test RT-PCR del liquido amniotico di entrambe risultavano negativi come i test per le IgM e le IgG SARS-CoV-2. Le concentrazioni di IgM e IgG delle pazienti nel siero sono state testate anche il 26 marzo, con risultati positivi per IgG in entrambi i casi, mentre solo una gestante è risultata positiva.

Considerazioni: sebbene la SARS-CoV-2 non sia stata rilevata nel liquido amniotico di queste due pazienti, la possibilità di trasmissione verticale in gravidanza precoce non può essere esclusa per diversi motivi. In primo luogo, l'RNA, rispetto al DNA, è molto meno stabile nel liquido amniotico, in secondo luogo, il numero delle pazienti è insufficiente per trarre una conclusione definitiva. Infine, il virus potrebbe non essere rilevabile nel liquido amniotico a causa di un'età gestazionale insufficiente: il momento migliore per l'amniocentesi è dopo 18- 21 settimane di gestazione ed andrebbero comparate con l'analisi del sangue cordonale. Al momento (15 giugno) sono necessari studi prospettici più ampi e un maggior numero di dati per definire il potenziale di trasmissione verticale intrauterina di SARS-CoV-2 nelle prime fasi della gravidanza.

Per saperne di più: Yu N et al. *No SARS-CoV-2 detected in amniotic fluid in mid-pregnancy [published online ahead of print, 2020 Apr 22]. Lancet Infect Dis. 2020;S1473-3099(20)30320-0.*

ORGANO ADIPOSO

L'OMS considera le malattie non trasmissibili (NCD), come l'obesità, un importante fattore di rischio per contrarre una infezione da COVID-19. Uno studio condotto dal Centro nazionale di audit e ricerca del Regno Unito per terapia intensiva indica che due terzi dei pazienti in terapia intensiva (72%) erano in sovrappeso o obesi . Un rapporto su un cluster di 4103 pazienti COVID-19 di New York City ha evidenziato che le caratteristiche cliniche più importanti che hanno portato al ricovero in ospedale erano l'età (> 65 anni) e l'obesità stessa, più dell'ipertensione, del diabete o delle malattie cardiovascolari.

Durante le anomalie metaboliche, l'espansione del grasso metabolicamente attivo ("condizione di grasso eccessivo") è parallela ai cambiamenti infiammatori cronici, allo sviluppo dell'insulino-resistenza e all'accumulo di grasso nella configurazione del NAFLD (vedi fegato)

-Malavazos AE et al. *Targeting the Adipose Tissue in COVID-19. Obesity (Silver Spring). 2020 Apr 21. Finer N et al COVID-19 and obesity. Clin Obes. 2020 Apr 27.*

-Kannan S et al. *COVID-19 (Novel Coronavirus 2019) - recent trends. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2020 Feb;24(4):2006-2011.*

SANGUE

Considerazioni ematologiche

Recenti rapporti provenienti dalla Cina e dagli Stati Uniti, che comparano le osservazioni autoptiche con quelle cliniche, confermano un aumento della coagulazione intravascolare per aumento del tempo di protrombina (circa 13.0 secondi) associata a trombosi dei piccoli vasi e infarti disseminati espressione di una microangiopatia generalizzata, Caratteristiche costanti sono anche la linfopenia ($0,8 \times 10^9 / L$) e una attività

lattato deidrogenasi elevata (261 U / L) Il D-dimero (un prodotto di degradazione della fibrina che indica una coagulazione iperattiva) è stato proposto come marcatore affidabile di COVID-19 grave (Zhou et al., 2020). Poiché l'immunità innata e i percorsi di coagulazione sono intrinsecamente collegati, l'attivazione macrofagica e la "tempesta citochinica" insieme al rilascio di svariati complessi molecolari associati ai patogeni unitamente alle proteine che si generano in concomitanza con il danno tissutale possono provocare il rilascio e/o l'attivazione di fattori di coagulazione responsabili di determinare una predisposizione all'ipercoagulabilità.

Considerazioni immunologiche

Nelle infezioni da coronavirus nella maggior parte dei pazienti, si verifica in genere una malattia respiratoria virale autolimitante di una settimana, che termina con lo sviluppo dell'immunità antivirale delle cellule T e degli anticorpi neutralizzanti. In COVID livelli di anticorpi specifici del virus di tipo IgM, IgA e IgG sono importanti per definire e prevedere l'immunità raggiunta dalla popolazione escludendo la possibilità di una cross-reattività con altri coronavirus. Va stressato il concetto che molti aspetti immunitari descritti nei pazienti gravi sono unici e specifici di COVID-19 e sono stati raramente osservati in altre infezioni virali respiratorie, come ad esempio l'eosinopenia grave e la linfopenia che provocano un difetto nell'immunità antivirale e immunitaria. Allo stesso tempo, una tempesta di citochine inizia con un'attivazione estesa delle cellule che secernono citochine attraverso meccanismi immunitari innati e adattativi che contribuiscono entrambi ad una prognosi sfavorevole. Uno studio di confronto (conteggio leucocitario) ha dimostrato che la leucopenia, la linfocitopenia e la citopenia eosinofila sono più comuni nei pazienti con COVID-19 rispetto ai pazienti non con COVID-19 ma che presentano una differente polmonite virale.

Li YX et al. Characteristics of peripheral blood leukocyte differential counts in patients with COVID-19. Zhonghua Nei Ke Za Zhi. 2020 Mar 1;59(0):E003.

Dubbi, perplessità e timori di un embriologo

L'8 dicembre 2019 il dottore Dr. Jixian Zhang, identificava il virus SARS - CoV-2 come causa di gravi casi di polmonite iniziata a Wuhan, in Cina. Nei primi 3 mesi del 2020, il nuovo aveva infettato oltre 1,4 milioni di persone provocando oltre 87.000 morti.

Dichiarata "pandemia" dall'Organizzazione mondiale della sanità l'11 marzo 2020, la malattia ha travolto tutte le risorse sanitarie nazionali e continua a diffondere inesorabilmente. Ad oggi 29 giugno ha sterminato 499.619 abitanti del pianeta (fonte Health Emergency Dashboard 29 giugno 12.20 am)

Il contenimento della SARS-CoV-2 è eccezionalmente difficile a causa della diffusione asintomatica e presintomatica della malattia, amplificata dalla trasmissione da persona a persona. Mentre il virus si sposta da un host all'altro, come è tipico dei virus RNA a singolo filamento, SARS-CoV-2 attualmente sembra che stia "mutando" ma nessuno sa esattamente in cosa. Continua a mantenere l'enorme differenza fenotipica che lo caratterizza: dall'infezione asintomatica alla morte. I motivi di questa sorprendente variabilità rimangono del tutto oscuri.

Nonostante l'enorme portata della malattia e la sua prevalenza in tutto il mondo, le informazioni relative agli effetti del nuovo coronavirus sulla **riproduzione umana** sono attualmente limitate e frammentarie. Questa mancanza di informazioni è tutt'altro che rassicurante. C'è motivo di preoccuparsi in base ai dati delle precedenti epidemie da coronavirus. Come è tipico di questa famiglia di virus, la proteina di picco SARS - CoV-2 lega il recettore ACE2, una proteina onnipresente in molti tessuti riproduttivi, in particolare a livello delle gonadi maschili e femminili.

Il rischio è che il virus possa penetrare e intaccare la *linea germinale* preposta alla produzione dei gameti, in altre parole agire sul patrimonio genetico di *homo sapiens*

Fino al 5 aprile 2020, sono rubricati 19 casi e due casi di controllo di pazienti in gravidanza COVID-19. Tutti, tranne quattro, sono basati sull'esperienza cinese. Gli Stati Uniti, Israele, Corea e Honduras hanno pubblicato un'esperienza ciascuno. Questi rapporti raccolti insieme riportano l'esperienza relativa a 162 gestanti COVID-19 positive e ai loro 184 bambini. La maggior parte di questi pazienti si presentava in travaglio avanzato; sono riportati solo 12 casi prima delle 36 settimane di gestazione. C'è solo un caso segnalato di aborto spontaneo.

Nessuno studio ha ancora esaminato i pazienti COVID-19 nelle prime fasi della gravidanza (!). L'evidenza di due studi caso-controllo (che hanno coinvolto 46 pazienti e 287 controlli) sostiene che COVID-19 durante la gravidanza non è più

grave rispetto alle donne in gravidanza in quanto sono state riferite sintomatologie simili. Tuttavia, alcune pazienti infette durante la gravidanza hanno richiesto la ventilazione meccanica e due pazienti sono decedute.

La maggior parte dei neonati sono di peso normale con Apgar nella norma. Sebbene la maggior parte sia nata attraverso cesareo per ridurre il rischio di trasmissione materna e ridurre l'acuità della malattia, sono stati segnalati 18 casi di sofferenza fetale. Tra i 184 feti segnalati, uno aveva una limitazione della crescita intrauterina, 13 erano stati prematuri, 12 erano "troppo piccoli" e uno era "troppo grande" per l'età gestazionale. Inoltre sono stati segnalati un decesso e un decesso neonatale. Tutti questi dati tuttavia sono di per se "inconcludenti", richiedono conferme ed una analisi dettagliata

In uno studio condotto su 38 donne cinesi, l'infezione da COVID-19 non ha portato a decessi materni e non sono stati confermati casi di trasmissione verticale. Una serie di casi di nove donne positive a COVID-19 che hanno partorito con cesareo non hanno mostrato RNA virale nel liquido amniotico, nel sangue cordonale o nel latte materno

Tuttavia, un recente caso riportato da JAMA suggerisce che la trasmissione verticale potrebbe essere possibile. Viene riferito il caso di un bambino altrimenti sano nato con taglio cesareo da madre COVID confermata da (RT-PCR). Questo bambino è stato immediatamente posto in isolamento e un campione di sangue a 2 ore di età ha mostrato un elevato livello di IgG SARS-CoV-2. Sebbene le IgG possano essere secondarie al trasferimento transplacentare, il bambino era anche positivo per le IgM SARS – CoV-2, che tuttavia non possono essere spiegate come dovute ad un trasferimento materno-fetale in quanto le IgM compaiono solo 3-7 giorni dopo l'infezione. In tutti e cinque i test RT-PCR sul bambino erano negativi per SARS – CoV-2. Il profilo anticorpale di questo bambino è compatibile con una esposizione a SARS-CoV-2 in utero.

Uno studio di follow-up, condotto su 6 bambini nati da madri COVID-19-positiva ha mostrato anticorpi IgM positivi in due di essi. Tuttavia, tutti i tamponi orofaringei e gli esami sierologici sono risultati negativi per il virus. Nel complesso, l'evidenza di una trasmissione verticale nel contesto dell'infezione da COVID-19 è attualmente inconcludente. È necessaria un'osservazione continua e dettagliata nella raccolta di dati nel corso della pandemia.

Dal prossimo settembre i colleghi ginecologi, neonatologi e pediatri incontreranno i "figli della pandemia" neonati e bambini concepiti e sviluppati alla presenza invisibile ed inquietante del Sars.-Cov-2. Per questi motivi già dal prossimo aggiornamento (30 luglio) questo "rough draft" conterrà una nuova sezione che selezionerà ed analizzerà secondo i criteri PRISMA la letteratura relativa alla biologia della riproduzione propedeutica alla neonatologia, ginecologia e pediatria

NEWS

Isolati 28 anticorpi potenzialmente neutralizzanti COVID-19

Il 15 agosto Cell ha pubblicato i risultati di un lavoro prodotto dalla collaborazione di 14 centri di ricerca coordinati dall'Università di Berlino che ha analizzato la risposta anticorpale di 12 pazienti COVID-19 da 8 a 69 giorni dopo la diagnosi. Un lavoro che concretizza la speranza di una risposta immunitaria protettiva alla vaccinazione. Attraverso lo screening di 4.313 cellule B reattive alla SARS-CoV-2, sono stati isolati 255 anticorpi in tempi diversi già 8 giorni dopo la diagnosi. Di questi, **28 SARS-CoV-2** autentici potenzialmente neutralizzati con IC 100a partire da 0,04 µg / mL, che correlano con un ampio spettro di geni variabili (V) e bassi livelli di mutazioni somatiche. È interessante notare che potenziali sequenze precursori sono state identificate in cellule B di 48 individui sani che sono stati campionati prima della pandemia COVID-19. Questi risultati dimostrano che gli anticorpi neutralizzanti la SARS-CoV-2 sono prontamente generati da un pool diversificato di precursori, favorendo la speranza di una rapida induzione di una risposta immunitaria protettiva alla vaccinazione.

Kreer C, Zehner M, Weber T, et al. Longitudinal Isolation of Potent Near-Germline SARS-CoV-2-Neutralizing Antibodies from COVID-19 Patients. Cell. 2020;182(4):843-854.e12.

SINOSI INTEGRATIVE

Correlazioni tra le osservazioni microscopiche e valutazioni cliniche/terapeutiche riscontrabili in letteratura.

#1. E' possibile didatticamente stadiare l'infezione da COVID-19

*-Guan WJ et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. The New England journal of medicine.
-Shi Y et al COVID-19 infection: the perspectives on immune responses. Cell Death Differ. 2020 May;27(5):1451-1454.
-Luers JC et al.Olfactory and Gustatory Dysfunction in Coronavirus Disease 19 (COVID-19). Clin Infect Dis. 2020 May 1.*

Sono identificabili almeno tre fasi (stadi) che correlano con le osservazioni cliniche riportate in alcuni lavori. STADIO 1 un periodo di incubazione *asintomatica* con o senza virus rilevabile; sono i Pazienti meno gestibili, diffondono il virus inconsapevolmente un po' meno nei bambini e negli adolescenti STADIO 2 Periodo *sintomatico* non grave con presenza di virus; di questi circa il 15 % passa allo stadio 3 (esperienza Wuhan). Non è noto cosa determini il passaggio allo stadio successivo STADIO 3 Stadio *sintomatico respiratorio grave* con elevata carica virale. Il COVID-19 ha uno spiccato tropismo per la mucosa nasale, grazie alla co-espressione di ACE2 e TMPRSS2.

In particolare interagisce con i geni coinvolti nell'immunità innata, svolgendo pertanto un ruolo centrale nelle fasi iniziali, e nella dinamica della diffusione e della clearance. (per una definizione del tropismo molecolare è utile consultare anche www.covid19cellatlas.org.) Poiché la trasmissione virale primaria avviene attraverso goccioline carrier, essendo il COVID un virus "avvolto", il suo rilascio non richiede lisi cellulare, pertanto, potrebbe in una fase presintomatica, sfruttare le vie secretorie esistenti nelle cellule della mucosa nasale (pinocitosi) e diffondere fino ai centri del sistema nervoso preposti alla decodifica degli odori e integrarsi nei rami nervosi che controllano la meccanica ventilatoria polmonare. Queste osservazioni hanno importanti implicazioni traslazionali. Poiché il trasporto nasale è una caratteristica chiave della trasmissione, i farmaci / vaccini somministrati per via intranasale potrebbero essere altamente efficaci nel limitare la diffusione dell'infezione. *Il test UPSIT (University of Pennsylvania Smell Identification Test) basato su una valutazione sistemica dell'olfatto può aiutare a identificare i pazienti COVID-19 pauci-sintomatici che necessitano di un trattamento precoce o quarantena.* Due terzi dei pazienti europei COVID-19 presentano disfunzione olfattiva e gustativa e suggeriscono l'importanza nella diagnosi precoce.

Luers JC et al.Olfactory and Gustatory Dysfunction in Coronavirus Disease 19 (COVID-19). Clin Infect Dis. 2020 May 1.

#-2. Che fare nei pazienti degli Stadi 1 e2

-Wang D et al.Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. Jama

In questi pazienti bisognerebbe tentare di sviluppare la risposta *immune adattativa* (risposta immunitaria protettiva endogena) finalizzata a eliminare il virus e impedire la progressione nello stadio 3. Questa entra automaticamente in funzione se il paziente è in buona salute e con *background genetico adeguato* (ad esempio HLA). E' teoricamente possibile stimolare/attivare l'attività antivirale spontanea del paziente con (*anticorpi da pazienti "guariti" o IFN α pegilato*). Tuttavia, quando una risposta immunitaria protettiva è compromessa, il virus si propagerà indipendentemente dalla protezione genetica attivando meccanismi epigenetici dell'ospite stesso che faciliteranno i meccanismi di fusione e di propagazione intracellulari che porteranno a un deterioramento funzionale prima e strutturale dopo nei tessuti con alta espressione di ACE2. I livelli di espressione dell'ACE2 suggeriscono che il COVID-19 può infettare altri tessuti oltre ai polmoni e infettare ugualmente persone con sessi, età e razze differenti. Le diverse risposte immunitarie

dell'ospite all'infezione da COVID-19 possono parzialmente spiegare perché uomini e donne, giovani e anziani infettati da questo virus abbiano una marcata severità della malattia.

#-3. Che fare nei pazienti “dimessi” e negli “asintomatici”

-Q. Ruan et al, Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. Intensive Care Med

-Zhou J et al. Observation and analysis of 26 cases of asymptomatic SARS-COV2 infection. J Infect. 2020 Apr 3.

-Wan R et al Evidence from two cases of asymptomatic infection with SARS-CoV-2: Are 14 days of isolation sufficient? Int J Infect Dis. 2020 Apr 3;95:174-175.

Pazienti dello stadio 3 (teoricamente “guariti”) dopo la dimissione, alcuni pazienti possono rimanere e ritornare ad una condizione sierologia di positività e a riesprimere nuovamente lo stato flogistico polmonare. Analogamente i pazienti dello stadio 2 non grave devono essere attentamente monitorati attraverso tamponi integrati da una funzionalità dei compartimenti linfocitari T / B. Considerazioni: Una risposta immunitaria che neutralizzi l'azione di XCOVID-19 può essere difficile da indurre e stabilizzare almeno in alcuni pazienti e che potenziali vaccini potrebbero non funzionare in questi individui. Questi scenari dovrebbero essere considerati nel determinare le strategie di sviluppo di un proto-vaccino. Inoltre, è bene ricordare che esistono un incredibile varianti della famiglia dei coronavirus. E questo è una ulteriore complicazione per la costruzione di un vaccino ad alta specificità ed efficacia diretti contro COVID-19. I portatori di COVID-19 asintomatici possono diffondere il virus prima che il tampone risulti positivo rimarcando l'importanza della quarantena durante l'epidemia. L'esplosione della pandemia molto probabilmente è stata causata da portatori asintomatici non riconosciuti nella popolazione che nelle statistiche cinesi presentavano circa 18 % del totale. Diverse segnalazioni sottolineano come soggetti asintomatici dopo 14 giorni di isolamento, possono ancora trasportare COVID-19 con un significativo rischio di trasmissione, presentando una nuova sfida per la gestione dell'isolamento domestico.

#4. Esiste una disposizione genetica a contrarre una infezione da COVID-19 ?

-Dutta M et al . Polymorphism of HLA class I and class II alleles in influenza A(H1N1)pdm09 virus infected population of Assam, Northeast India. J Med Virol. 2018;90:854-60

-Schurz H et al. The X chromosome and sex-specific effects in infectious disease susceptibility. Hum Genomics. 2019 Jan 8;13(1):2.

-Sharma G et al. Sex Differences in Mortality from COVID-19 Pandemic: Are Men Vulnerable and Women Protected? JACC Case Rep. 2020 May 4.

Il complesso maggiore di istocompatibilità (Major Histocompatibility Complex (MHC) è un gruppo di 30 geni localizzati sul braccio corto del cromosoma 6 che codificano per proteine che se espresse sulla membrana cellulare hanno la funzione di farsi riconoscere da parte dei linfociti T e innescare una risposta immunitaria. Nell'uomo l'MHC prende il nome di Human leukocyte antigen (HLA). Contiene specifici alleli (aplotipi) responsabili di presentare maggiore suscettibilità genetica nei confronti di determinati patogeni (es tubercolosi, lebbra, l'HIV, l'epatite B). Nell'uomo, HLA la classe I è anche associata a infezioni da virus dell'influenza A sottotipo H1N1 in particolare: **HLA-A * 11, HLA-B * 35 e HLA-DRB1 * 10** conferiscono suscettibilità a infezione da influenza A (H1N1) pdm09. *Considerazioni. pertanto sarà imperativo in un futuro immediato identificare gli aplotipi correlati allo sviluppo dell'immunità anti-SARS-CoV-2 e, in tal caso, identificare gli alleli, di classe I o II, definendo così le basi per il controllo di una immunità protettiva. Una volta identificati gli alleli dominanti attraverso semplici kit di rilevamento attualmente disponibili sarà possibile pianificare una gestione clinica strategica dei vari stadi. Tuttavia è importante ribadire che non esiste una predisposizione genetica a contrarre il virus e che la sua penetrazione intracellulare utilizza meccanismi epigenetici che coinvolgono l'intero trascrittoma e l'infiammosoma dell'ospite.* Il cromosoma X contiene un'alta densità di geni immuni e elementi regolatori che sono ampiamente coinvolti nelle risposte immunitarie innate e adattive. Molte malattie presentano un chiaro pregiudizio sessuale e, a parte l'influenza degli ormoni sessuali e dei fattori socioeconomici e comportamentali, i meccanismi di inattivazione del cromosoma X, dei geni collegati all'X e dei cromosomi X contribuiscono a questa differenza. Le femmine sono

mosaici funzionali per i geni legati all'X a causa dell'inattivazione del cromosoma X e questo, combinato con altri meccanismi di inattivazione del cromosoma X come i geni che sfuggono al silenziamento e all'inattivazione distorta, potrebbe contribuire a un vantaggio immunologico per le donne nei confronti del COVID-19

#5. Identikit di un soggetto immunologicamente fragile e sensibile al COVID-19

-Yaqinuddin A et al. Innate immunity in COVID-19 patients mediated by NKG2A receptors, and potential treatment using Monalizumab, Cholroquine, and antiviral agents. Med Hypotheses. 2020 Apr 22;140:109777

Le cellule T citotossiche (CTL) e le cellule Natural Killer (NK) sono necessarie per generare una risposta immunitaria efficace contro i virus, il cui esaurimento funzionale consente la progressione della malattia. I pazienti con COVID-19 grave presentano linfociti significativamente più bassi e neutrofilii più alti, conta nel sangue. In particolare, i linfociti CD8 + e le cellule NK erano significativamente ridotti nei casi di infezione grave rispetto ai pazienti con infezione lieve e individui sani. Il recettore NK gruppo 2 membro A (NKG2A) trasduce la segnalazione inibitoria, sopprimendo la secrezione di citochine NK e la citotossicità. Sovraespressione di NKG2A è stata osservata su cellule CD8 + e NK di pazienti con infezione da COVID-19 rispetto ai controlli sani, mentre la sovraespressione di NKG2A esaurisce funzionalmente anche le cellule CD8 + e NK, con conseguente risposta immunitaria innata gravemente compromessa. Il blocco di NKG2A su cellule CD8 + e cellule NK nei tumori ha modulato la crescita tumorale, ripristinando la funzione delle cellule T CD8 + e NK. Un meccanismo recentemente proposto attraverso il quale SARS-CoV-2 prevale sulla risposta immunitaria innata dell'ospite è l'espressione eccessiva di NKG2A su cellule CD + T e NK, che culmina con l'esaurimento funzionale della risposta immunitaria contro il patogeno virale. *Monalizumab è un anticorpo inibitore contro NKG2A che può ripristinare la funzione delle cellule CD8 + T e NK nei tumori, interrompendo con successo la progressione tumorale senza effetti collaterali significativi negli studi clinici di Fase 2. Ipotizziamo che i pazienti con COVID-19 grave abbiano una risposta immunitaria innata gravemente compromessa e potrebbero essere trattati con l'uso di Monalizumab, interferone α , cloroquina e altri agenti antivirali.*

#6. Acido ialuronico intralveolare: più che un indizio

-Xu Z et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. The Lancet Respiratory medicine. 2020.

-Hallgren R et al Accumulation of hyaluronan (hyaluronic acid) in the lung in adult respiratory distress syndrome. Am Rev Respir Dis. 1989;139:682–

-Bell T et al Defective lung function following influenza virus is due to prolonged, reversible hyaluronan synthesis. Matrix Biol. 2018;80:14–28.

-Collum SD et al. Inhibition of hyaluronan synthesis attenuates pulmonary hypertension associated with lung fibrosis. British journal of pharmacology. 2017;174:3 284

Tutte le osservazioni microscopiche confermano che i polmoni sono pieni di “gelatina liquida chiara”, un quadro molto simile ai polmoni descrivibili negli annegati. Sebbene la natura di questa gelatina che si stratifica all'interno degli alveoli a formare una membrana ialina non sia ancora stata determinata, abbiamo buoni motivi di ipotizzare che abbia un alto contenuto di acido ialuronico. Materiale gelatinoso simile è associato al ARDS ed è stato descritto una anomala produzione di ialuronato in corso di SARS . Inoltre i livelli di citochine infiammatorie (IL-1, TNF) sono elevati nei polmoni dei pazienti COVID-19 e queste citochine sono forti induttori di HA-sintasi-2 (HAS2) nelle cellule epiteliali alveolari CD31 +, EpCAM + e fibroblasti È importante sottolineare che l'HA ha la capacità di assorbire l'acqua fino a 1000 volte il suo peso molecolare. Pertanto, ridurre la presenza o inibire la produzione di HA ha potrebbe aiutare i pazienti COVID-19 a respirare. E' teoricamente possibile per via inalatoria immettere a livello alveolare ialuronidasi di grado medico per ridurre l'accumulo di HA e quindi eliminare la gelatina nel polmone. Nei modelli animali, le difficoltà respiratorie indotte dall'influenza possono essere alleviate dalla somministrazione intranasale di ialuronidasi. E' ipotizzabile utilizzare un farmaco per la terapia biliare approvato clinicamente, *l'immromromone* (4-

metilumbelliferone, 4-MU), un inibitore di HAS2 (hyaluronato sintasi 2) in grado di spegnere l'infiammazione polmonare indotta da come dimostrato in diversi modelli sperimentali in vitro ed in vivo

#.7 I NET in eccesso possano spiegare gli effetti multiorgano di COVID-19 per il loro coinvolgimento diretto nei sistemi immunitario, nella fisiopatologia vascolare e nella regolazione della coagulazione.

Barnes BJ et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. J Exp Med. 2020 Jun 1;217(6). I riferimenti riportati in questa sinossi sono consultabili come abstract e/o testo integrale nelle references del lavoro di Barnes BJ su indicato.

Normalmente I neutrofili vengono reclutati nei siti di per “uccidere” patogeni (batteri, funghi e virus) attraverso esplosione ossidativa e fagocitosi (Schönrich e Raftery, 2016). Tuttavia, i neutrofili hanno un altro modo molto meno conosciuto di uccidere i patogeni: la formazione di NET (Brinkmann et al., 2004). I NET possono essere rilevati nei tessuti mediante immunoistochimica e nel sangue per ELISA (Lachowicz-Scroggins 2019)

NET nei pazienti ARDS

-Sono costantemente elevati (Caudrillier et al., 2012).

-Sono correlati alla gravità e alla mortalità della malattia (Adrover et al., 2020)

Gli istoni extracellulari rilasciati dai NET

-Sono elevati nel liquido di lavaggio broncoalveolare e nel plasma dei pazienti (Lv et al., 2017) e possono promuovere l'attivazione piastrinica fungendo da ligandi per i recettori Toll-like sulle piastrine (Semeraro et al., 2011).

NET intravascolari e trombosi dis-regolata

-Svolgono un ruolo attivo nella formazione di trombi nelle arterie e nelle vene (Fuchs et al., 2012).

-Inoltre, i campioni di autopsia raccolti da pazienti settici mostrano che i NET si infiltrano nei microtrombi (Jiménez-Alcázar et al., 2017).

Pertanto, quando i NET circolano ad alti livelli nel sangue, possono innescare l'occlusione di piccoli vasi, portando a danni ai polmoni, al cuore e ai reni (Laridan. 2019) Presumibilmente attraverso l'attivazione del sistema “kallikrein-chinin plasmatici” tramite interazioni elettrostatiche tra gli istoni NET e i fosfolipidi piastrinici (Oehmcke et al., 2009). Numerosi modelli animali (Cedervall et al., 2015; Jansen et al., 2017; Nakazawa et al., 2017; Raup-Konsavage et al., 2018) suggeriscono che il . targeting di NET intravascolari può allo stesso modo ridurre la trombosi in pazienti con COVID-19 grave

NET e “tempesta citochinica”

Gli oltre 20 componenti rilasciati durante la tempesta citochinica.

-Regolano l'attività dei neutrofili e inducono l'espressione dei chemioattraenti (molecole che aumentano il traffico di neutrofili verso i siti di infiammazione). Inoltre, le tempeste di citochine portano a lesioni polmonari acute, ARDS e morte (Chousterman et al., 2017).

-Possono indurre i macrofagi a secernere IL1 β e che induce la formazione di NET in varie malattie, tra cui aneurismi aortici e aterosclerosi (Sil et al., 2017)

Insieme, questi dati suggeriscono che in condizioni in cui si perdono i normali segnali per spegnere l'infiammazione, come durante una tempesta di citochine, un circuito di segnalazione tra macrofagi e neutrofili può portare a un'infiammazione incontrollabile e progressiva.

#8. Dai NET un enorme potenziale terapeutico

Questa sinossi vuole comunicare ai medici del territorio il continuo impegno della ricerca per fornire sempre nuovi e sicuri supporti terapeutici per la salute del paziente.

Strategia : come interferire o inibire la NETosi

PAD4 e GASDERMIN-D.

Soni inibitori endogeni della formazione di NET. Sono stati isolati dal plasma del cordone ombelicale (Yost et al., 2016). Sono attualmente in fase di sviluppo per il trattamento di sindromi infiammatorie in corso di COVID-19.

SIVELESTAT

è stato approvato per il trattamento di ARDS in Giappone e Corea del Sud, ma non ha aumentato la sopravvivenza dopo ARDS in una meta-analisi di studi clinici (Tagami et al., 2014).

DISULFIRAM

usato per trattare l'alcolismo - inibisce il gasdermin D e limita la lesione polmonare in modelli animali (Hu et al., Preprint 2018).

COLCHICINA

potrebbe inibire sia il reclutamento dei neutrofili nei siti di infiammazione che la secrezione di IL1 β e sono in corso studi che utilizzano la colchicina in COVID-19 (identificatori ClinicalTrials.gov: NCT04326790, NCT04328480, NCT04322565, NCT04322682).

LONODELESTAT (POL6014), AIVELESTAT , CHF 6333, ELAFIN

Sono attualmente in fase 1. I risultati sono promettenti per una fase 2

DORNASE-alfa

Una DNase I ricombinante , somministrata per inalazione, è approvata per sciogliere i NET nelle vie aeree dei pazienti (CF) con fibrosi cistica, per eliminare il muco e migliorare i sintomi (Papayannopoulos et al., 2011).

PRX-110 / alidornase alfa

E' una DNasi resistente all'actina è stata testata in pazienti CF negli studi di Fase I e II con ottimi risultati (ClinicalTrials.gov: NCT02605590, NCT02722122) e potrebbe essere potenzialmente più potente della dornase alfa.

DNasi 1-like 3

Proteina ingegnerizzata in fase di sviluppo progettata per dissolvere i NETs (Fuchs et al., 2019), potrebbero presto entrare nello sviluppo clinico.

Commento: Le Dnasi ingegnerizzate possano aiutare a dissolvere le secrezioni mucose dei pazienti COVID-19 come nei pazienti con CF, migliorando la ventilazione e riducendo il rischio di infezioni secondarie. Dornase alfa viene normalmente somministrata attraverso nebulizzatori, ma in molti centri medici, questi sono evitati in COVID-19 a causa del rischio di aerosol di SARS-CoV-2 e di mettere in pericolo gli operatori sanitari. Tuttavia, esistono approcci che erogano aerosol in circuiti chiusi per pazienti ventilati meccanicamente (Dhand, 2017). Per i pazienti non intubati, le terapie possono essere nebulizzate in modo sicuro in sale a pressione negativa. Oltre ai loro possibili effetti sulle secrezioni mucose, i trattamenti DNase possono anche impedire l'ulteriore progressione verso le ARDS, poiché DNase I erogato attraverso le vie aeree è stato visto che aumenta la sopravvivenza in diversi modelli animali (Lefrançois et al., 2018; Thomas et al., 2012; Zou et al., 2018). Il circuito NET – IL1 β potrebbe essere antagonizzato con farmaci approvati contro IL1 β , come anakinra, canakinumab e riloncept attualmente tutti in fase di sperimentazione per testare l'efficacia in COVID-19 (identificatori ClinicalTrials.gov: NCT04324021, NCT04330638, NCT02735707). hanno fino ad ora mostrato eccellenti profili di sicurezza.

#9. Cosa è e come si può gestire la “Tempesta Citochinica”

-Moore BJB, June CH. Cytokine release syndrome in severe COVID-19. Science. 2020 Apr 17.

La “tempesta citochinica” (cytokine storm) o più correttamente cytokine release syndrome (CRS) è la principale causa di morbilità nei pazienti con infezione da SARS-CoV e MERS-CoV .E' caratterizzata non solo da elevate concentrazioni sieriche di interleuchine-6 (IL-6) ma anche da altre citochine infiammatorie prodotte dal “sistema monocito-macrofagico” e a livello degli “interstizi tessutali” (praticamente in tutti i tessuti connettivi) dalle *cellule dendritiche* a seguito dell'espressione del coronavirus. In COVID-19 E' rilevabile un incremento delle concentrazioni plasmatiche di IL1 β , IL2, IL6, IL7, IL8, IL10, IL17, IFN γ , proteina 10 inducibile IFN γ , proteina 1 chemoattractant monocita (MCP1), G-CSF, proteina infiammatoria dei macrofagi 1 α e TNF α .La CRS è costante nei pazienti COVID-19 (stadio 3) dove il *livello sierico di IL-6* ed una elevata concentrazione di *CRP (proteina C-reattiva)* correlano con una insufficienza respiratoria “ARDS simile ed una serie di serie di condizioni cliniche avverse. La "tempesta citochinica" sistemica è ulteriormente amplificata dal rilascio del *fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF)*, dalla *proteina chemoattractant monocita -1 (MCP-1)*, inoltre da una sintesi addizionale di *IL-8 e IL-6* nonché una ridotta espressione di *E-caderina* su cellule endoteliali. Il VEGF e la ridotta espressione della E-caderina contribuiscono al controllo

della permeabilità vascolare, e sono responsabili della patofisiologia dell'ipotensione e della disfunzione polmonare nell'ARDS.

#10. Ruolo dell' interleuchina-6

-S. Kang et al. *Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. Immunity* 50, 1007–1023 (2019).

-T. Tanaka et al., *Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm. Immunotherapy* 8, 959–970 (2016).

IL-6 può agire attraverso due percorsi principali definiti come “segnalazione **cis e trans**”. Nella segnalazione **cis**, IL-6 si lega al recettore IL-6 legato alla membrana (mIL-6R) in un complesso con gp130;

In particolare: La traduzione del segnale a valle è mediata dai JAK (Janus chinasi) e STAT3 (trasduttore di segnale e attivatore della trascrizione). La gp130 legata alla membrana è ubiquitariamente espressa, mentre l'espressione di mIL-6R è limitata in gran parte alle cellule immunitarie. L'attivazione della *segnalazione cis* provoca *effetti pleiotropici* sul sistema immunitario acquisito (cellule B e T) e sul sistema immunitario innato (neutrofili, macrofagi e cellule natural killer tutti fatto che possono contribuire ad incrementare l'intensità della tempesta citochimica . **Nella segnalazione trans**, alte concentrazioni circolanti di IL-6 si legano alla forma solubile di IL-6R (sIL-6R), formando un complesso con un dimero gp130 su potenzialmente tutte le superfici cellulari. La risultante segnalazione IL-6 – sIL-6R – JAK-STAT3 viene quindi attivata in cellule che non esprimono mIL-6R, come le cellule endoteliali. Ciò si traduce in una tempesta di citochinica" sistemica

#.11 Centralità degli inibitori della IL-6

-Xu et al., *Effective Treatment of Severe COVID-19 Patients with Tocilizumab. ChinaXiv* (5 March 2020).pmid:202003

-Fu B et al. *Why tocilizumab could be an effective treatment for severe COVID-19? J Transl Med.* 2020 Apr 14;18(1):164.

L'efficacia degli antagonisti dell' IL-6-I per il trattamento della CRS sottolinea il ruolo centrale della segnalazione dell' **IL-6** nella fisiopatologia delle sindromi iperinflammatorie guidate dalle citochine .

Aumentano quotidianamente i dati che confermano come casi gravi di COVID-19 possono trarre beneficio dall'inibizione della via IL-6 dati gli aumenti associati di citochine sieriche simili a CRS. In effetti, i risultati preliminari di uno studio in aperto su 21 pazienti con COVID-19 trattati con tocilizumab in Cina sono incoraggianti La febbre si è attenuata in tutti i pazienti entro il primo giorno di trattamento con tocilizumab. Il fabbisogno di ossigeno è stato ridotto nel 75% dei pazienti Studi clinici controllati sono in corso in tutto il mondo (Cotugno& Pascale work in progress) per testare le interazioni tra il IL-6 e IL-6R per la gestione dei pazienti con COVID-19 con gravi complicanze respiratorie. *Rilevante per questo è che gli inibitori dell'IL-6R possono sopprimere sia la segnalazione cis che trans, nonché una terza modalità di segnalazione recentemente descritta. La presentazione trans coinvolge IL-6 che si lega a mIL-6R espresso su una cellula immunitaria, che forma un complesso con gp130 su cellule T helper 17 (TH17), portando alla segnalazione di cellule T a valle che possono essere coinvolte in ARDS. Tuttavia, gli inibitori dell'IL-6 possono sopprimere solo i segnali cis e trans. L'obiettivo immediato dell'antagonismo dell'IL-6 è migliorare i casi gravi di COVID-19 in modo da ridurre al minimo i requisiti per le cure avanzate. L'obiettivo a lungo termine dovrebbe includere un focus sullo sviluppo di antivirali e vaccini che prevengono o migliorano l'infezione.È da notare che il tocilizumab è stato inizialmente approvato per le condizioni reumatiche, quindi per la CRS nei pazienti sottoposti a terapia con cellule T CAR, e ora viene ulteriormente riproposto per la pandemia di COVID-19. È possibile che le terapie dirette IL-6 vengano utilizzate nelle future pandemie che coinvolgono altri virus come l'influenza e l'Ebola .*

#12. Il “controverso” impiego dei corticosteroidi

-Tanaka, et al , *Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm. Immunotherapy* 8, 959–970 (2016).

Nelle ARDS associate alla sepsi vengono spesso somministrati corticosteroidi. Tuttavia, l'uso di corticosteroidi nei pazienti con SARS e MERS non ha migliorato la mortalità e ha comportato una ritardata clearance virale. Di conseguenza, il consenso degli esperti da parte delle autorità per le malattie infettive e dell'OMS è attualmente quello di evitare corticosteroidi sistemici nei pazienti COVID-19. Una possibilità teorica è che la soppressione dell'infiammazione da parte dell'antagonismo dell'IL-6 possa ritardare la clearance virale.

Tuttavia, il blocco di IL-6 provoca anche una rapida riduzione dell'IL-10 sierico, una citochina immunosoppressiva secreta dai macrofagi, che può mitigare le preoccupazioni relative al prolungamento della clearance virale. Inoltre, è improbabile che una o due dosi di un antagonista dell'IL-6 provochino complicazioni, come infezioni fungine o osteonecrosi della mascella, che si verificano in pazienti a dosaggio mensile di questi farmaci per patologie croniche come l'artrite reumatoide.

#13. La famiglia dei coronavirus e l'uomo

Jain A. COVID-19 and Lung Pathology Indian J Pathol Microbiol. 2020 Apr-Jun;63(2):171-172.

Fino ad oggi, sei specie di coronavirus sono note per causare malattie umane. Quattro delle specie di coronavirus già note, ovvero 229E, OC43, NL63 e HKU1, sono comunemente virus circolanti nella popolazione umana e causano lievi sintomi simili a quelli del raffreddore. Due dei ceppi già noti di coronavirus, sindrome respiratoria acuta grave-coronavirus (SARS-CoV) e sindrome respiratoria del Medio Oriente-CoV (MERS-CoV) e ora la recente SARS-CoV2 che causa l'attuale pandemia, sono di origine zoonotica e causano malattie gravi che possono essere fatali. I coronavirus sono molto diffusi e ampiamente distribuiti. Il loro genoma è ampio e subisce frequenti ricombinazioni, causando periodicamente la comparsa di nuovi coronavirus. A causa di frequenti infezioni tra specie e occasionali eventi di ricaduta, si verificano infezioni nell'uomo. I coronavirus come SARS-CoV2, MERS-CoV e SARS-CoV possono causare morbilità e mortalità significative nelle persone infette. Il polmone è il sito di infezione più comune per tutti e tre questi virus, che possono manifestarsi come sindrome da distress respiratorio acuto e mortalità. Il coinvolgimento polmonare è anche responsabile dell'alta trasmissione virale. Le osservazioni autoptiche sembrano confermare il dato che l'imaging toracico e i quadri istopatologici del polmone causati da SARS-COV2 sembrano essere simili a quelli osservati nei pazienti con infezione da SARS-CoV e MERS-CoV

#14. Come entra e come circola SARS-CoV-2 nel nostro organismo

-Li Y. C. The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. J. Med. Virol. 1-4. 10.1002/jmv.25728.

-Toljan K. Letter to the Editor Regarding the Viewpoint "Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host-Virus Interaction, and Proposed Neurotropic Mechanism. ACS Chem. Neurosci. 11,

Si ritiene che Sars-Cov-2 il virus entri nel nostro organismo principalmente attraverso la mucosa nasale e raggiunto l'orofaringe può liberamente diffondere nelle vie dell'apparato respiratorio o nel tratto gastrointestinale e da qui praticamente dovunque. Grazie alle sue strutture preposte all'ancoraggio (spike protein) può, interagendo con la proteina hACE2 aderire e penetrare all'interno delle nostre cellule e da qui assumere il controllo ed utilizzare i macchinari molecolari indispensabili per la sua replicazione. Poiché la hACE2 è una "presenza onnipresente" in (quasi) tutti i nostri tessuti l'impianto e la proliferazione virale possono teoricamente realizzarsi dovunque è espressa. Questa invasione è ostacolata dai numerosi meccanismi tissutali di protezione e difesa distribuiti e operanti nei territori di diffusione diversamente funzionanti ed efficienti in ognuno di noi. Questo significa che alla carica virale rispondiamo con meccanismi difensivi individuali epi-geneticamente stabili. Si instaura una vera e propria "battaglia invisibile" di cui percepiamo i "rumori" provenienti dai vari distretti che il virus va colonizzando i cui esiti è segnalato dalla comparsa dei "primi sintomi" espressione del fatto che in un distretto in particolare il funzionamento omeostatici/difensivi dei suoi tessuti sono stati alterati dall'azione del virus. La colonizzazione del Sars-Cov-2 nell'apparato respiratorio genera una imponente sintomatologia che oscura e copre i segnali di fondo provenienti dagli altri distretti colonizzati dal virus e principalmente quelli che per primi o che hanno attuato una maggiore resistenza (resilienza ?) al SARS-CoV-2. Un confronto tra l'osservazione clinica (semeiotica delle prime anomalie funzionali) e i reperti istologici (definizione temporale della perdita dello stato differenziato e funzionale) forniscono i criteri indispensabili per un sospetto diagnostico e per una strategia efficace di intervento immediata e a medio tempo.

#15. Le manifestazioni neurologiche del COVID-19: l' Encefalopatia Acuta Necrotizzante (ANE)

-Poyiadji N. *COVID-19-associated Acute Hemorrhagic Necrotizing Encephalopathy: CT and MRI Features. Radiology* 201187.10.1148/radiol.2020201187.

-Kabbani N. *Does COVID19 infect the brain? If so, smokers might be at a higher risk. Mol. Pharmacol.* 97, 351.10.1124/molpharm.120.000014.

Poiché l'encefalopatia è stata segnalata tra i sintomi precoci della s-Cov-2 la sua neuroinvasività deve essere definita per meglio comprendere la semeiotica correlata neurologica correlata. Sebbene il virus non sia a tutt'oggi (20 maggio 2020) rilevato in cellule neuronali (neuroni, glia ependima) e nel liquido cerebrospinale, tuttavia ricerche precedenti condotte su SARS-CoV e MERS-CoV hanno chiaramente dimostrato come la neuroinvasività sia una caratteristica della famiglia dei coronavirus essendo presenti nel liquido cerebrospinale dei pazienti, dimostrando così la capacità di questa famiglia virus di attraversare e violare le diverse barriere emato-encefaliche. *In topi transgenici sia SARS-CoV e MERS-CoV se somministrati per via intranasale si infiltrano attraverso i nervi olfattivi, per raggiungere il talamo e successivamente il tronco cerebrale. E' stata discussa anche la possibilità di una diffusione ematogena del virus mediata da un trasporto neuronale retrogrado attraverso le afferenze dei nervi vagali dai polmoni nel sistema nervoso centrale. Inoltre, il virus potrebbe persino diffondere dal sistema nervoso enterico attraverso i suoi neuroni afferenti simpatici.* Le manifestazioni neurologiche della SARS-CoV-2 sono state recentemente correlate a immagini di scansione (TC/ MRI) riferibili a *encefalopatia emorragica necrotizzante (ANE)* un disturbo raro causato da virus che porta principalmente a disfunzione cerebrale, convulsioni, problemi epatici e disorientamento mentale. Le lesioni cerebrali, simmetriche multifocali, interessano il tronco encefalico, alcuni nuclei talamici, il cervelletto e la sostanza bianca. E' descritta anche una imponente neuroinfiammazione innescata dalla concomitante "tempesta citochinica". E' importante segnalare che ANE è particolarmente presente nei fumatori a seguito delle interazioni funzionali tra ACE2 e il recettore nicotinic (nAChR) che ne aumenta l'espressione.

#16. La topologia geografica della pandemia COVID-19

-Sardar R et al. *Comparative analyses of SAR-CoV2 genomes from different geographical locations and other coronavirus family genomes reveals unique features potentially consequential to host-virus interaction and pathogenesis. bioRxiv*, 10.1101/2020.03.21.001586.

Un'altra caratteristica importante, che dovremmo considerare prima di pianificare le modalità di trattamento di un paziente COVID è la sua predisposizione genetica e la sua suscettibilità, che potrebbe variare a livello di popolazione nelle diverse aree geografiche. Un studio pubblicato prima della massiccia epidemia di SARS-CoV-2 in Europa e negli Stati Uniti (USA) ha cercato di selezionare i *mutanti ACE2* che "resistono" all'aggancio della spike protein in soggetti di diverse popolazioni ma non è stato in grado di definire differenze sostanziali. Quando SARS-CoV-2 ha lentamente invaso il mondo intero, una serie di studi hanno riportato significative variazioni molecolari nella struttura molecolare della *spike protein* nel ceppo indiano SARS-CoV-2 rispetto ai ceppi analizzati negli Stati, Italia, Wuhan, e Nepal. Uno studio in particolare ha anche riportato la presenza di un *miRNA antivirale* (has-miR-27b), specifico nella popolazione indiana, che si lega sorprendentemente anche alla regione mutata del ceppo indiano del SARS-CoV-2. *miR -27b* è noto per la sua capacità di inibire la replicazione dell'HIV-1 ed è considerato un efficace *miRNA antivirale*. Attualmente è ipotizzato da molti studi che la diffusione della vaccinazione BCG (Bacillus Calmette Guérin) in paesi come l'India possa aver aumentato l'immunità adattativa della popolazione e funzionare da "scudo protettivo" contro la diffusione SARS-CoV-2. E' interessante sottolineare come nazioni che hanno interrotto la pratica vaccinale contro la tubercolosi (Italia, gli Stati Uniti o i Paesi Bassi) sono tra i più colpiti dall'infezione. Sono attualmente stati attivati due trial per valutare i potenziali benefici protettivi della somministrazione intracutanea del vaccino BCG (identificatori ClinicalTrials.gov NCT04328441 e NCT04327206). Indubbiamente queste osservazioni devono essere supportate da robuste evidenze scientifiche, per poter asserire che le diversità regionali possono svolgere un ruolo influente nella risposta alle pandemie. Ciò sottolinea la necessità di ulteriori screening genetici e in particolare, studi sull'intero genoma in aree geografiche differenti al fine di

comprendere meglio se esiste una specificità nelle interazioni del patogeno nelle singole regioni. Questi studi potrebbero aprire la strada alla definizione di approcci terapeutici specifici per territorio.

#17. Che cosa rende SARS-CoV-2 più aggressivo rispetto agli altri coronavirus ?

L'analisi della struttura cristallina di SARS-CoV-2 ha rivelato la presenza di un dominio di legame (RBD) che è più specificamente coinvolto nel riconoscimento di hACE2. Sebbene sia SARS-CoV che SARS-CoV-2 sfruttino lo stesso recettore hACE2 nell'uomo per ottenere l'ingresso nell'ospite, il legame SARS-CoV-2 sembrerebbe più efficiente grazie a un motivo a quattro residui da 482 a 485 presente nella cresta hACE2, che amplifica l'affinità di legame di SARS-CoV-2 per hACE2 rispetto su SARS-CoV per hACE2. Inoltre, i due hot spot virali, vale a dire hot spot-31 e hot spot-353 su hACE2, sono stabilizzati maggiormente dal SARS-CoV-2 RBD rispetto a SARS-CoV.3 Tutto ciò spiegherebbe perché SARS-CoV-2 abbia un vantaggio maggiore rispetto a SARS-CoV nel causare l'infezione e rappresenti una varietà più evoluta e purtroppo più letale.

In altre parole la trasmissibilità virale dipenda dalla distribuzione spaziale dell'accessibilità del recettore.

#18. I Lipidi bioattivi possono inattivare il COVID-19

-Undurti N Das. Can Bioactive Lipids Inactivate Coronavirus (COVID-19)? Arch Med Res . 2020 Mar 27;50188-4409(20)30292-7. Online ahead of print

SARS-CoV-2, SARS e MERS sono tutti virus "avvolti" che possono causare la sindrome respiratoria acuta. L'acido arachidonico (AA) e altri acidi grassi insaturi (in particolare acido eicosapentaenoico, EPA e acido docosaesaenoico DHA) sono noti per inattivare i virus "avvolti" e di inibire anche la proliferazione di vari organismi microbici. I metaboliti pro-infiammatori di AA ed EPA come prostaglandine, leucotrieni e trombossani inducono infiammazione mentre le *lipossine*, le *resolvine*, le *protine* e le *maresine* derivate da AA, EPA e DHA non solo sopprimono l'infiammazione ma migliorano anche la guarigione e aumentano la fagocitosi dei macrofagi e sostengono l'attività immunocitaria. In linea teorica l'AA e altri acidi grassi insaturi e i loro metaboliti sono dei *potenziali composti antivirali* endogeni e la loro carenza potrebbe essere alla base della diversa suscettibilità alle infezioni da SARS-CoV-2, SARS e MERS e altri virus "avvolti".

La somministrazione orale o endovenosa di AA e altri acidi grassi insaturi potrebbe migliorare la resistenza e il recupero dalle infezioni SARS-CoV-2, SARS e MERS.

#19. Stimolazione dell'immunità adattativa attraverso l'arricchimento di rame plasmatico

-Syamal Raha et al. Copper Beneficial for COVID-19 Patients? Med Hypotheses . 2020 May 5;142:109814. Online ahead of print.

Il rame (Cu) è un micronutriente essenziale sia per i patogeni che per gli ospiti durante l'infezione virale. Il Cu è coinvolto nelle funzioni delle cellule immunitarie critiche come le cellule T helper, le cellule B, le cellule natural killer (NK) dei neutrofili e i macrofagi. Queste cellule sono coinvolte nella soppressione microbica, nell'immunità mediata dalle cellule e nella produzione di anticorpi specifici contro i patogeni. I pazienti con carenza di rame mostrano un'eccezionale suscettibilità alle infezioni a causa della riduzione del numero e della funzione di queste cellule del sangue. Inoltre, il rame possiede caratteristiche elettrochimiche capaci di neutralizzare diversi virus infettivi come i virus responsabili della bronchite, il poliovirus, il virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1), altri virus a DNA e RNA a singolo o doppio filamento avvolti o non avvolti. In particolare il rame ha la capacità di neutralizzare per contatto di diversi virus, tra cui SARS-CoV-2. Poiché l'attuale focolaio di COVID-19 continua a svilupparsi e al momento non sono disponibili vaccini o farmaci ad attività selettiva, una opzione possibile è quella di rendere il sistema immunitario competente a combattere la SARS-CoV-2. Sulla base dei dati disponibili, è stato ipotizzato che un alti livelli di rame plasmatico potrebbe aumentare l'immunità innata e adattativa Per le potenti attività antivirali, il rame potrebbe costituire un regime preventivo e terapeutico contro COVID-19.

#-20 Le conseguenze della rottura della polarizzazione M1-M2 in COVID-19

-Abbas Shapouri-Moghaddam et al. *Macrophage Plasticity, Polarization, and Function in Health and Disease J Cell Physiol* . 2018 Sep;233(9):6425-6440.

-Rebecca Gentek et al. *Tissue Macrophage Identity and Self-Renewal Immunol Rev* . 2014 Nov;262(1):56-73.

L'opinione tradizionale secondo cui tutti i macrofagi residenti nel tessuto derivano dai monociti circolanti è cambiata radicalmente con la dimostrazione che i macrofagi dei progenitori embrionali possono persistere nell'età adulta e auto-mantenersi come macrofagi tissutali residenti. In alcuni distretti, tuttavia, i monociti provenienti dal sangue circolante possono migrare e integrarsi nella popolazione macrofagica residente. Dei macrofagi residenti esistono due famiglie distinte: **Macrofagi M1**, ad attività pro-infiammatoria, vengono polarizzati (attivati) dal lipopolisaccaride (LPS) o in associazione con citochine Th1 (IFN- γ , GM-CSF). Producono pro-citochine infiammatorie (IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23 e TNF- α .) **Macrofagi M2**, anti-infiammatori e immunoregolatori, e vengono polarizzati da citochine Th2 (IL-4 e IL-13). Producono inoltre citochine anti-infiammatorie come IL-10 e TGF- β . Entrambi hanno funzioni e profili trascrizionali differenti ed esprimono abilità diverse potendo neutralizzare i patogeni o riparando le lesioni prodotte dall'infiammazione. Se ne deduce che dall'equilibrio dei macrofagi M1 / M2 dipenda il "destino" di un organo durante una infiammazione o in corso di riparazione tissutale. Quando l'infezione o l'infiammazione sono abbastanza gravi da colpire un organo, i macrofagi polarizzano il fenotipo M1 rilasciando TNF- α , IL-1 β , IL-12 e IL-23 contro lo stimolo. Tuttavia, se l'azione M1 continua, per prevenire ulteriori danni ai tessuti subentra l'azione del M2 che secerne elevate quantità di IL-10 e TGF- β per sopprimere l'infiammazione, contribuire alla riparazione dei tessuti attivando il rimodellamento, la vasculogenesi e ristabilendo l'omeostasi.

21 il paradigma Wichmann : non tutti i decessi COVID-19 sono una sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS).

-Wichmann D et al *Autopsy findings and venous thromboembolism in patients with COVID-19: a prospective cohort study. Ann Intern Med.* 2020;Epub ahead of print.

Le limitate esperienze autoptiche segnalano sporadicamente la presenza di *trombosi venose profonde*. Wichmann sostiene che la *trombosi* sia un fenomeno importante e ricorrente nei pazienti con COVID-19". La sua convinzione nasce dalla constatazione che su un totale di 12 autopsie COVID-19 effettuate dalla sua équipe in 4 casi era presente una *massiccia embolia polmonare* derivante da *trombi* situati nelle vene profonde degli arti inferiori. Erano inoltre presenti quadri di *trombosi venosa profonda* "recente" in assenza di embolia polmonare (in 9 autopsie) e a livello del plesso venoso prostatico (in 6 autopsie). Queste osservazioni autoptiche erano in sintonia con livelli elevati di *lattato deidrogenasi*, con il *D-dimero* e con la *proteina C reattiva*. In 4 casi era presente anche una *lieve trombocitopenia*. L'idea di Wichmann è supportata da numerose casistiche del recente passato che riferiscono come quasi la metà degli *eventi tromboembolici venosi*, se non di più, non vengono diagnosticati prima della morte, consolidando il sospetto che, gli *eventi trombotici* possono essere una caratteristica importante di COVID-19 che va pertanto, considerata non solo come una *sindrome polmonare*, ma come una *sindrome da disfunzione multiorganica*, che si manifesta in seguito a eventi trombotici venosi e arteriosi. Pertanto la *medicina generale* deve porre attenzione a quei pazienti COVID-19 che non sono *abbastanza malati* da essere ricoverati in ospedale ma che tuttavia dovrebbero essere sottoposti ad una *terapia preventiva*. Egualmente, per i pazienti ricoverati in ospedale, ma non *abbastanza malati* per iniziare una *terapia intensiva*, ed ancora per quelli in *terapia intensiva*, ma che non hanno ancora necessità di un ventilatore, ed infine per quelli già collegati ad un ventilatore. Tutte queste sono condizioni in cui *eventi tromboembolici* se non riconosciuti, possono essere responsabili di quelle situazioni particolari in cui i pazienti COVID-19 sembrano apparentemente riprendersi per poi peggiorare rapidamente e morire. (vedi anche sinossi #7)

#.22 Droplets : fisiopatologia funzionale.

-Bake b et al. *Exhaled Particles and Small Airways Respir Res* . 2019 Jan 11;20(1):8.

-Yu Feng et al. *Influence of Wind and Relative Humidity on the Social Distancing Effectiveness to Prevent COVID-19 Airborne Transmission: A Numerical Study J Aerosol Sci* . 2020 May 18;105585

Il Sars-cov-2 è presente all'interno di microscopiche sfere liquide, *droplets*, prodotte dal nostro apparato respiratorio durante la fase di espirazione. Ogni *droplet* è un concentrato di *sostanze volatili e semivolatili, ossido nitrico, potassio, calcio e cloruro* (picogrammi pg, per litro di aria espirata) insieme ad una quota significativa di proteine e fosfolipidi, e ovviamente, in corso di infezioni una quantità variabile di virioni. La loro analisi strutturale può essere eseguita in microscopia elettronica a trasmissione (TEM), attraverso diffrazione con raggi X, spettrometria di massa tradizionale, spettrometria di massa di ioni secondari time-of-flight (TOF-SIMS). L'analisi proteomica identifica mediamente oltre *200 specie proteiche* (nell'ordine nanogrammi). Le *droplets* vengono prodotte e rilasciate durante l'espirazione a partire dal RTLFL (respiratory tract lining fluid) una pellicola liquida, una miscela molecolare complessa che riveste la mucosa nasale e tutto l'albero tracheo bronchiale fino ai sacchi alveolari e dall'orofaringe dove defluisce nella cavità buccale. Questa viene prodotta (100ml/giorno) dalle popolazioni cellulari e dai complessi ghiandolari presenti nel tratto "naso-oro-faringeo-tracheo-bronchiale-alveolare". La sua composizione finale definisce un microambiente "accogliente" e compatibile per i coronavirus e per il sars-cov-2 in particolare. Durante l'*espirazione profonda*, in concomitanza con la chiusura delle piccole vie aeree, la velocità del flusso d'aria attraverso l'epiglottide e le corde vocali in particolare, genera all'interfaccia ARIA/RTLFL forze di taglio segmentali, che "frammentano" in più parti la pellicola di rivestimento (effetto split-up). Dalla rottura si formano una miriade di sfere liquide sub microscopiche, le *droplets* appunto, in cui restano inclusi, se presenti, un numero variabile di virus. Queste, di dimensioni e quantità differenti, sono comprese tra 0,7 e 1,0 µm (diametro medio <4 µm.) e tra i micro ed i nanogrammi. È da considerare che, assumendo densità e forme sferiche simili, ad una particella con un diametro di 150 µm corrispondono quasi 6,6 milioni di particelle con un diametro di 0,8 µm. Durante la vocalizzazione la vibrazione delle corde vocali legata al passaggio dell'aria attraverso l'epiglottide produce *droplets* di dimensioni e con cariche virali differenti: La profondità dell'espirazione aumenta la loro concentrazione nell'espirato mentre le oscillazioni apneiche della voce ed il timbro le loro dimensioni finali. Sistemi di simulazione fluidodinamica *in vitro* riportano anche il numero di *droplets* che si formano in un secondo; ad esempio il fonema "aah" se sussurrato produce 672 *droplets* /sec, se urlato 1088. Durante un colpo di tosse, a corde vocali pressochè serrate, le *droplets* generate sono 678 /secondo. **Questi dati dovrebbero far riflettere quei portatori di mascherine che quando discettano o ci rivolgono la parola portano la mascherina all'altezza del mento: COVID-19 ringrazia!** Le *droplets* native, appena rilasciate, hanno un diametro compreso tra 0,01 e 1000 µm a seconda del meccanismo che le ha generate, ma tendono a contrarsi divenendo più piccole in base alle condizioni ambientali (umidità, temperatura, aerazione, microclima ambientale). La spettrometria di massa tensioattiva, (TOF-SIMS) ha mostrato nelle *droplets* la presenza di fosfolipidi con marcata attività tensioattiva (fosfatidilcolina, fosfatidilglicerolo e fosfatidilinositolo), in particolare del fosfolipide dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), prodotto dai *pneumociti di tipo II* e delle proteine tensioattive A (SP-A, SP-D) che consentono l'adesione delle *droplets* alle mucose. I risultati autoptici su deceduti COVID, riportano che in corso di infezione i *Pneumociti di tipo II* sono ipertrofici e rilasciano fattori surfattanti. (vedi sacco alveolare). Dalla mucosa nasale agli alveoli l'RTLFL svolge una intensa attività anti-ossidante grazie alla presenza di *mucine, acido urico, proteine* (in gran parte albumina), *acido ascorbico* e glutazione ridotto (GSH). Questa attività può aumentare in seguito a trasudazione / essudazione di alcuni componenti plasmatici e di conseguenza possibili alterazioni nella composizione lipidica del tensioattivo possono influenzare negativamente la funzione SP-A e SP-D che possono così essere ossidate e perdere la loro efficacia. Recenti studi hanno dimostrato come l'attività di SP-A diminuisca con l'aumentare dell'età (dai 22 ai 55 anni). Ciò suggerisce che il polmone dell'anziano è particolarmente predisposto a processi infiammatori. In particolare alterazioni dell'equilibrio "SP-A – tensioattivo" può innescare facilmente uno stato infiammatorio cronico con un incremento dei macrofagi alveolari M1. Queste riflessioni forniscono una ulteriore tessera al complicato puzzle del paradigma della "fragilità immunitaria" degli alveoli polmonari in età avanzata e della conseguente aumentata suscettibilità alle infezioni e alle malattie polmonari non infettive e contestualmente al COVID-19.

23. Rubbing oculare e meccanismi di penetrazione del COVID-19

-Imran Mohammed et al. *Human Antimicrobial Peptides in Ocular Surface Defense Prog Retin Eye Res* . 2017 Nov;61:1-22.

-Balasubramanian SA et al. *Effects of eye rubbing on the levels of protease, protease activity and cytokines in tears: relevance in keratoconus. Clin Exp Optom*. 2013;96(2):214-218. doi:10.1111/cxo.12038

-Jones L et al. *The COVID-19 pandemic: Important considerations for contact lens practitioners. Cont Lens Anterior Eye*. 2020;43(3):196-203. doi:10.1016/j.clae.2020.03.012

Sebbene costantemente esposta all'ambiente e ai "corpi estranei" come lenti a contatto o più semplicemente martorizzata dallo stropicciamento con dita sporche la superficie oculare soccombe alle infezioni relativamente di rado. Ciò è dovuto in gran parte a una risposta immunitaria innata molto attiva e robusta presente sul film che riveste la superficie oculare. Nel film lacrimale sono presenti gli AMP (peptidi antimicrobici endogeni) peptidi cationici della famiglia delle "defensine & catelicidine" di piccolo peso molecolare che svolgono una vasta gamma di attività contro , batteri, funghi e parassiti ed in particolare virus grazie all'attività di una *Rnasi* e una *S 1000 specifica*. La loro sintesi e conseguentemente la loro capacità difensiva e preventiva può essere potenziata da numerose molecole (L-isoleucina, butirrato di sodio, vitamina D3, fenilbutirrato, peptide intestinale vasoattivo ed etinostato) .Gli AMP fungono inoltre da molecole di segnalazione, con importanti effetti immunomodulatori;. E' interessante osservare che l'efficacia di questo sistema protettivo tende a diminuire nell'anziano un ulteriore elemento per la disposizione a contrarre una infezione da COVID-19. Lo sfregamento degli occhi (rubbing) provoca un aumento temporaneo della pressione intraoculare che può passare dai 109 mmHg fino a 300 mmHg . Un Rubbing di 60 secondi aumenta il livello di lacrimazione e rilascia MMP-13, IL-6 e TNF- α in particolare provoca alterazioni della superficie epiteliale cuboidale stratificata della congiuntiva tarsale superiore risparmiando la superficie epiteliale squamosa stratificata dei margini del rivestimento distale e della cornea. Al momento non ci sono prove che suggeriscano un aumentato rischio di contrarre COVID-19 attraverso l'uso di lenti a contatto e nessuna dimostrazione che indossare occhiali da vista standard fornisca protezione contro COVID-19 o altre trasmissioni virali. Per ridurre l'infezione nosocomiale SARS-CoV-2, tutti gli operatori sanitari ed in particolare gli oculisti e gli optometristi, devono essere dotati di tuta protettiva e respiratore N95, guanti e occhiali e sono inevitabilmente necessari la protezione del viso, la protezione degli occhi, la protezione della mucosa nasale e orale, nonché l'orecchio esterno e la protezione dei capelli. L'oculistica attraverso un triage telefonico e utilizzando tecniche di teleoptometria applicate al suo smartphone può dare un utile consulto in una congiuntivite sospetta per COVID-19.

24 Cellule linfoidi innate e immunità adattativa

-Vivier E et al. *Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. Cell*. 2018;174(5):1054-1066.

-Stehle C et al. *Innate lymphoid cells in lung infection and immunity. Immunol Rev*. 2018;286(1):102-119.

-Lai D et al. *Group 2 innate lymphoid cells protect lung endothelial cells from pyroptosis in sepsis. Cell Death Dis*. 2018;9(3):369. Published 2018 Mar 6.

-Willinger T. *Metabolic Control of Innate Lymphoid Cell Migration. Front Immunol*. 2019;10:2010. Published 2019 Aug 22.

Le cellule ILC (cellule linfoidi innate) sono residenti ed integrate nei tessuti epiteliali delle mucose dove svolgono il ruolo di "sentinelle immunitarie" . Strutturalmente sono equiparabili a linfociti che tuttavia non esprimono i recettori antigenici normalmente espressi dai linfociti T e cellule B. Producono svariate citochine che intervengono in numerosi processi immunitari ed in particolare, sostengono l'immunità adattativa attraverso un potenziamento dell'attività dei T CD4 Vengono considerati dei "registri", capaci di "modellare" le successive risposte immunitarie. In base alla produzione ed alla classe di citochine prodotte si individuano tre sottopopolazioni cellulari ILC1, ILC2, ILC3 che operano in totale sinergia con gli NK A livello polmonare le (ILC2) rappresentano la principale popolazione coinvolta (responsabile?) di non aver ostacolato l'espansione del COVID-19 nelle prime fasi della patologia (?) Pur svolgendo funzioni "sentinella" le ILC hanno la capacità di migrare e di prendere posizione in punti strategici in quei territori in cui si va organizzando un processo infiammatorio (attività homing) Questa loro migrazione ed il successivo posizionamento è diretto da segnali

specifici Ad esempio, nell'intestino dove gli ILC sono esposti a un ambiente ricco di metaboliti dietetici, microbici ed endogeni, è stato dimostrato che l'acido retinico, (metabolita della vitamina A), favorisce l'homing intestinale di ILC1 e ILC3. Inoltre, studi recenti, hanno evidenziato che gli *ossisteroli* (metaboliti del colesterolo) regolano la migrazione delle ILC attraverso il recettore GPR183. *Sarà interessante, nel immediato futuro, valutare il ruolo effettivo delle ICL nel controllo e nella perdita dell'immunità adattativa nelle prime fasi dell'infezione da coronavirus.*

25 “Dark side moon” : sistema nervoso e COVID-19

Hung E.C. et al. *Detection of SARS coronavirus RNA in the cerebrospinal fluid of a patient with severe acute respiratory syndrome. Clin. Chem. 2003;49:2108–2109.*

Lau K.-K. et al. *Possible central nervous system infection by SARS coronavirus. Emerg. Infect. Dis. 2004;10:342. [*

Li Y. et al. *Coronavirus infections in the central nervous system and respiratory tract show distinct features in hospitalized children. Intervirology. 2016;59:163–169.*

Saad M et al. *Clinical aspects and outcomes of 70 patients with Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: a single-center experience in Saudi Arabia. Int. J. Infect. Dis. 2014;29:301–306.*

Miró J.M. et al. *Emergency electroencephalogram: Usefulness in the diagnosis of nonconvulsive status epilepticus by the on-call neurologist. Neurología (English Edn) 2018;33:71–77.*

#Leitinger M et al Beniczky S., Rohracher A. *Salzburg consensus criteria for non-convulsive status epilepticus—approach to clinical application. Epilepsy Behav. 2015;49:158–163.*

I membri della famiglia dei *coronavirus* condividono strutture virali e percorsi di infezione simili; pertanto, i *patomeccanismi* descritti in letteratura possono essere ipotizzabili anche per SARS-CoV2. I coronavirus umani non sono solo confinati al tratto respiratorio e possono invadere il sistema nervoso. Un numero crescente di osservazioni suggerisce che la neuroinvasione e il neurotropismo possano essere una caratteristica del COVID-19. In uno studio su 183 bambini ospedalizzati per sospetta *encefalite acuta*, il 12% presentava una infezione da coronavirus (il tipo non è stato specificato) diagnosticata mediante la presenza di IgM anti-CoV (Li Y. et al 2016). In 70 pazienti con infezione da MERS-CoV, nel 26% dei pazienti è stato riferito uno *stato mentale* alterato e il 9% presentava *cefalea, vertigini convulsioni acute o subcliniche* fino all'emersione di *uno stato epilettico che va differenziato da uno stato epilettico non compulsivo secondo i criteri della Consensus Conference di Salisburgo che consiglia quando un paziente si trova in una condizione critica che ha determinato un cambiamento nello stato mentale, di eseguire un monitoraggio EEG.* (Miró J.M 2018). (Leitinger M 2015). *Le osservazioni cliniche sperimentali dei prossimi mesi permetteranno di iniziare a far luce sul ruolo intrigante e misterioso dei coronavirus nel sistema nervoso e sul nostro comportamento.*

26 L'orologio immunitario di Aghaeepour nelle gestanti COVID-19

-Aghaeepour N et al *An immune clock of human pregnancy. Sci Immunol. 2017;2(15):eaan2946.*

-Werenberg Dreier J et al. *Fever and infections in pregnancy and risk of attention deficit/hyperactivity disorder in the offspring. J Child Psychol Psychiatry. 2016;57(4):540-548.*

La gravidanza è uno stato immunologico unico. Durante la gravidanza il sistema immunitario materno deve affrontare grandi sfide, "in primis" stabilire e mantenere la tolleranza al feto allo genico, assicurando una protezione continua contro le infezioni microbiche e quelle virali in particolare. Gli stati *immunologici materni* si adattano e cambiano in relazione alla crescita e allo sviluppo del feto nei diversi stadi gestazionali: da uno *stato pro-infiammatorio* (indispensabile per l'impianto e la placentazione dell'embrione) nel primo trimestre a una condizione *anti-infiammatoria* (utile per la crescita fetale) nel secondo trimestre, e nuovamente a una situazione *pro-infiammatoria* nel terzo trimestre finalizzata a sostenere i meccanismi del parto. Il team di Nimas Aghaeepour dell'Università di Stanford, attraverso l'analisi "multiomica" (che comprende la genomica, la proteomica, immunofenotipizzazione e tecnologie "a singola cellula") ha sviluppato un *algoritmo* che cattura la linea temporale immunologica della gravidanza e aiuta comprendere le concatenazioni delle reazioni immunitarie durante la gestazione. Hanno di fatto costruito un "orologio immunitario" che permette di monitorare temporalmente i meccanismi immunitari durante la gravidanza. Ad esempio, alcuni meccanismi *dell'immunità adattativa* vengono attenuati durante la gravidanza, (es. le

frequenze delle cellule T e delle cellule B e la capacità delle cellule T CD4 + naïve di produrre la cellula T helper 1 (T H 1) e citochine di tipo T H 2.). Al contrario, le *risposte immunitarie innate specifiche* sono attivate (es. le risposte delle cellule dendritiche (pDC) alle citochine, il comportamento dei natural killer e nel sistema monocito macrofagico quando vengono stimolati con particelle virali.) E' sorprendente vedere come *l'algoritmo di Aghaepour* permette di ricostruire una possibile dinamica delle modificazioni immunitarie in corso di COVID-19 e come questa coincida con i dati *immunoistochimici* e con l'espressione di *marker molecolari specifici*. Il dato che le risposte *immunitarie adattative* siano sotto-regolate durante la gravidanza posso spiegare le prime fasi dell'infezione (diminuzione del numero di cellule T e B) ; inoltre, durante la gravidanza, il tratto respiratorio superiore delle gestanti è iper stimolato dall'alto livello di estrogeni e progesterone che, unitamente alla imitata espansione polmonare espone la gestante ad una maggiore sensibilità nei confronti di patogeni rendendole più suscettibili all'infezione da COVID-19. Anche se le attuali conoscenze non supportano il paradigma di una *trasmissione verticale intrauterina*, tuttavia l'insorgenza di una infiammazione materna a seguito della infezione virale durante la gravidanza può influenzare diversi aspetti dello sviluppo del cervello fetale e può portare a una vasta gamma di disfunzioni neuronali e fenotipi comportamentali che potranno essere diagnosticati più tardi nella vita postnatale (Mor et al., 2017). Uno studio di JE Choi della Facoltà di medicina di San Diego ha dimostrato che l'attivazione immunitaria materna aumenta i livelli di *IL-17a*, con la (presumibile) induzione nella prole di un i fenotipo simile allo *spettro autistico* (citato in Choi JE et al *Change in plasma cytokine levels during risperidone treatment in children with autism. J Child Adolesc Psychopharmacol. 2014;24(10):586-589.*) Il sintomo più comune all'inizio dell'infezione da COVID-19 è la febbre, Julie Werenberg Dreier dell' University of Southern Denmark sostiene che la febbre e le infezioni in gravidanza aumentano il rischio di *deficit di attenzione ed iperattività* nella prole (Werenberg Dreier J et al. *Fever and infections in pregnancy and risk of attention deficit/hyperactivity disorder in the offspring. J Child Psychol Psychiatry. 2016;57(4):540-48.*

27. Trasfusione di plasma convalescente: valutazioni preliminari e perplessità

-Zhou M, Han Ly, Hu Bj. *Advance in cognition of revised and updated 'guidelines of diagnosis and treatment of COVID-19. Chin J Nosocomiol. 2020: 1- 7.*

-Duan K, Liu BD, Li CS, et al. *The feasibility of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients: a pilot study. medRxiv. 2020.*

-Xu ZH, Zhou JM, Huang YB, et al. *The efficacy of convalescent plasma for the treatment of severe influenza. MedRxiv. 2020..*

-Ma J, Xia P, Zhou Y, et al. *Potential effect of blood purification therapy in reducing cytokine storm as a late complication of critically ill COVID19. Clin Immunol (Orlando, Fla). 2020; 214:108408.*

-Stebbing J, Phelan A, Griffin I, et al. *COVID19: combining antiviral and anti-inflammatory treatments. Lancet Infect Dis. 2020; 20: 400- 402.*

La trasfusione di plasma da convalescenti (CP) è stata raccomandato per il trattamento di pazienti che manifestano un'improvvisa progressione della malattia e di quelli con malattia critica :*Advance in cognition of revised and updated 'guidelines of diagnosis and treatment of COVID-19* (Zhou et 2020). In precedenza era stato dimostrato che il trattamento CP poteva ridurre i livelli di citochine nei pazienti con grave influenza (Xu Zh 2020). Duan K hanno riferito che la viremia di 10 pazienti COVID - 19 era controllata e che la conta dei linfociti aumentava dopo 7 giorni di trasfusione di CP. Effetti benefici simili sono stati riportati anche in 6 pazienti con COVID-19 gravi. (Ma J 2020). Tuttavia, i risultati preliminari (etichettati come "incoraggianti") non rispondono a domande fondamentali riguardo la *dose ottimale* e quale sia la *migliore finestra terapeutica* per iniziare il trattamento. Ad esempio, non sono stati studiati i pazienti nelle prime fasi dell'infezione, Inoltre, la CP spesso è combinata con altri trattamenti che rendono difficile valutare in modo conclusivo il vero beneficio della sola CP. E' ancora irrisolta la questione del *Antibody-dependent enhancement* e dei teorici side effects che potrebbe comportare. (Stebbing J 2020). Sono attualmente in sperimentazione la rimozione diretta di citochine (e tossine) attraverso la purificazione del sangue mediante terapia di sostituzione renale continua, emoassorbimento, emoperfusione e scambio di sangue come espedienti per contenere la "tempesta citochinica". Incoraggianti i risultati di tre pazienti trattati con scambio di plasma nel First Affiliated Hospital del Bengbu Medical College (Bengbu, Cina) che riportano una riduzione

significativa del livello di IL - 6 associato ad un aumento dei linfociti dopo il trattamento. Conclusioni: to be continued

#28. La storia di Alice G1P0 , COVID-19 positiva

-Mehta H, Ivanovic S, Cronin A, et al. Novel coronavirus-related acute respiratory distress syndrome in a patient with twin pregnancy: A case report [published online ahead of print, 2020 May 16]. Case Rep Womens Health. 2020;27:e00220. doi:10.1016/j.crwh.2020.e00220

Alice, 39 anni, manager “in carriera”, G1P0, ha concepito due gemelli mediante *fecondazione in vitro*. Alla 27 settimana di gestazione presenta congestione nasale e tosse secca per 7 giorni. Il suo medico all’esame obiettivo non riscontra nulla di importante tranne una *tachicardia sinusale*. Gli esami di laboratorio rientrano nella norma tranne per il *PCR positivo per SARS-COV2*. Una scansione TC del torace mostra opacità bilaterali a “vetro smerigliato” multi-focale. Il ginecologo la rassicura: *assenza di stress fetale*. Alice si ricovera e viene trattata con *ceftriaxone, azitromicina e idrossiclorochina*. Durante la sua permanenza in ospedale, sviluppa progressivamente un peggioramento dell’insufficienza respiratoria, compensata con una ventilazione non invasiva; successivamente subentra una sindrome da *distress respiratorio acuto* che richiede ventilazione meccanica. Nonostante il massimo supporto ventilatorio Alice va incontro ad *ipossiemia improvvisa e collasso emodinamico*. Viene eseguito un cesareo d'emergenza. In poche ore si realizza la stabilizzazione dei parametri emodinamici e dello stato respiratorio generale. Entrambi i gemelli nati prematuramente stanno bene, ma uno di loro è risultato positivo per SARS-COV2. Pasaggio transplacentare ?

#29. La riproduzione al tempo del COVID-19

-Tesarik J. After corona: there is life after the pandemic. Reprod Biomed Online. 2020;40(6):760-762. doi:10.1016/j.rbmo.2020.04.002

-La Marca A et al.COVID-19: lessons from the Italian reproductive medical experience. Fertil. Steril. 2020 doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.03.021. In press. <https://doi.org/>

-Wei D et al Frozen versus fresh single blastocyst transfer in ovulatory women: a multicentre, randomised controlled trial. Lancet. 2019;393:1310–1318. 2019.

Attualmente l’orientamento generale è quello di evitare di mettere al mondo figli durante la pandemia e nell’immediato futuro nella angoscia attesa di un misterioso COVID-20. Lungi dal sottovalutare l’impatto dell’attuale pandemia di COVID-19 su diversi aspetti della vita umana, dovremmo comunque evitare di cadere nella trappola dell’eccessiva precauzione. *Il maggior pericolo nella vita consiste nel prendere troppe precauzioni* (Alfred Adler). E allora che fare ? Uno dei risultati più straordinari della fecondazione assistita è la possibilità di separare, nello spazio e nel tempo, la fecondazione dall’inizio della gravidanza. Il sostanziale miglioramento delle tecniche di congelamento degli embrioni ha portato a una situazione apparentemente paradossale secondo il quale i tentativi di trasferimento di embrioni congelati sono più efficienti di quelli che usano embrioni freschi nei cicli di stimolazione ovarica (Wei et al., 2019). Ciò è probabilmente dovuto a causa di un impatto negativo degli attuali protocolli di stimolazione ovarica sulla ricettività uterina. Di conseguenza, contrariamente alla “credenza popolare”, le coppie che scelgono una fecondazione assistita non sono svantaggiate se tutti gli embrioni risultanti da un ciclo di stimolazione ovarica vengono congelati e trasferiti in seguito, dopo un trattamento appropriato incentrato sul raggiungimento della ricettività uterina ottimale piuttosto che sulla massima resa di ovociti. La fecondazione assistita è quindi una “soluzione ideale” per le donne che non possono posporre la loro stimolazione ovarica senza correre il rischio di ridurre le loro possibilità di successo, come le donne con una riserva ovarica estremamente povera e / o di età avanzata, o quelle che necessitano di un intervento urgente per la conservazione della fertilità, come i pazienti programmati per la terapia antitumorale. Questa è anche la scelta migliore per tutte quelle donne che hanno già iniziato la fase preparatoria del trattamento per ART (Assisted reproductive technology) che può durare anche diversi mesi, specialmente nei casi di protocolli personalizzati utilizzati nelle donne con una riserva ovarica estremamente scarsa (Tesarik, 2017). Raccomandazioni simili sono state proposte in linee guida internazionali sulla riproduzione, come quelle emesse dalla Società Europea di Riproduzione umana e Embriologia (ESHRE) e dalla Società americana per la medicina riproduttiva (ASRM). L’attuale pandemia di

COVID-19 non dovrebbe comportare l'esclusione, anche temporanea, delle donne da efficaci opzioni di trattamento per raggiungere la gravidanza e il parto. A livello globale, circa lo 0,3% di tutti i bambini nati ogni anno sono concepiti utilizzando le tecnologie della riproduzione assistita. Al contrario, il numero totale di decessi COVID-19 finora riportati rappresenta circa l'1,0% dei decessi totali previsti in tutto il mondo nei primi tre mesi dell'anno in corso. Sembra, quindi, che il numero di neonati che dovrebbero essere concepiti e nati, ma che non saranno così a causa dell'attuale blocco dei servizi di infertilità, potrebbe essere significativo quanto il numero totale di decessi attribuiti alla pandemia di COVID-19. Nella "triple" del COVID: epidemia, pandemia, carestia è previsto un quarto tempo: dopo c'è la vita. Ci sarà anche la vita "dopo corona" e dovremmo fare del nostro meglio per renderlo il miglior futuro possibile per le persone che hanno urgente bisogno di aiuto, come le donne in cerca di maternità, specialmente quelle in perenne competizione con il loro orologio biologico, quelle che non hanno tempo da perdere. Non permettiamo a nessun virus di rovinare le loro aspettative di vita.

30. Melatonina , immunità e COVID-19

-Leon J e al. Melatonin and mitochondrial function. Life Sci. 2004;75(7):765–90.

La regolazione dei *percorsi melatonergici*, sia pineali che sistemici, permette di identificare le modalità con cui i virus guidano i cambiamenti cellulari che sono alla base del loro controllo della funzione cellulare. La soppressione virale o preesistente della melatonina pineale *inibisce la migrazione dei neutrofili*, contribuendo in tal modo alla formazione della "tempesta citochinica". La *melatonina* attiva il gene circadiano, *Bmal1*, che disinibisce il complesso piruvato deidrogenasi (PDC), contrastando l'inibizione virale di *Bmal1 / PDC*. Il PDC guida la conversione mitocondriale del piruvato in acetil-coenzima A (acetil-CoA), aumentando così il ciclo dell'acido tricarbossilico, la fosforilazione ossidativa e la produzione di ATP. La soppressione della melatonina pineale attenua ciò, impedendo il "ripristino" circadiano del metabolismo mitocondriale. Ciò è particolarmente importante nelle cellule immunitarie, dove spostando il metabolismo dalla fosforilazione glicolitica a quella ossidativa, si passa dalle cellule reattive a *fenotipi quiescenti*. La formazione di acetil-CoA è un momento fondamentale. Infatti l'acetil-CoA è un cosubstrato necessario per *l'arilalchilammina N-acetiltransferasi*, fornendo un gruppo acetile alla serotonina e dando così inizio alla via melatonergica. In conclusione : la melatonina pineale regola il fenotipo delle cellule immunitarie, condiziona l'insorgenza della tempesta citochinica ed interviene nella regolazione delle risposte immunitarie . Il controllo guidato dalla tempesta di virus e citochine della via melatonergica pineale e mitocondriale regola quindi le risposte immunitarie

31. The mysterious disappearance of toilet paper from supermarket shelves

-D'Amico F et al. Diarrhea During COVID-19 Infection: Pathogenesis, Epidemiology, Prevention, and Management. Clin Gastroenterol Hepatol. 2020;18(8):1663-1672. doi:10.1016/j.cgh.2020.04.001

Con l'epidemia di COVID-19 in tutto il mondo si è cominciato all'impazzata a fare scorta di carta igienica. Mentre la pressante incetta di disinfettanti per le mani, mascherine mediche e salviettine fosse in un certo qual modo comprensibile non si riusciva a spiegare " la misteriosa scomparsa della carta igienica" dai scaffali dei supermercati in Cina, Gran Bretagna, Australia, USA, Italia, praticamente dovunque.

Gli "esperti" internazionali di psicologia hanno cercato di spiegare il perché. *Andy Yap* (esperto di comportamento presso la *INSEAD Business School di Singapore*) ritiene che , il COVID-19 "costituisca **una minaccia per il nostro senso di controllo**, e questo ha indotto la popolazione in tutto il mondo a ricorrere *acquisti da panico* e a trovare rifugio in "alcuni modelli illusori" come comprare all'impazzata la carta igienica. *Nadine Kaslow* (psichiatra della *Emory University School of Medicine*) ritiene **che l'acquisto convulsivo di carta igienica sia una risposta agli attacchi di panico che fa sì che le persone sentono di perdere il controllo attivando azioni e comportamenti eccessivi come l'acquisto di una fornitura annuale di carta igienica, "gli acquisti da panico diventano uno strumento utile per riappropriarsi della capacità di gestire processi"** concorda *Paul Harrison* (esperto di psicologia dei consumi). *Ma perché proprio la carta igienica ?*

Secondo *Tan Ern Ser* (sociologo dell'Università di Singapore) la carta igienica appartiene a una delle categorie di **prodotti di consumo per l'igiene personale che sono indispensabili per soggetti che presentano abitudini radicate nella loro vita quotidiana**. *Neil Greenberg* (neurobiologa del King's College di Londra) invece punta il dito verso **la media responsabili di creare e alimentare ansia nella popolazione che, messa in quarante amplifica il suo istinto di sopravvivenza**, poiché è difficile prevedere cosa ci servirà per sopravvivere alla quarantena. (sempre che comprare in grandi quantità carta igienica e alimenti a lunga conservazione posso avere effettivamente senso.) **Si attiva un comportamento sociale a carattere infettivo una volta messa in giro la voce la maggioranza si adatta al comportamento generale e quanto** sostiene *Kazuya Nakayachi* (psicologo della Doshisha University).

Una "banale" domanda propedeutica a queste eleganti spiegazioni degli amici psicologi : ma il covid-19 induce diarrea ?

Una metanalisi (PubMed, EMBASE e Web of Science fino a marzo 2020) è stata sviluppata in collaborazione tra Humanitas di Milano e il Department of Gastroenterology and Inserm NGERE U1256, University Hospital of Nancy per identificare studi che documentano la diarrea e il meccanismo dell'infiammazione intestinale in pazienti con diagnosi confermata da infezione da SARS-CoV-2. Gli studi clinici mostrano un tasso di incidenza di diarrea che varia dal **2% al 50% dei casi**. Può precedere o seguire i sintomi respiratori. L'analisi statistica aggregata stima una percentuale complessiva di insorgenza di diarrea del **10,4%**. SARS-CoV utilizza l'enzima 2 di conversione dell'angiotensina (ACE2) e la proteasi serinica TMPRSS2 per interagire con la proteina S. ACE2 e TMPRSS2 non sono espressi solo nei polmoni, ma anche negli epitelii dell'intestino tenue. L'ACE2 è inoltre espressa nell'esofago superiore, nel fegato e nel colon. L'affinità di legame SARS-CoV-2 con ACE2 è significativamente più alta (10-20 volte) rispetto a SARS-CoV. Numerose segnalazioni indicano la diffusione dell'RNA virale nel periodo di tempo più lungo rilevabile dalle feci rispetto ai tamponi rinofaringei. La **diarrea** è un sintomo frequente in pazienti infetti da SARS-CoV-2. La crescente evidenza indica la possibile trasmissione oro- fecale, indicando la necessità di una rapida ed efficace modifica degli algoritmi di screening e diagnostica. I metodi ottimali per prevenire, gestire e trattare la diarrea nei pazienti con infezione da COVID-19 sono attualmente oggetto di ricerca intensiva specialmente a livello pediatrico.

La ricerca nelle feci è più attendibile dei tamponi orofaringei ? Cosa ci dicono le feci degli asintomatici con tampone negativo ? E' quelle dei sintomatici ?

(Vedi importanza della ricerca del cov-2 nel materiale fecale . FECl pagina 21)

32. Perché l'utilizzo degli interferoni potrebbe essere un arma a "doppio taglio"

-Hadjadj J et al. Impaired type I interferon activity and exacerbated inflammatory responses in severe Covid-19 patients. bioRxiv (2020). -Blanco-Melo D et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. Cell (2020).

-Vabret N et al. Immunology of COVID-19: current state of the science. Immunity (2020). DOI: 10.1016/j.immuni.2020.05.002

-Gordon DE et al. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. Nature (2020). DOI: 10.1038/s41586-020-2286-9

-Ziegler C et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. Cell (2020).

-Lei J et al. CT Imaging of the 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia. Radiology (2020).

-Kindler E et al. SARS-CoV and IFN: Too Little, Too Late. Cell Host and Microbe (2016).

-Channappanavar R et al. Dysregulated Type I Interferon and Inflammatory Monocyte-Macrophage Responses Cause Lethal Pneumonia in SARS-CoV-Infected Mice. Cell Host and Microbe (2020).

-Hung I et al. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir-ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial.

Osservazioni propedeutiche. I nostri tessuti possiedono la straordinaria capacità di inibire la replicazione virale, di impedirne la diffusione ad altre cellule e di "reclutare" le popolazioni cellulari preposte alla risposta immunitaria istruendole su come intervenire contro i virus. Questa capacità, che rappresenta una delle componenti *immunità adattativa innata* tessutale, è regolata da specifiche glicoproteine della famiglia delle citochine identificate nel 1957 da Isaacs e Lindenmann definite *interferoni* (IFN) Dell'arsenale *interferoni* sono quattro quelli da valutare attentamente : *alfa, beta, lambda e gamma* capaci appunto di

interferire direttamente sui meccanismi che i virus utilizzano per la loro riproduzione o indirettamente potenziando la risposta immunitaria attraverso l'azione dei macrofagi e degli NK. La sintesi degli *interferoni* viene innescata dai *recettori PRR* esposti sulla superficie cellulare. Una sorta di "bio-radar" specializzati nella individuazione e nel riconoscimento di patogeni e di virus in particolare. Una volta intercettati e segnalata la loro presenza all'interno della cellula viene attivata una sequenza di "segnali" che innescano la sintesi degli *interferoni alfa e beta*. Questi vengono trascritti dagli *IRF specifici* fattori di trascrizione e *tradotti da IF2*. In particolare l' *interferon alfa* attiva una batteria di *geni ISG* (gene stimolati dagli interferoni) capaci di bloccare l'internalizzazione virale in atto e di inibire la replicazione di quelli già penetrati attraverso la produzione di *PKR (Protein kinase-R)* che fosforila l' *IF2, un fattore di traduzione* disattivandolo. In questo modo viene bloccata la replicazione virale e attivata la degradazione di quelli già replicati. In relazione alla carica virale gli *interferoni* possono diffondere in gran parte delle cellule dello stesso tessuto in cui il virus non è ancora penetrato allertando una serie di geni che mettono fuori uso le macchine molecolari che il virus potrebbe utilizzare per replicarsi. Contemporaneamente l'*interferon beta* viene rilasciato nei linfonodi regionali e in circolo dove attiva le popolazioni cellulari della risposta immunitaria che iniziano la produzione di *anticorpi specifici*. La *febbre* e la *spossatezza muscolare*, segni prodromici di una affezione virale, sono in parte dovuti proprio alla sintesi iniziale di *interferoni* ci informano indirettamente che i virus sono all'interno delle nostre cellule e che stanno iniziando a riprodursi e che le nostre cellule sono pronte a neutralizzarli. La presenza dei virus è clinicamente accertata attraverso test molecolari "tamponi" e la sua attività attraverso *test sierologici specifici* (Gordon D 2020). Questo complesso sistema di sorveglianza e protezione cellulare può essere sabotato con una sorprendente rapidità dai coronavirus e dal sars-cov2 in particolare (Blanco-Melo D, Vabret N 2020).

La notizia: Jerome Hadjadj e l'equipe di Frédéric Rieux Laucat, dell'Hopital Necker di Parigi, ha monitorato la risposta immunitaria nel sangue circolante dei pazienti COVID-19 dopo 8-12 giorni dall'insorgenza dei primi sintomi (Hadjadj J 2020). Utilizzando il *sequenziamento dell'RNA*, hanno potuto dimostrare che nei pazienti con "gravi" l'espressione degli "ISGgene" era inferiore rispetto ai pazienti con una infezione modesta. I livelli di *interferoni sierici* erano più bassi nei casi più gravi che in quelli lievi, ipotizzando che COVID possa determinare una riduzione significativa dei livelli della *risposta antivirale innata* e contribuire così alla progressione della malattia. (Gordon DE 2020). I bassi livelli di interferoni erano inoltre associati ad una maggiore carica virale plasmatica ed a concentrazioni più elevate di quelle citochine che hanno un ruolo centrale nella "tempesta citochinica" come *IL-6* ed il *TNF-α*. In una coorte selezionata i pazienti con marker infiammatori elevati gli *interferoni* erano talmente bassi da non poter essere dosati. Nel loro insieme, questi dati portano a concludere che una bassa produzione di interferoni consente al COVID-19 di proliferare indisturbato ed il corollario inevitabile è che se la risposta dell'IFN a SARS-CoV-2 è troppo debole, la risposta terapeutica a questa condizione sembra semplice: dare ai pazienti più IFN. Purtroppo una serie di evidenze sperimentali ci dicono che questa strategia potrebbe non essere così scontata. Le numerose osservazioni su ACE2, (utilizzato dal recettore SARS-CoV-2 per ottenere l'ingresso nelle cellule) suggeriscono che l'intervento dell'IFN potrebbe paradossalmente amplificare la replicazione virale. Utilizzando i dati di *sequenziamento dell'RNA a cella singola*, il team di Ziegler durante la caratterizzazione di cellule umane e animali che esprimono ACE2 ha scoperto che l'mRNA di ACE2 veniva spesso co-espresso con ISG negli stessi tipi di cellule (Ziegler C 2020). Ciò ha portato, per adesso, a ipotizzare che anche l'espressione di ACE2 fosse controllata dalla segnalazione IFN. In effetti, utilizzando cellule epiteliali delle vie aeree *in vitro* si rileva una up-regulation del mRNA di ACE2 indicando che l'ACE2 stesso è un ISG. Ciò significa che il trattamento di pazienti COVID-19 con IFN potrebbe aumentare l'infezione stimolando un'espressione maggiore del recettore per il virus. I trattamenti a base di IFN possono quindi essere un'arma a doppio taglio. Sebbene prove aneddotiche suggeriscano che le terapie IFN potrebbero peggiorare la malattia SARS. (Lei J 2019), sono in molti a ritenere che una tempistica di somministrazione differente potrebbe essere non pericolosa ma addirittura efficace. Una rimodulazione della tempistica dell'utilizzo con interferoni intervento IFN può essere un fattore determinante per il suo successo. Osservazioni su modelli sperimentali (topo) hanno dimostrato che il trattamento con interferoni precoce è in grado di proteggere gli animali dall'infezione da coronavirus (Ziegler C, Channappanavar R 2020). Inoltre, i risultati di recente studi clinici di fase II stanno dimostrando l'efficacia dell'IFN, se combinato con il farmaco antivirale *lopinavir*, nel ridurre i tempi di

recupero dall'infezione SARS-CoV-2 (Channappanavar R, Hung I 2020). Il vantaggio aggiuntivo dell'inibizione virale diretta di *lopinavir* sarà sufficiente per superare gli effetti fuori bersaglio degli interferoni ?

33. No wax: new generation.

-Johnson NF et al. The online competition between pro- and anti-vaccination views. Nature. 2020;582(7811):230-233.

La sfiducia nelle competenze scientifiche alimentata in maniera irresponsabile dai media e dai social sta preparando la nascita di un gruppo di possibili non wax nei confronti di un futuro/prossimo vaccino anti Covid . L'*Institute for Data, Democracy and Politics*, della George Washington University, ha costruito una mappa formata da 3 miliardi di "internauti facebookiani" per sondare la loro opinione su pandemia e un possibile vaccino. Sta emergendo un *paesaggio multiforme* di una complessità senza precedenti che coinvolge quasi 100 milioni di individui suddivisibili in *cluster* altamente dinamici e interconnessi attraverso città, paesi, continenti e lingue. Attualmente sia i "rimedi casalinghi" che le "menzogne" sono ampiamente condivisi su Internet, così come i "consigli degli esperti" anche se si fa fatica a comprendere come la sfiducia possa evolversi a livello di "sistema". Nella principale rete online del pianeta, sebbene di dimensioni complessive inferiori, i *cluster anti-vaccinazione* sono fortemente intrecciati con *cluster degli indecisi*, mentre i *cluster pro-vaccinazione* sono più periferici. Questo quadro teorico riproduce e prevede una crescita esplosiva nelle visioni anti-vaccinazione e ipotizza che queste saranno dominanti tra un decennio. (Johnson NF 2020).

34. Una mail : "posso trasportare e/o trasferire COVID-19 attraverso i miei vestiti" ?

-Nikitin N et al. Influenza virus aerosols in the air and their infectiousness. Adv. Virol. 2014; 2014: 859090.

-Yezli S et al. Minimum infective dose of the major human respiratory and enteric viruses transmitted through food and the environment. Food Environ. Virol. 2011; 3: 1-30.

-Chin A et al. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. Lancet Microbe 2020. 10.1016/S2666-5247(20)30003-3.

-van Doremalen N et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. N. Engl. J. Med. 2020; 382: 1564-7.

Mi scrive un collega pediatra: "posso portare a casa il virus SARS-CoV - 2 sui miei vestiti e trasmetterlo ai familiari o addirittura infettarmi più tardi nel corso della giornata" . Ci sono due ragioni principali per cui ritengo che il collega ed i colleghi quotidianamente in trincea, possono sentirsi rassicurati: fattori relativi al virus e fattori relativi allo stato attuale della pandemia COVID-19 in Italia. SARS-CoV-2 è un virus RNA avvolto, come l'influenza, con scarsa stabilità su superfici porose. (Nikitin N 2004). Questa instabilità deriva dalla rottura dell'involucro lipidico con insulto minimo e dalla natura innata dell'RNA che si degrada facilmente in condizioni ambientali. (Yezli S 2011) Le uniche informazioni sulla stabilità ambientale di SARS - CoV - 2 provengono da test *in vitro* in cui "gocce di virus" venivano pipettate su superfici; la ricerca del virus veniva effettuata in tempi variabili. Tuttavia rilevare l'acido nucleico virale non significa che il virus sia infettivo. Sul panno (stoffa) , la carica virale è diminuita di 100 volte dopo 30 minuti e non è stata rilevata dopo 2 due giorni (Chin A 2020). Non sono state rilevate "tracce virali su un foglio di carta dopo 3 ore e su legno 2 giorni. Al contrario, "tracce Virali" sono presenti su superfici lisce trattate (vetro e banconote) dopo 2 giorni e su acciaio inossidabile o plastica dopo 4. Un millesimo della carica virale potenziale infettante è presente dopo una settimana su una mascherina chirurgica. In un altro studio l'emivita (tempo impiegato per ridurre la quantità della metà) del virus su cartone era di 3,5 ore. (Chin A , van Doremalen N 2020). Il virus viene inattivato prontamente da acqua e sapone o dall'alcol che disintegrano l'involucro lipidico (Chin A 2020). E' buona norma dopo aver maneggiato maschere, protezioni per gli occhi, vestiti, scarpe o oggetti solidi, lavarsi le mani con acqua e sapone o strofinare leggermente con alcool prima di toccare parti del corpo. L'inattivazione del virus è facilitata a temperature di 56-70 ° C. (van Doremalen N 2020). Al momento della stesura di questo documento, oltre 15 milioni di persone sono state infettate in tutto il mondo con SARS - CoV - 2, tra cui migliaia di operatori sanitari negli Stati Uniti, Brasile, Cina, Italia e Spagna. Non è stato ancora segnalato un caso di infezione da sanitari attraverso indumenti contaminati, né di un membro della famiglia di un sanitario infetto senza che il sanitario stesso sia infetto (tuttavia questo non elude che potrebbe esserci una trasmissione indiretta tramite indumenti o altri oggetti contaminati). In assoluto non è possibile escludere che tale trasmissione possa avvenire senza che venga riconosciuta o segnalata. Tuttavia, l'acquisizione

attraverso indumenti contaminati non è stata segnalata nel recente passato per altri virus respiratori con caratteristiche di trasmissione con SARS-CoV-2. Data l'attuale bassa prevalenza di COVID - 19 in Italia e in particolare negli ospedali pediatrici, il rischio che pediatri siano esposti al virus è molto basso e il rischio che lo portino a casa su vestiti è così basso da considerarlo. "trascurabile". Tuttavia è sempre valido il consiglio di seguire le normali pratiche di controllo delle infezioni, indossare adeguati dispositivi di protezione individuale per situazioni a rischio più elevato e osservare le raccomandazioni per il lavaggio delle mani. Il sanitario può tranquillamente indossare i propri vestiti normali da e per il lavoro. Ciò nonostante sono consapevole che un collega potrà continuare ad essere preoccupato per la potenziale contaminazione dei vestiti sul lavoro. In questo caso il consiglio è di indossare un set di abiti separato durante il lavoro (lavato a qualsiasi temperatura nel normale detergente dopo l'uso). Gli scrub ospedalieri non devono essere utilizzati poiché la loro disponibilità in molti contesti è limitata e non dobbiamo comprometterne la disponibilità per le procedure chirurgiche.

#35. Quello che "pensiamo di aver capito" e tutto quello che dobbiamo ancora sapere su COVID-19

La "tempesta citochinica"

C'è una ampia condivisione sull'idea che la "tempesta citochinica" scatenata dall'infezione SARS - CoV - 2 sia il mediatore centrale responsabile delle molteplici lesioni polmonari lungo l'albero respiratorio che sfocia in una inevitabile ARDS. Tuttavia, è necessario sapere di più riguardo al modo in cui gli incrementi nelle specifiche combinazioni di citochine (usando metodi standardizzati e intervalli definiti) potrebbero essere usati per descrivere ogni stadio della risposta infiammatoria mentre la malattia progredisce. Oltre ai surrogati comunemente proposti per descrivere la progressione della malattia (D-dimero, CRP, ferritina e livelli di procalcitonina, biomarcatori citochinici) non c'è un consenso sui valori di cut-off per valutare la progressione della malattia.

La stadiazione

Resta da definire una stadiazione della malattia che comprenda un'integrazione cellulare (neutrofilia, diminuzione dei linfociti, ecc.) con marcatori plasmatici solubili (D-dimero, ecc.) insieme ai cambiamenti delle citochine. Sulla base dei dati clinici attualmente riportati, la priorità potrebbe essere data alla combinazione di aumenti di IL - 6, TNF, IL - 1 β , IP - 10, D - dimero e ferritina con cambiamenti negli stati circolanti e di attivazione di mieloidi, neutrofili e le risposte delle cellule T, che insieme potrebbero fornire biomarcatori utile per comprendere la progressione.

Età e comorbidità

Sebbene l'età, le comorbidità combinate (malattie cardiovascolari, diabete, ecc.) e l'infezione batterica siano emerse anche come fattori di rischio per la malattia grave, non è chiaro come ciascuna di queste condizioni cambi la cascata immunoregulatoria, le caratteristiche della tempesta di citochine, coagulopatia e altri esiti infiammatori. La definizione di "trigger e amplificatori" condivisi o specifici della popolazione di una tempesta di citochine in specifiche fasi della malattia dovrà essere affrontata attraverso la di medicina di precisione.

La genetica e tanto altro...

Sappiamo pochissimo sulla genetica dell'ospite, sulle inevitabili modificazioni epigenetiche, sul ruolo svolto dal microbioma, sul remodeling funzionale delle reti immunoregolatorie, la comunicazione inter esosomiale, il ruolo del complemento, l'assetto neurologico, l'ambiente, la tenuta dei meccanismi immunoregolatori, l'invecchiamento, le malattie concomitanti e l'effettivo ruolo dei esosomi, il complemento, le condizioni neurologiche del paziente e i profili endocrini e polidrogeni. LE caratteristiche pandemiche di questa infezione impongono una definizione dell'impatto potenziale della razza (intesa come espressione genica) sugli esiti della malattia (nei caucasici è stato stimato un rischio di 3-4 volte maggiore).

Emostasi

Sebbene la coagulopatia sembri essere una grave complicazione nell'infezione COVID-19, potrebbe non essere necessariamente correlata alla gravità della malattia o presente esclusivamente durante o dopo una tempesta di citochine. Resta indeterminato come si attiva una coagulopatia in assenza di compromissione della capacità polmonare (ventilazione / perfusione) In effetti, è stato proposto che, in soggetti predisposti,

il danno virale alveolare possa innescare una reazione infiammatoria sottostante che promuove una trombosi polmonare microvascolare o una sindrome tromboinfiammatoria endoteliale che colpisce i letti microvascolari oltre il polmone (ad es. Cervello e altri organi vitali) , tuttavia mancano evidenze conclusive. Come i fattori immunitari più volte riportati in questa recensione (p. es., NETosi, IL - 6, attivazione dei macrofagi, risposta anticorpale, ecc.) possano contribuire a danneggiare i letti microvascolari o come determinare se tale danno predispona l'incidenza di un CRS. Pertanto, è prioritario identificare i principali fattori scatenanti molecolari dell'insufficienza multiorgano dopo una tempesta di citochine al fine di prevenire ulteriori esiti letali.

È necessario estendere gli studi di immunopatogenesi oltre gli adulti.

Sulla base degli studi sulle caratteristiche cliniche di COVID-19 in gravidanza, è noto che i neonati possono essere diversi dagli adulti (vedi sezione BIMBO-COVID), i pochi bambini covid-positivi raramente progrediscono con un decorso della malattia che richiede cure in terapia intensiva, tuttavia...

Incognite mortali

Non sappiamo quale percentuale di persone infette possa morire, e quante persone possono essere infettate da un "untore positivo". Il numero totale di casi che ci viene comunicato è probabilmente molto più alto di quelli confermati finora. Sono stati proposti modelli epidemiologici per calcolare la gravità di un focolaio, ma non sappiamo ancora quali valori inserire nei modelli. Non è chiaro se il virus possa diffondersi prima che i sintomi si manifestino. Non sappiamo ancora come o quando il virus sia passato dalle foreste dell'Himalaya attraverso i deserti asiatici al mercato alimentare di Wuhan dove sembra che sia scoppiato l'epidemia fino a Codogno. Non sappiamo se ognuno di noi è ugualmente contagioso o perché è improbabile che alcune persone lo trasmettano, mentre altri fungono da super-diffusori e tanto altro ancora...

Infine per quanto riguarda la terapia, restano ancora da sistematizzare i tempi e i modi migliori per provare ad utilizzare la miriade di trattamenti "pseudo empirici" proposti durante la pandemia. Questo è sicuramente il punto più urgente da risolvere nei prossimi 60 giorni, prima del prossimo autunno.

#36. Geni SCARF (SARS-CoV-2 e Coronavirus-Associated Receptors and Factors) e tropismo.

Singh M, Bansal V, Feschotte C. A single-cell RNA expression map of human coronavirus entry factors. Preprint. bioRxiv. 2020;2020.05.08.084806. Published 2020 May 17. doi:10.1101/2020.05.08.084806

Le indagini patologiche, comprese le biopsie post mortem, attraverso il rilevamento immunocitochimico diretti livelli di espressione basale di *ACE2* e / o *TMPRSS2* hanno confermato il danno polmonare maggiore come causa più probabile di morte nei casi esaminati. Vi sono anche prove crescenti che l'infezione da SARS-CoV-2 può danneggiare altri organi tra cui cuore, reni, fegato e tratto gastrointestinale, come già documentato per SARS e MERS. Inoltre pazienti con COVID-19 "gravi" mostrano disfunzioni epatiche frequenti, SARS-CoV-2 può anche essere rilevata nel cervello o nel liquido cerebrospinale e può causare importanti complicazioni neurologiche. Recentemente sono state anche presentate prove della compromissione della funzione gonadica nei pazienti maschi COVID-19 (vedi le singole sezioni)

Tutte queste localizzazioni sono espressioni del tropismo dei coronavirus nell'uomo (quali tessuti e tipi di cellule sono permissivi dell'infezione da SARS-CoV-2) che può essere ulteriormente studiato attraverso la selezione e l'analisi mediante il sequenziamento dell'RNA a singola cellula (scRNA-seq) di 28 geni, *geniSCARF* (SARS-CoV-2 e Coronavirus-Associated Receptors and Factors) che facilitano e/o limitano l'ingresso virale. In questo modo è possibile rilevare un sottogruppo di tessuti e popolazioni cellulari particolarmente suscettibili al SARS-CoV-2.

Tra le popolazioni cellulari le più sensibili sembrano essere gli enterociti e le caliciformi dell'intestino tenue e del colon, le cellule tubulari prossimali del rene e le cellule basali della cistifellea sembrano più permissive alla SARS-CoV-2, in linea con i dati clinici. Attraverso SCARF è possibile ricostruire i percorsi alternativi di ingresso all'interno delle cellule nel polmone, del sistema nervoso centrale e nel cuore. In particolare gli spermatogoni piuttosto che gli ovogoni, sono

altamente sensibili al SARS-CoV-2, suggerendo una vulnerabilità specifica del maschio. Le prime fasi dello sviluppo embrionale e placentare sembrano mostrare un moderato rischio di infezione. SCARF negli embrioni pre-impianto umani (Yan et al., 2013), all'interfaccia materno-fetale (Vento-Tormo et al., 2018), in gonadi maschili e femminili (Sohni et al., 2019; Wagner et al., 2020) e altri 14 tessuti adulti (Han et al., 2020), in particolare la mucosa nasale di donatori giovani e anziani sani. Il *sequenziamento dell'RNA a singola cellula (scRNA-seq)* rappresenta una risorsa preziosa, incluso un *browser web* di facile utilizzo, per l'interpretazione e la definizione delle priorità nella progettazione di studi clinici, patologici e biologici di SARS-CoV-2 e COVID-19. (Singh M 2020).

Un ulteriore strumento per meglio comprendere il tropismo del virus (quali tessuti e tipi di cellule sono permissivi dell'infezione da SARS-CoV-2) è di fondamentale importanza identificare i fattori che consentono l'internalizzazione del virus nelle cellule piuttosto che i processi cellulari ed i fattori genetici che modulano il decorso e l'esito di un'infezione, poiché è improbabile che molti fattori cellulari coinvolti nella replicazione virale, come quelli coinvolti nella trascrizione, nella traduzione e in altre funzioni cellulari specifiche influenzino il tropismo del virus.

Il *meccanismo di ingresso canonico* dei coronavirus è un processo in due fasi mediato dalla proteina virale Spike (S) con ACE2 e / o TMPRSS2. Tuttavia, ci sono evidenze che queste due proteine da sole non possono spiegare esclusivamente tutte le attuali osservazioni cliniche e di ricerca. Ad esempio, alcune linee cellulari (ad es. Carcinoma polmonare alveolare A549) possono essere infettate da SARS-CoV-2 in assenza di un livello apprezzabile di ACE2. Allo stesso modo, i dati clinici indicano un'infezione da SARS-CoV-2 di diversi organi, come *polmone, bronco, rinofaringe, esofago, fegato e stomaco*, in cui l'espressione dell'ACE2 non è stata rilevata in soggetti sani.

Complessivamente queste osservazioni suggeriscono che i livelli di espressione di ACE2 variano notevolmente da individuo a individuo e che SARS-CoV-2 può utilizzare recettori alternativi per entrare in determinate popolazioni cellulari. Ad esempio, la proteina della superficie cellulare *Basigin* (BSG, noto anche come CD147) ha dimostrato di interagire con la proteina S in vitro che in vivo. In effetti, SARS-CoV e altri hCoV possono utilizzare più molecole di superficie cellulare per promuoverne l'ingresso nelle cellule (ANPEP di Yeager, CD209 di Yang et al, CLEC4G di Marzi CLEC4Mi Gramberg). Allo stesso modo, i hCoV possono utilizzare una varietà di *proteasi cellulari* per interagire con la proteina S, che includono altri membri della famiglia *TMPRSS* (TMPRSS4 di Glowacka, ma anche la *Cathepsins*, e *FURIN*). Altrettanto importante, è identificare l'espressione di fattori presenti nell'ospite ospiti capaci di opporsi o limitare l'ingresso cellulare di SARS-CoV-2, (LY6E di Pfaender, IFITM di Huang et al). Le references relative sono riportate in Singh M et al., *A single-cell RNA expression map of human coronavirus entry factors. Preprint. bioRxiv. 2020;2020.05.08.084806. Published 2020 May 17.*

#37. Side effect da vaccini: ADE e Vared

Wang J et al. COVID-19 Vaccine Race: Challenges and Opportunities in Vaccine Formulation. *AAPS PharmSciTech.* 2020;21(6):225. Published 2020 Aug 5.

Secondo l'OMS: *“il vaccino anti COVID-19 deve fornire un profilo rischio-beneficio altamente favorevole; con alta efficacia, solo effetti collaterali lievi o transitori e nessun disturbo grave; deve essere adatto a tutte le età, donne in gravidanza e in allattamento e deve fornire un rapido inizio di protezione con una singola dose e conferire sicurezza per almeno un anno di somministrazione.”*

Lo sviluppo di vaccini viene solitamente misurato in decenni, quindi avere accesso a vaccini approvati disponibili per la distribuzione su larga scala prima della fine del 2020 o addirittura del 2021 sarebbe un risultato senza precedenti. Tuttavia, nuove piattaforme di produzione,

progettazione dell'antigene basata sulla struttura, biologia computazionale, ingegneria proteica e sintesi genica stanno fornendo gli strumenti per realizzare vaccini con velocità e precisione. Per qualsiasi vaccino finalizzato a generare una immunità mediata da anticorpi, è fondamentale che la proteina di base sia conformazionalmente corretta, capace di suscitare risposte anticorpali neutralizzanti di alta qualità e influenzare le funzioni delle cellule T e diversi e/o compatibili modelli di risposta protettiva. Ad esempio indurre le cellule *T CD8 +* e preferibilmente guidare una risposta immunitaria di tipo *T helper 1 CD4 + (T H 1)*, con spiccate proprietà antivirali .

La sicurezza è un obiettivo primario per i vaccini somministrati a persone sane. Tuttavia esiste il rischio che la vaccinazione possa non solo non essere efficace e rendere più grave la successiva infezione da SARS-CoV-2 ed innescare due diverse sindromi associate a malattie potenziate da vaccino: l'ADE e il VARED.

L'ADE (*Associated Enhanced Respiratory Disease*) è un potenziamento dell'infezione mediato da Fc (la coda di un anticorpo). E' la conseguenza di una maggiore efficienza di legame dei complessi virus-anticorpo alle cellule portatrici di FcR, responsabile di innescare l'ingresso virale. Si verifica quando l'anticorpo indotto dal vaccino non riesce a neutralizzare efficacemente il virus a causa di una concentrazione o affinità insufficiente o di una specificità errata (non neutralizzanti).

La VAERD (*Vaccine Associated Enhanced Respiratory Disease*) è una sindrome clinica distinta che si è verifica in particolare con la produzione di anticorpi contro antigeni conformazionalmente errati. può provocare due tipi principali di fenomeni immuno allergici correlati alla malattia respiratoria potenziata (ERD) indotto da un complesso immunitario virus-anticorpo e da risposte polarizzate T H 2.

E' importante ricordare che Il genoma virale è vulnerabile alle mutazioni e può subire uno spostamento antigenico ed andare così incontro ad una "deriva antigenica" che può potenzialmente propagarsi da una popolazione all'altra. Le mutazioni possono variare in base alle condizioni ambientali di un'area geografica e alla densità di popolazione. Analizzando 7500 campioni dei pazienti infetti, sono state identificate almeno 198 mutazioni che potrebbero essersi materializzate indipendentemente, e che potrebbe indicare l'evoluzione del virus all'interno dell'ospite umano. Queste mutazioni possono generare diversi sottotipi che possono consentire al virus di sfuggire al sistema immunitario anche dopo la somministrazione di un vaccino rendendolo così inefficace.

#38. Sars-cov-2 : reinfezione o riattivazione ?

-Shi Y. *Et al* . 2020 *COVID-19 infection: The perspectives on immune responses*. *Cell Death and Differentiation*, (5), 1451–1454. [10.1038/s41418-020-0530-3](https://doi.org/10.1038/s41418-020-0530-3) [

-Zhu N. *et al* (2020) *A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019*. *The New England Journal of Medicine*, (8), 727–733. [10.1056/NEJMoa200101](https://doi.org/10.1056/NEJMoa200101)

-Wang W. *et al*. (2020). *Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens*. *JAMA*, (18), 1843–1844. [10.1001/jama.2020.3786](https://doi.org/10.1001/jama.2020.3786)

-Ye J. *et al* (2007). *Molecular pathology in the lungs of severe acute respiratory syndrome patients*. *The American Journal of Pathology*, (2), 538–545. [10.2353/ajpath.2007.060469](https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.060469)

-Xiao A. T *et al* (2020). *False-negative of RT-PCR and prolonged nucleic acid conversion in COVID-19: Rather than recurrence*. *Journal of Medical Virology*. [10.1002/jmv.25855](https://doi.org/10.1002/jmv.25855)

-Arteaga-Livias K. *Et al* (2020). *The dilemmas of the classification of SARS-CoV-2 infection without clinical manifestations: Asymptomatic or presymptomatic*. *Journal of the Formosan Medical Association*, (7), 1237–1238.

-Victor Okhuese A. (2020). *Estimation of the probability of reinfection with COVID-19 by the susceptible-exposed-infectious-removed-undetectable-susceptible model*. *JMIR Public Health and Surveillance*, (2), e19097 [10.2196/19097](https://doi.org/10.2196/19097)

Sappiamo che non tutte le persone esposte a SARS-CoV-2 sono infette, che non tutti i pazienti infetti mostrano sintomi e che non tutti i sintomi manifestano gravi malattie respiratorie. Per circa l'80% dei

pazienti COVID-19 positivi la malattia è lieve, essendo per lo più limitata alle vie aeree superiori e conduttive. Sebbene in media circa il **15%** dei casi confermati passi alla fase grave, tuttavia per i pazienti di età superiore ai 65 anni, la possibilità di una progressione è notevolmente più alta (Shi 2020). Anche se attualmente, il numero di persone guarite da COVID-19 supera la metà dei casi totali di infezione da SARS-CoV-2, nonostante questa dinamica positiva, la *reinfezione e/o riattivazione* nei pazienti guariti rappresenta un potenziale pericolo, poiché i pazienti *guariti / dimessi* si mescolano alla loro comunità rappresentando una potenziale fonte inconsapevole di contagio. Alcuni dei pazienti *guariti/dimessi* sebbene negativi al tampone (falsi negativi?) hanno mostrato di possedere una carica residua di RNA virale considerevole che persiste per un periodo compreso tra **10 e 27 giorni** dopo la dimissione, sebbene la durata media della diffusione virale fosse di **20 giorni** e in alcuni casi di **37 giorni** (Zhou et al., 2020). Attualmente si ritiene che la situazione possa essere anche peggiore, poiché in alcuni pazienti COVID-19, la durata della diffusione dell'RNA SARS-CoV-2 potrebbe prolungarsi abbondantemente oltre i **30 giorni**, con una durata media di **53 giorni** fino ad un massimo di **83 giorni** (Wang, et al., 2020).

Lo studio di Ye ha fissato a **9,1%** il numero dei pazienti con COVID-19 dimessi che hanno mostrato di poter andare incontro a riattivazione (Ye et al., 2020). Un ulteriore studio ha rivelato che il **14,5%** dei pazienti con COVID-19 dimessi con PCR negativa ha avuto un successivo test PCR positivo per SARS-CoV-2 (Yuan et al., 2020), mentre ancora un altro studio riporta che il numero di tali pazienti ricorrenti può raggiungere il **21,4%** (Xiao et al., 2020).

Sebbene la PCR non sia in grado di distinguere tra "virus infettivo" e "acido nucleico non infettivo" dello stesso virus, tuttavia una PCR positiva nei pazienti *guariti dimessi* o (anche dei non sopravvissuti) rappresenta l'unico criterio diagnostico realistico attualmente disponibile. Il dato che le cariche virali nei casi *presintomatici e asintomatici* siano simili a quelle dei casi *sintomatici*, suggerisce che forse la trasmissione può avvenire durante il periodo di incubazione (Arteaga-Livias et al., 2020). Per far fronte al problema della *riattivazione e/o reinfezione*, la China National Health Commission (National Health Commission) ha proposto quattro criteri per decidere la dimissione di quelli che sembrano guariti: (a) nessuna febbre per almeno 3 giorni; (b) miglioramento significativo dei sintomi respiratori; (c) miglioramento sostanziale delle anomalie radiologiche alla tomografia computerizzata (TC) del torace o ai raggi X; e (d) due risultati RT-PCR negativi consecutivi dell'acido nucleico SARS-CoV-19 (almeno con un intervallo di 24 ore). Puntualmente questi criteri sono in sintonia con le linee guida dell'OMS sulla gestione clinica, secondo cui un paziente COVID-19 può essere dimesso dall'ospedale dopo due risultati PCR negativi consecutivi ad almeno 24 ore di distanza l'uno dall'altro in un paziente clinicamente guarito (<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/covid-19-guidance-discharge-and-ending-isolation>). Tuttavia, nonostante rispondano ai quattro criteri su indicati, alcuni pazienti continuano a essere ancora positivi qualche tempo dopo la dimissione, il che può essere causato da una clearance virale incompleta, un campionamento errato, falsi negativi e / o falsi positivi alla RT-PCR.

La presenza di un potenziale virale relativamente alto per il paziente COVID-19 dimesso di sviluppare *reinfezione/riattivazione* indica anche come una risposta immunitaria che correla con l'eliminazione del virus può essere difficile da ottenere, almeno in alcuni pazienti.

Poiché la reinfezione è improbabile, in base alle rigorose misure di quarantena, che richiedono un isolamento aggiuntivo di 14 giorni e l'osservazione medica dopo la dimissione, è necessario isolare ulteriormente i pazienti con risultati RT-PCR positivi ricorrenti e continuare il trattamento fino a quando non vengono soddisfatti nuovamente i criteri di dimissione.

Non esiste una metodologia disponibile che permetta di differenziare o distinguere tra i pazienti guariti perché hanno raggiunta un'immunità protettiva e i pazienti "guariti" che non l'hanno raggiunta. Teoricamente quei pazienti che hanno sviluppato risposte immunitarie più robuste con formazione di cellule T CD8 + di memoria e cellule T CD4 + helper sarebbero quelli più attrezzati a difendersi da una nuova esposizione a SARS-CoV-2.

Attraverso il modello SEIRUS (Susceptible-Exposed-Infectious-Removed-Undetectable-Susceptible) che valuta la probabilità di reinfezione negli individui guariti si è giunti alla conclusione che in assenza di una vaccinazione efficace, la frazione della popolazione infetta continuerà ad aumentare in tutto il mondo, mentre il tasso di recupero continuerà ad aumentare lentamente ma costantemente, per un lungo periodo

di tempo mentre il tasso di mortalità aumenterà. SEIRUS, attraverso un algoritmo, determina il rapporto tra il tasso di infezione e il tasso di recupero, indica inoltre che il tasso di reinfezione all'interno della popolazione guarita scenderà a zero nel tempo man mano che il virus verrà eliminato clinicamente dal sistema della popolazione guarita (Victor Okhuuse, [2020](#)). Sebbene esista la possibilità che alcuni casi di recidiva possano effettivamente essere attribuiti a un'infezione persistente, in cui il risultato della PCR era falsamente negativo alla dimissione, permane la crescente preoccupazione che i pazienti che si sono ripresi dal COVID-19, possano essere a rischio di reinfezione o riattivazione.

Quali sono le ragioni della ricomparsa dell'RNA di SARS-CoV-2 in alcuni pazienti guariti da COVID-19 e quali sono i meccanismi di tale reinfezione, riattivazione e ricaduta? Questi pazienti con COVID-19 reinfettati/riattivati/recidivati sono realmente infettivi? Come dovrebbero essere gestiti questi pazienti guariti che sono stati ritestati positivi per SARS-CoV-2? Ed ancora in vaccini in allestimento contro SARS-CoV-2 funzioneranno su tali pazienti COVID-19 reinfettati, recidivati o riattivati? Una possibile spiegazione è contenuta nella sinossi (Un virus è "semplicemente una cattiva notizia racchiusa nelle proteine") disponibile nel prossimo aggiornamento. To be continued...

39. Sars-CoV-2 è diventato più “buono” o più “cattivo” ?

an Dorp L et al. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. Infect Genet Evol. 2020 Sep;83:104351.

L'attuale tormentone della pandemia è la domanda ricorrente e demenziale rivolta all'esperto di turno se il virus sia mutato che nella vulgata popolare si traduce nella domanda se COVID è diventato più buono” o più “cattivo”. Il tentativo di antropomorfizzare virus, cose inanimate o addirittura molecole (vedi colesterolo buono e cattivo) e trattarle come persone, ci spiegano gli psicologi, è un meccanismo innato dell'uomo che si è sviluppato nel corso dei secoli per aiutarci a vivere in un mondo imprevedibile. Secondo Nicholas Epley, psicologo, professore alla University of Chicago l'antropomorfizzazione nascerebbe dalla necessità di creare un senso di maggior controllo sulla realtà che ci circonda. In una condizione misteriosa e inquietante come la pandemia il solitario uomo della strada e gli innumerevoli abitanti del web vogliono comprendere la psicologia e il comportamento di questo “serial killer invisibile” che a tutt'oggi, in pochi mesi, ha sterminato un milione di abitanti di questo pianeta. In un contesto prettamente scientifico alla domanda se Sars-cov-2 negli ultimi mesi è mutato, secondo un migliaio di ricercatori sparsi per il mondo e in particolare quelli dell' University College London, di cui riporto alcune osservazioni, la risposta è sì !

La prima sequenza dell'intero genoma di SARS-cov-2 è stata pubblicata il 5 gennaio 2020 e da allora migliaia di genomi sono stati sequenziati a partire da questa data. Questi dati consentono non solo una visione senza precedenti della storia demografica di SARS-CoV-2, ma ci raccontano di come il virus si stia adattando al suo nuovo ospite umano, e ci forniscono informazioni preziose per la progettazione e la realizzazione di farmaci e vaccini. L'analisi di un set di dati ricavato da 7666 assemblaggi genomici fa emergere importanti diversità definitisi nel tempo. Il dato principale è che tutte le sequenze condividono un antenato comune apparso verso la fine del 2019, identificando in questo periodo lo “spillover time” del SARS-CoV-2 in homo sapiens. A causa dell'estesa trasmissione, la diversità genetica del virus riscontrato nei vari paesi, ricapitola una sostanziale diversità genetica mondiale. Conosciamo le regioni del genoma SARS-CoV-2 che sono rimaste in gran parte invariate fino ad oggi e quelle che hanno accumulato “diversità” in tempi recenti. Quasi l'80% delle mutazioni ricorrenti ha prodotto “cambiamenti sinonimi” a livello di proteine, suggerendo un possibile adattamento in corso di SARS-CoV-2. Tre siti in Orf1ab nelle regioni che codificano Nsp6, Nsp11, Nsp13 e uno nella proteina Spike sono caratterizzati da un numero particolarmente elevato di mutazioni ricorrenti (> 15 eventi) che possono indicare un'evoluzione convergente e sono di particolare interesse nel contesto dell'adattamento di SARS-CoV-2 all'ospite umano. Il numero più significativo delle mutazioni “non sinonime” è in ORF1ab, che codifica per 16 proteine non strutturali. Fra questi, NSP3, NSP12 e NSP2 hanno un numero alto delle mutazioni, numerate come 117, 61 e 61, rispettivamente. Più della metà delle mutazioni segnalate

riguardano l'RNA polimerasi, l'elicasi, helicase, proteinasi, endo-RNAase RNA-dipendenti, esonucleasi e numerosi domini transmembrana. (vedi la sinossi *Un virus è "semplicemente una cattiva notizia racchiusa nelle proteine"*). Teoricamente le mutazioni che generano variazioni nel genoma, consentono al virus di eludere le difese dell'ospite. Il SARS-CoV-2 è relativamente lento ad accumulare mutazioni e questo è un dato importante da valutare durante il percorso che porta alla creazione di un vaccino. Nella maggior parte delle situazioni, la variazione genomica causa un aumento nella diffusione virale ed incrementa la capacità di causare la malattia; la capitalizzazione delle mutazioni aumenta la virulenza del virus. I risultati attuali, per esempio, indicano che la distribuzione di singoli polimorfismi del nucleotide (SNPs) non è casuale, ma domina in quei geni che sono essenziali per la sopravvivenza del virus. In conclusione al riscontro minuzioso e dettagliato delle numerose mutazioni avvenute negli ultimi mesi non corrisponde una analoga conoscenza del ruolo che possono avere nella replicazione virale ed in particolare, se possono renderlo meno o più aggressivo (buono o cattivo). Oscar Wilde suggeriva che: invece di classificare le persone in buone e cattive è meglio distinguerle in noiose e piacevoli. Purtroppo, entrambe queste definizioni, non appartengono al Sars-cov-2.

40. Alcune domande senza risposta per i cardiologi poste da un team internazionale di cardiologi.

Guzik TJ, Mohiddin SA, Dimarco A, Patel V, Savvatis K, Marelli-Berg FM, Madhur MS, Tomaszewski M, Maffia P, D'Acquisto F, Nicklin SA, Marian AJ, Nosalski R, Murray EC, Guzik B, Berry C, Touyz RM, Kreutz R, Wang DW, Bhella D, Sglicco O, Crea F, Thomson EC, McInnes IB. COVID-19 and the cardiovascular system: implications for risk assessment, diagnosis, and treatment options. *Cardiovasc Res.* 2020 Aug 1;116(10):1666-1687.

Questa pandemia è diversa da qualsiasi altra in quanto è arrivata nello stesso momento in cui l'umanità non ha mai avuto tante tecnologie, dati scientifici molecolari e strumenti informatici a disposizione. Questa è una prova importante della nostra capacità di sfruttare tale capacità per un bene superiore. Tuttavia i meccanismi attraverso i quali le malattie cardio vascolari (CVD) peggiorano in COVID-19 sono completamente sconosciuti. A queste domande è necessario rispondere con una ricerca clinica della massima qualità poiché l'attuale pandemia di coronavirus, che in questi giorni si sta nuovamente espandendo, potrebbe non essere l'ultima.

-Quali sono i **fattori, genetici o di altro tipo**, che influenzano la variabilità interindividuale nella suscettibilità al COVID-19, la sua gravità o gli esiti clinici?

-L'**ipertensione e le malattie cardiovascolari** preesistenti aumentano il rischio di infezione e / o peggiorano il corso della progressione della malattia?

-La **gravità delle malattie** cardiovascolari è correlata agli alti livelli di espressione di **ACE2**, il recettore SARS-CoV-2, nel cuore e nei vasi sanguigni?

-Gli **inibitori del RAAS** quali influenza esercitano sulla suscettibilità al COVID-19 e ai suoi esiti clinici?

-Quali sono i **fattori o le terapie** per le malattie cardiovascolari che possono conferire **effetti protettivi** contro COVID-19 e i suoi risultati clinici?

-In che modo le CVD preesistenti **peggiorano specificamente** il coinvolgimento cardiaco?

-Quali delle **conoscenze trasferibili** su COVID-19 possono migliorare la nostra comprensione del rischio CV o altre infezioni virali in futuro?

-Quali sono i **determinanti delle risposte eterogenee** dell'ospite all'infezione da SARS-CoV-2?

#41. Un virus è "semplicemente una cattiva notizia racchiusa nelle proteine"

(secondo Jean e Peter Medawar)

Una analisi delle 29 proteine di Sars-cov-2 possibili target per un vaccino

La replicazione del genoma virale all'interno delle cellule infette è un processo complesso che coinvolge non solo l'azione di diverse proteine virali ma anche quelle dell'ospite per eseguire

la polimerizzazione dell'RNA, la correzione di bozze e il capping finale. Questo presuppone che il virus per replicarsi e diffondersi deve assumere il pieno controllo dell'ospite.

Il SARS-CoV-2 ha un genoma di RNA formato da 30.000 "lettere" (Il genoma umano supera i 3 miliardi (30 ~ 29,9 kilobase) che contiene fino a 29 frame di lettura aperte. Sebbene il numero esatto di proteine funzionali non è completamente definito, ci sono almeno 16 proteine non strutturali (nsp), quattro proteine strutturali e almeno sei o sette proteine accessorie.

Sono state complessivamente identificate e rubricate 29 proteine che svolgono una serie di funzioni, dalla creazione di copie del coronavirus alla soppressione delle risposte immunitarie del ospite

La prima sequenza di lettere RNA è la stringa :

a u u a a a g g u u u a u a c u u c c c a g u a a c a a a c c a a c c a a c u u u c g a u c u c u u u g u a u c u g u u c
u c u a a a c g a a c u u u a a a a u c u g u g u g g c u g u c a c u c g g c u g c a u g c u u a g u g c a c u c a c g
c a g u a u a a u u a a u a a c u a a u u a c u c g u u g a c a g g a c a c g a g u a a c u c g u c u a u c u c u g c
a g g c u g c u u a c g g u u u c g u c c g u g u u g c a g c c g a u c a u c a g c a c a u c u a g g u u u c g u c c g
che recluta un macchinario all'interno della cellula infetta per leggere le lettere dell'RNA per tradurle in proteine del coronavirus. Anche se conosciamo Possediamo una buona comprensione di ciò che fanno alcune delle trenta proteine SARS-CoV-2, tuttavia la funzione di molte proteine è sconosciuta e alcune potrebbero non fare assolutamente nulla.

Romano M et al Structural View of SARS-CoV-2 RNA Replication Machinery: RNA Synthesis, Proofreading and Final Capping. Cells. 2020 May 20;9(5):1267.

ORF1ab

La prima proteina virale sintetizzata all'interno della cellula infetta è in realtà una poliproteina formata da una catena di 16 proteine unite insieme. Due di queste proteine agiscono come forbici, idrolizzando i legami tra le diverse proteine liberandole consentendo così la loro funzione. Osservazioni di genetica inversa che analizzano il genotipo per identificare il fenotipo confermano che le proteine di ORF1ab, che costituiscono all'incirca i 2/3 della dimensione totale del genoma, possono interferire nelle segnalazioni intracellulari dell'ospite e possono modificarne l'espressione genica cellulare, ed ovviamente, regolare la potenza della virulenza mediante meccanismi ancora da determinare.

PROTEINE STRUTTURALI

Le proteine strutturali (S , E , M e N) formano il rivestimento esterno dei coronavirus sostanzialmente proteggono l'RNA. Inoltre intervengono nel montaggio e nel rilascio del virus neofornato.

Spike Protein (~ 1273 aa)

Il precursore della proteina (Spike full-length) viene scisso in subunità glicosilate, S1 e S2 (S2').

S1 si lega al recettore dell'ospite, ACE2, mentre S2 media la fusione virale e della membrana dell'ospite. Le proteine S formano picchi prominenti sulla superficie del virus disponendosi in gruppi di tre. Sono queste punte a forma di corona a dare ai coronavirus il loro nome.

La sequenza che codifica per la proteina spike è formata da una sequenza di 12 lettere genetiche: ccucggcgggca .

Teoricamente una mutazione può aiutare le punte a legarsi strettamente alle cellule umane, o a quelle di altre specie. Attualmente la strategia nella produzione di vaccini è quella di produrre molecole capaci di impedire ai picchi di attaccarsi alle cellule umane.

Tra 10 Anticorpi monoclonali (mAbs) da 10 pazienti COVID-19 convalescenti, 3 hanno mostrato attività neutralizzanti contro SARS-CoV-2. In particolare un mAb, denominato 4A8, ha mostrato

un'elevata potenza di neutralizzazione L' epitopo di 4A8 è di fatto il dominio N-terminale (NTD) della spike protein. Siamo sulla buona strada ?

-Robson B. COVID-19 Coronavirus spike protein analysis for synthetic vaccines, a peptidomimetic antagonist, and therapeutic drugs, and analysis of a proposed achilles' heel conserved region to minimize probability of escape mutations and drug resistance. Comput Biol Med. 2020 Jun;121:103749.

-Chi Xet al. A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the Spike protein of SARS-CoV-2. Science. 2020 Aug 7;369(6504):650-655.

Proteine E (~ 75 aa)

è una proteina di membrana (tipo III) coinvolta nell'assemblaggio virale, (germogliamento) . ha la struttura di un canale ionico omopentamerico. E' assimilabile ad una viroporina. Interagisce con le proteine M, N, 3a e 7a. Si lega inoltre alle proteine che intervengono nella attivazione e disattivazione della cellula infettata

Abdelmageed MI et al Design of a Multiepitope-Based Peptide Vaccine against the E Protein of Human COVID-19: An Immunoinformatics Approach. Biomed Res Int. 2020 May 11;2020:2683286.

Proteine M (~ 222 aa)

La proteina di membrana più abbondante del virione. ha un ruolo fondamentale nel mediare la replicazione e la trascrizione virale, reclutando altre proteine strutturali nel "compartimento ER-Golgi-intermedio (ERGIC)". Interagisce con la proteina N nella formazione dell'RNA virionico, si ipotizza che interagendo con le proteine accessorie 3a e 7° possa mitigare la risposta immunitaria. Per queste funzioni è di fatto un attraente bersaglio farmacologico

Attraverso una combinazione di screening virtuale e ad alto rendimento basato sulla sua struttura, sono stati testati più di 10.000 composti, inclusi farmaci approvati, farmaci candidati in studi clinici e altri composti farmacologicamente attivi, come inibitori di M . Sei di questi composti hanno inibito M , mostrando valori di concentrazione inibitoria metà massimale compresi tra 0,67 e 21,4 µM. Uno di questi composti (ebselen) ha anche mostrato una promettente attività antivirale nei saggi cellulari. Questi risultati dimostrano l'efficacia della strategia di screening, che può portare alla rapida scoperta di lead di farmaci con potenziale clinico in risposta a nuove malattie infettive per le quali non sono disponibili farmaci o vaccini specifici.

-Jin Z et al. Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. Nature. 2020 Jun;582(7811):289-293.

Proteina N(~ 419 aa)

Sostanzialmente ha la funzione di proteggere il virus si lega al 'RNA genomico virale formando un ribonucleocapside elicoidale. Svolge inoltre un ruolo attivo, nella replicazione dell'RNA virale, nell'assemblaggio dei virioni e nell'evasione immunitaria (inclusa la soppressione dell'IFN-I). Interagisce con le proteine M e nsp3.

-Woo J et al. An in vivo cell-based assay for investigating the specific interaction between the SARS-CoV N-protein and its viral RNA packaging sequence. Biochem Biophys Res Commun. 2019 Dec 10;520(3):499-506.

PROTEINE NON STRUTTURALI

da Silva SJR, Alves da Silva CT, Mendes RPG, Pena L. Role of nonstructural proteins in the pathogenesis of SARS-CoV-2. J Med Virol. 2020 Apr 9;10.1002/jmv.25858. doi: 10.1002/jmv.25858. Epub ahead of print. PMID: 32270884; PMCID: PMC7262198.

NSP 1 (~ 180 aa)

probabilmente inibisce la traduzione delle proteine dell'ospite interagendo con la subunità ribosomiale 40S, determinando la degradazione dell'mRNA dell'ospite attraverso la scissione vicino ai loro 5'UTR, inducendo la scissione endonucleolitica e la degradazione degli mRNA dell'ospite. Il rallentamento della sintesi proteica nelle cellule infette crea una azione di disturbo finalizzata ad interferire con il normale funzionamento del ospite. Questo "sabotaggio" costringe la cellula a produrre più proteine virali e automaticamente impedisce di assemblare proteine antivirali che potrebbero fermare il virus. Inoltre nsp1 ostruisce il complesso dei pori nucleari interrompendo il trasporto citoplasmatico nucleare di biomolecole. In particolare altera la distribuzione citoplasmatica nucleare di una proteina legante l'RNA, la nucleolina suggerendo un ruolo attivo nella interferenza con il trasporto citoplasmatico nucleare. Interferirebbe con la segnalazione mediata dall'interferone

-Gomez GN et al. SARS coronavirus protein nsp1 disrupts localization of Nup93 from the nuclear pore complex. Biochem Cell Biol. 2019 Dec;97(6):758-766.

NSP2 (~ 638 aa)

interagirebbe con i fattori coinvolti in molti processi cellulari inclusa la biogenesi mitocondriale e si ipotizza possa perturbare le segnalazioni intracellulari dell'ospite. Tuttavia, al momento, non è possibile attribuirgli nessuna funzione specifica.

Angeletti S et al. COVID-2019: The role of the nsp2 and nsp3 in its pathogenesis. J Med Virol. 2020 Jun;92(6):584-588.

NSP3 (~ 1945 aa)

è una proteasi papaina-simile che partecipa alla formazione di nsp2 e nsp3. Presenta anche attività di deubiquitinazione cambiando così l'equilibrio complessivo delle proteine dell'ospite riducendo la capacità della cellula di combattere il virus. Interagisce con nsp4 e nsp6. La mutazione stabilizzante che cade nel dominio simile alla proteina associata all'endosoma della proteina nsp2 potrebbe spiegare l'alta capacità di contagio del covid-19, mentre la mutazione destabilizzante nelle proteine nsp3 potrebbe suggerire un potenziale meccanismo che differenzia COVID-2019 dalla SARS.

-Angeletti S et al. COVID-2019: The role of the nsp2 and nsp3 in its pathogenesis. J Med Virol. 2020 Jun;92(6):584-588.

NSP4 (~ 500 aa)

è necessaria per la replicazione virale inducendo (con nsp3) l'assemblaggio e la localizzazione di vescicole citoplasmatiche a doppia membrana al cui interno si assemblano le componenti molecolari per nuove copie del virus.

-Alazmi M et al In silico virtual screening, characterization, docking and molecular dynamics studies of crucial SARS-CoV-2 proteins. J Biomol Struct Dyn. 2020 Aug 7:1-11.

NSP5 (~ 306 aa)

esegue la maggior parte dei tagli nel complesso poliproteico.

-Contin R et al. Rotavirus NSP5 orchestrates recruitment of viroplasmic proteins. J Gen Virol. 2010 Jul;91(Pt 7):1782-93.

NSP6 (~ 290 aa)

induce la formazione a doppia membrana con nsp 3 e nsp4. Interferisce con l'attività degli autofagosomi preposti alla rimozione virale. Due mutazioni che interessano le regioni adiacenti della proteina non strutturale 6 (NSP6) potrebbero conferire una minore stabilità, che potrebbe influenzare la sopravvivenza intracellulare del virus.

- Benvenuto D et al . Evolutionary analysis of SARS-CoV-2: how mutation of Non-Structural Protein 6 (NSP6) could affect viral autophagy. J Infect. 2020 Jul;81(1):e24-e27.

NSP7 (~ 83 aa)

forma un esadecamero con nsp8 come cofattore per la RNA polimerasi RNA-dipendente aiutando NSP12 a creare nuove copie del genoma dell'RNA virale.

-Krichel B et al. Processing of the SARS-CoV pp1a/ab nsp7-10 region. Biochem J. 2020 Mar 13;477(5):1009-1019.

NSP8 (~ 198 aa)

forma un esadecamero con nsp7 come cofattore per la RNA polimerasi RNA-dipendente aiutando NSP12 a creare nuove copie del genoma dell'RNA virale.

-Mutlu O et al. Targeting SARS-CoV-2 Nsp12/Nsp8 interaction interface with approved and investigational drugs: an in silico structure-based approach. J Biomol Struct Dyn. 2020 Sep 16:1-13.

NSP9 (~ 113 aa)

funziona nella replicazione virale come proteina legante ssRNA dimerica Può essere in grado di influenzare il traffico delle molecole dentro e fuori il nucleo, ma non si comprende la finalità.

Una di queste proteine è la proteina non strutturale 9 (Nsp9), che si ritiene possa mediare la replicazione virale, la virulenza complessiva e la riproduzione dell'RNA genomico virale.

-Littler DR et al. Crystal Structure of the SARS-CoV-2 Non-structural Protein 9, Nsp9. iScience. 2020 Jul 4;23(7):101258.

NSP10 (~ 139 aa)

Le cellule umane hanno proteine antivirali che trovano l'RNA virale e lo distruggono. Questa proteina funziona con NSP16 per camuffare i geni del virus in modo che non vengano attaccati.

Questi risultati suggeriscono che l'interfaccia nsp16 / nsp10 può rappresentare un bersaglio farmacologico migliore rispetto al sito attivo virale MTase per lo sviluppo di farmaci anti-coronavirus altamente specifici. La struttura dell'interfaccia di interazione nsp16 / nsp10 mostra che nsp10 può stabilizzare la tasca di legame del SAM ed estendere il solco di legame dell'RNA del substrato di nsp16, coerentemente con i risultati dei test biochimici.

-Chen Y et al. Biochemical and structural insights into the mechanisms of SARS coronavirus RNA ribose 2'-O-methylation by nsp16/nsp10 protein complex. PLoS Pathog. 2011 Oct;7(10):e1002294.

NSP11 (~ 13-23 aa)

è un "frameshift" che diventa il terminale N di nsp12 e si sovrappone a parte dello stesso tratto di RNA. La sua funzione, se esiste, è sconosciuta

-Lin S et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 nsp10/nsp16 2'-O-methylase and its implication on antiviral drug design. Signal Transduct Target Ther. 2020 Jul 29;5(1):131

NSP12 (~ 113)

funziona nella replicazione virale come proteina legante ssRNA dimerica. L'antivirale remdesivir interferisce con NSP12, sono attualmente in corso studi per vedere se il farmaco può essere usato in corso di Covid-19.

La polimerasi SARS-CoV-2 costituito dalla subunità catalitica nsp12 e cofattori nsp7-nsp8. Questa struttura assomiglia molto alla controparte di SARS-CoV con motivi conservati per tutte le RNA polimerasi virali RNA-dipendenti e suggerisce un meccanismo di attivazione da parte dei cofattori. Studi di equivalenza rivelano una ridotta attività del complesso core della polimerasi e una minore stabilità termica delle singole subunità di SARS-CoV-2 rispetto a SARS-CoV.

-Peng Q et al. Structural and Biochemical Characterization of the nsp12-nsp7-nsp8 Core Polymerase Complex from SARS-CoV-2. Cell Rep. 2020 Jun 16;31(11):107774.

NSP13 (~ 601 aa)

è un'elicasi della superfamiglia 1 multifunzionale in grado di utilizzare sia dsDNA che dsRNA come substrati con polarità 5'-3'. Oltre a lavorare con nsp12 nella replicazione del genoma virale, è anche coinvolta nel capping dell'mRNA virale. *Lo screening virtuale di ~ 970.000 composti chimici contro il sito attivo per identificare potenziali inibitori tra i farmaci approvati ha selezionato una serie ristretta di potenziali inibitori attualmente in fase di verifica.*

-White MA et al. Discovery of COVID-19 Inhibitors Targeting the SARS-CoV2 Nsp13 Helicase. bioRxiv [Preprint]. 2020 Aug 10:2020.08.09.243246.

NSP14 (~ 527 aa)

Presenta sia attività di esoribonucleasi 3'-5' (correzione di bozze durante la replicazione dell'RNA) e attività di N7-guanina metiltransferasi (capping virale di mRNA). Interagisce con nsp10.

L'attività esonucleasica di nsp14 fornisce una possibile capacità di correzione di bozze per la RNA polimerasi, rendendo i coronavirus diversi dagli altri virus a RNA, consentendo ai coronavirus di mantenere le loro dimensioni del genoma relativamente grandi.

-Liu C et al. Potential Treatment of Chinese and Western Medicine Targeting Nsp14 of SARS-CoV-2. J Pharm Anal. 2020 Sep 7.

NSP15 (~ 346)

è un'endoribonucleasi che favorisce la scissione dell'RNA alle estremità 3' degli uridilati. La perdita di nsp15 influenza sia la replicazione virale che la patogenesi. È anche necessario per evitare i sensori dsRNA delle cellule ospiti. Si sospetta che questa proteina tagli l'RNA del virus rimanente come una strategia per nascondersi dalle difese antivirali della cellula infetta.

-Yuen CK et al. SARS-CoV-2 nsp13, nsp14, nsp15 and orf6 function as potent interferon antagonists. Emerg Microbes Infect. 2020 Dec;9(1):1418-1428.

-Krishnan DA et al. Structure-based drug designing towards the identification of potential anti-viral for COVID-19 by targeting endoribonuclease NSP15. Inform Med Unlocked. 2020;20:100392.

NSP16 (~298 aa)

interagisce e viene attivata da nsp10. Può anche funzionare contro i sensori antivirali delle cellule ospiti. NSP16 funziona con NSP10 per aiutare i geni del virus a nascondersi dalle proteine che

frammentano l'RNA virale. SP16 è una metiltransferasi che metila la posizione 2'-O del ribosio del nucleotide virale. La sua attività 2'-O-metiltransferasi è essenziale per il capping dell'mRNA virale. Sfruttando la struttura recentemente risolta di NSP16 con il suo inibitore, S-adenosilmetionina, è stata virtualmente sottoposta a screening verso farmaci approvati dalla FDA, farmaci candidati e composti naturali. Due composti hanno dati risultati incoraggianti: DB02498 (Carba-nicotinamide-adenina-dinucleotide) è un farmaco approvato che è stato utilizzato dalla fine degli anni '60 in forma endovenosa per ridurre significativamente i sintomi di astinenza da una varietà di droghe e alcolisti e ha la migliore energia libera di legame MM-PBSA di $-12,83 \pm 0,52$ kcal / mol. Il secondo miglior inibitore, la galuteolina è un composto naturale che inibisce l'enzima tirosinasi con un valore energetico libero legante MM-PBSA di $-11,21 \pm 0,47$ kcal / mol.

-Vijayan Vet al. Identification of promising drug candidates against NSP16 of SARS-CoV-2 through computational drug repurposing study. J Biomol Struct Dyn. 2020 Aug 3:1-15.

PROTEINE ACCESSORIE

Il genoma di SARS-CoV-2 codifica anche per un gruppo di cosiddette "proteine accessorie", che modificano l'ambiente all'interno della cellula infetta per rendere più facile la replicazione del virus.

ORF3a

La proteina ORF3a perfora la membrana di una cellula infetta, rendendo più facile la dismissione dei virus neosintetizzati. Innesca anche l'infiammazione, uno dei sintomi più pericolosi del Covid-19. I suoi domini funzionali sono collegati a virulenza, infettività, formazione di canali ionici e rilascio di virus in SARS-CoV-2 3a.

-Issa E et al. SARS-CoV-2 and ORF3a: Nonsynonymous Mutations, Functional Domains, and Viral Pathogenesis. mSystems. 2020 May 5;5(3):e00266-20.

-Ren Y et al. The ORF3a protein of SARS-CoV-2 induces apoptosis in cells. Cell Mol Immunol. 2020 Aug;17(8):881-883. doi: 10.1038/s41423-020-0485-9. Epub 2020 Jun 18.

ORF3b

ORF3b si sovrappone allo stesso RNA, ma non ci sono evidenze sufficienti che SARS-CoV-2 utilizzi questo gene per produrre proteine.

-Hachim A et al. ORF8 and ORF3b antibodies are accurate serological markers of early and late SARS-CoV-2 infection. Nat Immunol. 2020 Oct;21(10):1293-1301.

ORF6 (~ 61 aa)

È un antagonista degli interferoni di tipo I ed è coinvolto nella fuga dall'azione del sistema immunitario, bloccando i segnali che la cellula infetta invia al sistema immunitario. Inoltre blocca alcune delle proteine ad azione antivirale diretta prodotta dalla cellula stessa. Tra le 29 proteine virali, SARS-CoV-2 orf6 ha dimostrato la più forte soppressione sia della produzione di interferone primario che della segnalazione dell'interferone. Attualmente ORF6 è il bersaglio per lo sviluppo di un vaccino intranasale vivo ma attenuato contro COVID-19.

-Yuen CK et al. SARS-CoV-2 nsp13, nsp14, nsp15 and orf6 function as potent interferon antagonists. Emerg Microbes Infect. 2020 Dec;9(1):1418-1428.

ORF7a (~ 121 aa)

è una proteina di membrana di tipo I che interagisce con l'antigene stromale del midollo osseo 2 (BST-2). BST-2 lega i virioni alla membrana plasmatica dell'ospite. Il legame con ORF7a inibisce la

glicosilazione di BST-2 e interferisce con questa attività di restrizione. Quando nuovi virus cercano di sfuggire a una cellula, la cellula può intrappolarli con proteine chiamate tetherin. Alcune ricerche suggeriscono che ORF7a riduce la fornitura di tetherin da parte di una cellula infetta, consentendo la fuga di più virus. ORF7a può indurre le cellule infette a suicidarsi, questo contribuisce in maniera considerevole al danno provocato a livello degli alveoli polmonari.

-Addetia A et al. Identification of multiple large deletions in ORF7a resulting in in-frame gene fusions in clinical SARS-CoV-2 isolates. J Clin Virol. 2020 Aug;129:104523.

ORF7b (~ 43 aa)

è una proteina transmembrana integrale di tipo III dell'apparato di Golgi. Sembra essere un fattore di attenuazione virale, tuttavia è sicuramente responsabile della infettività di Sars-cov-2

-Addetia A et al. Identification of multiple large deletions in ORF7a resulting in in-frame gene fusions in clinical SARS-CoV-2 isolates. J Clin Virol. 2020 Aug;129:104523.

ORF8 (~ 121 aa)

Si presume che possa essere associata alla membrana ER luminale. Il gene per questa proteina accessoria è notevolmente diverso in SARS-CoV-2 rispetto ad altri coronavirus. Si ritiene che ORF8 sia una proteina accessoria in rapida evoluzione e che possa interferire con le risposte immunitarie mediando potenzialmente attività di soppressione immunitaria.

-Flower TG et al. Structure of SARS-CoV-2 ORF8, a rapidly evolving coronavirus protein implicated in immune evasion. bioRxiv [Preprint]. 2020 Aug 27:2020.08.27.270637.

ORF 9b (~ 97 aa)

E' codificato in un ORF alternativo all'interno del gene N. Nella SARS-CoV, si localizza nei mitocondri e influenza la morfologia e la funzione mitocondriale, minando infine le risposte dell'interferone delle cellule ospiti. ORF9b blocca l'interferone.

-Jang HW et al. SARS-CoV-2 Orf9b suppresses type I interferon responses by targeting TOM70. Cell Mol Immunol. 2020 Sep;17(9):998-1000.

ORF9c (~ 70 aa)

anch'esso situato nella regione codificante N, interagisce con varie proteine ospiti inclusi i recettori Sigma, implicando il coinvolgimento nel metabolismo lipidico e nella risposta delle stress protein. Si è ipotizzato che potrebbe indirizzare la segnalazione NF-kB. La proteina contiene un presunto dominio transmembrana, interagisce con le proteine di membrana in più compartimenti cellulari e altera i processi antivirali in una linea cellulare epiteliale polmonare. Le analisi proteomiche, interattome e trascrittomiche, combinate con analisi bioinformatiche, hanno rivelato che l'espressione di questa piccola proteina virale altamente instabile alterava la segnalazione dell'interferone, la presentazione dell'antigene e la segnalazione del complemento, mentre induceva la segnalazione di IL-6. Inoltre ORF9c consente l'evasione immunitaria e coordina i cambiamenti cellulari essenziali per il ciclo di vita di SARS-CoV-2.

-Dominguez Andres Aet al. SARS-CoV-2 ORF9c Is a Membrane-Associated Protein that Suppresses Antiviral Responses in Cells. bioRxiv [Preprint]. 2020 Aug 19:2020.08.18.256776.

-Lu F. SARS-CoV-2 ORF9c: a mysterious membrane-anchored protein that regulates immune evasion? Nat Rev Immunol. 2020 Sep 7. doi: 10.1038/s41577-020-00449-z. Epub ahead of print.

ORF10 (~ 38 aa)

interagisce con i fattori del complesso ligasi (CUL2 RING E3) e quindi può modulare l'ubiquitazione. I "parenti stretti" del virus SARS-CoV-2 non hanno il gene per questa minuscola proteina ccessoria, quindi è difficile ancora sapere a cosa serve, o se il virus ne ricava proteine utili alla sua esistenza.

Michel CJ et al. Characterization of accessory genes in coronavirus genomes. Virol J. 2020 Aug 27;17(1):131.

Fine della linea

Il genoma del coronavirus termina con un frammento di RNA che arresta il meccanismo di produzione delle proteine della cellula. Quindi svanisce come una sequenza ripetuta di "a"

a g ccc u aa u g u g u aaaa u u aa uuu a g u a g u g c u a u cccc a u g u g a u uuu aa u a g c u c u u a
g g a g aa u g a c aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

E. Quali comorbidità nel bambino con COVID-19 severo?

E1. COVID-19 e Diabete (R. Limauro, V. Memoli)

Al momento, per quanto riguarda il Diabete mellito tipo 1 (DMT1), la letteratura indica la necessità di ottenere il miglior controllo glicemico possibile per evitare il rischio di chetoacidosi (Sichuan Da.2020, Ehrmann D 2020) che porterebbe ad un aggravamento in un paziente esposto a situazioni di estrema criticità in caso di contagio da SARS-CoV-2. E', inoltre, segnalato che l'uso della cloroquina in pazienti affetti da DMT1 e ricoverati per COVID-19 è in grado di indurre crisi ipoglicemiche: questo dato è da tener presente in caso di scelta terapeutica di questo tipo (M. Baretic 2020). Infine va segnalata l'opportunità di uso della telemedicina per il controllo di pazienti diabetici ed in isolamento domiciliare (Satish K.2020).

Nel Diabete tipo 2 invece, il cattivo controllo glicemico influisce negativamente sulla funzione immunitaria ed aumenta, in genere, il rischio di morbilità e mortalità in tali pazienti, come avvenuto durante la pandemia di influenza A H1N1(J. Casqueiro 2012) , quando la presenza del diabete ha triplicato il rischio di ricovero in ospedale e quadruplicato il rischio di accesso in terapia intensiva.

Nella Repubblica Cinese, a Wuhan, le principali comorbilità associate alla morte del paziente erano l'ipertensione (53,8%), il diabete (42,3%) e precedenti malattie cardiache (19,2%) (Deng 2020).

Mancano dati relativi alla popolazione generale (non sintomatici), ma presumendo una prevalenza alta o molto alta nella comunità, ciò porterebbe a una sovrastima della mortalità per caso (Puig 2020). Tra le persone di 60 anni e oltre, la mortalità è stata segnalata essere del 14,8% in quelli > 80 anni, 8% per quelli tra 70 e 79 anni e 3,6% nel gruppo di 60-69 anni. Rispetto ai pazienti non in terapia intensiva, i pazienti in condizioni critiche sono più anziani (età mediana 66 contro 51 anni) e presentano più comorbilità precedenti (72% vs. 37%) (Wang,2020).

I possibili meccanismi sottostanti alle complicanze del COVID-19 sono trattati nella sezione "COVID-19 ed obesità" ed aumentano la suscettibilità alla patologia determinando una più alta affinità cellulare per legare e permettere l'ingresso del virus, una riduzione della clearance virale, una diminuzione della funzione T cellulare, un aumento della "iperinfiammazione" e della tempesta citochinica e la presenza di malattia cardiovascolare (Muniyappa 2020)

Prevenzione

Può essere consigliabile il contatto con gli operatori sanitari, come gli endocrinologi nel caso del Diabete di tipo 1, includendo anche specialisti di medicina interna e medici di medicina generale per i pazienti Diabetici di tipo 2. Tuttavia, gli appuntamenti di routine di persona non sono raccomandati per le persone con diabete, in quanto dovrebbero evitare la folla (sale di attesa). Pertanto,

raccomandiamo telefonate, videochiamate ed e-mail come modo principale per i pazienti di tenersi in contatto con il loro team di operatori sanitari, al fine di garantire un controllo ottimale della malattia. Inoltre, si consiglia di garantire un'adeguata scorta di farmaci e forniture per il monitoraggio della glicemia durante il periodo di isolamento (Puig 2020).

Pazienti Diabetici affetti da COVID-19

Le persone con diabete che sono infette da COVID-19 possono sperimentare un deterioramento del controllo glicemico durante la malattia, come in qualsiasi altro episodio infettivo

L'implementazione di "Regole per i giorni di malattia" è quindi obbligatoria per superare la potenziale scompenso del diabete. È inoltre obbligatorio contattare il team dell'operatore sanitario via telefono, e-mail o videoconferenza in caso di possibili sintomi di infezione da COVID-19 al fine di chiedere una consulenza in merito alle misure per evitare il rischio di deterioramento del controllo del diabete o la possibilità di rivolgersi a un altro specialista (pneumologo o medico delle malattie infettive) o nei servizi di emergenza dell'ospedale di riferimento per evitare la più grave complicazione sistemica dell'infezione virale stessa (Puig 2020).

E2. Covid 19 ed obesità (R. de Franchis, R. Limauro)

Non esistono in letteratura, al momento, strette correlazioni tra l'infezione da COVID-19 e l'obesità in età pediatrica. E' presente invece molta preoccupazione legata alla riduzione dell'attività fisica (1) causata dall'isolamento domiciliare.

Nonostante l'affermazione da parte della Società Europea di Endocrinologia circa "la mancanza generale di dati sull'impatto di COVID-19 nelle persone affette da obesità" (2), la letteratura (peraltro recentissima) mostra possibili correlazioni, relative allo stato di infiammazione generale che è oramai ben noto essere presente nell'organismo delle persone obese, che può associarsi ad una ritardata e inefficace risposta immune (3). Quest'ultima può diventare cruciale in una persona affetta da COVID-19, anche nella fascia pediatrica.

Gli allarmi in età pediatrica legati all'associazione covid-obesità sono quindi sostanzialmente due: 1) obesità come effetto della sedentarietà e 2) inadeguata risposta al COVID-19 derivante dalla condizione di obesità. Si rischia ovviamente di cadere in un circolo che può divenire vizioso.

I dati italiani dell'Istituto Superiore di Sanità (4) indicano che il 99% dei decessi è occorso in presenza di patologie preesistenti e non comunicate, quali obesità, diabete mellito tipo 2, malattia cardiaca, danno renale o neoplasie. La presenza contemporanea e confondente di obesità e diabete ha reso problematica la definizione in particolare del ruolo indipendente dell'obesità. Altri studi mostrano un aumento dell'accesso a reparti di terapia intensiva, causati da COVID-19 in funzione della gravità

dell'obesità (5,6). Inoltre l'obesità sembra essere ritenuta fattore di rischio per l'accesso in ospedale per pazienti di età inferiore ai 60 anni (7).

I possibili meccanismi fisiopatologici sono:

La SARS da COVID-19 è legata al angiotensin converting enzyme 2 (ACE2), recettore per l'invasione intracellulare e il meccanismo per il severo danno polmonare è stato postulato essere mediato dall'attivazione del sistema renina angiotensina (8) ed il suo bloccaggio è stato proposto come potenziale trattamento per il COVID-19 (9). L'attivazione complessiva dell'asse angiotensin converting enzyme (ACE)/angiotensin II (Ang II)/type 1 angiotensin 2 receptor (AT1R) RAS gioca un ruolo importante nella fisiopatologia dell'obesità e della deposizione del grasso viscerale correlato al rischio cardiaco. L'interazione tra il sistema RAS, il tessuto adiposo ed il COVID-19 può parzialmente spiegare la più elevata morbilità e rischio di mortalità nei pazienti obesi (10), anche se il ruolo del sistema va meglio chiarito.

La presenza del recettore DPP4, (proteina transmembranale presente nel tessuto adiposo, Human dipeptidyl peptidase) ,è stata identificata come recettore funzionale per la spike protein of the MERS-Co-V (11). L'inibizione della DPP4 può giocare un ruolo nella risposta immune al COVID-19 riducendo l'attività infiammatoria e sopprimendo la proliferazione T-cellulare e la secrezione delle citokine pro-infiammatorie, quali interleukina 6 (IL6) e 10 (12).

Il ruolo del Pediatra di Famiglia

Quale dunque il ruolo del Pediatra di Famiglia? il ruolo essenziale del PdF anche in questo momento storico è legato alla necessità di guidare la madre su quale debba essere l'alimentazione corretta del bambino, spingendola ad organizzare giochi in casa che riescano a stimolare il bambino al movimento, cogliendo l'occasione per coinvolgerlo nella preparazione dei cibi, spiegandogli l'importanza di una composizione del pasto corretta. La necessità di trascorrere più tempo a casa con il proprio figlio può trasformarsi nell'opportunità di cucinare insieme nuovi piatti sani, evitando il ricorso a "cibo spazzatura" che comprometterebbe lo stato di salute del piccolo. La diffusione di una alimentazione corretta, da parte del PdF, e lo stimolo ad una costante attività fisica, sono momenti fondamentali nella crescita di un bambino che potrebbero rivelarsi, alla lunga, strategie vincenti anche per il COVID-19.

Bibliografia

1. The Management of Blood Glucose Should be Emphasized in the Treatment of COVID-19]. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2020 Mar;51(2):146-150. doi: 10.12182/20200360606.
2. Risk factors and prevention strategies for diabetic ketoacidosis in people with established type 1 diabetes. Ehrmann D, Kulzer B, Roos T, Haak T, Al-Khatib M, Hermanns N. Lancet Diabetes Endocrinol. 2020 May;8(5):436-446
3. Case report of chloroquine therapy and hypoglycaemia in type 1 diabetes: What should we have in mind during the COVID-19 pandemic? Maja Baretic. Diabetes Metab Syndr. 2020 Apr 13.

4. Managing New-Onset Type 1 Diabetes During the COVID-19 Pandemic: Challenges and Opportunities Satish K. Garg, MD,¹ David Rodbard, MD,² Irl B. Hirsch, MD,³ and Gregory P. Forlenza, MD. *Diabetes Technology & Therapeutics* Volume 22, Number 6, 2020
5. J. Casqueiro, J. Casqueiro, C. Alves, Infections in patients with diabetes mellitus: a review of pathogenesis. *Indian J. Endocrinol. Metab.* 16(Suppl 1), S27–S36 (2012). <https://doi.org/10.4103/2230-8210.94253>
6. S.-Q. Deng, H.-J. Peng, Characteristics of and public health responses to the coronavirus disease 2019 outbreak in China. *J. Clin. Med.* 9(2), 575 (2020)
7. COVID-19 and Endocrine Diseases. A Statement From the European Society of Endocrinology M Puig-Domingo 1, M Marazuela 2, A Giustina 3 4. *Endocrine.* 2020 Apr;68(1):2-5.
8. D. Wang, B. Hu, C. Hu, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* (2020). <https://doi.org/10.1001/jama.2020.1585>
9. Perspective: COVID-19 Pandemic, Corona Viruses, and Diabetes Mellitus. Ranganath Muniyappa and Sriram Gubbi *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2020 Mar 31
10. -Handbook of Covid-19 Prevention and treatment. The first affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine Compiled According to Clinical Experience. 2020

E3. SARS-CoV-2 e Bambino Allergico. L' Asma Allergico favorisce il COVID-19 o aumenta il rischio di malattia più grave ?

(L. Cioffi, S. Iasevoli)

Al momento non vi sono evidenze che identificano l'asma pediatrico come fattore di rischio per COVID 19, sia come fattore favorente la malattia che come rischio vero e proprio di gravità. Una metanalisi in corso di pubblicazione, comparsa su medRxiv, condotta dal gruppo di Castro Rodriguez cerca di rispondere a questi quesiti. L'obiettivo principale era identificare se l'asma, la più comune malattia respiratoria cronica nei bambini, potesse essere un fattore di rischio per l'infezione da SARS-CoV-2 o per la gravità di COVID-19 nella popolazione pediatrica. Gli autori hanno condotto una ricerca sistematica della letteratura in tre fasi: in primo luogo, hanno cercato su PubMed, EMBASE e CINAHL usando i termini "SARS-CoV-2 OR COVID-19" e "revisione sistematica" in "bambini 0-18 anni" per trovare revisioni sistemiche sull'argomento e quindi rivedere gli studi primari inclusi in tali revisioni. In secondo luogo, hanno cercato su PubMed "COVID-19 OR SARS-CoV-2" e "asma o respiro sibilante", per trovare direttamente studi su asma / respiro sibilante e COVID-19, e valutare se includessero popolazioni pediatriche. Nella prima ricerca, sono state trovate otto revisioni sistematiche, di cui cinque eseguite nella popolazione pediatrica; dopo aver esaminato 67 studi primari gli autori non hanno trovato dati sull'asma pediatrico come comorbidità per COVID-19. Nella seconda ricerca hanno trovato 25 risultati in PubMed, dei quali cinque hanno riferito asma negli adulti, ma nessuno ha incluso dati sui bambini. Nella terza ricerca 14 prestampate in MedRxiv sono state identificate con dati sull'asma, ma ancora nessuna con dati pediatrici. Gli autori hanno trovato solo un rapporto del CDC degli Stati Uniti che afferma che bambini 40/345 (~ 11,5%) con dati su condizioni croniche avevano "malattie polmonari croniche tra cui l'asma". Nessuno degli studi

primari esaminati ha riportato asma o respiro sibilante ricorrente come comorbidità o fattore di rischio per COVID-19. Invece, alcuni di questi studi hanno riportato la giovane età (in particolare i bambini di età inferiore a 1 anno) come gruppo con COVID-19 più grave. Uno studio cinese ha riportato condizioni croniche non respiratorie (idronefrosi, leucemia sottoposta a chemioterapia e intussuscezione) in 3 bambini che hanno richiesto il supporto in terapia intensiva e la ventilazione meccanica. Un decesso si è verificato in un bambino di 10 mesi con intussuscezione. Sfortunatamente, i due studi cinesi più ampi su pazienti pediatrici, Dong et al. [18] (2.413 bambini) e Wu e MacGoogan (965 bambini) non hanno riportato dati clinici sufficienti per identificare comorbidità o fattori di rischio per la gravità di COVID-19. Nell'indagine tedesca su 33 bambini ospedalizzati, 4 bambini su 22 (18%) presentavano "comorbidità respiratorie" senza ulteriori dettagli. Nella revisione di Rodriguez gli autori trovano solo un rapporto che descrive asma e respiro sibilante ricorrente come un potenziale fattore di rischio per COVID-19 nei bambini. È importante sottolineare che nessuno dei più importanti studi epidemiologici in età pediatrica ha riportato risultati clinici o caratteristiche sottostanti per poter valutare se l'asma - o altre malattie polmonari croniche - costituisca un fattore di rischio per l'infezione da SARS-CoV-2. D'altro canto il COVID-19 colpisce principalmente i polmoni e di conseguenza diverse linee guida internazionali hanno designato alcune condizioni respiratorie come un potenziale fattore di rischio per una malattia grave. Le linee guida cinesi affermano che "i bambini con condizioni sottostanti (come cardiopatia congenita, ipoplasia polmonare bronchiale, anomalia del tratto respiratorio, con livello di emoglobina anormale, malnutrizione grave), o con deficienza immunitaria o stato immuno - compromesso possono diventare casi gravi". Recentemente la EAACI ha dichiarato che i pazienti pediatrici con asma (asma particolarmente grave o non controllato) e immunodeficienza sono ad aumentato rischio di sviluppare COVID-19 grave. Questa posizione era basata più sul buon senso che su prove certe. Quindi esistono pochi dati certi che definiscono l'asma infantile (o altre malattie respiratorie pediatriche) come un fattore di rischio per l'infezione da SARS-CoV-2 o per la gravità di COVID-19.

QUALE COMPORTAMENTO DEVE AVERE IL BAMBINO ASMATICO NELLA GESTIONE DELLA SUA ASMA?

A queste domande ha risposto il gruppo di allergologi che fa parte delle revisioni GINA :

- I soggetti con *asma bronchiale* devono continuare tutti i loro farmaci per inalazione, compresi i corticosteroidi inalanti, come prescritto dal loro medico.
- In *caso di attacchi acuti di asma*, i pazienti devono seguire un breve ciclo di corticosteroidi orali, se indicato nel loro piano d'azione per l'asma o dal proprio medico, per prevenire gravi conseguenze.
- In rari casi, i pazienti con *asma grave* potrebbero richiedere un trattamento a lungo termine con corticosteroidi orali (OCS) in aggiunta ai loro farmaci per inalazione. Questo trattamento deve essere continuato nella dose più bassa possibile in questi pazienti a rischio di attacchi / esacerbazioni gravi.
- Le terapie biologiche dovrebbero essere utilizzate nei pazienti con asma grave al fine di limitare il più possibile la necessità di OCS.
- I nebulizzatori dovrebbero, ove possibile, essere evitati in caso di attacchi acuti a causa dell'aumentato rischio di diffusione di COVID-19 ad altri pazienti, a medici, infermieri e altro personale).
- L'inalatore di dose misurata sotto pressione (pMDI) tramite un distanziatore è il trattamento preferito durante gli attacchi gravi. (I distanziatori non devono essere condivisi in casa)

- Mentre un paziente è in trattamento per un grave attacco, la terapia di mantenimento deve essere continuata a casa e/o in ospedale per il periodo prescritto.
- I test di *spirometria di routine* devono essere sospesi per ridurre il rischio di trasmissione virale e, se assolutamente necessario, devono essere prese adeguate misure di controllo delle infezioni. (munirsi di adeguati DPI, distanziamento di almeno 1.8 m dal bambino che esegue il test e preferibilmente di spalle, usare boccagli monouso con filtri, togliersi i guanti solo dopo aver effettuato la prova, secondo le modalità di svestizione)

E la Rinite Allergica ?

Al momento, come per l'asma, non vi sono evidenze che la rinite allergica sia un fattore di rischio per Covid 19 I pazienti con *rinite allergica* devono continuare a prendere i loro corticosteroidi nasali, come prescritto dal loro medico

ARIA MASK GRUP

With the current knowledge, in patients with COVID-19 infection, intra-nasal corticosteroid (including spray) can be continued in allergic rhinitis at the recommended dose

Stopping local intra-nasal corticosteroid is not advised. Suppression of the immune system has not been proven and more sneezing after stopping means more spreading of the Corona virus

These recommendations are conditional since there is a paucity of data and they should be revised regularly with new knowledge

Non vi sono evidenze per la sospensione degli antistaminici e del vaccino desensibilizzante

Bibliografia:

1. Asthma and COVID-19 in children – a systematic review and call for data Jose A. Castro-Rodriguez et all. medRxiv pre-print doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.04.20090845>.this version posted May 8, 2020
2. GINA : Global initiative for asthma March 25 2020 <https://ginasthma.org/covid-19-gina-answers-to-frequently-asked-questions-on-asthma-management/>
3. Inhaled corticosteroids in allergic rhinitis in COVID-19 infected patients: An ARIA-EAACI statement ARIA MASK STUDYGRUP

(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

F. Quale terapia nel bambino con COVID-19 ? (L. Cioffi)

F1. Ci sono protocolli terapeutici standardizzati per il bambino affetto da COVID-19?

Ad oggi, non esistono dei protocolli standardizzati in pediatria specifici per il COVID-19. La letteratura scientifica non fornisce al momento indicazioni chiare sulle terapie somministrabili ai pazienti affetti da COVID-19, sia nella fase di degenza sia nella fase di dimissione o di isolamento domiciliare (pazienti positivi al tampone o altamente sospetti).

Attualmente sono utilizzati farmaci resi disponibili per COVID-19 al di fuori delle indicazioni terapeutiche, utilizzabili empiricamente con schemi e protocolli terapeutici suggeriti da società scientifiche, enti regolatori, che però spesso non sono sovrapponibili.

L'insorgenza della polmonite interstiziale è rara nei pazienti pediatrici (Xia et al.), con insorgenza apparentemente eccezionale di quadri di ARDS grave.

Quadro generale

L'infezione da COVID-19 determina un quadro clinico molto variabile, con un decorso benigno nell'80 % dei pazienti affetti. Tuttavia, una complicanza grave e spesso letale è rappresentata dallo sviluppo della sindrome di insufficienza respiratoria nei vari gradi definiti di ARDS.

Trattamento generale

Le strategie di trattamento generali comprendono il riposo a letto e il trattamento di supporto; garantire un apporto calorico e idrico sufficiente; mantenimento dell'equilibrio elettrolitico dell'acqua e omeostasi; monitoraggio della frequenza respiratoria e dove sia possibile la saturazione di ossigeno

CONTROLLO DELLA FEBBRE: controllo della temperatura con paracetamolo 15-20 mg/ kg /die (al momento non vi è nessuna controindicazione all'uso dell'Ibuprofene a meno che non si abbia il sospetto di una polmonite, in tal caso determinerebbe maggiore incidenza della catena citochinica polmonare. Ma questo dato è rilevabile anche per le altre forme di polmoniti).

TERAPIA DI SUPPORTO: Alcuni studi hanno messo in evidenza un'azione della vitamina D nel ridurre l'espressione delle citochine, in particolare IL6 e riduzione della progressione verso la fibrosi. La Vitamina E gioca un ruolo importante nel ridurre lo stress ossidativo e lega i radicali liberi comportandosi come un antiossidante. Un deficit di vitamina E provoca una intensificazione delle alterazioni cardiache da coxsackie virus B3. La Vitamina C per il suo effetto antiossidante, gli omega 3 e i PUFA mitigano la replicazione virale del virus dell'influenza.

F2. Approccio Terapeutico a pazienti con Polmonite/Ards da COVID-19

L'uso della terapia antibiotica è discussa solo in caso di fondato sospetto di polmonite per evitare sovrapposizioni batteriche (*S.pneumoniae*, batteri intracellulari, *Mycoplasma*) e si utilizza l'associazione Ac.clavulanico/amoxicillina:80/100 mg/kg/die in 3 somministrazioni per 5-7 giorni e/o Azitromicina:10 mg/kg/die primo giorno 5 mg/kg/die dal secondo al quinto giorno .L'uso dell'azitromicina è giustificato dal fatto che la molecola non solo ha una spiccata azione antibatterica ma anche un'azione anti infiammatoria con riduzione delle citochine proinfiammatorie, come IL6, e secondo alcuni autori ridurrebbe anche la replicazione virale.

Al momento le basi per il trattamento dell'infezione da COVID si sono sviluppate su **4 diverse strategie**:

- 1) trattamento immunosoppressivo/immunomodulante
- 2) trattamento anti-virale
- 3) prevenzione complicanze trombo-emboliche
- 4) assistenza respiratoria

Razionale per l'Uso della terapia antiinfiammatoria/immunomodulante nei pazienti COVID-1

Dai dati disponibili in letteratura si evidenzia in modo chiaro la correlazione tra la persistenza dell'elevazione degli indici di flogosi e la progressione del danno polmonare con esito fatale nei pazienti con COVID-19 (Zhou et al).

Nel corso delle ultime settimane è apparso evidente come un **approccio anti-infiammatorio precoce** nei pazienti che sviluppano il quadro di polmonite interstiziale si stia rilevando cruciale al fine di prevenire il danno polmonare che porta ad insufficienza respiratoria e necessità di ventilazione assistita

Idrossiclorochina

L'idrossiclorochina (HCQ) è uno dei farmaci frequentemente utilizzati per il trattamento della malattia polmonare interstiziale (ILD) nei bambini **Questo uso è off-label e questo è uno dei pochi lavori in letteratura che hanno fatto una metanalisi za dell'HCQ nei bambini.** Pertanto, è stata effettuata una ricerca bibliografica sull'uso di cloroquina (CQ) e HCQ in queste condizioni. Ottantacinque casi clinici e piccole serie nel periodo dal 1984 al 2013 sono stati identificati in cui i bambini con diverse diagnosi di ILD sono stati trattati con CQ o HCQ, a volte in combinazione con altri farmaci tra cui gli steroidi. Una risposta favorevole a HCQ o CQ è stata riportata in 35 casi, mentre negli altri casi l'effetto è stato negativo o

non chiaro. **La dose di HCQ è stata compresa tra 5 e 10 mg / kg di peso corporeo / giorno (in peso / giorno).** Non sono stati condotti studi di farmacocinetica. Il profilo degli effetti collaterali nei bambini sembrava essere simile a quello negli adulti. Sono stati segnalati più spesso sintomi gastrointestinali. Tre pazienti hanno sviluppato alterazioni della retina durante il trattamento con CQ, mentre in nessuno dei pazienti trattati con alterazioni della retina dell'HCQ sono stati segnalati. Sulla base di casi retrospettivi e di piccole serie l'uso di HCQ nel bambino potrebbe essere classificato come sicuro. Poiché non sono disponibili dati prospettici sull'efficacia e la sicurezza di HCQ nei bambini è necessaria una raccolta sistematica. Ciò può essere ottenuto da registri basati sul web come la piattaforma di gestione europea per le malattie polmonari interstiziali dell'infanzia. Indagini prospettiche e controllate di HCQ in bambini sono necessarie.

Recenti studi hanno evidenziato il ruolo della cloroquina e dell'idrossicloroquina nella modulazione della risposta infiammatoria polmonare, nonché della clearance virale. L'FDA ha recentemente autorizzato il loro utilizzo nell'infezione da COVID-19 anche in età pediatrica (Bambini/adolescenti: 4-6 mg/kg per 7-10 giorni). Purtroppo questo è un farmaco con rilevanti effetti collaterali (a livello cardiaco con prolungamento del tratto QTc e gravi aritmie), e per tale ragione il suo uso, soprattutto se in associazione con l'azitromicina, deve essere sottoposto ad attento monitoraggio sia clinico che elettrocardiografico

- Cortisonici

L'uso dello steroide è stato sconsigliato nelle prime settimane di epidemia in Italia. Tuttavia tali indicazioni non sembrano supportate da evidenze convincenti. Al contrario: **le linee diffuse delle Autorità Cinesi sulla gestione dei pazienti COVID-19 lo raccomandano nei pazienti che sviluppano una forte componente infiammatoria ("Handbook of COVID-19 and treatment")**. Un recente studio retrospettivo sui pazienti COVID-19 ha evidenziato il ruolo protettivo dell'uso dello steroide nei pazienti che hanno sviluppato ARDS (Wu C et al, JAMA). Un altro studio cinese ha evidenziato il suo favorevole utilizzo anche nella fase precoce della malattia (Wang et al). **Quindi alcuni comitati scientifici (IRCCS Gaslini ad esempio) sostengono l'indicazione all'utilizzo precoce dello steroide nei pazienti che presentano la polmonite severa da COVID-19. (Metilpredisolone Giovani adulti: 40 mg x 2 da incrementare a 80 mg x 2, se non risposta clinica entro 48 ore; Bambini: 1 mg/kg/die, da incrementare a 2 mg/kg/die se non risposta clinica entro 48 ore)**

- Farmaci biologici anti-citochine

Alcune esperienze preliminari in Cina hanno evidenziato l'effetto dell'inibizione di IL-6 con farmaci biologici (Tocilizumab) nella ARDS da COVID-19 (Xu et al.). Tale risposta sembra essere confermata su casi aneddotici e casistiche trattate con farmaco ad uso compassionevole in queste settimane in Italia. Oltre al Tocilizumab, per cui sono state avviate in Italia 2 sperimentazioni cliniche, in queste settimane si sono praticate altre strategie terapeutiche con farmaci analoghi, come gli inibitori di interleuchina IL-1 e interferone gamma. Anche per queste molecole sono appena state avviate delle sperimentazioni approvate da AIFA.

Alla luce dell'esperienza maturata in questi anni nel trattamento delle malattie da attivazione macrofagica molti autori sostengono l'indicazione primaria agli inibitori di IL-1 nei soggetti in età pediatrica con forme precoci di ARDS.

Trattamento anti-virale

Al momento attuale nessuno dei trattamenti con farmaci specificamente antivirali ha dato grandi risultati.

- INTERFERONE ALFA

L'IFN- α è un farmaco antivirale ad ampio spettro, che potrebbe inibire la sintesi dell'RNA virale e inibire la replicazione e la diffusione virale. L'IFN- α , combinato con ribavirina, un farmaco antivirale in grado di interferire con la sintesi degli acidi nucleici (DNA e RNA) dei virus, potrebbe ridurre la replicazione virale. Shen . et all. sulla scorta di altre esperienze in corso di bronchiolite o polmoniti virali del bambino ha suggerito l'uso dell'interferone- α per ridurre la carica virale nella fase iniziale dell'infezione, il che può aiutare ad alleviare i sintomi e abbreviare il decorso della malattia. l'uso raccomandato è il seguente:

1. Aerosol con interferone- α : interferone- α 200.000–400.000 UI / kg o 2-4 μ g / kg in 2 ml di acqua sterile, una nebulizzazione due volte al giorno per 5-7 giorni;

2. Spray interferone- α 2b per via nasale: applicato per popolazioni ad alto rischio con uno stretto contatto con sospetti pazienti infetti 2019-nCoV o quelli nella fase iniziale con solo sintomi del tratto respiratorio superiore.

I pazienti devono usare 1-2 spray per narice e 8-10 spruzzi sull'orofaringe. La dose di interferone- α 2b per iniezione è di 8000 UI, una volta ogni 1-2 ore, 8-10 spruzzi / giorno per un ciclo di 5-7 giorni. **L'IFN- α è controindicato nei pazienti con funzionalità epatica anormale. Nei bambini con clearance della creatinina (CrCl) inferiore a 50 ml / min. L'IFN- α è anche controindicato nei bambini con storie di malattie mentali, malattie cardiache gravi o instabili o anemia aplastica. La nebulizzazione IFN- α deve essere usata con cautela nei neonati e nei bambini di età inferiore ai 2 mesi.** Le reazioni avverse di IFN- α comprendono principalmente febbre e sintomi simil-influenzali (entrambi nei bambini con iniezione intramuscolare). L'inibizione della crescita e dello sviluppo è più comune quando si combina IFN- α con ribavirina. L'istinto suicida è più comune nei bambini (principalmente adolescenti) rispetto agli adulti (2,4% vs. 1%). Per quanto ne sappiamo, l'IFN- α ha poche interazioni farmacologiche. Tuttavia, IFN- α deve essere usato con cautela durante la combinazione con sonniferi e sedativi. Per questi effetti e per la scarsa evidenza di efficacia questo farmaco è stato scarsamente usato in Europa.

- LOPINAVIR/RITONAVIR

LPVr viene utilizzato nel trattamento dell'infezione da HIV.. Che cos'è il lopinavir? Il lopinavir inibisce la proteasi dell'HIV. In questo modo ostacola la produzione di particelle virali infettive. E' utilizzato principalmente per il trattamento dell'HIV. Sulla base delle esperienze cliniche nel trattamento della SARS e della MERS LPVr viene proposto per il trattamento di COVID-19. LPVr è disponibile in compresse e soluzioni orali. La soluzione orale LPVr è più adatta per i bambini con una superficie corporea inferiore a 0,6 m² o per coloro che non sono in grado di deglutire le compresse. La soluzione orale LPVr contiene circa il 42% (v / v) di etanolo e il 15% (p / v) di glicole propilenico, che non è raccomandato nei neonati prematuri entro 42 settimane e nei neonati entro 14 giorni in base alle istruzioni sui farmaci negli Stati Uniti. La soluzione orale LPVr è adatta a bambini di età pari o superiore a 6 mesi. Le differenze nella limitazione dell'età possono essere dovute a diversi eccipienti e al processo di produzione utilizzato. Il regime posologico di LPVr è stato raccomandato come segue: compresse LPVr (200 mg / 50mg): 12 mg / 3 mg / kg ogni volta per i bambini con 7-15 kg di peso corporeo (peso corporeo); per quelli con peso corporeo di 15-40 kg, 10 mg / 2,5 mg / kg ogni volta; per quelli con peso corporeo uguale o superiore a 40kg, è possibile somministrare ogni volta 400 mg / 100 mg. Le compresse di LPVr vengono somministrate due volte al giorno per 1-2 settimane. Lopinavir (LPV) è principalmente metabolizzato dal fegato, quindi LPVr deve essere usato con cautela nei pazienti con insufficienza epatica da lieve a moderata e controindicato nei pazienti con grave insufficienza epatica. Inoltre, **LPVr potrebbe causare un aumento dell'intervallo PR, blocco cardiaco di secondo o terzo grado. LPVr deve essere usato con cautela nei bambini con sindrome del QT lungo congenita o ipopotassiemia.** Le reazioni avverse più comuni di LPVr comprendono diarrea (adulti 19,5%; bambini 12%), vomito (adulti 6,8%; bambini 21%), eruzione cutanea (adulti 5%; bambini 12%), ecc. I bambini hanno maggiori probabilità di presentare reazioni avverse come rash e vomito, questi sintomi devono essere attentamente monitorati. Il lopinavir è un substrato dell'enzima CYP3A e il ritonavir è un forte inibitore dell'enzima CYP3A. LPVr deve essere usato con cautela durante la combinazione con farmaci metabolizzati dall'enzima CYP3A o farmaci che influenzano l'attività dell'enzima CYP3A. Per i bambini con ittero, LPVr può aumentare la bilirubina libera ed esacerbare l'ittero. Pertanto, LPVr non deve essere usato nei bambini con ittero. Comunque dopo alcuni risultati promettenti questa associazione, sulla scorta di vari reports pediatrici, non si è dimostrata efficace su larga scala.

- REMDESIVIR E FAVIPRAVIR

Remdesivir e favipravir sono farmaci antivirale nella classe degli analoghi nucleotidici. È stato sviluppato da Gilead Sciences come trattamento per la malattia da virus Ebola e le infezioni da virus Marburg. Non sono stati al momento studiati a sufficienza in pediatria da poterne stabilire l'efficacia.

- ARBIDOL

L'Arbidol è somministrato per adulti infetti da 2019-nCoV; tuttavia, la sua efficacia e sicurezza rimangono poco chiare.

- OSELTAMIVIR

Oseltamivir e altri agenti anti-influenzali possono essere applicati per pazienti con infezione da altri virus influenzali

Alla luce di questi dati, per il momento non si raccomanda l'utilizzo di farmaci antivirali nella terapia della malattia da COVID-19 in pediatria.

Prevenzione complicanze trombo-emboliche

La presenza di complicanze a carico della coagulazione sono sempre più state segnalate nei soggetti affetti da COVID 19, soprattutto quando la compromissione respiratoria aumenta; da un iniziale incremento dei parametri di attivazione, la coagulopatia secondaria al processo infiammatorio può arrivare fino ad una coagulazione intravascolare disseminata (CID) conclamata. In aggiunta, sono riportate complicanze trombo emboliche e microtrombosi polmonare. Ultimamente sono comparsi in letteratura o sui siti web delle società scientifiche che descrivono le alterazioni coagulative secondarie all'infezione da COVID19 e suggeriscono delle strategie di prevenzione e/o gestione. Due gruppi cinesi, inoltre, su riviste non "peer reviewed", ipotizzano una attività anti replicazione virale oltre che anti trombotica per l'eparina e il dipiridamolo, un blando antiaggregante piastrinico. Quanto sopra è segnalato nella fascia di età con maggiore espressione della patologia, adulti ed anziani mentre la rarità dei casi con sintomatologia seria o grave in età pediatrica ed adolescenziale non consente di trarre alcuna informazione sugli aspetti specifici delle complicanze dell'infezione. Inoltre, i media hanno recentemente riportato rari decessi di adolescenti e neonati quantomeno correlati se non secondari alla infezione da COVID-19. Il bambino presenta una incidenza di complicanze trombotiche molto inferiore rispetto all'adulto. L'incidenza delle complicanze trombotiche sotto i 18 anni è però maggiore nel neonato per le particolarità del sistema emostatico in età neonatale, dove è latente una condizione di relativa trombofilia.

- IMMUNOGLOBULINE

Le immunoglobuline di soggetti guariti da COVID 19 possono essere utilizzate nei casi più gravi quando indicato, ma la loro efficacia richiede un'ulteriore valutazione

Tabella 1. Proposta per il trattamento anti-infiammatorio pazienti con malattia COVID-19 (Versione 1. 02/4/20)

Criteria per decisione terapeutica in COVID-19 +	Parametri laboratoristici utili per identificare l'iperinfiammazione	Trattamento proposto
<p>Forme Lievi</p> <ul style="list-style-type: none"> • Febbre isolata e/o altri sintomi caratteristici senza febbre • In assenza di disturbi respiratori o fabbisogno di O2 Tp • Assenza di polmonite 		<p>Giovani adulti: Idrossiclorochina 400 mg q12 il 1° giorno, quindi 200 mg q12 per 7-10 giorni totali</p> <p>Bambini/adolescenti: 4-6 mg/kg per 7-10 giorni</p>
<p>Comparsa o persistenza di febbre elevata dopo 5-7 giorni dall'esordio, tosse insistente e almeno uno di questi segni:</p> <ul style="list-style-type: none"> • FR > 30 atti min • SO2 in AA < 92% • PaO2/FiO2 < 300 • Estesi infiltrati polmonari <p>Nessun sospetto clinico di sovrainfezione batterica (improbabile nella prima settimana e in chi non è ospalizzato o con comorbidità)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Linfopenia • PCR > 10 mg/dL • Aumento LDH 2x valori normali • Aumento d-dimero > 2 VN • Aumento ferritina > 2 VN 	<ul style="list-style-type: none"> • Ospedalizzazione se non c'è possibilità di recall telefonico o altro monitoraggio (pz a rischio di rapido deterioramento) • Idrossiclorochina (come sopra) • Metilpredisolone Giovani adulti : 40 mg x 2 da incrementare a 80 mg x 2, se non risposta clinica entro 48 ore Bambini: 1 mg/kg/die , da incrementare a 2 mg/kg/die se non risposta clinica entro 48 ore • Profilassi anticoagulativa (Vedi Tab 2 e 3)
Incremento fabbisogno ossigeno	Persistenza di elevazione parametri infiammatori o insufficiente riduzione	<ul style="list-style-type: none"> • Anakinra <p>Dose d'attacco. Giovane adulto: 100 mg e.v. tre volte al giorno per 3 giorni</p> <p>Paziente pediatrico 5-10 mg/kg e.v. (max 300 mg) per 3 gg</p> <p>Modulare il farmaco con dosi a scalare sulla base dell'andamento clinico fino a normalizzazione degli indici di flogosi e/o miglioramento della funzione respiratoria</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tocilizumab 8 mg/kg mg (dosaggio massimo 800 mg) ev in 1 unica somministrazione
Ulteriore peggioramento	Persistenza di elevazione parametri infiammatori o insufficiente riduzione	filtri per citochine

* Anakinra è un antagonista recettore IL-1 che blocca la funzione IL-1.

La sicurezza e i benefici del blocco IL-1 nel processo infiammatorio è stato dimostrato in molte malattie, compreso il suo ruolo nel trattamento dell'artrite idiopatica giovanile sistemica correlata alla sindrome da attivazione macrofagica (MAS). E' stato segnalato che l'anakinra migliora i sintomi di varie malattie reumatiche, tra cui il lupus (SLE) .

Tabella 2 Farmaci utilizzabili per profilassi e terapia anticoagulante

		Neonato	> 28 gg	Monitoraggio
Eparina sodica	Profilassi	15U/kg/h	10U/Kg/h	antiFXa 0,1-0,3 UI/ml
	Terapia	Bolo 100 U/Kg 28U/Kg/ora	Bolo 75 U/Kg 20/U/Kg/h	antiFXa 0,3-0,7 UI/ml
Enoxaparina¹	Profilassi	150U/Kg/die s.c	100U/Kg/die s.c	antiFXa ² 0,2-0,4 UI/ml
	Terapia	150 U/kg/12h s.c.	100 U/kg/12h s.c.	antiFXa ² 0,5-1.0 UI/ml
Fondaparinux³	Terapia	Da un anno di età 0,1 mg/kg/24 h s.c.		Nessun monitoraggio
Bivalirudina⁴	Terapia	0,125 mg/kg/bolo 0,125 mg/kg/h		aPTT doppio del basale

Bibliografia

1. Proposte per la gestione assistenziale dei pazienti COVID-19 in età perinatale, pediatrica e adolescenziale . Ospedale G. GASLINI (Versione 1. 4/4/2020)
2. -Protocol for the development of a rapid advice guidelines for management of children with SARS-CoV-2 infection; Weiguo Li et all. Ann Palliat Med 2020 | <http://dx.doi.org/10.21037/apm.2020.02.33>
3. -Diagnosis, treatment, and prevention of 2019 novel coronavirus infection in children experts' consensus statement; Kunling Shen et all. World Journal of Pediatrics Febb 2020
4. -Corona Virus Disease 2019, a growing threat to children?: Pu Yang et all. Journal of infection. Febbraio 2020
5. -Covid-19 drug therapy Smith et all ; Clinical drug information, Clinical solution Marzo 2020
6. -Benefit of Anakinra in Treating Pediatric Secondary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis; Esraa M. Elseily et all Arthritis and Rheumatology Volume 72, fascicolo
7. -Pharmaceutical care recommendations for antiviral treatments
8. in children with coronavirus disease 2019 Yan Wang¹ ▪ Li-Qin Zhu² World journal of pediatric, Marzo 2020
9. Hydroxychloroquine in Children With Interstitial (diffuse parenchymal) Lung Diseases Sarah Braun et all Pediatric pulmonology ottobre 2014
10. -Van Doremalen N. et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as
11. -Compared with SARS-CoV-1. N Engl J Med. 2020 Mar 17. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc2004973?query=RP>

12. -Wang Zhou. *The Coronavirus prevention handbook: 101 science-based tipsthatcouldsaveyour life*. 2020; ISBN13: 9781510762411

(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

G. Inquinamento ambientale e maggiore diffusione di SARS-CoV-2: esiste una possibile correlazione ? (P.Palestini, S.Russo)

La differente modalità di circolazione del **COVID-19** nella popolazione, con marcate differenze di morbilità e letalità nelle varie regioni di Italia, sta spingendo il mondo scientifico a cercare di identificare i vari elementi che possono favorire la diffusione del virus. Diversi gruppi di ricerca hanno iniziato ad analizzare il ruolo del particolato atmosferico (PM), evidenziando alcune prime correlazioni. Il Covid-19, come altri virus, potrebbe trasmettersi anche per via aerea e il particolato potrebbe svolgere un duplice ruolo nel favorire l'infezione :

- 1) un ruolo di *carrier* attraverso l'aerosol, aumentandone e facilitando la diffusione;
- 2) un ruolo nel *potenziamento della risposta infiammatoria* a livello polmonare che aumenterebbe la capacità di penetrazione del Covid-19 nelle cellule.

Si giustificerebbe, così, una maggiore espressione della malattia nelle aree più inquinate di Italia. In primis la Pianura Padana.

Queste ipotesi rappresentano però il punto di partenza per future analisi sulla correlazione positiva tra diffusione del Covid19 e inquinamento.

G1. La trasmissione aerea del virus SARS-CoV-2 (COVID-19): le evidenze scientifiche

Il nuovo coronavirus SARS-CoV-2 si trasmette principalmente attraverso le goccioline di saliva (**droplets**) espulse dal soggetto infetto e inalate dall'ospite recettivo. A causa delle dimensioni e del peso relativamente significativi le *droplets* percorrono distanze brevi prima di cadere al suolo. Si presuppone, pertanto, un *contagio ravvicinato*. Alcuni studi propongono, inoltre, la possibilità che il contagio possa avvenire tramite *aerosol*. (1) **La trasmissione per aerosol** si differenzia dalla precedente perché si tratta di una sospensione di particelle molto piccole (*droplets nuclei*, di diametro tra 0,001 e 100 micrometri), solide o liquide, all'interno di una fase gassosa che sedimentano lentamente e che possono essere facilmente veicolate dalle correnti d'aria promuovendo, così, il *contagio a lunga distanza*. Recentemente i ricercatori hanno misurato le dimensioni delle particelle degli aerosol infettivi e hanno dimostrato che i patogeni si trovano più comunemente negli aerosol costituiti da piccole particelle (<5 µm), che sono sospesi nell'aria e respirabili. Queste microgocce infettive sono molto piccole e rimangono in sospensione nell'aria esponendo al rischio di infezione. Infatti, si sono verificati casi di trasmissione da persone infette distanti più di 2 m con una esposizione prolungata di oltre 30 minuti ma in spazi chiusi con scarsa ventilazione (4).

L'importanza della ventilazione, era già stata dimostrata per altri virus, (morbillo, influenza aviaria). Una bassa velocità di ventilazione aumenterebbe la probabilità di diffusione dei virus attraverso l'aria, la quale circola da un ambiente all'altro con flusso turbolento favorendo l'instaurarsi di microambienti ove i patogeni proliferano. La distanza a cui viaggiano i virus trasportati dall'aerosol

dipende quindi dal design degli edifici in cui circolano. (5) Una analisi della trasmissione indoor dei virus è stata realizzata, tra l'altro, durante l'epidemia di SARS-CoVid-1. Lo studio ha mostrato come i *droplet* inizino a evaporare dopo il rilascio e possano diminuire in grandezza e dimensione al punto di circolare nell'aria. (6) La bassa ventilazione e lo scarso ricircolo dell'aria in ambienti chiusi sono inoltre risultati avere un ruolo importante nella diffusione aerea di SARS-Cov1 anche nelle cabine degli aerei. I passeggeri sintomatici, durante il volo, rilascerebbero i *droplet* contenenti il virus che potrebbe raggiungere gli altri passeggeri tramite l'aerosol. (7)

Un altro punto importante è capire la stabilità del virus anche sulle superfici e in una recente analisi proposta su *The New England Journal of Medicine*, il virus **SARS-CoV-2** ha rivelato una stabilità in aerosol e sulle superfici non diversa da quella di SARS-CoV-1. (3) Le superfici analizzate sono state *plastica, acciaio inossidabile, rame e cartone*. Si è osservato che CoVid-19 persiste più a lungo su plastica (fino a 72 ore) e acciaio, meno su rame e cartone. Nell'aerosol, CoVid-19 rimane per 3 ore riducendo lentamente la capacità infettiva. L'emivita di SARS-CoV-2 e Cov-1 è simile nell'aerosol, con una media di circa 1.1 – 1.2 ore. Entrambi i virus persistono quindi per giorni sulle superfici e ore in aerosol.

Numerosi studi hanno, inoltre, messo in evidenza un'associazione tra le infezioni di SARS-CoV-1 e *la ventilazione negli edifici*, come nel caso di altri virus (morbillo, influenza aviaria). Una bassa velocità di ventilazione aumenterebbe la probabilità di diffusione dei virus attraverso l'aria, la quale circola da un ambiente all'altro con flusso turbolento favorendo l'instaurarsi di microambienti ove i patogeni proliferano. La distanza a cui viaggiano i virus trasportati dall'aerosol dipende quindi dal *design* degli edifici in cui circolano. (4) Una analisi della *trasmissione indoor* dei virus è stata realizzata, tra l'altro, durante l'epidemia di SARS-CoV-1. Lo studio ha mostrato come i *droplet* inizino a evaporare dopo il rilascio e possano diminuire in grandezza e dimensione al punto di circolare nell'aria. (5) *Il sistema di ventilazione e la trasmissione aerea* del virus sono stati altresì analizzati all'interno di un complesso residenziale ove si è registrato un numero elevato di contagi, gli *Amoy Gardens*, a Hong Kong. (6) La bassa ventilazione e lo scarso ricircolo dell'aria in ambienti chiusi sono inoltre risultati avere un ruolo importante nella diffusione aerea di SARS-Cov1 anche nelle cabine degli aerei. I passeggeri sintomatici, durante il volo, rilascerebbero i *droplets* contenenti il virus che potrebbe raggiungere gli altri passeggeri tramite l'aerosol.

SARS-CoV-1 e CoVid19 rivelano dunque simili modalità di trasmissione e persistenza nell'aria, con possibilità di trasporto a distanze maggiori rispetto a quelle osservate nel contagio da contatto ravvicinato.

Il Particolato Atmosferico (PM) nell'aerosol: la definizione e i rischi per la salute

Il PM, Particulate Matter, indica l'insieme di particelle disperse nell'aria per un tempo sufficiente a causarne diffusione e trasporto (*Environmental Protection Agency, USA*). Tali particelle, di varie fonti e composizione, vengono classificate in PM10, PM2,5, e UFP (polveri ultrafini), in relazione al loro diametro (rispettivamente inferiore a 10, a 2,5, a 0,1 micrometri). Le particelle fini, in quanto microscopiche, sono soggette a inalazione involontaria da parte di coloro che vivono in aree inquinate, con conseguenti danni alla salute umana. Soprattutto le sub-micromiche sono in grado di penetrare profondamente nei polmoni fino agli alveoli polmonari raggiungendo da lì il circolo sanguigno e quindi i vari organi e apparati. La loro tossicità è aumentata dalla capacità di assorbire altri contaminanti come gli IPA (idrocarburi policiclici aromatici) e i metalli pesanti. Diversi

studi attribuiscono al PM numerose patologie soprattutto a carico dell'apparato respiratorio e cardiaco con un incremento delle morti premature e dei ricoveri. L'Organizzazione Mondiale della Sanità ha stimato che la sovraesposizione al **PM** causa circa **4,2 milioni di morti l'anno in tutto il mondo** (8), e ha recentemente classificato il particolato atmosferico, riferito all'inquinamento esterno, come **inquinante cancerogeno per l'uomo**. Il principale bersaglio sono i bambini per una serie di fattori, immaturità dei sistemi di detossificazione e immunitario e gli alti tassi di inalazione. E' stata dimostrata una correlazione tra l'esposizione a PM e malattie neurodegenerative, disturbi del neuro-sviluppo, patologie metaboliche e neoplastiche. Le nano-particelle possono addirittura entrare nel nucleo cellulare e arrecare danni epigenetici. Il rischio maggiore riguarda le grandi aree urbane del mondo ove l'antropizzazione dei territori è elevata e gli individui sono maggiormente esposti a particolato (PM10 e PM2,5), ozono e biossido di azoto (NO2). **L'inquinamento indoor**, principalmente nelle grandi aree urbane, merita altresì considerazione, soprattutto per quanto riguarda le polveri ultra fini fortemente rappresentate negli ambienti confinati e il tempo di esposizione prolungato. I nostri bambini passano l'80 % del loro tempo prevalentemente in casa, oggi ancor più di prima in considerazione della pandemia COVID-19.

G2.Il Particolato Atmosferico (PM) nell'aerosol: *Il ruolo nella trasmissione virale*

L'aria è dunque un veicolo mediante il quale gli agenti microbici possono muoversi nell'ambiente. Frammenti vegetali e cellulari, batteri e virus, parassiti, spore e funghi possono comporre il *bioaerosol*. (9). Il particolato atmosferico potrebbe agire come *carrier*, vettore di trasporto, per molti virus, ma non solo, potrebbe potenziarne la diffusione nell'aerosol creando un *microambiente* adatto alla loro persistenza. (10) e l'inalazione del particolato fine (quello di dimensioni inferiori a 2,5 micron, PM2,5 e UFP) all'interno dei polmoni, veicolando il virus in profondità, permettendo lo sviluppo e causare infezioni.

I microrganismi associati alle particelle inquinanti (PM10 e PM2,5) possono quindi venire inalati. Un'analisi metagenomica della composizione di organismi presenti tra gli inquinanti dell'aria – condotta a Pechino (Cina) in un periodo con livello di smog elevato – ha identificato le sequenze di diversi patogeni anche virali (0,1%, sia in PM10 che in PM2,5), registrando l'aumento della quantità di patogeni nelle vie respiratorie all'aumentare della concentrazione degli inquinanti. (11) **La correlazione** positiva tra concentrazione di PM e diffusione dei virus è stata osservata anche nel caso del morbillo in Cina. L'analisi delle concentrazioni di PM2,5 in 21 città cinesi ha dimostrato una correlazione positiva con il numero di casi giornalieri di morbillo in ciascuna città, riscontrando un aumento significativo di incidenza della malattia in caso di incremento di PM2,5 pari a 10µg/m3, favorito dalle condizioni climatiche. (12) **Una simile analisi** dei dati della diffusione del virus sinciziale respiratorio (RSV) in Cina nel 2015 mostra la stessa correlazione. Il virus RSV nei bambini causa danni ai polmoni e bronchiti ed è stata osservata una correlazione positiva tra il virus e la concentrazione di PM. L'inquinamento aumenta il rischio di infezione di RSV.

Negli Stati Uniti, in un recentissimo studio, è stata raggiunta un'evidenza statisticamente significativa sulla relazione tra l'esposizione a lungo termine a PM2,5 e tassi di mortalità al COVID-19. I ricercatori, applicando un modello statistico (corretto per i confondenti), hanno associato a un

aumento di 1 µg /m³ di esposizione a lungo termine a PM_{2,5}, un aumento del 15% del tasso di mortalità da COVID-19. (13) **I risultati di questo articolo** suggeriscono che l'esposizione a lungo termine all'inquinamento atmosferico aumenta la vulnerabilità al verificarsi dei più gravi risultati COVID-19. Questi risultati sono in linea con la relazione nota tra l'esposizione a PM_{2,5} e molte delle comorbidità, cardiovascolari e respiratorie, che aumentano notevolmente il rischio di morte nei pazienti COVID-19. (14)

A sostegno che il PM potrebbe aumentare la veicolazione di CoVid19, Setti e coautori hanno rilevato che nel PM₁₀ campionato a Bergamo, durante il primo *lockdown*, era presente l'RNA di CoVid-19 dimostrando che questo virus può essere presente sul particolato atmosferico quando questo è in alte concentrazioni e in condizioni definite di stabilità atmosferica. Questa prima prova aprirebbe la possibilità di testare la presenza del virus nel PM come *indicatore* per rilevarne precocemente la ricomparsa e poter così adottare adeguate misure preventive. (15-16). L'individuazione del virus sulle polveri potrebbe inoltre diventare un buon marker per verificarne la diffusione negli ambienti indoor come ospedali, uffici e locali aperti al pubblico. Appare sempre più chiaro che le goccioline di saliva potenzialmente infette possono raggiungere distanze anche di 7 o 10 metri, imponendoci quindi di utilizzare per precauzione le mascherine facciali in tutti gli ambienti. (17).

IL Particolato Atmosferico e la trasmissione di SARS-CoV-2 :*la Lombardia la regione d'Italia più colpita*

Già un'analisi ARPA (Agenzia Regionale Protezione Ambiente) svolta in Lombardia nel 2018 associava i ricoveri e il numero di nuovi casi di RSV alla concentrazione di PM₁₀. I risultati di questa analisi avevano evidenziato che nel periodo designato il numero più elevato di ricoveri in ospedale avveniva a Milano, città che aveva raggiunto la concentrazione massima di PM₁₀. (18). **La position paper di SIMA** attribuirebbe all'inquinamento atmosferico la maggiore incidenza di COVID-19 in questa regione. Il PM funzionerebbe da carrier favorendo la diffusione del virus in un territorio quale quello dell'area della Pianura Padana dove la percentuale di polveri sottili è la più alta d'Italia così come si è verificato nella città di Wuhan (Hubei, Cina), in occasione del primo focolaio. (10). A rafforzare la posizione c'è l'osservazione che **Bergamo, Brescia e Milano**, le città italiane che hanno registrato il maggior numero di infetti, durante i mesi di gennaio e febbraio 2020 hanno presentato concentrazioni superiori alla media annua consentita di PM₁₀ e PM_{2,5}. Ma la correlazione positiva tra inquinamento in Lombardia ed esplosione dell'epidemia potrebbe essere anche dovuta ad un'altra motivazione. **È noto infatti** – da dati *in vitro*, *in-vivo* e da studi epidemiologici su popolazioni – che un'esposizione duratura ad agenti inquinanti dispersi nell'aria induce a livello delle cellule polmonari uno stato di infiammazione cronica. (19, 20, 21, 22, 24, 25, 26)

IL Particolato Atmosferico PM e il danno alle cellule polmonari :*stress ossidativo e infiammazione, sistema immunitario, azione tossica diretta.*

Numerosi studi epidemiologici hanno ipotizzato come l'esposizione agli agenti inquinanti possa aumentare la suscettibilità e la gravità delle malattie associate al virus in particolare quelle respiratorie, con un aumento del tasso di mortalità. Come già visto, il PM ha dimensioni ridotte e per questo può essere inalato e l'inalazione ripetuta di queste particelle può causare danni per la salute a livello polmonare. L'esposizione al particolato duratura nel tempo può indurre danni

sistemici. (19). **Le cellule del tratto respiratorio** sono il primo *target* del particolato, ma anche il primo target dei virus respiratori. L'esposizione delle cellule polmonari al PM può causare: **stress ossidativo**, con stimolo alla produzione di radicali liberi che inducono danni all'interno delle cellule, e **infiammazione** cellulare, a seguito di attivazione della risposta immunitaria indotta da PM. **Un recente studio** (Zerboni et al., 2019) analizza l'effetto di diversi particolati derivanti dagli scarichi diesel, *in-vitro*, su cellule polmonari e vascolari. L'analisi mette in luce l'aumento di ROS, specie reattive dell'ossigeno che rappresentano *marker* dello stress ossidativo. (19). **Il particolato derivante dal diesel** (DEP) contiene molti ossidi dei metalli tossici per l'uomo. Un'analisi sulle cellule polmonari A549 ha dimostrato un aumento significativo di IL8, interleuchina, utilizzata come indicatore della risposta pro-infiammatoria a seguito dell'esposizione agli agenti inquinanti. (21)

L'esposizione agli agenti inquinanti altera altresì la risposta immunitaria delle cellule in particolare polmonari sia modulando la risposta antivirale dei macrofagi. (21) che inducendo un aumento dello stress ossidativo e infiammatorio. Questa condizione delle cellule facilita l'attacco dei virus e aumenta la gravità delle infezioni virali nei soggetti esposti al particolato atmosferico. Con il duplice effetto di ridurre la risposta immunitaria sia al virus, sia al PM10. Come si è riscontrato nei casi di infiammazioni delle vie respiratorie da virus sinciziale (RSV), causa frequente di polmonite virale in neonati e anziani, in episodi di alto inquinamento da PM10. (22)

Il PM10 esplica inoltre un'*azione tossica diretta* sul parenchima polmonare. L'analisi sul contenuto del BALBf (fluido derivante dal lavaggio broncoalveolare di topo) ha evidenziato un incremento dei *marker* che indicano la citotossicità. Il PM contiene poi metalli con effetto citotossico molto elevato sulle cellule. Oltre a indurre infiammazione e stress ossidativo. Si osserva così un aumento importante di alcune proteine (HO-1 e Hsp70), le quali indicano la reazione delle cellule polmonari allo stress ossidativo. (24, 25)

Che messaggi possiamo portare a casa da questa sequenza di documenti ?

I numerosi lavori scientifici riportati in questa disamina sul temasupportano l'ipotesi che vi sia una correlazione fra inquinamento atmosferico e diffusione di COVID-19 anche se finora non è stata dimostrata una relazione diretta con la pandemia in corso. Gli studi scientifici vanno completati, perché correlazione non significa incontrovertibile causalità.

Lo scenario drammatico di questa pandemia ci deve, però, far riflettere sull'importanza del rispetto dell'ambiente in cui viviamo. Stravolgere l'ambiente e modificare pesantemente la biodiversità può favorire il passaggio di virus all'uomo e facilitare l'insorgenza di zoonosi emergenti anche nel prossimo futuro.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Wang Zhou. *The Coronavirus prevention handbook: 101 science-based tips that could save your life.* 2020; ISBN13: 9781510762411
- (2) Chen PS, Tsai FT, Lin CK, et al. *Ambient influenza and avian influenza virus during dust storm days and background days.* Environ Health Perspect. 2010;118 (9):1211–1216. doi:10.1289/ehp.0901782
- (3) Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, et al. *Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1.* N Engl J Med. 2020;10.1056/NEJMc2004973. doi:10.1056/NEJMc2004973. Per una analisi comparata di SARS-COV-2 e altre epidemie si veda:

- Koubaa A. *Understanding the COVID19 Outbreak: A Comparative Data Analytics and Study*. 2020. arXiv:2003.14150 [q-bio.PE].
- (4) Editorial COVID-19 transmission—up in the air *Lancet Infect Dis* 2020; published online Sept 20. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30678-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30678-2)
 - (5) Li Y, Leung GM, Tang JW, et al. *Role of ventilation in airborne transmission of infectious agents in the built environment – a multidisciplinary systematic review*. *Indoor Air*. 2007; 17 (1):2–18. doi:10.1111/j.1600-0668.2006.00445.x. Si veda anche Qian H, Zheng X. *Ventilation control for airborne transmission of human exhaled bio-aerosols in buildings*. *J Thorac Dis*. 2018; 10 (Suppl 19):S2295–S2304. doi:10.21037/jtd.2018.01.24 e Taylor M. *How the HVAC Industry Is Responding to COVID-19*. *Air Conditioning, Heating & Refrigeration News*; Troy, Vol. 269, Fasc.8. (Mar 23, 2020): 1,24-25.
 - (6) Li Y, Huang X, Yu IT, Wong TW, Qian H. *Role of air distribution in SARS transmission during the largest nosocomial outbreak in Hong Kong*. *Indoor Air*. 2005;15(2):83–95. doi:10.1111/j.1600-0668.2004.00317.x
 - (7) Olsen SJ, Chang HL, Cheung TY, et al. *Transmission of the severe acute respiratory syndrome on aircraft*. *N Engl J Med*. 2003; 349(25):2416–2422. doi:10.1056/NEJMoa031349
 - (8) WHO, W.H.O. Mortality and burden of disease from ambient air pollution: Situation and trends. 2014.
 - (9) Bonadonna Lucia, Briancesco Rossella, Brunetto Barbara, Coccia Annamaria, Gironimo Vincenzo, Libera Simonetta, Fuselli Sergio, Gucci Paola, Iacovacci Patrizia, Lacchetti Ines, Rosa Giuseppina, Meloni Pierluigi, Paradiso Rosa, Pini Carlo, Semproni Maurizio. *Strategie di monitoraggio dell'inquinamento di origine biologica dell'aria in ambiente indoor*. 2013.
 - (10) SIMA (2020). *Relazione circa l'effetto dell'inquinamento da particolato atmosferico e la diffusione di virus nella popolazione. Position Paper*. SIMA, Società Italiana Medici Ambientali). Si veda anche Sedlmaier N, Hoppenheidt K, Krist H, Lehmann S, Lang H, Büttner M. *Generation of avian influenza virus (AIV) contaminated fecal fine particulate matter (PM(2.5)): genome and infectivity detection and calculation of immission*. *Vet Microbiol*. 2009; 139(1-2):156–164. doi:10.1016/j.vetmic.2009.05.005 e Despres V.R., et al., *Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review*. 2012. *Tellus B*, 64, 15598. Per una revisione della letteratura scientifica sui potenziali effetti del PM sulla diffusione, fisiopatologia e prognosi delle infezioni respiratorie virali correlate a Covid-19, si veda Re S., Facchini A. *Potential effects of airborne particulate matter on spreading, pathophysiology and prognosis of a viral respiratory infection*, E&P Repository repo.epiprev.it/688. 2020.
 - (11) Cao C, Jiang W, Wang B, et al. *Inhalable microorganisms in Beijing's PM2.5 and PM10 pollutants during a severe smog event*. *Environ Sci Technol*. 2014; 48(3):1499–1507. doi:10.1021/es4048472
 - (12) Chen G, Zhang W, Li S, et al. *Is short-term exposure to ambient fine particles associated with measles incidence in China? A multi-city study*. *Environ Res*. 2017;156:306–311. doi:10.1016/j.envres.2017.03.046. Su diffusione dell'influenza stagionale e particolato fine si veda anche Chen G, Zhang W, Li S, et al. *The impact of ambient fine particles on influenza transmission and the modification effects of temperature in China: A multi-city study*. *Environ Int*. 2017;98:82–88. doi:10.1016/j.envint.2016.10.004
 - (13) Wu X, Nethery R. C., Sabath M. B., Braun D., Dominici F. *Air pollution and COVID-19 mortality in the United States: Strengths and limitations of an ecological regression analysis* *Sci. Adv*. 2020; 6 : eabd4049 2020
 - (14) Ciencewicky J, Jaspers I. *Air pollution and respiratory viral infection*. *Inhal Toxicol*. 2007;19(14):1135–1146. doi:10.1080/08958370701665434. Per gli effetti sulla qualità dell'aria derivanti dalle misure

introdotte per fermare il dilagare del Covid-19, si veda <https://www.eea.europa.eu/themes/air/air-quality-and-covid19>.

- (15) Leonardo Setti, Fabrizio Passarini, Gianluigi De Gennaro, Pierluigi Barbieri, Sabina Licen, Maria Grazia Perrone, Andrea Piazzalunga, Massimo Borelli, Jolanda Palmisani, Alessia Di Gilio, Emanuele Rizzo, Annamaria Colao, Prisco Piscitelli, Alessandro Miani. Potential role of particulate matter in the spreading of COVID-19 in Northern Italy: first observational study based on initial epidemic diffusion *BMJ Open*. 2020 10(9): e039338. doi: 10.1136/bmjopen-2020-039338.
- (16) Leonardo Setti, Fabrizio Passarini, Gianluigi De Gennaro, Pierluigi Barbieri, Maria Grazia Perrone, Massimo Borelli, Jolanda Palmisani, Alessia Di Gilio, Valentina Torboli, Francesco Fontana, Libera Clemente, Alberto Pallavicini, Maurizio Ruscio, Prisco Piscitelli, Alessandro Miani SARS-Cov-2RNA found on particulate matter of Bergamo in Northern Italy: First evidence *Environmental Research* 188 (2020) 109754 /doi.org/10.1016/j.envres.2020.109754
- (17) Leonardi Setti, Fabrizio Passarini, Gianluigi De Gennaro, Pierluigi Barbieri, Maria Grazia Perrone, Massimo Borrelli, Jolanda Palmisani, Alessia Di Gilio, Prisco Piscitelli, Alessandro Miani. Airborne Transmission Route of COVID-19: Why 2 Meters/6 Feet of Inter-Personal Distance Could Not Be Enough. *Int.J. Environ. Res. Public Health* 2020, 17,2932 www.mdpi.com/1660-4601/17/8/2932
- (18) Carugno M, Dentali F, Mathieu G, et al. *PM10 exposure is associated with increased hospitalizations for respiratory syncytial virus bronchiolitis among infants in Lombardy, Italy*. *Environ Res*. 2018;166:452–457. doi:10.1016/j.envres.2018.06.016
- (19) Bengalli R, Zerboni A, Marchetti S, et al. *In vitro pulmonary and vascular effects induced by different diesel exhaust particles*. *Toxicol Lett*. 2019; 306:13–24. doi:10.1016/j.toxlet.2019.01.017
- (20) Zerboni A, Bengalli R, Baeri G, Fiandra L, Catelani T, Mantecca P. *Mixture Effects of Diesel Exhaust and Metal Oxide Nanoparticles in Human Lung A549 Cells*. *Nanomaterials (Basel)*. 2019;9(9):1302. doi:10.3390/nano9091302
- (21) Kaan PM, Hegele RG. *Interaction between respiratory syncytial virus and particulate matter in guinea pig alveolar macrophages*. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2003;28(6):697–704. doi:10.1165/rcmb.2002-0115OC
- (22) Becker S, Soukup JM. *Exposure to urban air particulates alters the macrophage-mediated inflammatory response to respiratory viral infection*. *J Toxicol Environ Health A*. 1999;57(7):445–457. doi:10.1080/009841099157539
- (23) Mantecca, P., Gualtieri, M., Longhin, E., Bestetti, G., Palestini, P., Bolzacchini, E., & Camatini, M. (2012). *Adverse biological effects of Milan urban PM looking for suitable molecular markers of exposure*. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 18(4-2), 635-641. <https://doi.org/10.2298/CICEQ120206114M>
- (24) Farina F, Sancini G, Battaglia C, et al. *Milano summer particulate matter (PM10) triggers lung inflammation and extra pulmonary adverse events in mice*. *PLoS One*. 2013;8(2): e56636. doi:10.1371/journal.pone.0056636
- (25) Farina F, Sancini G, Longhin E, Mantecca P, Camatini M, Palestini P. *Milan PM1 induces adverse effects on mice lungs and cardiovascular system*. *Biomed Res Int*. 2013;2013:583513. doi:10.1155/2013/583513
- (26) Sancini G, Farina F, Battaglia C, et al. *Health risk assessment for air pollutants: alterations in lung and cardiac gene expression in mice exposed to Milano winter fine particulate matter (PM2.5)*. *PLoS One*. 2014;9(10): e109685. Published 2014 Oct 8. doi:10.1371/journal.pone.0109685

(Ultimo aggiornamento 13 novembre 2020)

H. Quali problematiche dalla misura dell'isolamento sociale da SARS-CoV-2 per i nostri bambini? (E. Farris, P. Gallo)

Secondo il monitoraggio dell'UNESCO più di 160 paesi nel mondo hanno implementato misure di contenimento in corso di Pandemia da virus SARS-CoV-2. Nell'ambito delle misure di contenimento, la chiusura di scuole e Università ha determinato un impatto su circa l'87% della popolazione mondiale di studenti pari a 890 milioni di allievi che non hanno potuto seguire le lezioni a scuola e all'Università. Ci sono evidenze che dimostrano come un bambino di una scuola primaria possa avere una media di 500 contatti scolastici al giorno, mentre un adolescente può avere una media di 300 contatti al giorno [EURO SURVEILL APR 2020]. Per questi motivi evidenze scientifiche indicano la chiusura delle scuole come una delle iniziative per evitare il propagarsi dell'infezione in corso di pandemia (WHO 2009). Non è però una misura che possa essere protratta per lungo tempo. La chiusura finisce con l'avere un impatto sull'educazione dei bambini, sui sistemi sanitari, sul sistema economico se un ampio numero di forze lavoro resta a casa a badare ai propri figli, sui redditi delle famiglie, sulle politiche sociali e sulla probabilità che i bambini si introducano in comportamenti rischiosi se lasciati incustoditi a casa.



(Immagine da Focus.it)

Evidenze suggeriscono che quando i bambini non vanno a scuola sono meno attivi fisicamente, trascorrono troppo tempo davanti ai digital screens (cellulare, tablet, computer), manifestano pattern di sonno irregolari, seguono diete che svantaggiano il peso e che poi risultano in eccessi ponderali e peggioramento della fitness cardiorespiratoria. Questi effetti negativi sulla salute peggiorano molto quando il confinamento a casa li priva delle loro solite attività e delle interazioni con i loro amici. Ancora più importante è l'impatto psicologico.

Il cambiamento improvviso degli stili di vita ed il vivere quotidianamente solo la realtà domestica possono provocare disturbi comportamentali in bambini e adolescenti e problemi di disagio psicologico sono destinati ad emergere non solo per chi è stato toccato da vicino o in prima persona, ma anche per le persone non direttamente interessate dall'infezione che rischiano di accusare gli effetti della solitudine, dell'interruzione di attività basilari, come quelle scolastiche, e della convivenza forzata in contesti familiari instabili e violenti con relativo aumento del rischio, particolarmente per i bambini, di abusi, negligenza, violenza, sfruttamento,

disagio psicologico e conseguente impatto negativo sullo sviluppo. Certamente l'aumento di episodi di violenza domestica è uno degli aspetti del lockdown che più si temono: violenza di genere, abusi e negligenze, causate dalle restrizioni alla possibilità di movimento, della perdita di reddito, dell'isolamento, del sovraffollamento in casa, dello stress e dell'ansia, tutte condizioni che espongono donne e bambini a un rischio sproporzionato. Precedenti epidemie, come l'epidemia di malattie da virus Ebola nell'Africa occidentale e i focolai di colera e di malattia da virus Zika, hanno portato un aumento della violenza domestica (Lancet Public Health 2020).

Altro aspetto è la sicurezza alimentare, che potrebbe essere, in molti casi aggravata dalla chiusura delle scuole. Per molti studenti che vivono in povertà, le scuole non sono solo un luogo di apprendimento, ma anche il luogo nel quale ci si può alimentare in modo sano. In alcuni studi il pranzo scolastico è associato a miglioramenti nelle prestazioni scolastiche, mentre diete irregolari o non sane sono associate a scarsi risultati educativi e a rischi sostanziali per la salute fisica e il benessere mentale dei bambini (Policy Anal Manage 2019). Il numero di bambini che affrontano l'insicurezza alimentare è considerevole. Secondo Eurostat, il 6,6% delle famiglie con figli nell'Unione europea (5,5% nel Regno Unito) non può permettersi un pasto con carne, pesce o un equivalente vegetariano ogni giorno. Stime comparabili negli Stati Uniti suggeriscono che il 14% delle famiglie con bambini ha avuto insicurezza alimentare nel 2018 (Annu Rev Resour Economics 2019).

I genitori possono involontariamente trasmettere la loro ansia ai figli suscitando in essi un disagio che si esprime in modo diverso a seconda dell'età. Ad esempio, i bambini piccoli possono manifestare irrequietezza, difficoltà nell'alimentazione, difficoltà di addormentamento, agitazione e frequenti risvegli nel sonno; i più grandi, oltre ad avere essi stessi uno stato di ansia, possono avere pianto immotivato, paura del futuro o paure che prima non avevano mai manifestato, tristezza, un sintomo regressivo di richiesta di vicinanza fisica ai genitori durante la notte, un ritorno dell'enuresi notturna. Gli adolescenti tendono di più invece all'isolamento dal resto della famiglia e vivono in questo caso la frustrazione di chi ha perso i propri spazi.

Lo stress prolungato, la paura dell'infezione, frustrazione e noia, informazioni inadeguate, mancanza di interazione con i compagni di classe, con gli amici, gli insegnanti , la perdita dei propri spazi a casa e le perdite economiche della famiglia possono essere ulteriori problemi ed indurre effetti negativi su bambini e adolescenti (Thelancet.com Wang 2020). Alcuni ricercatori hanno ipotizzato effetti a lungo termine, anche successivi alla sospensione del periodo di isolamento sociale. In questo contesto si è aggiunta **l'ansia da prestazione dell'e-learning**.

L'insegnamento on line è diventata una nuova routine per bambini, adolescenti e docenti ma ha portato con sé non pochi problemi. La scuola al tempo del Coronavirus ha dalla sua parte le potenzialità della tecnologia, ma deve, purtroppo, fare i conti con un sistema scolastico che solo a tratti ha potuto e saputo sfruttare i potenti mezzi del web per sopperire alla chiusura delle scuole. Si è preteso che l' insegnamento on line diventasse troppo velocemente routinario per bambini, adolescenti e docenti ma non tutti gli studenti hanno accesso a questo tipo di educazione se si considerano le inegualità sociali presenti in molte nazioni. (UNESCO, 2020; FVG, 2020).

Indagini effettuate sull'utilizzo dell'insegnamento on line (TALS/ *Teaching and Learning International Survey 2018*) hanno evidenziato le difficoltà riscontrate dal 40,7% degli studenti nell'utilizzo della didattica a distanza. Questa percentuale così elevata è determinata per lo più dalle poche indicazioni chiare che hanno ricevuto le scuole nel gestire questa situazione emergenziale. Infatti, ad es., in molti casi docenti diversi di uno stesso consiglio di classe utilizzano strumenti e piattaforme web differenti con i propri studenti. La maggioranza degli studenti e delle studentesse ritiene che l'insegnamento a distanza sia accessibile come modalità didattica (79,4%) ma esiste un 12,3% di studenti che non la ritengono accessibile, in quanto non dispongono dei medesimi strumenti tecnologici e hanno problematiche connesse all'accessibilità alla rete Wi-Fi. Un dato che emerge in maniera netta è la mancanza di informazione che gli studenti hanno ricevuto finora per quanto riguarda lo svolgimento dei PCTO (vecchia alternanza scuola lavoro), delle prove Invalsi e di eventuali modalità di recupero delle ore (solo il 5% è stata informata).

È dunque anche per una mancanza di gestione uniforme delle lezioni on line che ancora oggi per uno studente su quattro non sono ancora chiare le modalità della didattica a distanza. Dall'altro lato, a distanza di due mesi dall'inizio dell'emergenza, la percentuale di studenti che stanno svolgendo lezioni da casa per tutte le materie non è ancora il 100%. Percentuale per nulla scontata considerando che le scuole non erano preparate ad affrontare un'emergenza di tali dimensioni. La chiusura anticipata delle scuole e l'attivazione di una didattica a distanza che non raggiunge tutti i bambini, rischia di lasciare indietro centinaia di migliaia di studenti che non hanno accesso agli strumenti necessari per seguire le lezioni e i compiti on-line.

Il rientro a scuola è fondamentale per i bambini e ragazzi, soprattutto per coloro che vivono in nuclei familiari non in grado di farsi carico, da soli, dei bisogni e dello sviluppo educativo dei bambini. C'è il rischio concreto che una protratta assenza dalle aule scolastiche si possa tradurre per questi ragazzi in demotivazione e senso di isolamento, fino a portarli ad un prematuro abbandono della scuola, situazione in cui versa attualmente già il 14% dei ragazzi italiani. Il rientro al lavoro, con le scuole ancora chiuse, può mettere in seria difficoltà i genitori, soprattutto i nuclei monoparentali, e in modo diverso quelli dove entrambi i genitori lavorano. Le madri lavoratrici, in particolare, che in Italia rappresentano all'incirca il 6% della popolazione, per farsi carico del lavoro di cura, potrebbero rischiare di perdere o dover rinunciare al proprio impiego. Altro anello debole sono i genitori single, tra questi la grande maggioranza è rappresentata da donne. Indispensabile dunque adottare misure di conciliazione per scongiurare la perdita e la rinuncia del lavoro femminile.

In attuazione al Piano socioeconomico legato all'emergenza, è stato approvato in Campania l'avviso regionale per la concessione di un bonus a chi ha figli di età inferiore ai 15 anni, destinato all'acquisto di strumenti informatici per l'accesso ai servizi didattici e spese di babysitting. Il contributo era pari a:

- 500 euro per nucleo familiare con ISEE fino a 20 mila euro;
- 300 euro per nucleo familiare con ISEE fino a 35 mila euro.

Il bando (<https://conlefamiglie.regione.campania.it/>), valido dal 27 Aprile al 7 Maggio 2020 ha dato opportunità a molte famiglie di un contributo per l'acquisto di un computer, fondamentale per l'apprendimento a distanza (molti ragazzi seguono le lezioni sul cellulare). Sono arrivate 250.000 richieste di contributo.

In contemporanea è stata prorogata fino a Giugno 2020 l'iniziativa "IO STUDIO" anno 2018/2019 del Ministero dell'Istruzione per il contrasto alla dispersione scolastica e il potenziamento del Diritto allo Studio, dedicata agli studenti delle scuole secondarie di secondo grado con reddito basso. Gli studenti beneficiari sono individuati dalle rispettive Regioni tramite apposito Bando o anche sulla base di graduatorie già esistenti e finalizzate all'erogazione dei benefici.

Bibliografia

1. Brooks SK, Smith LE, Webster RK, Weston D, Woodland L, Hall I, et al. The impact of unplanned school closure on children's social contact: rapid evidence review. *Euro Surveill.* 2020;25(13):2000188. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.13.2000188> PMID: 32265006
2. Sante Publique France. Infection au nouveau Coronavirus (SARS-CoV-2), COVID-19, France et Monde. [Infections with novel coronavirus (SARS-CoV-2), COVID-19, France and worldwide].
3. Stehlé J, Voirin N, Barrat A, Cattuto C, Isella L, Pinton JF, et al. High-resolution measurements of face-to-face contact patterns in a primary school. *PLoS One.* 2011;6(8):e23176. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023176> PMID: 21858018
4. Conlan AJ, Eames KT, Gage JA, von Kirchbach JC, Ross JV, Saenz RA, et al. Measuring social networks in British primary schools through scientific engagement. *Proc Biol Sci.* 2011;278(1711):1467-75. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010> PMID: 21047859
5. Impacts of COVID-19 on vulnerable children in temporary accommodation in the UK. 2020 *TheLancet.com*
6. Gemmetto V, Barrat A, Cattuto C. Mitigation of infectious disease at school: targeted class closure vs school closure. *BMC Infect Dis.* 2014;14(1):695. <https://doi.org/10.1186/s12879-014-0695-9> PMID: 25595123

SCHEDA SORVEGLIANZA SINTOMI PSICOLOGICI E PSICOSOMATICI IN CORSO DI CORONAVIRUS												<i>a cura Centro Studi Scientifico FIMP Napoli</i>				
ASL		Comune														
N.scheda		ID (Identific.)					Cognome - Nome			M / F		Data nascita				
Sintomi	Data inizio sintomi	1° SETT	2° SETT	3° SETT	4° SETT	5° SETT	6° SETT	7° SETT	8° SETT	9° SETT	10° SETT	11° SETT	12° SETT	13° SETT	14° SETT	
TACHICARDIA																
PRECORDIALGIE																
DISTURBO D'ANSIA																
DISTURBI DELL' ADDORMENTO																
IPERATTIVITA'																
ECESSO DI ALIMENTAZ.																
STIPSI																
DISTURBI DELLA MINIZIONE																
EPIGASTRALGIA																
DISTURBI OCULARI																
RIMOZIONE DI VISSUTO																
ENURESI																
NOIA																
PERDITA DI CAPELLI																
ISOLAMENTO																
CEFALEA																
PIANTO FREQUENTE																
FORFORA																
LETTO MAMMA E PAPA'																
ISOLAMENTO																
PAURA DI USCIRE																
DOLORI ADDOMINALI																

(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

I. Flow Charts di orientamento diagnostico e terapeutico (C. Apicella, L. Cioffi, R. de Franchis, A. Fontanella, N. Gasparini)

Proposta di strumento di lavoro per il Pediatra di Famiglia in assenza di letteratura e di linee guida terapeutiche

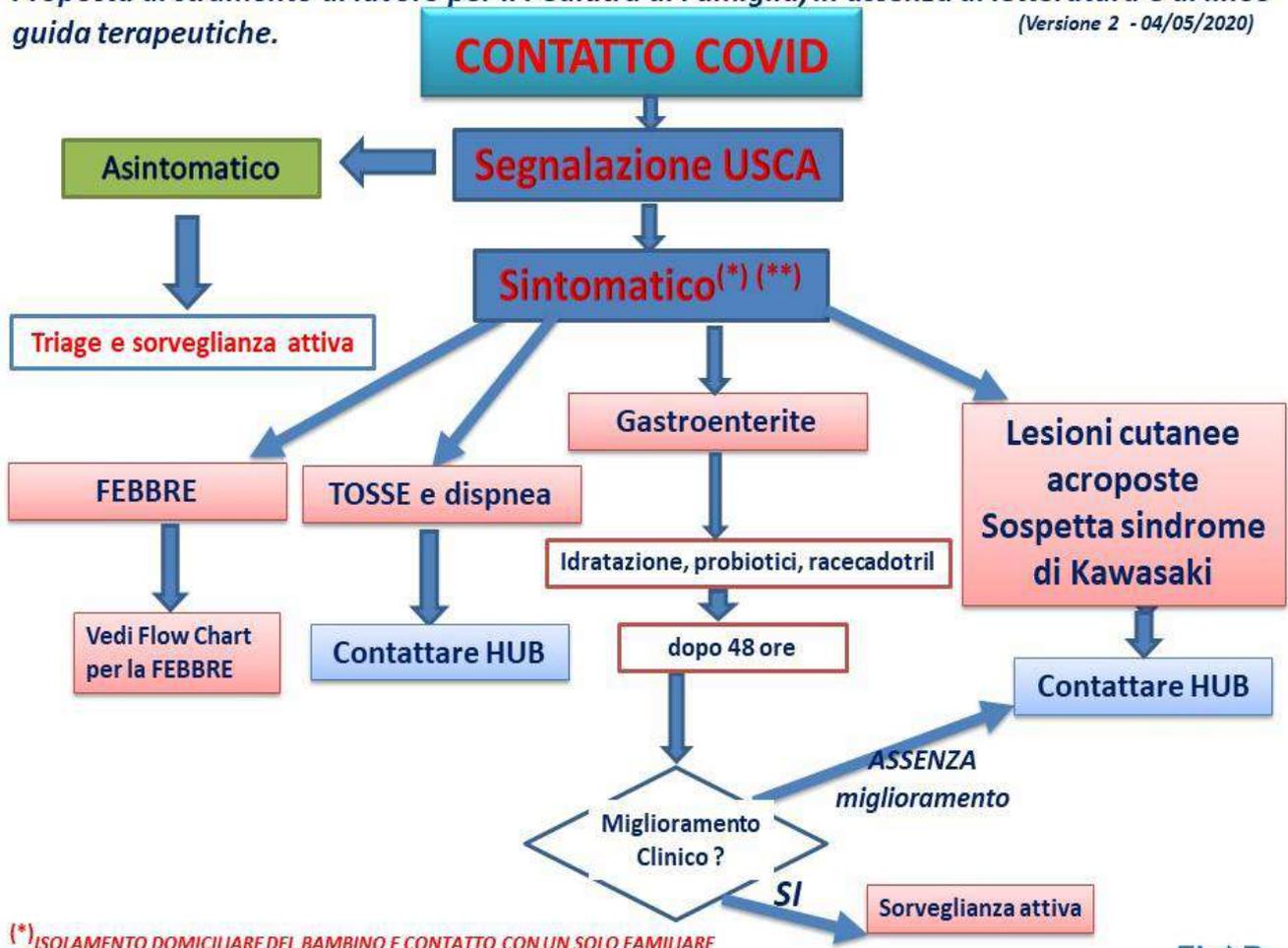
(Versione 2 – 04/05/2020)



Proposta di strumento di lavoro per il Pediatra di Famiglia, in assenza di letteratura e di linee guida terapeutiche



Proposta di strumento di lavoro per il Pediatra di Famiglia, in assenza di letteratura e di linee guida terapeutiche. (Versione 2 - 04/05/2020)



(*) ISOLAMENTO DOMICILIARE DEL BAMBINO E CONTATTO CON UN SOLO FAMILIARE
 (**) ETÀ INFERIORE A 3 MESI CONTATTO HUB IMMEDIATO PER VISITA O RICOVERO

J. Come possiamo formare ed informare le famiglie alla riduzione del rischio per SARS-CoV-2? (A. De Prosperis, A.E. Marigliano, S. Russo)

J1. Sarà facile il passaggio dalla Fase 1 (contenimento) alla Fase 2 (riapertura)?

Per contrastare, prevenire e ridurre la diffusione dell'epidemia da virus SARS-CoV-2 il Governo Italiano ha stabilito provvedimenti di Sanità Pubblica che hanno puntato, soprattutto nella cosiddetta *FASE 1*, al distanziamento sociale (limitazione della circolazione delle persone e di allontanamento dal proprio domicilio), e all'utilizzo di dispositivi di protezione individuale (mascherine e guanti). E' stata vietata ogni forma di assembramento, le scuole e le università sono state chiuse trasferendo la didattica su via telematica e promuovendo laddove possibile lo smartworking. Alle nostre famiglie e soprattutto ai nostri bambini è stato chiesto di restare a casa aumentando rispetto al passato il loro tempo di permanenza in un ambiente quale quello domestico che può comunque nascondere dei rischi per la salute e potenziare se non vengono adottate determinate misure di sicurezza il contagio COVID-19. Guardando in prospettiva, a breve il Paese si avvierà cautamente sulla strada della ripartenza, verso la cosiddetta *FASE 2*. Riapriranno in parte le attività commerciali, si potrà nuovamente muoversi liberamente, per lo meno nell'ambito regionale, verranno ridimensionate le norme di contenimento. Questo non vorrà dire che il pericolo è passato, sarà comunque necessario continuare a mantenere un atteggiamento di prudenza ma ancor più di organizzazione e rispetto delle regole. Al momento non è dimostrato che la trasmissione di COVID-19 derivi direttamente dal contatto con oggetti di uso comune sui quali il virus si depositerebbe, esistono però evidenze che virus appartenenti allo stesso gruppo (coronavirus, il virus della SARS e il virus della MERS) possono persistere su superfici inanimate fino a 9 giorni in funzione del materiale su cui si vengono a trovare, della quantità di fluido biologico, della concentrazione virale iniziale, della temperatura dell'aria e dell'umidità relativa, anche se non è stata dimostrata la loro capacità infettiva. Uno studio recente (1) ha dimostrato che il virus SARS-CoV-2 (responsabile della pandemia COVID-19), è rimasto vitale negli aerosol per tutta la durata dell'esperimento (3 ore), con una riduzione al 50% della dose infettante per litro di aria. Questa riduzione era simile a quella osservata con SARS-CoV-1. Inoltre, i ricercatori hanno sistemato una quantità nota di virus su diverse tipologie di superfici (rame, plastica, cartone, acciaio inossidabile) e successivamente hanno verificato il variare della capacità infettante del virus con il trascorrere delle ore, per 7 giorni. Hanno utilizzato condizioni ambientali simili a quelle di una normale abitazione (21-23° di T e 40% di umidità). La vitalità più lunga di entrambi i virus (SARS-CoV-2 e SARS-CoV-1) è stata osservata su acciaio inossidabile e plastica; l'emivita media stimata di SARS-CoV-2 era di circa 5,6 ore su acciaio inossidabile e 6,8 ore su plastica. Gli autori ritengono possibile la trasmissione in aerosol di SARS-CoV-2, poiché il virus può rimanere vitale e infettivo per ore e su superfici fino a giorni. Sembra quindi possibile che il virus SARS-CoV-2 si possa diffondere e contagiare anche per via aerea ma i

dati scientifici sono pochi e andrebbero ulteriormente confermati. Si riconosce inoltre al Particolato (PM) la capacità di veicolare particelle biologiche o pseudobiologiche e quindi anche i virus, ma sebbene non sia ancora possibile attribuire alla contaminazione ambientale la maggiore diffusione del virus, va detto che le alte concentrazioni di Particolato (PM) aumentano la suscettibilità a malattie respiratorie e cardiovascolari ulteriore fattore di rischio per l'infezione da COVID-19 (2).

Da quanto detto appare chiaro come sia importante informare le famiglie sui comportamenti da adottare a tutela e prevenzione della salute di adulti e bambini al fine di continuare a ridurre al minimo il rischio di contagio da COVID-19.

J2. NORME COMPORTAMENTALI E STRATEGIE D'INTERVENTO AL FINE DI MIGLIORARE LA QUALITA' DELL' ARIA IN CASA E PREVENIRE IL RISCHIO CONTAGIO COVID-19

Garantire un buon ricambio dell'aria in tutti gli ambienti domestici, in maniera naturale, aprendo le finestre e i balconi con maggiore frequenza (almeno 3 volte al giorno), in considerazione del fatto che alcuni ambienti sono diventate delle "nuove" postazioni di lavoro e di studio. L'aria esterna opera una sostituzione e un rinnovo di quella interna e una diluizione/riduzione delle concentrazioni di specifici inquinanti

Aprire, finestre e balconi che si affacciano sulle strade meno trafficate (anche in questo momento in cui il livello del traffico è molto basso) e durante i periodi di minore passaggio di mezzi o lasciarle aperte laddove possibile la notte.

Negli ambienti/locali senza finestre (es. ripostigli, bagni, ecc.), ma dotati di ventilatori/estrattori questi devono essere mantenuti in funzione per tutto il tempo di permanenza per ridurre le concentrazioni delle varie sostanze nell'aria.

Nel caso in cui l'abitazione sia dotata di un impianto centralizzato di riscaldamento è opportuno mantenere idonee condizioni microclimatiche, evitare l'aria troppo secca e non dimenticare di mantenere un certo grado di umidità relativa (usualmente in un ambiente *indoor* domestico l'umidità relativa varia dal 30% al 70%). I filtri dell'aria di ricircolo in dotazione all'impianto vanno puliti regolarmente, in base alle indicazioni fornite dal produttore. La polvere catturata dai filtri rappresenta un ambiente favorevole alla proliferazione di batteri e funghi, e comunque di agenti biologici.

Evitare di utilizzare e spruzzare prodotti per la pulizia detergenti/disinfettanti spray direttamente sul filtro per non inalare sostanze inquinanti (es. COV), durante il funzionamento pulire regolarmente le prese e le griglie di ventilazione con panni in microfibra inumiditi con acqua e sapone, oppure con alcool etilico al 75% asciugando successivamente.

Leggere attentamente le etichette e le istruzioni d'uso prima di utilizzare qualsiasi prodotto. L'errato utilizzo o diluizione di un prodotto può ridurre l'efficacia della pulizia o portare a risultati finali inattesi. Inoltre l'uso eccessivo e ripetuto può causare irritazione delle vie respiratorie rendendole più vulnerabili a batteri e virus.

È importante controllare i simboli di pericolo sulle etichette. Scegliere, se possibile, prodotti senza profumazione/fragranze e senza allergeni: **il pulito non ha odore.** Non miscelare i prodotti di pulizia, in particolare quelli contenenti ipoclorito di sodio, come la candeggina, con ammoniaca, o altre sostanze acide, ad esempio aceto, e non aggiungere ammoniaca ad anticalcare/disincrostanti.

Molti dei comuni prodotti utilizzati per la pulizia della casa se usati correttamente possono inattivare il virus SARS- CoV-2.

- **Una particolare attenzione deve essere posta alle superfici toccate più frequentemente:** porte, maniglie delle porte, finestre, tavoli, interruttori della luce, servizi igienici, rubinetti, lavandini, scrivanie, sedie, telefoni cellulari, tastiera, telecomandi e stampanti. Utilizzare panni in microfibra inumiditi con acqua e sapone e/o con alcool etilico al 75% o con una soluzione di ipoclorito di sodio diluita allo 0,5% di cloro attivo per i servizi igienici e le altre superfici (es. la candeggina sul mercato è generalmente al 5% o al 10% di contenuto di cloro), e allo 0,1% di cloro attivo per tutte le altre superfici da pulire, tenendo in considerazione la compatibilità con il materiale da detergere, l'uso e l'ambiente.
- **I detergenti a base di cloro non possono essere utilizzabili su tutti i materiali;** i materiali compatibili con il loro uso sono il polivinilcloruro (PVC), il polietilene (PE), il polipropilene (PP), il poliacetale, il polioossimetilene (POM), il Buna-Gomma di nitrile, il poliestere bisfenolico, la fibra di vetro, il politetrafluoroetilene (teflon®), il silicone (SI), l' Acrilonitrile Butadiene Stirene (ABS), il policarbonato (PC), il polisulfone, l'acciaio inossidabile (o *inox*), il titanio, mentre acciaio basso-legato, poliuretano, ferro e metalli in genere non sono compatibili.
- **Tutti i prodotti vanno usati con estrema cautela, indossando sempre i guanti** ed evitando di creare schizzi e spruzzi. Quando i materiali o gli arredi non possono essere lavati (es. tappeti, moquette e materassi), utilizzare per la pulizia elettrodomestici che non comportino la diffusione di schizzi e spruzzi caldi durante la pulizia (es. a vapore) che potrebbero aerosolizzare nell'aria eventuali sostanze tossiche, allergeni e microrganismi patogeni.
- **Arieggiare le stanze/ambienti sia durante che dopo l'uso dei prodotti per la pulizia,** soprattutto se si utilizzano intensamente prodotti disinfettanti/detergenti che presentino sull'etichetta simboli di pericolo.
- **Assicurarsi che tutti i prodotti di pulizia siano tenuti fuori dalla portata dei bambini, dei ragazzi e degli animali da compagnia.**
- **Evitare profumatori ambientali di qualsiasi tipo. Non servono per purificare l'aria.**

J3. Norme comportamentali da seguire per l'uscita di casa e l'ingresso in casa al fine di ridurre il rischio contagio COVID-19

QUANDO ESCI DI CASA

- 1) Usa una mascherina di protezione che accolga naso, bocca e mento, indossa una giacca a maniche lunghe, raccogli i capelli e non utilizzare monili.
- 2) Se possibile non usare i mezzi pubblici, vai a piedi o utilizza la bicicletta o la tua automobile.
- 3) Cerca di non pagare in moneta contante, se utilizzi la moneta disinfetta poi le mani.
- 4) Quando tocchi superfici a rischio di contagio usa dei guanti monouso, o lavale subito dopo, o utilizza un gel disinfettante. Non toccarti il viso finché non hai le mani pulite.
- 5) Mantieni la distanza di almeno 1 metro dalle persone e rispetta le norme in vigore per l'accesso nei luoghi pubblici (ingresso scaglionato e o per appuntamento).
- 6) Saluta senza dare la mano o comunque senza toccare le persone.
- 7) Se tossisci e starnutisci usa un fazzoletto che accartoccerai e getterai in un secchio chiuso della spazzatura, in alternativa utilizza la piega del gomito.
- 8) Se presenti sintomi influenzali con tosse e raffreddore "resta a casa".
- 9) Se esci con il tuo animale domestico non permettergli di sfregarsi sulle superfici esterne.

QUANDO RIENTRI IN CASA

- 1) Cambiati le scarpe sempre prima di entrare in casa.
- 2) Lascia la borsa, il portafoglio e le chiavi in una scatola all'ingresso.
- 3) Lava bene tutte le aree esposte (mani, polsi, viso, collo).
- 4) Pulisci con un panno morbido imbevuto di acqua e candeggina le superfici di ciò che hai portato da fuori prima di riporle.
- 5) Lava il telefono e gli occhiali con acqua e sapone o alcool. Non condividere il tuo telefono con gli altri.
- 6) Disinfetta opportunamente le zampe del tuo animale domestico.
- 7) Pulisci le ruote del passeggino e quelle della bicicletta e /o monopattino.
- 8) Ricorda che non è possibile effettuare una disinfezione totale, ma l'obiettivo è ridurre il rischio.

RACCOMANDAZIONI PER IL TUO BAMBINO:

1. Quando esce di casa:
 - se ha più 2 anni mettilgli la mascherina;
 - se ha meno di 2 anni puoi utilizzare uno schermo facciale (a norma di legge appena disponibili) o evita il contatto con persone a rischio.
2. Insegnagli a lavare le mani correttamente prima e dopo essere andato in bagno e aver soffiato il naso, prima di mangiare e soprattutto quando rientra in casa, dopo il gioco e lo svolgimento dei compiti (computer, telefonino).
3. Insegnagli a tossire in maniera corretta coprendo con il gomito bocca e naso in assenza di fazzoletto e a mantenere l'igiene del naso.
4. Insegnagli che non deve bere dalla bottiglia e dai bicchieri degli altri e non si deve portare

- oggetti di nessun tipo alla bocca (matita, penna, telecomandi, ect).
5. Per quanto riguarda i giochi e le attività all'aperto cerca di preferire quelli che prevedono distanza, con rispetto delle regole (andare in bicicletta, sui pattini e ripristinare i vecchi giochi da cortile (campana, nascondino). Per i giochi di squadra limitarsi ai passaggi con la palla e ai tiri in porta o al canestro.

Norme comportamentali per l'accesso allo studio medico

Come si potrà accedere agli studi medici durante la FASE 2 dell'infezione COVID-19: ***A protezione di tutti gli assistiti, lo studio seguirà una sua organizzazione necessaria ed essenziale alla tutela della salute anche in considerazione del periodo pandemico***

- 1) Non è possibile accedere autonomamente allo studio. Il protocollo emergenza pandemica a protezione dei pazienti prevede di gestire le problematiche mediche minori, laddove possibile, con consulenze telefoniche e videochiamate al fine di ridurre gli spostamenti e i contatti.
- 2) Le visite saranno effettuate esclusivamente su prenotazione che deve avvenire mediante messaggio o telefonata, negli orari dichiarati dello studio. Il medico deciderà la programmazione dopo un attento triage telefonico.
- 3) I pazienti che hanno bisogno di prescrizioni di ricette per farmaci o visite specialistiche o indagini non dovranno accedere allo studio ma contatteranno il medico o la segreteria per l'invio informatico della ricetta o in altro modo concordato.
- 4) L'accesso in studio della visita programmata sarà consentito ad una sola persona che accompagna il bambino.
- 5) Le persone che accedono allo studio dovranno indossare mascherine e guanti.
- 6) La condivisione delle regole ci permetterà di affrontare nella maniera più ottimale questo momento difficile che ha coinvolto il mondo intero. Collaboriamo tutti con serietà e senza inutili ansie, tenendo presente che la leggerezza di un individuo può innescare una grave malattia in un altro.

(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

K. Prevenzione per gli operatori sanitari: DPI (Dispositivi di Protezione Individuale) e sanificazione degli ambulatori (R.Buonavolontà, F. Carlomagno)

Per dispositivo di protezione individuale (DPI) si intende qualsiasi attrezzatura destinata ad essere indossata e tenuta dal lavoratore allo scopo di proteggerlo contro uno o più rischi presenti nell'attività lavorativa, suscettibili di minacciarne la sicurezza o la salute durante il lavoro, nonché ogni complemento o accessorio destinato a tale scopo.

I DPI devono essere prescritti solo quando non sia possibile attuare misure di prevenzione dei rischi (riduzione dei rischi alla fonte, sostituzione di agenti pericolosi con altri meno pericolosi, utilizzo limitato degli stessi), adottare mezzi di protezione collettiva, metodi o procedimenti di riorganizzazione del lavoro.

Il lavoratore è obbligato a utilizzare correttamente tali dispositivi, ad averne cura e a non apportarvi modifiche, segnalando difetti o inconvenienti specifici. Per alcuni DPI è fatto obbligo di sottoporsi a programmi di formazione e di addestramento.

L'art. 76 del D.Lgs. n. 81/08 indica le caratteristiche che devono avere i DPI per poter essere utilizzati:

- devono essere adeguati ai rischi da prevenire e alla loro entità senza comportare di per sé un rischio maggiore
- devono essere adeguati alle condizioni esistenti sul luogo di lavoro
- devono essere rispondenti alle esigenze ergonomiche o di salute del lavoratore
- devono poter essere adattabili all'utilizzatore secondo le sue necessità
- devono essere in possesso dei requisiti essenziali intrinseci di sicurezza, cioè essere conformi alle norme di cui al D.Lgs. 4 dicembre 1992, n. 475 (marcatura CE) e sue successive modificazioni

I DPI sono classificati in base alle parti del corpo che devono proteggere (allegato VIII del D.Lgs. n. 81/08):

- dispositivi di protezione della testa
- dispositivi di protezione dell'udito
- dispositivi di protezione degli occhi e del viso
- dispositivi di protezione delle vie respiratorie
- dispositivi di protezione delle mani e delle braccia
- dispositivi di protezione dei piedi e delle gambe
- dispositivi di protezione della pelle
- dispositivi di protezione del tronco e dell'addome
- dispositivi di protezione dell'intero corpo
- indumenti di protezione

Requisiti dei DPI – art 76 D.Lgs 81/08

adeguati alle condizioni esistenti sul luogo di lavoro

- adeguati all'ambiente in cui vengono utilizzati, in relazione a: microclima, rumore, visibilità, condizioni atmosferiche (in esterno) etc..

tenere conto delle esigenze ergonomiche o di salute del lavoratore

- Possono causare allergie?
- Sono pesanti da indossare-portare? (MMC)
- Possono non essere confortevoli? (ergonomia)

Prima di indossare i DPI è consigliabile rimuovere gli oggetti personali (anelli, orologi, etc.).

Vestizione

1. **Praticare l'igiene delle mani con acqua e sapone o soluzione alcolica**
2. **indossare un primo paio di guanti**
3. **indossare eventuale divisa d'ambulatorio**
4. **indossare il camice monouso**
5. **indossare calzari monouso o idonee calzature**
6. **se capelli lunghi indossare cuffietta**
7. **indossare idoneo filtrante facciale FFP2/FFP3**
8. **indossare un secondo paio di guanti**
9. **indossare schermo facciale o se non disponibile occhiali di protezione**

Caratteristiche dei materiali filtranti:

- 1) Le **mascherine chirurgiche** sono dispositivi di protezione individuale e sono di 4 tipi: I, IR, II, IIR con protezione crescente in base agli strati filtranti e la conseguente filtrazione batterica (98% per il IIR), non sono idonee per l'ambiente medico, se sono disponibili filtranti FFP2/FFP3.
Proteggono da schizzi e particelle visibili di secrezioni respiratorie e nasali, ma non dall'aerosol virale vero e proprio; andrebbero sostituite ogni 2-3 ore perché allorquando esse si inumidiscono perdono di efficacia, oppure dopo ogni paziente febbrile e/o con sintomatologia respiratoria.
- 2) Il **respiratore con filtrante facciale** è l'unico tipo di DPI che può proteggere anche dal virus e va indossato dopo aver lavato accuratamente le mani e adattandolo al naso con attenzione, assicurandosi che aderisca al viso.

L'efficacia filtrante viene indicata con sigle FF da P1 a P3: FFP1 indica un'efficacia filtrante minima contro le particelle solide del 78% circa, FFP2 un'efficacia minima del 92% contro le particelle solide e liquide, che arriva al 98% per il tipo FFP3.

Per la protezione dai virus sono indicati i tipi FFP2 ed FFP3 oppure rispettivamente N95 ed N99 per la classificazione americana.

Questi DPI vanno sostituiti dopo 8 ore, in teoria mai riutilizzati (parleremo in seguito delle possibilità di sanificazione dei materiali filtranti) e smaltiti dopo l'uso (specie se c'è sospetto di contaminazione) con i rifiuti speciali.

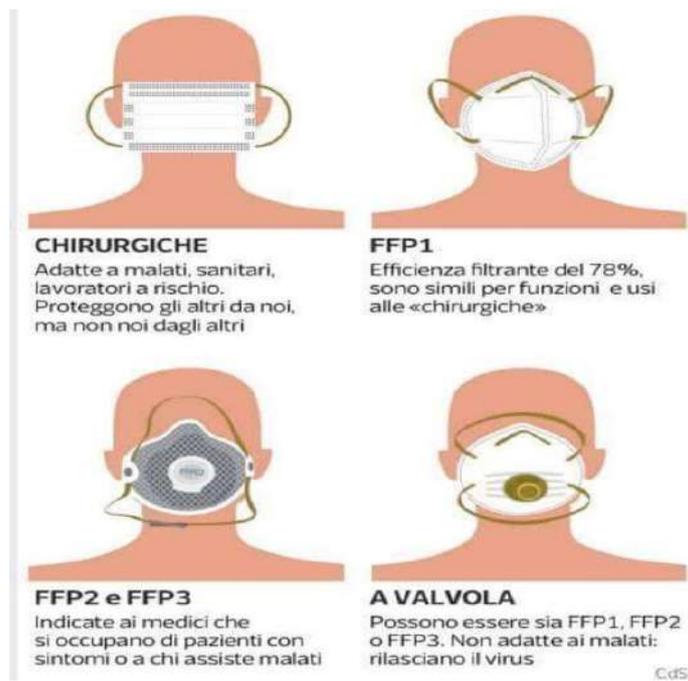
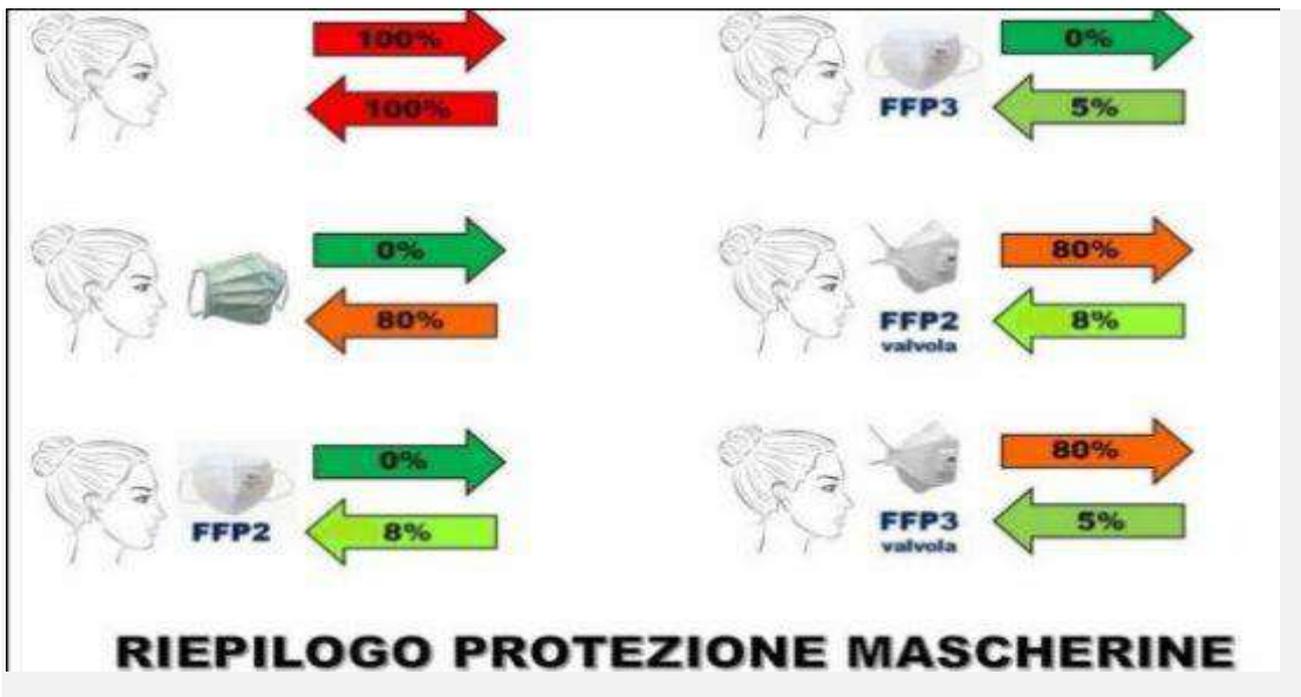
Devono aderire bene al volto quindi la barba folta non è compatibile con questo tipo di mascherine.

L'OMS raccomanda l'uso del filtrante facciale FFP2 quando si effettuano procedure che generano droplets ed, in generale, sarebbero le migliori da usare durante l'attività ambulatoriale.

Per proteggersi dalle secrezioni respiratorie infette o in caso di sospetto clinico è consigliabile utilizzare maschere filtranti FFP3. Le mascherine FFP2/FFP3 (O N95/N99) con valvola favoriscono la respirazione **dell'operatore e sarebbero da preferire in caso di utilizzo prolungato per molte ore, ma hanno lo svantaggio di essere controindicate in chi è infetto perché in questo caso sarebbe possibile una diffusione del virus (agevolato dalla valvola che ha un flusso monodirezionale in uscita)**. Sarebbe, pertanto, corretto suggerire ai nostri pazienti di non utilizzare mascherine dotate di valvola e in caso di utilizzo da parte di operatori sanitari di DPI con valvola di coprire la mascherina FFP2/3 con mascherina chirurgica.



<u>Tipo di maschera</u> (sistema classificativo americano)	<u>Efficacia filtrazione</u>	<u>Tipo di maschera</u> (sistema classificativo europeo)
N95	≥95%	FFP2
N99	≥99%	FFP3



Procedure di rimozione

I dispositivi vanno rimossi in maniera da minimizzare il rischio di contaminazione. Evitare il contatto con una mascherina supposta infetta e con la superficie delle mani nude o viso. I DPI vanno smaltiti con i rifiuti speciali.

Qualora si abbiano DPI riutilizzabili, decontaminarli, utilizzando detergenti spray a base di detergenti antibatterici, quali ipoclorito di sodio o salviettine con lo stesso principio attivo.

Sequenza:

- 1. disinfettare i guanti con soluzione alcolica**
- 2. rimuovere il camice monouso e smaltirlo nei rifiuti speciali;**
- 3. rimuovere la cuffietta**
- 4. rimuovere la maschera dal lato esterno, sfilandola utilizzando gli elastici, senza mai toccarne la superficie esterna e smaltirla nei rifiuti speciali**
- 5. lavare le mani accuratamente**
- 6. rimuovere i guanti e smaltirli; sostituirli con guanti puliti in caso di proseguimento dell'attività ambulatoriale. Se i guanti indossati hanno polsini lunghi, sfilare il camice continuando con i polsini dall'interno, evitando il contatto con le parti esposte**
- 7. rimuovere e sanificare gli occhiali o lo schermo facciale**
- 8. se idonee calzature sanificare con soluzione alcolica al 70% o con salviette all' ipoclorito di sodio oppure sfilare i calzari**
- 9. rimuovere il secondo paio di guanti**
- 10. igienizzare le mani con soluzione alcolica o acqua e sapone**

Come si indossano le mascherine



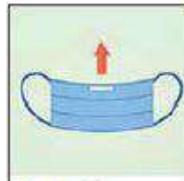
Step 1:

Lavati le mani con gel alcolico o con acqua e sapone prima di toccare la mascherina



Step 2:

Controlla che la mascherina non sia rotta o che abbia buchi



Step 3:

Distendi la mascherina e tieni la parte più rigida in alto e la parte colorata verso l'esterno



Step 4:

Tieni la mascherina per gli elastici e agganciali dietro le orecchie



Step 5:

Assicurati che la mascherina copra il naso e la bocca e che aderisca bene al viso e sotto il mento



Step 6:

Sagoma bene il bordo superiore lungo i lati del naso verso le guance

Come si tolgono le mascherine



Step 1:

Lavati le mani con gel alcolico o con acqua e sapone prima di toccare la mascherina



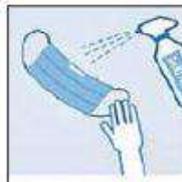
Step 2:

Evita di toccare la mascherina che potrebbe essere contaminata



Step 3:

Tieni la mascherina per gli elastici sui bordi e sganciala da dietro le orecchie



Step 4:

Sanifica la mascherina spruzzandola con una soluzione alcolica se devi riutilizzarla



Step 5:

Getta la mascherina nel cestino dei rifiuti se è danneggiata o se ne usi una nuova. Non disperderla nell'ambiente



Step 6:

Lavati le mani con gel alcolico o con acqua e sapone dopo aver toccato la mascherina

Sanificazione mascherine

Qualora si rendesse necessario il riutilizzo dei DPI, si è dimostrato di discreta utilità l'utilizzo dei raggi UV, considerando però che l'efficienza del potere filtrante della mascherina si potrebbe ridurre. Non è risultato, invece, utile sanificare le mascherine con alcol al 75%, per la quasi totale inattivazione del tessuto filtrante.

Can Facial Masks be Disinfected for Re-use?
(Measurement results by 4C Air Inc.)

Samples	Meltblown fiber filtration media		Static-charged cotton		E. Coli. Disinfection Efficiency
	Filtration efficiency (%)	Pressure drop (Pa)	Filtration efficiency (%)	Pressure drop (Pa)	
70°C hot air in oven, 30min	96.60	8.00	70.16	4.67	>99%
UV light, 30min	95.50	7.00	77.72	6.00	>99%
75% alcohol, soaking and drying	56.33	7.67	29.24	5.33	>99%
Chlorine-based disinfection, 5min	73.11	9.00	57.33	7.00	>99%
Hot water vapor from boiling water, 10min	94.74	8.00	77.65	7.00	>99%
Initial samples before treatment	96.76	8.33	78.01	5.33	

Conclusions: **DO NOT use alcohol and chlorine-based disinfection methods.** These will remove the static charge in the microfibers in N95 facial masks, reducing filtration efficiency. In addition, chlorine also retains gas after de-contamination and these fumes may be harmful.

Table 2: Data supplied courtesy of [Professor Yi Cui](#) | Materials Science and Engineering, Stanford University and [Professor Steven Chu](#) | Physics and Molecular & Cellular Physiology, Stanford University on behalf of 4C Air Incorporated.

Ambienti sanitari

La sala d’attesa e l’ambulatorio dovranno essere sanificati una volta al giorno o più frequentemente in caso di spandimenti evidenti. Vanno sanificate le superfici a maggiore frequenza di contatto da parte del paziente (sedie, maniglie delle porte, interruttori, scrivanie, etc...) e le zone dedicate alla vestizione/svestizione dei DPI da parte degli operatori. Per la decontaminazione ambientale è necessario utilizzare attrezzature dedicate o monouso. Le attrezzature riutilizzabili devono essere decontaminate dopo l’uso con un disinfettante a base di cloro. Il personale addetto alla sanificazione deve essere formato e dotato dei DPI previsti: mascherina chirurgica e guanti monouso.

Disinfettare periodicamente i condizionatori con appositi gel igienizzanti.

Se la sala d’attesa lo permette organizzare con separatori vie di ingresso ed uscita.

Per completezza inseriamo la revisione 28 marzo 2020 dell’ ISS, riguardo l’utilizzo delle mascherine in regime di attività ambulatoriale considerando che queste valutazioni potrebbero valere allo stato attuale, ma risultare superate in futuro.

Organizzazione dell'attività ambulatoriale quotidiana

“Nonostante tutto ciò che è stato detto in precedenza l'ISS raccomanda l'uso della mascherina chirurgica in caso di attività ambulatoriale rivolta a paziente senza sintomi respiratori o febbrile,

come da schema allegato, per cui sarebbe auspicabile per ridurre il consumo improprio ed eccessivo di DPI e prevenire la loro carenza che si considerasse di raggruppare le attività e pianificare le stesse per quanto possibile in base alle caratteristiche del paziente (neonato sano/controllo crescita di bimbo sano vs paziente febbrile o con sintomi respiratori e/o esecuzione di tampone faringeo etc...). Tale riorganizzazione dell'attività giornaliera potrebbe minimizzare il consumo di DPI e le procedure di vestizione/vestizione.

(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

Smaltimento DPI

(Integrazione 27 maggio 2020)

La necessità di direttive condivise per lo smaltimento dei dispositivi di protezione individuale dagli ambulatori è previsto e tutelato dalla normativa europea di catalogazione dei rifiuti come **specifica tipologia di rifiuto** che viene prodotto principalmente **nelle strutture ospedaliere e sanitarie o nelle cliniche mediche**, e integralmente condiviso dalle disposizioni di legge italiane.

Nulla cambia durante la pandemia COVID-19, ma è utile osservare da parte del Pls e della ditta affidataria della raccolta, alcune precauzioni per aumentare la sicurezza sanitaria.

AMBULATORI

Parliamo di: RIFIUTI DI CLASSE CER 180103

**CER
180103** rifiuti che devono essere raccolti e smaltiti applicando precauzioni particolari per evitare infezioni

Sono i rifiuti per i quali abbiamo (o dovremmo avere) contratto di smaltimento e per i quali è prevista a carico delle ditte specializzate la **termodispersione in sicurezza**, per le quali la normativa è standardizzata e normata.

Per quanto ci riguarda quindi lo smaltimento si esegue in regime di sicurezza, aggiungendo eventualmente alcuni accorgimenti:

-in caso di DPI sospetto (per contatto familiare o presenza di sintomatologia) separare con busta dedicata contrassegnata nel contenitore per rifiuti e cospargere con ipoclorito di sodio alla percentuale dell' 0,1%.

-contattare la ditta di smaltimento per concordare un prelievo supplementare o definire il prelievo successivo.

-alcune ditte di smaltimento rifiuti consegnano i contenitori di raccolta pretrattati con ipoclorito di sodio (opinabile per l' effetto temporaneo del trattamento), e utilizzano all' atto della chiusura una disinfezione finale sempre con ipoclorito.

Veniamo alla regolamentazione per lo smaltimento per la popolazione dei DPI utilizzati (mascherine e guanti)
Le mascherine vanno smaltite nell' indifferenziato fino a nuove disposizioni.

SMALTIMENTO DEI GUANTI IN AMBIENTE LAICO, UN NUOVO PROBLEMA?

In commercio esistono tre tipi **guanti**.

-in lattice, sostanza biodegradabile, solo in apparenza simile alla plastica, proveniente dagli alberi della gomma.

-in nitrile, una gomma sintetica molto elastica.

-in vinile, praticamente plastica, visto che sono a base di polivinilcloruro (Pvc) e sono considerati i più resistenti. Mentre nei primi due casi (lattice e nitrile) i guanti vanno nell'indifferenziata, che viene sottoposta a termodispersione e quindi sicura per eventuale rischio biologico, nel terzo caso (il vinile) devono essere smaltiti nei contenitori destinati ai rifiuti di plastica.

Si pone quindi il problema non ancora normato, dello smaltimento del guanto in vinile, che se inserito nella catena della plastica rientrerebbe nel riciclo della stessa, considerando però che le alte temperature utilizzate nel procedimento sono in grado di inattivare i virus. (Rimane il problema dello stoccaggio dei rifiuti in plastica in attesa di riciclo). A tale proposito il Governo ha provveduto con la disposizione emanata dal Ministero dell' ambiente e della tutela del territorio e del mare in data 30/03/2020

Oggetto: Circolare ministeriale recante “Criticità nella gestione dei rifiuti per effetto dell’Emergenza COVID-19 – indicazioni.”,

referita ai canoni di sicurezza da utilizzare per la raccolta dei rifiuti cittadini ed il loro stoccaggio, nella quale è interessante rilevare: **la necessità di individuare centri di stoccaggio e di incenerimento e la precauzione di operare disinfezione dei rifiuti sospetti.**

Tabella riepilogativa DPI

DPI	SMALTIMENTO SANITARIO	SMALTIMENTO CIVILE	NOTE SMALTIM. CIVILE
MASCHERINA CHIRURGICA	RIFIUTI SPECIALI	COMPARTO INDIFFERENZIATO	
FFP2-FFP3	RIFIUTI SPECIALI	COMPARTO INDIFFERENZIATO	UTILIZZO NON PREVISTO
CAMICE MONOUSO	RIFIUTI SPECIALI	COMPARTO INDIFFERENZIATO	
GUANTO VINILE	RIFIUTI SPECIALI	COMPARTO PLASTICA	UTILE DISINFEZIONE
ALTRO GUANTO	RIFIUTI SPECIALI	COMPARTO INDIFFERENZIATA	

FONTI

-Regolamento (UE) n. 1357/2014 della Commissione, del 18 dicembre 2014 per la gestione dei rifiuti

-Gazzetta Ufficiale 15 febbraio 1997, n. 38 e successive modifiche

I bambini e le mascherine protettive

(Integrazione 30 maggio 2020)

Dai due anni risulta estremamente complicato mantenere un'igiene della mascherina. Il contatto con le mani dei bambini e a loro volta le mani con giocattoli o altri oggetti fa sì che la mascherina resti sterile per ben poco tempo. Inoltre trovare sul mercato mascherine idonee ai profili del viso per età risulta complicato ed rischia di essere una procedura inefficace. Le mascherine efficaci sono quelle che sostituiscono al cotone filtri che abbattano in buona percentuale l'ingresso di agenti infettanti. Sono definite mascherine di comunità, utili per limitare la circolazione del SARS-CoV-2. (DPCM 26 aprile 2020). I lavori presenti in letteratura hanno poche casistiche e comunque non su soggetti pediatrici nei quali la mascherina viene toccata molto più che nel soggetto adulto.

Come da disposizione ministeriale, quindi, mascherina dai 6 anni in poi, e solo nel soggetto collaborante. Infatti in un soggetto con cronicità psichiche o neurologiche, o comunque non collaborante, è un presidio di difficile utilizzo. Le mascherine con filtro tipo chirurgico sono dispositivi di protezione individuale più efficaci della mascherina di comunità, utili per le uscite in ambienti laici (non a rischio), In caso di frequentazione di ambienti medici il paziente pediatrico dovrebbe indossare la chirurgica della quale esistono 4 tipi: I, IR, II, IIR con protezione crescente in base agli strati filtranti e la conseguente filtrazione batterica (98% per il IIR). Lo stesso non si può dire per le mascherine in cotone, la cui filtrazione al momento non è valutabile in percentuale di filtrazione.

Le mascherine, in base al **DPCM del 26 Aprile** scorso sono divenute obbligatorie negli spazi confinati o all'aperto in cui non è possibile o garantita la possibilità di mantenere il distanziamento fisico.

In questo caso, in base al **comma 2 dell'articolo 3** dello stesso DPCM, "possono essere utilizzate mascherine di comunità, ovvero mascherine monouso o mascherine lavabili, anche auto-prodotte, in materiali multistrato idonei a fornire un'adeguata barriera e, al contempo, che garantiscano comfort e respirabilità, forma e aderenza adeguate che permettano di coprire dal mento al di sopra del naso".

Le mascherine rappresentano una misura complementare per il contenimento della trasmissione del virus e non possono in alcun modo sostituire il distanziamento fisico, l'igiene delle mani e l'attenzione scrupolosa nel non toccare il viso, il naso, gli occhi e la bocca.

Di seguito ecco alcune FAQ sul corretto utilizzo e le funzioni delle mascherine in questa fase epidemica.

1. Che differenza c'è tra le cosiddette mascherine di comunità e le mascherine chirurgiche?

Le mascherine chirurgiche sono le mascherine a uso medico, sviluppate per essere utilizzate in ambiente sanitario e certificate in base alla loro capacità di filtraggio. Rispondono alle caratteristiche richieste dalla norma UNI EN ISO 14683-2019 e funzionano impedendo la trasmissione.

Le mascherine di comunità, come previsto dall'articolo 16 comma 2 del DL del 17 marzo 2020, hanno lo scopo di ridurre la circolazione del virus nella vita quotidiana e non sono soggette a particolari certificazioni. Non devono essere considerate né dei dispositivi medici, né dispositivi di protezione individuale, ma una misura igienica utile a ridurre la diffusione del virus SARS-CoV-2.

2. Quali sono le caratteristiche che devono avere le mascherine di comunità?

Esse devono garantire una adeguata barriera per naso e bocca, devono essere realizzate in materiali multistrato che non devono essere né tossici né allergizzanti né infiammabili e che non rendano difficoltosa la respirazione. Devono aderire al viso coprendo dal mento al naso garantendo allo stesso tempo confort.

3. La mascherina è obbligatoria anche per i bambini?

Dai sei anni in su anche i bambini devono portare la mascherina e per loro va posta attenzione alla forma evitando di usare mascherine troppo grandi e scomode per il loro viso.

4. È possibile lavare le mascherine di comunità?

È possibile lavare le mascherine di comunità se fatte con materiali che resistono al lavaggio a 60 gradi. Le mascherine di comunità commerciali sono monouso o sono lavabili se sulla confezione si riportano indicazioni che possono includere anche il numero di lavaggi consentito senza che questo diminuisca la loro performance.

5. Quali mascherine devo usare nel caso in cui compaiano sintomi di infezione respiratoria?

Nel caso in cui compaiano sintomi è necessario l'utilizzo di mascherine certificate come dispositivi medici.

6. Come smaltire le mascherine?

- Se è stata utilizzata una mascherina monouso, smaltirla con i rifiuti indifferenziati;
- se è stata indossata una mascherina riutilizzabile, metterla in una busta e seguire le regole per il suo riutilizzo dopo apposito lavaggio.

L. Metodi Di Disinfezione / Sterilizzazione (F. Carlomagno, A. D'Avino, G. Tajana)

Sanificazione

La sanificazione è l'insieme dei procedimenti atti a rendere salubri gli ambienti mediante attività di pulizia, di detergenza e di successiva disinfezione. Ad oggi non esiste una normativa specifica per gli ambienti sanitari nei quali quotidianamente operiamo. Allo stato delle conoscenze scientifiche e delle opportunità di utilizzo pratico dei presidi esistenti, per gli studi professionali dei Pediatri di Famiglia abbiamo fatto particolare riferimento alle tre recentissime fonti di seguito indicate:

- 1) Circolare Ministero della Salute n. 5443 del 22 febbraio 2020 (COVID-19: Nuove indicazioni e chiarimenti ... Pulizia in ambienti sanitari);
- 2) Rapporto ISS Covid-19 Indicazioni ad interim per la prevenzione e gestione degli ambienti indoor in relazione alla trasmissione dell'infezione da SARS-CoV-2: Versione del 23 marzo 2020;
- 3) Modelli di gestione territoriale da parte del MMG di casi sospetti o accertati di Covid-19; Gruppo di lavoro F.I.M.M.G. COVID-19 Vers. 19/4/2020.

Il corretto utilizzo dei dispositivi di protezione individuale, l'igiene e più in generale le modalità operative del Pediatra di Famiglia e del personale di studio hanno orientato i "modelli" di contenimento dell'infezione nei nostri ambienti professionali, che restano i capisaldi del nostro lavoro quotidiano e sono sviluppati in altri capitoli della guida.

Qui cercheremo di trattare quegli argomenti, ben noti a tutti i Pediatri di Famiglia, che sono parte imprescindibile della loro attività, e ci soffermeremo su quegli aspetti della sanificazione che sembrano suscettibili di sviluppi futuri.

Ventilazione

-Gli ambienti devono essere frequentemente ventilati (non meno di 2-3 volte al giorno) per tempi proporzionali al rischio di esposizione stimato (da 1 a 3 ore).

Il lavaggio delle mani

-Va eseguito per almeno due minuti, prelevando il detergente, meglio se arricchito da disinfettante, preferibilmente da distributore ad infrarossi, per non avere contatti con le superfici del contenitore.

Le procedure di sanificazione rappresentano un utile completamento della nostra attività, secondo principi di ragionevolezza e di tipologia di ambiente lavorativo. Siamo consapevoli che, a seconda del setting assistenziale, la scelta delle migliori procedure e dei prodotti utilizzati per la sanificazione sarà modificata in base alle informazioni disponibili sulla sopravvivenza del virus SARS-CoV-2 negli ambienti e sulle vie di trasmissione.

Non è ancora del tutto chiaro se esiste la possibilità che una persona possa infettarsi esclusivamente toccando superfici e/o oggetti contaminati. Alcuni studi hanno dimostrato la persistenza del virus su superfici inerti fino ad un massimo di nove giorni, ma è anche riportata la facilità con cui il virus possa essere inattivato utilizzando procedure di comune disinfezione: in primis etanolo (62-71%),

perossido d'idrogeno (0,5%) o ipoclorito di sodio (0,1%-0,5%), seguiti da cloruro di benzalconio (0,05- 0,2%) e da clorexidina gluconato (0,02%), per la minore efficacia.

Poiché non esistono linee guida italiane specifiche, con le dovute cautele legate ad un setting assistenziale diverso dal nostro si riportano di seguito due tabelle tradotte dal *Environmental Cleaning and Disinfectants for Physicians' Offices - British Columbia Centre for Disease Control (CDC)* di Vancouver, Canada: la prima con le frequenze di pulizia consigliate per gli studi medici e la seconda (modificata) con l'elenco degli agenti disinfettanti e delle loro concentrazioni efficaci contro il nuovo Coronavirus.

Frequenze di pulizia consigliate per gli studi medici	
Tipo di superficie da pulire	Frequenza
Attrezzatura condivisa Esempi: stetoscopi, polsini per la pressione sanguigna, otoscopi	Tra un paziente e l'altro
Superfici orizzontali e tattili Esempi: contatori, bilance per bambini, tavoli, lettino da visita	Dopo una persona con sintomi respiratori e almeno quotidiano
Superfici frequentemente toccate Esempi: equipaggiamento medico, pomelli per porte, interruttori della luce, telefoni, tastiere, mouse, penne, grafici, telefoni cellulari, giocattoli, bagni	Almeno 2 volte al giorno
Pulizia generale delle sale d'esame Esempi: sedie, tavoli, pavimenti	Almeno 2 volte al giorno

Elenco di agenti disinfettanti e loro concentrazioni note per essere efficaci contro coronavirus	
Agente e concentrazione	Usi
Diluizione 1: 100 Cloro: candeggina - ipoclorito di sodio (5,25%) Soluzione da 500 ppm 10 ml di candeggina a 990 ml di acqua	Utilizzato per la disinfezione di superfici e attrezzature medicali (ad es. contatori, pomoli per porte, stetoscopio, bracciale BP). Lasciare asciugare la superficie all'aria naturalmente.
Diluizione 1:50 Cloro: candeggina - ipoclorito di sodio (5,25%) Soluzione da 1.000 ppm 20 ml di candeggina a 980 ml di acqua	Utilizzato per disinfettare le superfici contaminate con fluidi corporei e rifiuti (ad es. vomito, diarrea, muco, feci) (dopo aver pulito con prima sapone e acqua). Lasciare asciugare la superficie all'aria naturalmente.

Disinfezione e Sterilizzazione

La disinfezione è un processo mediante il quale si eliminano quasi del tutto i microrganismi patogeni, mentre la Sterilizzazione determina la totale eliminazione di ogni forma di vita.

La disinfezione si realizza con mezzi chimici e mezzi fisici.

Nel caos informativo di questo periodo si è data grande importanza alla disinfezione con mezzi chimici, quando si sa che l'uso scriteriato di mezzi chimici comporta effetti collaterali (ustioni alle mani, inspirazioni di vapori ed eventuali lesioni allergiche e irritative ad occhi e mucose). La sterilizzazione per via chimica è inoltre irreversibile. Pensate soltanto alla maggior parte delle mascherine che dopo qualche ora sono un ricettacolo di germi e che non possono essere riutilizzate dopo sterilizzazione chimica.

Quali sono i mezzi chimici?

- alogeni (cloro, iodio)
- alcoli (alcol etilico, isopropilico)
- aldeidi (formaldeide, glutaraldeide)
- fenoli (ac. fenico)
- detergenti sintetici (cloruro di benzalconio, sali quaternari di ammonio)

Quali attenzioni per la disinfezione con mezzi chimici?

- Impiegare i Dispositivi di Protezione Individuale prescritti
- Mantenere le confezioni ben chiuse
- Assicurare le adatte condizioni di conservazione (temperatura, luce, ecc.)
- Schede di sicurezza sempre disponibili per pronta consultazione

Quali sono i mezzi fisici?

- calore umido (ebollizione, vapore fluente, pastorizzazione)
- calore secco
- filtrazione (filtri HEPA)
- radiazioni (raggi UV)

Ora ci soffermeremo in particolare su due metodi di sterilizzazione che potrebbero rappresentare le armi future contro l'infezione da SARS-CoV-2: il primo sfrutta le radiazioni ultraviolette ed il secondo l'ozono.

Le radiazioni ultraviolette

Le radiazioni sono una forma di energia che viene trasmessa nell'aria, sotto forma di onde elettromagnetiche. Oltre a essere presenti in natura, le radiazioni provengono anche da sorgenti artificiali. Caratteristica comune a tutti i tipi di radiazione è la cessione di energia alla materia attraversata. L'assorbimento di energia si manifesta in genere in un aumento locale di temperatura. La forma di radiazioni più familiare è la luce solare visibile, composta da radiazioni comprese

nell'intervallo delle lunghezze d'onda che vanno dall'infrarosso (più lunghe) ai raggi ultravioletti (più corte).

Come funziona la luce ultravioletta

La luce ultravioletta è una radiazione elettromagnetica con lunghezze d'onda più corte della luce visibile. L'UV può essere diviso in varie categorie, la categoria corta (UVC) è considerata "UV germicida". A certe lunghezze d'onda l'UV è dannoso per batteri, virus e altri microrganismi. Ad una lunghezza d'onda di 2537 Angstrom (254 nm) l'UV distrugge i legami molecolari del DNA dei microrganismi, producendo dimeri di timina nel loro DNA e distruggendoli, rendendoli inoffensivi o impedendone la crescita e la riproduzione.

Le lampade germicide

Le lampade germicide sfruttano il metodo di sterilizzazione detto radiazione ultravioletta germicida (UVGI). Le "lampadine" presenti in questi dispositivi emettono raggi ultravioletti UV della categoria C (per questo detti UV-C, presenti anche nella luce solare) caratterizzati da una lunghezza d'onda molto corta, solitamente circa 2537 Angstrom (254 nm). Quando i raggi ultravioletti UV-C colpiscono microrganismi quali virus o batteri, sono in grado di scatenare delle mutazioni nelle loro caratteristiche molecolari, in particolare su DNA ed RNA, uccidendo così gli agenti patogeni o rendendoli sostanzialmente innocui.

Le lampade germicide sono quindi efficaci contro il SARS-CoV-2?

Al momento non esistono studi scientifici che abbiano testato direttamente l'effetto dei raggi UV-C sul nuovo coronavirus e ne abbiano confermato con ragionevole certezza l'efficacia. Esistono però studi che hanno dimostrato l'efficacia degli UV-C su agenti patogeni molto simili al COVID-19, come ad esempio la SARS o la MERS, due tipologie di coronavirus considerate molto simili nelle loro caratteristiche al nuovo Coronavirus.

L'Ozono

Il Ministero della Salute con protocollo n. 24482 del 31 luglio 1996 ha riconosciuto l'Ozono come presidio naturale per la sanificazione degli ambienti contaminati da batteri, virus e muffe

Cos'è e come si riconosce l'Ozono?

L'ozono è un potente disinfettante naturale, raggiunge facilmente i punti più nascosti **eliminando fino al 99,98% di impurità**, inoltre grazie alla sua capacità ossidante e igienizzante, riesce a inattivare in brevissimo tempo (variabile da pochi secondi a pochi minuti) qualsiasi agente patogeno, virus, muffe, funghi e allergeni, oltre ad abbattere gli odori, anche quelli persistenti. Inoltre, è estremamente efficace anche nel **trattamento delle acque** sia potabili che di altro tipo (centri termali, piscine, spa, ecc.) purificandole da qualsiasi contaminante biologico, chimico o minerale e rendendole straordinariamente cristalline. Questo gas naturale, si dimostra **di gran lunga più efficace** di qualsiasi prodotto naturale o di sintesi usato per gli stessi scopi. I virus e i batteri, possono **essere inattivati attraverso l'ozono**, ma solo con generatori professionali in grado di produrre una saturazione minima di 1PPM ogni 15 minuti. L'ozono è una molecola costituita da tre atomi di ossigeno di formula chimica O₃. Si presenta come un gas instabile azzurrognolo, molto

reattivo dal caratteristico odore pungente: a piccole dosi prende l'odore del fieno appena tagliato, mentre in quantità elevate l'odore si avvicina a quello dell'aglio.

Come si forma in natura?

L'ozono si forma spontaneamente per effetto dei raggi ultravioletti nella stratosfera, in una fascia compresa tra i 25 e 55 Km di quota. A bassa quota sono invece rilevabili concentrazioni di ozono estremamente limitate, in quanto esso viene continuamente distrutto nel corso di reazioni con le sostanze organiche presenti. L'ozono presente nella aria, a temperatura ambiente, si scompone nuovamente in ossigeno e la velocità di scomposizione aumenta con l'aumentare della temperatura ambiente ed in presenza di umidità e sostanze organiche.

Perché ha un forte potere disinfettante e deodorante?

E' uno dei più forti ossidanti disponibile; l'effetto ossidante è in stretta relazione con la tendenza dell'ozono alla decomposizione verso la forma O₂ con liberazione di ossigeno atomico.

Dove viene normalmente impiegato?

Viene usato, oltre che in talune reazioni chimiche, soprattutto per la sua capacità di sterilizzazione dell'aria, dell'acqua e delle superfici in genere, nella disinfezione conservativa di derrate alimentari, ed in particolare per la sanificazione e deodorazione ambientale di studi medici (sale di attesa, ambulatorio) e in molte altre applicazioni non tutte elencabili.

Può essere stoccato (conservato) per un utilizzo successivo?

E' un gas fortemente instabile; per tale motivo non può essere stoccato o trasportato; ma deve essere prodotto ed immediatamente utilizzato.

Come viene prodotto?

Viene generalmente prodotto artificialmente in vari modi: a partire da una corrente gassosa ricca di ossigeno o da semplice aria, alla quale viene apportata energia in forma elettrica, elettrochimica o fotochimica.

L'ozono ricavato dall'ossigeno dell'aria, finito il suo ciclo si trasforma nuovamente in ossigeno senza lasciare tracce diversamente da altri prodotti chimici che possono portare a derivati tossici o dannosi.

Le vigenti disposizioni sulla sicurezza sul lavoro (D.Lgs. 626/94) e sull'igiene (155/97 H.A.C.C.P.) impongono un ambiente di lavoro sano e sicuro. Generatori di ozono per la disinfezione, deodorazione e disinfestazione ambientale da eseguirsi durante le ore notturne o di assenza del personale.

Come utilizzarlo?

Disinfetta in maniera analoga al cloro ma non forma clorammine altamente tossiche. Sterilizza nettamente meglio sia nei confronti dei batteri che dei virus; non altera le caratteristiche dell'acqua, in particolare il sapore e genera una minore quantità di sottoprodotti dannosi.

L'ozono provoca danni a oggetti e cose?

La potenza ossidante che è il fattore chiave del gas d'ozono, può danneggiare molti materiali, come la plastica molto economica, fogli e guarnizioni di gomma e caucciù. E da notare comunque che una esposizione temporizzata dei prodotti che sono facilmente attaccabili dall'ozono, non è percettibile, poiché si hanno sì degradazioni, ma in modo appena evidente e solo dopo parecchi anni di esposizione e d'utilizzo, anzi il degrado dovuto ai fattori ambientali quali smog, raggi ultravioletti, e' molto più elevato di quello prodotto dall'ozono.

Risorse del mercato disponibili per la sanificazione dello studio professionale del Pediatra di Famiglia: conclusioni

Interventi manuali

Gli interventi manuali di igienizzazione degli ambienti di lavoro/studi medici con prodotti chimici sono insufficienti, perché vi sono punti dove è difficile se non impossibile riuscire ad asportare i contaminanti: lì proliferano batteri, virus, spore, muffe, ecc. e questo accumularsi di microrganismi infetta l'ambiente e diventa fonte di cattivi odori.

I prodotti chimici per gli ambienti (bombolette spray – vaporizzatori –schiume) lasciano sempre residui chimici.

Per gli odori: prodotti chimici profumanti (arbremagique – ambi pur –ecc.) sono prodotti con sostanze chimiche che coprono gli odori ma non li eliminano.

I limiti principali:

- spesso si rivelano insufficienti;
- a volte hanno bisogno di lunghi tempi di applicazione;
- lasciano sempre residui chimici (spesso nocivi);
- sono costosi per l'operatore e quindi per il cliente;
- non garantiscono risultati soddisfacenti anche nei "punti difficili".

Ozono, i vantaggi principali:

- non ha bisogno di manodopera;
- non utilizza sostanze chimiche;
- non lascia residui chimici;
- utilizzato secondo le istruzioni, non ha alcuna controindicazione;
- perfetta disinfezione anche nei punti più inaccessibili;

- costi insignificanti per ogni ciclo di sterilizzazione;
- nessun prodotto chimico è più necessario (per produrre ozono serve solo aria e elettricità);
- tempi brevissimi;
- nessun residuo;
- nessuna manutenzione ordinaria;
- nessun prodotto chimico in magazzino;
- costo di produzione pari al consumo di corrente elettrica minimo.

Incentivi economici

In ultimo, ma non per importanza, desideriamo segnalare i benefici economici che il Governo ha garantito sotto forma di incentivi per le spese di sanificazione e per l'acquisto di attrezzature volte a evitare il contagio del virus COVID-19 nei luoghi di lavoro, a vantaggio dei soggetti esercenti attività d'impresa.

- L'articolo 64 del Decreto Legge 17/03/2020, n.18 concede alle imprese un credito d'imposta per le spese di sanificazione degli ambienti di lavoro.

In particolare *"... è riconosciuto, per il periodo d'imposta 2020, un credito d'imposta, nella misura del 50 per cento delle spese di sanificazione degli ambienti e degli strumenti di lavoro sostenute e documentate fino ad un massimo di 20 mila euro per ciascun beneficiario"*

- L'articolo 30 del Decreto Legge 08/04/2020, n. 23 concede, altresì, un credito d'imposta, secondo le misure e nei limiti di spesa complessivi previsti dall'articolo 64 suindicato, per l'acquisto di dispositivi di protezione individuale e altri dispositivi di sicurezza atti a proteggere i lavoratori dall'esposizione accidentale ad agenti biologici e a garantire la distanza di sicurezza interpersonale nei luoghi di lavoro.

Bibliografia

1. Handbook of COVID-19 Prevention and treatment. The first affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine Compiled According to Clinical Experience. 2020
2. Rapporto ISS COVID-19n. 2/2020
3. Wang Zhou. The Coronavirus preventionhandbook: 101 science-basedtipsthatcouldsaveyour life. 2020; ISBN13: 9781510762411
4. Circolare Ministero della Salute n. 5443 del 22/02/2020
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC Atlanta). Aggiornamento Covid-19. 2020
6. Disinfection of environments in healthcare and nonhealthcare settings potentially contaminated with SARS-CoV-2. ECDC technical report March 2020
7. Environmental Cleaning and Disinfectants for Physicians' Offices. British Columbia Centre for Disease control
8. Rapporto ISS COVID-19. n. 7/2020
9. Modelli di gestione territoriale da parte del MMG di casi sospetti o accertati diCovid-19; Gruppo di lavoro F.I.M.M.G. COVID-19 Vers. 19/4/2020
10. Stabilimento Chimico Farmaceutico Militare.

Istruzioni d'uso per la sanificazione delle mascherine monouso in protezione individuale in emergenza da COVID-19. Aggiornamento 2020

11. Stanford University. Indicazioni su sanificazione mascherine COVID-19 2020

(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

M. Come dovremo riorganizzare lo studio in corso di SARS-CoV-2?

(F. Carlomagno, G. Coppola, P. Cortese, R. de Franchis, M. De Giovanni)

Riduzione dei rischi di contagio nell'ambulatorio del pediatra di famiglia in tempi di SARS-CoV-2

Non abbiamo al momento linee guida dettagliate e condivise sulla riorganizzazione degli studi medici dei Pediatri di Famiglia (PdF) in corso di pandemia da SARS CoV-2. Occorre peraltro sottolineare che i nostri studi, sia per le norme contrattuali che disciplinano la Pediatria di Famiglia, che per le loro caratteristiche tecniche, costruttive, di allocazione sul territorio e di organizzazione del lavoro che li contraddistinguono, non potranno mai adeguarsi agli standard di sicurezza ottimali, in particolare da rischio biologico, propri delle strutture ospedaliere di alta specializzazione. Tuttavia, alla luce delle nuove esigenze determinatesi, compresa la rimodulazione del tipo di attività dei PdF, è possibile migliorare la loro sicurezza e funzionalità agendo soprattutto sulla organizzazione interna, ciò al fine di ridurre i rischi per i pazienti, i dipendenti che vi lavorano e per il Pediatra stesso.

Una ulteriore considerazione da fare è che purtroppo la dimensione dei numeri del contagio sul nostro territorio è attualmente in calo ma potrebbe subire fluttuazioni nei prossimi mesi così come la mappatura dei soggetti COVID-19 positivi. Il decorso spesso paucisintomatico e non di tipo francamente respiratorio della infezione da SARS CoV-2 in età pediatrica (Fig.1) è un altro elemento che gioca a nostro sfavore nella individuazione di bambini sospetti positivi che afferiscono nei nostri studi.



Fig.1

(Prof. Zuccotti - Università degli Studi di Milano-Dipart. Scienze Biomediche e Cliniche L. Sacco)

Per finire, il problema si amplifica per l'assenza di condivisione dei dati sanitari fra PdF e Medici di Medicina Generale (MMG) che non ci consente di avere dati nemmeno approssimativi sullo stato di salute dei genitori/accompagnatori dei nostri pazienti. Pertanto, sulla base di quanto premesso, è fondamentale, per la sicurezza di tutti, porsi nell'ottica di **considerare ogni bambino o genitore che da oggi in poi entrerà nel nostro ambulatorio come COVID-19 positivo fino a prova contraria.**

Elencheremo adesso una serie di suggerimenti pratici e di semplice attuazione che potranno essere rimodulati in base alle caratteristiche del vostro studio medico (estensione della superficie, disposizione degli ambienti, mobilio, presenza o meno di un collaboratore di studio, di un impianto di climatizzazione ecc.). Consigliamo pertanto le seguenti misure di sicurezza:

AVVISO IMPORTANTE

A seguito della **pandemia da COVID-19**, e in base alle nuove direttive ministeriali e regionali, per qualsiasi richiesta o problema medico dovranno essere rispettate per la sicurezza di tutti le seguenti norme:

- 1) Accesso a chiunque consentito **solo previo appuntamento telefonico** (.....), in assenza del quale bambini e genitori verranno immediatamente **INVITATI** a nuovo appuntamento.
- 2) Accesso in studio consentito ad 1 solo accompagnatore per bambino.
- 3) Obbligatorio indossare **MASCHERINA E GUANTI** dai 6 anni in su.
- 4) Prima di entrare potreste essere sottoposti a controllo della temperatura corporea.
- 5) Una volta entrati nello studio mantenere una distanza di sicurezza dalle altre persone di almeno 1 metro e mezzo.

Data.....

Dott.

- Affiggere un avviso fuori della porta di ingresso con la sintesi delle vostre raccomandazioni e delle direttive ministeriali e regionali

- Registrare un messaggio di risposta sulla segreteria telefonica dello studio che sottolinei analogamente lo stato di allerta per pandemia e la necessità di seguire norme più stringenti sulle modalità di accesso in studio per la sicurezza di tutti. In particolare dovrete comunicare che gli accessi saranno consentiti esclusivamente previo appuntamento e che questo andrà fissato dal giorno prima o anche lo stesso giorno, ma in una precisa finestra oraria da voi individuata (possibilmente prima dell'inizio delle visite). Questa organizzazione di base vi consentirà di gestire meglio il passo successivo, a maggior ragione se non potete avvalervi del supporto di una segretaria
- La porta di ingresso dello studio andrebbe mantenuta rigorosamente chiusa. I colleghi che non si avvalgono della collaborazione di una segretaria dovrebbero attrezzarsi quantomeno con un citofono (meglio se videocitofono) collegato direttamente alla propria scrivania che consenta di interloquire con chi desidera entrare e di comandare da remoto l'apertura della porta stessa per evitare un accesso incontrollato.
- **Effettuare il Triage telefonico sempre!** Contestualmente alla prenotazione delle visite, meglio se gestito da VOI stessi e non dalla segretaria (la conoscenza dei vostri pazienti e delle loro famiglie, e l'esperienza maturata, vi consentiranno di individuare meglio e in anticipo i casi a maggiore rischio, selezionati in base sia all'anamnesi del bambino, che dell'intero nucleo familiare convivente). Andranno sicuramente scoraggiati gli accessi impropri (Es. riniti non complicate, lievi dermatiti, bambini definiti inappetenti e con curve di crescita ottimali o peggio in sovrappeso, ecc.). Quesiti clinici come lievi dermatiti, congiuntiviti ed altre patologie diagnosticabili con la semplice ispezione potranno in massima parte trovare soluzione con una valutazione di foto/video inviati dai genitori a mezzo whatsapp o altri sistemi informatici. In tutti gli altri casi attenersi alle indicazioni delle flow chart già messe a

disposizione dalla FIMP e a quelle del Ministero della Salute. Allo stesso modo tutte le richieste di prescrizioni di farmaci e prestazioni specialistiche erogabili su ricetta dematerializzata, oppure la valutazione di referti, potranno essere evase sempre con l'ausilio di applicazioni informatiche (es. WhatsApp). Procedendo con scrupolo a questa scrematura iniziale, si ridurranno di molto gli accessi in studio in senso lato, ed in particolare le visite a maggior rischio e quelle improprie, o francamente inutili.

- Programmare un tempo adeguato per ciascuna visita e incrementarlo poi per maggiore sicurezza di un 20% (eviterà l'affollamento o comunque la presenza di troppe persone in sala di attesa e vi eviterà ansie da ritardo nel corso delle visite). Le sale di attesa risultano molto diverse per quadratura per ciascuno studio e la programmazione delle visite ne dovrà tenere conto, con l'obiettivo ideale di avere sempre 0 persone in sala. Nel caso si dovessero verificare in un determinato giorno troppe richieste di visite, queste andrebbero spostate al giorno successivo oppure si potrebbe allungare eccezionalmente l'orario di ambulatorio per quel giorno. Evitare invece la tentazione di "inserire" altri pazienti tra 2 visite già programmate.
- Programmare le visite a basso rischio (bilanci di salute, controlli di crescita, patologie non respiratorie, ecc.) nella prima sessione di studio. Concentrare invece quelle a rischio più elevato nella sessione successiva
- Una volta fissato l'appuntamento, spiegare per bene al genitore telefonicamente le modalità di sicurezza per accedere alla visita nel vostro studio (questo compito lo potrà svolgere bene la segretaria se opportunamente istruita) che comprenderanno:
 - puntualità nell'appuntamento;
 - accesso consentito ad 1 solo bambino per visita con 1 solo accompagnatore;
 - Obbligo per genitore e bambino (dai 6 anni in su) di indossare mascherina (del tipo senza valvola) e guanti (che però ultimamente sono quasi introvabili), in alternativa disinfezione delle mani prima di accedere nella stanza di visita
- **In sala di attesa:**
 - consentire una adeguata ventilazione lasciando possibilmente la finestra aperta ed evitando, temperatura permettendo, l'uso di condizionatori d'aria (i cui filtri andranno comunque sottoposti a sanificazione periodica con apposita schiuma igienizzante, almeno 1 volta a settimana);
 - applicare uno zerbino a superficie biadesiva sul lato interno della porta di ingresso e installare a parete un dispenser di gel disinfettante per la mani a base di ipoclorito di sodio;
 - distanziare opportunamente le sedute all'interno della sala di attesa; un impianto di video sorveglianza potrebbe aiutare i colleghi sprovvisti di segretaria, a cui spetta normalmente il controllo sul rispetto delle regole di sicurezza in quel luogo.

LA PEDIATRIA DI FAMIGLIA IN TEMPI DI COVID-19

FASE 2

Decalogo per le Famiglie

(PER CONSENTIRE LA MINOR DIFFUSIONE DEL CONTAGIO)

- 1) Si può accedere all'ambulatorio **ESCLUSIVAMENTE** dopo aver concordato l'appuntamento con il pediatra.
- 2) E' il tuo pediatra a stabilire la necessità della visita ed il momento più opportuno per espletarla, dopo aver ascoltato la storia clinica.
- 3) E' obbligatorio rispettare perfettamente l'orario concordato per evitare contatti a rischio con altri pazienti.
- 4) E' consentito l'accesso in ambulatorio di un unico accompagnatore per bambino.
- 5) E' obbligatorio l'utilizzo di mascherina e guanti sia per l'accompagnatore che per il bambino, **INDOSSATI NUOVI ALL'INGRESSO DELLO STUDIO.**
- 6) E' possibile che il tuo pediatra decida di completare parte della visita (ad es. svezzamento, informazioni su vaccinazioni o altro) telefonicamente.
- 7) Occorre mantenere la distanza di almeno 1 metro e mezzo da chiunque sia presente nello studio.
- 8) E' attiva una modalità nuova di assistenza attraverso il maggiore uso di whatsapp o di videochiamate. Sarà il pediatra a stabilirne l'utilizzo.
- 9) La maggior parte delle ricette possono ora essere inviate per via telematica.
- 10) Il tuo pediatra, in questo momento così difficile per tutti, cercherà di esserti ancora più vicino per risolvere ogni tuo dubbio, ma tu aiutalo nel **RISPETTARE LE REGOLE**

Il tuo Pediatra

-affiggere in bacheca una locandina chiara e con indicazioni semplici su come comportarsi all'interno dello studio per ridurre al minimo il rischio di contagio

- **La postazione della segretaria** (che indosserà sempre mascherina, guanti e visiera) deve essere protetta al meglio utilizzando possibilmente, oltre un bancone, anche una barriera divisoria trasparente di altezza adeguata e munita di passacarte. (fig. 2). Utile altresì applicare sul pavimento una "linea di rispetto" per evitare rischiosi assembramenti vicino alla sua postazione. Fare attenzione a che la vostra segretaria utilizzi sempre i DPI che le avrete fornito e segua scrupolosamente le norme di sicurezza che le avrete impartito. Essendo una vostra dipendente siete legalmente responsabili della sua sicurezza sul lavoro ma ricordatevi principalmente che la sua sicurezza è anche la vostra!!



Fig. 2

- Riteniamo fortemente raccomandabile rilevare la temperatura corporea di tutti coloro che stanno per accedere nello studio tramite **termometro "a distanza" a raggi infrarossi**, (fig.3)

mansione che potrà essere affidata alla segretaria, se disponibile. Tale raccomandazione si basa sulle normative ministeriali riportate anche nei DPCM, che prevedono che i bambini con febbre dai 37,5°C in su non possono essere ammessi negli studi dei PdF, così come gli accompagnatori. Tale normativa, infatti, concepita per tutelare la salute della collettività, potrebbe generare nei genitori la preoccupazione che il proprio figlio, se febbricitante, non riceverà una visita ed una diagnosi in tempi rapidi e probabilmente non dal proprio Pediatra di fiducia, e quindi indurli a fornire informazioni non completamente realistiche sul dato della febbre durante il triage. D'altra parte la febbre potrebbe essersi presentata dopo l'effettuazione del triage, oppure potrebbe essere lo stesso genitore o accompagnatore ad avere problemi di salute. Il prezzo di mercato di questi dispositivi è compreso tra i 40 e i 70 euro, ma fate attenzione a non acquistare i modelli ad uso diverso da quello sanitario, che hanno margini di tolleranza nella precisione della temperatura rilevata ben maggiori e quindi sono di fatto inutilizzabili nei vostri studi.



Fig.3

- **I servizi igienici:** dovrebbero essere sdoppiati (uno per i pazienti e gli accompagnatori, e l'altro per il personale sanitario e i collaboratori di studio), ma in ogni caso, evitando di addentrarci in complesse normative, dovranno sempre essere forniti di detergente liquido, rotolo di carta igienica e asciugamani, bidone dei rifiuti con comando a pedale e fasciatoio. La pulizia di questi locali dovrebbe avvenire quotidianamente.
- **Nella vostra stanza:**
 - come già previsto in sala di attesa, lasciare possibilmente la finestra aperta evitando di usare il condizionatore;
 - distanziare le sedie ospiti ad almeno mezzo metro dalla scrivania (servirà ad aumentare la distanza tra voi e il bambino con il genitore a circa 1 metro e mezzo, eviterà che il piccolo tocchi il vostro strumentario e farà comprendere subito al genitore l'importanza del distanziamento);



- sempre per evitare il rischio da aerosol respiratorio oppure da colpi di tosse e starnuti accidentali durante il colloquio, è consigliabile installare sulla scrivania un pannello divisorio in plexiglass alto 90 cm e largo quanto si vuole (fig.4 a lato), con feritoia in basso per il passaggio di documenti, e base adesiva,(se ne trovano di vari modelli e aziende su internet a prezzi compresi fra i 70 e i 170 euro in base a caratteristiche e dimensioni);

- invitare a lasciare fuori dalla stanza carrozzine e passeggini per evitare che si riducano le distanze di sicurezza nei vari spostamenti;
- lasciare una penna sulla vostra scrivania ad uso esclusivo del genitore;
- adottare un bidone dei rifiuti con comando a pedale, raggiungibile anche dai genitori;
- sanificare lo strumentario con alcol etilico o gel di ipoclorito dopo ogni utilizzo.
- Raccomandare alla segretaria, nei limiti del possibile, di non trasferirvi telefonate nel corso di una visita, potreste distrarvi e commettere errori nell'osservare le regole di sicurezza.
- Per quanto riguarda i DPI, il nostro status di liberi professionisti convenzionati con il SSN prevede, allo stato attuale, che vengano acquistati in autonomia, anche se specifiche richieste sono state inoltrate dai Pediatri di Famiglia alla parte pubblica. Va segnalato che le AASSLL e l'Ordine dei Medici di Napoli hanno messo a disposizione finora piccole forniture per i PLS.

Indossare sempre idonea mascherina FFP2 o FFP3 (che assicurano una azione filtrante rispettivamente fino al 92 e fino al 98%, i modelli senza filtro possono essere anche sanificabili), e poi guanti monouso, cuffietta monouso per chi ha capelli lunghi, e, durante la visita, anche la visiera (e/o occhiali protettivi). Una tuta completa monouso con polsini elastici abbinata all'uso di calzari e doppi guanti sono consigliabili nei casi più a rischio.

- Evitare sempre, una volta indossati i guanti, di toccarsi il viso o stropicciarsi gli occhi!
- Sarebbe utile sostituire il nostro classico camice clinico con un completo casacca + pantaloni del tipo adoperato, ad esempio, dai colleghi odontoiatri, e scarpe da lasciare in studio. Nell'attesa di dotarsi di un camice più idoneo, è possibile modificare il camice classico aggiungendovi un bottone e una nuova asola al bavero, in modo da proteggere meglio la zona del petto, specie in periodi di clima caldo.
- Nel corso della visita: ogni volta che vi avvicinerete al bambino il genitore si dovrà simultaneamente allontanare ad almeno 1 metro e mezzo.
- Auscultare il torace di preferenza dal dorso, facendo eventualmente salire il bambino sul predellino, e invitandolo a non voltarsi di lato. Far precedere sempre l'auscultazione respiratoria a quella cardiaca. In questo modo il bambino si sarà meglio ossigenato e resisterà meglio quando gli richiederete di rimanere in apnea nel corso della valutazione cardiaca, rendendovi la rilevazione di eventuali rumori cardiaci patologici più agevole e riducendo il vostro rischio di esposizione al suo aerosol respiratorio (fig.5)



Fig.5

- Auscultare quindi il cuore ponendovi di lato, o meglio di spalle, al bambino utilizzando un fonendoscopio con raccordi sufficientemente lunghi e utilizzando il predellino se necessario (fig.6)



Fig.6

- Se il bimbo ha meno di 2 anni starà in braccio al genitore che dovrà indossare la mascherina correttamente e voltare la testa di lato mentre auscultate il torace (fig.7)



Fig.7

- **L'ispezione del faringe** dovrà avvenire sempre con mascherina, occhiali e visiera, se il bimbo è al di sotto dei 2 anni starà in braccio al genitore che dovrà sempre voltare la testa di lato (fig.8)



Fig.8

- **Otoscopia: massima attenzione!** È la metodica diagnostica più rischiosa perché ci si avvicina molto al volto del paziente e al suo aerosol respiratorio, evitarla se non la si ritiene davvero indispensabile alla diagnosi.
- Effettuare la misurazione in altezza e la podoscopia sempre con il bambino voltato di spalle, che risulta peraltro la modalità più corretta per la valutazione del valgismo calcaneale (fig.9).



Fig.9

- **Stereotest:** farete reggere lo strumento al genitore indicandogli la corretta inclinazione e distanza dagli occhi del bambino, otterrete così di evitare di avvicinarvi voi troppo al paziente e una migliore compliance nell'accettazione del test (fig.10).



Fig.10

- Tampone faringeo per il test rapido per SBEA: da praticare solo se davvero indispensabile alla diagnosi. Se il bambino si presenta molto emotivo o agitato meglio soprassedere. Subito dopo il prelievo e l'aggiunta del reagente sostituire immediatamente i guanti
- Terminata la visita, togliere e gettare via i guanti prima di utilizzare la tastiera e il mouse del PC. Invitare quindi il genitore ed il bimbo ad allontanarsi rapidamente dallo studio evitando tassativamente di fermarsi a parlare con eventuali altri genitori in attesa.
- Di tanto in tanto lavarsi le mani con acqua tiepida e sapone anche se si sono adoperati i guanti.
- Istruire la segretaria a sanificare periodicamente nel corso della seduta di ambulatorio: le maniglie della porta di ingresso, il suo telefono, tastiera e mouse della sua postazione. Ad analogo trattamento dovranno essere sottoposte le superfici di cui sopra nella vostra stanza, oltre la scrivania e il telefono cellulare.
- La sanificazione dell'intero studio andrebbe effettuata periodicamente, anche in base al numero e tipologia di accessi, affidandosi a ditte specializzate. Prevede costi a partire dai 70 euro circa fino ai 250 euro inclusa certificazione (i prezzi richiesti variano in rapporto alla superficie dello studio, al tipo di intervento e dei mezzi di sanificazione adoperati). Sono altresì disponibili impianti autonomi di sanificazione di tipologia e costi molto variabili e potenzialmente convenienti nel lungo periodo, ma che richiedono indubbiamente conoscenze e competenze più approfondite e per i quali si rinvia al capitolo dedicato.
- Ricordate di richiedere la fattura per ogni acquisto di materiale o di prestazioni relativo alla sicurezza in studio e di effettuare i pagamenti in modo tracciabile con bonifico o carte di credito. Sono tutti oneri deducibili in dichiarazione dei redditi e contribuiranno a ridurre l'ammontare del vostro imponibile fiscale

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Nessuno dei suggerimenti offerti in questo Vademecum è in grado singolarmente di ridurre in modo consistente il rischio di contagio da CoV-2. Il risultato migliore potrà invece essere raggiunto proprio dalla contemporanea messa in atto di tutti gli accorgimenti proposti. L'impegno che ci attende è sicuramente considerevole, ma se applicheremo da subito tutte queste raccomandazioni, tenderemo poi a ripeterle in modo automatico ed il tutto apparirà meno stressante.

(ALL.1)

AVVISO IMPORTANTE

A seguito della **pandemia da COVID-19**, e in base alle nuove direttive ministeriali e regionali, per qualsiasi richiesta o problema medico dovranno essere rispettate per la sicurezza di tutti le seguenti norme:

- 1) Accesso a chiunque consentito **solo previo appuntamento telefonico** (.....) in assenza del quale bambini e genitori verranno immediatamente **INVITATI** a nuovo appuntamento.
- 2) Accesso in studio consentito ad 1 solo accompagnatore per bambino.
- 3) Obbligatorio indossare **MASCHERINA (senza valvola) E GUANTI** dai 6 anni in su.
- 4) Prima di entrare potreste essere sottoposti a controllo della temperatura corporea.
- 5) Una volta entrati nello studio mantenere una distanza di sicurezza dalle altre persone di almeno 1 metro e mezzo.

Data.....

Dott.

(ALL.2)

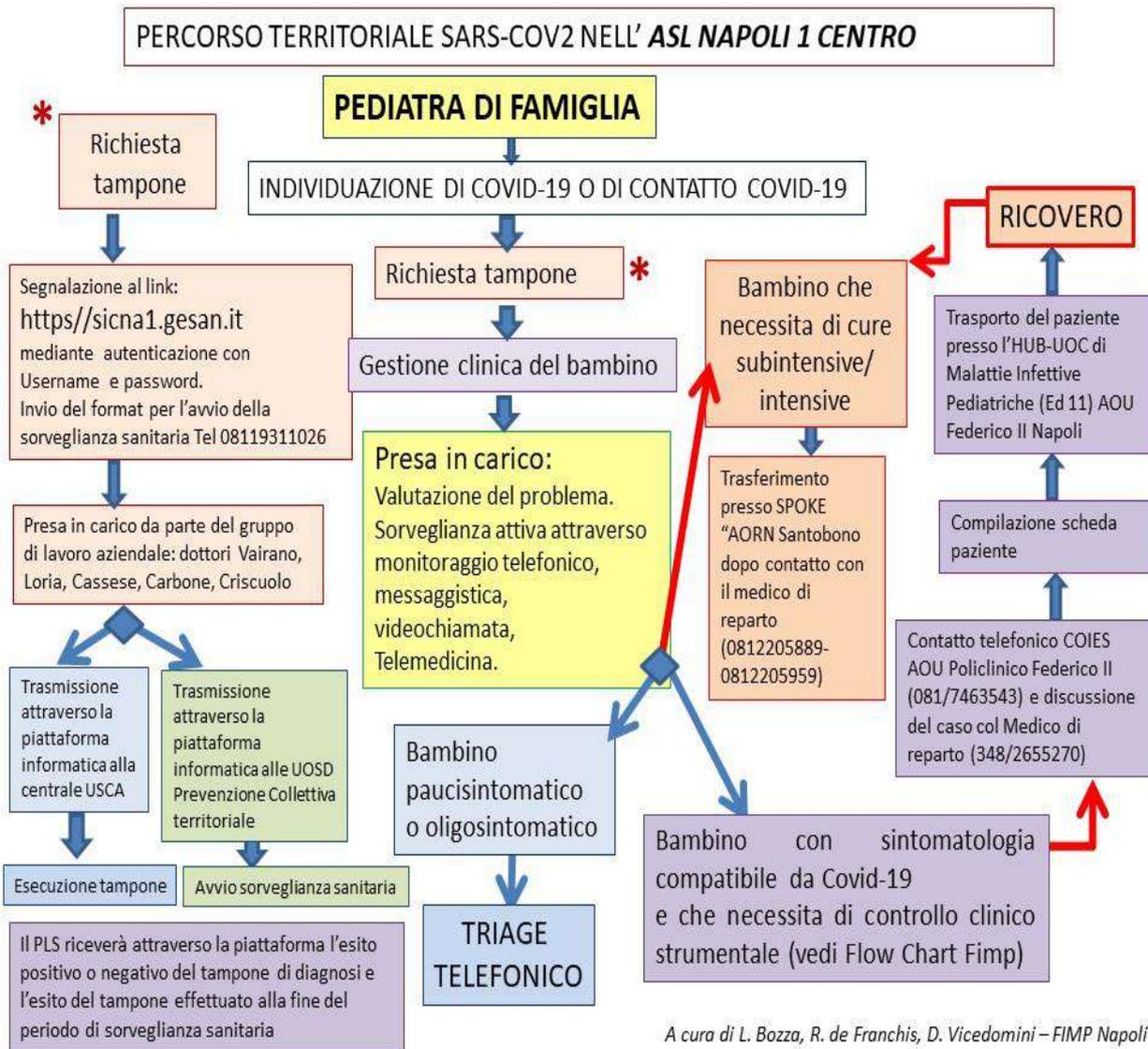
**LA PEDIATRIA DI FAMIGLIA IN TEMPI DI COVID-19
FASE 2 e 3
DECALOGO PER LE FAMIGLIE
(PER CONSENTIRE LA MINOR DIFFUSIONE DEL CONTAGIO)**

- 1) Si può accedere all'ambulatorio **ESCLUSIVAMENTE** dopo aver concordato l'appuntamento con il pediatra.
- 2) E' il tuo pediatra a stabilire la necessità della visita ed il momento più opportuno per espletarla, dopo aver ascoltato la storia clinica.
- 3) E' obbligatorio rispettare perfettamente l'orario concordato per evitare contatti a rischio con altri pazienti.
- 4) E' consentito l'accesso in ambulatorio di un unico accompagnatore per bambino.
- 5) E' obbligatorio l'utilizzo di mascherina e guanti sia per l'accompagnatore sia per il bambino, **INDOSSATI NUOVI ALL'INGRESSO DELLO STUDIO.**
- 6) E' possibile che il tuo pediatra decida di completare parte della visita (ad es. svezzamento, spiegazione di vaccinazioni o altro) telefonicamente.
- 7) Mantenere la distanza di almeno 1 metro e mezzo da chiunque presente nello studio.
- 8) E' attiva una modalità nuova di assistenza attraverso il maggiore uso di whatsapp o di videochiamate. Sarà il pediatra a stabilirne l'utilizzo.
- 9) La maggior parte delle ricette possono ora essere inviate per via telematica.
- 10) Il tuo pediatra in questo momento così difficile per tutti cercherà di esserti ancora più vicino per risolvere ogni tuo dubbio, ma tu aiutalo **RISPETTANDO LE REGOLE.**

Il tuo Pediatra

N. Ma esistono dei percorsi territoriali?

N1. Percorso territoriale ASL NA 1 Centro (L. Bozza, R. de Franchis, D. Vicedomini)



(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

N2. Percorso territoriale ASL NA 2 Nord (S. Iasevoli, A.E. Marigliano, G. Vallefuoco)

Ad integrazione delle flow-chart nella gestione dell'emergenza da coronavirus diamo alcune indicazioni burocratiche-operative da seguire. A tal fine abbiamo individuato alcuni scenari che si potrebbero prospettare ad ognuno di noi:

- **Nucleo familiare proveniente da fuori regione** (medicina dei viaggiatori): in questo caso è necessaria la segnalazione del caso con apposita comunicazione da inviare all'indirizzo mail: dichiarazioneviaggiatore@aslnapoli2nord.it . Sarà cura del Servizio di Epidemiologia e Prevenzione comunicare a ciascun Pediatra di Libera scelta il prescritto isolamento dei propri pazienti e la sorveglianza sanitaria. I soggetti non residenti saranno sottoposti a sorveglianza sanitaria dalle USCA che fanno riferimento alle Unità Territoriali COVID-19 (All. 3)
- **Paziente senza contatto COVID, senza febbre, con tosse** (sono la gran parte dei nostri pazienti): Va trattato seguendo la flow-chart n°1. **Se non migliora**: visitarlo e richiedere tampone attraverso la scheda di triage (All. 2) all'USCA di riferimento territoriale (All. 3) o HUB (All. 4)
- **Paziente senza contatto COVID, febbrile e senza sintomi respiratori**. Seguire le indicazioni della flow-chart n°1 e **se non migliora** eventuale visita e richiesta tampone alle USCA territoriali o HUB (All. 4).
- **Paziente senza contatto COVID, febbrile e con sintomi respiratori** (tosse e dispnea). Isolamento fiduciario, triage telefonico giornaliero (scheda di sorveglianza sanitaria, All. 2), iniziare opportuna terapia come da flow-chart n°2 e **se non migliora richiesta di tampone** all'USCA attraverso la scheda di Triage, All. 2. Se il paziente peggiora ricontattare USCA o HUB (All. 4).
- **Paziente asintomatico in isolamento domiciliare per i contatti di caso confermato COVID-19**. Come descritto nella flow-chart n°3 è prevista esclusivamente una sorveglianza telefonica (All. 1) che prevede la misurazione della temperatura corporea e degli atti respiratori due volte al giorno e il monitoraggio della sintomatologia; **se non si ha miglioramento dei sintomi** il PLS segnalerà (attraverso la scheda di Triage, All. 2) il caso all'USCA indicate nell'All. 3 che disporrà per l'esecuzione del tampone oppure se la sintomatologia precipita contattare l'HUB (All. 4) per l'invio immediato.
- **Paziente paucisintomatico o sintomatico in isolamento domiciliare per i contatti di caso confermato COVID-19**. Il PLS segnalerà (attraverso la scheda di Triage, All. 2) il caso alle Unità Territoriali COVID di riferimento territoriale indicate nell'All. 3. L'esecuzione del tampone sarà disposta nel caso dalle Unità Territoriali COVID che informeranno tempestivamente il PLS. In caso di esito positivo il PLS valuterà la necessità di avviare precocemente la terapia e solo in questo caso provvederà alla prescrizione dei farmaci dispensabili tramite ricetta SSN

con la dicitura COVID-19. Qualora uno o più farmaci prescritti non fossero disponibili presso le farmacie territoriali, il PLS usando esclusivamente la casella di posta aziendale invierà apposita mail al seguente indirizzo: terapia.covid@aslnapoli2nord.it.

Si fa presente che ai caselli sanitari del PO di Giugliano, del PO di Ischia e del PO di Pozzuoli arrivano solo i pazienti che hanno ricevuto appuntamento dalle Unità Territoriali COVID per sottoporsi al tampone per COVID-19.

Si ricorda che si definisce **cl clinicamente guarito** da COVID-19 un paziente che, dopo aver presentato manifestazioni cliniche associate all'infezione virologicamente documentate da SARS-CoV-2, diventa asintomatico. Il soggetto clinicamente guarito può risultare ancora positivo al test per la ricerca di SARS-CoV-2. Il paziente **guarito** è colui il quale risolve i sintomi dell'infezione da COVID-19 e che **risulta negativo in due test consecutivi**, effettuati a distanza di 24 ore uno dall'altro, per la ricerca di SARS-CoV-2. **La guarigione del paziente è certificata dall'Unità Territoriale COVID che riceve l'esito dei 2 tamponi.**

(Ultimo aggiornamento 24 maggio 2020)

AI.1

SCHEDA SORVEGLIANZA SANITARIA

a cura Centro Studi Scientifico FIMP Napoli

ASL

Comune

N.scheda

ID Cognome-Nome

M/F

Data nascita

Sintomi	Data inizio sintomi	1° G		2° G		3° G		4° G		5° G		6° G		7° G		8° G		9° G		10° G		11° G		12° G		13° G		14° G		
		M	S	M	S	M	S	M	S	M	S	M	S	M	S	M	S	M	S	M	S	M	S	M	S	M	S	M	S	
FEBBRE																														
RAFFREDDORE																														
CEFALEA																														
MIALGIA																														
ANOSMIA																														
ASTENIA																														
TOSSE																														
DISPNEA																														
ACROISCHEMIA																														
SAT.O2																														
SINTOMI GASTROINTEST																														
RICOVERO																														
CONTATTI FAMILIARI POS																														
TERAPIA																														
FUMO CONVIV																														
BMI BAMBINO																														
AGEUSIA																														
TAMPONE	DATA 1°			POS	NEG	DATA 2°				POS	NEG	DATA 3°					POS	NEG												

Contatti con "positivi" :

Conviventi (indicare grado di parentela):

Altri (indicare) :



Distretto n. ____

ALLEGATO - SCHEDA DI TRIAGE D'INDIVIDUAZIONE INFEZIONE DA SARS- CoV-2

DATA DI ACCETTAZIONE: _____ ORA: _____

COGNOME _____ NOME _____

LUOGO E DATA DI NASCITA _____ COMUNE DI RESIDENZA _____

VIA _____ TELEFONO _____

ATTIVITA' LAVORATIVA SVOLTA _____ RECAPITO DELL'AZIENDA _____

DOCUMENTO _____

Ha contattato qualche medico? SI quale medico e in che data _____ NO

Nb: Per la definizione di caso sospetto attenersi ai criteri della circolare n. 7922 del 09.03.2020 (vedi definizione sul retro)

D A T I C L I N I C I	IL PAZIENTE PRESENTA UNA SINTOMATOLOGIA RIFERIBILE AD UNA INFEZIONE RESPIRATORIA ACUTA CON INSORGENZA IMPROVVISA DI:	
	TOSSE	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
	TEMPERATURA UGUALE O MAGGIORE A 37,5 °C	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
	Se SI specificare la T°C massima raggiunta: _____	
	DISPNEA	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
	ALTRO (ES. mialgia, dolore toracico...), _____	
DATA DI COMPARSA DEI SINTOMI: _____		
ALTRE PATOLOGIE PRESENTI _____		

D A T I E P I D E M I O L O G I C I	IL PAZIENTE HA AVUTO UN CONTATTO STRETTO CON UN CASO PROBABILE O CONFERMATO DI INFEZIONE DA SARS- CoV-2: SE SI INDICARE DA QUANTI GIORNI: _____	
	OPPURE	
	SOGGIORNO PRESSO UN' AREA DESIGNATA COME A RISCHIO (INTERESSATI DALLE MISURE URGENTI DI CONTENIMENTO DEL CONTAGIO):	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
	OPPURE	
	IL PAZIENTE HA LAVORATO O FREQUENTATO UNA STRUTTURA SANITARIA DOVE SONO STATI RICOVERATI PAZIENTI CON INFEZIONE DA SARS- CoV-2:	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
SE SI, SPECIFICARE:		
a) PERIODO INTERESSATO _____		
b) IL MOTIVO DELL'ACCESSO _____		

Caso sospetto di COVID 19 che richiede esecuzione di test diagnostico Effettuazione del Tampone su disposizione del S.E.P.

SI NO

SI NO

IL TRIAGISTA (medico/infermiere)

NOME E COGNOME PER ESTESO _____

FIRMA _____

All.3 UNITA' TERRITORIALI COVID ASL NA 2 Nord

UNITA' TERRITORIALI	COMPETENZE TERRITORIALI	RESPONSABILI
Prima Unità Territoriale Covid DISTRETTO 35 e 38 uose2@aslnapoli2nord.it sede: Monteruscello tel. Fisso 0818552529	Pozzuoli, Bacoli, Monte di Procida, Marano, Quarto.	Responsabile Epidemiologico Dott.ssa Rosa Alfieri 3666068329 Responsabile Registro Covid Rosaria Armieri 3497794423
Seconda Unità Territoriale Covid DISTRETTO 36 uose1@aslnapoli2nord.it tel. Fisso 0815070231	Isola di Ischia, Procida.	Responsabile Epidemiologico Dott.ssa Teresa Coppola 3398341826 Responsabile Registro Covid Brunella Pruda
Terza Unità Territoriale Covid DISTRETTO 37,39,40 uose3@aslnapoli2nord.it sede: Giugliano (ex Inam) tel. Fisso 0818955737-0818955728-0818955301	Giugliano in Campania, Villaricca, Qualiano, Calvizzano, Mugnano, Melito.	Responsabile Epidemiologico Dott.ssa Rossella Agliata 3497873596 Responsabile Registro Covid Maria Carmina D'Alterio
Quarta Unità Territoriale Covid DISTRETTO 41 uopc.ds41@aslnapoli2nord.it sede: Frattamaggiore tel. Fisso 0818355537	Frattamaggiore, Frattaminore, Grumo Nevano, Casandrino, Sant'Antimo.	Responsabile Epidemiologico Dott. Antimo Grassia 3200413811 Responsabile Registro Covid Mario Grieco
Quinta Unità Territoriale Covid DISTRETTO 42 uopc.ds42@aslnapoli2nord.it sede: Arzano tel. Fisso 08118840125	Arzano, Casavatore.	Responsabile Epidemiologico Dott. Gennaro Barretta 3477929612 Responsabile Registro Covid
Sesta Unità Territoriale Covid DISTRETTO 43 uopc.ds43@aslnapoli2nord.it sede: Casoria tel. Fisso 0817051549	Casoria.	Responsabile Epidemiologico Dott. Rosario Ferro 3294144297 Responsabile Registro Covid Pasquale Cerbone
Settima Unità Territoriale Covid DISTRETTO 44 uopc.ds44@aslnapoli2nord.it sede: Afragola tel. Fisso 0818520218	Afragola.	Responsabile Epidemiologico Dott.ssa Cristina Viscosi 3338660101 Responsabile Registro Covid Simona Sorrentino
Ottava Unità Territoriale Covid DISTRETTO 45 uopc.ds45@aslnapoli2nord.it sede: Caivano tel. Fisso 0818800545	Caivano	Responsabile Epidemiologico Dott. Pasquale Pecoraro 3389607968 Responsabile Registro Covid Regina Longo
Nona Unità Territoriale Covid DISTRETTO 46- 47 uopc.ds46@aslnapoli2nord.it sede: Acerra tel. Fisso 0813196601 0813196679	Acerra, Casalnuovo	Responsabile Epidemiologico Dott. Pasquale Aiese 3381725575 (dott.ssa Daniela De Riso 3929209253) Responsabile Registro Covid Francesco Casolaro

All.4

**UOC Malattie Infettive Pediatriche – AOU Federico II,
HUB Regionale per la gestione COVID-19 pediatrica
(Responsabile: prof Alfredo Guarino)**

Contatti:

NUMERO MEDICI REPERIBILI:

**Primo Filtro Pediatrico / Consulto telefonico Territoriale :
3482637031**

**Medico di Guardia Reparto COVID-19 / Consulto
Ospedaliero: 3482655270**

MAIL a malattieinfettive.pediatria@gmail.com

FAX: 081-7464597

N3. Percorso territoriale ASL NA 3 Sud (A. D'Avino, A. D'Onofrio, E. Farris)

Procedura operativa Territoriale per l'identificazione/gestione dei casi sospetti e accertati di infezione da COVID-19 nell'ASL NA 3 Sud

L'infezione da SARS-COV-2 ha richiesto per l'ASL Na 3 Sud una strategia operativa, in termini di salute pubblica, capace di mettere in campo molteplici interventi tesi all'identificazione tempestiva e alla diagnosi/gestione dei casi.

La strategia operativa consiste nella

1. **presa in carico precoce dei casi** e la relativa gestione, nell'ambito di un percorso integrato e protetto che vede il coinvolgimento di diversi operatori sanitari (MMG, PLS, Continuità Assistenziale, operatori del 118, personale dei presidi ospedalieri delle ASL e delle Aziende Ospedaliere, personale sanitario dell'Ospedale di riferimento regionale "D. Cotugno", operatori dei Dipartimenti di Prevenzione);
2. **l'adozione**, a partire dal caso sospetto, **delle precauzioni di bio-sicurezza** qualora il paziente venisse posto in isolamento domiciliare.

Percorso operativo territoriale

Il MMG/PLS in presenza di:

1. **paziente sintomatico** (T° 37,5; mal di gola, rinorrea, difficoltà respiratoria e sintomatologia simil-influenzale/simil COVID-19/polmonite) il PLS
 - effettua valutazione epidemiologica per affezioni delle vie respiratorie (collegamento con paese a rischio, data di partenza dalla zona a rischio, esposizione a casi accertati o sospetti, contatti con persone rientrate da paese a rischio, con familiari di casi sospetti), tenendo presente le eventuali patologie preesistenti e lo stato vaccinale;
 - contatta la Centrale Operativa 118 per attivare la procedura di Centralizzazione del caso di sospetta infezione da Coronavirus senza passare per il Pronto Soccorso. Nello specifico l'ambulanza del 118 trasporterà il paziente al P.O. Cotugno o presso una delle U.O. di Malattie Infettive indicate dalla Centrale Operativa 118.

Il Medico che identifica il "caso sospetto" è tenuto a compilare la "Scheda di segnalazione di caso sospetto, probabile o confermato di SARS-CoV-2 (Allegato A) ed a inviarla tempestivamente a: notifica.malattieinfettive@regione.campania.it e al Dipartimento di Prevenzione aziendale: Dippr@pec.aslnapoli3sud.it

2. Paziente pauci-sintomatico:

- Identifica il paziente con la rilevazione dei dati anagrafici e contatto telefonico senza espletare visita domiciliare (DPCM 29/02/2020);
- Informa il paziente che sarà contattato da un operatore del Dipartimento di Prevenzione-U.O.P.C. di appartenenza;
- Segnala il caso con l'Allegato A al Dipartimento di Prevenzione – U.O.P.C. di appartenenza notifica.malattieinfettive@regione.campania.it e

ds(numero del distretto).uopc@pec.aslnapoli3sud.it (per la sorveglianza attiva, l'indagine epidemiologica e la disposizione dell'isolamento fiduciario fino al termine del potenziale periodo di incubazione) e richiede test con Allegato 2;

- effettua valutazione clinica telefonica e gestisce l'attesa della possibile evoluzione

3. Paziente riscontrato positivo al tampone per SARS-CoV-2 ed al momento asintomatico:

- impone quarantena domiciliare con sorveglianza attiva per 14 giorni (a cura del dipartimento di Prevenzione).
- Il PLS assieme al UOPC territorialmente competente in questa fase segue telefonicamente il bambino e raccomanda al genitore la misurazione della temperatura corporea esterna con termometro digitale da porre nel cavo ascellare per 60 secondi circa, due volte al giorno, per i 14 giorni successivi ed osserva l'evoluzione clinica del caso. Trascorsi i 14 giorni il PLS /MMG richiede test per la conferma di guarigione con compilazione dell'Allegato 3. Se il test risulta negativo richiede nuovo test (sempre con allegato 3) da eseguirsi entro 48-72 ore dal primo; se nuovamente negativo il bambino è definito guarito.

Se durante la sorveglianza, invece, insorgessero sintomi, in particolare quelli di tipo respiratorio, come ad esempio:

- sintomi simil-influenzali, quali tosse, malessere generale, mancanza d'aria, dolori muscolari;
- febbre superiore o uguale 38°C;

è necessario contattare tempestivamente il Dipartimento di Prevenzione/U.O.P.C. (recapiti telefonici in Allegato 2a) e il Team di Primo Filtro Pediatrico (tel. 348 26 37 031) della U.O.C. Malattie Infettive Pediatriche Policlinico Federico II. In quest'ultimo caso si compila la scheda di segnalazione (Allegato 4) da inviare al numero 081 74 64 597 e si discute del caso con il medico reperibile del Team.

(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

Da trasmettere a:
notifica.malattieinfettive@regione.campania.it
ds(numero del Distretto di appartenenza).uopc@pec.aslnapoli3sud.it

Allegato A

e p.c.: dippr@pec.aslnapoli3sud.it
sep.brusciano@pec.aslnapoli3sud.it

Modulo segnalazione di caso SOSPETTO – PROBABILE – CONFERMATO di SARS-CoV-2

Caso sospetto:

- 1- Una persona con Infezione respiratoria acuta (insorgenza improvvisa di almeno uno tra i seguenti segni e sintomi: febbre, tosse e difficoltà respiratoria)
E
senza un'altra eziologia che spieghi pienamente la presentazione clinica
E
storia di viaggi o residenza in un Paese/area in cui è segnalata trasmissione locale durante i 14 giorni precedenti l'insorgenza dei sintomi;
- oppure
2. Una persona con una qualsiasi infezione respiratoria acuta
E
che è stata a stretto contatto con un caso probabile o confermato di COVID-19 nei 14 giorni precedenti l'insorgenza dei sintomi;
- oppure
3. Una persona con infezione respiratoria acuta grave (febbre e almeno un segno/sintomo di malattia respiratoria- es. tosse, difficoltà respiratoria)
E
che richieda il ricovero ospedaliero (SARI)
E
senza un'altra eziologia che spieghi pienamente la presentazione clinica.

Tutti i pazienti con sintomatologia di infezione respiratoria acuta devono essere considerati casi sospetti se in quell'area o nel Paese è stata segnalata trasmissione locale. Le aree a rischio sono in aggiornamento continuo sul sito:
<https://www.ecdc.europa.eu/en/areas-presumed-community-transmission-2019-ncov>

Caso probabile:

- un caso sospetto il cui risultato del test per SARS-CoV-2 è dubbio utilizzando protocolli specifici di Real Time PCR per SARS-CoV-2 o è positivo utilizzando un test pan-coronavirus

Caso confermato:

- un caso con conferma di laboratorio effettuata presso il Laboratorio di riferimento dell'Istituto Superiore di Sanità per infezione da SARS-CoV-2, indipendentemente dai segni e dai sintomi clinici.

SEGNALATORE _____ TEL. _____

MAIL: _____

ANAGRAFICA PAZIENTE

Cognome _____ Nome _____

Sesso _____ Professione _____ Data di nascita _____

Domicilio/Residenza _____ Nazionalità _____

Data inizio sintomi _____ Dati clinici _____

Esami di laboratorio _____

✓

Medico segnalatore_(firma) _____



SCHEDA PER LA RICHIESTA DI TEST PER SARS-CoV 2

Struttura richiedente (Ospedale/Distretto/Uopc/Clinica Privata): _____

<input type="checkbox"/> Paziente	<input type="checkbox"/> Dipendente
CODICE FISCALE:	
Cognome:	Nome:
Data di Nascita:	Comune di nascita:
Indicare se soggetto esposto al Covid	SI NO
Presenza di patologie croniche	SI NO
Se soggetto in gravidanza indicare la data presumibile del parto	___/___/___

Domicilio

Comune:	Provincia:
Via/Piazza:	N°
Numero cellulare:	Numero telefono:

Residenza (se diversa dal domicilio)

Comune:	Provincia:
Via/Piazza:	N°

Sintomi

Asintomatico	Pauci-sintomatico	Lieve	Data Prelievo ___/___/___
Severo	Critico	Deceduto	

Collocazione

<input type="checkbox"/> Dipendente / Paziente	<input type="checkbox"/> Dipendente / Paziente a domicilio
<input type="checkbox"/> Paziente a domicilio	
<input type="checkbox"/> Paziente in reparto	Ospedale: _____
<input type="checkbox"/> Paziente in terapia intensiva	Data Ricovero: ___/___/___

Identificativo e firma del Medico/Operatore della struttura richiedente o delegato

Nome e Cognome _____ Cellulare _____

Medico ospedaliero. MMG/PLS/C.A.. Medico/operatore 118

Firma del richiedente



Dipartimento di Prevenzione

DIREZIONE

Corso Alcide De Gasperi,167 – 80053 Castellammare di Stabia

Tel 0818729080; fax 0818729502

E-mail dippr@asnapoli3sud.it PEC dippr@pec.asnapoli3sud.it

Sito: www.asnapoli3sud.it

UOPC 34	Portici	SPORTIELLO VINCENZO	Dir. Medico Responsabile a scavalco	3473602088 081/5509056 -081/5509055 081/5509057 ds34.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 48	Brusciano - Marigliano - Mariglianella – San Vitaliano - Castello di Cisterna- Somma Vesuviana	PARRELLA VINCENZO	Dir. Biologo	3334928999 081/8416606 081/8416628 081/8416619 ds48.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 49	Carbonara di Nola - Casamarciano - Liveri - Nola - San Paolo Bel Sito - Saviano - Scisciano - Visciano – Camposano, Cicciano - Cimitile - Comiziano - Roccarainola - Tufino	PARRELLA VINCENZO	Dir. Biologo Responsabile a scavalco	3334928999 081/8223604-081/8223614 ds49.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 50	Cercola- Pollena Trocchia - Volla - Massa di Somma	DELL'ANNO BRIGIDA	Dir. Medico - Resp. Pro Tempore	3494659333 081/7733509 ds50.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 51	Sant'Anastasia - Pomigliano d'Arco	PARRELLA VINCENZO	Dir. Biologo Responsabile a scavalco	3334928999 081/3296446/6455/6443- 081/3296444 ds51.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 52	San Giuseppe Vesuviano - Palma Campania - Poggiomarino - Terzigno - San Gennaro Vesuviano - Striano	TRINCHESE NICOLA MASSIMO	Dir. Medico - Resp. Pro Tempore	3392711515 081/8286822/23-081/8286822 ds52.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 53	Castellammare di Stabia	SCAFATO LOREDANA	Dir. Medico Responsabile a scavalco	3661302936 081/8729698/744/733/732 ds53.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 54	San Giorgio a Cremano - San Sebastiano al Vesuvio	SPORTIELLO VINCENZO	Dir. Medico Responsabile a scavalco	3473602088 081/5509258 ds54.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 55	Ercolano	FANARA FRANCESCO	Dir. Medico Responsabile a scavalco	3473602088 081/8490205 ds55.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 56	Torre Annunziata - Trecase - Boscotrecase - Boscoreale	FANARA FRANCESCO	Dir. Medico	3388656936 081/5352210-081/5352211 081/5352224 ds56.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 57	Torre del Greco	SPORTIELLO VINCENZO	Dir. Medico	3473602088 081/8490505 081/8490501081/8490509 ds57.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 58	Pompei - Sant'Antonio Abate - Santa Maria la Carità - Gragnano - Agerola - Pimonte - Lettere - Casola	SCAFATO LOREDANA	Dir. Medico	3361302936 081/8729698/660/661 ds58.uopc@pec.asnapoli3sud.it
UOPC 59	Sorrento - Vico Equense - Massa Lubrense - Piano di Sorrento - Sant' Agnello - Meta	FANARA FRANCESCO	Dir. Medico Responsabile a scavalco	3388656936 081/8729461-081/5331309 ds59.uopc@pec.asnapoli3sud.it



P.O. COTUGNO

Allegato 3 - Guarigione

RICHIESTA TEST PER CONFERMA GUARIGIONE SARS-CoV_2

PAZIENTE

COGNOME:		NOME:	
Data nascita	DOMICILIO Via/n.:		
COMUNE			PROVINCIA

RESIDENZA (se diversa dal domicilio) Via/n.:			
COMUNE			PROVINCIA
TEL 1		TEL 2	

SINTOMI (FEBBRE, TOSSE, AFFANNO)?:	SI <input type="checkbox"/> - No <input type="checkbox"/>	Data inizio sintomi	
------------------------------------	---	---------------------	--

<input type="checkbox"/> RICHIESTA I Test di verifica GUARIGIONE	DATA		
<input type="checkbox"/> RICHIESTA II Test di verifica GUARIGIONE	DATA		

<input type="checkbox"/>	Pz A DOMICILIO		
<input type="checkbox"/>	Pz IN REPARTO	OSPEDALE	PROV:

INDIRIZZO MAIL (o AL FAX) A CUI TRASMETTERE IL REFERITO:

Identificativo e firma del medico della struttura richiedente o delegato

Nome e Cognome _____ Cellulare _____

Medico ospedaliero MMG/PLS Medico operatore 118 Firma del richiedente

PARTE DA COMPILARE A CURA DEL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA P.O. COTUGNO		
PRESTAZIONI PSEGUITE	DATA	SITO

Contra e firma del Dirigente Sanitario una infettua la prestazione

**UOC Malattie Infettive Pediatriche – AOU Policlinico Federico II,
HUB Regionale per la gestione COVID pediatrica**

Scheda di segnalazione di caso sospetto o accertato di Infezione da Sars-Cov-2

DATI RELATIVI AL MEDICO COMPILANTE:

Cognome e Nome **Contatto telefonico**

Pediatra di Libera Scelta (Comune..... ASL di appartenenza.....)

Medico operatore 118

DATI RELATIVI ALL'ACCOMPAGNATORE

Tampone nasofaringeo per SARS-CoV-2 Positivo Negativo In attesa di referto Non praticato

Test rapido (IgM su spot di sangue) Positivo Negativo Non praticato

DATI RELATIVI AL PAZIENTE

Cognome..... **Nome**..... **Data di nascita** ___/___/___ **Sesso:** M F

Comune di nascita (se straniero indicare lo stato):..... **Telefono**

ASL di appartenenza

Domicilio Via **Comune** **Prov.**

□□□

Residenza (se diversa da domicilio) Via **Comune** **Prov.** □□□

DIAGNOSI

Tampone nasofaringeo per SARS-CoV-2 Positivo Negativo In attesa di referto Non praticato

Test rapido (IgM su spot di sangue) Positivo Negativo Non praticato

N° conviventi con infezione da SARS-CoV-2 accertata **N° conviventi con febbre e/o sintomatologia respiratoria**

N° tot conviventi **Contatto con soggetti con infezione accertata da SARS-CoV-2 al di fuori del nucleo familiare** Sì

No

Malattie di base: No Sì Quali

Inizio sintomi: Data ___/___/___

Parametri vitali: Freq. Card. bpm Freq. Resp. apm SatO₂ % **Temperatura**..... °C

Notizie cliniche:

Febbre Tosse Difficoltà respiratoria

Astenia/mialgia Congestione nasale/rinorrea Reperti auscultatori patologici

Faringodinia Sintomi gastrointestinali Altro.....

Radiografia del torace No Sì
(esito.....)

TC del torace No Sì
(esito.....)

Esami ematochimici alterati

Terapia farmacologia in atto **O₂ terapia** Sì No

Dimissione Invio a domicilio Ricovero in OBI Invio a Ricovero Ricovero in Terapia Intensiva

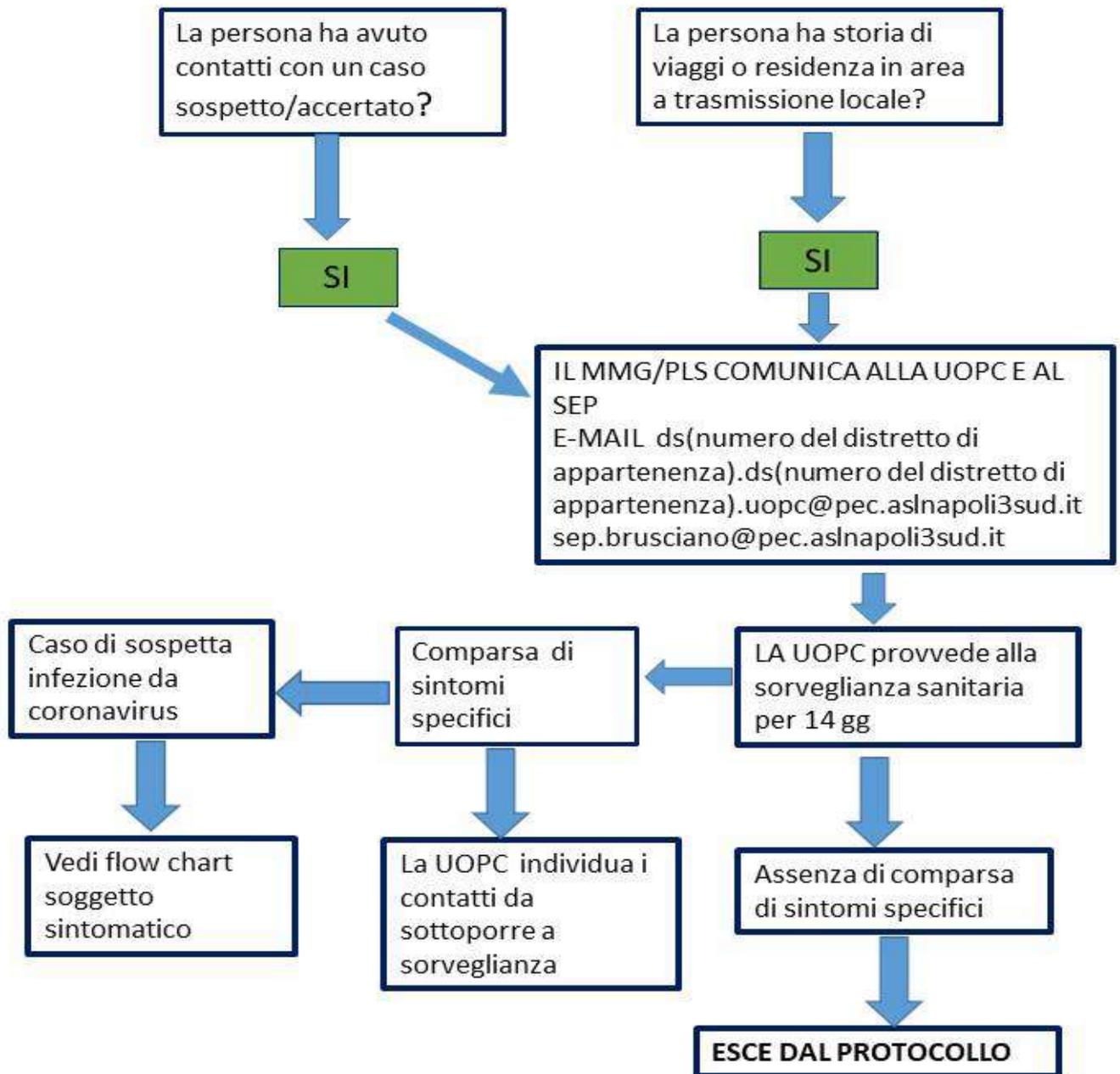
Data segnalazione: ___/___/___ **Timbro e Firma**

INVIARE SCHEDA COMPILATA via FAX al numero 081-7464597

o via MAIL a malattieinfettive.pediatria@gmail.com

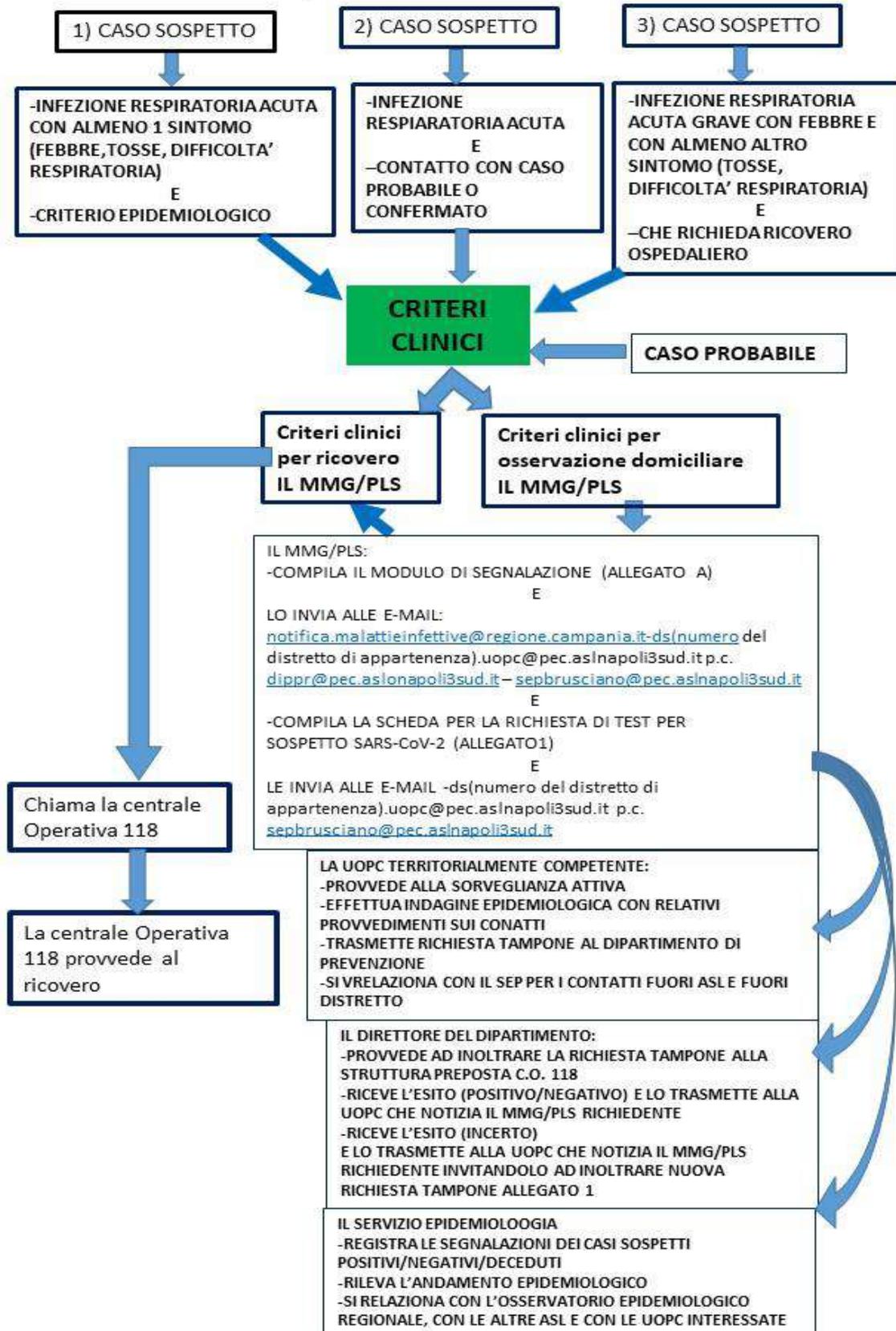
NUMERO MEDICO REPERIBILE "TEAM FILTRO PEDIATRICO" 3482637031

Gestione del sospetto di caso di infezione da COVID-19 asintomatico



N.B. OSSERVANO L'ISOLAMENTO FIDUCIARIO DOMICILIARE TUTTI COLORO CHE SONO OGGETTO DELLE DISPOSIZIONI MINISTERIALI E REGIONALI

Gestione del sospetto caso di infezione da COVID-19 sintomatico



O. Il pediatra di libera scelta e la gestione della pandemia tra territorio e ospedale (II e III livello assistenziale)

(A. D'Avino, G. Vallefucio)

La pandemia ha messo a dura prova il SSN che ha dovuto rispondere rapidamente ad un'emergenza di cui non si conoscevano l'intensità e la diffusione. I dati hanno comunque dimostrato un ridotto impatto minore gravità nell'infanzia e nell'adolescenza. Ciò nonostante la difficoltà maggiore è stata saper accogliere le preoccupazioni delle famiglie, sapersi orientare tra quadri clinici non distinguibili dalle comuni virosi a cui vanno incontro, soprattutto nella stagione invernale, tutti i nostri piccoli assistiti e infine coinvolgere i genitori nella osservazione clinica per saper poi riportare al pediatra dati precisi che permettessero le individuazioni di segni di allarme per i quali si rendessero necessari il tampone, la terapia o anche il ricovero.

Tutto ciò è stato possibile grazie al rapporto fiduciario con le famiglie e alla capillarità dell'assistenza che consente oggi al PLS di essere sempre vicino all'assistito.

Difatti, abbiamo tutti capito e rispettato quelle regole che all'improvviso hanno radicalmente cambiato il nostro modo di comunicare. Gli strumenti telematici (whatsapp, videochiamate, messaggi, teleconsulto) hanno contribuito a mantenere un contatto con le famiglie, condividendo con essa modelli assistenziali nuovi.

Il DL n° 14 del 9 Marzo 2020 al Capo II art. 8 istituiva le USCA (Unità speciali di continuità assistenziale) chiariva che occorre supportare l'assistenza territoriale sostenuta dai MMG e PLS che avrebbero dovuto, e devono tuttora, garantire l'assistenza ordinaria dialogando con le istituzioni aziendali (SEP, UOSE, USCA) per la gestione pandemica.

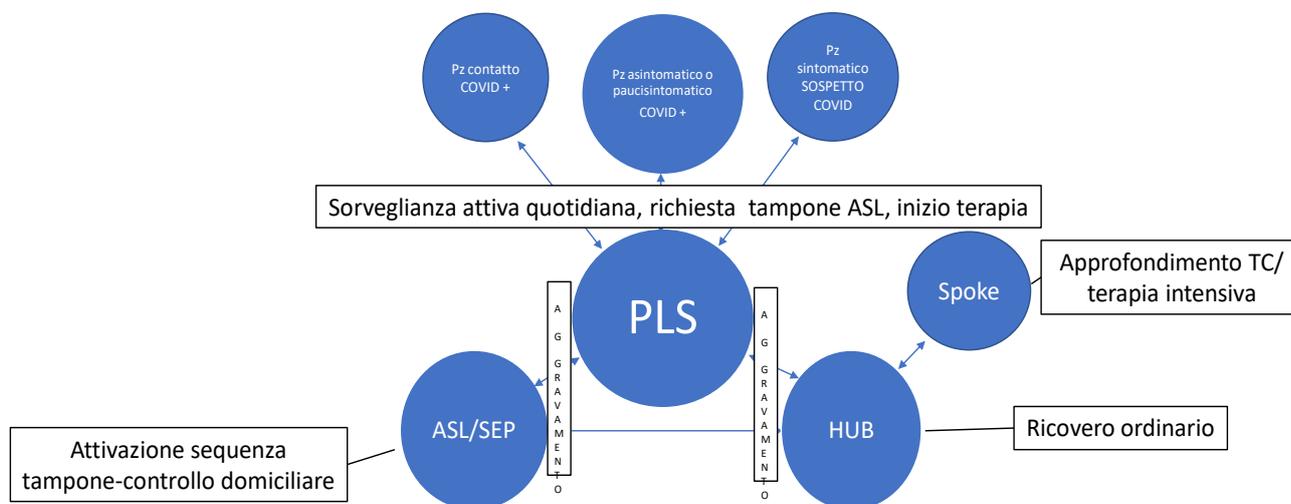
I PLS attraverso la costante contattabilità hanno continuato a gestire tutti le problematiche correlabili alla pandemia:

- a) piccoli con sintomi quali febbre, tosse, raffreddore senza contatto con soggetto COVID-19 positivo. Per questi piccoli scatta l'isolamento e la sorveglianza per verificare l'andamento del quadro clinico. Se c'è un peggioramento, o il quadro è stazionario, si attiva il SEP (o UOSE o Team) inviando la scheda Triage per eseguire tampone e/o visita domiciliare e/o ricovero;
- b) piccoli con contatti con familiari COVID-19 positivi. In questi casi la ASL (SEP o UOSE) comunicherà al PLS il minore che dovrà iniziare un isolamento fiduciario per 14 giorni. Il PLS attiverà la sorveglianza quotidiana e in caso di peggioramento attiverà la ASL per eseguire tampone e/o visita domiciliare e/o ricovero;
- c) pazienti COVID-19 positivi asintomatici o paucisintomatici: sorveglianza attiva quotidiana da parte del PLS con timing dei 2 tamponi di controllo per definire la guarigione o in caso di peggioramento richiesta di visita domiciliare o di ricovero (USCA).

Per i casi che richiedono ricovero la Regione Campania con nota in data 18/03/20 ha identificato la UOC Malattie Infettive Pediatriche – AOU Policlinico Federico II come "HUB" per la gestione dei

pazienti COVID-19 pediatrici sospetti o accertati e soprattutto definendo la struttura universitaria come luogo di ricovero ordinario, mentre i casi più critici che hanno bisogno di indagini strumentali più approfondite o di assistenza intensiva vengono inviati all'Ospedale Santobono (Spoke)

FLOW CHART DI INTERVENTO COVID PLS-ASL-HUB/SPOKE nella gestione del paziente COVID-19



(Ultimo aggiornamento 12 maggio 2020)

P. Isolamento. Quali sono le norme per l'isolamento domiciliare fiduciario per SARS-CoV-2? E se qualcuno violasse le norme di isolamento?

(A. De Prosperis, P. Gallo, C. Sannino)

Con il **Decreto ministeriale del 26 febbraio 2020**, adottato dal **Ministero della Salute**, è stato approvato lo schema di ordinanza relativo alle misure di contenimento della diffusione del **COVID-19** che avrebbero adottato tutte le Regioni che, fino ad allora, non erano state toccate dal contagio. Questo documento conteneva indicazioni sia per i cittadini che per i **Medici di Medicina Generale /Pediatri di Libera Scelta** ed aveva lo scopo di permettere ai medici sul Territorio di evitare i rischi di un'eventuale esposizione al virus (derivanti da una visita ambulatoriale o domiciliare con soggetti a rischio) sollevandoli allo stesso tempo da eventuali responsabilità derivanti dall'eventuale adozione della certificazione pur in assenza dell'effettivo svolgimento della visita. Era infatti previsto un percorso in cui il MMG/PLS non si assumeva in toto la responsabilità della decisione ma le sue valutazioni dipendevano dall'accertamento svolto dall'**operatore di Sanità Pubblica e/o i servizi di Sanità Pubblica competenti per il territorio** (**Epidemiologia/118/Ospedale COVID**).

P1. Isolamento domiciliare, quando scatta la misura ?

L'isolamento è una misura coatta volta a ridurre la diffusione del virus e prevede l'allontanamento di una o più pazienti infetti o sospettati di esserlo dalle altre persone non contagiate.

L'isolamento può essere spaziale (spostamento ed isolamento di un singolo paziente all'interno di una stanza senza possibilità di contatti con l'esterno), oppure di coorte (spostamento ed isolamento di un intero gruppo di pazienti affetti dalla stessa infezione).

Scatta per:

1) Le persone positive al coronavirus. Anche a seguito di dimissioni dall'ospedale (in caso di ricovero) e comunque di guarigione, fino a esito negativo di nuovo test;

2) I loro contatti stretti. Vale a dire in tutti i casi di:

- **convivenza** con un soggetto positivo a COVID-19;
- **contatto fisico diretto** con una persona infetta (anche se asintomatica, anche solo una stretta di mano);
- **interazione non protetta** con le secrezioni di un paziente COVID-19 (es. manipolazione senza guanti di fazzoletti o altri oggetti usati);
- **contiguità vis-à-vis** con una persona infetta, a distanza minore di 2 metri, per almeno 15 minuti;

- **compresenza in un ambiente chiuso** (es. aula, sala riunioni, sala d’attesa) con un caso COVID-19, a distanza minore di 2 metri, per almeno 15 minuti;
- **assistenza diretta** a un caso COVID-19 o manipolazione di suoi campioni di COVID-19 senza l’impiego dei dispositivi di protezione individuale (DPI) raccomandati (o mediante l’utilizzo di DPI non idonei);
- **precedente viaggio** in aereo nei due posti adiacenti (nelle 4 direzioni) a un caso COVID-19. L’isolamento va esteso agli addetti all’assistenza e ai membri dell’equipaggio, addirittura a tutti i passeggeri nei casi di sintomatologia grave del passeggero infetto o di suoi spostamenti all’interno del veicolo durante il viaggio.

P2. Isolamento, quanto dura?

In assenza di sintomi, l’isolamento va mantenuto per (almeno) 14 giorni dall’ultimo contatto della persona isolata con quella positiva a Coronavirus.

In caso di sintomi, l’isolamento dipende dal risultato del tampone:

- **se il test è positivo, l’isolamento si prolunga fino alla negativizzazione del test e alla scomparsa dei sintomi;**
- **se negativo, si segue la prassi degli asintomatici (14 giorni dall’ultimo contatto con persona infetta).**

Igiene respiratoria

L’igiene respiratoria deve venire seguita da tutti, in questa fase di emergenza. A maggior ragione in casi di sintomi di infezione delle vie respiratorie. Il soggetto isolato, in particolare, deve:

- **usare la mascherina** chirurgica in presenza di altre persone;
- **coprire naso e bocca** con fazzoletti in caso di starnuti e tosse (o tossire nel gomito). I fazzoletti, preferibilmente in carta, vanno smaltiti in un doppio sacco impermeabile da porre in una pattumiera chiusa che non richieda il contatto con le mani per l’apertura (es. apertura a pedale). Se i fazzoletti sono di stoffa, devono venire maneggiati con i guanti e lavati in lavatrice a 60-90° usando comune detersivo. Dopo l’uso del fazzoletto, le mani devono venire immediatamente lavate con acqua e sapone o frizionate con prodotto idro-alcologico.

P3. Isolamento

Il soggetto in isolamento deve seguire con scrupolo le istruzioni fornite dall’ISS, in conformità alle linee guida internazionali:

1) limitare ogni tipo di contatto (diretto e indiretto). La persona sottoposta a isolamento deve limitare al minimo indispensabile i movimenti negli spazi comuni dell'abitazione, mantenere una distanza di almeno un metro ed evitare ogni contatto diretto con gli altri,

2) vivere in isolamento. Il soggetto deve rimanere in una stanza dedicata e ben ventilata, dormire da solo, usare un bagno dedicato ove possibile. Altrimenti, dopo l'utilizzo da parte della persona isolata, disinfettare le sue superfici con soluzione con 0,5% di cloro attivo (es. candeggina) o idroalcolica (alcol al 70%),

3) no oggetti condivisi. Evitare ogni possibile via di esposizione mediante oggetti condivisi (es. asciugamani, salviette o lenzuola, piatti, bicchieri, posate, etc). Le stoviglie vanno lavate con cura, in lavapiatti se possibile.

Igiene dell'ambiente di isolamento

Pulizia costante. Almeno una volta al giorno, le superfici dei locali utilizzati dal soggetto in isolamento devono venire pulite con detergenti e successivamente disinfettate. Chi esegue la pulizia deve:

- **fare ventilare la camera** prima di entrarvi (nota aggiunta da chi scrive);
- **indossare** un camice monouso (o un grembiule dedicato da riporre a parte dopo l'impiego) e guanti monouso (o guanti in gomma spessa riutilizzabili, da disinfettare dopo l'uso);
- **lavare con cura** prima le mani, poi il viso con acqua e sapone o soluzione idroalcolica per le mani.

Monitorare i sintomi

Auto-monitoraggio delle condizioni di salute. Il soggetto in isolamento deve:

- **misurare** e annotare la temperatura corporea 2 volte al giorno;
- **segnalare al Medico di Medicina generale o al Pediatra di Libera scelta** (e all'operatore di sanità pubblica) l'insorgenza di nuovi sintomi o variazioni significative dei sintomi preesistenti;
- **in caso di aggravamento**, deve indossare la mascherina chirurgica e allontanarsi dai conviventi, rimanendo nella propria camera con la porta chiusa, in attesa del trasferimento in ospedale ove necessario e possibile

Limitare il contatto con gli animali.

Al momento non esistono prove che animali come cani o gatti possano a loro volta trasmettere il virus. A scopo puramente precauzionale si suggerisce alle persone isolate di limitare il contatto con gli animali, così come si fa con i membri del nucleo familiare. (Fonte: ISS)

Conviventi, le precauzioni necessarie

I **conviventi** e le persone che assistano la persona in isolamento devono a loro volta adottare apposite precauzioni per evitare il contagio:

- **ridurre al minimo essenziale** il contatto diretto con il soggetto isolato;
- **usare i guanti** in caso di contatto con secrezioni respiratorie, feci o urine. Provvedere a loro smaltimento (in doppio sacco impermeabile) in pattumiera chiusa e a successivo accurato lavaggio delle mani.

Le raccomandazioni per coloro che assistono

Coloro che assistono la persona in isolamento a distanza ravvicinata – ovvero si occupano della rimozione e sostituzione della biancheria – devono indossare:

- un dispositivo **di protezione individuale (DPI) per coprire il viso (respiratore N95 tipo FFP2 o FFP3. O una mascherina chirurgica, in sua assenza.** Con attenzione a non toccarlo durante l'utilizzo, smaltirlo in contenitore chiuso o dopo l'impiego;
- **un paio di guanti** (da smaltire in contenitore chiuso, se monouso, o disinfettare se in gomma spessa);

La biancheria del soggetto in isolamento deve venire collocata in un sacco chiuso e gestita separatamente da quella dei conviventi. Deve venire lavata in lavatrice a 60° per almeno 30 minuti, o a temperature superiori in tempi più brevi, con comune detersivo;

I rifiuti prodotti dal soggetto in isolamento o dall'assistenza a esso prestata devono venire smaltiti in doppio sacchetto di plastica da chiudere e smaltire in pattumiera chiusa.

I compiti dell'operatore di sanità pubblica

Gli operatori sanitari competenti per territorio prescrivono l'isolamento domiciliare e forniscono le mascherine chirurgiche ai soggetti che vi sono sottoposti. L'operatore sanitario deve:

- **accertare** le condizioni di salute (eventuale febbre o altri sintomi) del soggetto da porre in isolamento e dei suoi eventuali conviventi;
- **informare** la persona su sintomi, contagiosità e modalità di trasmissione, misure da attuare per proteggere gli eventuali conviventi.

Il monitoraggio **quotidiano delle condizioni di salute dei soggetti in isolamento a domicilio è in carico all'operatore di sanità pubblica, in collaborazione con il Medico di Medicina generale o il Pediatra di libera scelta.**

I servizi di sanità pubblica competenti per territorio devono garantire un numero di telefono a disposizione dei soggetti in isolamento domiciliare, per favorire il monitoraggio e abbreviare al minimo i tempi di risposta. (Fonte ISS).

P4. E se qualcuno interrompesse il periodo di Isolamento Fiduciario prima dei 14 giorni?

L'interruzione volontaria dell'isolamento Fiduciario, premesso che l'isolamento Fiduciario istituito dal **DPCM del 4 marzo 2020** dispone lo stato di isolamento per 14 giorni dall'ultima esposizione ad eventuale contagio da Covid-19, viene perseguita ai sensi di due norme giuridiche l'una sovrapposta cronologicamente all'altra:

1) La prima è l'art. 260 del Regio Decreto 1265/1934, inserito nel Testo Unico delle Leggi Sanitarie, secondo cui: "Chiunque non osserva un ordine legalmente dato per impedire l'invasione o la diffusione di una malattia infettiva dell'uomo è punito con l'arresto fino a 6 mesi e con l'ammenda da lire 40.000 a 800.000. Se il fatto è commesso da persona che esercita una professione od un'arte sanitaria la pena è aumentata".

2) La seconda è l'art.650 del Codice Penale che recita: " Chiunque non osserva un provvedimento legalmente dato dall'Autorità per ragione di giustizia o di sicurezza pubblica o d'ordine pubblico o igiene, è punito se il fatto costituisce più grave reato, con l'arresto fino a 3 mesi o con l'ammenda fino a 206 euro".

È dovere deontologico, per il PLS, effettuare segnalazione all'Autorità Sanitaria preposta nell'arco temporale di 48 ore.

È gioco forza far riferimento all'art.650 nella disamina delle sanzioni previste, in caso di prescrizione di Isolamento Fiduciario.

P5. E se qualcuno interrompesse la quarantena prima dei 14 giorni?

La quarantena o contumacia è una misura sanitaria che prevede la segregazione obbligatoria di una o più persone, ritenute possibili portatori dell'agente infettivo, all'interno delle proprie abitazioni, allo scopo di prevenire i contagi. La sua durata è variabile e corrisponde al periodo d'incubazione della patologia infettiva. **Per SARS-COV-2 è di 2 settimane**, ma può essere prolungata fino a diverse settimane e mesi quando la misura precauzionale riguarda intere città e paesi.

Le disposizioni sanzionatorie contenute nel D.L. n. 19 del 25/03/2020 hanno di fatto superato le disposizioni contenute nel D.L. n. 6 del 23/02/2020 che richiamavano il reato di violazione dell'art. 650 del C.P. (contravvenzione punita con l'arresto fino a 6 mesi e con l'ammenda fino a euro 206,00) prevedendo contestazioni di reato ben più gravi, configurandosi il reato di epidemia colposa.

La violazione della quarantena, intesa come misura di salute pubblica imposta dallo Stato, è sancita dal Diritto Penale (art.4 comma 6 D.L. 25.03.2020 n.19), che prevede l'arresto da 3 mesi a 18 mesi con ammenda da 500 a 5000 euro. Ove non si configuri reato (comma 1), la pena è amministrativa (400-3000 euro), aumentata di 1/3 in caso di uso di veicolo e del doppio in caso di reiterazione.

(Ultimo aggiornamento 20 maggio 2020)

Q. L'ENPAM tutela il PDF nell'esercizio delle sue funzioni in corso di pandemia da SARS-CoV-2? Con quali misure?

(A. D'Avino, A. De Prosperis, D. Vicedomini)

Misure di tutela della salute PLS in corso di epidemia da COVID-19

ISOLAMENTO FIDUCIARIO: è al momento (dal 9 marzo 2020) abolito per qualsiasi medico.

QUARANTENA: si sospende l'attività solo in presenza di sintomi o di tampone RT-PCR positivo. In entrambi i casi l'ENPAM sostiene le spese di sostituto previa presentazione della fattura od un'indennità giornaliera di 82,78 euro al giorno per il periodo relativo.

MALATTIA: la polizza 30 giorni stipulata dal PLS con una Compagnia Assicurativa copre il primo mese, poi dal 31 giorno e per 24 mesi (non continuativi), fino a 48 mesi, interviene l'ENPAM con un Assegno di Malattia pari al 62,5% del compenso lordo medio degli ultimi tre mesi lavorativi, nonché l'80% del reddito dichiarato in Quota B. **N.B. SALUTE MIA (POLIZZA SANITARIA ENPAM) OFFRE BONUS DI 5000 EURO PER CONVALESCENZA-COVID SE ISCRIZIONE ENTRO IL 31 MAGGIO '20,**

Misure di tutela del dipendente PLS in corso di epidemia da COVID-19

Attualmente lo smart working è la forma di lavoro preferenziale e richiede una semplice comunicazione al Ministero del Lavoro, senza l'accordo sottoscritto tra Datore di lavoro e Dipendente.

Ove lo smart working non fosse praticabile il Dipendente verrebbe messo in ferie forzate, con utilizzo preliminare dei permessi retribuiti.

In alternativa potrebbe scattare la Cassa Integrazione in Deroga per 9 settimane prevista però solo per sospensione dell'attività o riduzione dell'orario di lavoro. La retribuzione della CID è pari all'80 per cento di quella usuale ed è versata, come i contributi, dall'INPS.

In caso di malattia o quarantena (che è ad essa equiparata, però la quarantena è seguita dall'INAIL e l'isolamento fiduciario dall'INPS) va fatto stilare lo specifico modulo malattia COVID dal MMG. Si ricorda che in caso di malattia il dipendente degli studi professionali riceve come retribuzione:

- dal 1° al 3° giorno: quota giornaliera regolare attribuita dal Datore di lavoro
- dal 4° al 20° giorno: il 75 % della retribuzione giornaliera, versata dall'INPS
- dal 20° al 180° giorno: il 100% della retribuzione giornaliera, pagata dall'INPS per il 66,66 % ed il resto dal datore di lavoro

I contributi sono figurativi, cioè risultano, ma non sono pagati dal Datore di lavoro, bensì dall'INPS.

