Viaggio all'Istituto Zooprofilattico di Teramo, uno dei principali in cui si studiano le mutazioni di Sars-Cov-2 per capire come si muove l'epidemia. Pronta una piattaforma che mostra in tempo reale la distribuzione dei ceppi

di **Cristina Marrone**

Così si va a caccia delle varianti del virus

All'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise(IZSAM) di Teramo la caccia alle varianti del coronavirus è partita già nel marzo del 2020, poco dopo lo scoppio della pandemia. Quando l'Italia è piombata nell'emergenza l'Istituto, che dal 2017 è Centro di Referenza Nazionale per le Sequenze Genomiche di microrganismi patogeni, ha infilato le analisi dei tamponi molecolari per rilevare il virus Sars-CoV-2 (finora ne sono stati processati mezzo milione) e quasi contemporaneamente ha avviato l'analisi genomica per mappare le varianti. Il virus originale cinese ha circolato pochissimo nel nostro Paese: già nelle prime settimane di emergenza circolavano varianti diverse. «Depositiamo le sequenze in tempo reale condividendo in banca dati le informazioni» spiega Nicola D'Alterio, direttore generale dal 2019. Alcune regioni condividono le informazioni con ritardo anche di mesi. «Ma la tempestività nell'individuare mutazioni e disegnare la mappa delle varianti sul territorio è fondamentale per adeguarsi alla lotta e capire con anticipo come si muove l'epidemia, così da poter eventualmente ritarare il sistema di diagnosi, adeguare i vaccini, testare farmaci monoclonali, intercettare cambiamenti nella patogenicità e capacità di diffusione del virus» sottolinea D'Alterio.

Impegno internazionale

Da Teramo arriva il 16% dei sequenziamenti fatti in Italia e l'Istituto si occupa dell'analisi genomica anche per Grecia, Slovenia, Estonia, Romania, Repubblica Ceca. I dati dell'Istituto sono conservati in server, con un recovery ogni due ore in un altro sito identico, in un luogo segreto a 300 chilometri di distanza.

Il percorso

Nel padiglione dove i tamponi molecolari fanno il loro ingresso prima ci si occupava di sicurezza alimentare. Adesso c'è il laboratorio Covid. Al primo step gli operatori, con il compito di disattivare il virus, lavorano «in bio-bolla», protetti da camici impermeabili, mascherine di tipo N95, visiere e calzari. Da qui i campioni (i dati del paziente sono accoppiati a un codice a barre) passano alla fase di estrazione dell'acido nucleico virale (Rna). «I tamponi con il virus inattivato sono inseriti in una piastra che ne può contenere fino a 96 alla volta. In questa fase, che dura 23 minuti, viene estratto l'Rna e scorporato da altri elementi cellulari» spiega Michela Toro, biologa incaricata della diagnostica Covid. Una volta estratto l'Rna avviene l'analisi molecolare. La procedura dura un'ora: più la carica virale è alta più il risultato di positività arriva in fretta

L'esperto risponde ai lettori su forumcorriere.corriere.it/malattie-infettive

Diagnosi

L'analisi del tampone va a cercare tre diversi geni-target nell'Rna del virus denominati S, N e Orf. Quando tutti i tre siti sono presenti siamo di fronte a una variante riconosciuta in pieno dal nostro sistema diagnostico. «Con un S negativo al 90% si tratta di variante inglese, ma serve sequenziare il genoma per ulteriore conferma» puntualizza D'Alterio. «Abbiamo però trovato di recente tre pazienti N negativi: sono stati infettati con una "figlia" della variante spagnola (dominante in Europa in autunno) caratterizzata da una mutazione nuova nel gene N». Questo cambiamento potrebbe mettere in crisi la diagnosi con tampone dal momento che N è uno dei tre siti cercati. È come se il virus si togliesse il nastro per i «capelli»(N) e poi anche le «scarpe» (S). Il tampone molecolare che va a cercare quelle caratteristiche nel virus non le trova più. Ma che cosa succederebbe se il virus si liberasse anche degli «occhiali»(Orf)? Con tre target negativi il risultato sarebbe un tampone negativo anche se il virus è ancora presente, solo che è diverso. «Non siamo a questo punto — precisa il direttore — ma questi cambiamenti vanno tenuti d'occhio con l'indagine genomica, che ci racconta dove sta mutando il virus, così da poter eventualmente ridisegnare il test molecolare».

Carica virale

Possono essere sequenziati solo tamponi ad alta carica virale perché è un'operazione che richiede molto materiale. L'IZSAM punta a farlo su almeno il 10% dei campioni utilizzabili. In questa fase viene amplificato tutto il genoma del virus. «La lettura del genoma fornisce informazioni complete sulle nuove varianti» aggiunge Cesare Cammà, responsabile del laboratorio di Biologia Molecolare e referente del Centro nazionale per la sequenza genomica e analisi bio-informatiche. Cammà fa un esempio per farsi capire: «Per identificare un libro va letto tutto perché molte parole sono comuni ad altri libri e funziona così anche per le varianti del coronavirus».

Ritmo di lavoro

La macchina che fa l'indagine genomica lavora 24-30 ore per terminare il sequenziamento. «Basta un campione preparato male o un reagente non caricato per errore a compromettere il processo» sottolinea Cammà. E succede che scattino allarmi anche nel cuore della notte se c'è qualcosa che non va. «A oggi possiamo sequenziare 384 campioni contemporaneamente, ma ci stiamo attrezzando per poter fare 750 indagini genomiche a settimana e diventare così un hub nazionale» specifica D'Alterio. È proprio nella fase finale dell'indagine genomica che viene assegnata con certezza una variante. Grazie a queste indagini è stato individuato (e bloccato) il primo focolaio di variante inglese a Guardiagrele a dicembre. «Cerchiamo se ci sono mutazioni in posizioni importanti come 501, 484, 417 della proteina S che destano preoccupazione— spiega il virologo Alessio Lorusso — ma anche variazioni nelle proteine non strutturali. È già successo per altri coronavirus che la perdita della funzionalità di alcune proteine accessorie ha comportato un notevole depotenziamento del virus, ma purtroppo non abbiamo ancora trovato nulla in questo senso».I dati sono infine caricati sulla banca dati internazionale GisAid . A Teramo è già pronta una piattaforma che mostra in tempo reale la diffusione delle diverse varianti in Abruzzo per capire come si diffondono nelle varie zone: quello che l'Istituto Superiore di Sanità vorrebbe fare a livello nazionale con un Consorzio. «La piattaforma l'abbiamo già — precisa il direttore— in una settimana siamo in grado di implementarla per tutta l'Italia se le regioni condividono i dati».

> **Con l'analisi del campione si intuisce l'infezione da variante inglese ma serve la conferma genomica**

Intelligenza artificiale

Come prevedere lo scoppio di focolai di malattie infettive

I cambiamenti climatici e ambientali causati dall'uomo influenzano la diffusione delle malattie trasmesse da vettori come ad esempio zanzare, zecche, pulci. La globalizzazione fa sì che malattie come Dengue, Zika, Chikungunya, Malaria si diffondano anche in aree indenni, spostandosi in breve tempo di migliaia di chilometri. In presenza di condizioni eco-climatiche favorevoli, i vettori presenti sul territorio, possono permettere quindi al virus di circolare. Ma è possibile prevedere lo scoppio di focolai di malattie infettive veicolate da zanzare o altri insetti? Si sta facendo al centro studi malattie esotiche dell'IZSAM di Teramo in collaborazione con il Laboratorio di Intelligenza Artificiale dell'Università di Modena e l'Agenzia Spaziale Europea. I dati e le immagini satellitari permettono di ricavare parametri come temperatura, umidità, indice di vegetazione, presenza di acqua. Tutti fattori che, uniti ai risultati del monitoraggio degli insetti e dei virus da essi trasmessi, vengono elaborati attraverso tecniche di Intelligenza Artificiale per ottenere mappe di rischio e prevedere con un anticipo di almeno due settimane le aree geografiche dove è più probabile l'insorgenza e la diffusione delle malattie. «Questo modello ha correttamente individuato l'anticipo della stagione epidemica di West Nile che si è osservato nel 2018 e che ha interessato l'Emilia Romagna e altre regioni confinanti» spiega Nicola D'Alterio, Direttore Generale dell'Istituto Zooprofilattico di Teramo. Uno dei vantaggi è poter allertare per tempo non solo i Servizi Sanitari che effettuano le attività di sorveglianza previste nel Piano Arbovirosi disposto dal Ministero della Salute, ma anche i centri trasfusionali che possono così eseguire test sui donatori in modo tempestivo.

C.Mar.

65
per cento i tamponi eseguiti in Abruzzo processati dall'Istituto di Teramo

600
I dipendenti dell'IZSAM. Il 65% sono laureati, il 60% donne; 44 anni l'età media