

Accademia Nazionale dei Lincei

Commissione Salute

1

SECONDO RAPPORTO COVID-19

Aprile 2020

A cura di

Maurizio Cecconi, Guido Forni, Alberto Mantovani

in ordine alfabetico

Una prima versione di questo Rapporto è stata preparata il 25 Marzo 2020. La Commissione Salute prevede di continuare ad aggiornare questo documento con cadenza mensile.

I pareri espressi dalle Commissioni Lincee rientrano nella loro autonoma responsabilità.

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

1 Maggio 2020

Premessa.

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

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

Con una metafora, si può dire che stiamo sperimentando una *medicina di guerra* ed una *ricerca di guerra*. Troppo spesso siamo chiamati a rispondere al dramma dei pazienti con approcci empirici. Nonostante queste limitazioni, una valutazione rigorosa dei dati rimane e diventa sempre più un obbligo assoluto. Trovare un equilibrio tra le emergenze e il rigore metodologico diventa la sfida centrale ¹.

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

1. Il virus SARS-CoV-2

Il virus. La malattia da Coronavirus 2019, conosciuta con la sigla COVID-19, è causata dall'infezione da parte di un coronavirus chiamato SARS-CoV-2. I coronavirus sono una grande famiglia di virus i quali provocano malattie che vanno dal comune raffreddore invernale a malattie molto più gravi come la Sindrome Respiratoria del Medio Oriente, conosciuta con la sigla MERS, la Sindrome Respiratoria Acuta Grave o SARS, e la COVID-19 appunto. Il capside del virus SARS-CoV-2 è costituito da quattro proteine strutturali, conosciute come Spike, Envelope, Membrane e Nucleocapsid. La grande proteina Spike (S), che forma una specie di corona sulla superficie delle particelle virali, agisce come una vera e propria "ancora" che consente l'attracco del virus ad un recettore espresso sulla membrana delle cellule dell'ospite, il recettore ACE2 (*Angiotensin-Converting Enzyme 2*) ². Una volta avvenuto

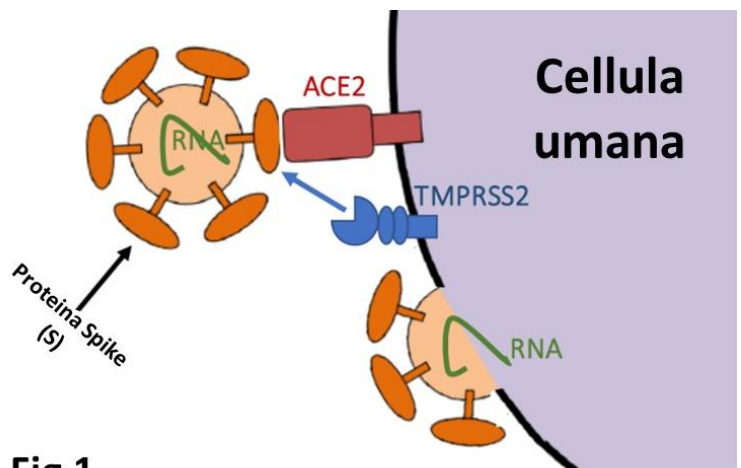


Fig.1

l'attracco, un enzima proteolitico, la TMPRLRSS2 (*Transmembrane Protease Serine 2*) espressa sulla superficie della cellula dell'ospite taglia la proteina Spike e, permettendo la fusione tra la membrana della cellula e quella del virus, consente al virus di entrare all'interno della cellula³ (Fig. 1⁴, si veda anche il punto 5. *Fattori predisponenti*). Una volta penetrato all'interno, il virus sfrutta per moltiplicarsi i meccanismi funzionali della cellula che muore liberando milioni di nuovi virus.

L'infezione. La malattia COVID-19 inizia con l'arrivo delle particelle virali SARS-CoV-2 sulle superfici della mucosa del naso e della gola che esprimono sulla loro superficie una gran quantità dei recettori ACE2. Alcuni meccanismi umorali dell'immunità innata ed il muco secreto dalle cellule caliciformi formano una prima, efficace linea di difesa⁵. Se il virus riesce a superare questa reattività naturale, l'immediata messa in circolo di segnali di pericolo da parte dei "leucociti sentinella" associati alle mucose attiva una rapida ed intensa reazione infiammatoria da parte delle cellule dell'immunità innata. Non sappiamo ancora se e quante particelle virali SARS-CoV-2 vengano eliminate da questa reazione infiammatoria, tuttavia è probabile che la maggiore o minore efficacia di questa reazione iniziale abbia un'importanza cruciale nel determinare se l'infezione sarà più lieve o più grave⁵. Una volta che il virus è entrato dentro la cellula, l'RNA virale viene immediatamente tradotto dalla cellula infetta che inizia a produrre le proteine virali. Successivamente, la cellula infetta muore liberando milioni di nuove particelle virali che iniziano ad invadere altre cellule.

Diffusione dell'infezione. I coronavirus possono essere trasmessi orizzontalmente tra animali e, verticalmente, tra animali e persone, cioè i coronavirus sono *zoonotici*. Negli ultimi vent'anni un coronavirus ha effettuato almeno tre volte il cosiddetto "salto di specie" passando dal suo ospite naturale alla specie umana: il virus SARS-CoV nel 2003 in Cina; il virus MERS-CoV in Medio Oriente, nel 2012; il virus SARS-CoV-2 a Wuhan, di nuovo in Cina, alla fine del 2019. È probabile che, come già accaduto per gli altri coronavirus, anche nel caso del SARS-CoV-2 l'ospite originale fosse il pipistrello. Nel mondo ci sono oltre 1,200 specie di pipistrelli che, nel loro insieme, rappresentano il 20% delle specie di mammiferi della terra, un enorme serbatoio di virus. Si ritiene che per il passaggio di un coronavirus da un pipistrello dall'uomo sia necessario un ospite intermedio. Nel caso del virus della SARS l'ospite è stato lo zibetto, per il virus della MERS è stato il dromedario, sconosciuto ma forse il pangolino per il virus SARS-CoV-2. Il pangolino è un animale in via d'estinzione che viene attivamente cacciato e commercializzato per le squame di cheratina, che sono un importante ingrediente della medicina tradizionale cinese, e per la sua carne che, in Cina e in Viet Nam, è considerata una prelibatezza⁶.

Durante l'autunno 2019, varie polmoniti ad eziologia sconosciuta sono state diagnosticate in persone in qualche modo collegate al mercato del pesce e di animali vivi della città di Wuhan, nella provincia di Hubei in Cina. Dal liquido del lavaggio bronco-alveolare di questi pazienti è stata isolata la nuova variante del virus (il SARS-CoV-2). Il genoma del virus è stato rapidamente sequenziato dagli scienziati cinesi che hanno resa pubblica la sequenza dell'RNA virale⁷.

L'epidemia causata dal SARS-CoV-2 ha continuato a diffondersi e il 30 gennaio 2020 è stata dichiarata *emergenza di sanità pubblica di interesse internazionale*⁸.

del polmone profondo, i nuovi dati mettono in evidenza che ciò avviene anche nelle cellule della mucosa del tratto respiratorio superiore. Il virus può replicarsi anche nelle cellule della mucosa del tratto gastrointestinale e ciò può causare, in alcuni pazienti, l'insorgenza di sintomi diarroici. Nelle feci delle persone infette la carica virale è bassa e, in genere, il virus non è infettivo anche se l'RNA virale è presente¹⁰. Questo è un dato importante perché la determinazione della quantità di RNA virale presente nelle acque nere prima dei trattamenti può permettere una valutazione della reale entità dell'epidemia da SARS-CoV-2 in una popolazione¹⁷.

Il virus che viene diffuso come aerosol nell'aria dal normale respiro può persistere per alcune ore¹⁸. Le goccioline emesse con la tosse, con lo starnuto e con il parlare si possono depositare su varie superfici dove il virus può rimanere infettivo per ore, financo un giorno. È quindi possibile che una persona si possa infettare toccandosi la bocca, il naso o gli occhi dopo aver captato il virus da una di queste superfici^{10, 18}.

I gatti possono venire infettati dal virus SARS-CoV-2. Tuttavia, la carica virale rilasciata dai gatti che sono stati sperimentalmente infettati sembra essere troppo bassa perché ci possa essere il rischio di trasmissione agli esseri umani. Non ci sono prove di infezione trasmessa da gatti domestici anche in casi di contatti ripetuti con le persone con cui vivono¹⁹. I cani, invece, hanno una bassa suscettibilità all'infezione da parte del virus SARS-CoV-2¹⁹. Questo virus si replica stentatamente nei maiali, nei polli e nelle anatre, mentre i furetti sono altamente sensibili all'infezione²⁰. Invece, la diffusione della pandemia potrebbe costituire un serio pericolo per le grandi scimmie antropomorfe²¹.

3. Strategie per il contenimento dell'infezione.

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

Imposizione di blocchi. Sulla base dell'esperienza cinese, attualmente blocchi (cosciuti come *lockdown*) di vario grado della mobilità delle popolazioni sono in atto nei diversi paesi del mondo. I blocchi si basano sulla chiusura dei confini nazionali, sulla limitazione della circolazione all'interno di uno stato o provincia, sull'isolamento delle persone infette, sul tracciamento dei contatti e sul distanziamento fisico delle persone. Il distanziamento fisico, che costituisce la base delle strategie di blocco, riveste un'importanza centrale nel rallentare la trasmissione del contagio riducendo il "numero di riproduzione di base" (R_0). Ma, poiché il distanziamento fisico delle persone ha un costo molto elevato, sia per quanto riguarda la vita sociale sia per quanto riguarda l'andamento dell'economia, l'intensità delle misure di distanziamento, che i vari Paesi hanno deciso di applicare, varia in funzione sia delle particolari situazioni di ogni nazione, sia di quanto l'epidemia è diffusa in quella popolazione^{22, 23}.

Il “numero di riproduzione di base” (R_0), è il numero delle persone che, in condizioni normali vengono contagiate da ogni persona infetta. Il “numero di riproduzione di base” (R_0) del virus SARS-CoV-2 si aggira intorno a 3,87. Tanto più le misure di contenimento riescono ad abbassarne il “numero di riproduzione di base” (indice R_t), tanto minore sarà il rischio di diffusione del contagio. Lo scopo dei vari tipi di restrizioni che sono stati messi in atto è di cercare di portare l' R_t a valori molto bassi, in modo che l'incidenza di nuovi casi d'infezione decresca progressivamente fino alla scomparsa dell'epidemia. Se invece i valori di R_t rimangono, o tornano ad essere elevati, l'epidemia persisterà o addirittura, nel caso in cui i valori dell' R_t divengano elevati, si avrà un nuovo picco dell'epidemia. Comunque, con il trascorrere del tempo, un'elevata percentuale della popolazione di un Paese acquisisce l'immunità contro il virus, e questa “immunità di comunità” (*herd immunity*) porterà al controllo dell'epidemia²⁴.

L'esperienza di Hubei insegna che con le strategie di confinamento è possibile bloccare, in un tempo relativamente breve, la diffusione del SARS-CoV-2²⁴. Un'efficace riduzione dell'infezione è di importanza cruciale per permettere una più efficace assistenza ai pazienti e per una riorganizzazione del sistema sanitario, messo in difficoltà dal numero di malati inaspettatamente alto.

Come verrà illustrato più avanti, in una percentuale significativa dei casi, la COVID-19 può dare origine ad una sindrome respiratoria acuta molto grave che richiede il ricovero in reparti di terapia intensiva²⁵ (Vedi 8. *Terapia*). Nella maggior parte dei Paesi del mondo, il numero di letti nei reparti di terapia intensiva è relativamente basso. Prima dell'arrivo dell'epidemia di COVID-19, in Italia ce ne erano circa 5,000. I dati attuali indicano che circa il 12% dei pazienti di COVID-19 richiede l'ammissione in reparti di terapia intensiva. In pratica, se contemporaneamente 42,000 persone si ammalano gravemente si satura la capacità totale di terapia intensiva del nostro Paese.

Anche se la disponibilità dei letti in unità di terapia intensiva varia da Paese a Paese, nessun sistema sanitario al mondo potrebbe resistere di fronte ad un aumento illimitato di pazienti che necessitano di terapia intensiva. Per questo motivo, di fronte al divampare dell'epidemia, non è possibile pensare solo di aumentare il numero di letti in terapia intensiva, ma diviene assolutamente necessario mettere in atto misure in grado di contenere il diffondersi dell'infezione, evitando così di mettere il sistema sanitario di fronte ad un carico che non può più essere gestito.

La rimozione dei blocchi. Se la lunga durata delle strategie di confinamento causa seri problemi sociali ed economici, una loro rimozione troppo affrettata potrebbe portare ad un rampante ritorno dell'epidemia, con conseguenze sanitarie e sociali ancora più devastanti. Nel momento in cui viene preparato questo rapporto, molti governi, tra cui quello italiano, stanno annunciando o mettendo in atto una graduale rimozione delle misure di blocco che sono durate per circa due mesi. Cercare di incrementare la libertà individuale e di ridurre le restrizioni sociali mantenendo un attento controllo della diffusione dell'epidemia non è un'impresa facile, in particolare perché non sono disponibili linee guida facilmente applicabili ai paesi occidentali. Si tratta di un'impresa che probabilmente sarà connotata da una serie di errori e da una serie di misure messe in atto per riparare gli errori²⁶.

In Europa, l'intensa interconnessione tra le nazioni dovrebbe imporre la messa in atto di misure coordinate, cosa che attualmente non appare essere sufficientemente considerata, essendo ogni nazione concentrata sui gravi e parzialmente differenti problemi interni. Ma si deve tener presente che il ritorno dell'epidemia in una nazione europea potrebbe causare la re-introduzione di blocchi successivi e financo l'introduzione di una serie di blocchi periodicamente ripetuti anche in altre nazioni. Sia il costo che la complessità sociale, politica ed economica di situazioni di questo genere appaiono essere molto elevati^{23,24}.

Nella Fig. 3, riprodotta per gentile concessione da un rapporto della Leopoldina National Akademie der Wissenschaften²⁷ della Germania sono schematicamente riportati gli scenari che potrebbero far seguito alla rimozione dei blocchi.

Nel pannello superiore è illustrato ciò che un modello statistico prevede che possa avvenire quando la rimozione dei blocchi non è associata alla messa in atto di efficaci misure di distanziamento personale.

Il pannello centrale, invece, mette in evidenza come una graduale mitigazione delle misure di blocco, associata ad un efficace sistema di tracciamento e di contenimento dei contagi, potrebbe portare alla fine dell'epidemia. L'individuazione e l'isolamento dei nuovi contagi appare come un elemento essenziale perché al momento dell'allentamento dei blocchi la percentuale delle persone che sono state

infettate dal virus SARS-CoV-2 e che hanno sviluppato una qualche forma di immunità sarà molto bassa, inferiore al 10% della popolazione, il che implica che la maggior parte delle persone sarà ancora del tutto vulnerabile al virus, una situazione molto lontana da una possibile protezione da parte dell'*immunità di comunità*.

Quando viene attuata la mitigazione delle misure di blocco, il contenimento dell'epidemia o una sua violenta ripresa dipenderanno essenzialmente dall'efficacia più o meno elevata con cui viene messa in atto un'intensa campagna per individuare le persone infette che sono asintomatiche o che sono ancora pre-sintomatiche, in modo da isolarle, tracciare efficacemente i loro contatti e metterli rapidamente in quarantena²⁸. Questa non si prospetta come un'impresa facile, come è anche messo in evidenza nel pannello inferiore della Fig. 3 che riporta l'insorgenza di nuovi casi di infezione nella

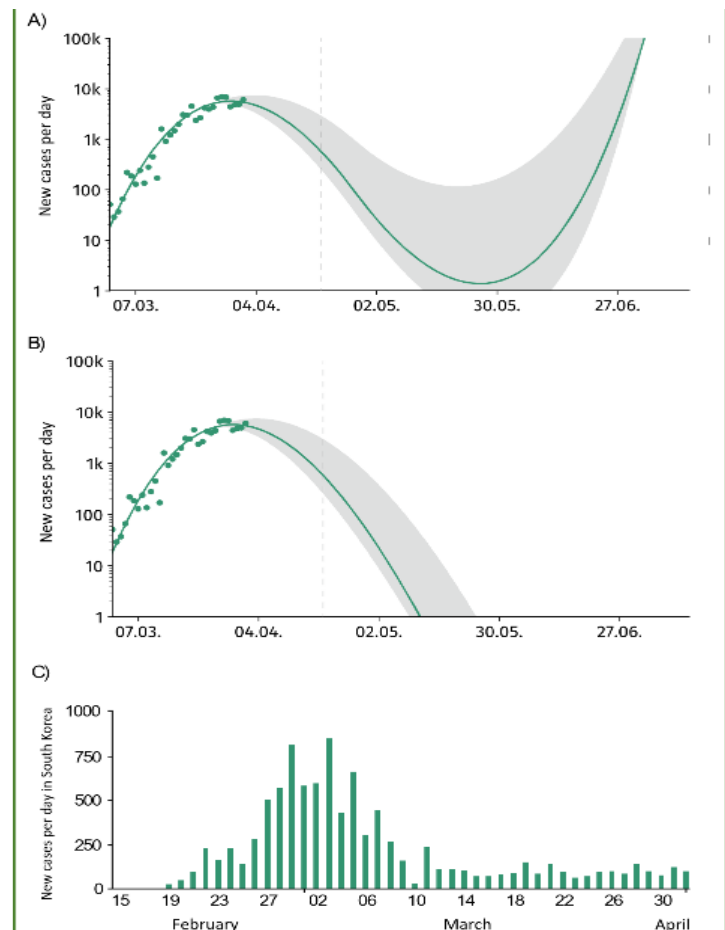


Fig.3

Corea del Sud, dal 15 febbraio al 1° aprile di quest'anno. L'approccio altamente tecnologico della Corea del Sud, basato sia su un gran numero di tamponi per diagnosticare l'infezione sia su varie forme di tecnologia digitale per tracciare i contatti, ha permesso di gestire l'epidemia senza dover imporre il blocco delle città o dell'intero paese ma non è stato in grado di evitare completamente le nuove infezioni²⁹. Anche se l'epidemia non è completamente eradicata e nuovi focolai d'infezione potrebbero ancora emergere, l'esperienza della Corea del Sud suggerisce comunque che il grado di preparazione (la *preparedness*, vedi il punto 8) del Paese associata ad approcci tecnologici possono giocare un ruolo essenziale nel controllo della diffusione delle infezioni²⁹. A Singapore e nel Giappone la rimozione dei blocchi ha invece portato all'insorgenza di ondate di nuove infezioni²⁸.

4. Immunità, infiammazione e trombosi

L'immunità innata. L'immunità innata forma una prima, efficace linea di difesa contro i microbi. Le evidenze a disposizione indicano che essa è in grado di bloccare oltre il 90% delle invasioni dei microbi. Per ora, le informazioni sul ruolo dell'immunità innata nel controllo dell'infezione da parte del virus SARS-CoV-2 sono scarse: dopo l'infezione il numero dei linfociti diminuisce (si ha una *linfopenia*) mentre aumenta il numero dei neutrofili. In genere si assiste ad un aumento delle linfocine che promuovono l'infiammazione, come l'IL-6, il TNF e le chemochine^{25, 30, 31}. Mentre i virus SARS-CoV e MERS-CoV (responsabili della SARS e della MERS) infettano i macrofagi e i linfociti, questo non sembra avvenire con il virus SARS-CoV-2, che invece sopprime la produzione degli interferoni, una famiglia di citochine che regola numerosi aspetti della reazione immunitaria³². Questi dati, come riportato più sotto, permettono di comprendere meglio il quadro clinico della COVID-19.

L'immunità adattativa. Come già ricordato, i coronavirus inibiscono molto efficacemente vari meccanismi della risposta immunitaria^{33, 34}. Sopprimono la capacità dei macrofagi di produrre gli interferoni e inibiscono l'espressione delle glicoproteine HLA di Classe I e di Classe II. Per quanto riguarda la risposta dell'immunità adattativa, le conoscenze sono ancora scarse e principalmente basate su quanto si è imparato studiando la SARS e la MERS³⁵. Come comunemente avviene durante le infezioni virali, la reazione protettiva sembra essere basata sull'azione dei linfociti T *helper*1 (Th1) che orchestrano una complessa reazione immunitaria³⁶. Alcune evidenze suggeriscono che l'infezione da parte del virus SARS-CoV-2 stimoli l'attivazione dei linfociti T *helper* 17 (Th17)³¹. Questi linfociti guidano efficacemente la reattività dei neutrofili contro i batteri extracellulari mentre non sembrano avere una reale efficacia nel controllo delle infezioni virali. L'IL-6 e l'IL-1, che sono le linfocine che guidano la differenziazione dei linfociti Th17, sono due importanti bersagli della terapia della COVID-19³⁷ (vedi più avanti). Altri dati indicano che durante l'infezione, sia i linfociti della reattività immunitaria innata sia quelli dell'immunità adattativa possano andare incontro ad un esaurimento funzionale (*exhaustion*), fenomeno questo che rende inefficaci le reazioni immunitarie contro i virus³³.

Come discusso più avanti, i pazienti di SARS, MERS e di COVID-19 sviluppano anticorpi che sono in grado di neutralizzare la capacità infettiva dei virus³⁵. Studi portati avanti in Cina, Stati Uniti ed in

Europa hanno messo in evidenza che gli anticorpi compaiono relativamente tardi nel siero dei pazienti di COVID-19: in una certa percentuale di pazienti, gli anticorpi non sono titolabili prima di 20 giorni dall'infezione o di 15 giorni dall'inizio dei sintomi³⁸⁻⁴³. Inoltre, a differenza di quanto comunemente avviene, non sembra che la comparsa delle IgM preceda, in modo netto la comparsa delle IgG, anzi la comparsa delle due classi di anticorpi spesso sembra sovrapporsi. Non è chiaro, però, se questa particolare cinetica della comparsa delle due classi anticorpali sia essenzialmente dovuta agli attuali limiti tecnici o, se invece, sia un tratto tipico della COVID-19. Inoltre, le forti differenze individuali nella cinetica della comparsa di anticorpi rende ostacolano conclusioni definitive⁴⁴. Gli anticorpi della classe IgA, che compaiono sia nel plasma che nella saliva dei pazienti di COVID-19^{40, 44}, possono avere un ruolo importante nella difesa delle mucose. Altri dati suggeriscono che gli anticorpi che vengono prodotti dai pazienti siano in grado di neutralizzare l'infettività virale. Come sarà discusso più avanti, la conferma di questo dato avrebbe un'importanza notevolissima per quanto riguarda i diversi approcci terapeutici basati sugli anticorpi. Più in generale, poter stabilire se nelle persone infettate dal virus SARS-CoV-2 si instauri una memoria immunitaria protettiva e per quanto tempo questa memoria sia in grado di proteggere da una successiva infezione è una questione d'estrema importanza, sia per quanto riguarda la terapia e la prevenzione della COVID-19, sia nella messa in atto delle varie misure di confinamento. I dati a disposizione suggeriscono che le infezioni da coronavirus, incluse quelle da SARS-CoV-2, inducono una memoria protettiva. Ralph Baric ha recentemente affermato che sia la risposta immunitaria che la resistenza all'infezione dovrebbero durare almeno 6-12 mesi⁴⁵. I dati sui pazienti di Wuhan guariti che, per alcuni mesi, sarebbero resistenti alla re-infezione sembrano avvalorare questa possibilità. Altri dati a proposito dei pazienti guariti dalla SARS indicano che una memoria protettiva potrebbe persistere per 2 o 3 anni³⁴. Tuttavia, Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha recentemente messo in guardia sul rischio di re-infezione e sul fatto che avere in circolo anticorpi anti-SARS-CoV-2 non può essere considerato una garanzia di immunità⁴⁶, punto questo che verrà discusso più avanti (vedi *Test sierologici*).

Infiammazione e trombosi. La progressione della COVID-19 è caratterizzata da un'infiammazione generalizzata dovuta alla produzione di citochine pro-infiammatorie, un componente essenziale della reazione del sistema immunitario contro il virus e contro le cellule infettate dal virus. In questo caso, le citochine possono attivare una reazione eccessiva e dannosa⁴⁷. Infatti, è stato osservato che il virus SARS-CoV-2 innesca direttamente l'attivazione dell'inflammasoma che, di conseguenza, porta ad un'elevata produzione di IL-1⁴⁷, un'importante citochina pro-infiammatoria che, a sua volta, induce la secrezione di tutta una serie di altri mediatori dell'infiammazione³⁷. La tempesta di citochine (*the cytokine storm*) che così prende origine nasce dalla reazione combinata dei meccanismi dell'immunità innata e quelli dell'immunità adattativa innescata dal virus e dalle cellule infettate dal virus. La COVID-19 è anche caratterizzata da un'attivazione delle cellule endoteliali e la formazione di micro-trombi nei vasi polmonari⁴⁸⁻⁵⁰.

Attivazione del Complemento e delle molecole dell'immunità innata. Benché non siano ancora disponibili dati diretti a proposito dell'infezione da parte del virus SARS-CoV-2, è ben conosciuto che vari componenti del sistema Complemento e numerose molecole dell'immunità innata presenti in

circolo nei fluidi dell'organismo vengano direttamente attivati dalla presenza di varie specie di microbi⁵¹. L'attivazione del sistema Complemento porta ad una amplificazione, spesso difficilmente controllabile, delle reazioni infiammatorie⁵². La via lectinica di attivazione del Complemento può essere messa in moto da cellule infettate da virus⁵³. Inoltre, la proteina C reattiva, una proteina della fase acuta, è una pentraxina la cui produzione stimolata dell'IL-6 aumenta con il diffondersi dell'infiammazione e che quindi può venir titolata come biomarcatore della gravità della malattia. Nel loro insieme queste osservazioni indicano quanto sia importante procedere ad uno studio sistematico del ruolo svolto dai meccanismi umorali dell'immunità innata e del sistema Complemento sia per quanto riguarda la resistenza all'infezione da SARS-CoV-2 che a proposito della successiva patogenesi della COVID-19⁵⁴.

5. Fattori predisponenti

Vi sono numerosi contesti che aumentano, in modo anche notevole, il rischio d'infezione da parte del virus SARS-CoV-2 o che peggiorano il decorso della COVID-19. L'importanza di ognuno di questi fattori di rischio può cambiare, anche significativamente, in seguito all'evoluzione della pandemia o in seguito all'attuazione di particolari misure sociali di contenimento⁵⁵. Alcuni dei contesti biologici, medici, sociali e occupazionali che possono aumentare i rischi connessi con questa infezione

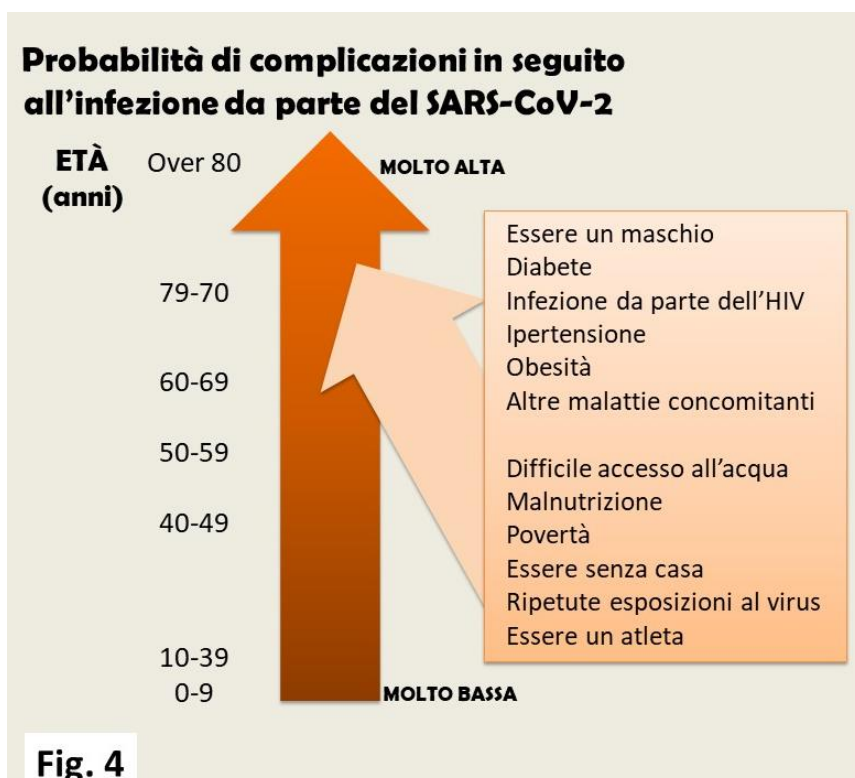


Fig. 4

sono schematicamente riportati nella Fig.4. La severità della prognosi aumenta con l'avanzare dell'età del paziente. I bambini hanno lo stesso rischio della popolazione generale di infettarsi di SARS-CoV-2. Tuttavia, una revisione sistematica di 18 studi con un totale di 1065 bambini con infezione da SARS-CoV-2 ha messo in evidenza che la maggior parte dei bambini presentava solo sintomi lievi o, addirittura, nessun sintomo. Non sono stati segnalati decessi in bambini di età compresa tra 0 e 9 anni⁵⁶.

Il rischio di ammalarsi di COVID-19 è anche aumentato dall'intenso esercizio fisico proprio degli atleti e dall'essere esposti ripetutamente all'infezione, come capita sia ai medici sia agli infermieri⁵.

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

- **ACE2.** Questo gene codifica il recettore di membrana a cui si lega la proteina Spike del virus SARS-CoV-2 per penetrare all'interno delle cellule delle mucose delle vie aeree (Vedi Fig. 1). I polimorfismi di questo gene potrebbero quindi rendere più facile o più difficile l'ingresso del virus dentro alle cellule⁵⁷. Sono state identificate numerose varianti di questo gene che influenzano la stabilità della proteina ACE2. Fino ad ora, però, non è stata identificata alcuna associazione significativa tra qualcuna di queste varianti e la suscettibilità all'infezione e il decorso della COVID-19⁵⁸.
- **TMPRSS2.** L'enzima proteolitico codificato da questo gene taglia la proteina Spike del virus SARS-CoV-2 consentendo la fusione tra il capsido virale e la membrana cellulare (Fig. 1). L'attività di questo gene è controllata dagli ormoni androgeni e la diversa espressione dell'enzima potrebbe influenzare l'efficacia con cui il virus SARS-CoV-2 penetra all'interno delle cellule delle mucose respiratorie maschili. Le varianti di questo gene, espresse con diversa frequenza in varie popolazioni umane, potrebbero modulare la gravità della COVID-19⁵⁸ (vedi anche 8. *Inibitori dell'infezione* e Fig.7).
- **IFITM3.** Questo gene codifica una proteina espressa sulla membrana cellulare, la *interferon-induced transmembrane protein 3*. Una variante di questo gene (*IFITM3-rs12252-C/C*) sembra essere associata a forme più gravi di COVID-19⁵⁹. Ulteriori indagini sono necessarie per confermare quest'osservazione.
- **HLA.** Questo gruppo di geni codifica le glicoproteine HLA che, presentando i peptidi ai linfociti T, svolgono un ruolo fondamentale nell'attivazione della risposta immunitaria. Studi *in silico* hanno messo in evidenza che non ci sono veri e propri "buchi" della capacità dei diversi alleli HLA di presentare i peptidi che derivano dal virus SARS-CoV-2⁶⁰ anche se i vari alleli legano questi peptidi con una diversa affinità^{61,62}. In Italia, la frequenza dei vari alleli è stata valutata in pazienti tipizzati perché trapiantati oppure perché in attesa di trapianto. La frequenza di alcuni alleli HLA è stata trovata essere significativamente differente nel gruppo di questi pazienti che si sono ammalati di COVID-19 rispetto al gruppo dei pazienti che non si sono infettati⁶⁰.
- **ABO.** Uno studio condotto su 1775 pazienti infetti da SARS-CoV-2 a Wuhan ha messo in evidenza che il gruppo sanguigno A è associato con un aumento rischio d'infezione mentre il gruppo sanguigno O era associata ad un rischio ridotto⁶³. Un'analoga associazione è stata trovata anche nella popolazione italiana⁶⁰. Guillon et al.⁶⁴ avevano messo in evidenza che gli anticorpi anti-A inibiscono l'adesione della proteina Spike del virus SARS-CoV al recettore ACE2 espresso sulla superficie delle cellule dell'ospite. Data la somiglianza che intercorre tra i virus SARS-CoV e SARS-CoV-2, lo stesso meccanismo potrebbe essere alla base della resistenza alla COVID-19. Per verificare questa ipotesi sono in corso nuovi studi.
- **MBL.** La *Mannose Binding Lectin* (MBL, lectina che lega il mannosio) è una proteina plasmatica che costituisce un elemento assai importante della difesa immunitaria innata che interagisce con zuccheri espressi sulla superficie di microbi di specie diverse. Nel siero delle persone, i livelli di MBL diminuiscono con il progredire dell'età⁶⁵. Studi condotti in

precedenza sui pazienti colpiti dalla SARS hanno evidenziato che i polimorfismi del gene MBL erano associati ad esiti diversi dell'infezione⁶⁶. È quindi probabile che polimorfismi del gene MBL influenzino anche l'andamento dell'infezione da SARS-CoV-2⁵ (Vedi anche, più sopra, *Attivazione del Complemento e delle molecole dell'immunità innata*).

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

6. Aspetti clinici.

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

I sintomi più comuni sono febbre, tosse e dispnea. Una piccola percentuale di casi riporta sintomi gastrointestinali prima della comparsa dei sintomi a carico dell'apparato respiratorio⁶⁷.

I primi rapporti che sono arrivati dalla Cina indicavano che solo il 5% delle persone infette aveva bisogno del ricovero in un'unità di terapia intensiva, mentre meno del 3% aveva necessità di un respiratore per la ventilazione meccanica⁴⁷. Invece, i dati più recenti che derivano dalla Lombardia mettono in evidenza un tasso più alto di ricoveri in unità di terapia intensiva, dell'ordine del 12% di tutti i casi di COVID-19 o il 16% di tutti i casi che hanno richiesto ricovero in ospedale⁶⁷.

Il tasso di letalità per ogni caso di COVID-19 (il *Case Fatality Rate*) varia nei vari Paesi del mondo. In Italia il tasso di mortalità è stimato al momento dell'8,5%, ma esso varia significativamente tra le fasce d'età. Fino a 29 anni non si ha quasi nessun decesso mentre tra le persone di oltre novant'anni la mortalità varia dallo 0,3 al 24,1%. La probabilità di avere una malattia con decorso più grave e di morire è più alta nei pazienti che hanno anche altre patologie⁶⁸ (Fig. 4).

Reperti anatomopatologici. Le lesioni principali sono a carico del polmone periferico, dove si riscontra un danno alveolare diffuso. Tuttavia, nelle ultime fasi della malattia, si notano lesioni anche nel fegato, cuore e cervello. In coerenza con il quadro radiologico presentato dai pazienti in stadio avanzato, la caratteristica anatomico patologica più evidente è un addensamento diffuso o focale del parenchima polmonare che appare edematoso e con emorragie localizzate configurando un quadro tipico di *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS, sindrome da alterazione respiratoria acuta)⁶⁹.

Le descrizioni attualmente disponibili di biopsie e autopsie eseguite sui pazienti morti in seguito COVID-19 sono ancora troppo poche e frammentarie per permettere di trarre conclusioni definitive⁶⁹⁻⁷². Tuttavia, la valutazione di questi dati sulla base dei numerosi dati istologici disponibili di quadri analoghi riscontrati a seguito dell'epidemia di SARS che si è avuta in Cina tra il 2002 ed il 2003

consente di mettere a fuoco un quadro anatomico patologico dell'evoluzione della COVID-19^{73,74}. Le cellule degli alveoli polmonari, che esprimono sulla membrana cellulare grandi quantità del recettore ACE2 costituiscono il bersaglio principale dell'infezione da parte del virus SARS-CoV-2. Al danno degli alveolociti fa seguito edema interstiziale e congestione vascolare. Nell'essudato si riscontrano cellule infiammatorie mononucleate, linfociti T CD8, monociti/macrofagi, qualche granulocita e cellule multinucleate giganti. La presenza di cellule epiteliali in apoptosi, di monociti/macrofagi, di linfociti e pneumociti, di proteine dell'essudato plasmatico e di frammenti di fibrina porta alla formazione di membrane ialine che ostacolano ulteriormente lo scambio gassoso con i capillari sanguigni. I capillari alveolari sono ingranditi e possono contenere trombi localizzati. Una diffusa coagulazione intravascolare nei vasi sanguigni del polmone e altrove è un evento che ha luogo solo negli stadi più avanzati. Solo raramente la coagulazione generalizzata può essere riscontrata negli stadi più precoci del COVID-19.

Lesioni diffuse sono evidenti a carico del parenchima epatico, dei reni, del tratto gastrointestinale. Una necrosi localizzata può essere individuata anche nelle cellule del miocardio. Dati più recenti mettono in evidenza che una necrosi localizzata può essere riscontrata anche nei neuroni del sistema nervoso centrale⁷⁵⁻⁷⁷.

7. Diagnosi: virus e anticorpi

Tamponi. La pietra miliare nei test diagnostici è costituita dai saggi basati sulla PCR (*Polymerase Chain Reaction*) che permettono di rilevare la presenza dell'RNA del virus SARS-CoV-2 nei tamponi nasali. Il test attualmente utilizzato deve essere eseguito da personale specializzato e richiede circa 4 ore. Questo test soffre di gravi limitazioni, ad esempio, in pazienti avanzati, i tamponi nasali possono essere negativi mentre i lavaggi bronco alveolari sono positivi e la frequenza dei falsi negativi in pazienti asintomatici può essere più alta⁷⁸. Inoltre, al momento della stesura di questo documento, i tamponi che inattivano il virus non sono più disponibili, almeno in Lombardia.

Un test di un'ora (*DiaSorin*, Italia), sempre basato sulla PCR, è stato appena approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) degli Stati Uniti e ciò potrebbe migliorare la potenzialità diagnostica⁷⁹. Alla fine di marzo 2020, nell'ambito dell'*Emergency Authorization Procedure* sempre la FDA statunitense ha approvato il sistema diagnostico ID NOW-COVID19, della Abbot, USA basato sull'amplificazione isoterma del gene *RdRp* del SARS-Cov-2. Questo nuovo sistema, che produce risultati in appena 5 minuti, è per ora disponibile solo negli Stati Uniti⁸⁰. Sempre negli Stati Uniti la FDA ha approvato dei "test a casa": i tamponi vengono spediti a casa insieme a istruzioni dettagliate su come farsi il tampone che, successivamente viene rispedito ad un laboratorio diagnostico per l'analisi⁸¹.

Altri ricercatori stanno lavorando per convalidare i test diagnostici DETECTR e SHERLOCK basati sulla tecnologia CRISPR per individuare e tagliare specifiche sequenze dell'RNA del virus SARS-CoV-2. La tecnologia CRISPR ha il vantaggio di essere molto specifica, e quindi di fornire risultati più precisi, e di poter essere eseguita in 5-10 minuti⁸².

L'utilizzazione della saliva al posto dei tamponi rinofaringei potrebbe costituire un'alternativa interessante ai tamponi rinofaringei perché la raccolta della saliva non è invasiva ed è più facile.

Recentemente, Wyllie et al.⁸³ hanno osservato che confrontando il rilevamento del SARS-CoV-2 tramite tampone rinofaringeo o tramite la saliva, la saliva sembra offrire una migliore sensibilità, permettendo di rivelare positività che non vengono identificate col tampone.

Test sierologici. L'individuazione degli anticorpi presenti nel siero è di estrema importanza, sia per la diagnosi individuale sia per gli studi epidemiologici⁸⁴. Numerosi kit diagnostici per rivelare la presenza di anticorpi anti-SARS-CoV-2 sono stati sviluppati sia da istituzioni accademiche sia da aziende di biotecnologia, piccole e grandi³⁸⁻⁴⁴. Un esempio italiano è la collaborazione tra la ditta DiaSorin (Saluggia) e l'Ospedale San Matteo di Pavia che ha portato alla messa a punto di un sistema diagnostico approvato dall'FDA statunitense⁷⁹.

Sfortunatamente, però, sembra che ancora molti degli oltre 100 sistemi diagnostici disponibili siano ancora non ben caratterizzati per quanto riguarda la sensibilità e la specificità, due elementi di importanza fondamentale. Inoltre, non è chiaro se questi sistemi siano in grado di individuare specificatamente gli anticorpi che neutralizzano l'infettività virale^{85,86}.

I test per individuare la presenza di anticorpi, una volta che siano adeguatamente validati, saranno di estrema importanza sia per quanto riguarda gli studi epidemiologici sulla diffusione dell'infezione, sia per la donazione del plasma immune (vedi 8. *Anticorpi terapeutici*), sia per l'individuazione della presenza di una memoria immunitaria, e sia come complemento importante nella diagnosi dello stadio della malattia.

Come discusso in precedenza, non vi sono ancora dati che dimostrino che la presenza di una determinata quantità di anticorpi equivalga ad essere protetti contro una successiva infezione da parte del SARS-CoV-2. Non è pertanto possibile di rilasciare ciò che viene definito "passaporto di immunità", termine che implica l'acquisizione di una resistenza specifica all'infezione da parte del SARS-CoV-2. Il rilascio di "passaporti" di questo tipo potrebbe avere implicazioni etiche, sociali e legali in quanto implicherebbero un'immunità alla COVID-19 che oggi non può ancora essere accertata. Proprio per evitare che una falsa convinzione di essere immuni possa incoraggiare comportamenti irresponsabili, OMS ha recentemente emesso un avviso a proposito dell'impossibilità attuale di valutare e certificare un'immunità alla COVID-19⁴⁶. D'altro canto, non appena i test basati sull'individuazione degli anticorpi saranno meglio validati, l'OMS prevede di coordinare il programma SOLIDARITY II che intende studiare la presenza di anticorpi anti-SARS-CoV-2 nel sangue degli abitanti di varie nazioni del mondo⁸⁷.

8. Terapia.

Introduzione. In condizioni non controllate, una gamma molto varia di farmaci è stata somministrata ai pazienti di COVID-19. Questi vanno dai farmaci antiretrovirali e antivirali, ai farmaci immunomodulatori e ai preparati della medicina tradizionale cinese. Una discussione dettagliata di tutti i composti e di tutte le strategie terapeutiche adottate va oltre lo scopo di questo Rapporto. Però, come affermato nell'Introduzione, mentre comprendiamo la drammaticità della sfida costituita da una "medicina di emergenza", non possiamo non essere d'accordo con l'editoriale dell'autorevole New England Journal of Medicine sul fatto che "... *studi clinici di alta qualità, avviati*

rapidamente, possono essere realizzati anche in situazioni di epidemia e anche nelle circostanze così difficili come quelle che sono state riscontrate a Wuhan” e con l’editoriale del Journal of American Medical Association che chiede l’attivazione di studi clinici rigorosi ^{1,88}.

Proprio perché l’efficacia di vari farmaci è stata molto spesso proclamata senza che siano stati fatti seri studi clinici, recentemente l’OMS ha annunciato l’attivazione di un ampio studio globale, chiamato SOLIDARITY, progettato proprio per stabilire se qualcuno dei farmaci fino ad ora somministrati ai pazienti di COVID-19 sia davvero efficace. Si tratta di uno sforzo senza precedenti, che coinvolge molte migliaia di pazienti in una dozzina di Paesi, volto ad ottenere finalmente solide certezze cliniche ^{89,90}.

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

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

Uno dei cardini del trattamento dell’ARDS è la cosiddetta "strategia polmonare protettiva". Questa modalità di trattamento consiste nell’utilizzare le pressioni più basse e ridurre i volumi della ventilazione necessaria per ossigenare il sangue, in modo da evitare che sia proprio la ventilazione a causare un danno al polmone. In alcuni casi, il paziente viene messo in posizione prona per sfruttare l’effetto della gravità sul flusso di sangue verso le parti dei polmoni che sono meglio aerate. Nei casi più gravi di ARDS, l’ossigenazione extracorporea a membrana (*Extra Corporeal Membrane Oxygenation, ECMO*) può essere utilizzata per sostituire temporaneamente lo scambio gassoso dei polmoni malati. Questa tecnica è molto invasiva, e richiede un notevole sforzo organizzativo che risulta particolarmente impegnativo da essere messo in opera durante una pandemia, quando il numero dei pazienti che si trovano in condizioni critiche è particolarmente elevato.

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

Al momento non vi sono prove convincenti sull’efficacia di un altro trattamento farmacologico sui pazienti di COVID-19 con insufficienza respiratoria acuta. Tuttavia, sono stati sviluppati vari protocolli clinici basati su farmaci antivirali, cloroquina, farmaci antinfiammatori, solo per citarne qualcuno. Qui sotto si riportano il rationale e le evidenze cliniche di alcuni di questi trattamenti.

Farmaci antivirali

- Lopinavir / ritonavir. La combinazione di questi due farmaci, comunemente utilizzata per il trattamento dell'infezione da HIV, è stata frequentemente somministrata ai pazienti di COVID-19. Tuttavia, un recente studio randomizzato su pazienti in stadio avanzato non ha messo in evidenza alcun beneficio⁹⁰. A questo punto ulteriori studi clinici basati su un alto numero di pazienti sono necessari per valutare se questa combinazione è efficace almeno nelle fasi più precoci della malattia.
- Remdesivir. Questo farmaco ha dimostrato una potente attività antivirale sia in saggi *in vitro* sia in un modello animale di MERS. La sua efficacia sui pazienti di COVID-19 è in corso di valutazione⁹¹. Un recente studio randomizzato e controllato, appena pubblicato⁹² e commentato⁹³ su Lancet non ha messo in evidenza alcun beneficio, nei pazienti ospedalizzati trattati con remdesivir rispetto al gruppo trattato con il placebo, per quanto riguarda la mortalità, che era l'obiettivo primario. Lo studio, tuttavia, riporta che i pazienti trattati con remdesivir hanno avuto un ricupero più rapido (obiettivo secondario dello studio). Un comunicato stampa dei National Institutes of Health (NIH, Bethesda, USA) notifica che risultati simili a quelli riportati da Lancet sono stati ottenuti in uno studio più ampio che è stato appena completato e non ancora pubblicato.
- Clorochina e idrossiclorochina. Queste due sostanze sono dotate di attività antivirale e hanno la capacità di sopprimere la reazione infiammatoria (vedi più sotto). Il loro potenziale nel trattamento della COVID-19 deve ancora essere stabilito, anche se l'impressione generale è che questi farmaci, mentre possano essere pericolosi (Vedi *Inibitori dell'infiammazione*), siano privi di una reale efficacia.
- Gli interferoni. Il razionale che sta alla base dell'utilizzazione degli interferoni, sia per via sistemica che per aerosol, è già stato menzionato al punto 4. *Immunità, Infiammazione, Trombosi*. In precedenza, gli interferoni sono stati utilizzati in casi di Ebola e SARS^{94, 95}. Sarà interessante valutarne il potenziale curativo in sottogruppi di pazienti di COVID-19 selezionati sulla base delle citochine in circolo e dei profili immunitari.

I quattro farmaci che saranno inclusi nell'ampio studio globale dell'OMS (SOLIDARITY, vedi sopra) sono il remdesivir, la clorochina e l'idrossiclorochina, il lopinavir e gli stessi in combinazione con l'interferone-beta⁸⁹.

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

La REMAP-CAP è una di queste piattaforme adattative sviluppata nell'ambito di un consorzio multinazionale per la valutazione randomizzata, integrata, multifattoriale della polmonite acquisita in comunità. Questa piattaforma consente di valutare l'efficacia dei vari trattamenti farmacologici

adottati durante una pandemia. La valutazione dei vari trattamenti adottati nella cura della polmonite da COVID-19 costituisce il primo banco di prova per questa piattaforma innovativa⁹⁶. CORIMMUNO è una piattaforma analoga, messa a punto in Francia, per valutare più specificatamente le terapie basate sulla modulazione della risposta immunitaria⁹⁷.

Inibitori dell'infiammazione. Numerose evidenze sperimentali e cliniche mettono in evidenza che una risposta immunitaria non controllata o un'eccessiva infiammazione possono amplificare il danno dei tessuti come si è visto avvenire nei pazienti di SARS e come sembra capitare anche nei pazienti di COVID-19. Gli alti livelli di citochine pro-infiammatorie (ad esempio di IL-6, di TNF, di IL-1 e delle chemochine) e il significato prognostico che hanno gli alti livelli di IL-6 nei pazienti infetti da coronavirus giustificano appieno le strategie terapeutiche volte a limitare la risposta infiammatoria⁹⁸. Per inibire risposte infiammatorie eccessive vengono utilizzati anticorpi monoclonali diretti contro l'IL-6 (ad esempio il sarilimab), contro il recettore dell'IL-6 (ad esempio il tocilizumab), contro l'IL-1 (ad esempio il canakinumab). Per questo scopo viene anche utilizzato un antagonista del recettore dell'IL-1 (anakinra). Alternativamente si interferisce con l'attivazione del sistema Complemento o si utilizzano inibitori delle vie di segnalazione dei recettori delle citochine (JAK1,2) come ad esempio il baricitinib.

Va ricordato che la cloroquina, proposta come farmaco antivirale, ha anche proprietà immunosoppressive e antinfiammatorie. A questo proposito, l'ipotesi che l'uso della cloroquina come farmaco antimalarico sia alla base dell'apparente maggior resistenza dell'Africa alla diffusione della COVID-19 non tiene conto del fatto che, da lungo tempo, questo farmaco non è pressoché più usato per questo scopo. Finora la maggior parte dei dati sembra indicare che la cloroquina non sia efficace nel trattamento della COVID-19. Anzi, la cloroquina potrebbe essere pericolosa se usata a dosi elevate^{99, 100}.

Il tocilizumab, un anticorpo monoclonale umanizzato diretto contro il recettore delle IL-6, è l'unico, tra questa serie di farmaci, per cui siano disponibili numerosi dati clinici. Questo anticorpo è usato, anche se limitatamente, per il trattamento dell'artrite reumatoide e per controllare la "sindrome da rilascio di citochine" (il *cytokine storm*) che si può manifestare nel corso della terapia cellulare CAR-T basata sulla somministrazione di linfociti geneticamente modificati.

Al meglio delle nostre conoscenze, il Prof. Haiming Wei, Hefei, Cina, ha portato avanti la prima somministrazione sperimentale di tocilizumab su un piccolo numero di pazienti di COVID-19, cui ha fatto seguito un uso diffuso di questo farmaco in Cina e la sua inclusione nelle linee guida emesse in Cina il 13/02/2020¹⁰¹. È da notare che successivamente nuovi studi con tocilizumab sono stati avviati in Cina ed in altre parti del mondo, tra cui l'Italia. Nel nostro Paese questi studi sono svolti sotto l'egida dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA).

Lo studio francese, basato sulla piattaforma CORIMMUNI-TOCI ha appena completato l'arruolamento dei pazienti con COVID-19 che partecipano ad uno studio randomizzato per valutare l'immunomodulazione con tolicizumab rispetto alla terapia standard. I risultati non sono ancora disponibili.

Si stanno valutando anche altre terapie immunomodulanti. Il 27 Aprile 2020 Sanofi e Regeneron hanno chiuso lo studio clinico sul sarilimab, un anticorpo monoclonale contro l'IL-6, in quanto

sembrava avere effetti negativi nel braccio di pazienti con COVID-19 avanzata: *“la somministrazione del farmaco abbassava i livelli della proteina C-reattiva sia nei pazienti con COVID-19 grave sia in quelli in uno stadio critico. Tuttavia, i risultati clinici nei pazienti in stadio critico che prendevano in considerazione sia l’abbassamento del rischio di dover ricorrere alla ventilazione forzata sia la mortalità, hanno avuto un andamento negativo”*¹⁰².

Eparina. La messa in evidenza del ruolo che i trombi vascolari hanno nella patogenesi del danno polmonare (Vedi 4. *Immunità, infiammazione e trombosi* e 6. *Reperti anatomopatologici*) ha portato l’eparina a partecipare negli attuali protocolli farmacologici per il trattamento della COVID-19^{48-50, 69-71, 75-76}.

Steroidi. Vi sono ancora controversie a proposito dell’uso dei corticosteroidi per il trattamento dei pazienti con sindrome da alterazione respiratoria acuta (*Acute Respiratory Distress Syndrome, ARDS*). Se da una parte, nei pazienti che sviluppano shock, il trattamento con idrocortisone porta a una più rapida risoluzione della sintomatologia, dall’altra, le indicazioni che derivano da altre malattie virali indicano che gli steroidi possono favorire la diffusione del virus. Sulla base di questi dati, anche le più recenti linee guida sconsigliano l’uso dei corticosteroidi nel trattamento della COVID-19¹⁰³.

Anticorpi terapeutici: plasma-terapia e anticorpi monoclonali. Il plasma dei pazienti guariti da varie malattie è stato usato come sorgente di anticorpi fin dai primi tempi dell’immunologia¹⁰⁴. Anche se l’efficacia terapeutica di quest’approccio è ancora da stabilire, in Cina e in altre parti del mondo, tra cui l’Italia, il plasma dei pazienti guariti viene usato per trattare i malati di COVID-19, così come era stato fatto in precedenza con i pazienti affetti da SARS e da MERS. Agli studi iniziali, portati avanti in Cina, ha fatto seguito un’ampia diffusione di questa tecnica in altre parti del mondo¹⁰⁴⁻¹⁰⁷. Negli Stati Uniti si sta ampiamente diffondendo l’utilizzazione terapeutica del plasma di convalescenti di COVID-19¹⁰⁵. Studi randomizzati tesi a valutare la reale efficacia della terapia con plasma di convalescenti di COVID-19 sono attualmente in corso o stanno per partire.

Anticorpi monoclonali umani diretti contro i componenti del virus SARS-CoV-2, ed in particolare contro la proteina Spike, sono in fasi diverse di sviluppo in numerosi laboratori accademici ed industriali^{108, 109}. Benché quest’approccio sia molto interessante, va notato che, sia nel caso di virus della SARS sia di altre infezioni virali, gli anticorpi possono, in particolari condizioni, facilitare l’ingresso del virus dentro le cellule (fenomeno conosciuto come ADE, *Antibody Dependent Enhancement*)^{110, 111} e causare così lesioni nei tessuti¹¹⁰. Ribadendo un concetto già più volte espresso, anche nel caso delle terapie basate sugli anticorpi, sarà necessario procedere a rigorose valutazioni cliniche della loro efficacia e delle possibili controindicazioni.

Inibizione dell’infezione. La penetrazione del virus SARS-CoV-2 all’interno delle cellule dell’ospite dipende sia dal legame che le proteine Spike, che formano una corona intorno al capsido virale, stabiliscono col recettore ACE2 espresso sulla superficie della cellula dell’ospite umano e sia dal taglio della proteina Spike da parte della proteasi TMPRSS2 (transmembrane protease serine 2) presente sulla membrana delle cellule ospite (Fig. 5⁴). A proposito della regolazione dell’espressione

della TMPRSS2 vedi anche 5. *Fattori predisponenti*. Per interferire con questo processo sono possibili diversi approcci.

Una strategia per bloccare l'interazione tra la proteina Spike ed il recettore ACE2 consiste nell'utilizzare la porzione extracellulare del recettore ACE2 che si lega alla proteina Spike del virus (Fig. 6, in basso). Un recettore ACE2 ricombinante umano, che in precedenza era già stato valutato in studi clinici di Fase I e di Fase 2 per il trattamento di sindromi di sofferenza respiratoria acuta, si è dimostrato capace di ridurre l'infettività del virus SARS-CoV-2 sia su culture cellulari e sia su organoidi di vasi sanguigni umani¹¹². Su queste basi è stato lanciato recentemente uno studio clinico di Fase 2 per valutare l'efficacia del trattamento con la molecola ricombinate di ACE2 sulla malattia COVID-19.

Alternativamente, un frammento Fc di un'immunoglobulina può venire legato alla porzione extracellulare del recettore ACE2 in modo da facilitarne la permanenza in circolo⁴ (Fig. 6, in alto).

Un approccio alternativo per bloccare la penetrazione del virus nelle cellule dell'ospite è basato sull'uso di inibitori della proteasi TMPRSS2. Si è notato che un inibitore di questa proteasi, il camostat mesilato, blocca parzialmente l'ingresso del virus SARS-CoV-2 in colture di cellule polmonari¹¹³ (Fig. 7). Quest'inibitore, che è già stato approvato in Giappone e nella Corea del Sud per il trattamento della pancreatite, è stato attualmente riproposto in uno studio clinico per il trattamento della COVID-19.

L'effetto di un altro inibitore della TMPRSS2, la bromexina, non è stato ancora valutato.

È anche interessante notare che l'espressione della TMPRSS2 è controllata dagli androgeni ed è stato suggerito che ciò potrebbe contribuire alla predominanza delle COVID-19 nel sesso maschile¹¹⁴. La possibilità che il blocco della via androgenica possa portare ad una riduzione delle complicazioni polmonari e della mortalità nei pazienti di COVID-19 è avvalorata da uno studio epidemiologico che ha messo in evidenza che i pazienti di carcinoma prostatico trattati con antiandrogeni sono colpiti dalla COVID-19 molto meno

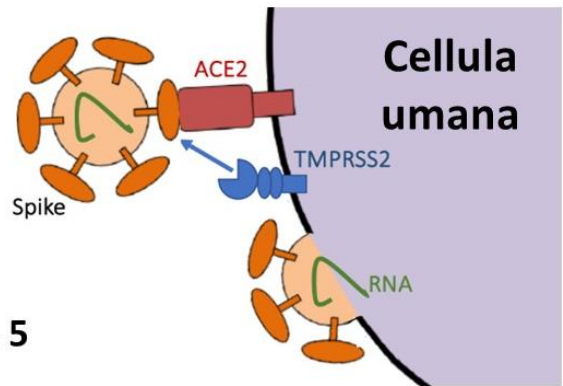


Fig. 5

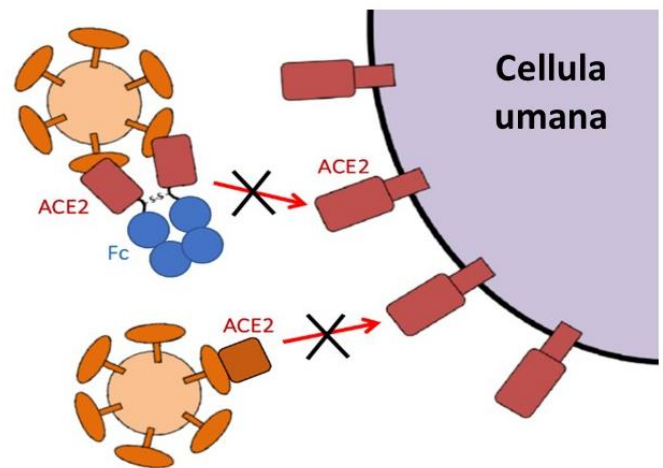


Fig. 6

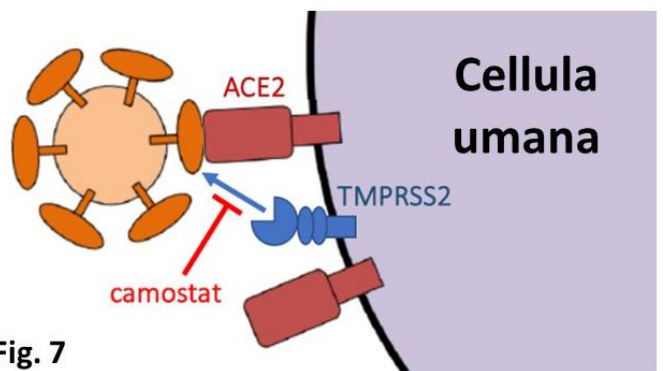


Fig. 7

frequentemente rispetto ai pazienti trattati con altre modalità. È stato attivato uno studio clinico per valutare questa ipotesi di trattamento della COVID-19¹¹⁵.

Intelligenza artificiale e modelli. Prima della pandemia di COVID-10, *big data*, intelligenza artificiale, *machine learning* erano parole affascinanti ma un po' misteriose. Invece, durante questa pandemia abbiamo imparato a comprenderle meglio. In primo luogo, abbiamo imparato che "la scienza dei dati" può avere un ruolo fondamentale nel mappare l'evoluzione della pandemia e nella pianificazione delle risorse delle terapie intensive⁶⁸. In secondo luogo, stiamo comprendendo quanto siano importanti i modelli matematici per prevedere le possibili evoluzioni della pandemia e i possibili scenari futuri²²⁻²⁷.

Sfortunatamente, questa pandemia è stata anche un campanello d'allarme che ha portato a scoprire che, nonostante tutti i progressi e gli investimenti che sono stati fatti negli ultimi decenni, non siamo stati in grado di controllare meglio l'infezione causata dal virus SARS-CoV-2.

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

8. Vaccini anti SARS-CoV-2

Introduzione. La speranza e l'enfasi che i media e le persone comuni stanno ponendo sull'aver al più presto un vaccino che protegga contro la COVID-19 derivano dai grandi trionfi che i vaccini hanno avuto e stanno avendo nel controllo delle malattie infettive³⁴.

Problemi preliminari. In molti casi la guarigione da una malattia causata da un virus dipende dall'azione combinata degli anticorpi presenti nei fluidi organici che neutralizzano le singole particelle virali e dall'azione dei linfociti che scovano ed uccidono le cellule dell'organismo che, una volta infettate dal virus, si trasformano in fabbriche di milioni di nuove particelle virali. Tuttavia, esistono malattie la cui guarigione dipende principalmente, se non esclusivamente dall'azione degli anticorpi ed altre in cui l'azione *killer* dei linfociti riveste un ruolo fondamentale.

- Qual è il caso della COVID-19?
- I pazienti che sono guariti sono protetti da una seconda infezione del SARS-CoV-2?
- Se sono protetti, per quanto tempo dura la protezione?¹¹⁶

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

Il ruolo della Coalition for Epidemic Preparedness and Innovations (CEPI). Nel gennaio 2017, durante il World Economic Forum a Davos, è stata istituita la CEPI, un'organizzazione internazionale con sede

ad Oslo, che ha lo scopo di promuovere lo sviluppo e lo stoccaggio di vaccini contro quei microbi che si prevede potrebbero causare nuove e spaventose epidemie: una quantità significativa di fondi è stata elargita dalla Bill & Melinda Gates Foundation, dal Wellcome Trust e dai governi di numerosi paesi. Le principali compagnie farmaceutiche multinazionali hanno annunciato la loro collaborazione.

Ed è stata proprio la CEPI che, insieme a numerose altre iniziative pubbliche e private, già durante le primissime fasi dell'epidemia di COVID-19 ha attivato, finanziato e coordinato numerosi progetti per la preparazione di vaccini contro il virus SARS-CoV-2 seguendo strategie concettuali e piattaforme tecnologiche tra loro molto diversificate. Questa diversificazione è apparsa subito essenziale proprio perché, per molte malattie, ma principalmente nel caso di una malattia nuova come la COVID-19, è difficile prevedere quale sia il tipo di risposta immunitaria, e quindi quale sia il tipo di vaccino, che meglio protegga contro l'infezione¹¹⁷.

La competizione tra le differenti strategie. Al 30 aprile 2020 si ha notizia di almeno 150 diversi progetti di un vaccino anti SARS-CoV-2, progetti basati su piattaforme tecnologiche molto diverse: vaccini basati sugli acidi nucleici (RNA, DNA), su vettori virali variamente ingegnerizzati, su proteine prodotte con la tecnologia del DNA ricombinante, peptidi, virus vivi ed attenuati, virus inattivati... Almeno 6 di questi progetti sono già arrivati a sperimentare il vaccino in Fase 1 sull'uomo¹¹⁸.

- Vaccini a RNA. Il 17 marzo 2020, solo 76 giorni da quando è stata resa pubblica la prima sequenza dell'RNA del virus SARS-CoV-2, il Dr. Michael Witte ha iniettato ai volontari la prima dose di un vaccino a RNA contro il virus SARS-CoV-2 preparato da Moderna, una società di biotecnologie di Cambridge, MA¹¹⁹ sponsorizzata dalla CEPI. I vaccini a RNA sono stati sviluppati proprio per essere prodotti in brevissimo tempo. L'RNA che contiene l'informazione specifica per sintetizzare una particolare proteina virale viene veicolato dentro alle cellule da particelle simili a virus, da liposomi oppure veicolato da nanoparticelle. Una volta che l'RNA è arrivato all'interno della cellula, questa utilizza la sua informazione genetica per produrre la proteina verso cui si vuole attivare la reazione immunitaria.
- Vaccini a DNA. Altre ditte di biotecnologie, tra cui la TAKIS Biotech, Castel Romano, stanno sperimentando, per ora su animali, vaccini a DNA contro il SARS-CoV-2. Anche i vaccini a DNA si basano sulla possibilità di indurre le cellule a produrre, per un breve tempo, le proteine contro cui si vuole indurre la risposta immunitaria. Una ditta italiana, l'IGEA a Carpi produce elettroporatori che, dando una brevissima scossa elettrica localizzata alla zona d'inoculo, facilitano la penetrazione dentro alle cellule di un vaccino a DNA anti COVID-19 prodotto dal Karolinska Institutet a Stoccolma, Svezia. I vaccini a RNA che i vaccini a DNA non sono stati ancora specificatamente saggiati sulle persone anziane, la fascia di popolazione che ha il maggior bisogno di un efficace vaccino anti COVID-19¹²⁰.
- Vaccini basati su virus. La Sinovac Biotech, Pechino, Cina, ha ottenuto una variante attenuata del virus SARS-CoV-2 che è in grado di indurre una forte risposta immunitaria nelle scimmie. Uno studio di Fase 1 è già stato avviato sull'uomo. La ditta IRBM a Pomezia ha prodotto un adenovirus ingegnerizzato che sarà sviluppato come vaccino anti COVID-19 dallo Jenner

Institute e dall'Università di Oxford in Inghilterra in collaborazione con l'AstraZeneca. Negli animali, questo vaccino induce una forte risposta immunitaria.

- Vaccini proteici. Altri laboratori, come quelli della Queensland University in Australia stanno preparando, sotto l'egida della CEPI, vaccini anti COVID-19 utilizzando la tecnica della *reverse vaccinology* sviluppata da Rino Rappuoli della GlaxoSmithKine di Siena. Partendo dalla sequenza dell'RNA del virus SARS-CoV-2 vengono identificate le proteine della superficie virale. Frammenti selezionati di queste proteine, prodotti in laboratorio con la tecnologia del DNA ricombinante, sono combinati con i nuovi adiuvanti di origine sintetica che sono in grado di indurre risposte immunitarie ottimali anche negli anziani. In particolare, la GlaxoSmithKine sta studiando alcuni di questi adiuvanti che saranno associati ai nuovi vaccini anti COVID-19 messi a punto da altri laboratori.

Valutazione del vaccino. La somministrazione del nuovo vaccino su un numero limitato di volontari, come sta già avendo luogo con il vaccino sviluppato da Moderna e da Sinovac Biotech, consente di capire se il vaccino induce una buona risposta anticorpale e/o l'attivazione dei linfociti T *killer* e se la sua somministrazione causa eventi avversi evidenti. Successivamente, la vera valutazione dell'efficacia del nuovo vaccino si baserà su studi randomizzati e controllati che confronteranno l'incidenza della COVID-19 in gruppi di persone vaccinate e non vaccinate.

Solo l'estensione di queste valutazioni a gruppi progressivamente più numerosi e per periodi più lunghi potrà stabilire se uno, numerosi o nessuno dei nuovi vaccini anti COVID-19 sia in grado di prevenire con efficacia e per tempi prolungati l'infezione e se la sua somministrazione sia associata o meno a importanti eventi collaterali. Tuttavia, attualmente l'urgenza è così forte che, al fine di verificare rapidamente l'efficacia del vaccino, è stato proposto di vaccinare dei volontari umani e, successivamente, di infettarli con il virus SARS-CoV-2 in modo da verificare in tempi molto rapidi la reale efficacia del vaccino¹²¹. Benché un esperimento di questo tipo sia eticamente controverso, vari gruppi di opinione lo stanno sostenendo e molte persone si sono offerte come volontari¹²².

Cautele connesse ad una valutazione accelerata. È probabile che, a fronte dell'enorme pressione esercitata dall'incombere della pandemia di COVID-19, in molti casi vengano utilizzati indicatori indiretti (*surrogate markers*) dell'efficacia del vaccino, come la valutazione della quantità di anticorpi o l'intensità della reazione dei linfociti T *killer* indotti dal vaccino sui volontari per decidere se, inizialmente, il vaccino possa incominciare ad essere utilizzato. Tuttavia, ancora una volta si ribadisce che, anche nel caso della COVID-19, la somministrazione del vaccino deve essere associata ad un rigoroso studio della sua sicurezza. Questo punto assume una particolare importanza proprio perché un vaccino non è un farmaco per persone ammalate che stanno rischiando la vita quanto piuttosto un trattamento che viene somministrato a chi sta bene per prevenire il rischio di ammalarsi¹²³.

La corsa per mettere a punto un vaccino anti COVID-19 non solo è giustificata ma assolutamente necessaria. Tuttavia, nella sua messa a punto deve essere incluso il tempo necessario per valutarne gli effetti collaterali. In alcuni casi, vaccini preparati contro altri coronavirus o virus di altro tipo hanno peggiorato la malattia¹²³ o hanno indotto immunopatologie di tipo T *helper 2*¹²⁴. Queste

eventualità devono venire attentamente valutate ed escluse prima che un vaccino appena prodotto venga distribuito per combattere la pandemia e le sue successive comparse.

Problemi connessi con la produzione. Una volta che il nuovo vaccino sia stato validato, i problemi successivi saranno correlati alla produzione e distribuzione di milioni (miliardi?) di dosi del nuovo vaccino. Dovranno essere affrontati i complessi problemi tecnologici, organizzativi, regolatori ed economici connessi alla sua produzione e distribuzione. Inizialmente potrebbe non essere possibile di produrre le dosi di vaccino necessarie per immunizzare tutta la popolazione del globo. Inoltre, vincoli politici ed interessi economici potrebbero far sì che il vaccino sia solo disponibile nel Paese che lo produce o nei paesi che sono in grado di pagarlo. Non sarà facile rendere i nuovi vaccini anti COVID-19 disponibili a tutta la popolazione del mondo ¹²⁵. Di fronte a questo possibile problema, l'OMS sta cercando di fare in modo che le scorte dei nuovi vaccini siano equamente distribuite, una sfida di giustizia globale che deve essere sostenuta da tutti i governi ¹²⁵.

Da queste considerazioni nasce l'idea che i vaccini anti COVID-19, se efficaci, difficilmente saranno comunemente disponibili prima di un anno o più. Questo lungo intervallo solleva un altro problema: come ci si pone se tra uno o due anni i vaccini anti COVID-19 non fossero più importanti o se venissero utilizzati solo da una piccola popolazione in una particolare area del mondo? Non possiamo prevedere quale sarà l'evoluzione della COVID-19, se la pandemia si esaurirà, se l'infezione persisterà solo in particolari aree, o se periodicamente nel mondo serpeggeranno nuove epidemie. È però probabile che, per lungo tempo, il vaccino sarà necessario per richiamare la protezione immunitaria verso la COVID-19 ^{116, 125}.

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

Infine, in qualche modo collegata ai vaccini è da menzionare l'ipotesi che il "vecchio" vaccino antitubercolare Bacille Calmette Guerin (il BCG) riduca il rischio di infezione da parte del virus SARS-CoV-2. Due studi epidemiologici tra loro indipendenti, non ancora accettati per la pubblicazione, mettono in evidenza una relazione inversa tra la mortalità da COVID-19 e la vaccinazione antitubercolare ^{126, 127}. Per valutare questa possibilità, un gruppo di ricercatori dei Paesi Bassi sta avviando una sperimentazione clinica su 1,000 operatori sanitari. Studi simili in altri Paesi valuteranno se il vaccino BCG aumenta la resistenza delle persone anziane verso l'infezione da parte del virus SARS-CoV-2 ¹²⁸⁷. L'immunità innata, discussa in precedenza (Vedi 4, *Immunità innata*), sembra svolgere un ruolo chiave nel controllo delle prime fasi dell'infezione ⁵. Pertanto, è importante che l'efficacia di strategie tese ad aumentare l'immunità innata, come avviene in seguito all'inoculo del BCG, siano vagliate dagli epidemiologi e in studi clinici controllati.

8. *Preparedness* o l'essere preparati.

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

Secondo il "2019 Global Health Security Index ranking"^{129, 130} l'Italia non era particolarmente attenta ai problemi posti dalla diffusione delle malattie infettive. È giustificato questo giudizio? Al 15 Aprile 2020, oltre 120 medici e 60 infermieri hanno perso la vita in Italia a causa della pandemia e un numero ancor maggiore è stato posto in isolamento perché infetto. È una perdita gravissima che non dovremo mai più permetterci.

Certamente si sarebbe potuto fare di più, in numerosi aspetti di cui alcuni molto importanti e relativamente semplici^{131, 132}. D'altra parte, molti altri paesi e gli stessi organismi internazionali si sono mossi in modo poco coordinato, spesso confuso e a volte contraddittorio.

Non bisogna dimenticare, però, che solo pochi mesi or sono l'ipotesi di destinare energie e risorse per essere meglio preparati verso una possibile, ma comunque ipotetica pandemia non avrebbe avuto la forza di superare indifferenza, scetticismo, atteggiamenti antiscientifici e sospetti di oscuri interessi e corruzione. Come sarebbe stato possibile indurre un paese che ha difficoltà a convincere una quota elevata della sua popolazione dell'importanza delle vaccinazioni basilari dell'infanzia, a destinare una parte significativa delle risorse per essere preparati verso un evento mai visto, come una nuova pandemia? Quasi tutti i paesi del mondo hanno questo tipo di problema che declinano ognuno in modo diverso sulla base della propria cultura^{133, 134}.

Una valutazione di come l'Italia ed il mondo potevano essere meglio preparati e di come si sta reagendo di fronte alla pandemia, potrà essere fatta solo quando la pandemia sarà finita. È comunque probabile che in futuro la *preparedness* sarà molto più al centro dell'interesse nella politica della salute pubblica¹³⁰.

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

È importante comprendere che prepararsi ad una pandemia non richiede soltanto l'adeguamento della sanità pubblica e delle infrastrutture mediche necessarie per affrontare l'emergenza, ma anche un "Research Preparedness", cioè un investimento nella ricerca. Gli investimenti di tempo, denaro ed energia impiegati "in tempo di pace" alla creazione di piattaforme innovative, come ad esempio la REMAP-CAP si sono rivelati di grande importanza⁹⁶. Attualmente, sono in fase di sperimentazione altre piattaforme adattative per l'interpretazione dei dati che ci consentiranno di acquisire nuove e più solide conoscenze, necessarie per una più chiara comprensione dei dati clinici in modo da poter determinare quale trattamento curi davvero, quale invece non funzioni o quale invece possa essere solo dannoso.

Oggi, come non mai prima d'ora abbiamo un disperato bisogno di rivalutare i concetti della "medicina di precisione", concetti che si sono sviluppati nell'arco di molti decenni. Dobbiamo quindi continuare i nostri sforzi per individuare la terapia giusta per il paziente giusto al momento giusto.

È importante rendersi conto che nel breve tempo intercorso dal nostro primo Rapporto ad oggi, si è iniziato a vedere la messa in opera di studi randomizzati e controllati, anche se, al momento, i risultati possano ancora apparire contraddittori. Ciò non deve scoraggiare. Il cammino della ricerca si è sempre evoluto sulla spinta di nuove domande. Non si è alla ricerca di un “magic bullet”, una soluzione miracolosa e definitiva. Piuttosto si dovrebbero sostenere gli sforzi per rispondere alle nuove domande poste dalla ricerca, e qualora le risposte suscitassero altre domande, incoraggiare ulteriormente la ricerca.

9. REFERENZE

1. Baden LR, Rubin EJ. Covid-19: The search for effective therapy. *New Engl J Med* 2020, DOI: 10.1056/NEJM/Me2005477.
2. Tai W et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol* 2020, doi: 10.1038/s41423-020-0400-4.
3. Hoffmann M, et al, SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020, doi:10.1016/j.cell.2020.02.052.
4. Kruse RL, Therapeutic strategies in an outbreak scenario to treat the novel coronavirus originating in Wuhan, China, *F1000 Res* 2020, 9:72
5. Matricardi P et al, The First, Comprehensive Immunological Model of COVID-19: Implications for Prevention, Diagnosis, and Public Health Measures. *Preprints* 2020, 2020040436
6. Cyranoski, D. Mystery deepens over animal source of coronavirus. *Nature* 2020, 579:18
7. National Center Biotechnology Information (NCBI) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/sars-cov-2-seqs/>
8. WHO 2020, <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/events-as-they-happen>
9. Fauci A et al, Covid-19 — Navigating the Uncharted., *New Engl J Med*, 2020, <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMe2002387>.
10. Wang W et al, Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*, 2020. doi:10.1001/jama.2020.3786.
11. Service RF, You may be able to spread coronavirus just by breathing, new report finds, *Science*, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/04/you-may-be-able-spread-coronavirus-just-breathing-new-report-finds>
12. Ferretti L et al, Quantifying SARS-CoV-2 transmission suggests epidemic control with digital contact tracing. *Science*, 2020, DOI: 10.1126/science.abb6936.
13. Day M, Covid-19: four fifths of cases are asymptomatic, China figures indicate. *Brit Med J*, 2020, 369:m137
14. Lavezzo et al, Suppression of COVID-19 outbreak in the municipality of Vo, Italy. *medRxiv* 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.17.20053157>.
15. Gudbjartsson DF et al, Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic Population. *New Engl J Med*, 2020, DOI: 10.1056/NEJMoa2006100.
16. Wölfel, R. et al, Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 2020, <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>.
17. Mallapaty S, How sewage could reveal true scale coronavirus outbreak. *Nature* 2020, 580:176.
18. van Doremalen N et al, Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV. *New England J Medicine*, 2020, <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc2004973>.
19. Temmam S et al, Absence of SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in close contact with a cluster of COVID-19 patients in a veterinary campus. *BioRxiv* 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.07.029090>.
20. Shi J et al, Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS–coronavirus 2. *Science*, 2020, DOI: 10.1126/science.abb7015.
21. Gillepsie TR and Leendertz FH, COVID-19: Protect great apes during human pandemics, *Nature* 2020, <https://www.nature.com/articles/d41586-020-00859-y>.

22. Flaxman S et al, Estimating the number of infections and the impact of nonpharmaceutical interventions on COVID-19 in 11 European countries. Imperial College London, 2020, doi: <https://doi.org/10.25561/77731>.
23. Impact of non-pharmaceutical intervention to reduce COVID-19 mortality and health care demand, Imperial College COVID-19 response Team, 2020, <https://www.imperial.ac.uk/media/imperial-college/medicine/sph/ide/gida-fellowships/Imperial-College-COVID19-NPI-modelling-16-03-2020.pdf>.
24. World Economic Forum, Why lockdowns can halt the spread of COVID-19, 2020, <https://www.weforum.org/agenda/2020/03/why-lockdowns-work-epidemics-coronavirus-covid19/>.
25. Cao X, Covid-19: immunopathology and its implications for therapy. *Nature Rev Immunology*, 2020, 20:269.
26. Kupferschmidt K, Ending coronavirus lockdowns will be a dangerous process of trial and error. *Science*, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/04/ending-coronavirus-lockdowns-will-be-dangerous-process-trial-and-error>.
27. Leopoldina National Akademie der Wissennchaften, 2nd Ad-hoc-Statement: Coronavirus Pandemic – Measures Relevant to Health. 2020, 3 April.
28. Cyranosky D, We need to be alert’: Scientists fear second coronavirus wave as China’s lockdowns ease. *Nature news* 2020, https://www.nature.com/articles/d41586-020-00938-0?utm_source=Nature+Briefing&utm_campaign=608d0be707-briefing-dy-20200331&utm_medium=email&utm_term=0_c9dfd39373-608d0be707-45095806.
29. Normile D, Coronavirus cases have dropped in South Korea. What’s the secret to its success? *Science*, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/03/coronavirus-cases-have-dropped-sharply-south-korea-whats-secret-its-success>.
30. Mehta P, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet*, 2020; 395: 1033-4.
31. Xu Z, et al, Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*. 2020, 8:420.
32. Channappanavar R and Perlman S, Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol*, 2017, 39:529.
33. Zheng M et al, Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*, 2020, <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0402-2>).
34. Maggi E et al, COVID-19: Unanswered questions on immune response and pathogenesis. *J Allergy*, 2020, in press.
35. Prompetchara E et al., Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2020, DOI 10.12932/AP-200220-0772
36. Zhao J et al., Airway Memory CD4(+) T Cells Mediate Protective Immunity against Emerging Respiratory Coronaviruses. *Immunity*. 2016, 44:1379.
37. Mantovani A et al, Interleukin-1 and related cytokines in the regulation of inflammation and immunity, *Immunity* 2019, 50:778.
38. Okba NMA et al, SARS-CoV-2 specific antibody response in COVID-19 patients. *Emerging Infectious Dis*, 2020, doi: 10.3201/eid2607.20084.
39. Lou B et al, Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since the exposure and post symptom onset, *medRxiv* 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.23.20041707>.
40. Wolfel R et al, Virological assessment of hospitalized patients with COVID-19. *Nature*, 2020, <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2196-x>.
41. Wu F. et al, Neutralizing antibody responseto SARS-CoV-2 in COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *medRxiv*, 2020, <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2196-x>.
42. Xiang F et al, Antibody detection and dynamic characteristic in patients with COVID-19. *Clinical Infectious Diseases*, 2020, ciaa461, <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa461>.
43. Long at al, Antibody response to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nature Med* 2020. Doi:10.1038/s41591-020-0897-1.
44. Guo L et al, Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*, 2020, Doi: 10.1093/cid/ciaa310
45. Baric R, The Week in Virology podcast. 2020, <http://www.microbe.tv/twiv/>.
46. WHO “Immunity passports” in the context of COVID-19. 2020, <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/immunity-passports-in-the-context-of-covid-19>

47. Huang C et al, Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan. China, *Lancet* 2020, 395:497
48. Klok FA. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res.* 2020, 190:45
49. Zhou F et al, Clinical course and risk factor for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*, 2020, 395:1054.
50. Lodigiani C et al, Venous and arterial thromboembolic complications in COVID-19 patients admitted to an academic hospital in Milan, Italy. *Trombosis Res* 2020, PMID: 3235746.
51. Chen IY et al, Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Viroprotein 3a Activates the NLRP3 Inflammasome. *Front Microbiol.* 2019, 10:50
52. Bottazzi B et al, An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28:157.
53. Gao, T. et al. Highly pathogenic coronavirus N protein aggravates lung injury by MASP-2-mediated complement over-activation. *medRxiv*, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.29.20041962>.
54. Risitano AM et al, Complement as a target in COVID-19?, *Nature Rev Immunol*, 2020, <https://doi.org/10.1038/S42577-020-0320-7>.
55. Editorial. Redefining vulnerability in the era of COVID-19. *Lancet*, 2020, 395:1098.
56. Castagnoli et al, SARS-CoV-2 infection in children and adolescents. A systemic review. *JAMA Pediatr*, 2020, doi:10.1001/jamapediatrics.2020.1467.
57. Reineri A et al, ACE2 variants underlie interindividual variability and susceptibility to COVID-19 in Italian population. *medRxiv*, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.04.03.20047977doi>.
58. Asselta R et al, ACE2 and TMPRSS2 variants and expression as candidates to sex and country differences in COVID-19 severity in Italy. *medRxiv*, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047878doi>.
59. Thevarajan I et al, Breadth of concomitant immune response prior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nature Med* 2020, <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0819>.
60. Amoroso A et al, Impact of COVID-19 in the Italian national program of organ transplantation, Turin, GEFACOVID project, 2020.
61. Baruah V and Bose S, Immunoinformatics-aided identification of T cell and B cell epitopes in the surface glycoprotein of 2019-nCoV. *J Med Virol*, 2020, 92:495.
62. Nguyen A et al, Human Leukocyte antigen susceptibility map SARS-CoV-2, *MedRxiv*, 2020, <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.22.20040600v1>.
63. Zhao J et al., Relationship between the ABO Blood Group and the COVID-19 susceptibility. *MedRxiv*, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.11.20031096S>
64. Guillon P et al, Inhibition of the interaction between the SARS-CoV spike protein and its cellular receptor by anti-histo-blood group antibodies. *Glycobiolog*, 2008, 18:1085.
65. Tomaiuolo R et al, Activity of mannose -binding lectin in centenarians. *Aging Cell*, 2012, 11:394.
66. Zang H et al, Association between mannose binding lectin gene polymorphism and susceptibility to severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *J Infect Dis*, 2005, 192:1355.
67. Guan WJ et al., Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*, 2020, doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
68. Grasselli G, Pesenti A, Cecconi M. Critical Care Utilization for the COVID-19 Outbreak in Lombardy, Italy: Early Experience and Forecast During an Emergency Response. *JAMA.* 2020 doi: 10.1001/jama.2020.4031.
69. Fox SE et al, Pulmonary and Cardiac Pathology in Covid-19: The First Autopsy Series from New Orleans. *Medrxiv*, 2020, [.https://doi.org/10.1101/2020.04.06.20050575](https://doi.org/10.1101/2020.04.06.20050575).
70. Brian Hanley B et al, Autopsy in suspected COVID-19 cases. *J Clin Pathol*, 2020, 73:239.
71. Franks TJ et al, Lung Pathology of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS): A Study of 8 Autopsy Cases From Singapore. *Hum Pathol*, 2020, 34:743.
72. Barton L et al., COVID-19 Autopsies, Oklahoma, USA, *Am J Clin Pathol* 2020, in press.
73. Guo Y et al, Pathogenetic mechanisms of severe acute respiratory syndrome. *Virus Research* 2008, 133:4.
74. Franks TJ et al, Lung Pathology of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS): A Study of 8 Autopsy Cases From Singapore. *Hum Pathol*, 2003, 34:743

75. Clerkin KJ et al, Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) and Cardiovascular Disease. *Circulation*, 2020, AHA.120.046941 2020.
76. Fox SE et al, Pulmonary and Cardiac Pathology in Covid-19: The First Autopsy Series from New Orleans. 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.04.06.20050575>.
77. Asadi-Pooyaa AA et al, Central nervous system manifestations of COVID-19: A systematic review. *J Neurol Sci*, 2020, 413:1168321.
78. Service R.F. How does the most common coronavirus test work? *Science*, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/03/standard-coronavirus-test-if-available-works-well-can-new-diagnostics-help-pandemic>.
79. DiaSorin, 2020, <https://diasoringroup.com/en/investors/financial-corner/press-releases/diasorin-covid-19-test-has-received-fda-emergency-use>.
80. ABBOTT, <https://www.alere.com/en/home/product-details/id-now-covid-19.html>.
81. Service R.F., The standard coronavirus test, if available, works well—but can new diagnostics help in this pandemic? *Science*, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/03/standard-coronavirus-test-if-available-works-well-can-new-diagnostics-help-pandemic>
82. Subbaraman N, Coronavirus tests: researchers chase new diagnostic to fight the pandemic. *Nature News Explainer*, https://www.nature.com/articles/d41586-020-00827-6?utm_source=Nature+Briefing&utm_campaign=94a7072063-briefing-dy-20200324&utm_medium=email&utm_term=0_c9dfd39373-94a7072063-45095806.
83. Wyllie AL et al, Saliva is more sensitive for SARS-CoV-2 detection in COVID_19 patients than nasopharyngeal swabs. *medRxiv* 2020, doi.org/10.1101/2020.04.16.20067835.
84. Amanat F et al, A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. 2020, <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.17.20037713v1>.
85. Bastian I, Waring L, The Royal College of Pathologists of Australasia (RCPA) position statement on COVID-19. *Aust J Gen Pract* 2020, [doi: 10.31128/AJGP-COVID-09](https://doi.org/10.31128/AJGP-COVID-09).
86. Clerici P, SARS CoV2: la diagnosi sierologica. La posizione dell'Associazione Microbiologi Clinici Italiani. 2020_03_31U035-2020_Posizione_AMCLI-SARSCoV2fin.pdf.
87. Voge G, 'These are answers we need.' WHO plans global study to discover true extent of coronavirus infections. *Science*, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/04/these-are-answers-we-need-who-plans-global-study-discover-true-extent-coronavirus>.
88. Kalil AC. Treating COVID-19—Off-Label Drug Use, Compassionate Use, and Randomized Clinical Trials During Pandemics. *JAMA*. 2020, [doi:10.1001/jama.2020.4742](https://doi.org/10.1001/jama.2020.4742).
89. Kupferschmidt K and Cohen J, WHO launches global megatrial of the four most promising coronavirus treatments. *Science*, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/03/who-launches-global-megatrial-four-most-promising-coronavirus-treatments>.
90. Cao B et al. A trial of lopinavir–ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. *N Engl J Med*, 2020, DOI:10.1056/NEJMoa2001282.
91. Wang M et al, Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res*, 2020, 30:269.
92. Wang Y et al, Remdesivir in adults with severe COVID-19: A randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2020, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)310022-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)310022-9).
93. Norrie JD, Remdesivir for COVID-19: challenges of underpowered studies. *Lancet* 2020, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31023-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31023-0).
94. Loutfy et al, Interferon alfacon-1 plus corticosteroids in severe acute respiratory syndrome: a preliminary study. *JAMA*, 2003, 290:3222.
95. Konde MK et al, Interferon β -1a for the treatment of Ebola virus disease: A historically controlled, single-arm proof-of-concept trial. *PLoS One*, 2017, 12:e0169255. [doi: 10.1371/journal.pone.0169255](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169255).
96. REMAP-CAP response to novel COVID-10 pandemic, 2020, remapcap.org/coronavirus.
97. Cohort multiple randomized controlled trials open-label of immune modulatory drugs and other treatments in COVID-19 patients-Sarilumab trial – CORIMUNO-19 -SARI (CORIMUNO-SARI), 2020, clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04324073.
98. Liu T et al, The potential role of IL-6 in monitoring severe case of coronavirus disease 2019. *medRxiv* 2020, [doi: https://doi.org/10.1101/2020.03.01.20029769](https://doi.org/10.1101/2020.03.01.20029769).

99. Borba MGS et al, Effect of high vs low doses of cloroquine diphosphate as adjunctive therapy for patients hospitalized with severe acute respiratory syndrome coronavirus. *JAMA Netw Open*, 2020, 3:e208857.
100. Fihn et al, Caution needed on the use of chloroquine and Hydroxychloroquine for coronavirus disease 2019. *JAMA Netw Open*, 2020, 3:e 209035.
101. The Treatment Guideline for COVID-19 from Government in Chinese (7th Edit), 2020, <https://www.chinalawtranslate.com/en/coronavirus-treatment-plan-7/>
102. <https://www.fiercepharma.com/pharma/sanofi-regeneron-scale-back-kevzara-study-after-disappointing-results-severe-covid-19>
103. James M et al, Pharmacological treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA* 2020, doi:10.1001/jama.2020.6019.
104. Casadevall A and Pirofski LA, The convalescent sera option for containing COVID-19. *J Clin Invest*, 2020, 130:1545
105. Bloch EM et al, Deployment of convalescent plasma for the prevention and treatment of COVID-19, *J Clin Invest*, 2020, <https://doi.org/10.1172/JCI138745>.
106. Shen C et al, Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA*, 2020, doi:10.1001/jama.2020.4783.
107. Duan K et al, Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc Natl Acad Sci US*, 2020, www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.2004168117.
108. Wang C et al, A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *bioRxiv*, 2020, 2020.03.11.987958.
109. Regeneron, 2020, <https://www.regeneron.com/>
110. Fu Y et al, Understanding SARS-CoV-2-mediated inflammatory responses: From mechanism to potential therapeutic tools. *Virologica Sinica*, 2020, <https://doi.org/10.1007/s12250-020-0020-4>.
111. Liu L et al., Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. *insight.jci*. 2020, <https://doi.org/10.1172/jci.insight.123158>.
112. Monteil V et al, Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. *Cell*, 2020, doi: 10.1016/j.cell.2020.04.004.
113. Hoffmann M, et al, SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 2020, doi:10.1016/j.cell.2020.02.052.
114. Stopsack KH et al, TMPRSS2 and COVID-19: Serendipity or opportunity for intervention? *Cancer Discovery*, 2020, DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-0451.
115. Montopoli M et al, Prostate cancer patients in androgen-deprivation therapies have reduced risk to develop SARS-CoV-2 infections. *Ann Oncol*, 2020, In press.
116. Amanat t F and Krammer F, SARS-CoV-2 vaccines: Status report. *Immunity*, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.03.07>.
117. Lurie N et al, Developing COVID-19 vaccines at pandemic speed. *New Engl J Med*, 2020, DOI: 10.1056/NEJMp2005630.
118. Le TT et al, The COVID-19 vaccine development landscape, *Nature Drug Discov*, 2020, doi: 10.1038/d41573-020-00073-5.
119. Moderna, 2020, <https://www.modernatx.com/modernas-work-potential-vaccine-against-covid-19>
120. The Harvard Gazette, 2020, <https://news.harvard.edu/gazette/story/2020/03/in-creating-a-coronavirus-vaccine-researchers-prepare-for-future/>
121. Eyal N et al, Human Challenge Studies to Accelerate Coronavirus Vaccine Licensure, 2020, DASH <http://nrs.harvard.edu/urn-3:HUL.InstRepos:42639016>.
122. Callaway E, Hundred of people volunteer to be infected with coronavirus. *Nature*, 2020 nature.com/articles/d41586-020-01179-x.
123. Jiang S, Don't rush to deploy COVID-19 vaccines and drugs. *Nature* 2020, 579:321.
124. Chien-Te Tseng CT et al, Immunization with SARS Coronavirus Vaccines Leads to Pulmonary Immunopathology on Challenge with the SARS Virus. *PLoS ONE*, 2020, 7:e35421. doi:10.1371/journal.pone.0035421.
125. Khamsi R, If a coronavirus vaccine arrives, can the world make enough? *Nature* 2020, doi: 10.1038/d41586-020-01063-8.
126. Sala G and Miyakawa T, Association of BCG vaccination policy with prevalence and mortality of COVID-19. *medRxiv* 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20048165>doi:.

127. Shet A et al, Differential COVID-19-attributable mortality and BCG vaccine use in countries. medRxiv, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.04.01.20049478doi>.
128. de Vriese J, Can a century-old TB vaccine steel the immune system against the new coronavirus? Science, 2020, <https://www.sciencemag.org/news/2020/03/can-century-old-tb-vaccine-steel-immune-system-against-new-coronavirus>.
129. GHS Index maps <https://www.ghsindex.org/#l-section--map>.
130. Kandel N et al., Health security capacities in the context of COVID-19 outbreak: an analysis of International Health Regulations annual report data from 182 countries. Lancet, 2020, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30553-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30553-5).
131. Jacobsen K, Will COVID-19 generate global preparedness? Lancet, 2020, 395:1013.
132. WHO Critical preparedness, readiness and response actions for COVID-19. Interim guidance, 7 March 2020 https://snlg.iss.it/wp-content/uploads/2020/03/12_LG-WHO-COVID-19-Community_Actions-2020.1-eng.pdf.
133. Ranney ML et al, Critical Supply Shortages — The Need for Ventilators and Personal Protective Equipment during the Covid-19 Pandemic. New Engl J Med, 2020, DOI: 10.1056/NEJMp2006141.
134. Hunter DJ, Covid-19 and the Stiff Upper Lip — The Pandemic Response in the United Kingdom. New Engl J Med, 2020, DOI: 10.1056/NEJMp20057551.