

# Nessuna differenza significativa nella carica virale tra gruppi vaccinati e non vaccinati, asintomatici e sintomatici infetti con variante Delta SARS-CoV-2

Charlotte B. Acharya<sup>a</sup>, John Schrom<sup>b</sup>, Anthea M. Mitchell<sup>c</sup>, David A. Coill, Carina Marquez<sup>b, d</sup>, Susana Rojas<sup>b</sup>, Chung Yu Wang<sup>c</sup>, Jamin Liu<sup>e</sup>, Genay Pilarowskib, <sup>f</sup>, Leslie Solisa, Elizabeth Georgiana, Maya Petersen<sup>b, g</sup>, Joseph DeRisic, Richard Michelmore<sup>a</sup>, Diane Havlir<sup>b, d</sup>

Autori aggiunti per la corrispondenza: Diane Havlir, Richard Michelmore

NOTA: questa pre stampa riporta una nuova ricerca che non è stata certificata da una peer review e non deve essere utilizzata per guidare la pratica clinica.

## Abstract

Non abbiamo riscontrato differenze significative nei valori di soglia del ciclo tra i gruppi vaccinati e non vaccinati, asintomatici e sintomatici infetti da SARS-CoV-2 Delta. Data la proporzione sostanziale di casi di vaccinati asintomatici con alti livelli virali, gli interventi, inclusi mascheramento e test, dovrebbero essere presi in considerazione per tutti in contesti con elevata trasmissione di COVID-19.

---

<sup>a</sup> Genome Center, University of California, Davis, USA.

<sup>b</sup> Unidos en Salud, San Francisco, CA, USA

<sup>c</sup> Chan Zuckerberg Biohub, and Dept of Biochemistry & Biophysics, University of California, San Francisco, USA.

<sup>d</sup> Department of Medicine, Division of HIV, Infectious Disease and Global Medicine, University of California, San Francisco, USA.

<sup>e</sup> Joint UCB/UCSF Bioengineering Program, University of California, Berkeley and University of California, San Francisco, USA.

<sup>f</sup> The Public Health Company, Oakland, California, USA.

<sup>g</sup> School of Public Health, University of California, Berkeley, USA.

## BACKGROUND

I vaccini riducono l'infezione, le malattie gravi e la morte per SARS-CoV-2 (COVID-19)<sup>1</sup>, ma si verificano casi ancora innovativi<sup>2</sup>. Diversi rapporti non mostrano differenze nei valori di soglia del ciclo (valori Ct) tra individui vaccinati e non vaccinati<sup>2,3,4</sup>; tuttavia, altri hanno suggerito che i casi di infezione, in particolare tra gli individui asintomatici, hanno una carica virale inferiore e quindi possono avere meno probabilità di provocare la trasmissione<sup>5,6</sup>.

Un controllo efficace dell'epidemia richiede dati contemporanei per guidare le misure di mitigazione della salute pubblica. Qui riportiamo i valori Ct tra individui completamente vaccinati e non vaccinati, asintomatici e sintomatici al momento del test, durante un periodo di alta trasmissione della variante Delta in due popolazioni distinte: un sito comunitario Unidos en Salud (UeS) nel Mission District di San Francisco e Healthy Yolo Together (HYT) con test asintomatici dell'Università della California (UC), a Davis.

## Materiali E Metodi

### POPOLAZIONI DI STUDIO

Sono stati raccolti dati su individui che hanno cercato volontariamente il test per SARS-CoV2 da due popolazioni demograficamente distinte in California durante un periodo di due mesi dal 17 giugno al 31 agosto 2021, durante il quale la Delta era la variante predominante.

HYT: Come parte della risposta alla pandemia di COVID-19, l'UC a Davis ha implementato un ampio programma di test asintomatici gratuiti che includeva la città di Davis e la contea di Yolo (Healthy Yolo Together). Gli individui asintomatici di età superiore ai 2 anni erano idonei per il test. I casi asintomatici sono stati classificati come individui che non riportavano sintomi al momento del test. I campioni sono stati raccolti attraverso un metodo supervisionato in cui gli individui hanno trasferito la loro saliva in un tubo con codice a barre (test COVID-19 | Campus Ready). Un numero minore di individui sintomatici è stato processato utilizzando un flusso di lavoro diverso e un test antigenico; pertanto, non sono stati inclusi in questo studio.

UeS: la popolazione dello studio includeva individui che hanno richiesto il test SARS-CoV- presso il sito di visita UeS, un'attuale accademia (UCSan Francisco, CZBiohub e UC Berkeley), un'organizzazione comunitaria (Latino Task Force) e una partnership governativa (SFDPH). Il sito di test BinaxNOW™ gratuito e all'aperto era situato in un centro di trasporto pubblico e commerciale nel Mission District, un ambiente di trasmissione costante a San Francisco<sup>7</sup>. Gli individui di età pari o superiore a un anno, con o senza sintomi, erano idonei per il test.

### MISURAZIONI

Le infezioni sono state classificate come casi di infezione se l'individuo era stato completamente vaccinato (due settimane dopo il ricevimento di tutte le dosi di vaccino). Gli individui che avevano ricevuto una sola dose o che erano stati testati entro due settimane dalla seconda dose, nel caso dei vaccini Pfizer e Moderna, non sono stati inclusi nell'analisi.

HYT: le informazioni demografiche sono state raccolte dagli individui al momento della registrazione. Le informazioni sullo stato della vaccinazione sono state ottenute al momento della ricerca dei contatti e confermate nel Registro Vaccinale della California. Nell'analisi sono stati utilizzati solo individui confermati come completamente vaccinati; campioni discordanti, auto-riferiti come vaccinati ma non confermati, sono stati trattati come 'stato sconosciuto'. Campioni di saliva di individui asintomatici sono stati testati per la presenza delle regioni N1 e N2 del gene del nucleocapside virale (N) utilizzando primer e sonde descritti nel pannello diagnostico RT-PCR in tempo reale CDC 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV), utilizzando strumenti di PCR quantitativa

ad alta produttività IntelliQube (LGC Biosearch Technologies). I valori Ct sono stati calcolati con il software FastFinder (UgenTec | FastFinder).

I genotipi di tutti i campioni positivi N1/N2 sono stati determinati utilizzando l'analisi SNP RT-PCR a 11 loci diagnostici per le varianti di interesse (saggi SARS-CoV- Variant ValuPanel | LGC Biosearch Technologies). Anche un sottoinsieme di campioni (39%) è stato sequenziato utilizzando la piattaforma di sequenziamento MiSeq Illumina. I genomi di consenso sono stati generati con Viralrecon2 e varianti chiamate in versione Pangolin 3.1.11 e PLEARN-v1.2.66. Il sequenziamento ha confermato le varianti chiamate dalla genotipizzazione.

**UeS:** gli individui hanno fornito dati demografici e informazioni sui sintomi immediatamente prima del test utilizzando i kit BinaxNOW™. Lo stato vaccinale per COVID-19, inclusa la data dell'ultima iniezione, è stato ottenuto tramite il Registro Vaccinale della California. Campioni di tamponi antero-nasale (iClean, Chenyang Global) raccolti da assistenti di laboratorio certificati da individui positivi a BinaxNOW sono stati collocati in DNA/RNA Shield (Zymo, Inc.) e processati per qRT-PCR, recupero del genoma e determinazione di varianti/lignaggio come in precedenza descritto<sup>89</sup>. I valori Ct per il rilevamento dei geni N ed E8 sono stati determinati tramite la modalità di determinazione Cq a soglia singola utilizzando Bio-Rad CFX Maestro v4.1 (Bio-Rad Inc). I genomi SARS-CoV-2 sono stati sequenziati utilizzando la piattaforma Illumina NovaSeq. I genomi di consenso sono stati generati tramite il modulo COVID della pipeline IDseq (<https://idseq.net>) come descritto<sup>9</sup>.

## ANALISI

I valori Ct sono stati tracciati, stratificati per sito; completamente vaccinati vs. non vaccinati; e sintomatologia. I campioni dei soggetti parzialmente vaccinati e la stratificazione per età e tipo di vaccino sono riportati nei materiali supplementari. I valori Ct tra gli strati sono stati confrontati utilizzando un t-test a due code.

## DICHIARAZIONE ETICA

**HYT:** Il laboratorio del Genome Center che ha condotto i test COVID-19 è stato approvato CLIA come estensione del laboratorio dello Student Health Center. L'amministrazione dell'IRB dell'UCDavis ha stabilito che lo studio soddisfaceva i criteri per la segnalazione della salute pubblica ed era esente dalla revisione e dall'approvazione dell'IRB.

**UeS:** Il Comitato per la ricerca umana dell'UCSan Francisco ha stabilito che lo studio soddisfa i criteri per la sorveglianza della salute pubblica. Tutti i partecipanti hanno fornito il consenso informato per il test.

## Risultati

Nell'analisi sono stati inclusi un totale di 869 campioni, 500 da HYT e 369 da UeS. Tutti i campioni analizzati da HYT erano asintomatici al momento della raccolta e il 75% dei campioni positivi proveniva da individui non vaccinati (N=375). I campioni positivi da UeS provenivano sia da individui sintomatici (N=237) che asintomatici (N=132). La frequenza dei positivi vaccinati tra i campioni da UeS (7 completamente vaccinati, 9 non vaccinati) è stata maggiore rispetto ai campioni HYT che riflettono i diversi tipi di popolazioni campionate. La variante Delta è stata la variante predominante rilevata in entrambe le popolazioni (Tabella supplementare 1).

Non ci sono state differenze statisticamente significative nei valori Ct medi dei campioni vaccinati (UeS: 23,1; HYT: 25,5) rispetto a quelli non vaccinati (UeS: 23,4; HYT: 25,4). Sia nei vaccinati che nei non vaccinati, c'era una grande variazione tra gli individui, con valori Ct da <15 a >30 sia nei dati UeS che HYT ([Fig. 1A, 1B](#)). Allo stesso modo, non sono state riscontrate differenze statisticamente significative nei valori Ct medi dei campioni asintomatici (UeS: 24,3; HYT: 25,4) rispetto a quelli sintomatici (UeS: 22,7), complessivi o stratificati per stato vaccinale ([Fig. 1B](#)). Valori Ct simili sono stati trovati anche tra i diversi gruppi di età, tra i sessi e i tipi di vaccino (Figura supplementare 1).

In tutti i gruppi, c'erano individui con bassi valori di Ct indicativi di alte cariche virali. Un totale di 69 individui completamente vaccinati aveva valori Ct <20. Di questi, 24 erano asintomatici al momento del test.

## DISCUSSIONE

Nel nostro studio, le cariche virali medie misurate dal valore Ct erano simili per un gran numero di individui asintomatici e sintomatici infetti da SARS-Cov-2 durante l'ondata Delta, indipendentemente dallo stato vaccinale, dall'età o dal sesso. Ciò contrasta con uno (studio) in corso su un'ampia coorte della comunità nel Regno Unito in cui il valore Ct mediano era più alto per gli individui vaccinati (27,6) che per gli individui non vaccinati (23,1)<sup>5</sup>. Inoltre, uno studio di San Francisco ha riportato che 10 individui asintomatici completamente vaccinati avevano cariche virali significativamente inferiori rispetto a 28 individui sintomatici, vaccinati<sup>6</sup>.

Il nostro studio è coerente con altri rapporti recenti che mostrano cariche virali simili tra individui vaccinati e non vaccinati in contesti con trasmissione della variante Delta. In uno studio del Wisconsin, i valori Ct erano simili e la positività della coltura non era diversa in un sottoinsieme di analisi tra 11 casi vaccinati e 24 non vaccinati<sup>4</sup>. Sia nel Massachusetts che a Singapore, gli individui vaccinati con infezioni causate dalla variante Delta avevano valori Ct simili a individui non vaccinati<sup>310</sup>. I nostri risultati sono coerenti con ampi set di campioni che utilizzano dosaggi diversi da due luoghi distinti.

Una parte sostanziale di individui asintomatici e completamente vaccinati nel nostro studio aveva valori Ct bassi, indicativi di elevate cariche virali. Dato che bassi valori di Ct sono indicativi di alti livelli di virus, positività della coltura e aumento della trasmissione<sup>11</sup>, la nostra rilevazione di bassi valori di Ct in individui asintomatici e completamente vaccinati è coerente con il potenziale di trasmissione da casi di infezione prima di qualsiasi comparsa dei sintomi. È interessante notare che le cariche virali sono diminuite più rapidamente negli individui vaccinati rispetto a quelli non vaccinati a Singapore<sup>3</sup>, suggerendo che gli individui vaccinati possono rimanere infettivi per periodi di tempo più brevi.

Oltre il 20% degli individui vaccinati positivi aveva valori Ct bassi (<20), un terzo dei quali era asintomatico al momento del test. Ciò evidenzia la necessità di ulteriori studi sullo stato immunologico di tali fughe dai vaccini e su quanto siano infettive. Se tali individui portano carichi elevati di virus attivo, gli individui vaccinati asintomatici possono contribuire sempre più alla pandemia in corso man mano che cresce la proporzione di individui vaccinati.

Anche i valori Ct in alcuni bambini sotto i 12 anni che non sono ancora idonei alla vaccinazione erano bassi. Venti su 109 (18,3%) bambini di età inferiore a 12 anni avevano valori Ct <20, di cui 14 erano asintomatici al momento del test. Ct basso indica che i bambini avevano alte cariche virali ed erano probabilmente infettivi. Ciò sottolinea il valore di test regolari e rapidi per i bambini in età scolare per rilevare precocemente l'infezione e bloccare le catene di trasmissione in ambienti in cui circola la variante Delta.

I dati raccolti in questo studio durante l'ondata della variante Delta supportano fortemente l'idea che né lo stato del vaccino né la presenza o l'assenza di sintomi dovrebbero influenzare la raccomandazione e l'attuazione di buone pratiche di salute pubblica, tra cui l'uso di mascherine, test, distanza sociale e altre misure volte a mitigare la diffusione di SARS-CoV-2.

### Dichiarazione di contributo dell'autore:

JD, RWM, DH e MP hanno concepito il progetto. DC, CM, SR, DH e GP hanno aiutato a raccogliere i dati. CA, AM, CYW e JL hanno aiutato a eseguire i test, la genotipizzazione e il sequenziamento. CA, JH, LS, JD, AM, CYW, JS e JL hanno preparato i dati per la pubblicazione. RM, EG, DH, MP, DC, JS e JD hanno contribuito alla stesura del manoscritto. Tutti gli autori hanno letto e approvato il manoscritto finale.

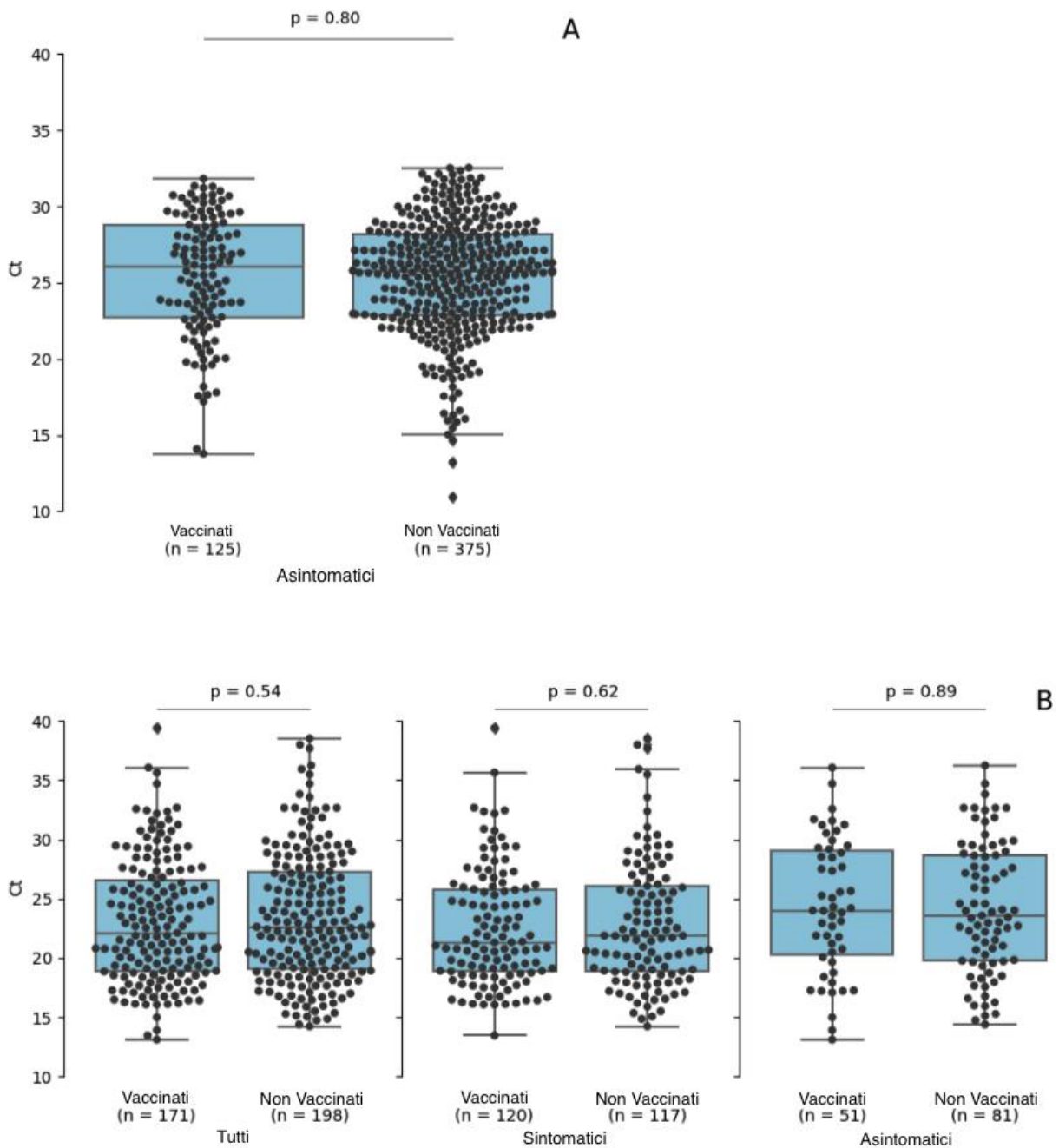
**Finanziamento:** questo lavoro è stato sostenuto da Chan Zuckerberg Biohub, Healthy Yolo Together, University of California, San Francisco, Chan Zuckerberg Initiative e la University of

California, Davis.

**Ringraziamenti:** molte persone si sono rese responsabili della raccolta dei campioni, dell'esecuzione dei test, dell'esecuzione della genotipizzazione e del sequenziamento e dell'elaborazione dei dati come elencato nella tabella supplementare.

**Conflitto Di Interessi:** il Dr. DeRisi riferisce di essere un consulente scientifico della Public Health Co. e un consulente scientifico di Allen & Co. Il Dr. Havlir riferisce di un supporto non finanziario da parte di Abbott al di fuori del lavoro presentato. Gli altri autori non dichiarano interessi concorrenti.

**Figure**





**Figura 1. Valori soglia del ciclo SARS-CoV-2 in individui asintomatici, sintomatici, vaccinati e non vaccinati in California.** Valori soglia del ciclo di reazione a catena della trascrizione inversa della polimerasi SARS-CoV-2 per campioni provenienti da pazienti per stato vaccinale da Healthy Yolo Together (City of Davis and Yolo County, California) (pannello A) e da campioni per vaccino e stato sintomatico da Unidos en Salud (Mission District, San Francisco, California) (pannello B). I box plot mostrano il primo quartile, la mediana e il terzo quartile nella regione ombreggiata; i diamanti indicano valori anomali oltre 1,5 volte l'intervallo interquartile; i valori di  $p$  sono stati calcolati con t-test a due code.

<sup>1</sup> Abu-Raddad LJ, Chemaitelly H, Butt AA, National Study Group for C-V. Effectiveness of the BNT162b2 Covid-19 Vaccine against the B.1.1.7 and B.1.351 Variants. *N Engl J Med* 2021; 385:187-9. DOI: 10.1056/NEJMc2104974.

<sup>2</sup> Pouwels KB, Pritchard E, Matthews PC, et al. Impact of Delta on viral burden and vaccine effectiveness against new SARS-CoV-2 infections in the UK. Pre-print 2021 <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.08.18.21262237v1>

<sup>3</sup> Chia PY, Ong SWX, Chiew CJ, et al. Virological and serological kinetics of SARS-CoV-2 Delta variant vaccine-breakthrough infections: a multi-center cohort study. Pre-print 2021. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.07.28.21261295v1>

<sup>4</sup> Riemersma KK, Grogan BE, Kita-Yarbro A, et al. Shedding of Infectious SARS-CoV-2 Despite Vaccination. Pre-Print 2021. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.07.31.21261387v4>

<sup>5</sup> Elliott P, Haw D, Wang H, et al. REACT-1 round 13 final report: exponential growth, high prevalence of SARS-CoV-2 and vaccine effectiveness associated with Delta variant in England during May to July 2021. Pre-print 2021. [https://spiral.imperial.ac.uk/bitstream/10044/1/90800/2/react1\\_r13\\_final\\_preprint\\_final.pdf](https://spiral.imperial.ac.uk/bitstream/10044/1/90800/2/react1_r13_final_preprint_final.pdf)

<sup>6</sup> Servellita V, Morris MK, Sotomayor-Gonzalez A, et al. Predominance of antibody-resistant SARS-CoV-2 variants in vaccine breakthrough cases from the San Francisco Bay Area, California. Pre-print 2021. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.08.19.21262139v1>

<sup>7</sup> Pilarowski G, Lebel P, Sunshine S, et al. Performance Characteristics of a Rapid Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Antigen Detection Assay at a Public Plaza Testing Site in San Francisco. *J Infect Dis* 2021; 223(7):1139-1144. DOI: 10.1093/infdis/jiaa802.

<sup>8</sup> Crawford E, Acosta I, Ah Yong V, et al. Rapid deployment of SARS-CoV-2 testing: The CLIAHUB. *PLoS Pathog* 2020 16(10):e1008966. doi: 10.1371/journal.ppat.1008966.

<sup>9</sup> Peng J, Liu J, Mann SA, et al. Estimation of secondary household attack rates for emergent spike L452R SARS-CoV-2 variants detected by genomic surveillance at a community-based testing site in San Francisco. *Clin Infect Dis* 2021; ciab283. DOI: 10.1093/cid/ciab283.

<sup>10</sup> Brown CM, Vostok J, Johnson H, et al. Outbreak of SARS-CoV-2 infections, including COVID-19 vaccine breakthrough infections, associated with large public gatherings-Barnstable County, Massachusetts, July 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2021; 70: 1059-1062. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm7031e2>.

<sup>11</sup> Jefferson T, Spencer EA, Brassey J, Heneghan C. Viral cultures for COVID-19 infectious potential assessment – a systematic review. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa1764. DOI: 10.1093/cid/ciaa1764.

Un ringraziamento speciale al Team Traduttori, semplici genitori che condividono il loro tempo e mettono a disposizione le loro conoscenze per informare correttamente chi deve fare una scelta molto importante, affinché il consenso sia realmente LIBERO ed informato.

Staff Cliva Toscana

## Contatti

e-mail: [clivatoscana@inventati.org](mailto:clivatoscana@inventati.org)

telegram: <https://t.me/clivatoscana>

sito: [www.clivatoscana.com](http://www.clivatoscana.com)

Facebook: [www.Facebook.com/clivatoscana](https://www.Facebook.com/clivatoscana)

