

Materiale aggiuntivo

Come comprendere il risultato di un test COVID-19

Contesto scientifico

Come funzionano I test per il COVID-19?

All'inizio della pandemia, I campioni di sangue erano comunemente testati per gli anticorpi prodotti dal paziente stesso contro il virus. Lo svantaggio di questo tipo di test è che una persona che è stata infettata di recente potrebbe non ancora sviluppare anticorpi e, d'altra parte, gli anticorpi possono resistere nel sangue anche dopo molto tempo la fine dell'infezione. Tuttavia, questi test potrebbero essere un mezzo utile per stabilire chi ha acquisito l'immunità in seguito all'infezione o il vaccino.

I test PCR di cui si è discusso nell'articolo, funzionano rilevando la presenza del virus SARS-CoV-2, che è causa della malattia da COVID-19, in un campione del paziente, di solito prelevato mediante I tamponi nasali e faringei. In modo specifico, questi test rilevano regioni brevi del genoma dell'RNA virale usando una tecnica nota come reazione a catena della polimerasi della trascrittasi inversa (RT-PCR). Ciò richiede attrezzature sofisticate così I campioni devono essere mandati in laboratorio per essere analizzati, ma questi test possono essere molto sensibili e rilevare il virus a livelli inferiori.

Un terzo tipo di test COVID-19 sono I test a flusso laminare sviluppati recentemente, che sono un tipo di immunodosaggio. Questi testano la presenza di proteine virali usando anticorpi prodotti che si legano in modo specifico a una particolare proteina virale (antigene). Funzionano in modo simile ai test di gravidanza e danno un risultato immediato senza richiedere attrezzature complesse. Tuttavia, potrebbero non rilevare il virus quando esso è presente a livelli inferiori.

Infine, sono stati sviluppati e testati un certo numero di variazioni a questi approcci, per esempio, usando l'amplificazione isoterma invece del PCR, o diversi metodi di rilevazione.

Questi diversi tipi di test presentano vantaggi e svantaggi diversi e ciascun test sviluppato avrà diversi valori di accuratezza, quindi test diversi possono essere I più appropriati in contesti diversi.

Cos'è il RT-PCR?

L'RT-PCR si basa sulla reazione a catena della polimerasi che consente di amplificare una parte di DNA con una sequenza specifica utilizzando un enzima detto primer e polimerasi del DNA, che sono piccole parti di DNA complementari alla sequenza che si sta testando, per farne enormi quantità di copie. Solo le sequenze di DNA che si abbinano ai primer saranno amplificate, e in ogni ciclo, tutti i frammenti di bersaglio presenti sono copiate una sola volta, così che il loro numero raddoppi ad ogni ciclo (crescita esponenziale). Ciò significa che possono essere prodotte milioni di copie entro poche ore, pertanto la tecnica può rilevare persino livelli iniziali di DNA molto bassi.

E quindi per quanto riguarda la parte RT? La SARS-CoV è un virus RNA, il che significa che ha un genoma RNA invece di un genoma DNA. Il PCR funziona solo con il DNA, quindi per rilevare l'RNA, deve essere prima convertito in DNA attraverso una trascrizione inversa. Secondo il "dogma centrale" della biologia molecolare, il DNA è trascritto nell'RNA (che viene tradotto in proteina). Tuttavia, alcuni organismi sono in grado di fare l'inverso; possiedono enzimi che possono trascrivere inversamente l'RNA in DNA. L'RT-PCR consente l'amplificazione dell'RNA utilizzando uno di questi enzimi con trascrittasi inversa (RT) per produrre prima delle copie di DNA dell'RNA, prima di procedere con il PCR.

Infine, avrete letto delle relazioni dove vengono riportati i "carichi virali" o i livelli del virus in un campione o in un paziente. Ciò è possibile perché la maggior parte di questi test RT-PCR utilizzano in effetti PCR quantitativi (qPCR) piuttosto che PCR standard. qPCR è una variante di PCR dove il progresso dell'amplificazione può essere monitorato nel tempo attraverso l'utilizzo di coloranti e sonde fluorescenti. Ciò consente alla quantità iniziale di DNA, che dovrebbe essere proporzionale al numero delle particelle virali nel campione, di essere calcolato.

Qui puoi trovare un bel video esplicativo del test RT_PCR COVID-19:

https://www.youtube.com/watch?v=Vd38iS_W7ww&ab_channel=DNALearningCenter

Punti di discussione

- Se stessi eseguendo un programma di test, quali fattori dovresti considerare (e.g., accuratezza, velocità, spesa)?
- Quali sono i vantaggi e gli svantaggi dei diversi tipi di test di cui si è parlato?
- Vi sono situazioni dove un test meno preciso ma più veloce ed economico potrebbe essere la scelta migliore? Fa la differenza se l'inaccuratezza è dovuta ai falsi positivi (bassa specificità) o ai falsi negativi (bassa sensibilità)?



- Di quali altri test medici si potrebbe parlare di concetti come sensibilità, selettività, e probabilità pre-test? Risposta – essenzialmente qualsiasi test con un risultato sì/no. I test di gravidanza sono un esempio ovvio.
- Per una malattia molto infettiva come il COVID-19, I falsi negativi rappresentano un problema molto serio dato che potrebbero portare I soggetti infetti a pensare di essere negativi e a non isolarsi infettando gli altri. Vi sono malattie dove I falsi positivi potrebbero essere altrettanto peggiori?Indizio: Pensa alle malattie non infettive come le cure che non hanno effetti collaterali come la chemioterapia o la chirurgia.
- Quali proteine virali potrebbe rilevare un test a flusso laminare? Ciò potrebbe essere correlato alla biologia virale di base. Gli studenti possono sapere che la particella virale è assemblata dalle proteine del capsido, per esempio.