

# the bumbNC(=O)Ning biO[C@H]1O[C@@H](O)[C@H](O)[C@@H]1Ochemist

[Home](#)

[About](#) ▾

[Let's talk science](#) ▾

[Graphics](#) ▾

[Questions/Requests](#)



I diversi tipi di test per il Covid-19 (Italian)

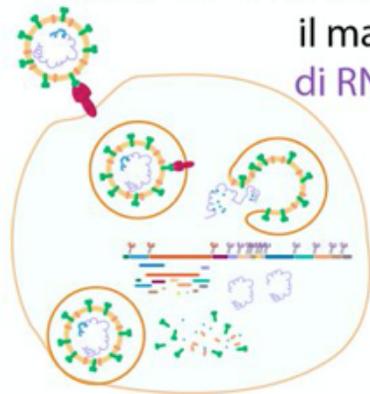
[Home](#) > [covid](#) > [I diversi tipi di test per il Covid-19 \(Italian\)](#)

Dalla International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUMB)

A cura delle Prof.sse Martini, Da Pozzo e Giacomelli

Corsi di Biochimica (CTF), Biochimica Generale e Molecolare (Farmacia)

## Covid-19 è la **malattia** causata dal **coronavirus SARS-Cov-2**



il materiale genetico del SARS-Cov-2 consiste in un **filamento di RNA** che contiene la "ricetta" per le proteine necessarie alla replicazione del virus

dopo aver infettato una cellula, il virus sfrutta la cellula ospite per produrre le proteine di cui ha bisogno  
la risposta immune adattativa dell'ospite consiste nel produrre anticorpi che riconoscono queste proteine come nemiche e reclutano altre cellule per eliminarle



### **i test PCR e il nuovo test rapido (ID NOW)**

cercano sequenze dell'**RNA virale**  
generalmente cercando in campioni prelevati dal naso o dalla gola del paziente  
possono rilevare un'**infezione attiva** nella *fase precoce* della malattia  
ma dopo averlo sconfitto, nel corpo del paziente non restano tracce genetiche del virus

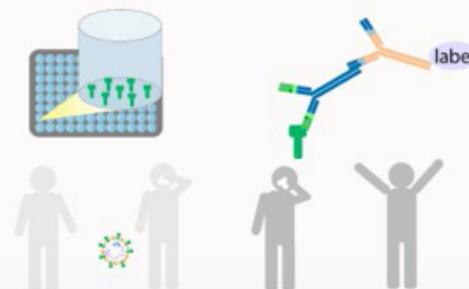
Le regioni del genoma virale vengono copiate e se ne misurano la presenza e la quantità



### **test sierologico degli anticorpi**

rileva se il sistema immunitario del paziente riconosce le proteine virali costruite secondo l'RNA del virus  
non è in grado di rilevare nulla fino ad una *fase tardiva dell'infezione*  
può essere usato anche se un paziente è **stato infettato dal virus in passato**, anche dopo la guarigione

il campione di sangue viene mescolato con delle proteine virali e si misura l'associazione anticorpo-proteina



## SARS-Cov-2 (il nuovo coronavirus che causa la malattia Covid-19) è un **virus a singolo filamento di RNA**

il suo materiale genetico è contenuto **in un singolo filamento di RNA** invece di un DNA a doppio filamento come il nostro. Il suo "scopo" è quello di replicare il suo RNA, associarlo a delle proteine strutturali e uscire dalla cellula in cui si trovava per trovare una nuova cellula da infettare il virus può piratare il funzionamento della cellula, come la produzione di proteine, per sfruttarla a suo piacimento, ma ci sono alcuni strumenti importanti per il virus che noi non

abbiamo  
le proteine (spike) di superficie che

danno la forma di una **corona** e che **singolo filamento di RNA**

aiutano il virus a penetrare

dentro le cellule

una **RNA-Polimerasi**

**RNA-dipendente, per copiare l'RNA**

**una proteina nucleocapsidica per rivestire il genoma**

**una proteina di rivestimento che aiuta la gemmazione**

**& prolungata da proteine spike**



**rivestito da una proteina**

**Nucleocapsidica**

**ricoperto da una membrana**

**completata da proteine di rivestimento**

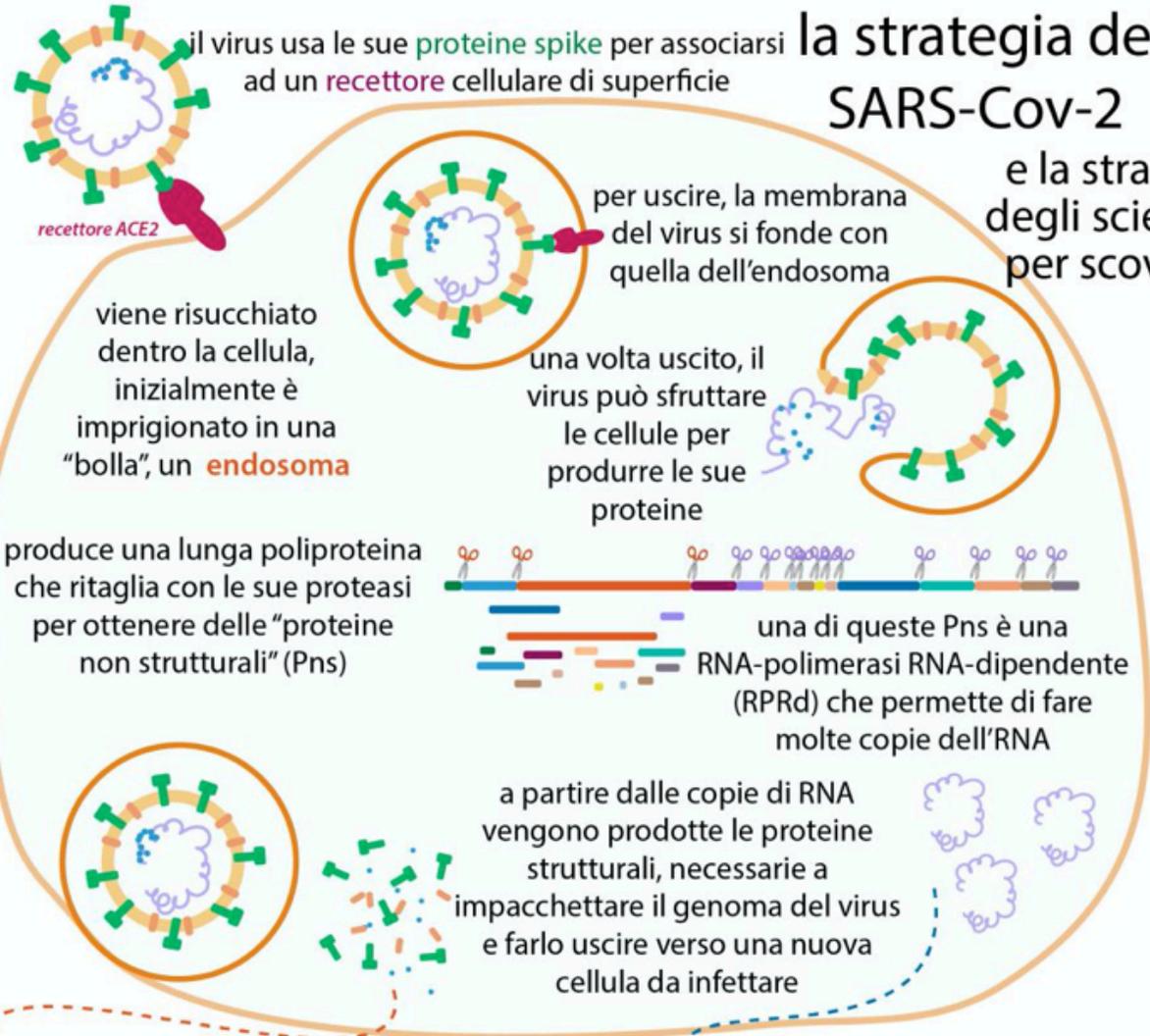
le istruzioni per costruire questi elementi sono nel genoma del virus, ma non nel nostro, e questo genoma estraneo può essere rilevato usando un **test basato su RT-PCR (il test tradizionale) oppure il nuovo "test rapido" (ID NOW)**

*questa prova genetica appare già nelle fasi precoci dell'infezione, ma sparisce dopo la guarigione del paziente*

ma ci sono ancora tracce dell'infezione! - delle piccole proteine chiamati anticorpi prodotte specificamente dal sistema immunitario per riconoscere le proteine virali e combattere il virus - alcuni anticorpi restano in circolo per sorvegliare la situazione, e possono essere rilevati con un **test sierologico**

# la strategia del SARS-Cov-2

e la strategia degli scienziati per scovarlo!

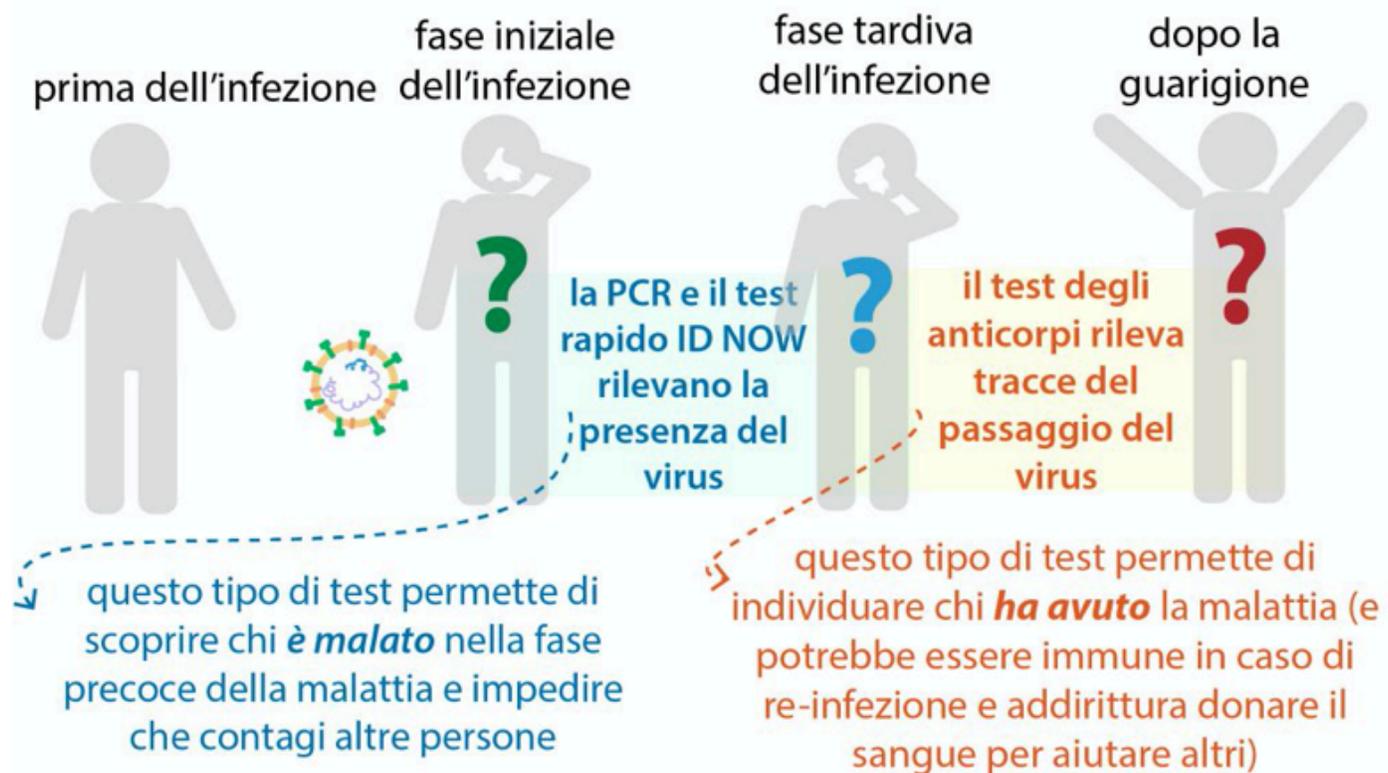


✓ i test sierologici cercano nel sangue del paziente degli anticorpi che riconoscano queste proteine, questo indica che il sistema immunitario del paziente è o è stato esposto al virus e ha sviluppato una risposta immunitaria

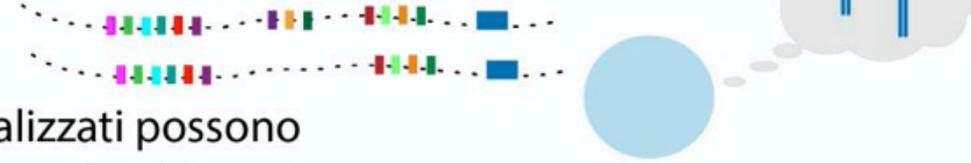
↙ la PCR (ed il test rapido ID NOW) cercano frammenti di questo RNA in un tampone prelevato dal naso o dalla gola del paziente, questo indica che il virus si trova effettivamente lì al momento del test

# L'importanza dei test sierologici

È importante raccogliere dati precisi e completi con i test per il Covid-19 per poter sapere quanto è diffusa la malattia e quali sono le probabilità di sviluppare sintomi gravi o di morire. **Ma raccogliere questi dati non è evidente.** *in alcuni casi le persone possono essere contagiate (e contagiose) senza sviluppare sintomi, quindi potrebbero anche non saperlo* anche quando le persone si ammalano (probabilmente di Covid-19), senza una PCR o un test rapido, non sappiamo quante persone lo hanno effettivamente e quando i pazienti non testati guariscono, non sappiamo se lo hanno avuto. A quel punto è tardi per questo genere di test, ma non è troppo tardi per effettuare un test sierologico degli anticorpi



**gli anticorpi** sono prodotti da cellule chiamate linfociti B che cercano di produrre anticorpi il più specifici possibili  
I linfociti B immaturi hanno diverse possibilità per produrre gli anticorpi



Ma una volta specializzati possono produrre un solo tipo di anticorpi



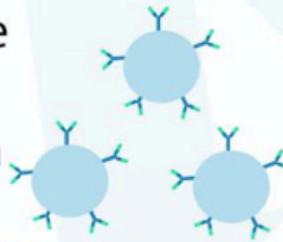
Diversi linfociti B immaturi possono specializzarsi nella produzione di anticorpi diversi



Questa scelta casuale determina quale antigene l'anticorpo potrà riconoscere  
Se l'anticorpo riconosce l'antigene, il corpo può sviluppare una risposta immunitaria

Il corpo seleziona la cellula che lo produce e ne fa moltissime copie

alcune di queste cellule tengono l'anticorpo sulla loro superficie



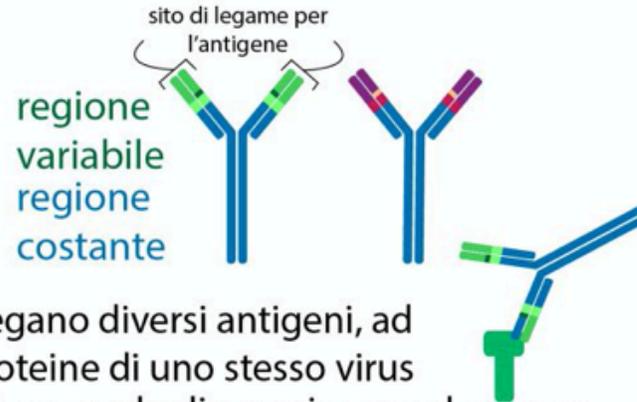
**linfociti B memoria**

altre si specializzano nel secernerlo



**linfociti B effettori (plasmacellule)**

il sistema immunitario sposta delle **regioni variabili** in delle piccole proteine dette anticorpi, per trovare quella che meglio riconosce le proteine virali, gli "antigeni" e innescano una risposta immune se riconosciuti dagli anticorpi



I diversi tipi di test  
The Bumbling Bio

anticorpi diversi legano diversi antigeni, ad esempio diverse proteine di uno stesso virus

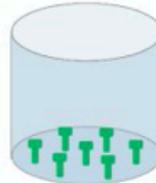
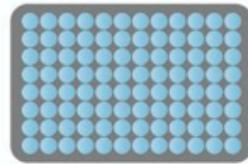
# ELISA

il test ELISA è un modo di scoprire se nel sangue del paziente ci sono anticorpi che riconoscono un specifico antigene

**enzyme-linked immunosorbent assay**  
(saggio immuno-assorbente legato a un enzima)

il fondo del pozzetto è riempito con la proteina virale che funge da antigene

viene aggiunto un campione del



sangue anti-coagulante completo

spin down

coagulazione



sangue del paziente  
**plasma**

globuli bianchi, piastrine e globuli rossi



**siero**  
coagulo

sia plasma che siero contengono gli anticorpi e possono essere usati

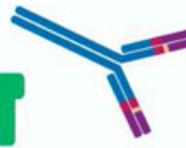
il siero è plasma senza i fattori di coagulazione

se il campione contiene anticorpi che riconoscono l'antigene, l'anticorpo si lega

per rilevare se qualcosa si è legato, si aggiunge un secondo anticorpo



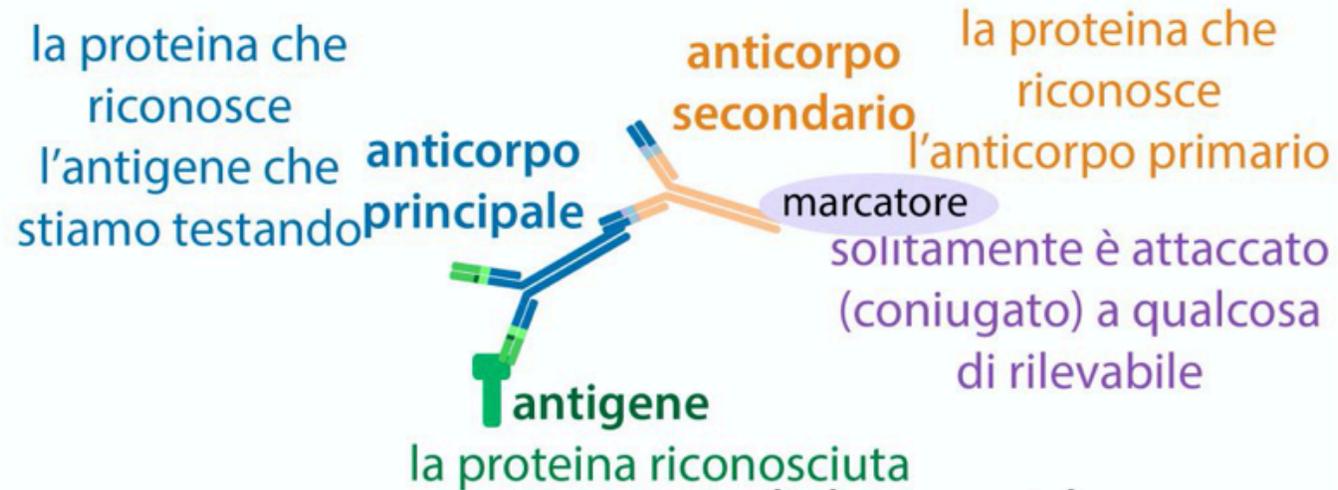
tutti gli altri anticorpi non si legano, e vengono lavati via



questo anticorpo riconosce la regione costante del primo anticorpo, e contiene un prodotto colorato o fluorescente

**marcatore**

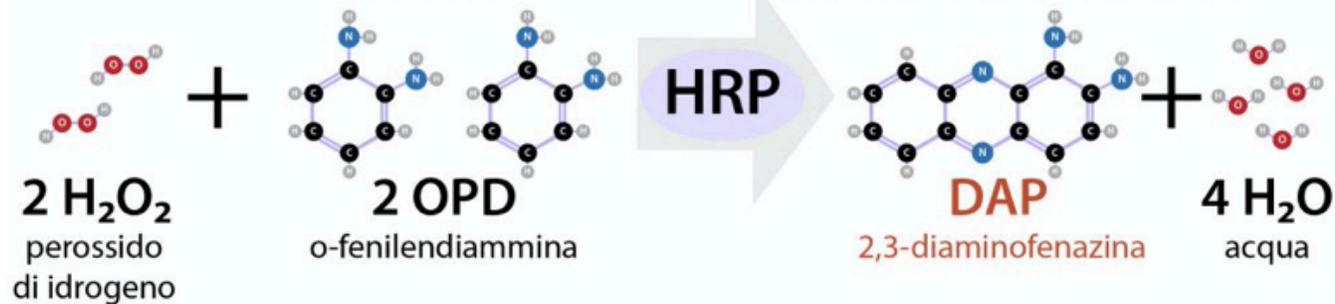
# HRP permette di vedere se l'anticorpo si è legato



**Horse Radish Peroxidase**  
(Perossidasi di rafano)

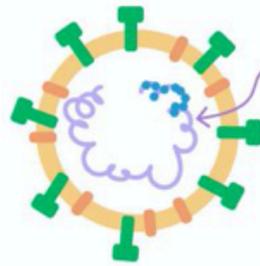
il marcatore è spesso

converte una molecola "invisibile" in un prodotto arancio-bruno rilevabile



dopo aver legato l'anticorpo secondario (e aver risciacquato ciò che non si è legato) si aggiunge l'OPD e in presenza di HRP-coniugato a un anticorpo secondario, si ottiene un prodotto arancio-bruno, che permette di sapere che l'anticorpo primario è presente (si possono usare anche altri marcatori)

## Covid-19 è la malattia causata dal coronavirus SARS-Cov-2



Il materiale genetico di SARS-Cov-2 si trova in un **filamento di RNA** e i **test RT-PCR** cercano queste sequenze di RNA in un campione prelevato nel naso o nella gola del paziente  
Il laboratorio effettua diversi passaggi per verificare se le sequenze di SARS-Cov-2 sono presenti

fase 1: isolare l'RNA  
**estrazione dell'RNA**



*siccome c'è pochissimo RNA, devono essere prima prodotte moltissime copie (amplificazione), ma le copie fatte sono del DNA complementare quindi*

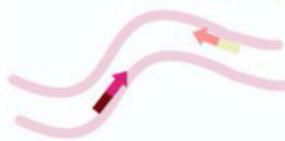
fase 2: fare una copia di DNA  
**Trascrizione inversa**



*ora abbiamo un DNA che può essere copiato, quindi*

### PCR in tempo reale : amplificazione e rilevazione

fasi 3/4: produrre moltissime copie dei geni virali e rilevarli



brevi primer di DNA specifici per l'inizio e la fine della regione che vogliamo copiare

il gene può essere copiato solo se è effettivamente presente, quindi se le copie sono fatte il test è **positivo**, altrimenti è **negativo**

i fluorocromi si legano alle copie e permettono agli scienziati di "vedere" le copie fatte

