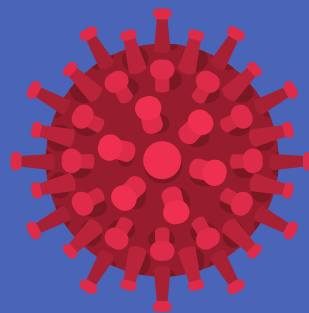




## LA CHIMICA DEI TEST PER IL COVID-19

L' Obiettivo dei test è rilevare la presenza di un'infezione da coronavirus e questo è possibile, oggi, rilevando:

- presenza RNA virale
- presenza di antigeni virali (le proteine che formano la corona, ad esempio)
- presenza di anticorpi sviluppati in seguito all'esposizione al virus



## QUALI SONO LE DIFFERENZE FRA I TEST?

A seconda della metodologia di analisi e dei reagenti usati servono tempi diversi!

**Test qualitativi:** stabiliscono solo se una persona ha sviluppato o meno anticorpi o se è presente RNA virale, secondo una logica positivo/negativo, ma **non si registrano le quantità**. Sono solitamente test rapidi, dove i campioni vengono esaminati con kit portatili e si ottiene un riscontro veloce.

**Test quantitativi:** vengono dosate le quantità di anticorpi o di RNA virale presente e richiedono tempi più lunghi e attrezzature specifiche che sono in dotazione solo alle strutture sanitarie.

# QUALCHE ESEMPIO?



## TAMPONE MOLECOLARE

Permette di rilevare in un campione biologico il genoma a (RNA) del virus SARS-CoV-2 attraverso il metodo RT-PCR e di capire se c'è un'infezione in atto,

## LA RT-PCR

La PCR (Reazione a catena della polimerasi) permette di ricostruire in vitro un segmento di genoma "completo" (a doppia elica) a partire da un filamento a singola elica.

In particolare, la reazione a catena della polimerasi inversa è una variante che consiste nella sintesi di una molecola di DNA a doppio filamento a partire da uno stampo di RNA, usata in caso di malattie infettive per amplificare geni dell'agente infettivo in questione.

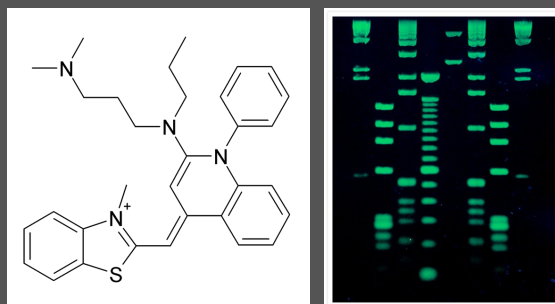
## GLI INGREDIENTI

- deossiribonucleotidi trifosfato, i mattoncini per costruire il nuovo filamento
- la DNA polimerasi, un enzima che produce il nuovo filamento di DNA a partire dall'RNA (in questo caso la TRASCRITTASI INVERSA)
- una soluzione tampone, a base di acqua e sali disciolti, con un pH=9
- ioni  $Mg^{2+}$ , necessari per il lavoro di catalisi svolto dalla polimerasi
- sequenze primer, ovvero gli inneschi per costruire i nuovi filamenti

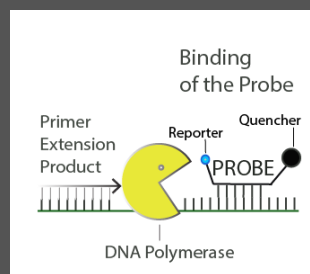
## "VEDERE" I RISULTATI

Il DNA non è visibile di per sé, quindi usiamo molecole che gli donano visibilità

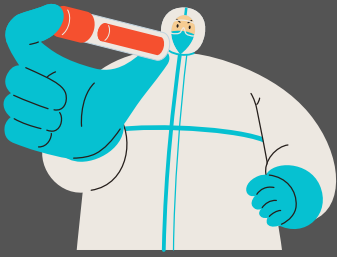
Intercalanti fluorescenti, ovvero molecole che si inseriscono nella doppia elica di DNA e donano una colorazione visibile in fluorescenza. Un esempio è il SYBR GREEN I



Sonde fluorescenti, che si legano al filamento di DNA per complementarità e lo rende visibile. Più intenso è il segnale e maggiore è la quantità di DNA presente.



# QUALCHE ESEMPIO?



## TEST SIEROLOGICO

Permette di determinare se nel sangue sono presenti anticorpi prodotti in seguito al contatto con il virus. Si capisce se si è entrati in contatto con il virus, non se l'infezione è in atto.

## IL METODO DI ANALISI

Esistono vari modi per testare gli anticorpi, ma tutti si basano sull'avere qualcosa che imiti l'antigene nel test. Fra questi troviamo il test noto come **ELISA** (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), che sfrutta l'interazione specifica tra antigene e anticorpo.

## ELISA: ECCO I PASSAGGI

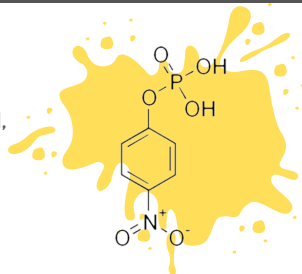


## "VEDERE" I RISULTATI

Dobbiamo capire se il legame tra l'anticorpo e l'antigene è avvenuto: per fare questo facciamo avvenire una reazione che da origine ad un composto colorato.

- **TEST POSITIVO:** nel sangue è presente l'anticorpo, che si lega all'antigene. La reazione avviene e vediamo una colorazione.
- **TEST NEGATIVO:** nel sangue non è presente l'anticorpo. Non avviene alcun legame con l'antigene, non avviene alcuna reazione, non vediamo una colorazione.

SE L'ENZIMA È UNA **FOSFATASI**,  
REAGIRÀ CON IL P-  
NITROFENOLFOSFATO:  
COLORAZIONE GIALLA



SE L'ENZIMA È UNA  
**PEROSSIDASI**, REAGIRÀ CON LA  
**3,3',5,5'-TETRAMETILBENZIDINA**:  
COLORAZIONE BLU

