

A la recerca del SARS-CoV-2: com detectem l'impostor?

Víctor Jiménez Martínez

Aquest reportatge forma part dels continguts publicats també a Ciència Oberta.

Ciència Oberta és un projecte de divulgació científica en català iniciat per 5 estudiants de la Facultat de Biologia de la UB, en el qual actualment hi participen més de 15 persones. Al web, cienciaoberta.cat, hi podràs trobar un **reportatge** nou setmanalment, a més d'altres seccions com els **contes científics** o les **experiències**. També pots seguir el projecte a les xarxes socials, tant a [Twitter](https://twitter.com/cienciaoberta) com a [Instagram](https://www.instagram.com/cienciaoberta) (@cienciaoberta), on també es crea contingut divers i atractiu a diari!



CIÈNCIA OBERTA

DIVULGACIÓ EN CATALÀ

cienciaoberta.cat

“Hi ha un impostor entre nosaltres”, o més aviat dins de nosaltres. L’has d’identificar per evitar que causi cap mal... però, malauradament, això no és l’afamat joc *Among Us*. Detectar el SARS-CoV-2 i aïllar els infectats és crucial per frenar-ne l’expansió. Per això, revisarem els fonaments, característiques i utilitats dels principals tests emprats en la lluita contra el coronavirus.

Detectant el coronavirus amb tests

S’ha de tenir en compte que el nostre impostor particular és tan impostor que les dades de l’agost de 2020 ens diuen que el 17,9% d’infectats asimptomàtics poden transmetre el virus, factor que ha contribuït – i molt – a l’expansió de la pandèmia.

Per això, gran part dels esforços des de gener del 2020 van estar dirigits al desenvolupament de mètodes de diagnòstic ràpid i fiables. Ens hi hem acostumat tant, que paraules i sigles que ens eren totalment alienes han acabat per formar part del nostre vocabulari quotidià. Ja no passa un dia sense sentir les paraules PCR, antígens...

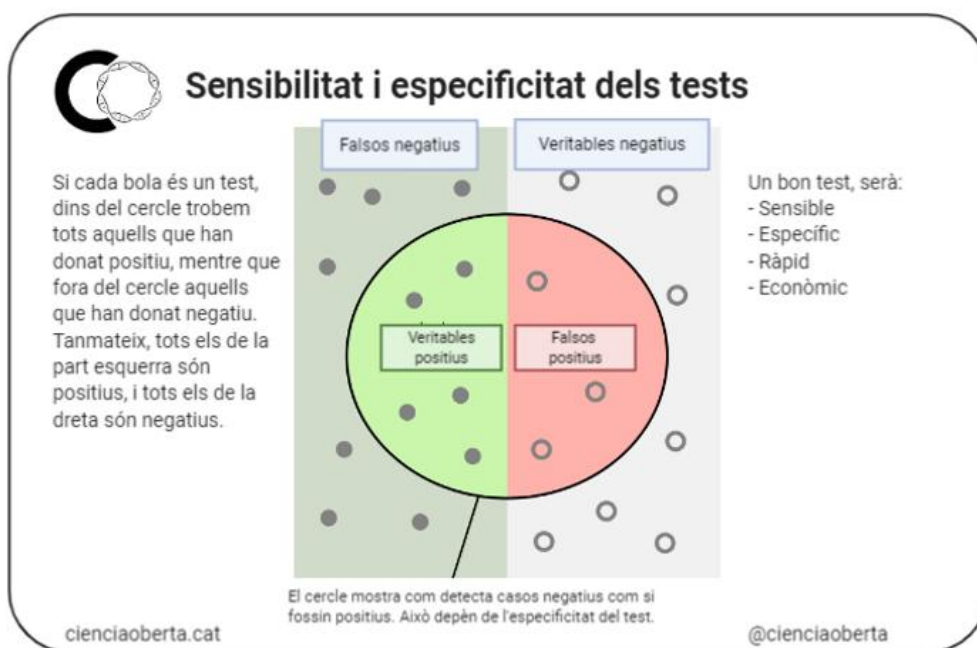
I és que el juny de 2020 ja s’havien registrat més de 400 tests moleculars i serològics diferents, la major part desenvolupats per la Xina, seguida dels Estats Units, Corea i Alemanya. Una pregunta que ens pot sorgir és: per què tants tests?

Especificitat, sensibilitat i rapidesa

Tot això seria més fàcil si hi hagués un test universal de detecció, però no existeix. Així doncs, davant d’una necessitat amb diverses variants, es troben moltes solucions. La gran diversitat sorgeix arran de la cerca de les característiques que hauria de tenir un test ideal.

Un test ha de ser sensible, específic i, si pot ser, ràpid. La sensibilitat ens indica com és de probable que, si algú té el virus, la prova doni positiu. És clar, si la sensibilitat és baixa, la prova donarà molts falsos negatius que continuaran infectant. L'especificitat, d'altra banda, ens diu com és de probable que aquells que no el tinguin siguin negatius. Dit d'una altra manera, que detecti només el nostre virus, si hi és.

En definitiva, volem tests sensibles, específics, ràpids... i que es puguin comercialitzar massivament a baixos preus!



Tests moleculars

Pel que fa a detectar el virus, trobem estratègies que parteixen de perspectives diferents. Principalment diferenciarem entre els tests moleculars i els assajos immunològics.

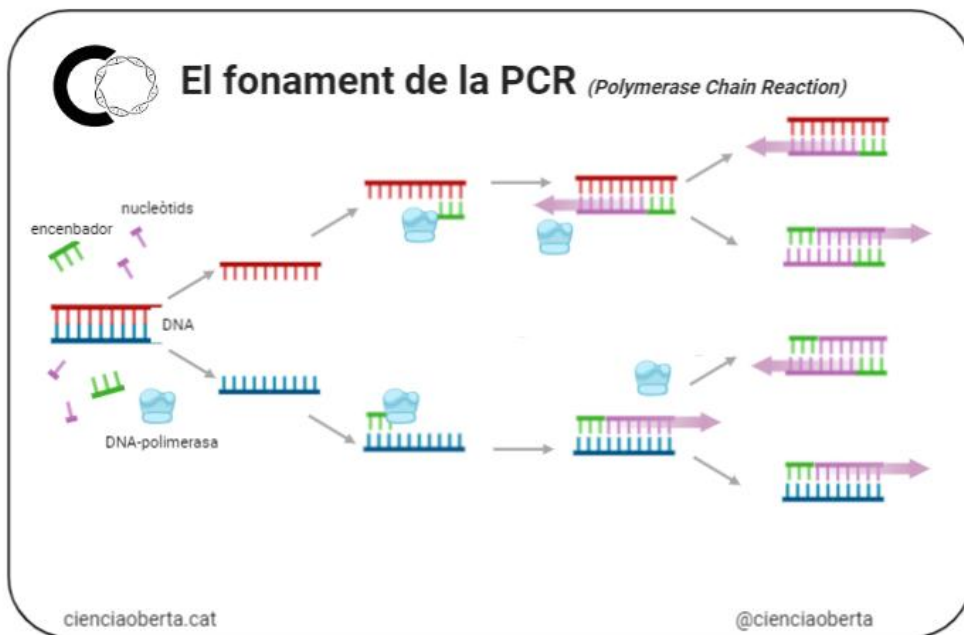
Un test molecular pretén comprovar la presència del virus a través del seu material genètic. Seria com buscar uns plànols determinats en una taula plena de fulls, o comprovar si en el *software* de l'ordinador hi ha el codi d'un programa.

Vegem-ne dos exemples de tests moleculars.

La famosa PCR

Comencem pel *Golden test*: la PCR. De les sigles de *Polymerase Chain Reaction*, el fonament de la PCR és ben senzill: l'objectiu és que, si el virus hi és, es pugui amplificar el seu material genètic per detectar-lo. Desenvolupada l'any 1985 pel bioquímic Kary Mullis – premiat l'any 1993 amb el Premi Nobel de Química per la seva creació – la PCR respon a un problema: les quantitats de material genètic que es poden extreure d'una mostra són molt petites.

Tenint en compte que el material genètic es troba en quantitats ínfimes, la PCR és una tècnica que ens permet fer “fotocòpies” – amplificar – gràcies a l’acció de l’enzim polimerasa – la nostra fotocopiadora – mitjançant una sèrie de cicles.



Per fer això, però, necessitem uns encebadors: una bastida inicial que indica a la polimerasa què ha de copiar i on. Aquí està el secret de la seva especificitat! Els encebadors funcionen com un cercador en un text: si escrius una frase suficientment llarga, el cercador trobarà el paràgraf que tu vols (i no un altre). Els encebadors s’uneixen a les regions específiques que representin la seva seqüència.

Encebadors: els nostres cercadors

Seqüència de DNA d'un gen o espècie d'interès

Regió que volem amplificar

5' ATATCGTTGCC TAGTGGTATCGTAAT 3'

3' AGCATTAA 5'

Encebadors

5' ATATCGT 3'

5' TATAGCAACGGATCACCATAGCATTA 3'

Si els encebadors estan ben dissenyats, s'uniran només a la nostra regió. Igual que si en un llibre volem cercar un paràgraf específic!

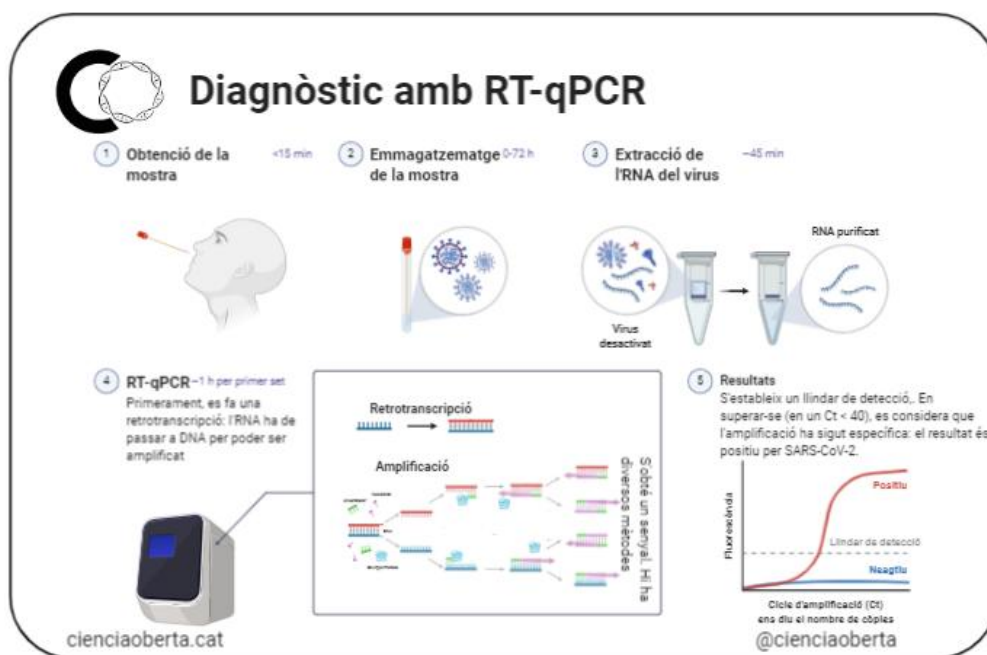
En un lugar
que **en un lugar** de Extremadura
me quiere ahora dejar **en un lugar** tan apartado del trato humano.
Y fue, a lo que se cree, que **en un lugar** cerca del suyo habia v

En un lugar de la Mancha
En un lugar de la Mancha, de cuyo nombre no quiero acordarme

cienciaoberta.cat @cienciaoberta

Amb els anys, el procés per fer una PCR s'ha optimitzat i automatitzat, fent-la més ràpida i barata i permetent el disseny de noves variants i aplicacions de la tècnica. En la detecció es du a terme la variant RTq-PCR. En aquesta, a mesura que augmenten les còpies s'obté un senyal. Llavors, s'estableix un llindar de senyal que, en superar-se, ens indica que hi ha hagut amplificació específica.

D'aquesta manera, s'obté una mostra nasal, s'aïlla l'RNA (material genètic del virus) i es transforma en DNA per ser amplificat, en un procés que es diu retrotranscripció.



La PCR és una tècnica molt usada en recerca i laboratoris, amb sensibilitats que superen el 95% i especificitats al voltant del 99%. Això fa que sigui considerada un test d'or i, de fet, es fa servir sovint com a referència per a la potència d'altres tests.

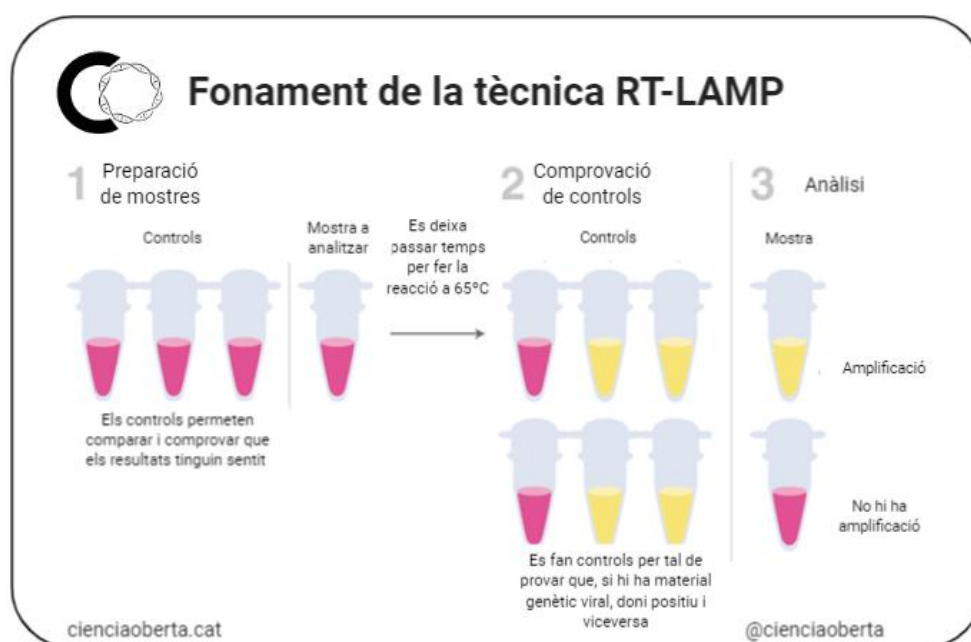
Tanmateix, alguns estudis reporten sensibilitats variables i més baixes en la detecció del SARS-CoV-2. És l'origen d'un gran mal de cap científic: els falsos negatius. Això pot ser degut a molts factors: massa poca quantitat de material genètic, errors en el protocol i obtenció de les mostres, possibles mutacions en els llocs on s'uneixen els encebadors, la qualitat dels kits comercials... Alhora, però, s'ha demostrat que pot funcionar tenint un nombre extremadament petit de còpies de material genètic viral, cosa que permet que pugui usar-se per detectar fases inicials de la infecció.

És a dir, la PCR de per si és una tècnica molt específica – si detecta, detecta el SARS-CoV-2 – i molt sensible, però la seva sensibilitat és susceptible a disminuir front a diversos factors. El major inconvenient, potser, és que és una mica lenta i relativament cara. Des de la recollida de mostres fins a l'anàlisi del resultat es pot trigar un dia. A més, cal tenir en compte que, tot i ser senzilla, requereix certa maquinària i tècnica.

RT-LAMP

Sempre hi ha marge de millora. I aquí és on entra una altra tècnica en joc, no tan coneguda: la RT-LAMP. El fonament és el mateix que el de la PCR, és a dir, amplificar i detectar.

Com una PCR... però sense la maquinària de la PCR. Exacte, això la fa més ràpida i barata. Igual que abans, es tracta de tenir uns encebadors i una polimerasa que facin còpies del material genètic del nostre coronavirus. Ara, però, l'aparell només necessita escalfar-se durant una hora per dur a terme la reacció repetidament (sense fer cicles, com a la PCR convencional), gràcies a un disseny especial d'encebadors. A mesura que passa el temps, i si hi ha amplificació específica, s'observa un canvi de color allà on té lloc la reacció. El secret? Un indicador de pH. El material genètic és àcid, i com més se'n faci – en amplificar – més àcid és el pH.



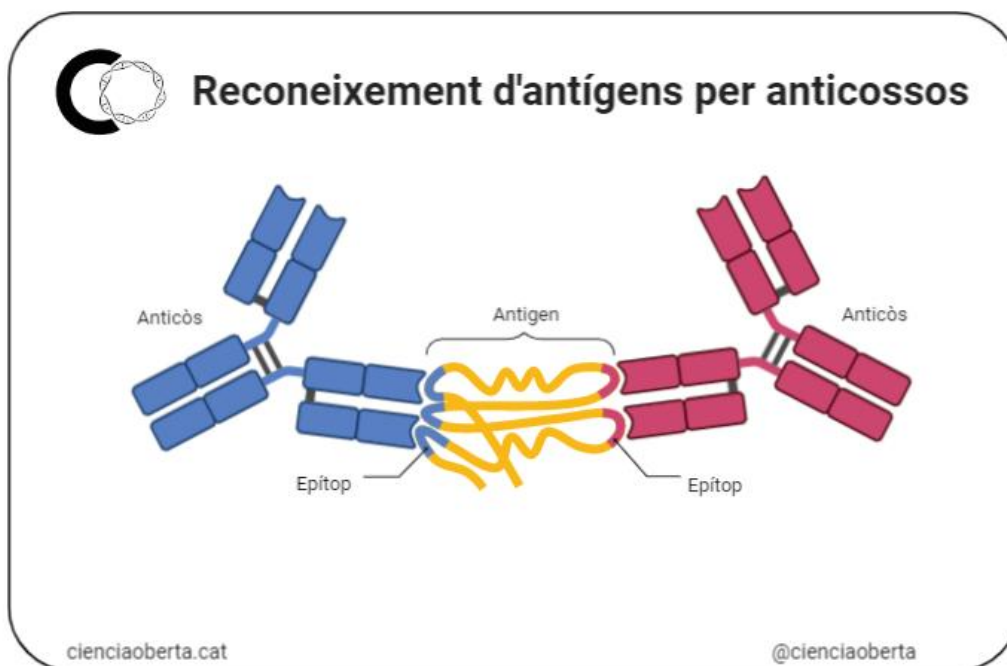
S'ha pogut comprovar que té una sensibilitat d'aproximadament 91% i una especificitat del 99%. És a dir, una tècnica més ràpida, senzilla i barata manté els aspectes positius de la PCR. El petit inconvenient és que l'aparell només permet processar una mostra, mentre que l'RTq-PCR pot fer-ne múltiples simultàniament. En conjunt, tots aquests factors fan que la RT-LAMP sigui idònia per a deteccions *in situ*!

Assajos immunològics

Com hem pogut veure, els tests moleculars són molt específics per detectar el SARS-CoV-2. Però treballar amb material genètic pot ser de vegades una mica feixuc. De quina altra manera podem detectar l'impostor? Els assajos immunològics són una possible solució.

El virus no és gens discret: ocupa les nostres cèl·lules per aprofitar-se del seus recursos i, quan ja n'ha tingut suficient per a replicar-se a si mateix, surt a l'exterior – matant-les – per tornar-ho a fer. Això provoca danys que activen les alarmes en el lloc d'infecció.

Així doncs, quan el virus ens infecta, el nostre sistema immunitari, sabent que hi ha un element que no pertany al nostre cos i que està fent mal, activa tota una sèrie de mecanismes per intentar eliminar-lo. Aquí és on entren els famosos anticossos. Els anticossos són proteïnes de la superfamília de les immunoglobulines que els nostres limfòcits comencen a fabricar davant una infecció. Aquests anticossos actuen de tal manera que, si estan ben fabricats, tenen regions que s'uneixen a parts específiques de l'agent a detectar i eliminar.



Aquestes parts que reconeixen s'anomenen antígens i poden ser proteïnes virals de la coberta, per exemple. Seria com reconèixer un model de cotxe específic només de mirar la seva carrosseria i aparença externa.

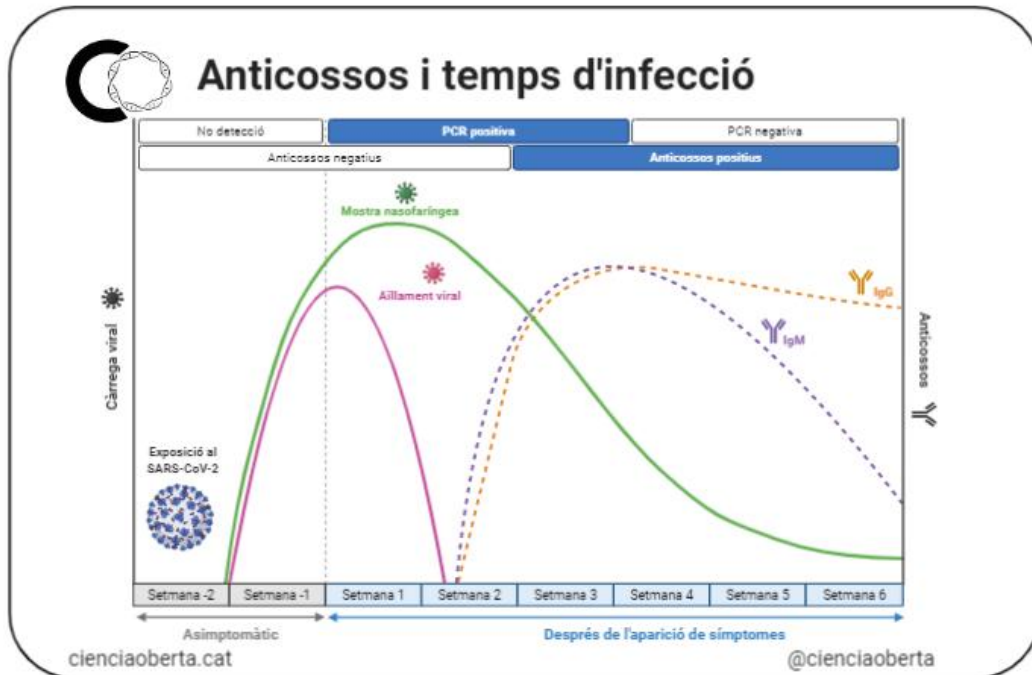
Tests d'anticossos: ELISA, CLIA i LFIA

I, és clar, aquests anticossos estan a la sang. Amb una mostra no podríem comprovar si hi ha anticossos contra el coronavirus? Aquest és el fonament de les proves serològiques!

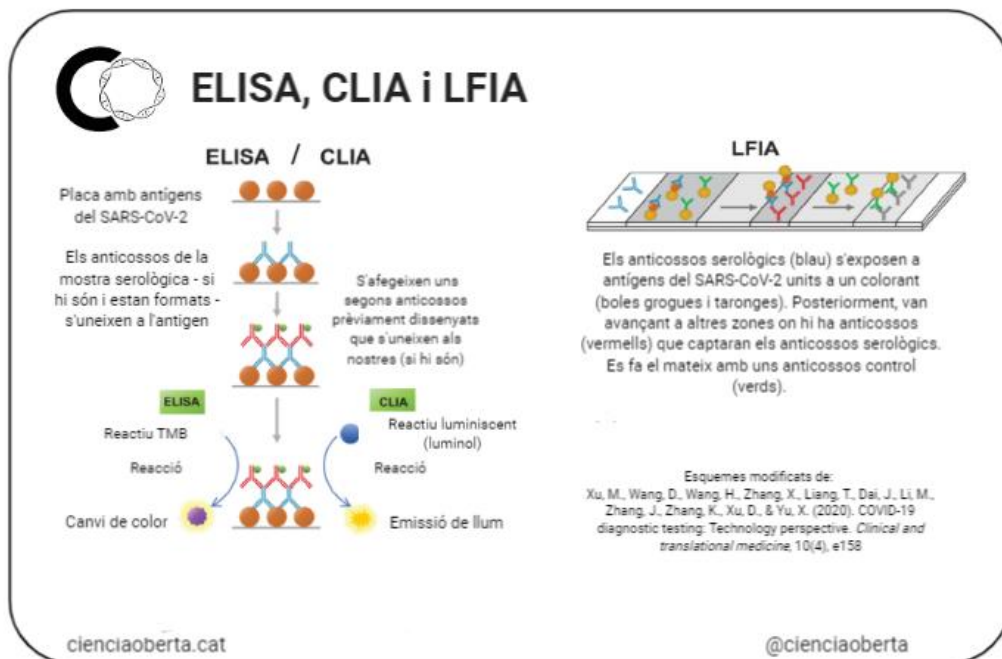
Aquestes proves mesuren la concentració de dos tipus d'anticossos: les IgM i les IgG. Són com portar tot el teu equip de detectius a una sala amb el criminal per mirar si n'hi ha algun que el sap identificar.

Les IgM són els primers anticossos que es formen en una infecció. La seva concentració és alta durant les infeccions, però després no es manté, pel que la seva detecció pot estar indicant una infecció aguda. D'altra banda, les IgG tarden més a formar-se, però són més abundants. A més, els alts nivells acostumen a mantenir-se constants fins i tot després de la infecció, podent durar tota la vida.

Per tant, aquestes proves no només ens poden donar informació sobre la presència del virus, sinó que ens informen de l'estat de la infecció!



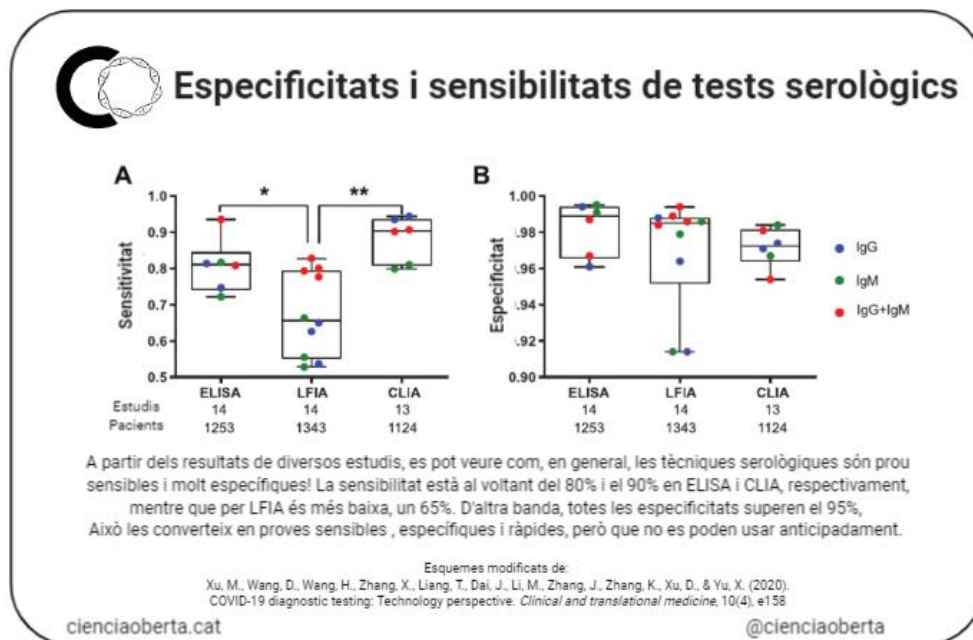
Les principals tècniques basades en detectar anticossos es coneixen com a ELISA, CLIA i LFIA. En aquestes, s’immobilitza un antigen d’un virus i es mira si hi ha reacció amb les mostres. Les diferències es troben en el disseny dels experiments i el senyal que s’obté si hi ha reacció. Tot i que poden arribar a obtenir sensibilitats i especificitats altes, un cop ha passat temps des de la infecció, no són tan eficients si s’usen anticipadament, ja que depenen de la presència dels anticossos.



Per això, s’usen per comprovar si en un passat has passat la COVID-19, si es vol donar plasma o has de ser sotmès a una prova mèdica. La més usada comercialment és LFIA, que dona

resultats en uns 10-30 minuts. ELISA i CLIA presenten més complicacions, ja que són més especialitzades, i tarden més (uns 40 minuts – 1 hora).

Les sensibilitats i especificitats d'aquestes proves també són altes!



Tests d'antígens

Una altra aproximació immunològica, però a la inversa, ve de la mà dels polèmics tests d'antígens. Aquests parteixen de la base que, si hi ha infecció, tenim virus en el nostre organisme.

Així doncs, amb una mostra de la persona, es comprova la presència del virus exposant-lo a anticossos que reconguin diversos antígens. Ara, enviem el criminal – si hi és – a un grup de detectius que el sap reconèixer.

L'estudi dirigit pel doctor Oriol Mitjà va comprovar el funcionament d'un test d'antígens en un total de 1406 mostres prèviament testades amb PCR. Així, en comparació a l'RTq-PCR, es va reportar una sensibilitat del 91,7% i una especificitat del 98,9%. De fet, la sensibilitat incrementava en aquelles mostres que representaven més risc de transmissió, arribant al 99%, mentre que baixava en casos asimptomàtics amb poca càrrega viral.

Tot això fa que el test, que a més és barat i ràpid (uns 10-20 minuts), pugui tenir gran utilitat per captar els individus amb potencial de transmissió, fins i tot aquells asimptomàtics amb suficient càrrega viral per transmetre-la.

Ja per acabar...

Els noms més sentits en aquests mesos han estat la PCR, els anticossos, antígens... però n'hi ha molts més: des de gossos en aeroports a l'ús de CRISPR-Cas per tallar parts del material genètic del virus.

En general, tots els tests funcionen, només cal saber usar-los en les situacions més adients. L'impostor ens afecta a tothom i no pot quedar amagat!

Bibliografia:

Alemany, A., Baro, B., Ouchi, D., Ubals, M., Corbacho-Monné, M., Vergara-Alert, J., ..., Mitjà, O. (2021). Analytical and Clinical Performance of the Panbio COVID-19 Antigen-Detecting Rapid Diagnostic Test. *Jorunal of Infection* <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.12.033>

Díaz-Badillo, A., Muñoz, M. L., Morales-Gómez, M. C., Martínez-Ezquerro, J. D., Quispe-Siccha, R. M., López-Alvarenga, J. C. (2020). Diagnostic tests for COVID-19 detection: A hybrid methodology. *Cirugia y cirujanos* 88(5): 537–541.

Nguyen, N., McCarthy, C., Lantigua, D., & Camci-Unal, G. (2020). Development of Diagnostic Tests for Detection of SARS-CoV-2. *Diagnostics (Basel, Switzerland)* 10(11): 905.

Xu, M., Wang, D., Wang, H., Zhang, X., Liang, T., Dai, J., Li, M., Zhang, J., Zhang, K., Xu, D., & Yu, X. (2020). COVID-19 diagnostic testing: Technology perspective. *Clinical and translational medicine* 10(4): e158

Totes les imatges s'han fet amb Biorender.com, ja siguin de zero o a partir d'esquemes ja creats.