

5.4 Come Viene effettuata la diagnosi in laboratorio?

Benvenuti all'ultimo video del corso di virologia diagnostica. Durante queste settimane abbiamo appreso molte tecniche. Ci accingiamo a esaminare brevemente quello che abbiamo visto:

Prima abbiamo visto la gestione dei virus in laboratorio. Poi abbiamo visto un paio di video su microscopia elettronica e quantificazione virale. Quindi abbiamo dedicato quattro video sulle tecnologie su acidi nucleici, virali e cellulari. Abbiamo destinato il quarto blocco per vedere come valutare anticorpi e cellule della risposta immunitaria per determinare se c'è un'infezione virale. E, infine, il quinto blocco era dedicato a prove biologiche.

Ma ci si potrebbe chiedere: come i campioni sono generalmente trattati in laboratorio?

Oltre il 60% di tutti i casi di malattie infettive umane diagnosticata dai medici sono infezioni virali. Nella pratica clinica, sia umane come veterinaria, è essenziale che la diagnosi è veloce e preciso per controllare la malattia, utilizzando terapia antivirale, o più frequentemente, misure di attuazione per prevenire la sua trasmissione ad altri individui.

I sistemi sempre più stanno sviluppando per consentire la diagnosi ai piedi del letto del paziente, o POC (che è anche chiamato point-of-care). Idealmente, il test dovrebbe essere veloce, semplice, sensibile, specifico e basso costo. Per tagliare i costi, i test diagnostici sono sempre più miniaturizzati e automatizzati. L'analisi dei risultati è fatto solitamente da un computer, per eliminare soggettività e guadagnare in precisione.

La diagnosi di laboratorio corretta dipende il prelievo nel **momento** e nel **sito** opportuni. Per quanto riguarda il momento, devono essere prelevati campioni degli organi colpiti appena possibile dopo la comparsa dei primi segni clinici, come è quando la presenza virale è maggiore. Per la diagnosi sierologica è preferibile per prendere un campione di sangue dopo una settimana dopo l'infezione e un altro, 3-4 settimane più tardi, per controllare l'aumento del titolo dell'anticorpi.

La scelta del campione adeguata è imparentato con i segni clinici e la comprensione della patogenesi della malattia che sospettiamo. Come regola generale, campioni devono essere prelevati dalla superficie epiteliale del sito di entrata, che si tratti: della gola, la congiuntiva, o una ferita. Nella informazioni aggiuntive troverete una tabella che descrive diverse condizioni e tipi di campioni da prelevare.

Se la diagnosi non è fatta dal letto o nella pratica, Dobbiamo inviare i campioni al laboratorio. È importante ricordare che i campioni devono essere di qualità, cioè, privo di contaminanti e rappresentante del sito dell'infezione. Il virus deve essere praticabile quando raggiunge il laboratorio nel caso in cui deve essere coltivata, così di spedizione deve essere **rapido**, nella **refrigerazione** e in un **mezzo** di trasporto adatto modo che il virus non essiccare.

Una volta in laboratorio il campione deve essere elaborato immediatamente o conservati in frigorifero. In generale, dobbiamo mescolare e centrifugare a bassa velocità, quindi filtrare attraverso un filtro da 0,45 µm adattabile per siringa per rimuovere tutti i detriti lordo. Tre differenti approcci possono essere seguiti di cui abbiamo già parlato nel precedente video: l'isolamento virale, rilevazione diretta e sierologia.

1. L'isolamento virale viene eseguita nelle colture cellulari, embrioni di pollo o in topi neonati, continuando con le tecniche di immunofluorescenza, PCR o altre tecniche di rilevazione degli acidi nucleici.

2. La rilevazione diretta viene eseguita valutando i componenti virali in cellule, fluidi corporei o nei tessuti infettati. Ci piacerebbe farlo mediante microscopia elettronica, tecniche di immunofluorescenza o anche mediante PCR per rilevare gli acidi nucleici virali nel campione.
3. L'obiettivo di sierologia è quello di dimostrare la presenza di IgM, che è un'indicazione di un'infezione recente, o l'aumento di almeno quattro volte il titolo di IgG. Per questo possiamo usare tecniche come l'immunofluorescenza indiretta, sieroneutralizzazione, l'inibizione dell'emoagglutinazione o ELISA.

Questo completa il corso. Speriamo che è stato utile e che hai imparato con esso. Non dimenticate di prendere il test corrispondente e per rivedere quegli aspetti che non sono state chiare.

Grazie per la vostra attenzione.