

Δυνατότητες και περιορισμοί των rapid τεστ για COVID-19

Η δυνατότητα πρόσβασης σε γρήγορη αλλά παράλληλα αξιόπιστη διάγνωση αποτελεί κλειδί για τον έλεγχο και διαχείριση της πανδημίας που οφείλεται στον SARS-CoV-2. Ο εργαστηριακός έλεγχος αποτελεί το σημαντικότερο και πιο κρίσιμο κομμάτι της διαχείρισης της κρίσης από πλευράς χρόνου, καθώς σε αυτόν βασίζεται κυρίως η διαδικασία λήψης κλινικής απόφασης για τον έλεγχο της λοίμωξης στα συστήματα υγείας αλλά και για την ανίχνευση των συμπτωματικών περιπτώσεων. Η βελτίωση της ταχύτητας λήψης αξιόπιστων αποτελεσμάτων θα έχει σημαντικότερες θετικές επιπτώσεις στα συστήματα υγείας διότι θα βοηθήσει στην άμεση απομόνωση των κρουσμάτων και ως εκ τούτου στη μείωση της διασποράς.

Σε παγκόσμιο επίπεδο γίνεται τεράστια προσπάθεια για την ανάπτυξη απλών, αξιόπιστων και γρήγορων μεθοδολογιών για τη ανίχνευση του SARS-CoV-2. Αυτή τη στιγμή υπάρχουν περισσότερα από 200 εμπορικά διαθέσιμα τεστ, τα περισσότερα εκ των οποίων είναι μόνο για ερευνητική χρήση (Research Use Only, RUO), δηλαδή δεν έχουν ελεγχθεί ως προς την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων που δίνουν, ενώ αρκετά έχουν πιστοποίηση CE-IVD, και πολλά αναμένεται να λάβουν σύντομα έγκριση από το FDA για έκδοση πιστοποιητικών IVD (in vitro diagnostic). Τα IVD test είναι ελεγμένα κατά ISO13485, έχουν αξιολογηθεί με βάση κλινικά δείγματα και πληρούν τις προϋποθέσεις που θέτει η Ευρωπαϊκή Ένωση για διαγνωστικές εξετάσεις.

Η Καθηγήτρια του Τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, **Εύη Λιανίδου** συνοψίζει τα μέχρι τώρα δεδομένα.

Ο εργαστηριακός έλεγχος βασίζεται είτε σε:

α) μοριακά τεστ διάγνωσης της λοίμωξης τα οποία βασίζονται στην ανίχνευση του γενετικού υλικού (RNA) του ιού με μοριακές μεθόδους (RT-qPCR). Τα μοριακά τεστ διαφέρουν κατά πολύ μεταξύ τους ως προς την αναλυτική ευαισθησία και ειδικότητα αλλά και ως προς την διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα. Ακολουθούν κατά κανόνα σύνθετες και χρονοβόρες διαδικασίες και μπορούν να γίνουν μόνο σε ειδικά διαγνωστικά εργαστήρια. Η λήψη αποτελεσμάτων γίνεται σε 4-6 ώρες από τη λήψη του δείγματος, και αν ληφθούν υπόψη και ο χρόνος μεταφοράς των δειγμάτων, οι απαντήσεις δίνονται εντός 24 ωρών το αργότερο. Είναι σημαντικό επίσης να αναφερθεί ότι η ευαισθησία των μοριακών τεστ μειώνεται σταδιακά μετά από μία περίπου εβδομάδα εμφάνισης των κλινικών συμπτωμάτων λόγω της μείωσης των ανιχνεύσιμων ιικών σωματιδίων στο λαμβανόμενο δείγμα.

β) σε ορολογικά τεστ, τα οποία βασίζονται στην ανίχνευση αντισωμάτων έναντι του ιού στο αίμα και άρα ανιχνεύουν την ανταπόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος στον ιό, και όχι τον ίδιο τον ιό. Στα ορολογικά τεστ το «διαγνωστικό παράθυρο», δηλαδή ο χρόνος που χρειάζεται για την παραγωγή αντισωμάτων από τον οργανισμό είναι πολύ σημαντικό, διότι καθορίζει την ευαισθησία. Στα πρώιμα στάδια της λοίμωξης τα αντισώματα μπορεί να μην ανιχνευθούν, και αυτό περιορίζει σημαντικά την δυνατότητα εφαρμογής των τεστ αντισωμάτων για διάγνωση. Αντίθετα, τα ορολογικά τεστ μπορούν να διαδραματίσουν σοβαρό ρόλο στη μάχη κατά του COVID-19, προσφέροντας τη δυνατότητα αναγνώρισης των ατόμων εκείνων που ήλθαν σε επαφή με τον ιό SARS-CoV-2 και ανέπτυξαν ανοσολογική απόκριση.

Και στις δύο αυτές περιπτώσεις ο εργαστηριακός έλεγχος γίνεται σε εξειδικευμένα και κατά προτίμηση διαπιστευμένα εργαστήρια που διαθέτουν τον απαραίτητο ειδικό εξοπλισμό. Για την διασφάλιση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων των εργαστηρίων δεν αρκεί η χρήση τεστ εγκεκριμένων από διεθνείς οργανισμούς (FDA, CDC, EMA) αλλά είναι απαραίτητη η συμμετοχή των εργαστηρίων σε προγράμματα εξωτερικού ελέγχου ποιότητας και ακολούθως η διαπίστευση των εργαστηρίων κατά ISO-15189.

Γρήγορα τεστ (Point of Care diagnostic Test, POCT)

Η ανάπτυξη γρήγορων test αναμφίβολα επιτρέπει την σημαντική μείωση του χρόνου λήψης αποφάσεων για προληπτικά μέτρα αντιμετώπισης της πανδημίας. Σήμερα διατίθεται εμπορικά μία πληθώρα γρήγορων test, τα οποία βασίζονται είτε σε μοριακή ανίχνευση του ιού, ή σε ανίχνευση αντισωμάτων έναντι του ιού, ή ακόμη και στην ανίχνευση αντιγόνων του ιού. Τα test αυτά λόγω της σημαντικής μείωσης του χρόνου ανάλυσης δίνουν τη δυνατότητα μεγάλης αύξησης του αριθμού των εξεταζόμενων δειγμάτων. Γι' αυτό το λόγο ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) θεωρεί την ανάπτυξή τους σημαντική προτεραιότητα για την αντιμετώπιση της Πανδημίας. Η εφαρμογή γρήγορων test είναι πολύ σημαντική στα Τμήματα Επειγόντων Περιστατικών, καθώς μπορούν να μειώσουν το φόρτο αναλύσεων του κεντρικού εργαστηρίου. Αλλά είναι προφανής η σημασία των test αυτών για γρήγορο έλεγχο σε χώρους εκτός Νοσοκομείων, όπως σχολεία, γηροκομεία, πύλες εισόδου, και κλειστές δομές. Σήμερα έχουν αναπτυχθεί με βάση επίσημα στοιχεία, περισσότερα από 90 γρήγορα test.

Ως παράδειγμα μπορούμε να αναφέρουμε ένα γρήγορο μοριακού τύπου test που αναπτύχθηκε στο Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης. Το test αυτό εγκρίθηκε πρόσφατα από το FDA και δίνει απάντηση σε 30 μόλις λεπτά, με πολύ καλή ευαισθησία που δίνει τη δυνατότητα εξέτασης των ασθενών ακόμη και σε πρώιμα στάδια της λοίμωξης. Το σημαντικό είναι ότι στο test γίνεται άμεση ενίσχυση του RNA του ιού από το δείγμα χωρίς ειδικό στάδιο απομόνωσης, και το κυριότερο τα αποτελέσματα μπορούν να γίνουν αντιληπτά δια γυμνού οφθαλμού, χωρίς τη χρήση ειδικού εξοπλισμού, άρα η εφαρμογή του μπορεί να είναι ευρύτατη και προσιτή σε μεγάλο φάσμα ειδικών και νοσηλευτών. Πρόσφατα αναπτύχθηκε επίσης στο Imperial College ένα αξιόπιστο γρήγορο μοριακό test το οποίο δεν απαιτεί εργαστηριακό εξοπλισμό ούτε προκατεργασία του δείγματος. Η διαγνωστική του ευαισθησία σε σύγκριση με εργαστηριακό test είναι 94% και η ειδικότητα 100%.

Παράλληλα με τα γρήγορα test που βασίζονται σε μοριακή ανάλυση του ιού έχουν αναπτυχθεί και γρήγορα ορολογικά test. Τα test αυτά βασίζονται στον έλεγχο παρουσίας αντισωμάτων, με ανοσοχρωματογραφικές τεχνικές οι οποίες δεν απαιτούν χρήση ειδικού εξοπλισμού. Επίσης έχουν αναπτυχθεί και test ανίχνευσης αντιγόνων του ιού. Τα test αυτά βασίζονται σε χρήση ειδικών αντισωμάτων που είναι επισημασμένα με σωματίδια χρυσού, τα οποία κινούνται σε μεμβράνες νιτροκυτταρίνης με βάση τριχοειδή φαινόμενα. Εάν υπάρχει ο ιός στο δείγμα (αντιγόνο) συνδέεται με το ειδικό αντίσωμα και το ανοσοσύμπλεγμα ανιχνεύεται μέσω των σωματιδίων χρυσού.

Το βασικό ερώτημα είναι πόσο αξιόπιστα είναι όλα αυτά τα test

Η απόδοση των test περιγράφεται από την διαγνωστική τους ευαισθησία, ή πιο απλά από την ικανότητά τους να ταυτοποιούν την παρουσία ιικού RNA (μοριακά test) ή αντισωμάτων έναντι του SARS-CoV-2 (ορολογικά test) σε θετικά δείγματα, και μετράται ως % ποσοστό ανίχνευσης αληθώς θετικών δειγμάτων, αλλά και την διαγνωστική τους ειδικότητα, ή πιο απλά από την ικανότητά τους να ταυτοποιούν ως αρνητικά δείγματα τα οποία είναι αρνητικά στην παρουσία παρουσία ιικού RNA (μοριακά test) ή αντισωμάτων έναντι του SARS-CoV-2 (ορολογικά test) και μετράται ως % ποσοστό ανίχνευσης αληθώς αρνητικών δειγμάτων. Οι εκτιμήσεις της διαγνωστικής ευαισθησίας και ειδικότητας είναι εκτιμήσεις που βασίζονται σε στατιστικά δεδομένα που προέρχονται κατά προτίμηση από ανάλυση μεγάλου αριθμού δειγμάτων. Όσο περισσότερα δείγματα αναλύονται τόσο πιο αξιόπιστες είναι οι εκτιμήσεις της διαγνωστικής ευαισθησίας και ειδικότητας. Η χρησιμότητα των test καθορίζεται επίσης από την θετική και αρνητική προβλεπτική τους αξία, η οποία καθορίζεται εκτός από την διαγνωστική ευαισθησία και ειδικότητα και από τον επιπολασμό, ή πιο απλά από το ποσοστό των ατόμων στο γενικό πληθυσμό που είναι θετικά και έχουν αντισώματα έναντι του SARS-CoV-2. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι αν παράλληλα με τα test αυτά δεν ληφθούν υπόψη και άλλες σχετικές πληροφορίες, όπως το κλινικό ιστορικό και τα αποτελέσματα των διαγνωστικών test, τα test αυτά θα μπορούσαν να δώσουν πολλά ψευδώς θετικά αποτελέσματα.

Στη εποχή της τόσο έντονης ανάγκης για παροχή υπηρεσιών στα νοσοκομεία, οι κλινικοί γιατροί, οι κυβερνήσεις και τα συστήματα υγείας χρειάζονται επείγοντως γρήγορα, ευαίσθητα, αξιόπιστα αλλά και χαμηλού κόστους διαγνωστικά τεστ για να διαχειριστούν τον τόσο αυξημένο αριθμό ατόμων που εισρέουν στα νοσοκομεία. Για το λόγο αυτό ο ρόλος εγκεκριμένων και αξιόπιστων διαγνωστικών τεστ για την αντιμετώπιση της πανδημίας είναι πάρα πολύ σημαντικός. **Η χρήση μη-αξιόπιστων τεστ, η το κυριότερο η μη-σωστή εφαρμογή αξιόπιστων τεστ στα εργαστήρια μπορεί να οδηγήσει είτε σε χαρακτηρισμό COVID-19- αρνητικών ατόμων ως θετικών στον κορωνοϊό ασθενών, η το αντίθετο. Και στις δύο περιπτώσεις είναι εμφανές ότι οι συνέπειες είναι τραγικές για τα όλα συστήματα Υγείας.** Προς το παρόν μόνο τα εργαστηριακά μοριακά τεστ που βασίζονται σε RT-qPCR έχουν ελεγχθεί και συστήνονται από τον ΠΟΥ για διάγνωση. Ο ΠΟΥ προτείνει τη χρήση των γρήγορων τεστ μόνο για ερευνητικούς σκοπούς, και δεν τα συστήνει για διάγνωση και λήψη κλινικών αποφάσεων μέχρι να αξιολογηθούν σε συγκριτικές μελέτες με τα εργαστηριακά μοριακά τεστ αντίστοιχα σε μεγάλη κλίμακα. Το ίδιο ισχύει και για τα γρήγορα ορολογικά τεστ. Αλλά τα γρήγορα τεστ αυτά μπορούν να αποβούν εξαιρετικά χρήσιμα σε επιδημιολογικές μελέτες, και να εξελιχθούν σε ένα σημαντικό εργαλείο για την ανάπτυξη εμβολίων.

Η συνεχής βελτιστοποίηση των διαγνωστικών τεστ είναι ένας πολύ δυναμικά εξελισσόμενος τομέας σήμερα, και έχει ως κύριο στόχο τη στήριξη των υπηρεσιών υγείας, αλλά και των κυβερνήσεων για λήψη σωστών αποφάσεων. Η συνεχής και στενή συνεργασία ερευνητών και κλινικών γιατρών στοχεύει αρχικά στην ανάπτυξη αξιόπιστων διαγνωστικών εργαλείων. Αλλά η διαγνωστική αξία των τεστ δεν μπορεί να κριθεί μόνο με τη μέθοδο συλλογής του δείγματος, την ποιότητα του δείγματος και την μεθοδολογία που ακολουθείται. Αντίστοιχα σημαντικά είναι θέματα που αφορούν προ-αναλυτικές διαδικασίες, όπως για παράδειγμα σε ποια χρονική στιγμή πρέπει να γίνει η συλλογή του δείγματος, καθώς και πώς ακριβώς πρέπει να γίνεται η αποθήκευσή του μέχρι την ανάλυση. Σε κάθε περίπτωση ο εργαστηριακός έλεγχος πρέπει να γίνεται σε εξειδικευμένα και κατά προτίμηση διαπιστευμένα εργαστήρια που διαθέτουν τον απαραίτητο ειδικό εξοπλισμό. **Για την διασφάλιση της αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων των εργαστηρίων δεν αρκεί η χρήση τεστ εγκεκριμένων από διεθνείς οργανισμούς αλλά είναι απαραίτητη η συμμετοχή των εργαστηρίων σε προγράμματα εξωτερικού ελέγχου ποιότητας και ακολούθως η διαπίστευση των εργαστηρίων κατά ISO-15189.**