



آیا می توان RT-qPCR را به عنوان تست مرجع برای تشخیص مبتلایان به SARS-CoV-2 در نظر گرفت؟

محمدحسین شکیب منش^{۱*}، سیدمرتضی جوادی راد^۲

۱- گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
ایمیل: mhshakibmanesh98@gmail.com

۲- استادیار گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران. کد ارکید: ۲۲۹۳-۲۸۹۱-۰۰۰۲-۰۰۰۰-۰۰۰۰. آدرس ایمیل: javadirad@yahoo.com

چکیده

بیان مسأله: تشخیص زودهنگام و دقیق افراد مشکوک به همه گیری کووید-۱۹ از اهمیت فوق العاده ای برخوردار است و تست رایج RT-qPCR دارای ایرادهایی است که در تشخیص به موقع و موثر بیماری کووید ۱۹ بسیار موثر باشد.

هدف پژوهش: شناخت ایرادهای احتمالی تست RT-qPCR و ارائه راهکارهای تکمیلی برای تشخیص کووید ۱۹.

روش و چگونگی انجام پژوهش: این پژوهش با مطالعه مقالات مروری و به روش سیستماتیک انجام شده است. کلمات کلیدی مورد شامل کووید ۱۹، عفونت تنفسی فوق حاد، ویروس SARS-CoV-2، RT-qPCR بوده است.

یافته ها و نتیجه گیری: نمونه هایی با مقادیر Ct بزرگ تر از ۳۳,۳۳ باید منفی در نظر گرفته شوند و چرخه های بیش از ۲۸ می توانند نتایج غیر اختصاصی را گزارش کنند. مقادیر Ct بین ۲۵ تا ۲۸ برای تشخیص مناسب هستند. تنوع و تغییرات وسیع در میزان Ct می تواند ناشی از نمونه های بالینی مختلف، زمان نمونه برداری و پروتکل های به کار گرفته شده توسط آزمایشگاه های مختلف و شرایط حمل و نقل نمونه ها تا مراکز تشخیصی باشند. دقت و صحت روش RT-qPCR تحت تأثیر خطاهای انسانی در فرآیند پردازش، آماده سازی و بررسی نمونه، وجود بازدارنده های واکنش رونوشت برداری معکوس و PCR، و همچنین آلودگی نمونه به RNase است. تست تکمیلی سرولوژی (IgM/IgG) با وجود ایرادات رایج می تواند رویکردی تکمیلی برای بهبود حساسیت RT-qPCR خصوصاً در مورد افراد تحت درمان باشد. این روش دارای مزایایی چون عملکرد سریع تر، هزینه کمتر و عدم نیاز به آموزش های خاص است و می تواند در تصمیم گیری برای مرخص کردن بیماران از بیمارستان مورد استفاده قرار گیرد. در نتیجه انجام آزمایش مکرر PCR در ترکیب با آزمایش سرولوژی در سریع ترین زمان ممکن، می تواند برای کنترل شیوع کووید-۱۹ موثر باشد.

کلید واژه ها: RT-qPCR، کووید-۱۹، تست سرولوژی.



Abstract

Can RT-qPCR be considered as a reference test for diagnosing patients with SARS-CoV-2?

Mohammad Hossein Shakib Manesh ^{* 1}, Seyed-Morteza Javadirad ²

1- Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran. Email: mhshakibmanesh98@gmail.com

2- Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran.. Orchid Code: 2293-2891-0002-0000. Email address: javadirad@yahoo.com

Statement of Problem: Early and accurate diagnosis of people suspected of having Covid-19 epidemic is extremely important and the common RT-qPCR test has drawbacks that are very effective in the timely and effective diagnosis of Covid-19.

Objective: To identify possible defects in the RT-qPCR test and to provide additional solutions for the diagnosis of Covid 19.

Method and manner of conducting research: This research has been done by studying review articles in a systematic way. Keywords included Covid 19, super-acute respiratory infection, SARS-CoV-2 virus, RT-qPCR.

Findings and Conclusion: Samples with Ct values greater than 33.33 should be considered negative and cycles greater than 28 can report nonspecific results. Ct values between 25 and 28 are suitable for detection. Extensive variations in Ct levels can result from different clinical specimens, sampling times and protocols used by different laboratories, and transport conditions of specimens to diagnostic centers. The accuracy of the RT-qPCR method is affected by human errors in the process of processing, preparation and examination of the sample, the presence of inhibitors of reverse transcription reaction and PCR, as well as contamination of



the sample with P-RNase. Supplemental serology testing (IgM / IgG) despite the common drawbacks can be a complementary approach to improve RT-qPCR sensitivity, especially in patients. This method has advantages such as faster performance, lower cost and no need for special training and can be used in the decision to discharge patients from the hospital. As a result, repeated PCR testing in combination with serological testing as soon as possible can be effective in controlling the prevalence of Covid-19.

Keywords: RT-qPCR, Covid-19, Serology test.