

**Nombre del alumno: Jonatan
Emmanuel Silva López**

**Nombre del profesor: Q.F.B Hugo
Najera Mijangos**

**Nombre del trabajo: PCR, SARS COV-
2 (Resumen).**

Materia: Genética Humana

Grado: 3.

Grupo: “A”

Comitán de Domínguez Chiapas a 13 de Noviembre de 2020.

En la actualidad, para el diagnóstico de la enfermedad de COVID-19, en la fase aguda, se cuenta con la técnica de RT-PCR en la primera semana y, para conocer la formación de anticuerpos ante la infección posterior a la primera semana está la serología, con dos técnicas: ELISA, recomendable para uso clínico en los hospitales y, tentativamente, la inmunocromatografía, porque aún faltan más estudios para recomendar su uso.

Es sorprendente la gran rapidez con la que se identificó la causa, valiéndose de las diferentes técnicas modernas para la secuenciación y obtención del ARN, que hizo posible, en alrededor de 1 mes, contar con el método diagnóstico en la fase aguda, que es la PCR transcriptasa reversa (RT-PCR) para SARS-CoV-2.

Hasta el momento se dispone de dos tipos de técnicas de laboratorio para el diagnóstico de COVID-2019.

Diagnóstico agudo del virus SARS- CoV-2 en enfermedad aguda 3-7 días: la prueba de referencia es la técnica de reacción en cadena de polimerasa transcriptasa reversa (RT-PCR), que es una prueba de biología molecular en la que se detecta y amplifica una o varias regiones específicas del virus.

Diagnóstico de formación de anticuerpos contra el virus SARS-CoV-2 después de 7 días: la prueba indicada es por medio de ELISA o inmunocromatografía para la detección de anticuerpos IgM e IgG para el virus SARS-CoV-2.

El SARS-CoV-2 es un virus de ARN monocatenario de 30 kb de tamaño del genoma, que pertenece al género Coronavirus y a la familia Coronaviridae. La estructura del SARS-CoV-2 es similar a la del SARS-CoV con un tamaño de virión que varía de 70 a 90 nm. Las proteínas virales de punta, membrana y envoltura del coronavirus están incrustadas en la bicapa lipídica derivada de la membrana del huésped que encapsula la nucleocápside helicoidal que comprende ARN viral. El genoma comprende 6-11 marcos de lectura abiertos (ORF) con 5' y 3' regiones flanqueadas no traducidas (UTR).

Hasta hoy, las pruebas aceptadas por la OMS para RT-PCR para SARS-CoV-2 son hisopados nasofaríngeos, faríngeos y, en pacientes intubados, aspirados bronquioalveolares.

Cuadro 2. Tipos de muestras, material requerido y temperatura de transporte para la prueba de RT PCR SARS-Cov-2

Tipo de muestra	Material	Temperatura de transporte	Comentarios
Exudado faríngeo y nasofaríngeo	Medio de transporte viral. Hisopos de dacrón o rayón con mango de plástico (exudado faríngeo) Hisopos de dacrón o rayón con mango flexible (exudado nasofaríngeo)	2-8 °C	El exudado faríngeo y nasofaríngeo se deben colocar en el mismo tubo para incrementar la carga viral
Lavado bronquioalveolar	Contenedor estéril con medio de transporte viral	2-8 °C	Puede haber dilución del patógeno, pero aún así vale la pena tomarla. Se requieren como mínimo 2 mL (1 mL de lavado bronquioalveolar más 1 mL de medio de transporte).
Aspirado traqueal, aspirado nasofaríngeo o lavado nasal	Contenedor estéril con medio de transporte viral	2-8 °C	Se requieren, como mínimo, 2 mL (1 mL de aspirado más 1 mL de medio de transporte).
Biopsia de pulmón	Contenedor estéril con medio de transporte viral	2-8 °C	2 cm ³ de la parte visiblemente más afectada.

Extracción, amplificación y lectura de la PCR.

La prueba de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en (RT-PCR o qRT-PCR si es cuantificada en tiempo real) es una técnica molecular de detección y amplificación de ácidos nucleicos, es decir de material genético, ARN, del SARS-CoV-2 en distintas muestras biológicas clínicas. En la actualidad es la técnica de referencia y de elección para el diagnóstico de COVID-19.

La PCR es una técnica utilizada para amplificar secuencias de ADN, Consta de dos fases: extracción y amplificación de los ácidos nucleicos. El ARN es monocatenario y muy inestable por lo que primero debe transcribirse de forma inversa en ADN complementario (ADNc) utilizando una transcriptasa inversa. A partir de aquí, se utiliza el procedimiento de PCR convencional para amplificar el ADNc. Se utilizan secuencias cortas de ADNc, cebadores o primers, para seleccionar la parte

del genoma a amplificar. La temperatura de la muestra se sube y se baja repetidamente para ayudar a la ADN polimerasa a duplicar la secuencia del ADN que está siendo copiada. Con esta técnica se producen millones de copias de la secuencia estudiada en unas horas. Lo ideal es que ambos procesos estén automatizados para aumentar la rapidez y evitar errores. En la actualidad el resultado de las pruebas está disponible desde unas horas a varios días. Otra ventaja de la PCR en el momento actual, con existencia de muchos casos, es que permite procesar simultáneamente un elevado número de muestras.

Los genes diana más usados para la detección de SARS-CoV-2 son el gen E (recomendado por la OMS como screening de primera línea), el gen RdRp, para estudio de confirmación y el gen N para estudio adicional de confirmación. Otro gen usado es el Orf1ab. Para el diagnóstico de confirmación en zonas sin circulación del virus COVID-19 se necesita la positividad frente a dos genes distintos de COVID-19, uno de ellos específico del mismo, o positividad frente a un betacoronavirus más una identificación al menos parcial del genoma del virus COVID-19. El periodo de incubación del SARS-CoV-2 es alrededor de 5-6 días.

Bibliografía:

- *Manual de Instrucciones de uso Xpert Xpress SARS-CoV-2.*
<https://www.cepheid.com>
- *Juanjuan Zhao, et al Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. Clinical Infectious Diseases.*
- *Federal and Drug Administration. Coronavirus (COVID-19). Update: FDA Informs Public about possible accuracy concerns with abbot id now point of care Test. May 14, 2020.*