

# Universidad del Sureste

Licenciatura en Medicina Humana

Materia:

Genética Humana

Trabajo:

RESUMEN SOBRE EL USO DE LA REACCION EN CADENA DE  
LA POLIMERASA PARA LA DETECCION DE SARS-CoV-2.

Docente:

QF. Nanjera Mijangos Hugo

Alumno:

Gordillo López José Luis

Semestre y grupo:

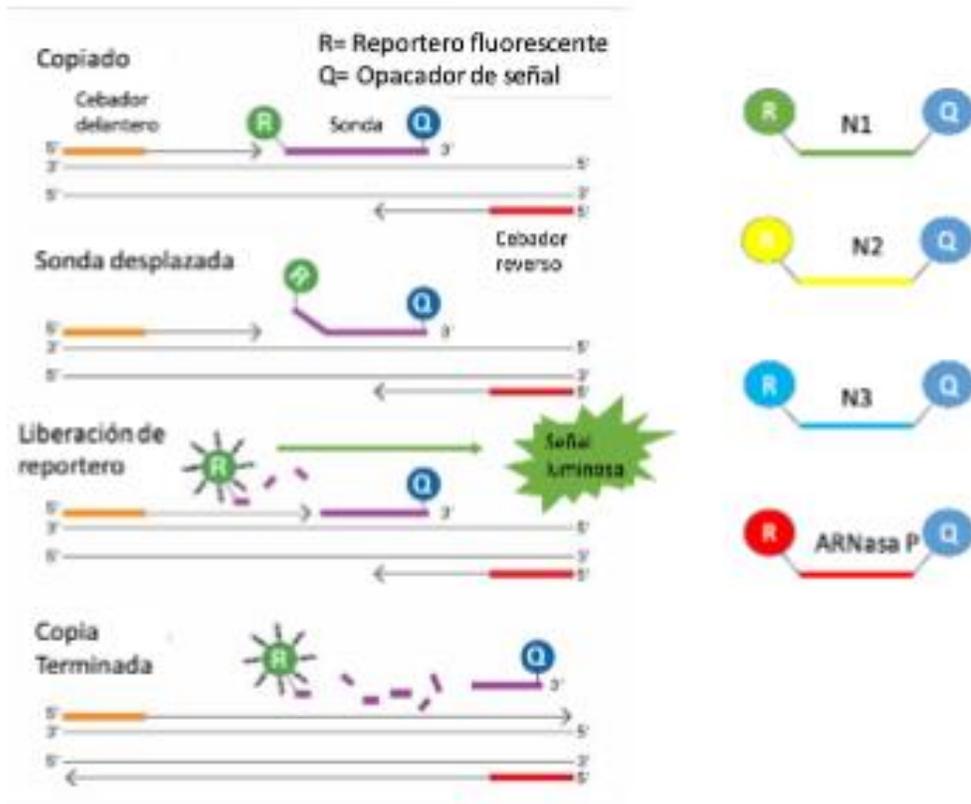
3º "A"

Comitán de Domínguez, Chiapas a; 18 De Noviembre del 2020.

La técnica para identificar con certeza la presencia del virus SARS-CoV-2, causante de la actual epidemia de CoVID-19, se conoce como PCR en tiempo real. El llamado protocolo de Berlín, estableció una de las primeras metodologías de la prueba de detección, la cual se ha ido refinando conforme ha ido surgiendo más información acerca de los genomas del SARS-CoV-2.

La RT-PCR en tiempo real es un método nuclear que detecta la presencia de material genético específico de los patógenos, como los virus. Inicialmente el método utilizaba marcadores de isótopos radiactivos para detectar materiales genéticos específicos pero, tras la realización de mejoras, el marcado isotópico se ha sustituido por marcadores especiales, que suelen ser colorantes fluorescentes. A diferencia de la RT-PCR convencional, que solo arroja los resultados al final, esta técnica permite a los científicos observar los resultados de manera casi inmediata mientras el proceso sigue en curso.

Es una reacción donde una enzima llamada ADN polimerasa, copia un fragmento de información genética, en este caso derivada del virus, mediante una serie de reacciones de copiado en cadena. De ahí el nombre de la técnica “reacción en cadena de la polimerasa” (PCR por sus siglas en inglés). Existen dos versiones: una, donde se pueden ver el total las copias del gen al final de las reacciones de copiado; y otra donde se adiciona un reactivo que libera una señal luminosa cada vez que se fabrica una nueva copia de ADN (ácido desoxirribonucléico). Esta última se llama PCR en tiempo real (PCR-TR).



Aunque actualmente la RT-PCR en tiempo real es el método que más se utiliza para detectar los coronavirus, muchos países siguen necesitando ayuda para poner en marcha la técnica y utilizarla.

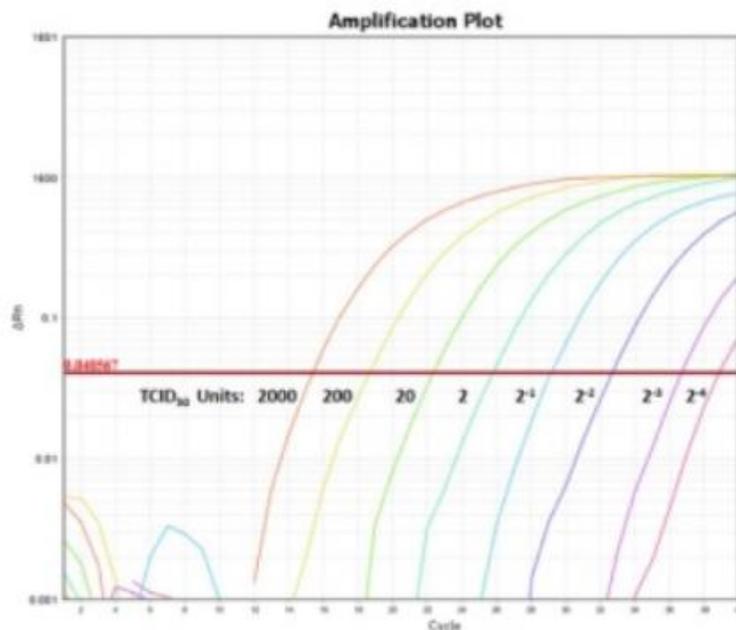
Algunos virus como el coronavirus (SARS-Cov2) contienen únicamente ARN, lo que significa que tienen que infiltrarse en las células sanas para multiplicarse y sobrevivir. Una vez en la célula, el virus utiliza su propio código genético ARN en el caso del coronavirus para controlar y “reprogramar” las células y que estas fabriquen el virus.

Para la pronta detección en el organismo de los virus como el coronavirus mediante la RT-PCR en tiempo real, los científicos tienen que convertir el ARN en ADN, proceso denominado “transcripción inversa”. Esto es necesario porque únicamente el ADN puede copiarse o amplificarse, lo que es una parte fundamental del proceso de RT-PCR en tiempo real utilizado para la detección de virus.

Los científicos amplifican una parte concreta del ADN vírico transcrito cientos de miles de veces. La importancia de la amplificación reside en que, en vez de intentar encontrar una cantidad minúscula del virus entre millones de cadenas de información genética, los científicos disponen de una gran parte de ADN vírico para confirmar con exactitud la presencia del virus.

Por tratarse de un virus que contiene ARN (ácido ribonucleico) en su genoma, se aísla ARN de la muestra y se copia la información para generar una molécula de ADN que se puede detectar por PCR-TR.

La prueba de PCR-TR tiene dos ventajas: por una parte, permite monitorear la acumulación del ADN conforme se va copiando; por la otra, se pueden contar el número de copias del coronavirus presente en la muestra.



Se toma una muestra de una de las partes del cuerpo donde se acumula el coronavirus, por ejemplo, la nariz o la garganta; se le aplican diversas soluciones químicas para eliminar ciertas sustancias, como las proteínas y las grasas, y se extrae solo el ARN de la muestra. Este extracto de ARN consiste en una mezcla del material genético de la persona y, de estar presente, del ARN del coronavirus.

Se procede a la transcripción inversa del ARN para convertirlo en ADN mediante una enzima específica. A continuación, los científicos añaden pequeños fragmentos adicionales de ADN que complementan determinadas partes del ADN vírico transcrito. Esos fragmentos se adhieren a partes específicas del ADN vírico de estar el virus presente en la muestra. Algunos de los fragmentos genéticos añadidos sirven para crear la cadena de ADN durante la amplificación y otros, para producir ADN y añadir marcadores a las cadenas, que se utilizan posteriormente para detectar el virus.

A continuación, se introduce esa combinación en un aparato de RT-PCR, donde se someten a ciclos de calor-frío para provocar determinadas reacciones químicas que dan lugar a nuevas copias idénticas de partes específicas del ADN vírico. Esos ciclos se repiten una y otra vez para seguir copiando las partes específicas del ADN vírico. En cada uno de ellos se duplican las cantidades: de dos copias, se pasan a cuatro; de cuatro, a ocho, y así sucesivamente. Un sistema habitual de RT-PCR en tiempo real suele constar de 35 ciclos, es decir, que al final del proceso se habrán creado unos 35 000 millones de copias nuevas de las partes del ADN vírico de cada una de las cadenas del virus presentes en la muestra.

A medida que se producen nuevas copias de las partes del ADN vírico, los marcadores se acoplan a las cadenas de ADN y emiten una fluorescencia, que la computadora del aparato medirá y presentará en tiempo real en la pantalla. La computadora hace un seguimiento de la magnitud de la fluorescencia de la muestra tras cada ciclo. Cuando esta supera un determinado nivel, se confirma la presencia del virus. Los científicos supervisan también el número de ciclos que se tarda en alcanzar ese nivel para determinar así la gravedad de la infección: mientras menor sea el número de ciclos, más grave será la infección vírica.

La RT-PCR en tiempo real es una técnica muy sensible y precisa que puede ofrecer un diagnóstico fiable tan solo en tres horas, aunque a los laboratorios suele tomarles entre seis y ocho horas de media. En comparación con otros métodos disponibles de aislamiento de virus, la RT-PCR en tiempo real es bastante más rápida y tiene menos posibilidades de contaminación o error, ya que todo el proceso puede llevarse a cabo en tubos cerrados. De los métodos existentes, sigue siendo el más exacto para detectar el coronavirus.

La RT-PCR en tiempo real no sirve para saber si alguien estuvo infectado por el virus, lo cual es importante para comprender su desarrollo y propagación, ya que los virus solo están presentes en el organismo durante un período determinado. Para detectar, seguir y estudiar infecciones pasadas, en particular las que han podido cursarse o propagarse de manera asintomática, se precisan otros métodos.

## Bibliografías:

-  <https://www.estornuda.me/post/deteccion-molecular-de-cov-por-pcr>
-  [https://www.who.int/es/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019?gclid=Cj0KCQiAqdP9BRDVARIsAGSZ8AkqwjCJJEF1j2kwYibuzEah3EWPc2hQI9EKrNBmfTNgwY7katDezUQaAIBMEALw\\_wcB](https://www.who.int/es/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019?gclid=Cj0KCQiAqdP9BRDVARIsAGSZ8AkqwjCJJEF1j2kwYibuzEah3EWPc2hQI9EKrNBmfTNgwY7katDezUQaAIBMEALw_wcB)
-  <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/1262>
-  <https://www.iaea.org/es/newscenter/news/pcr-en-tiempo-real-covid-19>
-  <https://www.idexx.es/es/water/water-products-services/water-sars-cov-2-rt-pcr-test/>