



Universidad del Sureste
Licenciatura en Medicina Humana

Nombre del alumno: Emanuel de Jesús Andrade Morales

Nombre del profesor: Hugo Nájera Mijangos

Nombre del trabajo: Resumen sobre el uso de la reacción en cadena de la polimerasa para la detección de sars-cov-2

Materia: genética humana

Grado: 3°

Grupo: "A"

Comitán de Domínguez Chiapas a 18 de noviembre del 2020.

PCR

La PCR 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 desoxirribonucleico). Esta última se llama PCR en tiempo real (PCR-TR).

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.

La prueba consiste en detectar simultáneamente en una reacción de PCR-TR la presencia de varios genes. Las reacciones N1 y N2 detectan fragmentos de genes específicos del SARS-CoV-2 y la reacción N3 detecta un fragmento de un gen de los coronavirus tipo SARS. Esta última detección permitiría detectar la presencia de otros virus, el del Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS) o el del Síndrome Respiratorio del Medio Oriente (MERS) y así discriminar si el paciente está infectado por SARS-CoV-2 o por otros virus tipo SARS. También se detecta la presencia del gen de la enzima ARNasa P.

Este gen es de origen humano, y permite comprobar que, durante la extracción de ARN de la muestra se obtuvo suficiente ARN como para que la prueba pueda detectar al coronavirus. Si la cantidad del gen de ARNasa P no alcanza un valor mínimo de detección, la muestra se descarta.

El kit para su detección viene acompañado por fragmentos de ADN sintéticos que permiten confirmar su funcionalidad. Estas pruebas requieren de la certificación y validación de las entidades gubernamentales encargadas del sector salud para garantizar su calidad y validez. De esta forma se evitan los falsos negativos, es decir, que le digan al paciente que no está infectado cuando en realidad sí lo está.

Por su parte la PCR cuantitativa es una variante de la PCR que nos permite medir en tiempo real la cantidad de fragmentos de ADN que se van produciendo. Para poder cuantificar la muestra de un paciente en este tipo de PCR, se añaden al tubo de ensayo sondas que se unen únicamente a secuencias específicas del ADN retrotranscrito del virus y emiten fluorescencia.

Por tanto, a mayor fluorescencia en la muestra, mayor cantidad de copias del ADN obtenido mediante la retrotranscripción del virus SARS-CoV-2.

Una vez se logra producir la reacción de la PCR cuantitativa de la muestra purificada y retrotranscrita del paciente, se pueden obtener los siguientes resultados:

Presencia de fluorescencia en la PCR cuantitativa: Si se detecta un aumento de la fluorescencia durante la reacción de PCR, estamos ante un claro indicio de la presencia de SARS-CoV-2 en el paciente. Recordad que, en esta prueba diagnóstica, la fluorescencia es producto de la amplificación del ADN que hemos obtenido de la retrotranscripción del ARN del virus.

Ausencia de fluorescencia en la PCR cuantitativa: Es posible que la prueba no detecte un aumento de la fluorescencia durante la reacción de PCR. En este caso, diríamos que la prueba ha resultado negativa y, por tanto, el paciente no se encuentra infectado por el virus SARS-CoV-2.

Aunque la RT-PCR cuantitativa es una técnica muy interesante a la hora de detectar la infección por SARS-CoV-2 de los pacientes posiblemente infectados, presenta varias limitaciones asociadas que la hacen menos efectiva de lo que debería.

La primera de las limitaciones de las pruebas diagnósticas de SARS-CoV-2 mediante RT-PCR cuantitativa es que solo pueden determinar la infección por SARS-CoV-2 en el momento de la prueba. Esto quiere decir que, utilizando esta técnica, no podemos saber si un paciente estaba infectado días antes de la prueba.

Otra de las limitaciones de la RT-PCR cuantitativa es la velocidad a la que se lleva a cabo. Aunque, por lo general, la PCR es una técnica bastante rápida para amplificar muestras de ADN, se demora varias horas hasta poder establecer unos resultados. El diagnóstico mediante este método es, por tanto, lento en la situación actual, en la que se necesitan resultados rápidos para poder controlar a los pacientes infectados.

Bibliografía

Díaz-Jiménez, I. V. (2020). <https://www.medigraphic.com/>. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/actpedmex/apm-2020/apms201h.pdf>

González, R. M. (07 de Abril de 2020). <https://genotipia.com/>. Obtenido de <https://genotipia.com/sars-cov-2-pcr/>