



Universidad del Sureste
Escuela de Medicina



Nombre de la alumna:
Victoria Belén de la Cruz Escobar

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

Nombre del trabajo:
Funcion de la PCR detectando el SARS-CoV-2

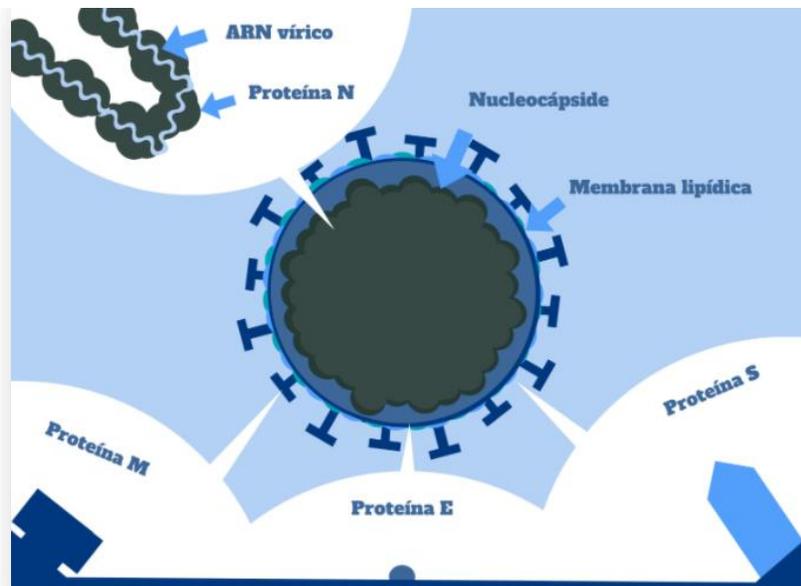
Materia:
Genetica Humana I

Grado: 3 Grupo: "A"

Comitán de Domínguez Chiapas a 18 de nov. de 2020

Prueba de PCR en el SARS-CoV-2

El coronavirus **SARS-CoV-2** es una especie de virus que apareció a finales de 2019 en el territorio de Wuhan, en China. En humanos este virus es capaz de causar diferentes afecciones respiratorias agudas y neumonías. Los coronavirus son **virus de ARN monocatenario positivo** recubiertos por una estructura de glicoproteínas y lípidos. Eso quiere decir que, a diferencia de nosotros, los humanos, el SARS-CoV-2 tiene su material genético en forma de **ARN**. Pero... ¿la PCR sólo era capaz de amplificar el ADN, no? Ciertamente, las ADN polimerasas sólo pueden utilizar el ADN como molde y no el ARN. Entonces ¿cómo es posible utilizar la PCR para detectar la infección por coronavirus? Pues... utilizando una variante de la PCR estándar, la **RT-PCR**, que se vale de la ayuda de un enzima muy particular, la **transcriptasa inversa**.

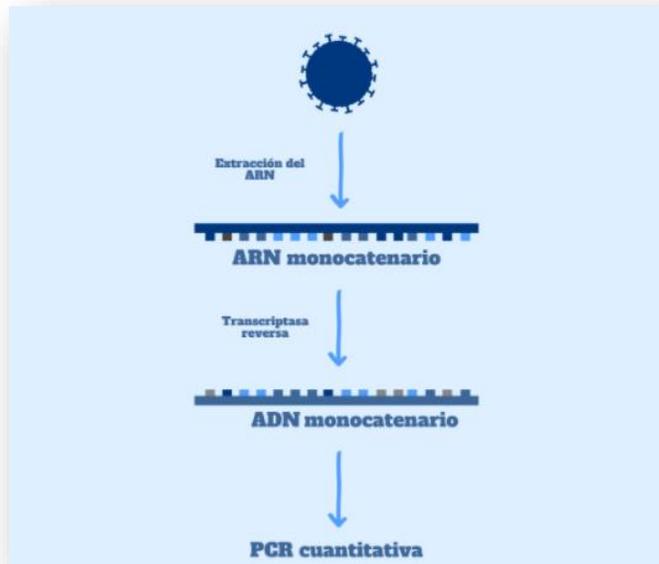


Obtención de la muestra y conversión de ARN a ADN mediante Transcriptasa inversa

La transcriptasa inversa es una ADN polimerasa de origen vírico un tanto especial. Mientras el resto de ADN polimerasas sólo puede obtener ADN a partir de una cadena de ADN, la transcriptasa inversa **puede sintetizar ADN a partir de una molécula de ARN**.

Por tanto, el primer paso para detectar la infección por SARS-CoV-2 mediante PCR es la conversión del ARN monocatenario viral en ADN. Para ello, en primer lugar, se obtiene el material genético del virus a partir de un **frotis de nariz o garganta** del paciente a diagnosticar y se purifica. Debemos tener en cuenta que en la muestra estamos recogiendo también ARN humano, ARN bacteriano e incluso ARN de otros virus

Acto seguido, la muestra de ARN obtenida y purificada se mezcla con la transcriptasa inversa (y otros reactivos), para obtener cadenas de ADN, que podemos cuantificar mediante una PCR cuantitativa. Aquí habrá ADN de muchos orígenes (humano, vírico y bacteriano), pero **no todo se amplificará en la PCR**, ya que es una técnica dirigida a ciertas secuencias específicas (en este caso, secuencias del ADN retrotranscrito del virus).



PCR cuantitativa

Como os comentaba en el post anterior sobre la técnica de la PCR, 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.

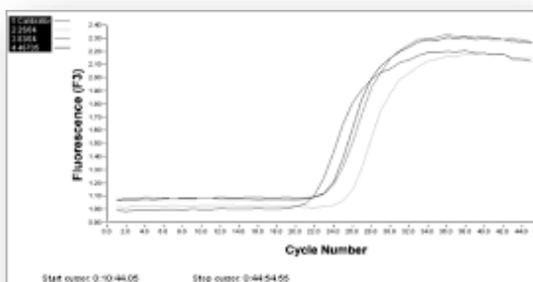
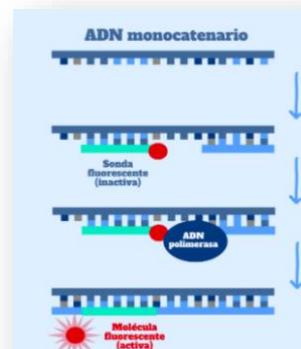


Figura 1. Curvas de amplificación de Her2 obtenidas en el LightCycler usando el método de fluorescencia. El eje Y muestra la

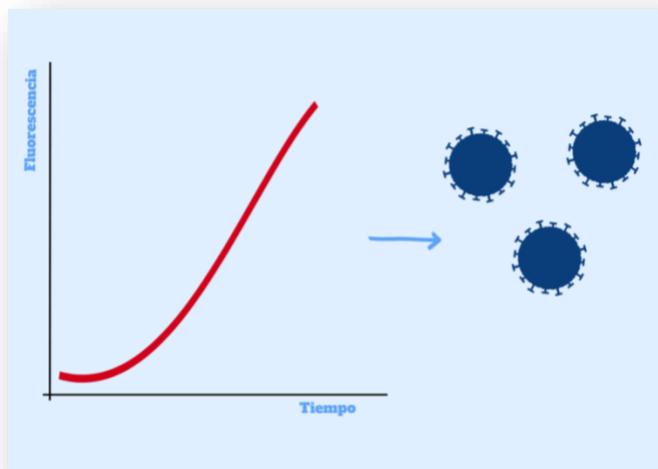


Análisis de Resultados.

Una vez se está produciendo la reacción de la PCR cuantitativa de la muestra purificada y retrotranscrita del paciente, podemos obtener los siguientes resultados:

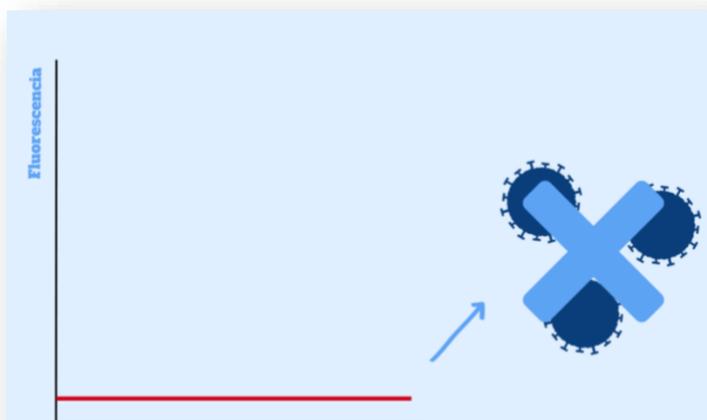
Presencia de fluorescencia en la PCR cuantitativa:

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. En este caso, diríamos que la prueba ha dado **positivo**, es decir, **el paciente se encuentra infectado**, en cierta medida, por SARS-CoV-



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**.



Las limitaciones

Las pruebas de PCR son una forma bastante fiable de comprobar la existencia de enfermedades infecciosas, sin embargo, también tienen limitaciones.

La primera es que llevan **tiempo**. Se necesitan unas pocas horas obtener resultados. Esto implica un límite en la cantidad de pruebas que un solo laboratorio puede llevar a cabo en un día.

Las PCR llevan tiempo y esto implica un límite en la cantidad de pruebas que un solo laboratorio puede llevar a cabo en un día

Otra limitación es la **disponibilidad** de reactivos necesarios. La demanda mundial de estas pruebas a raíz de la pandemia ha provocado escasez.

La **contaminación** o la degradación también pueden causar problemas por falsos positivos (cuando alguien no tiene el virus pero la prueba dice que sí lo tiene) o falsos negativos (cuando alguien tiene el virus pero la prueba dice que no lo tiene).

Una última gran limitación de este tipo de pruebas es que solo pueden indicar si alguien tiene el virus en el momento de la prueba. No puede decirnos si ha tenido el virus pero se ha recuperado posteriormente antes de la prueba.

Otro tipo de test: el de anticuerpos

Las pruebas de anticuerpos sirven para saber si una persona se ha inmunizado tras haber sido infectada

Los test de detección de anticuerpos son mucho más rápidos, solo se tardan unos 15 minutos en tener el resultado; y la muestra se obtiene de una gota de sangre extraída del dedo. El Ministerio de Sanidad ha anunciado la distribución de 650.000 test de este tipo y se esperan más unidades importadas de Europa.

Estas pruebas basadas en anticuerpos sirven para saber si una persona se ha inmunizado tras haber sido infectada. Es decir, detecta los anticuerpos generados por el sistema inmunitario de nuestro organismo cuando la infección ya ha pasado o nos estamos recuperando.

Normalmente se recomienda utilizarlos de manera complementaria a la PCR, pero en situaciones como esta, en la que se hace necesaria la distribución masiva de pruebas, serán de gran ayuda para detectar casos de personas infectadas que no tienen síntomas o los sufren de manera muy leve.

Referencias bibliograficas:

Antoniofigueras. (2020, April 24). *Coronavirus. ¿Cómo se usa la PCR para detectar si estamos infectados por el virus SARS Cov 2?* Medium; Medium.

<https://medium.com/@antoniofigueras/coronavirus-c%C3%B3mo-se-usa-la-pcr-para-detectar-si-estamos-infectados-por-el-virus-sars-cov-2-48f63e7b7a48>

Así son las pruebas PCR que se utilizan para detectar el coronavirus. (2020). Agencia

SINC. <https://www.agenciasinc.es/Noticias/Asi-son-las-pruebas-PCR-que-se-utilizan-para-detectar-el-coronavirus>

Diagnostico de SARS-CoV mediante RT-PCR cuantitativa -. (2020, April 7).

Genotipia.com. <https://genotipia.com/sars-cov-2-pcr/>