



**Universidad del sureste
Escuela de medicina**

Biología molecular en la clínica

Docente: Q.F.B: Hugo Najera Mijangos

Presenta:

Jesús Eduardo Cruz Domínguez

Las dianas que se emplean para la detección específica del genoma del SARS-CoV-2 por RT-PCR en tiempo real se encuentran en las regiones ORF1a, RdRp, N, S y E del ARN viral. Las muestras recomendadas para el diagnóstico del SARS-CoV-2 por RT-PCR son las del tracto respiratorio superior como el exudado nasofaríngeo. Estudios recientes han informado pacientes positivos por RT-PCR días o semanas después de la recuperación y de haber tenido resultados negativos. No está claro si este fenómeno se trata de un error de la prueba, de una reinfección o de una reactivación.

Se usa el ADN porque, al nivel máximo de discriminación, su estructura indica de qué organismo se trata. En el caso de los seres humanos, la reacción en cadena de la polimerasa puede identificar a una persona mediante su firma genética. En el caso de la COVID-19, los investigadores ya han publicado más de 100 genomas obtenidos de pacientes con el fin de identificar las características fundamentales del virus SARS-CoV-2 que causa la enfermedad del coronavirus.

La reacción en cadena de la polimerasa funciona solamente con el ADN, pero el código genético que usa el virus de la COVID-19 es el ARN. El ARN es similar al ADN, aunque tiene solo una hebra. Afortunadamente, el descubrimiento hace décadas de las enzimas virales que convierten el ARN en ADN ha permitido aprovecharlas junto con la reacción en cadena de la polimerasa para también encontrar firmas únicas en el ARN y, en estos casos, la reacción en cadena de la polimerasa es conocida como transcripción inversa, o reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR, por sus siglas en inglés).

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 de 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.

Si el ADN complementario del SARS-CoV-2 está presente en la muestra, los cebadores pueden copiar las regiones deseadas. A medida que esas regiones se copian, las sondas pegadas a estos nuevos fragmentos liberan una señal visual que puede ser leída por un instrumento que se utiliza en este proceso.

Este tipo de análisis se usa en investigación y en pruebas clínicas de laboratorio. La reacción en cadena de la polimerasa detecta todo tipo de bacterias, parásitos, virus y hongos, a partir del ADN o del ARN; pero si bien el principio y los elementos son similares, cada análisis requiere determinados cebadores y sondas para detectar los diferentes organismos.

Esa es la razón por la que la preparación de un análisis para el SARS-CoV-2 debía empezar de cero, puesto que estos tipos de pruebas necesitan ir afinándose durante su elaboración a fin de confirmar que son excelentes para detectar el organismo deseado (sensibilidad) y verificar que no muestran resultados positivos cuando el organismo no está presente (especificidad).

La estrategia más eficiente para confirmar la COVID-19 debe combinar los resultados de la RT-PCR en tiempo real con los datos clínicos y epidemiológicos. Por lo tanto, la aplicación del método clínico es el eslabón fundamental del diagnóstico de la infección por SARS-CoV-2 aún en los tiempos de la biología molecular.

Bibliografía:

Tiner, S. (2020, 29 junio). La ciencia detrás de la prueba para el virus de la COVID-19. <https://discoverysedge.mayo.edu/https://discoverysedge.mayo.edu/2020/06/29/la-ciencia-detras-de-la-prueba-para-el-virus-de-la-covid-19/>

Detección molecular de SARS-CoV-2 por PCR en tiempo real. (s. f.). estornuda.me. Recuperado 17 de noviembre de 2020, de <https://www.estornuda.me/post/deteccion-molecular-de-cov-por-pcr>

García, N. G. (2020, 5 agosto). RT-PCR en tiempo real para el diagnóstico y seguimiento de la infección por el virus SARS-CoV-2 | González García | Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia. infomed. <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/1262>