



**Universidad del Sureste  
Escuela de Medicina**



**Materia:** biología molecular en la clínica

**Tema:** resumen

**Presenta:**

Karen Alejandra Morales Moreno

**Q.F.B. Nájera Mijangos Hugo**

## USO DE LA REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA PARA LA DETECCION DE SARS-CoV-2.

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.

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.

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 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.

El ARN del virus que se extrae de la muestra se purifica y se mezcla con una enzima llamada transcriptasa inversa, que convierte el ARN de una sola cadena en ADN de doble cadena. El ADN vírico se añade a un tubo de ensayo junto con cebadores secciones cortas de ADN diseñadas para unirse al virus, nucleótidos los bloques de construcción que componen el ADN y una enzima constructora del ADN.

La máquina PCR calienta la mezcla. Esto hace que el ADN de doble cadena se desenrede y el cebador pueda unirse al ADN a medida que se enfría, proporcionando un punto de partida para que la enzima constructora de ADN lo copie. Este proceso continúa a través de repetidos calentamientos y enfriamientos hasta que se han creado millones de copias del ADN.

Esto explica cómo la PCR amplifica el código genético del virus, pero no cómo se detecta. Aquí es donde entran los colorantes fluorescentes, añadidos al tubo de ensayo mientras se copia el ADN. Se unen al ADN copiado, lo que aumenta su fluorescencia haciendo que emitan más luz, que permite confirmar la presencia del virus.

La fluorescencia aumenta a medida que se producen más copias y, si cruza un cierto umbral, la prueba es positiva. Si el virus no estaba presente en la muestra, la prueba PCR no habrá hecho copias, por lo que el umbral de fluorescencia no se alcanzará y, en ese caso, la prueba será negativa.

Bibliografía:

Garza-Rodríguez, M. d. (2020). diagnóstico molecular. *Medigraphic*, 5.

Cárdenas-Bravo L, Cabrera-Rayó A, Pérez-Barragán E, Márquez-Díaz F y col. Recursos diagnósticos en la infección por SARS-CoV-2. *Med Int Méx.* 2020;36(Suplemento 2):S26-S28