



**Universidad del Sureste**

**Escuela de Medicina**

**Resumen**

## **BIOLOGIA MOLECULAR DE LA CLÍNICA**

---

**Presenta**

**Dulce Alondra Pinto Pérez**

**Q.F.B. Hugo Nájera Mijangos**

**Comitán de Domínguez, Chiapas**

**Mayo 2021**

De acuerdo con el Comité Internacional de Taxonomía de Virus, pertenecen al orden Nidovirales, familia Coronaviridae, subfamilia Coronavirinae, esta última consta de cuatro géneros Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus y Deltacoronavirus. Se denominan coronavirus por la apariencia que dan bajo el microscopio electrónico parecido a una corona. Son virus envueltos, con un diámetro aproximado de 125 nm, genoma ARN de cadena simple, sentido positivo. Se considera el genoma más grande de los virus ARN con un tamaño de 26-32 kilobases, codifica cuatro proteínas estructurales que incluyen glicoproteína espiga (S), envoltura (E), membrana (M) y nucleocápside (N) y otras 16 proteínas no estructurales que participan en la transcripción y replicación viral como es la helicasa y la ARN polimerasa dependiente de ARN.<sup>2,3</sup> Sobre la base de secuencias genéticas se sabe que todos los coronavirus humanos probablemente tienen un ancestro común, usan reservorios naturales o intermediarios en animales y tienen la capacidad de cruzar la barrera entre especies. Los coronavirus humanos a través de su proteína espiga se unen a uno de los receptores, éstos pueden ser: la enzima convertidora de angiotensina, dipeptidil peptidasa 4, aminopeptidasa N y O-acidoacetil siálico, e ingresan a la célula a través de una vía endosómica y/o no endosómica; una vez ingresado, se libera la nucleocápside y el ARN en el citoplasma, se sintetizan las enzimas que participan en la transcripción y replicación del virus, se producen copias ARN de sentido negativo, por medio de ARN subgenómicos se producen las proteínas estructurales que posteriormente serán ensambladas y se libera el virión a través de exocitosis al espacio extracelular.

### **Muestras utilizadas para la detección del SARS-CoV-2 mediante RT-PCR**

Los hisopados nasofaríngeos y orofaríngeos son las muestras típicamente usadas para confirmar la presencia de SARS-CoV-2 mediante RT-PCR<sup>2</sup>. Sin embargo, el virus también se ha detectado en especímenes de otros sitios, a través de los cuales se han alcanzado diferentes eficiencias de detección. Por la facilidad de su recolección en pacientes y bajo riesgo infeccioso para proveedores de salud, la

saliva es una muestra potencial en la detección de SARS-CoV-2 y virus similares. Diferentes estudios confirman la utilidad de la saliva proveniente de la garganta para el diagnóstico precoz y monitoreo rutinario de COVID-19, especialmente en situaciones en las que la recolección de muestras nasofaríngeas puede estar contraindicada.

Las secreciones conjuntivales también han sido evaluadas, encontrándose que solo los pacientes con manifestaciones clínicas de conjuntivitis evidencian la presencia de SARS-CoV-2 en sus muestras<sup>8</sup>. Uno de los estudios más completos sobre la eficiencia de detección de este virus mediante la prueba RT-PCR, evaluó diferentes tipos de muestra de pacientes con diagnóstico clínico de COVID-19, e indicó que el fluido de lavado broncoalveolar y esputo produjeron la mayor cantidad de resultados positivos, seguidos de los hisopados nasales, biopsias con cepillo de fibrobroncoscopio e hisopados faríngeos, y con menor porcentaje de hallazgo en muestras de heces y sangre.

### **Métodos de extracción de ARN para detectar coronavirus**

La extracción cuantitativa de ácidos nucleicos con alta pureza a partir de muestras complejas es el requisito previo para ensayos de RT-PCR eficientes y es un paso crucial en el uso de técnicas moleculares para la detección eficiente de virus en muestras clínicas. Tanto las concentraciones virales absolutas como relativas determinarán el éxito de los ensayos moleculares posteriores. En el caso de trabajar muestras con niveles bajos de virus, se deberán aplicar estrategias especiales para tener mayores probabilidades de detección tales como: homogeneización o digestión enzimática de muestras sólidas o viscosas; técnicas de filtración y centrifugación diferencial. Además, se necesitará el uso de endonucleasas para liberar genomas de las partículas virales protegidos por nucleocápsides. Todos estos pasos aumentarán la concentración absoluta y relativa de los ácidos nucleicos virales antes de su extracción. Una baja eficiencia de extracción puede dar señales pobres durante la amplificación exponencial y, por lo tanto, dar resultados falso-negativos<sup>13,14</sup>. La baja calidad de extracción, por otro lado, puede contener una variedad de inhibidores de la PCR, lo que

proporciona lecturas poco confiables durante la amplificación<sup>15,16</sup>. Por estas razones, la selección de un método de extracción será un paso fundamental para el éxito en la detección de SARS-CoV-2.