

Detección del virus de la COVID-19 mediante la RT-PCR en tiempo real

Nicole Jawerth



Mientras el coronavirus que provoca la COVID-19 se propaga por todo el mundo, el OIEA, en colaboración con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), ofrece su apoyo y sus conocimientos especializados para ayudar a los países a utilizar la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real (RT-PCR en tiempo real), uno de los métodos de laboratorio más rápidos y exactos para detectar, seguir y estudiar el virus de la COVID-19.

Pero ¿qué es la RT-PCR en tiempo real? ¿Cómo funciona? ¿En qué se diferencia de la PCR? ¿Qué relación guarda con la tecnología nuclear? A continuación, encontrará información resumida práctica al respecto, así como un repaso sobre los virus y la genética.

¿Qué es la RT-PCR en tiempo real?

La RT-PCR en tiempo real es un método nuclear que detecta la presencia de material genético específico de patógenos, como los virus. Inicialmente, el método utilizaba marcadores de isótopos radiactivos para detectar materiales genéticos específicos pero, tras la incorporación de mejoras, el marcado isotópico se ha sustituido por marcadores especiales, que suelen ser colorantes fluorescentes. A diferencia de la RT-PCR convencional, que solo arroja resultados al final del proceso, esta técnica permite a los científicos observar los resultados de manera casi inmediata mientras el proceso sigue en curso.

La RT-PCR en tiempo real es uno de los métodos de laboratorio más utilizados para detectar el virus de la COVID-19. Aunque numerosos países la hayan utilizado para diagnosticar otras enfermedades, como el ébola o el Zika, muchos necesitan ayuda para adaptar el método al virus de la COVID-19 y para aumentar sus capacidades nacionales de realizar pruebas.

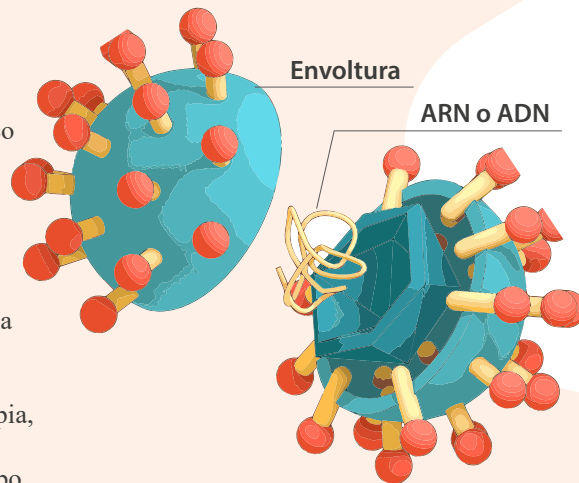
¿Qué son los virus?

¿Qué es el material genético?

Los virus son conjuntos microscópicos de material genético con envoltura molecular. Ese material genético puede ser, o bien ácido desoxirribonucleico (ADN), o ácido ribonucleico (ARN).

El **ADN** es una molécula bicatenaria presente en todos los organismos, como los animales, las plantas y los virus, que contiene el código genético, o esquema, de la forma en que esos organismos se crean y desarrollan.

El **ARN** suele ser una molécula monocatenaria que copia, transcribe y transmite partes del código genético a las proteínas para que estas puedan sintetizar y llevar a cabo funciones que hacen que los organismos sigan viviendo y desarrollándose. Esas actividades de copiar, transcribir y transmitir incumben a distintas variaciones del ARN.

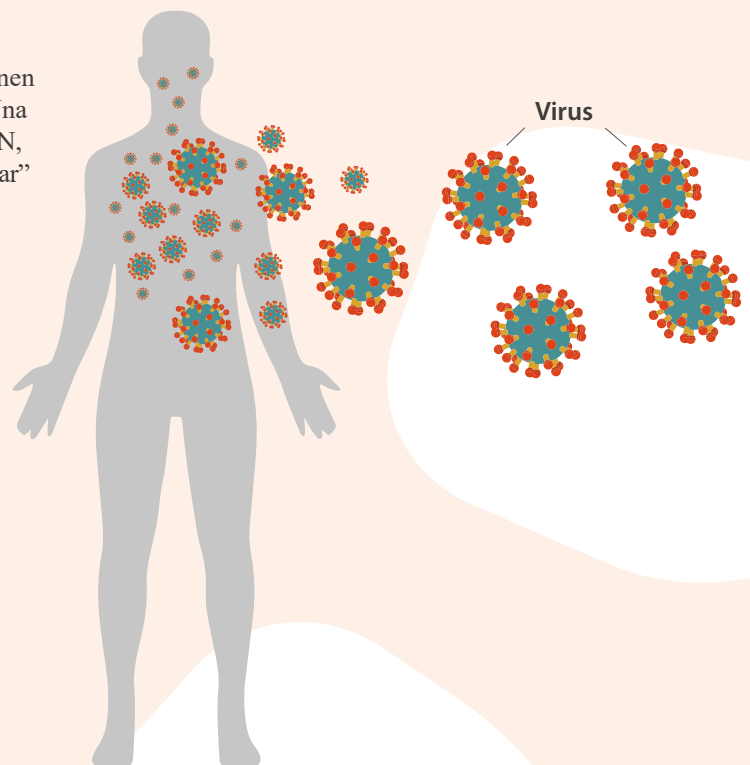


Algunos virus como el coronavirus SARS-Cov2, que provoca la COVID-19, contienen únicamente ARN, lo que significa que tienen que infiltrarse en células sanas para multiplicarse y sobrevivir. Una vez en la célula, el virus utiliza su propio código genético —ARN, en el caso del virus de la COVID-19— para controlar y “reprogramar” las células y conseguir que estas fabriquen el virus.

Para la pronta detección en el organismo de virus como el que causa la COVID-19 mediante la RT-PCR en tiempo real, los científicos tienen que convertir el ARN en ADN, proceso denominado “transcripción inversa”. Esto es necesario porque únicamente el ADN puede copiarse —o amplificarse—, lo que es parte fundamental del proceso de RT-PCR en tiempo real utilizado para la detección de virus.



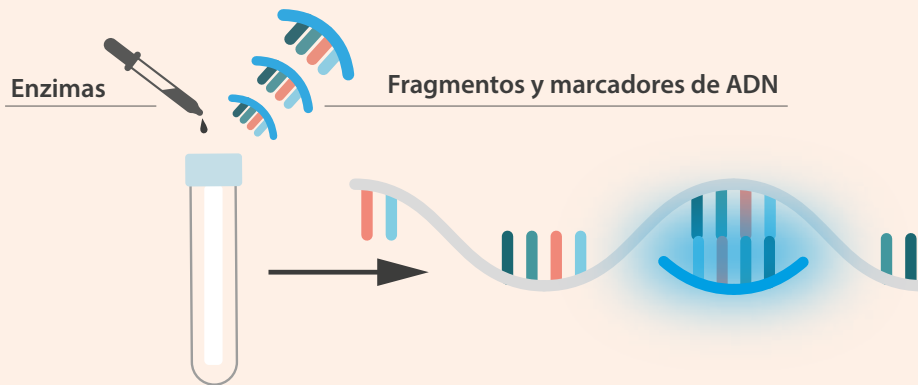
Los científicos amplifican una parte concreta del ADN vírico transcrito cientos de miles de veces. La importancia de la amplificación reside en que, en vez de intentar encontrar una cantidad minúscula del virus entre millones de cadenas de información genética, los científicos disponen de una cantidad de ADN vírico suficiente para confirmar con exactitud la presencia del virus.



¿Cómo funciona la RT-PCR en tiempo real con el virus de la COVID-19?

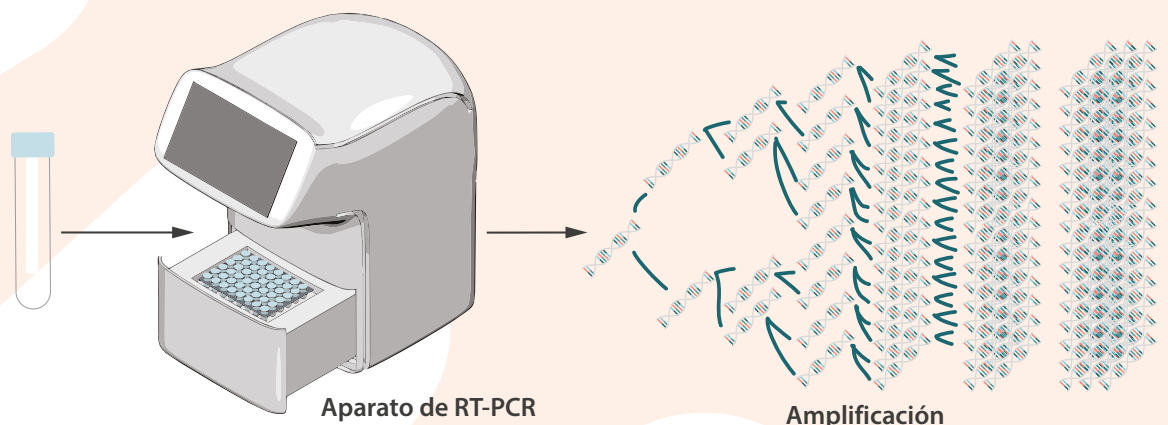
Se toma una muestra de una parte del cuerpo donde se acumula el virus de la COVID-19, por ejemplo, la nariz o la garganta; se le aplican diversas soluciones químicas para eliminar ciertas sustancias, como las proteínas y las grasas, y extraer solo el ARN de la muestra. Este extracto de ARN consiste en una mezcla del material genético de la persona y, de estar presente, del ARN del virus.

Se procede a la transcripción inversa del ARN para convertirlo en ADN mediante una enzima específica. A continuación, los científicos añaden pequeños fragmentos adicionales de ADN que complementan determinadas partes del ADN vírico transcrito. De estar el virus presente en la muestra, esos fragmentos se adhieren a partes específicas del ADN vírico. Algunos de los fragmentos genéticos añadidos se emplean para crear la cadena de ADN durante la amplificación, y otros para producir ADN y añadir marcadores a las cadenas, que se utilizan posteriormente para detectar el virus.



A continuación, se introduce esa combinación en un aparato de RT-PCR donde se somete a ciclos de calor frío para provocar determinadas reacciones químicas que dan lugar a nuevas copias idénticas de partes específicas del ADN vírico. Esos ciclos se repiten una y otra vez para seguir copiando las partes específicas del ADN vírico. En cada uno de ellos se duplican las cantidades: de dos copias se pasa a cuatro; de cuatro, a ocho, y así sucesivamente. Un sistema habitual de RT-PCR en tiempo real suele constar de 35 ciclos, es decir, que al final del proceso se habrán creado unos 35 000 millones de copias nuevas de las partes del ADN vírico de cada una de las cadenas del virus presentes en la muestra.

A medida que se producen nuevas copias de las partes del ADN vírico, los marcadores se acoplan a las cadenas de ADN y emiten una fluorescencia que la computadora del aparato medirá y presentará en tiempo real en la pantalla. La computadora hace seguimiento de la magnitud de la fluorescencia de la muestra tras cada ciclo. Cuando la fluorescencia supera un determinado nivel, se confirma la presencia del virus. Los científicos supervisan también el número de ciclos que se tarda en alcanzar ese nivel para determinar así la gravedad de la infección: cuanto menor sea el número de ciclos, más grave será la infección vírica.



¿Por qué utilizar la RT-PCR en tiempo real?

La RT-PCR en tiempo real es una técnica muy sensible y precisa que puede ofrecer un diagnóstico fiable en tan solo tres horas, aunque a los laboratorios les lleva entre seis y ocho horas de media. En comparación con otros métodos disponibles de aislamiento de virus, la RT-PCR en tiempo real es bastante más rápida y presenta menos posibilidades de contaminación o error, ya que todo el proceso puede llevarse a cabo en tubos cerrados. De los métodos existentes, sigue siendo el más exacto para detectar el virus de la COVID-19.

Con todo, la RT-PCR en tiempo real no sirve para detectar infecciones superadas, información que resulta importante para comprender el desarrollo y propagación del virus, que solo está presente en el organismo durante un período determinado. Para detectar, seguir y estudiar infecciones pasadas, en particular las que han podido cursarse o propagarse de manera asintomática, se precisan otros métodos.

¿Qué es la PCR y en qué se diferencia de la RT-PCR en tiempo real?

La RT-PCR es una variante de la PCR, o reacción en cadena de la polimerasa. El proceso que emplean ambas técnicas es el mismo, con la excepción de que la RT-PCR añade un paso de transcripción inversa del ARN a ADN para permitir la amplificación. Esto significa que la PCR se utiliza para patógenos, como virus y bacterias, que ya contienen ADN susceptible de amplificación, mientras que la RT-PCR se emplea para los que contienen ARN que debe transcribirse a ADN antes de la amplificación. Ambas técnicas pueden aplicarse en “tiempo real”, lo que significa que los resultados son visibles casi de inmediato, mientras que, si se aplican “convencionalmente”, los resultados solo son visibles cuando concluye la reacción.

La PCR es una de las pruebas de diagnóstico más utilizadas para detectar patógenos (entre ellos, virus) causantes de enfermedades como el ébola, la peste porcina africana y la fiebre aftosa. Para detectar el virus de la COVID-19 se emplea la RT-PCR en tiempo real o convencional, puesto que ese virus contiene únicamente ARN.

El OIEA, en colaboración con la FAO, lleva más de 20 años capacitando y equipando a expertos de todo el mundo para utilizar el método de la RT-PCR en tiempo real, en particular por conducto de su Red de Laboratorios de Diagnóstico Veterinario (VETLAB). Recientemente, esta técnica se ha utilizado también en el diagnóstico de otras enfermedades como el ébola, el Zika, el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS), el síndrome respiratorio agudo severo (SRAS) y otras enfermedades zoonóticas y animales importantes. Las enfermedades zoonóticas son enfermedades animales que pueden contagiar también a las personas.

