

Polymerase chain reaction: variability in techniques and diagnostic methods for covid -19.

Reacción en cadena de la polimerasa: variabilidad en técnicas y métodos diagnósticos para covid -19.

Autores:

Benavides Cevallos, Cristian Geovanny
UNIVERSIDAD ESTATAL DEL SUR DE MANABÍ
Estudiante de laboratorio clínico
Jipijapa-Ecuador

 benavides-cristian5702@unesum.edu.ec

 <https://orcid.org/0000-0003-4596-4762>

Plúa Flores, Anthony Aníbal
UNIVERSIDAD ESTATAL DEL SUR DE MANABÍ
Estudiante de laboratorio clínico
Jipijapa-Ecuador

 plua-anthony5208@unesum.edu.ec

 <https://orcid.org/0000-0001-9177-4615>

Lic. Vera Cagua, Karen Gema
HOSPITAL PEDIÁTRICO BACA ORTIZ
Laboratorista clinico
Quito-Ecuador

 karen.vera@hbo.gob.ec

 <https://orcid.org/0000-0002-3139-7026>

Lic. Lucas Parrales, Elsa Noralma
UNIVERSIDAD ESTATAL DEL SUR DE MANABÍ
Profesor o tutor del area
Jipijapa-Ecuador

 lucas.elsa@unesum.edu.ec

 <https://orcid.org/0000-0002-7651-2948>

Citación/como citar este artículo: Benavides, C., Plúa, A., Vera, K. y Lucas, E. (2023). Reacción en cadena de la polimerasa: variabilidad en técnicas y métodos diagnósticos para covid -19. MQR Investigar, 7(1), 231-247.

<https://doi.org/10.56048/MQR20225.7.1.2023.231-247>

Fechas de recepción: 15-DIC-2022 aceptación: 17-ENE-2023 publicación: 15-MAR-2023

 <https://orcid.org/0000-0002-8695-5005>

<http://mqrinvestigar.com/>

Resumen

La reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT- PCR) es uno de los métodos de laboratorio más precisos y ampliamente utilizados para diagnosticar la enfermedad respiratoria de coronavirus 2019 el objetivo de investigar fue evaluar la reacción en cadena de la polimerasa: variabilidad en técnicas y método diagnóstico para COVID-19”, mediante diseño cualitativo, descriptivo de revisión sistemática a través de la recopilación de fuentes de datos científicos como; Scielo, Pubmed, Scopus, Latindex, Web of science, , Science direct, Redalyc, se utilizaron artículos científicos y se utilizaron los términos “PCR”, “COVID-19” y “SARS-CoV-2”. Se obtuvieron resultados de la variabilidad de técnicas en reacción de la cadena de la polimerasa donde se encontró tipos como la RT-PCR, PDR-Ag, RT-qPCR, RT LAMP, que son pruebas diagnósticas que tienen una confiabilidad entre 90 y 98.9% en la detección del virus SARS-COV-2, uno de los métodos más utilizados es la RT.PCR por su alto nivel de eficacia y confiabilidad en la detección de gen E del virus ya que no generan falsos positivos en el diagnóstico de la enfermedad y tienen una sensibilidad del 95% y especificidad del 100% catalogándose como una de las más seguras en la detección del diagnóstico clínico para COVID 19, uno de los factores principales encontrados que dificulta la detección del virus es la recolecta de la muestra, temperatura y ambiente antes de su análisis para detectar el virus de SARS-COV-2. Se concluye que La RT-PCR es una de las técnicas principalmente utilizadas por su eficacia y confiabilidad en la detección del gen E del virus SARS-COV-2 detectándolo en pacientes asintomáticos y no generar resultados falsos positivos en el diagnóstico de la enfermedad COVID 19.

Palabras claves: diagnóstico, virus, PCR, replicado, asintomáticos, enfermedad, gen.

Abstract

Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) is one of the most accurate and widely used laboratory methods for diagnosing coronavirus respiratory disease 2019. The aim of the investigation was to assess the polymerase chain reaction: variability in techniques and diagnostic method for COVID-19", through a qualitative, descriptive design of a systematic review through the collection of scientific data sources such as; Scielo, Pubmed, Scopus, Latindex, Web of science, , Science direct, Redalyc, scientific articles were used and the terms "PCR", "COVID-19" and "SARS-CoV-2" were used. Results of the variability of techniques in polymerase chain reaction were obtained where types such as RT-PCR, PDR-Ag, RT-qPCR, RT LAMP were found, which are diagnostic tests that have a reliability between 90 and 98.9%. In the detection of the SARS-COV-2 virus, one of the most used methods is RT.PCR due to its high level of efficiency and reliability in the detection of the E gene of the virus, since it does not generate false positives in the diagnosis of the disease. and they have a sensitivity of 95% and a specificity of 100%, being classified as one of the safest in the detection of the clinical diagnosis for COVID 19, one of the main factors found that hinders the detection of the virus is the collection of the sample, temperature and environment prior to testing for the SARS-COV-2 virus. It is concluded that RT-PCR is one of the techniques mainly used for its efficacy and reliability in the detection of the E gene of the SARS-COV-2 virus, detecting it in asymptomatic patients and not generating false positive results in the diagnosis of COVID 19 disease.

Keywords: diagnosis, virus, PCR, replicated, asymptomatic, disease, gene.

INTRODUCCIÓN

Reconocida como uno de los avances científicos más importantes del siglo XX, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una forma rápida y fácil de hacer copias ilimitadas de ácido desoxirribonucleico (ADN) a partir de una sola hebra. Se hacen millones de copias de ácido desoxirribonucleico (ADN) en unas pocas horas. El ácido desoxirribonucleico (ADN) replicado se puede utilizar de forma fiable en una variedad de pruebas para el diagnóstico y seguimiento de enfermedades, o para la investigación básica de biología molecular (A. Piccinini, 2021).

PCR fue galardonado con el Premio Nobel de Química en 1993. La evolución y revolución de la PCR. En 1983, el científico de Cetus Corporation, el Dr. Kary Mullis, inventó la PCR como un método para la replicación y síntesis de ácido desoxirribonucleico de grandes cantidades, durante los siguientes dos años, un equipo de científicos de Cetus, reconociendo el impacto de la PCR en la biología molecular, investigó, perfeccionó e hizo realidad el proceso teórico. Este grupo de investigación se presentó por primera vez en la reunión anual de la Sociedad Americana de Genética en 1985. Más tarde ese año, Science3, la revista de la Asociación Americana para el Avance de la Ciencia, publicó los resultados en la primera publicación del proceso (Luz Angélica Salazar Carranza, 2020).

Dos avances clave han convertido a la PCR en la tecnología que conocemos hoy. Taq polimerasa y termocirculador. En 1986, los científicos de Cetus aislaron la polimerasa Taq de *Thermus aquus*, una bacteria que se encuentra en las aguas termales. Taq polimerasa puede soportar altas temperaturas, eliminando la necesidad de intervención humana en el proceso de reacción, haciendo que el proceso sea más fácil y rápido. Sin enzimas termoestables como la polimerasa Taq, la PCR no se puede utilizar a gran escala porque el proceso es demasiado complicado. Antes de Taq, *E. coli*, una enzima que no puede resistir el calentamiento y enfriamiento rápidos en el segundo paso de la PCR. En la bacteria *Echerichia coli*, la polimerasa se degrada térmicamente, por lo que se reemplazó manualmente en cada paso de la reacción (Javier, 2020).

En 1987, PerkinElmer, otra empresa estadounidense de biotecnología. Estados Unidos fue pionero en el uso de circuladores térmicos, dispositivos programados para regular la temperatura de reacción para que las muestras puedan calentarse o enfriarse según sea necesario. Nuevamente, este avance minimizó la interacción humana en respuesta, lo que resultó en un proceso elegante, eficiente y optimizado (Coturruelo, Sanchez , & Aracil, 2019).

Dada la aparición de este nuevo virus y la pandemia sin precedentes en la era moderna, las pruebas de diagnóstico molecular se han convertido en herramientas esenciales para guiar la atención del paciente y pueden ayudar a administrar tratamientos o vacunas que salvan vidas para limitar la propagación del virus SARS-CoV-2. El diagnóstico de SARS-CoV-2 en el Laboratorio de Biología Molecular de Villa Clara (LBMVC) comenzó el 11 de marzo de

2020, utilizando muestras nasofaríngeas y reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR), actualmente la tecnología de referencia y la primera opción para la detección del virus SARS-CoV-2. En la detección en el laboratorio del virus SARS-CoV-2, se utiliza el gen E como prueba de primera línea, y para estudios confirmatorios se utiliza el gen RdRp (ARN dependiente de la polimerasa de ARN), que son los genes diana recomendados por la Organización Mundial de la Salud (María de L Sánchez Alvarez, 2020).

El beneficio de esta investigación realizada es importante, debido a la existencia de varios tipos de técnicas PCR que suelen confundirse a la interpretación de resultados para un diagnóstico médico mediante el método de RT-PCR, estas siglas se pueden traducir como Reacción de la Cadena de Polimerasa con Transcripción Reversa, las siglas RT al inicio se refiere específicamente a retro transcripción, se trata de una variante de la PCR en la que en vez de partir de una muestra de ADN que contiene la secuencia que se quiere amplificar se parte de una muestra de ARN, los principales usos del RT-PCR, puede utilizarse como método de detección molecular de genes para estudiar el genoma del virus de ARN como el virus de COVID-19 (Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias, 2021).

El propósito de la investigación tiene como objetivo evaluar la reacción en cadena de la polimerasa: variabilidad en técnicas y método diagnóstico para covid-19, basado en el método RT-PCR para conocer los tipos y diferencias de las técnicas utilizadas, ya que existe confusión por su interpretación de sus iniciales y traducciones al diagnosticar los médicos los resultados. se plantea la siguiente interrogante ¿Cuál es la variabilidad en técnicas y métodos diagnóstico en reacción de la cadena polimerasa para la detección del virus SARS-COV-2?, para dar respuesta a la interrogante se aplica el diseño de investigación cualitativo, de revisión sistemática mediante la revisión bibliográfica en buscadores científicos.

Variantes de PCR's

PCR Standard. 1993, tras la creación de un método para vigilar la cinética de la PCR en tiempo real. La reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanca es copiada fielmente. Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células (Mejía González, 2020).

PCR Anidada (Nested) Se trata de una variante de la PCR básica que utiliza dos pares de cebadores. En un primer paso, se realiza la amplificación de una región del genoma, para después concretar más la región mediante una segunda amplificación más específica. método rápido y efectivo que permite identificar la especie y permite su cuantificación. Esta PCR se utiliza para amplificar fragmentos muy específicos del genoma (Mejía González, 2020).

PCR Digital La PCR digital es una PCR de última generación con elevada sensibilidad y que permite determinar de manera directa la carga viral de SARS-CoV-2 en plasma (Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias, 2021).

Esta técnica que tiene como base la partición de la muestra que puede aumentar más la sensibilidad de la PCR clásica, que a su vez que puede realizar una cuantificación absoluta de los ácidos nucleicos que se encuentran en la muestra biológica (Jantus Lewintre, 2021).

PCR Múltiple (Multiplex) En este tipo de PCR se realizan amplificaciones simultáneas de más de un fragmento de ADN. Para ello, se utilizan varios cebadores diferentes en una misma reacción (Mejía González, 2020).

PCR con transcriptasa inversa (RT-PCR) A partir de muestra de ARN, se puede analizar material genético viral con proceso de transcripción inversa (Transcriptasa Reversa) Se crea una cADN y esta es que se amplifica con PCR (Diego Fonseca, 2020).

PCR en tiempo real (PCR cuantitativa) Q-RT-PCR La PCR en tiempo real es una modalidad del PCR de punto final, donde la acumulación de ADN amplificado es detectado y cuantificado a medida que la reacción avanza, es decir: “En tiempo real” esto se logra incorporando una molécula fluorescente que se asocia al ADN amplificado, donde el incremento de esta fluorescencia es la proporcional al incremento de la cantidad de moléculas de ADN amplificadas en la reacción (Herrera Díaz, 2021).

PCR in situ La hibridación in situ es una técnica de laboratorio que consiste en marcar una hebra sencilla de ARN o ADN denominada sonda y permitir que se empareje con su secuencia complementaria en el ARN o el ADN presente en una muestra de tejido o de cromosomas (National Human Genome Research Institute, 2021)

PCR específica de alelo Esta técnica de diagnóstico o clonación es usada para identificar o utilizar los polimorfismos de una sola base (SNPs). Utiliza cebadores específicos para las secuencias normal y mutante. El diseño más habitual es un análisis en dos tubos con dos cebadores: uno normal y otro mutante en reacciones separadas junto con los cebadores control (Tagu & Moussard, 2006).

PCR asimétrica Amplifica preferentemente una cadena del ADN original con respecto a la otra. Produce fragmentos de ADN de cadena simple al utilizar los cebadores Forward y Reverse a concentraciones molares distintas (relación 50/1 – 100/1). Se produce ADN de doble cadena en cantidad exponencial hasta que se agota el cebador minoritario, luego sólo se produce la cadena que hibrida con el cebador que se encuentra en exceso, produciéndose así ADN mono catenario (Sociedad Española de Genética, 2019).1

PCR inversa Retro transcripción requiere de la transcriptasa inversa para realizar la síntesis de ADN complementario a partir de ARN.

PCR convencional utiliza como molde la primera hebra de ADN complementario para generar moléculas de ADN de doble cadena (Sociedad Española de Genética, 2019).

PCR touchdown La PCR se divide en dos partes. Comienza con una temperatura de hibridación elevada que posteriormente disminuye hasta la temperatura de hibridación óptima (Sociedad Española de Genética, 2019).

Se emplea cuando:

- Se desconoce la secuencia exacta del fragmento a amplificar, de modo que se asume que puede existir alguna base desapareada en el alineamiento cebador-secuencia (Sociedad Española de Genética, 2019).
- Se trabaja con cebadores degenerados porque es difícil calcular la temperatura de hibridación óptima. Su finalidad es reducir la amplificación no específica bajando gradualmente la T^a de hibridación a lo largo del progreso de la PCR (Sociedad Española de Genética, 2019).

PCR de rango largo. Se denomina método cuando se trabaja con más de 4kb, son kits especiales optimizados para fragmentos grandes (Sociedad Española de Genética, 2019).

PCR de fidelidad alta. Basada en enzimas diferentes del ADN polimerasa, las cuales proveen actividad de remoción de bases incorporadas incorrectamente (Sociedad Española de Genética, 2019).

PCR de metilación específica. Para identificar patrones de metilación en islas CG - Muestra tratada y no tratada, dos pares de cebadores (Sociedad Española de Genética, 2019).

PCR hot-start La PCR de inicio en caliente es una forma modificada de reacción en cadena de la polimerasa convencional que reduce la presencia de productos no deseados y dímeros de cebadores debido a la amplificación no específica del ADN a temperatura ambiente (Thermo Fisher Scientific, 2021).

PCR tail. Para identificar los genes etiquetados por las trampas génicas se usó la técnica de PCR- tail, es usada para aislar una secuencia desconocida que flanquea una secuencia conocida (Trejo Saavedra, Rodríguez Negrete, Vielle Calzada, & Rivera Bustamante, 2015).

Material y métodos

La investigación realizada fue de diseño cualitativo, descriptivo mediante la revisión sistemática a través de la recopilación de varias fuentes de datos científicos con el fin de argumentar sobre el tema planteado.

Estrategias de búsqueda. Se indagó información dentro de las bases de datos como; Medline, Scielo, Pubmed, Scopus, Latindex, Cinhal, Web of science, Proquest, Springer, Science direct, Redalyc, se utilizaron artículos científicos y se emplearon palabras claves para seleccionar los artículos, se utilizaron los términos “PCR”, “COVID-19” y “SARS-CoV-2” y los operadores booleanos ‘AND’ y ‘OR’, además se empleó búsquedas y recuperación efectiva de información relacionadas al tema en estudio utilizando los Mesh, para la selección de los artículos de esta investigación se optó por permitir solo fuentes científicas realizadas en los últimos 5 años en idioma inglés y español.

Criterios de inclusión.

- Investigaciones científicas actuales desde el 2019 hasta el 2022.

- Artículos relacionados a variantes de los diferentes tipos de reacción de la cadena polimerasa.
- Publicaciones en idiomas inglés y español

Criterios de exclusión.

- Investigaciones científicas realizados antes del 2018
- Contenidos duplicados
- Blogs, resúmenes, tesis, congresos.

Manejo de la información.

Una vez recopilada todas las fuentes científicas se realizó un análisis de cada información obtenida y se seleccionaron aquellas que respondían a la pregunta planteada en el tema de estudio, acerca de cuál es la variabilidad en técnicas y métodos diagnóstico en reacción de la cadena polimerasa para la detección del virus SARS-COV-2

Consideraciones éticas. La investigación realizada cumple con los acuerdos de ética en investigación y manejo de información confidencial, a partir de la resolución 8430 de 1993, esta investigación es considerada sin riesgos y garantiza transparencia, además de acuerdo a la ley 23 de 1983 se respetan los derechos de autor realizado una correcta referencia de información y de los autores de acuerdo a las normas Vancouver, además se verificó que los artículos seleccionados cumplieran con los principios éticos garantizando que los estudios presentados en este trabajo fueron realizados bajo las consideraciones éticas que implicaron muestras humanas, estas normas tienen como fin el derecho de autoría de todas las investigaciones médicas preexistentes (Normas Vancouver, s.f.).

Resultados.

Autor/es	País	Año de estudio	Tipos de Técnicas	Variabilidad
Referencia				
González V, Arias M y col (González Vergara, y otros, 2020)	México	2020	RT-PCR	Detección proteína E, leve moderada y alta.
Organización Mundial de la Salud (Organización Mundial d la Salud, 2020)	España	2020	PDR-Ag	Reduce las demoras en el diagnóstico
Salazar A y Col (Salazar	Ecuador	2020	PCR con transcriptasa inversa	Muestra una confiabilidad vírica del 90%

Carranza, Maldonado Santacruz, & Cruz Villegas, 2020)					
Sánchez Hernández, Cardona y col (Sánchez Hernández, Cardona Gordo, Ferrer Castro, Pérez Fouces, & Despaigne Bicet, 2020)	Cuba	2020	PCR- RT	Detecto en pacientes positivos asintomáticos al 60%	
Vásquez y col (Vásquez Rodríguez, Guadrón Meléndez, & Cruz Aguila, 2020)	El Salvador	2020	RT-PCR	Tiene un 95% de confianza QIAGEN® -DSP Viral RNA	
Matta M y col. (Matta, Delgado-Sánchez., & Blanco, 2021)	España	2021	PCR en tiempo real RT-PCR	Detecta el 95% de asintomáticos, no generan falsos positivos	
Escalante, Maldonado y col (Escalante-Maldonado, y otros, 2021)	Perú	2021	Prueba molecular RT-LAMP	En laboratorio obtuvo un K= 0,88 - IC 95%	
Ochoa, Díaz, Mendoza y col (Díaz , Mendoza , Zarate , & Casillas , 2021)	México	2021	RT-Qpcr	Sensibilidad y especificidad 90% -IC 95%	
Sagredo, Morales y col. (Sagredo , Morales , & Saavedra , 2022)	Chile	2021	RT-Qpcr	Muestras nasofaríngeas y salival registro una tasa IC 97,5%	
Hurtado, Díaz, Escorcía y col	Colombia	2022	RT-Qpcr RT LAMP	$\kappa = 0.85-1.00$ $\kappa = 0.65-0.92$	

(Hurtado, y otros, 2022)

Sahu (Sahu, Gupta, Rawat, & Das, 2022)	India	2022	RT-PCR-RAT	$\kappa = 0,646$ -IC 95 %
--	-------	------	------------	---------------------------

Tabla 1. Variabilidad de técnicas en reacción cadena de la polimerasa.

Interpretación Dentro de la variabilidad de las diferentes técnicas en reacción de la cadena polimerasa a través de estudios científicos encontramos tipos como RT-PCR, RAT, RT-qPCR que tienen una confiabilidad de detección del virus SARS-COV-2 de entre 97% Y 98.9%, mientras que, la técnica de detección RT-LAMP muestra un nivel de confianza del 90%, por lo cual podemos evidenciar que una de las más utilizadas principalmente es la RT.PCR por su alto nivel de eficacia y confiabilidad en la detección de gen E del virus y además es un método que no generan falsos positivos en el diagnóstico de la enfermedad coronavirus- 2019.

Tabla 2. Sensibilidad y especificidad de las diferentes técnicas de reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico de COVID-19.

Autor/es Referencia	País	Año de estudio	Variabilidad de técnicas	Sensibilidad	Especificidad
González V, Arias M y col. (González Vergara, y otros, 2020)	México	2020	RT- PCR	70-97%	100%
Organización Mundial de la Salud (Organización Mundial d la Salud, 2020).	EE.UU.	2020	PDR-Ag	0-94%	97%
Salazar A y col (Salazar Carranza, Maldonado Santacruz, & Cruz Villegas, 2020)	Ecuador	2020	RT-PCR	96%	100%
	Colombia	2020	Pruebas rápidas de	67%	100%

Díaz Pizón E (Díaz Pinzón, 2021)				detección de antígenos.		
Ramírez, Aguilar y col. (Ramírez, y otros, 2020)	China	2020		RT-PCR	61.1 – 99%	100%
Sánchez Hernández, Cardona y col (Sánchez Hernández, Cardona Gordo, Ferrer Castro, Pérez Fouces, & Despaigne Bicet, 2020)	Cuba	2020		RT-PCR	60.5%	60.5%
Vásquez y col (Vásquez Rodríguez, Guadrón Meléndez, & Cruz Aguila, 2020).	El salvador	2020		RT.PCR	95%	100%
Jiang M, Pan W, Arasthfer A y col (Jiang , y otros, 2020)	China	2020		RT-LAMP	91.5%	99.5%
Matta M y col. (Matta, Delgado- Sánchez., & Blanco, 2021)	España	2021		RT-PCR	95%	100%
Escalante, Maldonado y col (Escalante- Maldonado, y otros, 2021).	Perú	2021		Prueba molecular RT- LAMP	87.4%- 100%	98.8%

Zurita Salinas y col (Zurita Salinas, y otros, 2021).	Ecuador	2021	qRT-PCR	57.9% - 96%	100%
Ochoa, Díaz, Mendoza y col (Díaz, Mendoza, Zarate, & Casillas, 2021)	México	2021	RT-qPCR	90%	90%
Sagredo, Morales y col. (Sagredo, Morales, & Saavedra, 2022)	Chile	2021	RT-qPCR	84.2%	98.9%
Hurtado, Díaz, Escorcia y col (Hurtado, y otros, 2022)	Colombia	2022	RT-LAMP	97%	81 %

Interpretación. La tabla 2 muestra un análisis de la sensibilidad y especificidad de la variabilidad de técnicas diagnósticas de la reacción en cadena de la polimerasa como la RT - PCR con una sensibilidad del 95% y una especificidad del 100% catalogándose como una las más confiables para la detección del virus SARS-COV-2 en pacientes sintomáticos como asintomático.

Tabla3. Factores que dificultan el diagnóstico de COVID-19 por métodos de reacciones en cadena de la polimerasa (PCR).

Autor/es Referencia	País	Año de estudio	Variabilidad de técnicas	Factores
Jong-II Kim, Jeesoo Chau y col (Chae, y otros, 2020)	China	2020	RT- PCR	Errores en el muestreo variaciones individuales en la carga viral
Escalante, Maldonado y col (Escalante-Maldonado, y otros, 2021).	Perú	2020	RT-LAMP	Ambiente, temperatura, manipulación y análisis de la muestra.

Valencia Portillo y col (Valencia Portillo, Amorín, Gonzales , Juscamaita, & Gonzales , 2020)		2020	PDR-Ag	Fuera de sus indicaciones podría aumentar los resultados falsamente positivos.
				Carga viral
Zurita Salinas y col (Zurita Salinas, y otros, 2021).	Ecuador	2020	qRT-PCR	
Jiang M, Pan W, Arasthfer A y col (Jiang , y otros, 2020)	China	2020	RT-LAMP	No se incubó la muestra por 60 minutos a 63°C.
Sánchez Hernández, Cardona y col	Cuba	2020	RT-PCR	Selección inapropiada de muestras clínicas
Ochoa, Díaz, Mendoza y col (Díaz , Mendoza , Zarate , & Casillas , 2021)	México	2021	qRT-PCR	Variación del tipo muestra y los resultados falso positivos.
Sagredo, Morales y col. (Sagredo , Morales , & Saavedra , 2022)	Chile	2022	qRT-PCR	La influencia en el momento que la muestra ha sido recolectada

Interpretación. Los factores que dificultan el diagnóstico de COVID 19 mediante los diferentes métodos de la reacción en cadena de la polimerasa se encontraron errores en el muestreo, el ambiente, temperatura, la carga viral, las variaciones de la muestra. La influencia de la muestra cuando ha sido recolectada aumenta los resultados de falsos positivos en la detección del virus SARS-COV-2.

Discusión

El presente trabajo realizado por revisión bibliográfica está relacionada a un análisis de otros estudios para describir la reacción de la cadena de la polimerasa, variabilidad en técnica y métodos diagnósticos. En esta investigación al describir la variabilidad de las diferentes técnicas en reacción cadena de la polimerasa encontramos como el método principal utilizado por su alta confiabilidad y eficacia en la detección del gen E del virus SARS-COV-2 y no generar falsos positivos en el diagnóstico de la enfermedad del COVID19, estudios realizados por Salazar A y col (Salazar Carranza, Maldonado Santacruz, & Cruz Villegas, 2020) en el año 2020 menciona al método de PCR como principal elección como prueba diagnóstica para el COVID-19 detectando la presencia de material genético específico del SARS-COV-2, siendo la recomendada por expertos del todo el mundo, mientras que en investigaciones realizadas por Ochoa, Díaz, Mendoza y col (Díaz , Mendoza , Zarate , & Casillas , 2021) en el año 2021 donde menciona que el método de referencia más utilizado ha sido RT-qPCR por ser un método fiable y seguro en la detección de partículas virales de SARS-COV-2 pero que también se pueden encontrar afectadas por las condiciones de realización, así como por el estado de la infección en la que se encuentre la persona a la que se le realiza la prueba.

Con el objetivo de analizar la sensibilidad y especificidad de los diferentes tipos de reacción en cadena de la polimerasa se encontraron que la RT-PCR (reacción de la cadena la polimerasa con transcriptasa inversa) que tiene una sensibilidad 95% y una especificidad del 100% para la detección del virus en pacientes asintomáticos siendo importantes por su alta confiabilidad en su sensibilidad y especificidad en casos confirmatorios en el diagnóstico de la enfermedad COVID-19. Según estudios realizados por Ramírez Aguilar y col (Ramírez, y otros, 2020) en el año 2020 donde mencionan que la prueba de RT-PCR tiene una sensibilidad de un 99% y una especificidad del 100% sin embargo, se ve influida por la variabilidad de la carga viral de los pacientes asintomáticos o levemente sintomáticos. Otro de los estudios realizado por Jiang y col (Jiang , y otros, 2020) en año 2020 con el tema amplificación isotérmica mediada por bucle de transcriptasa inversa (RT-LAMP) de un solo paso que podría usarse para la detección confiable y de alto rendimiento de la enfermedad COVID-19 donde menciona que la prueba molecular RT LAMP tiene una sensibilidad 92% y una especificidad de un 99%.

Es necesario destacar que la variabilidad de las técnicas y métodos diagnósticos tienen como uno de los principales factores que dificultan es la influencia de la muestra cuando ha sido recolectada aumentando los resultados de falsos positivos en la detección del virus SARS-COV-2. De acuerdo estudios realizado por Jong-II y col (Chae , y otros, 2020) en el año 2020 donde mencionan que uno de los principales factores que dificultan en la detección son: los errores de muestreo, selección inapropiada de muestra clínicas o las variaciones individuales de carga viral. Otro de los estudios realizados por Escalante y col (Escalante-Maldonado, y otros, 2021) mencionan que influyen factores como: no incubar la muestras por 60 minutos

a 63° C, las condiciones ambientales, la mal manipulación y análisis de las muestras, estos son factores que dificultan la detección del virus.

Conclusión

La RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa) es una de las técnicas principalmente utilizadas por su eficacia y confiabilidad en la detección del gen E del virus SARS-COV-2 detectándolo especialmente en casos de pacientes asintomáticos y no generar resultados falsos positivos en el diagnóstico de la enfermedad la COVID 19. La sensibilidad y especificidad de las variantes de la reacción en cadena polimerasa son muy altas, pero RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa) tiene una especificidad y sensibilidad destacable catalogándose como una las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa más sugerida en laboratorios de diagnóstico clínico, cabe mencionar que la detección del virus también dependerá de la carga viral del paciente, uno de los factores identificados es la influencia de la pre analítica desde que ha sido recolectada la muestra, en qué ambiente y temperatura la conservan hasta su procesamiento, todos estos factores conllevan a resultados falsos positivos en el diagnóstico de la enfermedad COVID 19, se recomienda disminuir el tiempo de respuesta de resultados en la detección del virus SARS-COV 2 y seguir catalogándose la RT-PCR como una de las técnicas más alta en confiabilidad y eficacia como una de las pruebas gold para el diagnóstico de la enfermedad de coronavirus-19 (COVID-19) mejorando la sensibilidad y especificidad en un 100% para la detección del virus en paciente especialmente asintomáticos.

Referencias bibliográficas

- Herrera Díaz, J. (2021). *PCR en tiempo real*. Recuperado el 12 de Enero de 2022, de Facultad de Química Universidad Autónoma de México :
<https://quimica.unam.mx/investigacion/servicios-para-la-investigacion/usaii/pcr-en-tiempo-real/>
- A. Piccinini, G. G. (9 de 2021). La prueba del DNA. *IRIS Institutional Research Information System*, 5(1). doi:<http://hdl.handle.net/2434/835440>
- Accinelli, R., Zhang, C., Ju, J., & Yachachin, J. (07 de 2020). COVID-19: la pandemia por el nuevo virus SARS-CoV-2. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 37(2).
doi:<https://doi.org/10.17843/rpmpesp.2020.372.5411>
- Aldaba, J. (JULIO AGOSTO de 2021). *CAUSAS ASOCIADAS AL INCUMPLIMIENTO DEL USO DE EQUIPOS DE PROTECCION PERSONAL FRENTE AL COVID 19*. Obtenido de file:///C:/Users/LENOVO/Downloads/TESIS.pdf
- Alvarez, Zaira Elizabeth Rodriguez. (2022). *Impacto psicosocial, mental y laboral en el personal quirurgico por SARS CoV2 del Centenario hospital Miguel Hidalgo*. Recuperado el 3 de agosto de 2022, de Universidad Autónoma de Aguas calientes :



<http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/2246/456548.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Arias , D., Cueto, O., & Rivera , J. (2020). Un breve análisis de la mortalidad del Covid-19 en países de América Latina. *Boletín Innovación, Logística y Operaciones*, 1- 7. Obtenido de <https://revistascientificas.cuc.edu.co/bilo/article/view/3193>
- Bedoya, M., Medina, J., Chau, A., Li, R., Vera, A., & Garcia, P. (2021). Variantes del SARS-CoV-2: epidemiología, fisiopatología y la importancia de las vacunas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 38(3). doi:<http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2021.383.8734>
- Borbor Dominguez Álvaro Ariel, M. T. (Junio de 2022). *Universidad de Guayaquil*. Recuperado el Agosto de 2022, de Repositorio Universidad de Guayaquil : <http://repositorio.uq.edu.ec/>
- CDC. (2022). *Clasificaciones y definiciones de las variantes del SARS-CoV-2*. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. España: CDC-INFO.
- Centers for disease Control and prevention CDC. (13 de Diciembre de 2021). *Directrices provisionales de bioseguridad de laboratorio para el manejo y procesamiento de muestras asociadas con la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19)*. Obtenido de <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>
- Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias. (29 de enero de 2021). La PCR 'estándar' para diagnóstico de infección por SARS-CoV-2 en muestras respiratorias también es útil para detectar ARN del virus en plasma. *European Journal of clinical investigation* . doi:<https://doi.org/10.1111/eci.13501>
- Centros para el control y prevención de enfermedades (CDC). (2021). Acerca del Covid 19. Obtenido de <https://espanol.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/your-health/about-covid-19.html>
- Chae , J., Kim, J., Park , S., Chong Kim, E., Sang Oh , H., Jum Kim, E., & Hee Na, S. (Septiembre de 2020). Viral Load Kinetics of MERS Coronavirus Infection. *The New England Journal of Medicine* , 375(1303-1305). doi:DOI: 10.1056/NEJMc1511695
- Coturruelo, J., Sanchez , F., & Aracil, C. (2019). *Sistema electrónico de control de líquidos en recirculación para aplicaciones Lab on a Chip*. Recuperado el 12 de Enero de 2023, de Deposito de investigacion universidad de Sevilla : <https://hdl.handle.net/11441/90999>
- Díaz , Mendoza , D., Zarate , S., & Casillas , N. (Mayo - Junio de 2021). Metaanálisis de pruebas diagnósticas para la detección de covid 19. *Revista médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 59(3). Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457768119003>
- Díaz Pinzón, J. (2021). Correlación entre las pruebas PCR y Antígeno y el contagio por COVID-19 en Colombia. *Repertorio de Medicina y Cirugía*, 30(3). doi:<https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.01217372.1207>
- Diego Fonseca, e. a. (Diciembre de 2020). Comparación de la Muestra Salival y de Nasofaringe en la Detección de SARS-CoV-2 mediante RT-PCR. *SciELO Chile International journal of odontostomatology*, 4(4), 2. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2020000400540>
- Escalante-Maldonado, O., Vidal-Anzardo, M., Donaires, F., Solis-Sanchez, G., Galles, I., Pampa-Espinoza, L., . . . Durães-Carvalho, R. (Marzo de 2021). Estandarización y validación de una prueba molecular RT-LAMP in house para el diagnóstico de SARS-CoV-2. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 38(1), 7-16. doi:<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.7154> .
- Exposito, A., Feeria, G., Gonzalez, S., & Miguel, P. (08 de Diciembre de 2021). Variantes genéticas del SARS-CoV-2 y sus implicaciones clínicas. *Medisan*, 25(6). Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192021000601424

- Fondecyt – CONICYT . (2018). *Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados-Fondecyt-CONICYT*. Obtenido de <https://www.conicyt.cl/pia/files/2019/10/MANUAL-DE-NORMAS-DE-BIOSEGURIDAD.pdf>
- González Vergara, C., Arias Marin, R., Villalón de la Rosa, J., Delgado Nava, M., Saucedo Moreno, E., Rodríguez Ortíz, C., & Guerrero Enciso, D. (2020). Correlación de carga viral con prueba RT-PCR en infección por SARS-CoV-2 y hallazgos en tomografía computarizada de tórax. *Acta Médica Grupo Angeles*, 18(4), 382-389. doi:10.35366/97264
- Hurtado, L., Escorcía, K., Floréz, L., Bello, Y., Díaz, Y., & Navarro, E. (septiembre de 2022). Validación clínica de la prueba RT-LAMP para el diagnóstico rápido del SARS-CoV-2. *Biomedica Revista del Instituto Nacional de Salud*, 42(2). doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.6523>
- Itapa, Gomez, Lopez, Agiar, & Tavares. (2018). Medidas para la adhesión a las recomendaciones de bioseguridad para el equipo de enfermería. *Revista Enfermería Global*. Obtenido de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-
- Jantus Lewintre, E. (14 de Enero de 2021). *PCR Digital*. doi:<http://hdl.handle.net/10251/166462>
- Javier, G. S. (9 de 2020). Diseño, fabricación y testado de un sistema electrónico integrado portátil para la realización de PCR. *Deposito de Investigación Universidad de Sevilla*, 11(10). Obtenido de <https://hdl.handle.net/11441/105693>
- Jiang, M., Pan, W., Fang, W., Ling, L., Arasther, A., & Fang, H. (2020). Desarrollo y validación de un sistema rápido de amplificación isotérmica mediada por bucle de transcriptasa inversa (RT-LAMP) de un solo paso que podría usarse para la detección confiable y de alto rendimiento de COVID-19. *Front Cell Infect Microbiol.*, 10(331). doi:10.3389/fcimb.2020.00331.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no existe conflicto de interés posible.

Financiamiento:

No existió asistencia financiera de partes externas al presente artículo.

Agradecimiento:

N/A

Nota:

El artículo no es producto de una publicación anterior, tesis, proyecto, etc.