

**Medicent Electrón. 2020 oct.-dic.;24(4)**

Editorial

Aproximación a la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

Approaching to the real-time polymerase chain reaction technique

María de L. Sánchez Álvarez^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-3481-7564>

Hilda D. Roque de Escobar Martín¹ <https://orcid.org/0000-0002-6635-6726>

Norma Delgado Cura¹ <https://orcid.org/0000-0002-7963-3577>

¹Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Santa Clara, Villa Clara. Cuba.

* Autor para la correspondencia: Correo electrónico: mlourdessa@infomed.sld.cu

Recibido: 27/06/2020

Aprobado: 1/09/2020

En la lucha contra las enfermedades infecciosas se ha hecho necesaria la optimización de la especificidad, sensibilidad y rapidez de las técnicas de diagnóstico tradicional. Con el auge de investigaciones a nivel molecular y la necesidad de diagnósticos oportunos y eficaces, han surgido técnicas de laboratorio con fundamento en la Biología molecular (BM) aplicadas en programas de prevención, control, tratamiento⁽¹⁾ y detección de agentes infecciosos.^(1,2)

715



La BM es una disciplina de la Bioquímica que estudia, entre otras materias: las moléculas de ácidos nucleicos, el ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN).⁽³⁾ Las técnicas moleculares también permiten el estudio de genoma completo o secuencias específicas de ADN con el fin de detectar y analizar secuencias de interés para la investigación en el diagnóstico clínico.⁽¹⁾

Con la descripción hecha por Watson y Crick en el año 1953, de la estructura de doble hebra del ADN, se produjo una creciente acumulación de descubrimientos en ese campo, que ofrecen las herramientas necesarias para estudiar agentes infecciosos a nivel molecular.⁽³⁾ En 1960, Kronberg aisló y purificó la enzima responsable de la replicación del ADN: la ADN polimerasa. Este descubrimiento es la base para todos los métodos de síntesis de ADN *in vitro*, como la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real PCR (del inglés *polymerase chain reaction*),⁽³⁾ considerada como una revolución dentro de la BM, ya que con la amplificación exponencial del fragmento elegido es posible el análisis de moléculas de ADN o ARN.⁽³⁾ Este ejemplo del principio básico de la PCR no recibió mucha atención en su momento. La invención de la PCR es generalmente atribuida a Kary Mulli quien en 1983 ganó el Premio Nobel.⁽⁴⁾

La PCR es una técnica de BM que permite generar grandes cantidades de un determinado fragmento de material genético amplificado (ADN o ARN), a partir de cantidades mínimas.^(1,5)

La idea básica de esta técnica es que al sintetizar muchas veces un fragmento de ADN, resulta más fácil identificar con muy alta especificidad, fidelidad y rendimiento:⁽¹⁾ los virus,⁽⁶⁾ las bacterias⁽⁴⁾ o los parásitos⁽⁷⁾ causantes de una enfermedad. Es ventajoso pues es suficiente una mínima cantidad de muestra⁽⁴⁾ y no es necesaria la presencia de un microorganismo viable en la muestra, solo su material genético.⁽⁵⁾

Los largos períodos de crecimiento, las condiciones de cultivo y la obtención de una muestra adecuada, son los factores que más afectan el diagnóstico microbiológico tradicional. Los altos valores de sensibilidad, de especificidad de las técnicas de diagnóstico molecular, junto con la rapidez en la obtención de los



resultados, las han transformado en las técnicas de elección y en muchos casos se consideran los estándares de oro (*gold standard*) para el diagnóstico de enfermedades infecciosas.^(2,5,8)

Hasta el primer semestre del año 2018, el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR), del Instituto de Medicina Tropical «Pedro Kouri», asumía el diagnóstico de BM del país. En junio de 2018, fue creado el Laboratorio de Biología Molecular (LBM) del Centro Provincial de Higiene Epidemiología y Microbiología (CPHEM) de Villa Clara, con la tecnología de extracción automatizada de ácidos nucleídos, combinada con la detección y amplificación simultánea mediante PCR en tiempo real (RT-PCR), lo que acorta el tiempo de espera de los resultados por la rapidez de la técnica y por no tener que enviar las muestras al LNR.

Todo lo anterior transformó al CPHEM en un centro con tecnología avanzada. La provincia se benefició al disponer de un diagnóstico rápido, pues el resultado de la RT-PCR se obtiene solo en horas. Los resultados se caracterizan por: su confiabilidad, robustez, especificidad, sensibilidad en la detección molecular de enfermedades virales, bacterianas y parasitarias de difícil diagnóstico por la microbiología convencional.

En el LBM de Villa Clara se puede realizar la detección molecular de: toxoplasma, zika, virus sincitial respiratorio, influenza A, influenza B, virus herpes simple, citomegalovirus, y de Infecciones de Transmisión Sexual (ITS) múltiples como: *clamydias trachomatis*, *micoplasma genitalium*, *neisseiria gonorrhoeae*, *trichomonas vaginalis*. El diagnóstico convencional de las ITS solo permite determinar un patógeno a la vez, y no realiza una determinación completa de los microorganismos causantes de estas infecciones. El uso de los métodos moleculares múltiples constituye una herramienta de investigación oportuna que se ajusta a la realidad actual.^(9,10) Lo más importante es que ya el laboratorio cuenta con el equipamiento necesario; a medida que se adquieran diagnosticadores para otros agentes infecciosos, las posibilidades de diagnóstico serán considerables.



Con la emisión de resultados del LBM del CPHEM, se ha constatado que la comunidad médica que recibe dichos servicios desconoce que la determinación de un agente causal por RT-PCR no requiere de una posterior confirmación del agente etiológico informado. Las metodologías basadas en determinación de ADN son específicas y sensibles⁽⁶⁾ por lo que los resultados informados son altamente confiables.

Las autoras proporcionaron una aproximación teórica acerca de los beneficios de la RT-PCR para que el personal médico conozca sobre esta técnica implementada recientemente en la provincia de Villa Clara.

Entre los amplios beneficios se puede destacar que la población recibe un servicio de excelencia, debido al empleo de técnicas con altos estándares de calidad que proporcionan al equipo clínico una información confiable para el tratamiento de los pacientes. El diagnóstico por RT-PCR se brinda hasta el consultorio del médico de la familia, lo cual permite un tratamiento oportuno al paciente por la rápida notificación del diagnóstico al médico, y disminuye la transmisión.

La RT-PCR es un componente clave para la vigilancia clínica – epidemiológica;⁽⁶⁾ la prontitud de los resultados acorta la estadía hospitalaria, brinda la posibilidad de disminuir el uso innecesario de antibióticos por lo que favorece la disminución de la resistencia bacteriana, es útil para la vigilancia epidemiológica, lo que permite accionar de forma proactiva ante el control de brotes estacionales, y en el enfrentamiento a epidemias.^(2,5)

Una de las limitaciones del diagnóstico molecular es el costo de los *test* utilizados, pues estos generalmente superan los valores de los ensayos utilizados en la clínica para el mismo propósito.⁽⁵⁾

Por otra parte, es importante informar y educar al personal médico y a los futuros profesionales de salud sobre este tipo de técnicas, implementadas recientemente en la provincia. Se impone destacar sus ventajas y limitaciones para fomentar el desarrollo de equipos multidisciplinarios que puedan utilizar e interpretar estas herramientas diagnósticas. Conocer de estos avances tecnológicos y sus diferentes usos, exige actualizaciones conceptuales y operacionales en los nuevos



escenarios de salud hospitalaria y comunitaria, que hasta el momento solo tenía disponible la microbiología convencional. Todas las especialidades médicas que hacen uso del LBM del CPHEM en Villa Clara, son bienvenidos en estas instalaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Angarita Merchán M, Torres Caicedo MI, Díaz Torres AK. Técnicas de Biología Molecular en el desarrollo de la investigación. Revisión de la literatura. Rev Haban Cienc Méd [internet]. 2017 [citado 6 dic. 2018];16(5):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/1651>
2. Marcos P, Huaranga M, Rojas N, Gutiérrez V, Ruiton S, Gallardo E, *et al.* Detección de virus influenza A, B y subtipos A (H1N1) pdm09, A (H3N2) por múltiple RT-PCR en muestras clínicas. Rev Peru Med Exp Salud Pública [internet]. 2017 [citado 6 dic. 2018];34(2):[aprox. 9 p.]. Disponible en: https://www.scielosp.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/rpmesp/v34n2/1726-4642-rpmesp-34-02-00192.pdf
3. Gómez de la Torre Pretell JC, Roe Battistini C, Roe Battistini E. Diagnóstico molecular de enfermedades infecciosas. Lima, Perú: Solvima Graf Sac; oct. 2016.
4. Castro AM. Diagnóstico microbiológico de las enfermedades infecciosas. En: Bacteriología médica basada en problemas. 2.^a ed. [internet]. México: El Manual Moderno; jun. 2014 [citado 13 dic. 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/263543251_Diagnostico_microbiologico_de_las_enfermedades_infecciosas
5. Farfán MJ. Biología molecular aplicada al diagnóstico clínico. Rev Méd Clín Las Condes. 2015;26(6):788-93.
6. Acosta Herrera B, Piñón Ramos A, Valdés Ramírez O, Arencibia A, Savón Valdés C, Oropeza S, *et al.* Una década de progresos en la vigilancia de laboratorio de los virus influenza en Cuba. Rev Cubana Med Tropical [internet].



2017 [citado 6 dic. 2018];69(3):[aprox. 16 p.]. Disponible en:
<http://www.revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/article/view/276/178>

7. Robert-Gangneux F, Brenier-Pinchart MP, Yera H, Belaz S, Varlet-Marie E, Bastien P. Evaluation of Toxoplasma ELITE MGB Real-Time PCR Assay for Diagnosis of Toxoplasmosis. J Clin Microbiol. 2017 May;55(5):1369-76.

8. Sedano SA, Pinto CE, Siuce MJ, Calle ES. Estandarización de una técnica de PCR en tiempo real con sondas TaqMan para la detección de leptospira spp patógenas en orina de canes domésticos. Rev Invest Vet Perú [internet]. 2016 [citado 6 dic. 2018];27(1):[aprox. 11 p.]. Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172016000100017&script=sci_abstract

9. Romero Viamonte K, Ulloa Castro A. Técnica de PCR-multiplex como método diagnóstico de infecciones de transmisión sexual. Rev Cubana Ginecol Obstet [internet]. 2016 [citado 6 dic. 2018];42(4):[aprox. 10 p.]. Disponible en:

<http://www.revginecobstetricia.sld.cu/index.php/gin/article/view/124/102>

10. López-Hurtado M, García-Romero S, Escobedo-Guerra MR, Bustos-López D, Guerra-Infante FM. Prevalencia de la infección genital por *Chlamydia trachomatis* en mujeres que asisten al Instituto Nacional de Perinatología de la Ciudad de México. Rev Chil Infectol [internet]. ago. 2018 [citado 27 mayo 2019];35(4):[aprox. 6 p.]. Disponible en:

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182018000400371&lng=es

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

