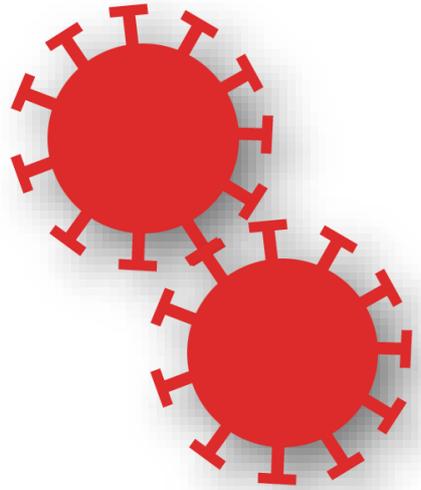


¿Qué es una PCR?

Greatest hits de la infección vol.2

Juan C . Ramirez
Virólogo/Biotecnólogo



¿Y qué pasa con las famosas **Reacciones en Cadena de la Polimerasa** o **PCR**, del inglés *Polimerasa Chain Reaction*? Se ha colado en nuestro vocabulario y parece que todos estamos familiarizados con la técnica y sus entresijos. Y me temo que no es así: es como si a un conductor de vehículos le preguntaran por la composición de la gasolina de su coche. Por tanto, me permito dar algunos breves datos sobre estas pruebas. ¿Qué narices es la PCR?

Esta técnica, por la que su inventor **Kary Mullis** (1944-2019) recibió el [premio Nobel en 1993](#) sirve entre otras cosas, para detectar y cuantificar las moléculas de los llamados **ácidos nucleicos**, la base química de los genes, el ADN. El genoma, el conjunto de todos los genes de todos los seres que conocemos, está hecho de ADN, bueno casi. En otras palabras, la PCR detecta y cuenta la materia de la que están hechas las instrucciones que nos hace ser lo que somos nosotros, un pino, las levaduras, las bacterias o los níscales, y también los virus. Bueno de algunos de ellos. Éstos son excepcionales en todo, también en sus genomas: son los **únicos** seres conocidos de este planeta en los que encontramos genomas hechos de ARN, un primo del ADN del que sólo se diferencia en una minucia molecular pero que representa una revolución en la genética. Así, el virus del catarro, de la polio, de la gripe, de las paperas, del sarampión... se encuentran entre estas singularidades biológicas con genes hechos de ARN. Los coronavirus también. Y el SARS-CoV19 por supuesto. Esto importa mucho para la virología, la clínica y la evolución de las enfermedades. Para el diagnóstico casi nos da igual que sea ARN o ADN: la PCR ayudada por otros detalles de la cocina de la ingeniería genética también lo detecta. La PCR es un preciso detector y cuantificador de ambos. Si no ¡que justificaría dar esta chapa introductoria!

La PCR es la técnica que vino para quedarse por sus infinitas posibilidades de uso: para identificar al malo de una serie televisiva, o si J.I. es padre o no de uno de los cientos de hijos que tiene por el mundo, o saber más sobre quienes vivieron en cavernas hace 100.000 años. Es una poderosísima herramienta para crear millones de copias de ADN

idénticas partiendo de muestras en las que sea muy escaso. La PCR funcionalmente es una reacción bioquímica cansina de una proteína, una letanía que repite **n** veces una reacción que es la sucesión de tres: **unir-copiar-desunir** mediante cambios de temperatura cíclicos de 50°C-60°C-90°C sin casi perder actividad (recuerda su nombre: reacción de la polimerasa en **cadena**). Es tan eficaz que, en cada ciclo, duplica la cantidad de moléculas de ADN existente en el ciclo anterior. Si partes de 2 moléculas, en 20 ciclos tienes 1.000.000 y en 30, la friolera de 1000 millones de moléculas. Y lo mejor cada ciclo lleva apenas 1-2 minutos. ¡Ya me gustaría inventar una PCR de euros y repartir dividendos por doquier! Al grano. La PCR convierte las trazas de ácido nucleico, de genes, en una suerte de abundancia con la que poder trabajar en un laboratorio: los métodos analíticos y de ingeniería genética, no son tan sensibles como quisiéramos, pero la PCR minimiza, cuando no elimina, estas limitaciones. Desde hace mas de 30 años ha revolucionado la cocina del laboratorio como hizo en su día la cerámica en cocina de nuestros antepasados de las cavernas. Normalizar su uso no es sinónimo de olvidar su poder. Por ultimo, la versión llamada **PCR cuantitativa (qPCR)**, desarrollada casi con el cambio de siglo es de la que estos días se habla en la fila del pan. Es la que importa aquí en el diagnóstico, por la **rapidez** indicada, por la elevadísima **especificidad** y la **sensibilidad** casi sin comparación.

Siendo rápida la reacción en sí, requiere del tratamiento de las muestras que nos sacan con un hisopo, o de una biopsia, y de unas instalaciones adecuadas. Además, se necesitan las máquinas, los “hornos” donde se hace la reacción. Para optimizar recursos a diferencia de un test rápido de anticuerpos tipo-Predictor[®] se han de agrupar de varios pacientes para lanzar un ensayo (bien 90 o 350 muestras a la vez aproximadamente), meterlas a la vez en el “horno”. Preparar estas muestras es lo que hacen esos robots que de repente se presentaron en la tele, traídos de China...como una salvación al cuello de botella de los test diagnósticos. Lo dejo para la parte de opinión que no toca aquí. En todo caso, estas máquinas alivian y trabajan sin errores en la preparación de las muestras y su organización para llevar al cocinado. La magia del sistema de la PCR es que entre los ingredientes para la reacción añadimos uno secreto, es broma, que permite detectar lo que queramos, y casi sólo eso. De ahí su **especificidad**. Incluso según se realice, ¡permite detectar simultáneamente varios virus y todos con una sensibilidad muy parecida!! Es decir, la técnica de las pruebas PCR podría decir no sólo si tienes SARS-CoV19 sino también si tienes otros coronavirus, gripe, etc. Basta hacer otro diseño un poquito mas complicado que no es pertinente en el momento diagnóstico que nos pre-ocupa.

¿Qué medimos entonces en esta PCR? La PCR mide partículas virales –completas o parcialmente deficientes- **que contienen genoma**. En realidad, sólo da cuenta de éstos, de los genomas. El resultado final de una PCR no tiene colorcitos, ni es atractivo: es un **número, asociado a una curva. Así de frío**. Transformado debidamente sirve como prueba diagnóstica de punto final (**SÍ** o **NO**) y funciona como un predictor. También en ensayos más complejos en investigación sirve para indicar **cuantos genomas de virus teníamos en la muestra inicial**. Es lo que se hace para dibujar el curso de la infección.

Tanto da que la muestra sea moco, biopsia, muestras fecales muestra de aire, del agua...la PCR puede detectar el genoma del virus, con la única salvedad de superar el umbral de sensibilidad, la cantidad mínima que se detecta. En general, una qPCR puede detectar una molécula de genoma (una partícula viral) de SARS-CoV19 que hubiera en 0,01 mL de la suspensión inicial. Para entenderlo, en casi toda la clínica, desde ese hisopo que introducen en la nariz o garganta se obtiene aproximadamente 1mL finales de una solución de la que se hace la PCR. Bien, pues se podría detectar la ínfima cantidad de hasta 10 genomas en ese mililitro, que equivale al virus que hay en el raspado del hisopo.

¡Pero ojo! Repito, es muy importante, indica **genomas de virus** había en la muestra inicial. Si tienes genomas virales es que tienes virus en tu organismo. Pero la PCR no proporciona una medida de la infectividad viral, no puede determinarse directamente de esta medida. Pero si indica que **estás infectado** en ese momento. Cuando dejes de tener virus o éstos estén por debajo del umbral de la sensibilidad del método, la PCR es negativa. **Infectividad** y PCR positiva son dos conceptos entrelazados, pero no necesariamente lineales.

Virus infeccioso y genomas detectados y detectables son dos números distintos e indican dos cosas diferentes. Lo veremos en la siguiente entrega ¿qué es estar infectado? En las aguas residuales de algunas ciudades hemos visto estos días que se ha detectado genomas del virus, NO virus infeccioso; en muestras de pacientes se ha encontrado genoma del virus en las muestras de garganta y también de heces, pero sólo virus infectivo en aquellas. Más claro, agua.

La qPCR **validada, con sus controles internos y externos pertinentes**, no suele proporcionar falsos positivos, es decir, no da como positivas muestras que no tiene virus SARS-CoV19 porque tiene una elevadísima **especificidad próxima la 100%**. Los negativos de PCR obviamente pueden ser porque la muestra no contenga virus, o porque se haya procesado mal. En el primer caso depende de (i) el momento de la infección que determina la cantidad de virus se está produciendo en las células del huésped (ii) de dónde se obtenga la muestra ya que la efectividad de la multiplicación del virus depende de si es en la nariz, en la laringe o en los bronquios, y (iii) de la propia sensibilidad de la PCR.

Así que con la PCR podemos seguir el curso de la infección, de la producción de virus con el tiempo desde el momento que una persona se infecta. Desde la perspectiva del diagnóstico permite decir si el paciente tiene el virus en **el momento de la toma** de muestra. Por eso la PCR se utiliza sobre todo en esta fase epidemiológica como valor cualitativo determinando casi infaliblemente si hay o no hay infección en el sujeto muestreado.

Aparte quedan otras circunstancias tan en discusión y sin respuesta oficial: personas que dieron negativo vuelven dar positivo tras curarse. Aun siendo la anécdota del sistema, está cobrando una gran presencia mediática tan ávida de las *ave raris*. Se

trata de situaciones de una infectividad muy baja pero que puede dar positivo por la elevada sensibilidad de la PCR aunque posiblemente represente un riesgo mínimo de contagio. La siguiente entrega hablará de cómo se elimina un virus, y qué es la infectividad como dijimos.

Por último, hay test rápidos de detección de virus. Son los que se llaman de **detección de antígeno**. Es una reacción parecida a la de la detección de **anticuerpos**, pero en ellos se analiza si hay o no proteínas (**antígenos**) del virus en la muestra.

Estos test, aunque válidos y validados, de tipo Predictor© han de considerarse de menor valor diagnóstico por la menor especificidad dando falsos positivos: detecto el antígeno de SARS-CoV-2 y también podría hacerlo de sus primos y cuñaos, y la sensibilidad, dando falsos negativos: el test indica que no estas infectado pero sí que tienes el virus. Ambos son muchísimo más bajos que los de la PCR, lo que llamarían en la tele la eficacia.

That's all folks!.

Las palabras anteriores constituyen el escenario simplificado de palabras y técnicas científicas que se pide que la sociedad asimile para que pueda comprender lo que se hace o se deja de hacer desde un punto de vista sanitario y biológico, lo que dicen los números y lo que en definitiva refleja como evoluciona la pandemia en el tiempo y en el espacio.