

Dr. Francisco Molino Olmedo
Doctor en Biología por la Universidad de Granada

La prueba PCR es una técnica diseñada exclusivamente para amplificar el ADN y para detectar la presencia de un organismo o sus restos, no implicando necesariamente enfermedad o factor de contagio.

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) desarrollada en 1986 por el premio Nóbel Kary Mullis es una reacción que tiene como única función la copia múltiple de moléculas de ADN para aumentar su concentración hasta niveles lo suficientemente altos como para poder ser estudiado con los siguientes fines básicos: 1.- estudios bioquímicos y de biología molecular, 2.- pruebas de medicina y biología legal y forense, antropología y arqueología y 3.- estudios taxonómicos y filogenéticos.

En el caso que nos ocupa, la vulgarmente llamada prueba PCR para detectar enfermos por coronavirus se enmarca en el apartado de estudios taxonómicos, es decir detecta, como mucho, la presencia del virus (supuesta conocida la secuencias diferencial de su ARN), pero no su concentración a nivel clínico de enfermedad, como expondré después.

La PCR sólo puede copiar cadenas de ADN, pero no de ARN, que es el componente del virus. El ARN debe pasar a ADN mediante una transcriptasa inversa procedente de bacterias con capacidad de reacción a altas temperaturas.

La obtención de muestras del ARN (o del ADN según el caso), es complicada y muy frecuentemente se ve contaminada dando resultados erróneos (Kamps & Hoffmann, 2020) y tanto la toma de muestras, como su conservación es compleja y debe ser realizada por personal especializado y en un tiempo concreto para evitar detectar restos de virus ya inactivos (ver por ejemplo Crespo, 2000 o Corrales Morales et al., 2017) condiciones no presentes habitualmente en los lugares de obtención de muestras o toma de muestras por parte de personal no preparado lo

suficientemente, lo que da lugar a contaminaciones.

Como he dicho, la reacción sólo detecta la posible presencia del virus, pero, para ello no sólo es necesario conocer la secuencia diferencial del ARN (en este caso), sino conocer la o las secuencias que definen el taxón determinado, lo cual, la mayoría de las veces es complejo y requiere estudios de expertos en taxonomía del grupo estudiado (Lanteri, 2007).

La presencia de ARN supuesto del virus no implica enfermedad y ésta depende de la carga vírica o cantidad de virus individuales presentes. La carga vírica productora de enfermedad se determina de forma análoga a la densidad de población de insectos productores de plagas en los cultivos (F.A.O., 1996). La técnica consiste en establecer dos rectas de regresión lineal entre las cuales la densidad de población debe ser vigilada, por debajo de ellas la población de parásito no produce plaga o enfermedad y por encima de ellas se produce plaga o enfermedad. Las rectas umbral de densidad de población de vigilancia por debajo o por encima de las cuales no se causa o se causa plaga o enfermedad se realiza por estudio estadístico por parte de expertos en el taxón causante de problemas y para los muestreos (en nuestro caso la realización de la prueba PCR) es necesario un conocimiento profundo de la dinámica poblacional del agente causante del problema, dinámica que no siempre es conocida. Por desgracia, no siempre son expertos reales los que determinan los umbrales y éstos se realizan de forma poco regular atendiendo a intereses económicos.

En el caso que nos ocupa, la densidad de población umbral, superior o inferior se determina por la concentración de ARN (ADN) vírico. Pero esta concentración se determina mediante los llamados ciclos. Cada ciclo copia n veces la molécula y amplía de forma logarítmica su concentración y, por ejemplo, con 20 ciclos se generan 106 moléculas de ADN por cada molécula inicial (Dorado Pérez, 2021). La teoría es buena y, una vez determinado el umbral, a menor número de ciclos necesarios para alcanzar el umbral, mayor es la carga viral y viceversa. En la realidad, la PCR da lugar a posibles fraudes porque el número de ciclos puede ser realizado a conveniencia, de modo que, a más ciclos, más moléculas de ADN (ARN) y, por tanto, mayor carga viral, originando tantas PCR positivas como se quiera. Por otro lado la eficiencia de amplificación depende mucho de

la pareja de oligos que se estén empleando y se rige por unas leyes no del todo conocidas (Dorado Pérez, 2021).

El número de ciclos es el principal problema de la prueba, pero hay otros; el ya comentado de la toma y conservación de muestras con posibles contaminaciones, la temperatura de reacción que puede provocar lecturas erróneas, la utilización de cebadores adecuados, los errores de lectura y transcripción de ARN a ADN por parte de la transcriptasa inversa utilizada, también varía con el estado de la dinámica de población y puede detectar restos de virus inactivos en personas que han pasado la "enfermedad" dando positivos en individuos no "contagiosos" y, lo que es más importante, tener certeza absoluta de que el ARN que se amplifica y detecta es específico del virus estudiado y no se presenta en ningún otro virus cercano taxonómicamente.

En resumen la llamada prueba PCR es apta para detectar, en condiciones muy precisas de recogida de muestras y de laboratorio, la presencia y separación específica de un organismo, especialmente con ADN, o partes de ese organismo, pero no resulta útil para determinar una densidad de población, que puede ser falseada, entre otros factores, por el número de ciclos empleados.

Referencias

- Corrales Morales, M., Villalobos, K., Rodríguez Rodríguez, A., Muñoz Simón, N. & Umaña-Castro, R. 2017. Identificación y caracterización molecular de cianobacterias tropicales de los géneros Nostoc, Calothrix, Tolypothrix y Scytonema (Nostocales: Nostocaceae), con posible potencial biotecnológico *UNED Research Journal* 9(2): 280-288
- Crespo, M.P. 2000. El diagnóstico viral por el laboratorio. *Colombia Médica* 31(3): 135 -- 150.
- Dorado Pérez, G. 2021 (consultado en). 44. Amplificación de DNA mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). En: <https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/44%20PCR.pdf>
- F.A.O. 1996. *Determinación de la situación de una plaga en un área*. Normativas

Internacionales para Medidas Fitosanitarias 8. Secretaría de la Convención

Internacional de Protección Fitosanitaria.

- Kamps, B.S. & Hoffmann, C. (eds.) 2020. Covid Reference Cuarta edición 2020-4 de 24 de julio de 2020. En: www.COVIDReference.com
- Lanteri, A.A., 2007. Código de barras del ADN y sus posibles aplicaciones en el campo de la entomología. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 66(3-4); 15 -- 25.