

# **LIBRO DE ARTÍCULOS CIENTÍFICOS EN SALUD**

**EDICIÓN 2022  
RECOPIADO 2021**

Libro de Artículos Científicos en Salud : edición 2022 / Mónica Cristina Auchter ...  
[et al.] ; compilación de Mónica Cristina Auchter. - 1a ed revisada. - Corrientes :  
Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina, 2022.  
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online  
ISBN 978-987-3619-76-2

1. Medicina. I. Auchter, Mónica Cristina, comp.  
CDD 610.72



## Editorial

Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Facultad de Medicina  
Universidad Nacional del Nordeste  
Diseño del Libro: Mónica Auchter.  
Impreso en Argentina. Abril 2022  
Hecho el depósito que establece la ley 11.723  
Contacto: [secretariacyt@med.unne.edu.ar](mailto:secretariacyt@med.unne.edu.ar)

## Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Nordeste - UNNE

### **Sede Centro:**

Mariano Moreno 1240 - C.P 3400 – Ciudad de Corrientes – Corrientes – Argentina  
Teléfonos: +54 379 442 2290 / 442 3155

### **Sede Campus Sargento Cabral:**

Sargento Cabral 2001 - C.P 3400 – Ciudad de Corrientes – Corrientes – Argentina  
Teléfonos: +54 379 443 9624 int. 34 - +54 379 442 5508

Web: <http://www.med.unne.edu.ar>

No se permite la reproducción total o parcial de este libro, ni su almacenamiento en un sistema informático, ni su transmisión en cualquier forma o cualquier medio, electrónico, mecánico, fotocopia u otros métodos, sin el permiso previo del editor.

# PANDEMIA DE COVID-19. EXPERIENCIA DEL LABORATORIO DE MEDICINA GENÓMICA EN LA DETECCIÓN DE GENES DEL VIRUS SARS-COV-2 EN MUESTRAS RESPIRATORIAS

María Florencia Ferrini<sup>1</sup>, Guillermo Armando Acevedo<sup>1</sup>, Yenhy Anabel Gimenez<sup>1</sup>, Ariel Cassano<sup>1</sup>, María Carla Zimmermann<sup>2</sup>.

Correo electrónico de contacto: [flor.ferrini@gmail.com](mailto:flor.ferrini@gmail.com).

**Lugar de Trabajo:** 1 Laboratorio de Medicina Genómica y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste. 2 Cátedra de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional del Nordeste.

## RESUMEN:

La reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (Real Time RT-PCR) es el ensayo más sensible y específico para la detección del SARS-CoV-2, los genes ORF1ab, RdRp, E, N y S son los objetivos más utilizados. La sensibilidad y capacidad de detección del SARS-CoV-2 varía dependiendo del gen amplificado. El objetivo de este estudio es comparar la capacidad de detección de 3 de los genes diana más utilizados en el diagnóstico de COVID-19. Para ello, se estudiaron 1043 muestras de hisopados nasofaríngeos, de las cuales se extrajo el material genético, por medio de columnas comerciales. A partir del ARN extraído se realizó una RT-qPCR para el gen E, para la detección del SARS-CoV-2 y RNAsa P como control interno. Del total de muestras positivas se seleccionaron de manera aleatoria 20 muestras para realizar una RT-qPCR multiplex, para gen N y Orf 1ab para su estudio comparativo. De las muestras testeadas, 54 muestras (5.7%) fueron positivas para el gen E. De la subpoblación analizada, el 65% fueron positivas simultáneamente para los 3 genes evaluados, el 75% para los genes E y N, el 65 % para los genes E y Orf 1ab y en un 25% únicamente se detectó el gen E. Entre las muestras con amplificación de los 3 genes diana, encontramos que los valores de CT para el gen E eran significativamente más bajos que los valores de CT para los genes Orf 1ab y N. Con este trabajo se pudo evaluar la capacidad de detección de 3 genes dianas en el diagnóstico de COVID-19 por RT-qPCR. En particular, nuestro estudio se realizó utilizando solo un pequeño número de muestras clínicas y, por lo tanto, para un mejor análisis estadístico, sería necesario aumentar el número de las mismas.

**Palabras clave:** Pandemia COVID-19, SARS-CoV-2, Coronavirus, Síndrome respiratorio agudo severo.

## SUMMARY:

The real-time transcription polymerase chain reaction (Real Time RT-PCR) is the most sensitive and specific assay for the detection of SARS-CoV-2. ORF1ab, RdRp, E, N and S genes are the most commonly used targets. The different sensitivity and detection capability of SARS-CoV-2 lies within the amplified gene. So, the objective of this study was to compare the detection capability of 3 of the most commonly used target genes in the diagnosis of COVID-19. 1043 samples of nasopharyngeal swabs were studied, from which the genetic material was extracted, by commercial columns. From the extracted RNA, an RT-qPCR was performed for the E gene, positive samples for -SARS-CoV-2 and RNAsa P as an internal control. Of the total of positive samples, 20 samples were randomly selected to perform a multiplex RT-qPCR, for genes N and Orf 1ab in order to compare them. Of the total samples tested, 54 samples (5.7%) were positive for the gene E. Of the subpopulation analyzed, 65% were positive simultaneously for the 3 genes evaluated, 75% for the E and N genes, 65% for the E and Orf 1ab genes and in 25% only the E gene was detected. Among the samples with amplification of the 3 target genes, we found that the CT values for the E gene were significantly lower than the CT values for the Orf 1ab and N genes. With this work, it was possible to evaluate the detection capacity of 3 target genes in the diagnosis of COVID-19 by RT-PCR. In particular, our study was conducted using only a small number of clinical samples and therefore for better statistical analysis it would be necessary to increase the number of them.

**Keywords:** COVID-19 pandemic, SARS-CoV-2, Coronavirus, Severe acute respiratory syndrome.

## INTRODUCCIÓN

El 31 de diciembre de 2019, se informó a la Organización Mundial de la Salud (OMS) acerca de un brote de casos de neumonía, en la ciudad de Wuhan (China), causados por un virus perteneciente a la familia Coronaviridae, actualmente denominado SARS-CoV-2 (coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo grave). El mismo, rápidamente se propagó por diferentes países alcanzando una distribución que configura la pandemia más importante que ha sufrido la humanidad en los últimos 50 años<sup>(1)</sup>.

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) supone una enorme carga para la sociedad, la economía y los sistemas sanitarios de todo el mundo; siendo una de las medidas primordiales para el control de la propagación el diagnóstico certero y oportuno. La reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa en tiempo real (Real Time RT-PCR) es el ensayo más sensible y específico,

por lo tanto, es considerado el Gold estándar para el diagnóstico. Los coronavirus son virus de ARN de cadena positiva que expresan su complejo de replicación y transcripción, incluida su ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp), desde un único marco de lectura abierto grande denominado ORF1ab. Las proteínas estructurales del coronavirus, incluidas las proteínas de la envoltura (E), nucleocápside (N) y espiga (S), se expresan a través de la producción de ARN mensajeros subgenómicos. Los genes ORF1ab, RdRp, E, N y S son los objetivos más utilizados para la detección del SARS-CoV-2 mediante RT-PCR <sup>(2)</sup>.

La sensibilidad y capacidad de detección del SARS-CoV-2 varía dependiendo del gen amplificado <sup>(3)</sup>. En este estudio se busca comparar la capacidad de detección de 3 de los genes diana más utilizados en el diagnóstico de COVID-19.

El **objetivo** del presente trabajo es evaluar la capacidad de detección de 3 genes dianas en el diagnóstico de COVID-19 por RT-PCR

## **MATERIAL Y MÉTODOS:**

Se estudiaron 1043 pacientes, sin distinción de edad ni sexo, que concurren a distintos centros de tests para COVID-19 de la provincia de Corrientes, durante el primer semestre del año 2021. Las muestras de hisopados nasofaríngeos fueron remitidas, en medio de transporte viral, al Laboratorio de Medicina Genómica.

La extracción de ARN se realizó a partir de las muestras clínicas, por medio de columnas comerciales (Inbio-Highway).

El ARN de SARS-CoV2 se detectó mediante la técnica de real time RT-PCR para la búsqueda del gen E, basado en el protocolo del Instituto Charité y termociclador CFX-96. En paralelo se estudió la presencia del gen Ribonucleasa P (RNAsa P), que actúa como control interno y permite evaluar la calidad de la muestra.

Del total de muestras positivas se seleccionaron de manera aleatoria 20 muestras para realizar una RT-PCR multiplex, para gen N y Orf 1ab (amoyDx) para su estudio comparativo.

## **RESULTADOS:**

Del total de muestras testeadas, 54 muestras (5.7%) fueron positivas para el gen E, de las cuales 38,9% correspondían a pacientes de sexo femenino y el 61.1% a pacientes de sexo masculino.

De la subpoblación analizada, el 65% fueron positivas simultáneamente para los 3 genes evaluados, el 75% para los genes E y N, el 65 % para los genes E y Orf 1ab y en un 25% únicamente se detectó el gen E.

Entre las muestras con amplificación de los 3 genes diana, encontramos que los valores de CT para el gen E eran significativamente más bajos que los valores de CT para los genes Orf 1ab y N.

## **DISCUSIÓN:**

Actualmente, se han desarrollado un gran número de herramientas para el diagnóstico de COVID-19, como el aislamiento viral, los ensayos basados en PCR y las técnicas para búsqueda tanto de antígenos como anticuerpos <sup>(4)</sup>. Sin embargo, la RT-PCR sigue siendo la herramienta preferida para la detección del SARS-CoV-2. Hay que tener en cuenta que la tasa de detección del ácido nucleico viral está estrechamente relacionada con el curso de la infección viral, el momento de la toma de muestra y el conjunto de genes diana amplificados <sup>(5)</sup>.

Teóricamente, los cebadores y sondas de los genes diana deben tener no solo una alta especificidad sino también una alta sensibilidad. Además, la secuencia de la región blanco debe mantenerse conservada, para evitar falsos negativos por mutaciones en los sitios de unión de cebadores o sondas. El gen ORF1ab es de los más conservados, pero presenta baja sensibilidad, mientras que otros, como N o E, son menos conservados, pero más sensibles <sup>(5)</sup>.

En este trabajo, se confirma que la detección del SARS-CoV-2 mediante la amplificación del gen E presenta el porcentaje más alto, siendo por lo tanto el más sensible, coincidiendo con los estudios de van Kasteren et. al (2). Además entre las muestras con amplificación de los 3 genes diana estudiados, encontramos que los valores de Ct para el gen E eran significativamente más bajos, lo cual se corresponde con lo descrito por Colton et. al. lo que puede sugerir la posibilidad de que haya un mayor número de copias del gen E presente en las muestras <sup>(6)</sup>.

## CONCLUSIÓN:

Con este trabajo se pudo evaluar la capacidad de detección de 3 genes dianas en el diagnóstico de COVID-19 por RT-PCR. En particular, nuestro estudio se realizó utilizando solo un pequeño número de muestras clínicas y, por lo tanto, para un mejor análisis estadístico, sería necesario aumentar el número de las mismas.

## REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

1. Díaz-Castrillón FJ, Toro-Montoya AI. SARS-CoV-2/COVID-19: el virus, la enfermedad y la pandemia. *Med Lab.* 2020;24(3):183–205.
2. van Kasteren PB, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, de Jonge J, van den Brandt A, et al. Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19. *J Clin Virol.* 2020;128(104412):104412.
3. Reina J, Suarez L. Evaluation of different genes in the RT-PCR detection of SARS-CoV-2 in respiratory samples and its evolution in infection. *Rev Esp Quimioter.* 2020;33(4):292–3.
4. Kevadiya BD, Machhi J, Herskovitz J, Oleynikov MD, Blomberg WR, Bajwa N, et al. Diagnostics for SARS-CoV-2 infections. *Nat Mater.* 2021;20(5):593–605.
5. Zhou Y, Pei F, Wang L, Zhao H, Li H, Ji M, et al. Sensitivity evaluation of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) RT-PCR detection kits and strategy to reduce false negative. *Research Square.* [en línea]. 2020 [acceso 11 diciembre 2021] URL. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-40414/v1> .
6. Colton H, Ankcorn M, Yavuz M, Tovey L, Cope A, Raza M, et al. Improved sensitivity using a dual target, E and RdRp assay for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection: Experience at a large NHS Foundation Trust in t