



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA



Genes sintéticos del virus SARS-CoV-2 fueron creados para la primera fase de prueba

Inicia la fase de verificación de las pruebas de saliva para detectar el COVID-19

Las pruebas de saliva se están aplicando en diversos países. Por ejemplo, el 15 de agosto de 2020, la Agencia de Alimentos y Medicamentos estadounidense (FDA) aprobó el quinto test de saliva para la detección del SARS-CoV-2. Karla Richmond

Científicos de la UCR, TEC y UNA concluyeron el primer prototipo de las pruebas de saliva para el diagnóstico rápido del COVID-19, que ahora es verificado a nivel *in vitro* y con genes sintéticos

18 ENE 2021 Salud

Después de casi un mes de trabajo continuo, y el apoyo de más de 20 investigadores, los científicos de la Universidad de Costa Rica (UCR) **finalmente inician la fase de verificación de las pruebas de saliva que están desarrollando para el diagnóstico rápido del COVID-19.**

Esta fase es *in vitro* (análisis de laboratorio fuera de un organismo vivo), con el uso de genes sintéticos también diseñados en la UCR. De acuerdo con el equipo investigador, **los resultados preliminares obtenidos hasta ahora son alentadores.**

“Los primeros resultados arrojan que las pruebas *in vitro* utilizando genes sintéticos lograron una **sensibilidad del 94.4 %** (capacidad de la prueba para detectar la enfermedad) y una **especificidad del 100 %** (exclusión de los individuos sanos). Los porcentajes obtenidos son muy altos y significan que la prueba tiene gran potencial para

ayudar al diagnóstico del COVID-19”, manifestó el Dr. German Madrigal, director del Instituto de Investigaciones Farmacéuticas (Inifar), de la Facultad de Farmacia de la UCR.

Con el objetivo de realizar las pruebas de validación, los científicos diseñaron genes sintéticos del SARS-CoV-2, **y hasta saliva artificial**, como un primer paso para contrarrestar los resultados con la prueba estándar de oro de Costa Rica: la qPCR-RT.

Si las pruebas superan con éxito esa fase, y otras dos más que aún están pendientes, en pocos meses la UCR estaría transfiriendo el conocimiento generado a la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS), al Ministerio de Salud y a cualquier productor nacional que desee producirlas. **De esta manera, el país tendrá un recurso adicional a la PCR que es hasta un 70 % más barata.**



El resultado se manifiesta con un cambio de color en la muestra: amarillo en caso de que sea positivo y rojo si la prueba da negativo, dependiendo del indicador de pH utilizado.

Karla Richmond

¿En qué consiste la prueba?

En términos científicos, **a la prueba se le conoce como RT-LAMP** (amplificación isotérmica por lazo o por bucle, por sus siglas en inglés). Esta prueba molecular permite la amplificación del material genético del virus.

Para ello, se toma la muestra de saliva de la persona. Luego, se calienta a 95° grados Celsius para amplificar posibles trazas del virus y, así, **se obtiene el resultado sin necesidad de laboratorios de biología molecular u otros equipos especializados**, como los que se requieren con las actuales pruebas de tipo PCR.

Además, este resultado se manifiesta con un cambio de color en la muestra: **amarillo en caso de que sea positivo y rojo si la prueba da negativo**, dependiendo del indicador de pH utilizado.

Su principal ventaja es que **la misma persona podría recolectar la muestra de saliva sin requerir personal de salud altamente especializado**, como ocurre con la prueba de qPCR-RT, lo que permitiría disminuir las posibilidades de contagio en el equipo sanitario y reducir los costos, pues no se requiere de hisopos y medios de cultivo especiales para el transporte de los mismos.

Pero no solo eso. **La prueba RT-LAMP posee un menor costo, no necesita de equipo sofisticado para amplificar el material genético del virus y los resultados se pueden obtener en aproximadamente una hora.**

“Tanto la prueba RT-LAMP como la qPCR-RT son pruebas moleculares; es decir, se encargan de detectar algún fragmento de los genes del virus. Entonces, ¿cómo se diferencian? Primero, la PCR requiere de un equipo costoso que no cualquiera puede manejar y de un proceso analítico especializado. Segundo, para tener la muestra se efectúa un hisopado nasofaríngeo, se extrae el ARN y se purifica. Luego, utilizando reactivos, se lleva a cabo la amplificación de algunos de los fragmentos del virus. Este es un proceso laborioso y lleva de dos a cuatro horas de trabajo en el laboratorio. Estas limitantes nos llevaron a buscar otra alternativa”, indicó el Dr. Andrés Gatica Arias, profesor de la Escuela de Biología de la UCR y coordinador del proyecto “Verificación de la sensibilidad in vitro de kits comerciales de RT-LAMP para la detección del virus SARS-CoV-2”.

La idea es que la RT-LAMP no sustituya a las pruebas de PCR en tiempo real, sino que sea una opción complementaria. Así, se pretende que el país cuente con más posibilidades y no solo con un único test diagnóstico vinculado a la disponibilidad de insumos en los mercados internacionales.

“La prueba parte del principio de tomar una muestra de saliva del paciente. Ya se demostró en la literatura científica que el virus está presente en la saliva en una alta concentración. Esto da la posibilidad de que obtener la muestra no sea tan molesto, como lo es introducir un hisopo a la nariz. La toma de la saliva es más sencilla y, distinto a la PCR, se puede transportar sin un medio de cultivo que preserve el material genético del virus”, amplió el Dr. Gatica.

Actualmente, países como **Inglaterra, Estados Unidos, Argentina, Perú y Uruguay ya lo está implementado por su gran facilidad.** Por citar un ejemplo, la persona solo debe recolectar su saliva en un recipiente estéril, similar al que se usa para la orina y las heces, y llevarla a un laboratorio. En casi 60 minutos se tendría el resultado.

La siguiente infografía explica el proceso de la prueba



En casi 60 minutos se tendría el resultado.

La ciencia detrás

¿Qué convierte a la saliva en una prometedora opción? Además de las ventajas ya mencionadas, para el Dr. Madrigal hay otra razón de gran peso: **la forma en cómo se transmite el virus.**

“El virus se trasmite como un aerosol que en el 90 % de las ocasiones sale por la boca. Si bien, el virus entra por la nariz y ahí hace su primera incubación, ya desde el primer día podría encontrarse en la saliva debido a la comunicación entre la nariz y la boca”, afirmó el Dr. Madrigal.

Adicional a lo anterior, **también está la facilidad en el proceso de análisis.** El Dr. Gatica explicó que cuando se tiene la muestra, la saliva se mezcla con un reactivo para liberar el material genético. Ese reactivo es una enzima cuya función es degradar la capa externa del virus. Para que funcione, la saliva con el reactivo se deja reposar 15 minutos a temperatura ambiente. Después, se calienta a 95° C en baño maría.

Según el Dr. Gatica, ese proceso destruye la cubierta que protege el virus y se libera el material genético del SARS-CoV-2. Posteriormente, **dicho material se amplifica utilizando otros reactivos de la técnica RT-LAMP.**

“Mediante una reacción colorimétrica (un cambio de color) se detecta a simple vista si el paciente es negativo o positivo por el virus. Entonces, primero la muestra se calienta, se combina con los reactivos y solo, si el material genético está presente, se amplifica el virus

y se da un cambio de color. **Si es rojo, el paciente es negativo. Si es positivo, es una reacción de color amarillo, dependiendo del indicador de pH utilizado**", ahondó el Dr. Gatica.



La prueba RT-LAMP utiliza seis imprimadores (para copiar el virus) que se pegan a seis sitios del gen o los genes en el SARS-CoV-2. En total son tres genes que se analizan, para un juego de 18 imprimadores. Esto es importante para asegurar que realmente es el SARS-CoV-2 y no otro tipo de coronavirus.

Karla Richmond

Producción nacional

Los reactivos se pueden comprar a nivel internacional. No obstante, **los científicos de la UCR trabajan fuertemente para desarrollarlos en suelo nacional y que el país sea autosuficiente.**

Si se logra, el costo rondaría los 10 a 15 dólares. Asimismo, las pruebas se podrían efectuar en laboratorios de bioseguridad 1 o 2 y en laboratorios portátiles, debido a que el equipamiento es muy básico. En el proceso solo se requiere de termobloques (dispositivo para incubar el virus), baño maría, micropipetas (goteros), los consumibles plásticos donde se coloca la saliva, imprimadores y enzimas, principalmente.

“El país podría ahorrar dinero, llevar a cabo más pruebas y hacer tamizajes masivos con el fin de tener un panorama más real de personas infectadas y asintomáticas, que son como una ‘bomba de tiempo’, porque están infectando a otros sin darse cuenta. **Además, podría ser de utilidad para identificar pacientes que ya fueron positivos y, de esa manera, apoyar a los programas de vacunación.** Para optimizar el recurso económico, sería conveniente verificar previamente si la persona no está o estuvo enferma”, interiorizó Gatica.

El termobloque, cuya versión tica está siendo desarrollada por ingenieros eléctricos de la UCR, puede albergar de manera simultánea hasta 384 muestras. **En una semana, y con solo 10 de estos dispositivos, más de 200 000 análisis podrían realizarse.**

“Desde un inicio el proyecto pensó en abarcar todas las aristas que van desde, la fabricación nacional de los insumos, los reactivos, los ingredientes que necesitamos para efectuar la prueba (así como enzimas e indicadores de PH) hasta el propio equipo que se necesita para el análisis, en este caso, los termobloques de 384 muestras. **El propósito es no depender de casas comerciales internacionales**”, dijo Gatica.



"En estos momentos nos estamos uniendo con colegas centroamericanos, porque ellos tienen un proyecto similar, solo que iniciaron diferente. Con el vínculo se quiere que ambos países agilicen el camino y se efectúe una validación simultánea", destacó el Dr. Madrigal.

Aporte innovador

El equipo trabaja en otro eje adicional poco abordado: **la combinación simultánea de muestras de saliva de distintas personas.**

“Nuestra idea es tomar muestras individuales y luego mezclarlas en grupos de tres o cinco individuos (aún debemos determinarlo) para hacer menos reacciones. **Si un grupo salió negativo, se genera un ahorro porque no se hicieron pruebas individuales para llegar al mismo resultado.** Ahora bien, si un grupo dio positivo, las muestras se individualizan para saber quién es el individuo positivo. La saliva, al ser un líquido más abundante que una muestra de hisopo, hace que esta oportunidad sea posible”, indicó el Dr. Gatica.

Con una misma muestra de saliva de un único sujeto se puede realizar hasta cinco veces la prueba. Si aun así el médico duda de un resultado positivo obtenido con la prueba RT-LAMP, este luego puede hacer una confirmación adicional con la PCR.

“Lo bueno aquí es que desde el minuto uno, con el resultado de la prueba RT-LAMP, **se puede poner a la persona en aislamiento con una orden sanitaria para evitar la propagación del virus,** mientras se espera la confirmación del PCR”, amplió el Dr. Madrigal.



Con este proyecto de investigación hay dos posibilidades concretas. Uno es comprar kits de RT-LAMP en el extranjero para el análisis de saliva y validarlo en Costa Rica. La otra opción, que desean los científicos de la UCR, es desarrollar los componentes de ese kit en el país.

Karla Richmond

¿Qué falta?

Las pruebas de validación constan de tres fases. La primera ya se aplica y es usar genes sintéticos y saliva artificial para luego contrastarlos con la qPCR-RT. Ambos deben arrojar exactamente el mismo resultado (negativo o positivo).

La tercera fase de validación es elaborar un protocolo para desarrollar un estudio que use muestras reales de pacientes anónimos positivos por COVID-19, previamente diagnosticados con la qPCR-RT. **Si la prueba RT-LAMP realmente funciona, el resultado que arroje también debe ser positivo.**

“La validación es una in vitro (en laboratorio) y otra in vivo (en personas). **En estos momentos nos estamos uniendo con colegas centroamericanos, porque ellos tienen un proyecto similar, solo que iniciaron diferente.** Ellos ya tienen los protocolos de pacientes y los permisos, pero no las pruebas. Nosotros tenemos las pruebas, pero no los protocolos y el permiso de estudio en pacientes. Entonces, con el vínculo se quiere que ambos países agilicen el camino y se efectúe una validación simultánea”, comentó el Dr. Madrigal.

Por parte de la UCR se encuentran la Escuela de Biología, el Instituto de Investigaciones Farmacéuticas (Inifar), la Escuela de Matemática, la Escuela de Física, la Escuela de Ciencias de la Comunicación Colectiva,

De igual forma, se apoya la Escuela de Salud Pública y, el Centro de Investigación en Cuidado de Enfermería y Salud (Cices).



[Jenniffer Jiménez Córdoba](#)

Periodista, Oficina de Divulgación e Información

Área de cobertura: ciencias de la salud

jenniffer.jimenezcordoba@ucr.ac.cr