

Sección a cargo de **Claudia Díaz Camino** ([claudia@ibt.unam.mx](mailto:claudia@ibt.unam.mx))

Mediante la aplicación del método científico, investigadores y estudiantes plantean hipótesis y obtienen evidencias experimentales en cuestiones básicas y también respuestas que ayudan a entender problemas específicos en la naturaleza y alternativas para varios procesos productivos. Los resultados obtenidos en líneas y proyectos de investigación del IBt, son publicados en revistas científicas arbitradas —alrededor de 200

anualmente— para compartir los hallazgos con la comunidad académica e industrial de todo el mundo. En esta sección, se presentan resúmenes de publicaciones selectas y recientes del IBt, que permiten mostrar el panorama del trabajo académico que desarrollan investigadores, asociados, técnicos y estudiantes de nuestro instituto.

---

# Un método sensible, rápido y económico para detectar el SARS-CoV-2 en saliva

---

Joaquín Moreno-Contreras y Marco A. Espinoza

Ante la emergencia mundial generada por la COVID-19 y la ausencia de un tratamiento efectivo, existe una necesidad urgente de métodos de diagnóstico rápidos y confiables que permitan identificar a las personas portadoras del virus para poder aislarlos y de esta manera romper la cadena de contagios. En el laboratorio donde realizamos nuestro trabajo experimental, hemos desarrollado y aplicado uno de ellos, el cual se ha publicado recientemente.

**A** finales de diciembre de 2019 en la ciudad Wuhan, provincia de Hubei, China, se reportó la presencia de una serie de casos de neumonía atípica de origen desconocido. Poco tiempo después, mediante el uso de técnicas moleculares se determinó que el agente infeccioso que estaba afectando a la población era un virus, específicamen-



te un coronavirus. Este nuevo coronavirus es similar al causante del llamado Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS, por sus siglas en inglés), y presenta variaciones suficientes en su información genética como para ser considerado un virus nuevo y distinto que ha sido nombrado SARS-CoV-2. El virus SARS-CoV-2 es el causante de una variedad de afecciones, agrupadas como COVID-19, acrónimo del inglés *Coronavirus Disease 2019* (Enfermedad por coronavirus 2019). El 11 de marzo del año en curso, la Organización Mundial de la Salud declaró a la COVID-19 como una pandemia, esto después de que se habían registrado más de 118 mil casos en 114 países alrededor del mundo.

### ¿De qué manera se puede diagnosticar el SARS-CoV-2?

Existen diferentes pruebas moleculares que permiten la detección del virus SARS-CoV-2: algunas identifican de manera directa ya sea a través de la presencia de alguna proteína viral y el uso de

anticuerpos (pruebas antigénicas), o aquellas que detectan el genoma viral a través del reconocimiento de sus secuencias (RT-PCR). Existen otro tipo de pruebas que detectan de manera indirecta la presencia del virus, por ejemplo, mediante la detección de anticuerpos producidos como parte de la respuesta inmune de una persona que ha sido expuesta al virus (pruebas inmunológicas), éstas últimas —también referidas como pruebas serológicas o ‘rápidas’— permiten evidenciar si alguna persona ya ha sido infectada previamente, haya o no presentado síntomas; pero no detectan una infección activa al realizarla. Cada una de las pruebas mencionadas presenta diferentes grados de sensibilidad, la cual depende entre otros factores, de la ventana de tiempo posterior al inicio de la aparición de síntomas y la toma de muestras. En general, la prueba más confiable para la detección de SARS-CoV-2 es la amplificación de regiones del genoma viral mediante la *reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real* (ver “Capacidades y avances del IBT para enfrentar la pandemia de la COVID-19”, en *Biotecnología en Movimiento* No. 21).

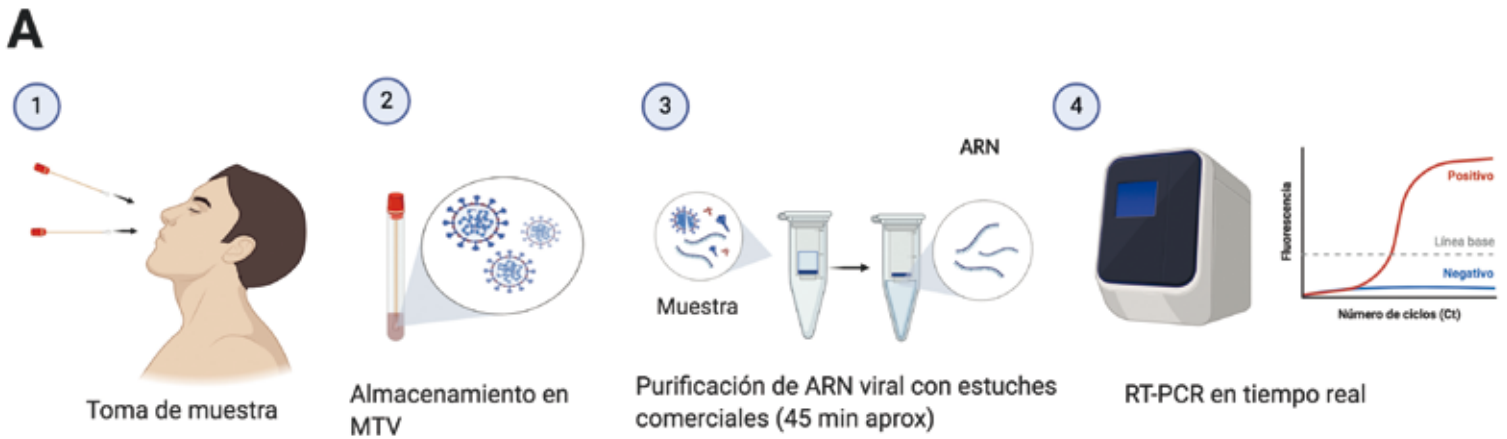




---

De el total de muestras positivas a SARS-CoV-2, el 86% fue detectado en salivas, mientras que en muestras de un solo hisopo solo el 65% fue positivo

---



**Figura 1.** Diagnóstico de SARS-CoV-2 en muestras biológicas obtenidas de: (A) hisopos y (B) saliva. MTV: Medio de transporte viral, RT-PCR: reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa en tiempo real. Los resultados de la prueba se muestran en las gráficas de las señales que emite el equipo utilizado para este proceso (derecha).

### ¿Cómo se lleva a cabo el diagnóstico molecular de SARS-CoV-2?

En esta revista se ha relatado sobre varias capacidades y actividades del IBt-UNAM, y del laboratorio de la Dra. Susana López y del Dr. Carlos Arias, para contender con la pandemia a través de la realización de pruebas diagnósticas formales y su optimización; aquí explicamos un método alternativo desarrollado y evaluado en nuestro instituto. Para llevar a cabo el diagnóstico molecular se requiere de la obtención de una muestra biológica, para lo cual se emplean dos hisopos para tomar muestras de la mucosa faríngea: uno a través de la boca (orofaríngeo) y el otro por nariz (nasofaríngeo). Los hisopos utilizados deben de ser de materiales sintéticos como el *rayón* o *dacrón*, ya que las fibras naturales como el algodón pueden afectar la reacción de la RT-PCR. Este paso debe de ser realizado

por personal de salud capacitado, el cual utiliza Equipo de Protección Personal (EPP) especial, ya que al ser un procedimiento invasivo, en muchas ocasiones los pacientes tosen o estornudan, por lo que el uso de EPP adecuado (careta y/o anteojos, cubrebocas y/o mascarillas, guantes y bata quirúrgica), minimiza el riesgo de contagio para estas personas. Posteriormente, los dos hisopos son colocados en un tubo que contiene un Medio de Transporte Viral (MTV), con componentes que preservan la integridad de la muestra evitando su degradación y/o contaminación. El siguiente paso, ya en el laboratorio bajo medidas de bioseguridad, es la extracción del ácido ribonucleico (ARN) del virus a partir del MTV, para lo que se emplean estuches comerciales (*kits* de extracción). El ARN obtenido es utilizado como templado o plantilla en la reacción de la RT-PCR en tiempo real, en la cual mediante el uso de iniciadores y probadores moleculares específicos, se detecta la presencia o ausencia del virus [Figura 1.A]. Debido a la enorme demanda de los insumos necesarios para realizar la toma de muestras biológicas, así como para la extracción del ARN viral, ha habido escasez de muchos de los reactivos utilizados para las pruebas diagnósticas. Tanto los hisopos, el MTV, los estuches de extracción de ARN viral y el EPP se encuentran entre los insumos más difíciles de obtener, lo cual ha comprometido el número de pruebas que se pueden realizar en muchas partes del mundo.

### ¿Cómo podemos mejorar el diagnóstico molecular de SARS-CoV-2?

En este trabajo evaluamos la detección de SARS-CoV-2 en saliva, comparando la eficiencia de detección del ARN viral entre muestras de un hisopado y la saliva del mismo paciente. Para esto, evaluamos un protocolo de extracción (lisis) directa como un método para obtener el ARN viral, sustituyendo los estuches comerciales; ade-



## B



más, redujimos el tiempo de procesamiento de las muestras de aproximadamente 45 minutos, a solo 5 minutos por muestra. En reportes previos al nuestro, se había demostrado la factibilidad de usar saliva para el diagnóstico de varios virus, incluido SARS-CoV-2 [1]. El uso de saliva en lugar de hisopados orales o nasales para la detección del genoma de SARS-CoV-2 tiene múltiples ventajas: la toma de muestra la realiza el mismo individuo, es decir es una 'auto-toma'; esto reduce de manera considerable el riesgo de infección del personal de salud encargado de realizar dicho proceso y también, por no ser un proceso invasivo, no requiere usar EPP, que ha escaseado debido a la pandemia. Entonces, para obtener la muestra biológica se pide al paciente que concentre la saliva en la boca durante al menos dos minutos; posteriormente la saliva es depositada en un vaso para muestras clínicas, escupiendo repetidamente hasta alcanzar un volumen de alrededor de 2 a 3 mL. Las muestras son almacenadas en refrigeración (4°C) hasta su procesamiento. Como alternativa al uso de estuches comerciales, el ARN viral presente en la muestra de saliva, se extrae utilizando una 'solución amortiguadora' a los cambios del pH (llamada solución *buffer* de lisis), que contiene enzimas que degradan proteínas (proteasas) y detergentes en solución. Al final, el ARN aislado se analiza directamente mediante la prueba RT-PCR en tiempo real, usando los mismos reactivos (iniciadores, probadores moleculares y enzimas), que para la muestra obtenida con hisopo [Figura 1.B].

### ¿Qué tan ventajoso es este método diagnóstico?

Para validar este método, se analizaron 253 muestras en pares de hisopados y saliva tomados del mismo paciente. La toma de muestras fue realizada por personal de la Secretaría de Salud del Estado de Morelos (SSEM) y del Laboratorio Estatal de Salud Pública Morelos (LESP). Es impor-

tante notar que, durante el período en el que se realizó el estudio, hubo gran escasez de los hisopos utilizados para realizar la toma de muestras nasofaríngeas, por lo que en este período solo se tomaron muestras de hisopado orofaríngeo. Para comparar las pruebas, las muestras de hisopados fueron procesadas utilizando estuches comerciales de extracción, mientras que las salivas se trataron directamente con la solución *buffer* de lisis y, como se mencionó, se analizó posteriormente la presencia o ausencia de SARS-CoV-2 mediante RT-PCR en tiempo real en ambos grupos. A partir de este análisis, queríamos determinar la efectividad que tiene la saliva para ser utilizada como un medio de detección, en lugar de hisopados, y encontramos que de el total de muestras positivas a SARS-CoV-2, el 86% fue detectado en salivas, mientras que en muestras de un solo hisopo solo el 65% fue positivo; por otra parte, las muestras negativas fueron similares en ambas pruebas. Este resultado nos ha permitido publicar un artículo científico [2], para proponer que la saliva es una alternativa al uso de hisopos, que representa ventajas por su sensibilidad, rapidez y accesibilidad. Además, al no requerirse hisopos especiales, ni MTV, ni estuches de extracción de ARN, el tiempo de procesamiento por muestra se reduce en alrededor del 80%, mientras que el costo disminuye aproximadamente 40%. Esto permite incrementar al doble la capacidad diagnóstica del laboratorio, lo que reduce el tiempo de espera de los resultados.

Ante el desconfinamiento e incremento gradual de actividades en espacios públicos, laborales y escolares, lograr un aumento de la cantidad de pruebas diagnósticas realizables —utilizando muestras de saliva como sustrato para su detección— podría ser de vital importancia para detectar, rastrear y/o aislar a las personas infectadas, frenando la cadena de contagios para evitar la propagación continua del nuevo coronavirus.

Contacto: [mcj@ibt.unam.mx](mailto:mcj@ibt.unam.mx)

### Referencias

1. To, KK, OT Tsang, CC Yip, et al. (2020), Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva, *Clin Infect Dis*, **71** (15): 841-843. doi:10.1093/cid/ciaa149
2. Moreno-Contreras J, MA Espinoza, C Sandoval-Jaime, MA Cantú-Cuevas, H Barón-Olivares, OD Ortiz-Orozco, AV, Muñoz-Rangel, M Hernández-de la Cruz, CM Eroza-Osorio, CF Arias, S López (2020), Saliva Sampling and Its Direct Lysis, an Excellent Option To Increase the Number of SARS-CoV-2 Diagnostic Tests in Settings with Supply Shortages, *J Clin Microbiol* **58**:10 e01659-20, doi:10.1128/JCM.01659-20

El M.C. Joaquín Moreno-Contreras es estudiante del Doctorado en Ciencias Bioquímicas; el M.C. Marco A. Espinoza es técnico académico en el grupo de la Dra. Susana López, todos en el Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular del IBT.