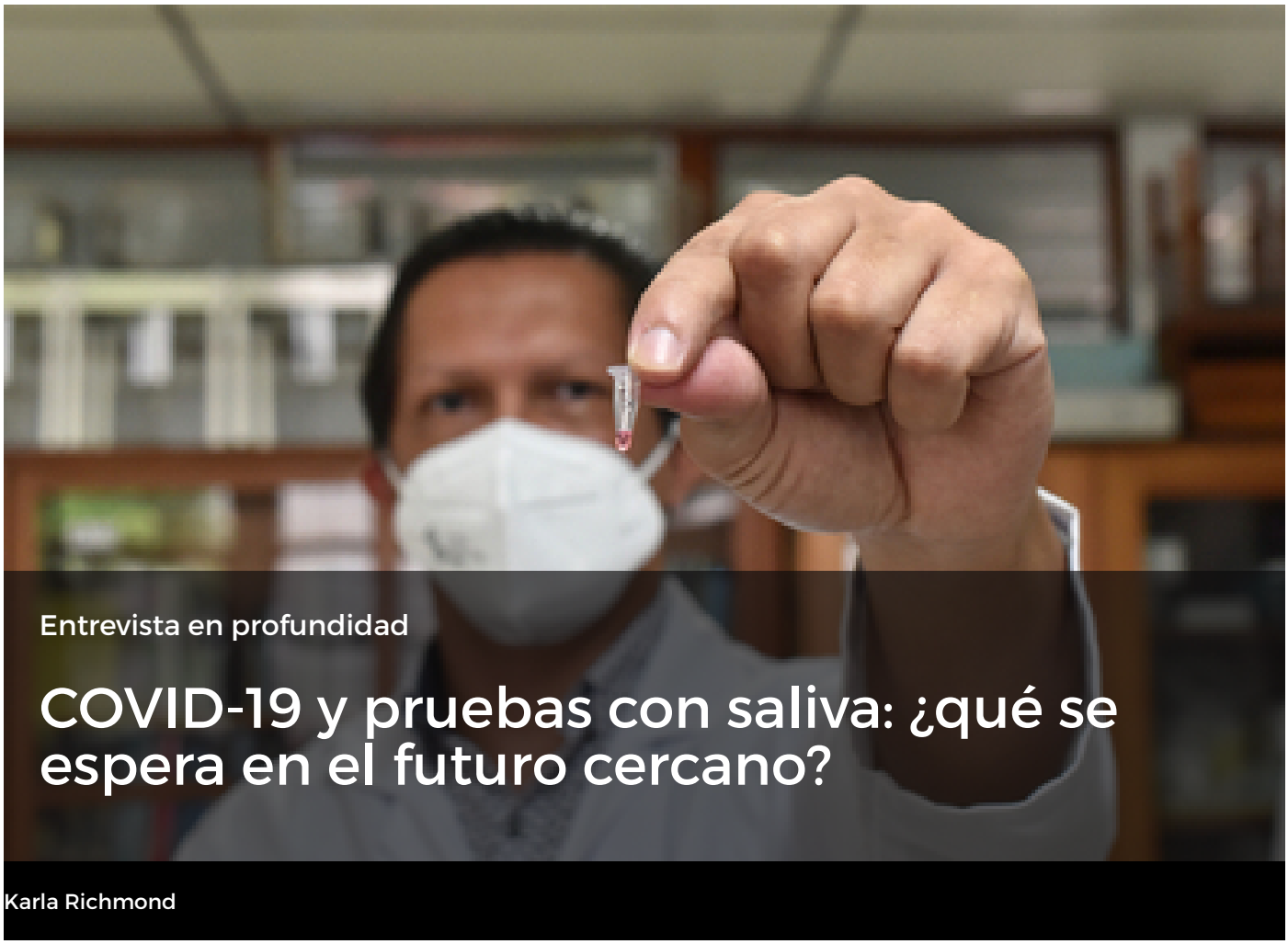
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA



Entrevista en profundidad

COVID-19 y pruebas con saliva: ¿qué se espera en el futuro cercano?

Karla Richmond

El biotecnólogo, el Dr.Andrés Gatica Arias, habla sobre el avance, los aprendizajes, los obstáculos y los aportes de una tecnología que estará al servicio de otras aplicaciones

12 NOV 2021 Salud

Cuando inició la pandemia, más de 20 investigadores de la Universidad de Costa Rica (UCR), junto con científicos de otras universidades públicas (UNA y TEC), se dedicaron a desarrollar **pruebas moleculares para ayudar al diagnóstico rápido del COVID-19 en saliva.**

Estas pruebas son conocidas como RT-LAMP (amplificación isotérmica por lazo o por bucle, por sus siglas en inglés) y lo que hacen es amplificar el material genético del virus (ARN) **para saber si una persona es portadora (o no) del SARS-CoV-2.**

El resultado se manifiesta rápidamente con un cambio de color en la muestra. Por ejemplo, **amarillo en caso de que sea positivo y rojo si la prueba da negativo.**

Los primeros resultados del equipo, que se comunicaron a inicios del 2021, mostraron que en las pruebas in vitro al utilizar 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 fueron muy altos y significaban que la prueba tenía gran potencial para ayudar al diagnóstico del virus que causa la enfermedad COVID-19. **Pero, al día de hoy, ¿qué ha pasado?**

De su ajustada agenda, el Dr. Andrés Gatica Arias y coordinador principal del proyecto, nos brindó un espacio para hablar sobre los avances obtenidos, los aprendizajes y la conformación de una red que une a Centroamérica y el Caribe, **la cual está destinada a potenciar el proyecto.** Igualmente, el investigador también reconoció que el proyecto ha tenido sus retos y obstáculos que han atrasado la consolidación.

Contexto

—**Dr. Gatica, antes de interiorizar en los avances y retos que ha tenido el desarrollo de las pruebas de saliva para ayudar al diagnóstico rápido del COVID-19, considero importante recordarle a nuestros lectores en qué consiste el proyecto.**

—**Dr. Andrés Gatica Arias (AGA):** "Por supuesto, Jenniffer. El proyecto que hemos denominado TICOVID-19 es una iniciativa interdisciplinaria, multidisciplinaria y también interuniversitaria en el que participamos investigadores de diferentes áreas del conocimiento. Nuestro objetivo es ofrecer una alternativa de bajo costo a las pruebas de detección para el virus que causa la enfermedad del COVID-19.

Actualmente, las pruebas de diagnóstico que se realizan en el país usan una técnica llamada RT-PCR en tiempo real (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa, por sus siglas en inglés) y se utiliza el hisopado nasofaríngeo. Nosotros, en cambio, buscamos validar el uso de la saliva con una muestra biológica alternativa, mediante una tecnología RT-LAMP que, al igual que el RT-PCR, es una prueba de diagnóstico molecular. ¿Qué quiere decir esto? Que vamos a detectar el material genético del virus.

Eso tiene algunas ventajas en relación con la prueba del estándar de oro usada en el país que es, justamente, la RT-PCR. Dentro de esas ventajas podemos mencionar los insumos de menor costo. No se requiere de una infraestructura sofisticada y de un alto costo como los termocicladores necesarios para las pruebas de RT-PCR. En nuestro caso, solo requerimos un baño maría que nos permita calentar la muestra a una temperatura constante".

—**Dr. Gatica, a inicios de este 2021 ustedes comunicaron importantes avances en las pruebas de validación de los prototipos. ¿Nos podría recordar qué etapas ha superado el proyecto?**

—**AGA:** "El proyecto está dividido en varias etapas. En un principio, la primera etapa del proyecto consistió en la identificación de pruebas disponibles a nivel internacional. Existen más de 10 pruebas RT-LAMP disponibles. Nosotros seleccionamos solo tres que cumplían con los criterios de bajo costo, alta sensibilidad y especificidad, de acuerdo con lo reportado por otros investigadores y literatura internacional.

Una vez que identificamos esas pruebas comerciales, nos dimos a la tarea de importarlas al país. Eso lo cumplimos satisfactoriamente. Una vez que contamos con las pruebas en nuestras manos y laboratorios, el paso siguiente fue validarlas con ARN sintético del virus. Esto fue mediante material genético artificial que nosotros mismos diseñamos porque no teníamos acceso a pruebas biológicas de saliva.

Entonces, empezamos la validación con el ARN artificial. Esta etapa se cumplió en un 100 % y verificamos esas tres pruebas con nuestro material sintético. Es decir, las pruebas son

idóneas para la identificación del virus que causa el COVID-19. Esto concuerda con los resultados reportados a nivel internacional en la literatura científica.

En la segunda etapa del proyecto validamos esas pruebas comerciales al utilizar muestras biológicas de saliva (salvia real provenientes de pacientes). Para eso firmamos un convenio de colaboración con la Agencia Costarricense de Investigaciones Biomédicas (ACIB) que tiene sede en Liberia. Ahí, nuestro colaborador realiza un estudio que requiere de muestras de saliva y, por lo tanto, ha recolectado muestras de casi 200 personas participantes que cumplen con los criterios de inclusión establecidos por el Ministerio de Salud.

De esa forma tuvimos acceso a las muestras de saliva. Una vez que ya firmamos el convenio logramos desplazarnos a los laboratorios y ahora estamos en validación de los kits utilizando muestras de saliva humana real. De manera preliminar, sabemos que los kits RT-LAMP funcionan de acuerdo con los criterios de sensibilidad y especificidad solicitados por el Ministerio de Salud para hisopado nasofaríngeo.

En este momento estamos haciendo algunos ajustes para mejorar y poder igualarnos con la prueba estándar de oro que es la RT-PCR".

El propósito es que el país tenga un recurso adicional a la PCR hasta un 70 % más barata. Karla Richmond

Panorama

—Dr. Gatica, ya varios organismos internacionales, como el Instituto de Salud Global de Barcelona, indican que el COVID-19 llegó para quedarse como una enfermedad estacional. ¿Cuándo cree usted que estarán los kits listos y disponibles para el país?

—**AGA:** “En efecto. El virus llegó para quedarse y si disponemos de una prueba que permita hacer un testeo a bajo costo y rápido, los aportes serán notables. Hoy vemos países como Inglaterra o Rusia que ya están enfrentando nuevas olas y, por lo tanto, se mantiene la validez e importancia de la prueba.

Claro está que el avance no ha sido lo suficientemente rápido como queríamos. Las piedras del camino que hemos tenido que liberar son muchas y el cumplimiento de diversos trámites a lo externo es en ocasiones muy complejo. Muchas cosas demoran más de lo que uno esperaría.

Sin embargo, quiero dejar claro que esta demora no ha sido de parte del grupo de investigación, sino algo fuera de nuestro control y que, a pesar de que ya está la vacuna disponible y una gran cantidad de la población costarricense está vacunada, todavía se siguen dando casos de COVID-19 en nuestro país y en el ámbito internacional. Recordemos también que esta tecnología se puede aplicar al diagnóstico de otras enfermedades como el virus del Dengue, Zika o Chikunguña; no solo COVID-19”.

—**¿Y cuál es el porcentaje de avance logrado al día de hoy”.**

—**AGA:** “Nuestro diseño experimental desde un inicio contemplaba varios ejes. El primero de ellos era validar los tres kits que mencioné. Eso está en un 75 %. Todavía falta validar un kit pero ya podemos someter los resultados al Ministerio de Salud y solicitar que se dé la autorización de usar la RT-LAMP en hisopado nasofaríngeo.

El segundo componente consistía en utilizar muestras de saliva en donde extrajésemos el material genético al utilizar kits comerciales, tenemos un avance del 50 %. Hemos validado unos de los kits con resultados que calzan con lo que indica el Ministerio de Salud, por lo que podríamos ya solicitar la inscripción, registro y autorización de ese kit. En cuanto a los otros dos kits que estamos probando nos hacen falta ajustes.

El tercer eje es tratar la muestra de saliva con calor para inactivar el virus y romper la membrana proteíca que lo cubre, de manera que se libera el virus al exterior sin requerir extracción con un kit comercial. Esto tiene el valor agregado de necesitar menos insumos. El avance aquí ha sido de un 25 % y hemos experimentado algunos inconvenientes”.

—**¿Podría mencionar algunos de esos inconvenientes?**

—**AGA:** “Esos inconvenientes tienen que ver con el pH (acidez) de la muestra. Una de las pruebas utiliza un indicador de cambio de color que se basa en un cambio de pH. Entonces, si la muestra desde un inicio tiene un pH muy ácido, se torna positiva sin indicar, necesariamente, que ese paciente es positivo para el COVID-19. Ahí hay un problema inherente al pH de la muestra.

Por lo tanto, estamos intentando solucionar ese inconveniente para ya poder completar los tres ejes de la parte metodológica. Una vez que tengamos eso, someteremos los resultados al Ministerio de Salud para que ellos analicen y autoricen el uso de la saliva como una muestra biológica para la detección del virus”.

La idea es que la RT-LAMP no sustituya a las pruebas de PCR en tiempo real, sino que sea una opción complementaria. Karla Richmond

Alianza internacional

—El viernes 1 de octubre de este año, ustedes anunciaron el establecimiento de nuevos vínculos internacionales mediante una red integrada por investigadores de Nicaragua, Guatemala, Panamá y el Caribe. ¿Qué nuevos aportes o beneficios trae ese paso dentro del proyecto?

—**AGA:** "Somos parte de una red temprana de detección del virus que causa el COVID-19. Tenemos diferentes países de la región centroamericana y el Caribe. En algunos países como Nicaragua y Guatemala se ha avanzado de manera positiva y más rápida que Costa Rica. Ellos ya lograron validar la prueba a nivel clínico.

En Nicaragua también. Un grupo de trabajadores hicieron las pruebas en personas menores de 18 años. Esa experiencia que ellos lograron adquirir se podría transmitir a Costa Rica a través de la red. República Dominicana, por su parte, tiene experiencia en el uso de la tecnología RT-LAMP en la detección de otras enfermedades como dengue y malaria.

Lo anterior abre la oportunidad de que la tecnología se pueda aplicar para la detección de otro tipo de enfermedades. De hecho, de manera preliminar, debido a la experiencia que logramos adquirir con la tecnología RT-LAMP estamos montando una propuesta para innovar en la detección de hongos, virus u otros patógenos de importancia agrícola. Toda la experiencia acumulada nos permite enfocarnos en usar este insumo para otras problemáticas".

—¿Y cómo llegan a la red? Francisco Alarcón Álvarez, del Consejo Superior Universitario Centroamericano (CSUCA), indicó en el simposio que ustedes superaron un concurso internacional con más de 90 iniciativas y que solo 8 fueron electas. Entre ellas, ustedes.

—**AGA:** "Como usted lo menciona, la iniciativa de la red surgió de una convocatoria que sacó el CSUCA en el 2020 para establecer redes temáticas. Comenzamos a comunicarnos con algunos investigadores de Guatemala, estos contactaron a otros de República Dominicana y yo a otros de El Salvador. La idea es ofrecer la tecnología RT-LAMP, transferir capacidades y experiencias a nivel centroamericano.

Como lo mencionó don Francisco, fueron bastantes las propuestas sometidas al concurso y solamente ocho fueron seleccionadas. Afortunadamente, Costa Rica estaba en esas ocho. Se preveía que la red iniciaba en enero, pero por los trámites administrativos, la misma se inscribió hasta el 31 de agosto.

Con esta red reunimos un grupo talentoso de científicos que han venido trabajando en la tecnología para la detección del virus SARS-CoV-2 y otras enfermedades infecciosas. Esto nos asegura intercambio de experiencias y de protocolos de trabajo. Lo que queremos es fortalecer nuestras capacidades y adquirir nuevos recursos. Por ejemplo, al entrar a la red ganamos 15 000 dólares que se van a utilizar en la capacitación de los países miembros.

Además, se involucra el modelado matemático. En esos países podremos aplicar los modelos que desarrollamos para analizar la tendencia y comportamiento del virus, acordes a las medidas sanitarias, además de la comunicación y visualización de los resultados".

—**Dr. Gatica, ¿en qué aspecto específico se estarán enfocando?**

—**AGA:** "Estaremos enfocando la investigación en la parte práctica. Hemos tratado de dar una fecha pero, por diferentes situaciones esa proyección se ha ido alargando. Yo esperaría un máximo de seis meses a más tardar para tener los resultados de la investigación en la parte práctica finalizada.

Lo que estamos haciendo ahora en los laboratorios es tratar de solucionar el reto de regular el pH de la muestra de saliva. Para ello, estamos analizando algunas soluciones amortiguadoras (líquidos químicos) para atenuar el pH de la muestra. Ahora estamos haciendo varias combinaciones de saliva con esas soluciones en diferentes proporciones a ver cuál es el resultado".

Se calcula que en una semana, y con solo 10 de estos dispositivos, más de 200 000 análisis podrían realizarse. Karla Richmond

Más objetivos

—Doctor, me llama la atención cuando usted indica que esta tecnología podría usarse para otras aplicaciones e identificar la presencia de otros virus, incluso hongos en la parte agrícola. ¿Qué tan fácil será adaptar esta tecnología para lograrlo con éxito en el país? ¿O se requerirá de un esfuerzo adicional y mayor?

—**AGA:** "Es importante mencionar que la tecnología debe ser optimizada a cada uso que se le desee dar. Debemos de ver la matriz en la cual podemos detectar la presencia de ese organismo infeccioso. Si es saliva, sangre o a partir del tejido de una hoja en el caso de las plantas.

Lo primero es ver cuál es la matriz para la detección. Lo segundo es identificar regiones específicas del material genético del patógeno (bacteria, hongo o virus) y diseñar un iniciador (primer) a partir de la secuencia del material genético para que, con la tecnología RT-LAMP, podamos amplificar el material genético de ese organismo patógeno y, así, decir si está presente o ausente. Con todos los avances y aprendizaje que hemos tenido, estas adaptaciones no serán complejas. El conocimiento ya lo tiene el país".

—Ahora bien, don Andrés, anteriormente usted me indicó que el proyecto también estaba trabajando en un tubo de colecta para muestras de saliva con el uso de nanopartículas y el diseño de un laboratorio móvil. ¿Cómo van con esas nuevas metas?

—**AGA:** "¡Claro! Uno de los logros que hemos obtenido con la Escuela de Ingeniería Mecánica de la UCR es el diseño de un tubo de colecta para la saliva. El diseño de este tubo ha estado a cargo del M.Sc. Fernando Flores y la Ing. Ximena Horvilleur Gómez.

A nivel internacional existen diferentes tubos disponibles, pero nuestra idea es contar con nuestros propios insumos a nivel nacional. Este tubo de colecta tiene ciertas características que lo hacen novedoso, como una cubierta externa de nanopartículas con actividad antiviral, a fin de reducir el riesgo de contagio a la hora de manipular el tubo.

¿Qué quiere decir esto? Que a la hora de que la persona lo toma y deposita la muestra de saliva, puede haber un derrame de la muestra y que esta contamine la superficie externa del tubo. Actualmente, se le pone una solución al tubo externo para desinfectar. La propuesta de nosotros es diseñar una capa de nanopartículas que inhiba esa capacidad viral".

—**¿Y en cuanto al laboratorio?**

—**AGA:** "Hemos diseñado un laboratorio móvil en papel. La propuesta de diseño, a cargo del M.Sc. Fernando Flores, tiene todo lo necesario para establecer un laboratorio microbiológico de detección al COVID-19 y cualquier otra enfermedad.

Este laboratorio cuenta con un nivel de bioseguridad tipo dos y tiene todos los requerimientos de espacio y equipo para llevar a cabo la detección del virus. Además, posee la ventaja de desplazarse a diferentes lugares como las zonas agrícolas o parques industriales. El propósito es luego presentarlo y buscar financiamiento para hacerlo una realidad.

Otro elemento que deseo resaltar es el desarrollo de modelos matemáticos para ver el comportamiento del virus a cargo del Dr. Mario Villalobos, de la Escuela de Matemática de la UCR. Con base en los datos públicos disponibles por el Ministerio de Salud, se puede analizar el comportamiento del virus y proyectar nuevas olas de contagio.

Asimismo, tenemos el apoyo del Dr. Michael Solís, quien trabaja un modelo para determinar costos. Costa Rica tiene la prueba de oro (la RT-PCR) y la de antígenos. Entonces, estamos comparando cuánto cuesta hacer la prueba de RT-PCR, versus antígenos y versus RT-LAMP.

—**Ya para cerrar, Dr. Gatica, ¿cuáles son los principales aprendizajes que usted más rescataría de todo este proceso tan complejo, como lo es innovar en un campo poco abordado a nivel nacional y tan lleno de obstáculos como lo mencionó anteriormente?**

—**AGA:** "Todas estas limitantes que hemos tenido que enfrentar nos han dado importantes lecciones aprendidas y que se verán en otros proyectos a futuro, con una mayor agilidad o rapidez en la respuesta para poder desarrollar este tipo de pruebas orientadas al diagnóstico de enfermedades.

De ahí es la importancia del fortalecimiento de las capacidades y experiencias logradas a través del proyecto. La colaboración interdisciplinaria ha sido sumamente enriquecedora en este proyecto. Contamos con profesionales de Biología, Farmacia, Ciencias de la Comunicación, Matemática, Físicos, Médicos, etc. El aporte que cada uno hace desde su disciplina ha contribuido positivamente en la búsqueda de una solución a un problema en común.

En todo momento, el equipo de trabajo ha sido perseverante y ha dado un importante esfuerzo porque estamos convencidos de la importancia del proyecto. Muchos, sin carga académica que reconozca la labor.

No obstante, sí estamos claros que debemos mejorar la cercanía con el Ministerio de Salud y la Caja Costarricense de Seguro Social y la empresa privada. De la misma manera, es necesario abrirnos más al mundo externo y compartir ese conocimiento

Aún, con todo lo anterior, hemos recibido apoyo por parte de ciertas organizaciones como Boston Scientific, el Servicio de Acción y cooperación para América central (SCAC) y el Banco Centroamericano de Integración Económica. Sin el apoyo de estas organizaciones la propuesta no hubiera sido posible. Esto es importante en el contexto nacional, pues la universidad tiene un limitante en cuanto a recurso de investigación".

Jenniffer Jiménez Córdoba
Periodista, Oficina de Divulgación e Información
Área de cobertura: ciencias de la salud
jenniffer.jimenezcordoba@ucr.ac.cr

Etiquetas: pruebas de saliva, rt-lamp, farmacia, biologia, covid-19, sars-cov-2, virus.