

—BAJO LA LUPA—

CIENCIA Y SALUD EN VENEZUELA, LA INTERACCIÓN PERFECTA CONTRA EL SARS-CoV-2

Es justa y necesaria

Lic. Domingo Garzarano (IVIC)

MSc. José Cubillan (IVIC)

Dr. Miguel Alfonzo (INHRR)

Muy pocas veces ha sido tan notable el impacto para la sociedad venezolana cuando se articula el sector salud con el científico, como lo que ha ocurrido en el marco de la pandemia por SARS-CoV-2 en el país. El esfuerzo mancomunado que han realizado los hombres y mujeres de ambos sectores, uniendo conocimientos, experiencias, voluntades e incluso, intensidades en el fragor de esta lucha que se está librando en estos precisos momentos, ha ocasionado el “milagro” de dar, certeramente, en el blanco para controlar la infección viral en la población.

Las medidas tomadas por el presidente Nicolás Maduro para evitar la catástrofe nacional por el mortal virus se sostienen con el conocimiento científico y la comunicación que ha tenido el líder con los venezolanos, las cuales, han sido la combinación perfecta para obtener este vital objetivo. Logro destacado por la OMS. Logro que está siendo testigo todo el continente americano y que nosotros queremos resaltar con detalles en este artículo destacando las interacciones de ambos sectores.



El 31 de diciembre de 2019, antes de las vacaciones del Festival de Primavera de 2020, y del Año Nuevo Lunar chino, se notificó un grupo de casos de neumonía, causados por un patógeno desconocido en Wuhan, una ciudad de 11 millones de habitantes y el centro de transporte más grande de China. Después que se identificó el virus como un nuevo coronavirus denominado SARS-CoV-2, que, además, se confirmó que el contagio ocurría de persona a persona y que era evidente la posibilidad de una rápida expansión de la enfermedad, se produjo

una gran preocupación en el gobierno chino y la OMS, iniciándose una lucha paralela entre la expansión del virus y las medidas a tomar por los gobiernos de los países. Muchos banalizaron la amenaza, pocos la tomaron en cuenta, pero sus medidas fueron débiles ante el tsunami que le llegaba, y muy pocos, tomaron las medidas justas en sus dimensiones y en el tiempo.

Uno de esos casos fue el del gobierno venezolano, cuya lucha contra la pandemia no se inició cuando se reportaron los dos primeros casos de COVID19 el 13 de marzo, ni

cuando el presidente Maduro anunció la cuarentena colectiva, radical y voluntaria a partir del 16 de marzo, sino desde el mismo comienzo de la pandemia en China. Es decir, desde enero se comenzaron a unificar los esfuerzos de los científicos con el sector salud.

Las primeras fases de una pandemia, de acuerdo a los criterios de la OMS, las autoridades sanitarias y epidemiológicas venezolanas comenzaron a conocer la existencia del virus en otros países, iniciaron la adopción de acciones preparatorias ante una posible llegada de

los casos al país. Asimismo, se comenzaron a definir protocolos, establecer hospitales para la atención de posibles casos, e iniciaron los controles sanitarios en los aeropuertos y otros puntos de ingresos al país. Todos estos preparativos se comienzan gradualmente desde enero-febrero con numerosas reuniones de planificación y toma de decisiones.

Por otra parte, los científicos venezolanos, específicamente, los del INHRR, comienzan a tomar acciones, de acuerdo a protocolos ya establecidos en una situación de pandemia, solicitando información y los insumos necesarios a la Organización Panamericana de la Salud (OPS). De esta forma, se estandariza un protocolo de Biología Molecular que se publicó el 13 de enero de 2020, desarrollado en el hospital universitario de Charité en Berlín (Alemania), para el diagnóstico de COVID19 (Charité, 2020). Ya en febrero se estaba entrenando el personal para desarrollar este protocolo en las instalaciones del instituto.

Por otra parte, en las diferentes universidades venezolanas, se comenzó desde febrero, a establecerse espacios de información y discusión sobre la posible pandemia que para esa fecha aún no estaba declarada como tal. Se realizaron foros, conferencias, simposios, mesas redondas y reuniones de planificación para adoptar las medidas necesarias para enfrentar la amenaza. Es decir, el sector científico se estaba preparando ante un nuevo virus, una nueva enfermedad, ante lo desconocido.

Sin embargo, posiblemente todos hechos descritos ya son hartos conocidos por el país, incluso en el numero anterior de la revista (Nº 4) destacamos parte de esa información por lo que no queremos ser repetitivos. En esta oportunidad queremos destacar dos he-

chos que están en pleno desarrollo durante esta fase controlada de la pandemia en la población. Hechos que reflejan la interacción del sector científico que han permitido solucionar o están en vías para lograr la permanencia de este control de la infección viral y que procedemos a describir.

LA UNIDAD MOVIL DEL LABORATORIO DE DIAGNOSTICO DEL INHRR.

En diciembre del 2015, el Gobierno Bolivariano inauguró dos laboratorios móviles de bioseguridad. Con una inversión de 4 millones 400 mil dólares, con el fin de desarrollar proyectos y líneas de investigación aplicadas en el área de diagnóstico de enfermedades transmitidas por agentes patógenos de alto riesgo, fortaleciendo el Sistema Nacional Público de Salud.

Estos laboratorios de alta tecnología: uno con nivel de seguridad biológica 2 (NSB-2) y otro con nivel de seguridad biológica 3 (NSB-3), los cuales, estarían ubicados en las instalaciones del INHRR cumpliendo con las normas de bioseguridad, biocontención y calidad necesaria para mejorar la capacidad diagnóstica de enfermedades causada por agentes patógenos.

Con esta adquisición, Venezuela se colocaba en la punta de poseedores de alta tecnología del mundo, sólo Brasil, México, Canadá y Estados Unidos tienen estos grandes laboratorios, epara el procesamiento de cualquier microorganismo asociado a enfermedades emergentes y reemergentes.

Paródicamente, estos laboratorios se pensaron para el potencial uso ante la posible llegada del Ébola, que en esos momentos asolaba al territorio africano, pero nunca llegó a esta *Tierra de Gracia*, pero con la pan-



Fig 1. Unidad del Laboratorio Movil del INHRR con nivel de seguridad biológica 2 (NSB-2) del INHRR durante su acondicionamiento para salir al edo Táchira con el objetivo de diagnosticar el SARS-CoV-2.



Fig 2. Parte del equipo tecnico y científico del INHRR que partían para el edo Táchira con el fin de trabajar en la Unidad del Laboratorio Movil del INHRR con nivel de seguridad biológica 2 (NSB-2) para el diagnóstico de SARS-CoV-2 (13-04-2020).

demia actual de coronavirus, se reactivó y se acondicionó uno de ellos para ir al Edo Táchira (**figura 1**), región fronteriza con Colombia y puerta de entrada del virus ante los miles de connacionales que huyen de los países de Suramérica hacia su tierra natal.

En el desarrollo de esta importante acción conjunta entre funcionarios del MPPCyT (IVIC) y del MPPS (INHRR) (**figura 2**) se han realizado miles de pruebas de RT-PCR contra SARS-CoV-2 en esta región andina. Están colaborando arduamente para ser efectivo el cordón sanitario que estableció el alto gobierno. Todos sus procesos para el diagnós-

tico (registro de los pacientes, procedimiento de la técnica de Biología Molecular y reporte de resultados) están íntimamente en coherencia con lo que se realiza en la sede principal del INHRR, garantizando que los resultados obtenidos sean precisos, específicos y en tiempo real.

Próximamente, debido al aumento de los casos positivos de SARS-CoV-2 en el país, principalmente casos importados de Colombia, Perú, Ecuador y Brasil, el gobierno presidido por Nicolás Maduro activará una red de centros para el diagnóstico por PCR, en previsión de un mayor número de casos que sobrepa-

sar la capacidad operativa del INHRR y de su laboratorio móvil.

MEJORAMIENTO DEL PROTOCOLO PARA DIAGNOSTICAR EL SARS-CoV-2.

Otro ejemplo que queremos mostrar de esta articulación, es la decisión de mejorar el protocolo científico para detectar al virus mediante las técnicas de biología molecular.

Las medidas de vigilancia epidemiológica llevadas a cabo en Venezuela dictadas por el alto gobierno de la República Bolivariana de Venezuela, han resultado ser eficientes en el control de la pandemia de la enfermedad

por coronavirus (COVID-19), logrando mantener aplanada la curva de casos positivos a través de un estrecho cerco epidemiológico sobre los mismos.

Esto ha sido posible por las medidas de cuarentena colectiva, radical y voluntaria y distanciamiento social, así como la gran cantidad de pruebas clínicas y de diagnóstico que se han realizado. Sin embargo, esto último, ha ocasionado **a nivel mundial** un alto costo en insumos y reactivos, específicamente, para el diagnóstico mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del SARS-CoV-2, ocasionando la escasez de los mismos, lo que podrá traducirse en la disminución acelerada de la posibilidad de detección de casos, afectando de esta manera, el control de la infección en los diferentes países.

Hasta ahora, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce la técnica de reacción en cadena de polimerasa cuantitativa de transcripción inversa (RT-qPCR) para detectar el ARN del SARS-CoV-2 (**figura 4**), como prueba de referencia para la detección de casos por COVID-19, partiendo de un hisopado faríngeo o nasofaríngeo, preservado en un medio de transporte denominado comúnmente en el ambiente clínico como "virocult".

Esta prueba molecular incluye una serie de pasos dentro de los cuales destaca el uso de estuches comerciales (kits) necesarios para la extracción del ARN viral a partir de la muestra preservada en el "virocult" (**figura 5**).

Venezuela no escapa a esta realidad, y ante el gran riesgo de un agotamiento global en los inventarios de los kits de extracción de ARN, tanto aquellos provenientes de donaciones por países aliados y organizaciones Internacionales (OPS, UNICEF, entre otros),



Fig 3. Parte del equipo técnico y científico del INHRR y del IVIC en el edo Táchira trabajando en la Unidad del Laboratorio Móvil del INHRR con nivel de seguridad biológica 2 (NSB-2) para el diagnóstico de SARS-CoV-2 (18-04-2020).



Fig 4. Estuche (kit) para el diagnóstico de SARS-CoV-2 (18-04-2020).

como aquellos adquiridos por el Estado, se procedió a estandarizar un protocolo alternativo para el diagnóstico molecular del SARS-CoV-2, que excluya el paso de extracción del ARN viral.

Para ello, se realizaron los ensayos de prueba en las sedes del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) y del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INHRR), basados en los protocolos descritos de Bruce y col. (2020) y Shatzkes y col. (2014).

Se emplearon muestras clínicas de 29 individuos con positividad para SARS-CoV-2, previamente procesadas mediante el protocolo de diagnóstico molecular por PCR en tiempo real (Corman y col, 2020). Se procedió a realizar ensayos comparativos entre el protocolo de Corman y col (2020) versus un protocolo simplificado utilizando las muestras directamente desde el medio de transporte de los hisopados (Bruce y col., 2020). Éstas fueron concentradas por centrifugación y disueltas en una solución precalentada de lisis con detergente no iónico (Nonidet P-40) (uso "directo" de la muestra extraída del hisopo al RT-qPCR).

Después de realizar tres ensayos, los resultados sugirieron que la metodolo-



Fig 5. Escasez de estuches (kit) para el diagnóstico de SARS-CoV-2 en España (El Mundo, 08-04-2020).

gía evaluada permite la detección molecular de SARS-CoV-2 a través de RT-qPCR sin comprometer sustancialmente la sensibilidad. Con el protocolo de Bruce y col. (2020) se obtiene 78 % de coincidencia de positividad entre las dos metodologías (**tabla 1**). El valor de Ct obtenida por el protocolo modificado fue menor que el Ct proveniente de la muestra que se le extrajo el ARN por el metodo de Corman y col (2020) y del control positivo (Ct = 27,6 vs 29,6 vs Ct = 33, respectivamente), tal como se observa en la **figura 6**.

Por lo anterior, la RT-qPCR directa desde el medio de transporte del "Virocult" podría ser un enfoque de primera línea para diagnosticar a la mayoría los pacientes con COVID-19, reservando una prueba repetida con extracción del ARN viral utilizando estuches comerciales de extracción para aquellos individuos con alta sospecha de infección, pero con un resultado negativo inicial.

Esta estrategia facilitaría drásticamente los puntos críticos de suministro de las pruebas COVID-19. En el caso de Venezuela, la implementación de este protocolo alternativo no solo permitiría el seguimiento epidemiológico de la pandemia y su control, sino que

ahorraría divisas del presupuesto del Estado para la compra de kits de extracción del ARN. Es de hacer notar que, aunque es necesaria una confirmación adicional utilizando un tamaño de muestra mayor y otros parámetros del ensayo, estos resultados preliminares son alentadores para simplificar el flujo de trabajo, soportando pruebas a gran escala para el control y diagnóstico de COVID-19.

Como se ha podido observar, son dos muestras de las numerosas actividades que están desarrollando de forma articulada estos dos ministerios, representando el sector salud y el sector científico, cuyos resultados son altamente significativos para el control de la pandemia y para el ahorro de divisas, altamente necesarias actualmente en el país.

No sólo la pandemia ha traído desgracias y dolor, sino que el humano, sobreponiendo estas calamidades, ha logrado superar murallas burocráticas, incluso, mentales, para poder unir esfuerzos, con la búsqueda de las soluciones para la supervivencia ante esta

Número de identificación	Valor de Ct					
	Gen ORF (INHRR) ^a	Gen ORF (IVIC) ^b	Gen N (INHRR) ^a	Gen N (IVIC) ^b	Control interno (INHRR) ^a	Control interno (IVIC) ^b
13	32	35	33	35	23	31
14	32	37	31	33	26	27
15	31	Negativo	31	37	26	22
16	40	Negativo	34	Negativo	27	25
17	37	Negativo	37	Negativo	27	28
18	36	36	40	37	23	25
19	Negativo	Negativo	39	Negativo	37	25
20	31	Negativo	30	39	35	33
21	36	Negativo	34	35	36	26
22	29	Negativo	30	37	25	20
23	29	37	30	35	26	21
24	34	37	26	37	36	25
25	32	38	37	34	22	25
26	37	Negativo	35	38	28	28
Percentaje Positividad	92,9	42,9	100	78,6	100	100

Tabla 1. Valores de Ct obtenidos del tercer ensayo. a: Muestras de hisopados que se les extrajo el ARN viral mediante QIAamp Viral RNA Mini (Qiagen) para aplicarles el RT-qPCR; b: Muestras de hisopados (200μl) centrifugadas (25.000 g por 30 min a 4°C) y diluidas con 60μl de solución de lisis previamente calentada a 70°C por 10 min para aplicarles el RT-qPCR. Los genes específicos para SARS-CoV-2 son ORF y N: Control interno; gen RP (ARNasa humana). Fueron corridos 45 ciclos con las condiciones del "Novel Coronavirus(2019-nCoV) Nucleic Acid Diagnostic Kit (PCR-Fluorescence Probing)" de Sansure Biotech,

gran amenaza que llegó inesperadamente.

¡Que viva los trabajadores de la Salud y de la Ciencia en Venezuela!

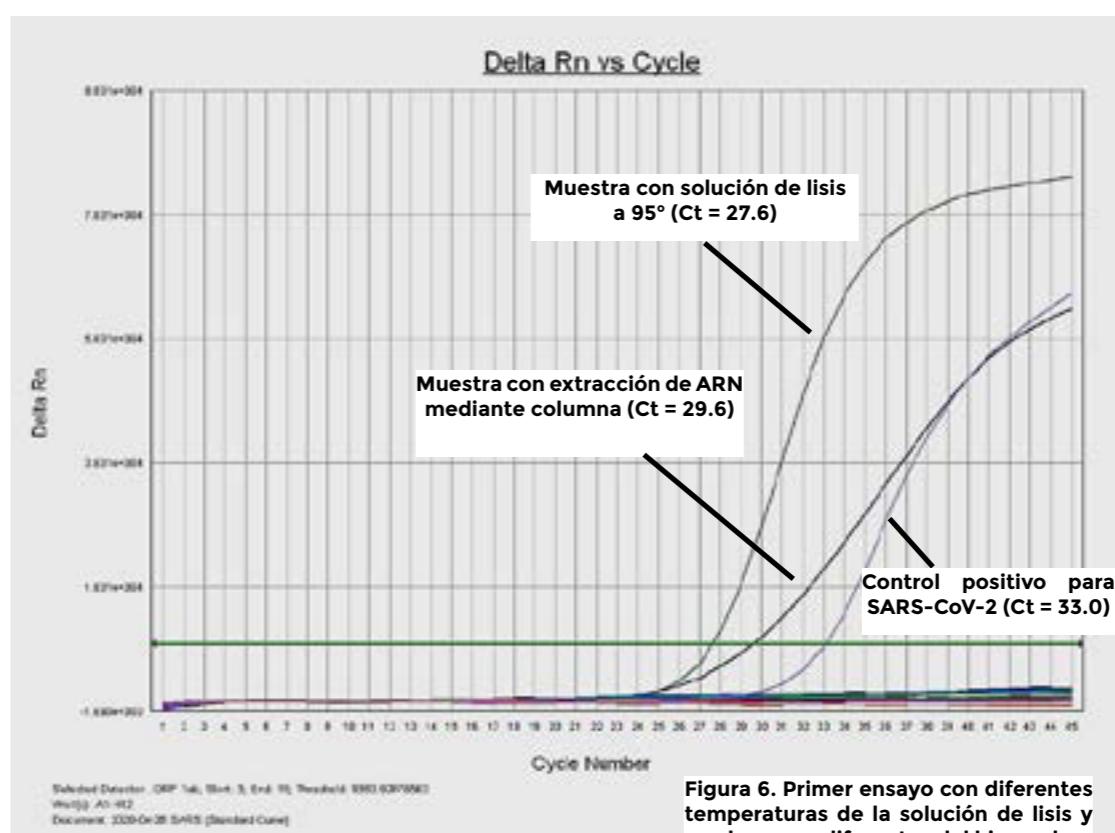


Figura 6. Primer ensayo con diferentes temperaturas de la solución de lisis y a volúmenes diferentes del hisopado.