

Resumen de la entrevista al Dr. Vicent Pelechano (Instituto Karolinska) con motivo de la pandemia de COVID-19

Dentro de esta pandemia global en la que nos encontramos, tenemos la suerte de contar con científicos dispuestos a poner todos los recursos y tiempo en sus manos para contribuir a entender las causas y mitigar sus efectos. Uno de esos científicos es el Doctor Vicent Pelechano. Graduado por la Universidad de Valencia, Vicent pasó varios años en el prestigioso Laboratorio Europeo de Biología Molecular (EMBL) en Heidelberg, antes de trasladarse a Suecia, donde lidera un laboratorio de biología celular en el Instituto Karolinska de Estocolmo. Su trabajo se centra en la caracterización de las respuestas celulares ante distintos estímulos, como puede ser el caso de las células tumorales ante un determinado tratamiento farmacológico. Sin embargo, desde el mes de enero este científico se ha embarcado en la ingente tarea de desarrollar nuevas técnicas para el diagnóstico rápido y sencillo de la COVID-19. Entrevistamos al Dr. Pelechano en una sesión abierta para nuestros socios, de la que, a continuación, os ofrecemos una versión resumida. La entrevista completa se encuentra disponible en el siguiente [link](#), así como la [mesa redonda](#) posterior.

¿Cuáles son los principales métodos usados en este momento para diagnosticar la infección por SARS-CoV-2?

Hay dos tipos principales de test: los que se centran en encontrar el material genético del virus (en este caso ARN) y los que se centran en detectar proteínas (proteínas víricas o anticuerpos generados por el cuerpo tras la infección). Estos test son importantes, pero sus aplicaciones son muy diferentes. Los que se centran en el material genético vírico nos dan información de si el paciente está infectado en este momento, mientras que los test de anticuerpos nos indican si el paciente ha estado expuesto al virus y si, potencialmente, puede haber creado inmunidad. Los test en los que nuestro grupo está trabajando entran dentro de la primera categoría.

¿En qué consiste la técnica LAMP con la que estáis trabajando?

La técnica LAMP (*loop-mediated isothermal amplification method*, en español amplificación isotérmica medida por bucle) es una técnica bastante antigua que se inventó como respuesta a la patente de la técnica de PCR (*Polimerase Chain Reaction*, en español reacción en cadena de la polimerasa). Con la PCR se pueden crear muchas copias de material genético usando unas reacciones moleculares que dependen de unos ciclos de temperatura oscilante, mientras que la LAMP permite crear igualmente muchas copias, pero sin necesidad de variar la temperatura a lo largo de la reacción. Esta técnica había sido usada con anterioridad en contextos en los que no había acceso a electricidad o maquinaria necesaria para la PCR, ya que lo único que se necesita es una temperatura constante y los reactivos. Esta característica de la LAMP hace que sea más accesible y potencialmente pueda ser usada en diferentes partes del mundo para diagnosticar COVID-19. Nuestro grupo ha estado estos últimos meses trabajando para optimizar esta técnica y su aplicación para detectar exclusivamente la infección por SARS-CoV-2.

¿Aparte de la simplicidad del material necesario para usar LAMP en este contexto, qué otros beneficios tiene?

Para empezar, se puede emplear de diferentes maneras. Por ejemplo, esta reacción se puede mezclar con un marcador de pH, de manera que si hay replicación del material genético se puede determinar visualmente si la prueba es positiva o negativa, según un simple cambio de color en el marcador. Esto hace que el ámbito de aplicación la prueba sea muy versátil, ya que el personal sanitario podrá determinar el resultado del test sin necesidad de una formación específica.

¿Tiene esta nueva técnica los mismos niveles de detección (sensibilidad) que la clásica PCR?

Esta es una de las limitaciones de la LAMP ya que, si hay muy poco material genético de base, puede resultar en ruido y una respuesta poco fiable. Aunque a lo largo de nuestras investigaciones hemos conseguido que la técnica funcione con una carga viral de tan sólo 10-40 moléculas presentes en la muestra, para asegurar una respuesta válida y suficientemente diferente del control negativo estimamos necesaria la presencia de unas 1000 moléculas en la muestra del paciente. Esto significa que LAMP quizá no sea la mejor técnica para detectar la infección tanto para pacientes que han adquirido el virus recientemente, como para los que están saliendo de la infección.

¿Cómo de rápida es esta técnica?

En principio los resultados pueden estar listos en unos 30 minutos, aunque, nuevamente, esto depende de la carga viral de la muestra usada. En casos con carga viral muy alta a los pocos minutos ya hay cambio de color, pero lo mejor es esperar hasta la media hora para leer los resultados.

¿Es LAMP únicamente cualitativa o también se puede obtener un resultado cuantitativo para determinar la carga viral de la muestra original?

En combinación con el uso de componentes fluorescentes, la LAMP también se puede convertir en una técnica cuantitativa como la qPCR (o PCR cuantitativa). Sin embargo, la qPCR es más precisa y por eso seguirá siendo la técnica de referencia, aunque necesita más material y equipamiento, y es considerablemente más cara y lenta. Por eso, nuestra propuesta es especialmente interesante en aquellas situaciones en las que el presupuesto, medios y velocidad sean un factor limitante.

¿Cuál es la diferencia entre sensibilidad y especificidad en estas técnicas?

Tiene que ver con la cantidad de falsos negativos y falsos positivos que se pueden encontrar con los tests. Si un test puede detectar todas las muestras positivas, es un test muy sensible.

¿Es necesario llevar a cabo estos test con material y equipamiento validados?

Este es el principal problema actualmente, muchos protocolos necesitan estar funcionando y tiene que haber una validación general. Mientras tanto la fase experimental no permite que los test se usen a nivel clínico. En Suecia aún no hay validación para este LAMP, pero en China si la hay y se está utilizando.

¿La tasa de mutación del SARS-CoV-2 y su evolución son factores que pueden afectar al uso de estas nuevas técnicas de diagnóstico en el futuro?

Si, es un factor muy importante a tener en cuenta. Cuando se diseñó la técnica se buscaron regiones del virus que por un lado fuesen diferentes entre SARS-CoV-2 y otros coronavirus que infectan humanos, mientras que por el otro lado han de ser regiones suficientemente estables para no cambiar mucho según evoluciona el virus. Los grandes esfuerzos a nivel global secuenciando muchas muestras del virus son esenciales para entender su evolución, lo cual puede ayudar en un mejor diseño de las técnicas de diagnóstico.

¿Llegará el momento en el que sea posible distribuir un test casero para COVID-19? ¿Es razonable, necesario o recomendable?

Si, es posible, y cierto número de *startups* están colaborando con diferentes laboratorios para crear este tipo de test. Sin embargo, estos test caseros deben de estar normalizados y evaluados, y se debe ser muy específico y riguroso con la interpretación del resultado (positivo/negativo) de un posible test casero. En principio puede ser algo muy útil, pero la implementación y los potenciales problemas sociales hacen que este sea un tema bastante complicado.

En relación a las estrategias de pruebas de diagnóstico (masivas vs. muy escasas), ¿qué crees que funciona mejor?

Hay que considerar la pregunta a varios niveles: cómo de útil es hacer el test para el paciente, cómo de importante es hacerlo para que un paciente evite contagiar a otro, y cómo de importante es para el país y el mundo saber a cómo la epidemia se está moviendo en la población a nivel nacional o internacional, y tomar las medidas oportunas. Estos factores deben tenerse en cuenta a la hora de crear estas estrategias y no tan solo mirar la capacidad real para hacer los test en sí. Un punto en el que hemos fallado en esta ocasión es no hacer más test en fases iniciales de la expansión de la epidemia.

¿Requiere esta técnica la extracción de ARN del virus de la muestra del paciente?

Hemos probado a hacer la prueba sin necesidad de extracción y ahora mismo estamos optimizando los reactivos usados. El problema principal es el método de conservación de la muestra desde que se obtiene hasta que se hace la prueba, ya que el que se usa rutinariamente para muestras víricas es bueno para conservar el virus, pero no ideal para realizar pruebas de biología molecular. Actualmente estamos trabajando en crear nuevos protocolos para resolver este problema.

¿Cómo surgió la oportunidad de trabajar en este proyecto y la colaboración con China?

¡Como todo en ciencia, fue simplemente un conjunto de acontecimientos! Un científico de mi laboratorio retornó a China para continuar su carrera como profesor universitario, pero mantuvimos la colaboración. En enero, durante una visita de mi colaborador a nuestro instituto, fue cuando la epidemia comenzó en su país y decidimos ayudar en esos primeros momentos. Al principio fue más a nivel de diseño, y la primera parte experimental fue realizada en China, pero según la epidemia se fue expandiendo a más países, decidimos seguir esa línea de investigación y ampliar y optimizar las técnicas.

¿Cómo se financia este trabajo?

Al principio no había ningún presupuesto específico por lo que fuimos usando recursos de otros proyectos, algo que nos permitieron dado el impacto de esta epidemia. Ahora ya hay financiación dedicada tanto desde la fundación sueca Wallenberg (KAW) como desde el consejo de investigación sueco (VR), que ha aprobado el movimiento de recursos de otros proyectos al proyecto de diagnóstico.

¿En qué vais a estar trabajando en los próximos meses?

Ahora mismo estamos intentando desarrollar unas nuevas técnicas que podrían ser más rápidas que la LAMP. No sólo eso, sino que potencialmente podrían usarse de forma masiva en sitios públicos, como es el caso de aeropuertos, lo cual podría ser un factor muy interesante para evitar la expansión del virus a nivel global.

¿Hay posibilidades o planes para colaborar con las instituciones españolas en cuanto al diagnóstico de la COVID-19?

Nuestro grupo ha establecido algunos contactos con diversos grupos españoles. En España hay investigadores muy capacitados para llevar a cabo este tipo de trabajo y en este momento estamos compartiendo toda la información y protocolos disponibles. También estamos en contacto con otros países en donde hay menos recursos que en España y se necesita más ayuda.

¿En qué situación están estos test en cuanto a patentes?

El LAMP está todavía bajo una patente, a la que le queda más o menos un año en Europa, aunque de momento esto no nos afecta ya que no estamos usando LAMP para ningún fin comercial. Sin embargo nuestro grupo podría patentar la aplicación de la técnica y el protocolo que describa las regiones del genoma del virus a usar como base, si bien sería un proceso largo y costoso en el que no hemos entrado.

¿Cómo se compara el método LAMP a otros métodos basados en el sistema CRISPR-Cas, en términos de sensibilidad y coste?

Realmente no creo que haya una gran diferencia tanto en cuanto al tiempo necesario como en respecto al precio. Las diferencias son más a nivel técnico y biológico, así como en la “novedad” y publicidad, pero a nivel práctico no creo que haya grandes diferencias.