



# FRONTERA BIOTECNOLÓGICA



Revista Digital del IPN, CIBA Tlaxcala - No. 16 mayo - agosto 2020

LA ENFERMEDAD  
COVID-19 Y  
EL VIRUS SARS-  
CoV-2: CONCEPTOS  
Y DEFINICIONES,  
MECANISMO DE INFECCIÓN  
Y APROXIMACIONES  
BIOTECNOLÓGICAS PARA  
TRATAMIENTO

EPIDEMIOLOGÍA DE AGUAS  
RESIDUALES PARA EL  
MONITOREO, DETECCIÓN  
DE NUEVOS BROTES  
Y EVALUACIÓN DE LA  
EFICACIA DE LAS MEDIDAS  
DE SALUD PÚBLICA EN LA  
PANDEMIA DE COVID-19

LAS BONDADDES DE UN  
HONGO BASIDIOMICETO  
LLAMADO *PLEUROTUS*  
*OSTREATUS*

EL PROBLEMA DE LA  
RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS  
EN MÉXICO, POSIBLES  
ESTRATEGIAS DE CONTROL

## IPN

**MARIO ALBERTO RODRÍGUEZ CASAS**  
DIRECTOR GENERAL

**MARÍA GUADALUPE VARGAS JACOBO**  
SECRETARIO GENERAL

**JORGE TORO GONZÁLEZ**  
SECRETARIO ACADÉMICO

**JUAN SILVESTRE ARANDA BARRADAS**  
SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

**LUIS ALFONSO VILLA VARGAS**  
SECRETARIO DE EXTENSIÓN E INTEGRACIÓN SOCIAL

**ADOLFO ESCAMILLA ESQUIVEL**  
SECRETARIO DE SERVICIOS EDUCATIVOS

**REYNOLD RAMÓN FARRERA REBOLLO**  
SECRETARIO DE GESTIÓN ESTRATÉGICA

**JORGE QUINTANA REYNA**  
SECRETARIO DE ADMINISTRACIÓN

**ELEAZAR LARA PADILLA**  
SECRETARIO EJECUTIVO DE LA COMISIÓN DE OPERACIÓN  
Y FOMENTO DE ACTIVIDADES ACADÉMICAS

**H. GUILLERMO ROBLES TEPICHÍN**  
SECRETARIO EJECUTIVO DEL PATRONATO DE OBRAS E  
INSTALACIONES

**JOSÉ JUAN GUZMÁN CAMACHO**  
ABOGADO GENERAL

**MODESTO CÁRDENAS GARCÍA**  
PRESIDENTE DEL DECANATO

## CIBA IPN

**DIANA VERÓNICA CORTÉS ESPINOSA**  
DIRECTORA DEL CIBA-IPN, TLAXCALA

**MARÍA DEL CARMEN CRUZ LÓPEZ**  
SUBDIRECTORA ACADÉMICA DEL CIBA-IPN, TLAXCALA

**ERIK OCARANZA SÁNCHEZ**  
SUBDIRECTOR DE VINCULACIÓN DEL CIBA-IPN, TLAXCALA

**MIGUEL ÁNGEL PLASCENCIA ESPINOSA**  
SUBDIRECTOR DE INNOVACIÓN TECNOLÓGICA DEL CIBA-IPN, TLAXCALA

**VÍCTOR ERIC LÓPEZ Y LÓPEZ**  
EDITOR EN JEFE

**GONZALO PÉREZ ARAIZA**  
SOPORTE TÉCNICO

**PEDRO RAMÍREZ CALVA**  
DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN FRONTERA BIOTECNOLÓGICA

**ISMAEL SÁNCHEZ GONZÁLEZ**  
DESARROLLO WEB

**LILIA ESPINDOLA RIVERA**  
COORDINADORA ADMINISTRATIVA

### CINTILLO LEGAL

FRONTERA BIOTECNOLÓGICA, año 8, número 16, mayo - agosto 2020, es una publicación cuatrimestral editada por el Instituto Politécnico Nacional a través del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, México. Tels.: 01-248-48707-65 y 66 Conmutador IPN: 57296000, Ext. 87816. <http://www.revistafronterabiotecnologica.cibatlaxcala.ipn.mx/>, Editor responsable: Dr. Víctor Eric López y López. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo del Título No. 04-2015-120313501700-203, ISSN: 2448-8461, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor (INDAUTOR). Responsable de la última actualización de este número, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Dr. Víctor Eric López y López., Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, fecha de última modificación, 31 de agosto de 2020.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Instituto Politécnico Nacional.

# CONTENIDO

|                                                                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| MENSAJE EDITORIAL                                                                                                                                                      | 3  |
| LA ENFERMEDAD COVID-19 Y EL VIRUS SARS-CoV-2: CONCEPTOS Y DEFINICIONES, MECANISMO DE INFECCIÓN Y APROXIMACIONES BIOTECNOLÓGICAS PARA TRATAMIENTO                       | 4  |
| EPIDEMIOLOGÍA DE AGUAS RESIDUALES PARA EL MONITOREO, DETECCIÓN DE NUEVOS BROTES Y EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LAS MEDIDAS DE SALUD PÚBLICA EN LA PANDEMIA DE COVID-19 | 11 |
| LAS BONDADES DE UN HONGO BASIDIOMICETO LLAMADO <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i>                                                                                              | 18 |
| EL PROBLEMA DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN MÉXICO, POSIBLES ESTRATEGIAS DE CONTROL                                                                                | 23 |



# MENSAJE EDITORIAL

Agosto del 2020

Estimados lectores.

Estimados lectores, los últimos meses han sido tiempos difíciles para nuestro país y en general para toda la humanidad, donde hemos sido sorprendidos y castigados brutalmente en muchos aspectos... el responsable un agente biológico de un tamaño entre 90 y 150 nanómetros, un coronavirus que ocasiona la enfermedad del Síndrome Respiratorio Severo Agudo denominado SARS-CoV-2 o coloquialmente COVID-19.

En este número continuamos con dos contribuciones muy interesantes sobre el SARS-CoV-2, en la primera se describirá el proceso de infección, cómo es la respuesta del sistema inmunológico a la misma y algunas alternativas de tratamiento a la falta de vacunas al momento de la publicación. También abordaremos una sugerencia muy interesante de cómo mediante modelos de correlación basados en la estimación de parámetros se puede monitorear el virus SARS-CoV-2 en aguas residuales.

Por otro lado, conoceremos a *Pleurotus ostreatus* un hongo basidiomiceto, un organismo versátil con propiedades organolépticas, nutricionales y medicinales importantes para la salud humana. Y por último nos hablarán de la resistencia a antibióticos, tema de suma relevancia por el impacto que tiene en la salud pública., y que, a pesar de las campañas relacionadas para evitar la automedicación y regulación de su venta, la administración y uso indiscriminado continua.

Esperemos que las contribuciones del mes de agosto sean de su agrado, y contribuyan a resaltar la importancia que tiene el cuidado de la salud, que es uno de los dones más preciados que tenemos los seres humanos.

Sigamos con las medidas de distanciamiento social, lavado frecuente de manos y ser muy precavidos a la hora de salir, tomando todas las precauciones como el uso de cubrebocas correctamente. Recordemos que esto es un problema que enfrenta toda la humanidad sin distingo de posición social, raza, edad y credo.

“La Técnica al Servicio de la Patria”.

Dr. Víctor Eric López y López  
Editor en Jefe

## LA ENFERMEDAD COVID-19 Y EL VIRUS SARS-CoV-2: CONCEPTOS Y DEFINICIONES, MECANISMO DE INFECCIÓN Y APROXIMACIONES BIOTECNOLÓGICAS PARA TRATAMIENTO

Sehom Rivera Gutiérrez y Noé Valentín Durán Figueroa.

Laboratorio de Biotecnología Molecular. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Instituto Politécnico Nacional. Av. Acueducto, La Laguna Ticomán, Gustavo A. Madero, 07340, Ciudad de México, CDMX.  
seriverag1800@alumno.ipn.mx y nduranf@ipn.mx



## RESUMEN

La pandemia de COVID-19 ocasionada por el virus SARS-CoV-2 se caracteriza porque los pacientes presentan el Síndrome Respiratorio Severo Agudo (SARS). En el proceso de infección, el coronavirus utiliza la proteína llamada Spike (o Espiga) para unirse al receptor del hospedero, la enzima 2 convertidora de Angiotensina (del inglés, ACE2); así, el virus ingresa a la célula para replicarse. En respuesta a la infección, el sistema inmunológico genera un sistema de señalización excesivo ocasionando el Síndrome de Liberación de Citocinas (del inglés, CRS). Ante la falta de vacunas y medicamentos para tratar la enfermedad COVID-19, se propone el redireccionamiento de fármacos utilizados en otras enfermedades para inhibir la entrada viral a la célula o para evitar su replicación, así como el bloqueo de la señalización de citocinas, entre otras estrategias. En esta breve revisión se discute el proceso de infección viral, y alternativas de tratamiento para la COVID-19.

Palabras clave: Spike (S), CRS, Inhibidores JAK, Bloqueo del metabolismo, Vacunas.

## Abstract

The COVID-19 pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus is characterized mainly because patients present with Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS). In the infection process, the coronavirus uses the protein called Spike to bind the cell receptor, the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2); subsequently, the virus enters into the cell to replicate. In response to the infection, the immune system generates an excessive signaling that causes Cytokine Release Syndrome (CRS). In the absence of vaccines and drugs for combating/treating COVID-19, it is proposed that repurposing the drugs used in other diseases, is an option to inhibit viral entry into the cell, prevent its replication and blocking cytokine signaling. This brief review addresses the viral infection process and biotechnological treatment alternatives for COVID-19.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, CRS, Spike (S), ACE2.

## 1. INTRODUCCIÓN

El brote de una nueva enfermedad respiratoria fue confirmada el 31 de Diciembre del 2019, cuando se notificó en Wuhan, provincia de Hubei, China, de la existencia de un tipo de neumonía causada por un nuevo coronavirus, el cual ocasionaba un Síndrome Respiratorio Severo Agudo (del inglés, SARS), que al inicio se manejó como 2019-nCoV y que posteriormente fue renombrado por el Comité Internacional de taxonomía de Virus como SARS-CoV-2, el cual ocasiona la enfermedad conocida como COVID-19. Dos meses después, el 11 de marzo del 2020 fue declarada pandemia por la Organización Mundial de la

Salud (OMS). El brote de SARS-CoV-2 se relacionó con el mercado de mariscos de la provincia de Huanan, donde se comercializaban animales silvestres de carne exótica y escamas para uso en la medicina tradicional china (Xiang et al. 2020). La secuencia del ARN viral en muestras de pacientes, así como en otros coronavirus que atacan animales, sugiere que el virus podría haberse generado al recombinarse un virus de Pangolín (Pangolin-CoV) con uno de murciélago (RaTG13). Dado que ambos animales son reservorios zoonóticos, tienen hábitos nocturnos similares y comparten nichos ecológicos, se sugiere que el pangolín podría ser intermediario entre el hombre y el murciélago. A la fecha, con este nuevo virus ya son 7 los coronavirus detectados que pueden infectar humanos; los cuatro que causan el resfriado común (HCoV-229E, HCoV-HKU1, HCoV-NL63, HCoV-OC43), el SARS-CoV aparecido en 2002, el coronavirus del Síndrome Respiratorio de Medio Oriente (MERS-CoV) surgido en 2012 y el SARS-CoV-2 causante de la COVID-19 (Guy et al. 2020).

La enfermedad COVID-19 ha sido una de las pandemias mas contagiosas registradas a la fecha. La transmisión puede darse entre individuos sintomáticos, presintomáticos, asintomáticos y en menor medida ambiental (Ferreti et al. 2020); puede ingresar al organismo por ojos, nariz y boca. Estudios recientes sobre mecanismos infecciosos de coronavirus, indican que los individuos infectados emiten gotas ( $> 5-10\mu\text{m}$ ) y aerosoles ( $\leq 5\mu\text{m}$ ) al hablar, toser o estornudar; las gotas caen rápidamente en superficies, mientras los aerosoles pueden viajar distancias más largas (aproximadamente 2m) en espacios abiertos, o permanecer hasta 12.4 horas suspendidos en el aire en espacios cerrados (Prather et al. 2020). En base a esta y otras investigaciones epidemiológicas de tipo estadístico, la OMS y múltiples instituciones de salud expertas en epidemiología, han recomendado el uso de cubrebocas (o mascarilla) como método preventivo tanto en espacios abiertos como en cerrados (López y López 2020). Este trabajo no aborda aspectos epidemiológicos, sino que se enfoca en dos aspectos principales: el proceso celular y molecular de la infección y posibles alternativas de tratamiento.

## 2. SINTOMATOLOGÍA Y TRATAMIENTO HOSPITALARIO

Una vez que se da la transmisión del virus de una persona infectada a una sana, y tras un periodo de incubación de 3-7 días, el virus puede desencadenar un SARS ocasionando la enfermedad COVID-19. La enfermedad es más incidente en personas de mayor edad y con comorbilidades (presencia de otras enfermedades) como hipertensión, diabetes y obesidad.

Cuando fue declarada la pandemia en el mes de marzo, se supo que, de los casos positivos confirmados por detección de ARN viral a nivel mundial, un 80% de las infecciones son asintomáticas o leves; sin embargo, el 20% restante presenta síntomas como fiebre, tos seca, fatiga, esputo, disnea (dificultad para respirar), mialgia, náuseas, vómito, diarrea, anosmia (pérdida del olfato). Un 15% de los pacientes con síntomas desarrolla neumonía grave que requiere de cuidados intensivos y uso de oxígeno, un 2.3-5% serán infecciones críticas que requerirán ventilación, y un 1.4% morirán. Además, entre el 5 y 20% de los casos puede desarrollar el Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda (del inglés, ARDS), un síndrome mas cuantitativo que conlleva a una lesión pulmonar aguda presentando en ocasiones, daño alveolar bilateral, edema pulmonar y formación de membrana hialina, y que finalmente puede conducir a la muerte y otras fallas de órganos terminal. El ARDS es inducido por el Síndrome de Liberación de Citocinas (CRS), un tipo de señalización excesiva del sistema inmune, en el que se utilizan las citocinas (proteínas que sirven de señal para la comunicación entre una célula y otra) para señalar todo tipo de respuesta celular inmune, lo cual provoca un descontrol total de homeostasis celular normal (Fig. 1).

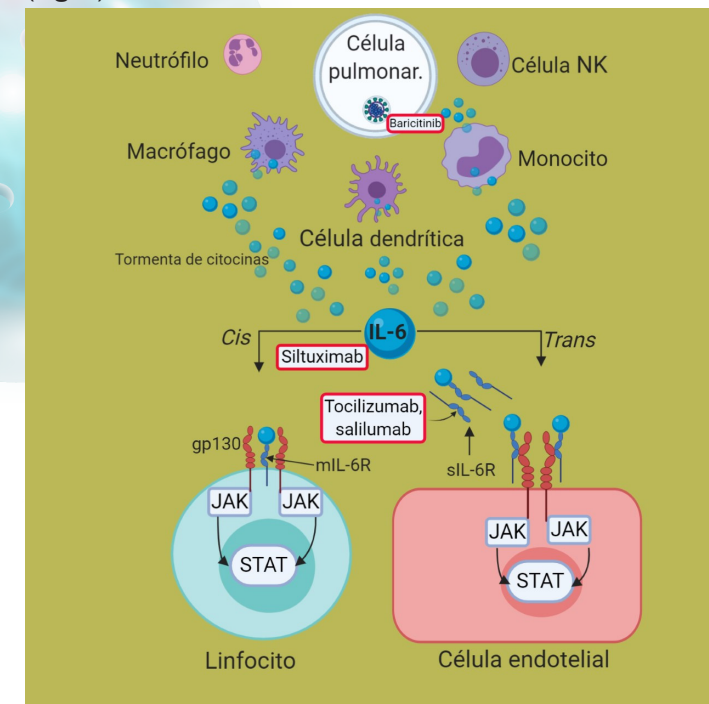


Figura 1. Tormenta de citocinas. Una vez que una célula epitelial alveolar de pulmón ha sido infectada, se activan las células del sistema inmune liberando citocinas (esferas azules) para la señalización, se comienzan a reclutar neutrófilos, macrófagos, monocitos, incrementando la inflamación pulmonar lo que puede evolucionar hacia un ARDS. Un ejemplo es la citocina Interleucina 6 (IL-6), la cual puede señalizar vía cis o trans. En la cis, IL-6 se une al receptor membranal de IL-6 (mIL-6R) y en la trans, se une a un receptor soluble (sIL-6R). Ambos tipos de receptores forman un complejo con la glicoproteína 130 (gp130), activando la transducción de señales que serán mediadas por la proteína Janus Kinase (JAK) y el Transductor de Señal y Activador de la Transcripción (STAT3). Con el uso de inhibidores JAK (iJAK) (circundados en rojo) se puede bloquea la señalización de citocinas, reduciendo así la inflamación.

Generalmente, los pacientes hospitalizados por COVID-19 (15-20%) pasan por un cuadro de coagulación excesiva aumentando el riesgo de trombosis arterial y venosa. Un biomarcador diagnóstico de ARDS es el dímero D (un producto de la degradación de la fibrina cuando un trombo se comienza a formar, y éste es degradado por la plasmina, liberando dímeros D-D), implicado en la cascada de coagulación. El suministro del anticoagulante heparina a pacientes con altos niveles del dímero D, puede reducir la mortalidad en estos casos de COVID-19 (Casini et al. 2020). Los pacientes tratados con anticoagulantes orales directos (dabigatran, apixaban, rivaroxabán, edoxaban) o con antagonistas de vitamina K (Warfarina o acenocoumarol) son más propensos a hospitalización por COVID-19, por lo tanto, se ha sugerido reemplazar esas terapias por heparina (Testa et al. 2020).

## 3. MECANISMO DE ACCIÓN DEL SARS-COV-2 Y LA RESPUESTA DEL CUERPO

El SARS-CoV-2 es un betacoronavirus perteneciente al subgénero Sarbecovirus. Su RNA genómico es de cadena sencilla de aproximadamente 30 mil nucleótidos de longitud, contiene al menos 6 marcos abiertos de lectura (ORF, del inglés) (Dai et al. 2020). Los viriones, miden de 90 a 150 nm, están conformados por una nucleocápside helicoidal que está compuesta de proteínas unidas al genoma de RNA (N), así como una envoltura que contiene proteínas de membrana (M), de envoltura (E) y las proteínas Spike (S) (Figura 2). En la etapa de adhesión a la célula huésped, el SARS-CoV-2 utiliza la glicoproteína de superficie Spike (S) para reconocer a la proteína transmembranal ACE2 de la célula blanco. La proteína S es una proteína metaestable y dinámica con dos estados conformacionales principales, el de pre-fusión y el de post-fusión. Esta proteína homotrimérica S sufre una conformación de movimiento que, a manera de bisagra, se abre para tomar su estado “up” y se cierra para regresar a su estado “down”. Se sabe que solamente la conformación “up” puede estar accesible al receptor ACE2 del hospedero (Yuan et al. 2020) (Fig. 2, Etapa 1). La proteína ACE2 está expresada en tejidos cardiopulmonares, células epiteliales del intestino, y en algunas células hematopoyéticas, incluyendo monocitos y macrófagos, y específicamente es expresado en células alveolares del pulmón, motivo por el cual los pulmones son un blanco fácil para el ataque de SARS-CoV-2. La proteína de fusión S trimérica está compuesta de dos subunidades funcionales, la subunidad S1 responsable de la unión al receptor y la subunidad S2 (con sitios de glicosilación; manosilación, fucosilación, sialilación) responsable de la fusión de membrana (Watanabe et al. 2020).



La proteína S se une al receptor de la célula huésped a través del dominio de unión al receptor (RBD) de la subunidad S1 para posteriormente fusionar las membranas viral-hospedero a través de la subunidad S2. Para que este proceso de endocitosis viral sea exitoso, se requiere la presencia de la enzima transmembranal serin 2 proteasa (TMPRSS2) que procesa proteolíticamente a la proteína S una vez que el ensamble Spike-ACE2 se ha dado (Fig. 2 etapa 2) (Guy et al. 2020). Evidencia sugiere que TMPRSS2 escinde a la proteína S favoreciendo la exposición del péptido de fusión, facilitando así la entrada viral a la célula hospedero (Zang et al. 2020) (Fig. 2 etapa 2). Después del ingreso endolisosomal, el virus se despoja de su recubrimiento para liberar el RNA genómico que será utilizado en los procesos de replicación, transcripción y traducción (Fig. 2 etapas 3 a 6). La traducción es dependiente de cap, una modificación del ARN que consiste en la 7-metil guanilación, y resulta en la producción de dos polipéptidos que serán autoproteolíticamente procesados para producir proteínas vitales del complejo de replicación y transcripción viral, entre las que se encuentra la RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp), una helicasa y dos proteasas. Con esta maquinaria enzimática, se comenzará la replicación del RNA genómico, y a la vez, con la misma RdRp y con la ayuda de la helicasa, se procederá al proceso de transcripción, generando RNAs subgenómicos que posteriormente serán traducidos a proteínas estructurales y de cubierta. Después se ensamblan los viriones para ser liberados (Fig. 2, etapas 7 a 9).

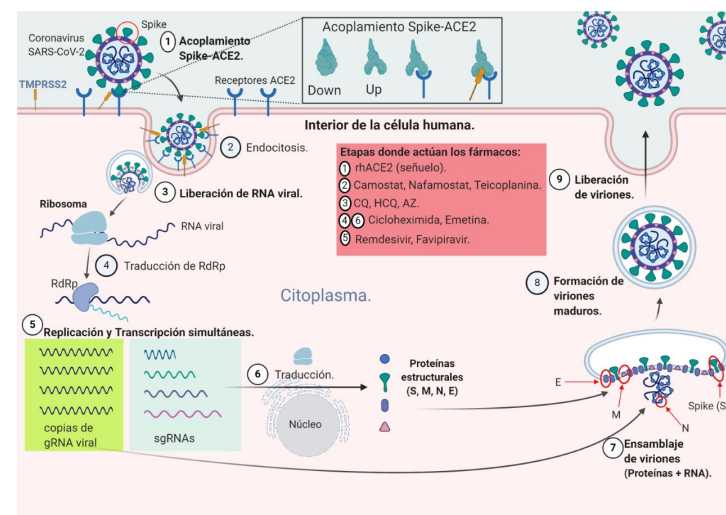


Figura 2. Ciclo viral del SARS-CoV-2 y fármacos inhibitorios. El ciclo viral del SARS-CoV-2 se puede representar en 9 etapas. En la primera etapa, el virus utiliza la proteína Spike (encerrada en rojo) para acoplarse a la proteína ACE2 del hospedero. El recuadro superior representa un acercamiento del proceso de reconocimiento del virus, donde la proteína Spike pasa de un estado "Down" a uno "Up", de manera que pueda ensamblarse con el receptor ACE2, para que posteriormente la proteína TMPRSS2 proteolice un sitio específico de Spike, favoreciendo así el ingreso del virus a la célula. Posteriormente el virus se replica y los viriones son ensamblados para finalmente salir por exocitosis de la célula y puedan ir a infectar más células. Los fármacos están representados en el rectángulo rojo donde el número de la izquierda indica la etapa viral en la que cada fármaco actúa.

Cuando un betacoronavirus infecta monocitos, macrófagos y células dendríticas, se secretan citocinas inflamatorias como IL-1, IL-6, IL-12, así como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  incrementando la permeabilidad vascular, lo que puede favorecer la falla respiratoria de los pacientes con COVID-19. La citocina que ha llamado la atención es la Interleucina-6 (IL-6) la cual dirige la expresión de la proteína C reactiva. La IL-6 puede señalizar por vía cis y por vía trans (Fig. 1). En la vía cis, que es la clásica, IL-6 se une al receptor de IL-6 que está anclado en la membrana (mIL-6R) junto con gp130 (glicoproteína 130) formando un complejo. La transducción de señales subsecuentes es mediada por la proteína Janus kinase (JAK) y el Transductor de Señal y Activador de la Transcripción (STAT3). En la señalización trans, IL-6 se une a una forma soluble del receptor de IL-6 (sIL-6R), y al unirse forma un complejo con el dímero gp130 en la superficie de la célula, por lo tanto, la señalización trans se da en células que no expresan mIL-6R, como las células endoteliales (Fig. 1). La señalización ocasiona una tormenta de citocinas implicando la secreción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), así como una expresión reducida de E-caderina (glicoproteína transmembranal responsable de la unión célula-célula) en las células endoteliales. Esto contribuye a la fuga y permeabilidad vascular implicados en la hipertensión y difusión pulmonar en ARDS.

El conocimiento a nivel molecular del proceso de infección viral, permite sugerir aproximaciones biotecnológicas para tratamiento.

Por ejemplo, la proteína Spike del SARS-CoV-2 es un blanco para la generación de anticuerpos neutralizantes y vacunas ya que es la proteína que reconocen las células. Otra proteína bajo la mira para el diseño de fármacos es la Proteasa Principal ( $M^{pro}$ ) llamada proteasa similar a 3CL (3CL $^{pro}$ ), ya que es la encargada de procesar poliproteínas implicadas en la producción de RNAs subgenómicos que codificarán para las 4 proteínas estructurales (E, M, S y N) (Dai et al. 2020). Así, el estudio molecular permitirá generar ya sea vacunas (una medida preventiva e ideal) o fármacos para paliar los síntomas de la enfermedad.

## 4. REDIRECCIONANDO MEDICINAS PARA COMBATIR EL SARS-CoV-2

A la fecha, no existe fármaco o terapia alguna que garantice la eliminación del SARS-CoV-2 o proteja totalmente de la enfermedad COVID-19, por tal razón se intenta combatir la enfermedad con fármacos utilizados en otras enfermedades. Estos pueden ir enfocados directamente a la eliminación o bloqueo del ciclo de replicación del virus, a las respuestas inmunes del cuerpo humano, o a las rutas metabólicas del hospedero que proveen moléculas necesarias para la replicación viral.

Por ejemplo, se pensó que la Cloroquina (CQ) e Hidroxicloroquina (HCQ), utilizadas contra la malaria podrían ser alternativas, ya que dañan la función endosomal y bloquean la fusión autofagosoma-lisosoma (Fig 2, etapa 3), evitando así la replicación viral. Otro fármaco, la azitromicina (AZ) es capaz de bloquear la liberación del material genético del autofagosoma (Fig. 2, etapa 3). En una primera aproximación, la aplicación de HCQ en pacientes con COVID-19 disminuye la carga viral, pero cuando este fármaco es suministrado en combinación con AZ, la reducción de la carga viral se potencia. Desgraciadamente, tanto la HCQ como la AZ tienen efectos de toxicidad cardíaca e inclusive, la HCQ ha mostrado efectos negativos en otros órganos como el ojo. Por otro lado, los antivirales con mejores resultados son el Remdesivir y Favipiravir, los cuales inhiben a la enzima RdRp (Guy et al. 2020). El Remdesivir, desarrollado para combatir los flavivirus causantes de Ébola y Marburg, ha sido aprobado para pacientes con COVID-19 reduciendo el tiempo de hospitalización en los pacientes (Cohen y Corey 2020). El Favipiravir, desarrollado para combatir la Influenza (Guy et al. 2020), actualmente está siendo comercializado por Rusia bajo el nombre de Avifavir.

Otras alternativas en proceso de evaluación son el mesilato de Camostat, aprobado para tratar pancreatitis crónica y reflujo gástrico postoperatorio; es un inhibidor de serin proteasas como TMPRSS2, y el Nafamostat, un inhibidor sintético relacionado (Guy et al. 2020). Un fármaco en desarrollo es una ACE2 recombinante humana (rhACE2) para tratar la lesión pulmonar aguda e hipertensión pulmonar arterial; este fármaco puede evitar el ingreso del virus a las células al servir de señuelo contra Spike. El uso de anticuerpos como el Sarilumab o el Tocilizumab dirigidos al receptor de IL-6 para inhibir la señalización cis y trans (Fig 1) ha mostrado resultados alentadores (Moore and June 2020). Para restringir los niveles de señalización de citocinas se propone el uso de inhibidores JAK (JAKi). Aparentemente, IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-12 son los principales promotores de la respuesta hiperinmune que conducen a la tormenta de citocinas activando las células Th1 y NK y liberando quimiocinas que reclutan más neutrófilos y macrófagos inflamatorios potenciando todavía más la inflamación pulmonar (Fig. 1). El CRS ocasiona hipotensión refractaria a fluidos y disfunción cardíaca, insuficiencia respiratoria, insuficiencia renal, insuficiencia hepática y coagulopatía, los cuales se pueden tratar con terapias anticitocinas específicamente inhibiendo la señalización de IL-6-IL-6R. Los anticuerpos anti-IL-6R Tocilizumab y Sarilumab han dado buenos resultados en pacientes de COVID-19, mejorando su respiración y por lo tanto, reduciendo el tiempo de hospitalización (Spinelli et al. 2020).

Otras opciones de tratamiento son las drogas que inhiben vías del hospedero, como glicolisis, traducción, proteostasis, síntesis de nucleótidos, acumulación de lípidos. La cicloheximida inhibe la elongación de la traducción, la

emetina inhibe la proteína S14 ribosomal 40S. La 2-deoxi-D-glucosa inhibe a la hexocinasa de glicólisis, dando resultados favorables al detener la replicación del SARS-CoV-2 en células Caco-2.

El NMS-873 inhibe a la ATPasa p97 AAA, involucrada en la degradación de las proteínas durante la proteostasis, lo cual inhibió la replicación de SARS-CoV-2 (Bojkova et al. 2020). La Cloperastina y el Trihexifenidil inhiben al transportador sodio-glucosa SGLT1, evitando el ingreso de glucosa a citosol, lo que evita la replicación viral. La Simvastatina y Pravastatina impiden la acumulación de colesterol en la célula. El Fenofibrato y Bezafibrato, agonistas de PPAR $\alpha$  impiden la acumulación de triglicéridos, además de su posible potencial como antitrombótico e inhibitorio de citocinas como la IL-6. El uso de Metformina reduce el estrés mitocondrial causado por el exceso de glucosa y la Quercetina lo hace con el retículo endoplásmico (Fig. 3).

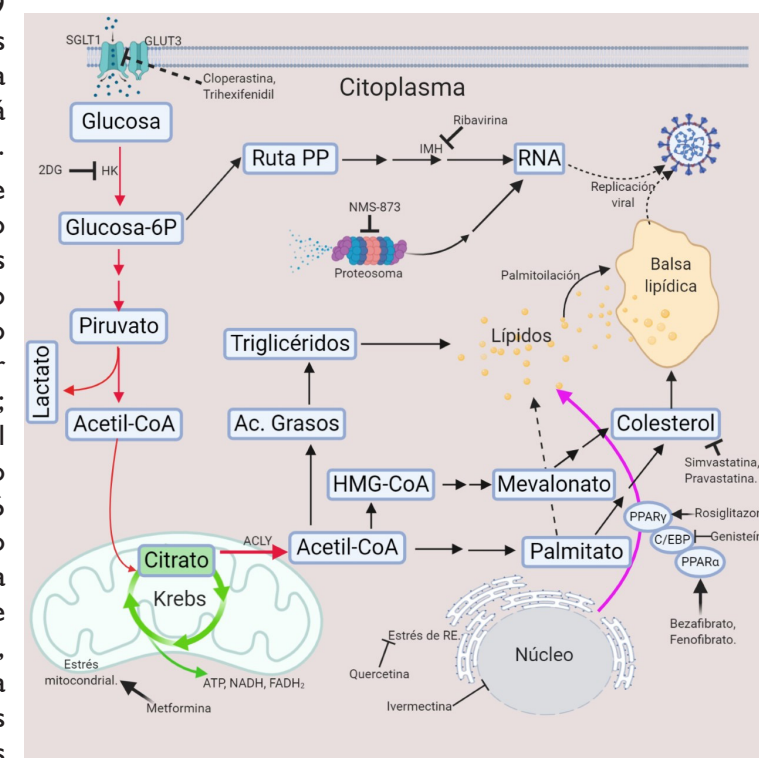


Figura 3. Rutas metabólicas afectadas por el virus. El virus es capaz de sobre-regular (flechas rojas) algunas rutas, mientras desregula otras (flechas verdes). Además, desregula el transportador GLUT3 y sobre-regula el SGLT1. El exceso de glucosa estresa algunos organelos favoreciéndose la acumulación de lípidos y colesterol, los cuales serán utilizados, junto con otras moléculas nucleares, en la replicación viral. Las drogas agonistas son representadas con una flecha que se desvanece en su base, mientras los inhibidores como el NMS-873 que inhibe la ATPasa p97 AAA encontrada en el proteosoma, son representados con el símbolo "⊥". Se cree que la Ivermectina inhibe a la importina  $\alpha/\beta$ 1 implicada en el transporte nuclear de moléculas que el virus utiliza para su replicación. ACLY: ATP citrato liasa. HMG-CoA: 3-hidroxi-2-metil-glutaril-CoA. 2DG: 2-deoxi-D-glucosa. HK: Hexocinasa. PP: Ruta de las pentosas fosfato. IMH: Inosina monofosfato hidrogenasa.



En general, existen decenas de alternativas plausibles para tratamiento de síntomas (Tabla I), y agencias internacionales impulsadas por la OMS han implementado estrategias para encontrar el mas eficiente. Sin embargo, lo ideal es tener una protección inmune, esto es, una vacuna.

Tabla 1. Modo de acción de fármacos redireccionados.

| Enfoque del fármaco.                                                                  | Fármaco.                                         | Acción del fármaco.                                                |
|---------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Inhibe la entrada viral a la célula o evita la replicación viral.                     | Cloroquina, Hidroxicloroquina, Azitromicina.     | Evita la liberación del RNA viral.                                 |
|                                                                                       | Camostat.                                        | Impide la endocitosis viral.                                       |
|                                                                                       | Remdesivir, Favipiravir.                         | Bloquea la Replicación y Transcripción viral.                      |
| Inhibe las respuestas inmunes del hospedero.                                          | Tocilizumab, Siltuximab, Salilumab, Baricitinib. | Bloquea la señalización de citocinas.                              |
| Inhibe las rutas metabólicas del hospedero o actúa sobre ciertos organelos celulares. | Cloperastina, Trihexifenidil.                    | Bloquea el transporte de glucosa al interior de la célula.         |
|                                                                                       | Ribavirina.                                      | Inhibe el metabolismo de Ácidos Nucléicos.                         |
|                                                                                       | 2-deoxi-D-glucosa.                               | Bloquea la primera reacción de la Glicólisis.                      |
|                                                                                       | Fenofibrato.                                     | Evita la acumulación de Triglicéridos.                             |
|                                                                                       | Ivermectina.                                     | Inhibe el trasporte nuclear de moléculas utilizables por el virus. |
|                                                                                       | Quercetina.                                      | Mitiga el estrés del Retículo Endoplásmico.                        |
|                                                                                       | Metformina.                                      | Mitiga el estrés mitocondrial.                                     |

## 5. OBTENCIÓN DE VACUNAS Y USO DE HERRAMIENTAS BIOTECNOLÓGICAS

La velocidad con la que se necesita generar una vacuna contra SARS-CoV-2 requiere de la aplicación de herramientas de Biotecnología Molecular. Por ejemplo, a partir de un vector de expresión genética, se puede producir proteínas o péptidos recombinantes de origen viral las cuales, inyectadas al cuerpo, generen respuesta inmune para protección de una posible infección (“vacuna recombinante”). También, mediante herramientas de ingeniería genética, es posible generar vacunas de ácidos nucleicos. En el caso del coronavirus se podría suministrar un RNA que codifique para una proteína viral y cuando esta sea traducida y secretada a torrente sanguíneo, será detectada por el sistema inmune, generando anticuerpos neutralizantes, como la vacuna de la Compañía Moderna, basada en mRNA, la cual es una de las mas avanzadas en cuanto a su lanzamiento al mercado. Adicionalmente y de forma clásica, la posible vacuna puede estar basada en proteínas virares, incluyendo: a) virus completos inactivados, b) proteínas virales individuales, o c) proteínas virales ensambladas como partículas fabricadas *in vitro*. Por lo mencionado en las secciones anteriores, el antígeno más utilizado para generar una posible vacuna es la proteína S o Spike. Como alternativa para generar inmunidad, también se pueden aislar anticuerpos de sobrevivientes de COVID-19.

Todas estas estrategias presentan un reto fundamental: generar anticuerpos neutralizantes capaces de detectar variantes del virus aun a pesar de posibles mutaciones del virus. Para mejorar el diseño de proteínas recombinantes con

potencial de vacuna, se puede utilizar el diseño bioinformático donde se toman en cuenta todas las características del virus, incluida la subunidad de fusión del RBD de la proteína S así como el NTD (dominio N-Terminal).

Un esfuerzo del IPN en este sentido se esta ejecutando, no para generar una vacuna, sino para encontrar un fármaco para tratamiento (Benitez y Vique 2020). También se intenta producir vacunas que induzcan la producción de células T, las cuales a su vez pueden producir una respuesta inmune completa. La ingeniería de plantas puede utilizarse para producir vacunas o anticuerpos terapéuticos, ya que son cultivos escalables, seguros y de bajo costo. Además, existen moléculas con capacidad inhibitoria que pueden ser extraídas de plantas, como la baicaleina extraída de *Scutellaria baicalensis*, que es un inhibidor potente de la proteasa principal del SARS-CoV-2, o la quercetina encontrada en vegetales como cebolla, cilantro y rábano, la cual reduce los niveles de colesterol y muestra efectos antiinflamatorios en SARS y ébola (Fig. 3). Sin embrago, dado que las vacunas pueden resultar peligrosas, es imprescindible demostrar que los efectos adversos son menores, por lo que se deberán aplicar los estudios de Infección Humana Controlada (CHIs) avalados por la OMS.



## 6. CONCLUSIÓN

Además de golpear directamente la salud de los humanos, la pandemia del COVID-19 tiene un efecto económico global aun no cuantificado. Ha dejado al descubierto la inequidad de clases, el desequilibrio social y las inequidades en los sistemas alimenticios mundiales. El Programa Mundial de Alimentos de las Naciones Unidas estima que la pandemia del COVID-19 podría causar un incremento de 250 millones de personas que enfrenten el hambre en todo el mundo, por lo que se debe aplicar un plan emergente de apoyo a microempresas, equipos de investigación científica y agricultores. Pero, si podemos rescatar algo positivo en la pandemia, esto es, la explosión en el desarrollo de técnicas de biotecnología molecular que permiten obtener fármacos o vacunas de una forma rápida y segura; para lograrlo, es necesario una investigación profunda en los mecanismos de acción del proceso infectivo del virus SARS-CoV-2.

**Agradecimientos.** El autor SRG es estudiante de Doctorado en Ciencias en Bioprocesos de UPIBI-IPN, es becario CONACyT. El autor NVDF es profesor investigador titular de UPIBI-IPN. Externamos un agradecimiento a todos los miembros del laboratorio de Biotecnología Molecular de UPIBI-IPN por las discusiones. Los autores declaran no tener algún conflicto de interés.

**Nota.** Por cuestiones de espacio, se colocan las referencias mas representativas, ofrecemos disculpas. Cualquier referencia adicional se puede solicitar directamente al editor o los autores.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Benítez-Cardoza CG and Vique-Sánchez JL (2020). Potential inhibitors of the interaction between ACE2 and SARS-CoV-2 (RBD), to develop a drug. *Life Sciences* 256; 117970.

Bojkova D, Klann K, Koch B, Widera M, Krause D, Ciesek S, Cinatl J and München C (2020) Proteomics of SARS-CoV-2-infected host cells reveals therapy targets. *Nature*. DOI: 10.1038/s41586-020—2332-7

Casini A, Alberio L, Angelillo-Scherrer A, Fontana P, Gerber B, Graf L, Hegemann I, Korte W, Kremer HJA, Lecompte T, Martinez M, Nagler M, Studt JD, Tsakiris D, Wuillemin W and Asmis LM (2020) Suggestions for thromboprophylaxis and laboratory monitoring for in-hospital patients with COVID-19. *Swiss Med Wkly.* 150:w20247.

Cohen MS and Corey L (2020) Combination prevention for COVID-19. *Science* 368 (6491), 551. DOI: 10.1126/science.abc5798.

Dai W, Zhang B, Jiang XM, Su H, Li J, Zhao Y, Xie X, Jin Z, Peng J, Liu F, Li C, Li Y, Bai F, Wang H, Cheng X, Cen X, Hu S, Yang X, Wang J, Liu X, Xiao G, Jiang H, Rao Z, Zhang

LK, Xu Y, Yang H and Liu H (2020) Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease. *Science*. DOI: 10.1126/science.abb4489.

Ferreti L, Wymant C, Kendall M, Zhao L, Nurtay A, Abeler-Dörner L, Parker M, Bonsall D and Fraser C (2020) Quantifying SARS-CoV-2 transmission suggests epidemic control with digital contact tracing. *Science* 368, eabb6936.

Guy RK, DiPaola RS, Romanelli F, Dutch RE (2020) Rapid repurposing of drugs for COVID-19. *Science* 10.1126/science.abb9332.

López y López VE 2020. Comportamiento exponencial del nuevo coronavirus COVID-19 en México, función del distanciamiento social para disminuir su propagación. *Frontera Biotecnológica* 15:18-23.

Moore JB and June CH (2020) Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science* 368 (6490), 473-474. DOI: 10.1126/science.abb8925.

Prather KA, Wang CC and Schooley RT (2020) Reducing transmission of SARS-CoV-2. *Science*. DOI: 10.1126/science.abc6197.

Spinelli FR, Conti F and Gadina M (2020) Hijacking SARS-CoV-2? The potential role of JAK inhibitors in the management of COVID-19. *Science Immunology*. DOI: 10.1126/sciimmunol.abc5367.

Testa S, Paoletti O, Giorgi-Pierfranceschi M and Pan A (2020) Switch from oral anticoagulants to parenteral heparin in SARS-CoV-2 hospitalized patients. *Internal and Emergency Medicine*. <https://doi.org/10.1007/s11739-020-02331-1>.

Watanabe Y, Allen JD, Wrap D, McLellan JS and Crispin M (2020) Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike. *Science*. DOI: 10.1126/science.abb9983.

Xiang K, Zhai J, Feng Y, Zhou N, Zhang X, Zou JJ, Li N, Guo Y, Li X, Shen X, Zhang Z, Shu F, Huang W, Li Y, Zhang Z, Chen RA, Wu YJ, Peng SM, Huang M, Xie WJ, Cai QH, Huo FH, Chen W, Xiao L and Shen Y (2020) Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins.

Yuan M, Wu NC, Zhu X, Lee CCD, So RTY, Lv H, Mok CKP and Wilson IA (2020) A highly conserved cryptic epitope in the receptor binding domains of SARS-CoV-2 and SARS-CoV. *Science* 368 (6491), 630-633.

Zang R, Gomez CMF, McCune BT, Zeng Q, Rothlauf PW, Sonnek NM, Liu Z, Brulois KF, Wang X, Greenberg HB, Diamond MS, Ciorba MA, Whelan SPJ and Ding S (2020) TMPRSS2 and TMPRSS4 promote SARS-CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes. *Science Immunology* 5, eabc3582.



# EPIDEMIOLOGÍA DE AGUAS RESIDUALES PARA EL MONITOREO, DETECCIÓN DE NUEVOS BROTES Y EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LAS MEDIDAS DE SALUD PÚBLICA EN LA PANDEMIA DE COVID-19

Yaxk'in Coronado González y Mayra de la Torre.

Centro de Investigación y Desarrollo en Agrobiotecnología Alimentaria (Unidad Regional del CIAD A.C.). Ciudad del Conocimiento y la Cultura de Hidalgo; Blvd. Circuito La Concepción 3, CP 42156, San Agustín Tlaxiaca, Hgo. yaxkin.coronado@cidea.mx

## RESUMEN

Los modelos actuales para correlacionar los datos sobre la concentración del genoma del virus SARS-CoV-2 en aguas residuales con la población infectada en una comunidad, ciudad o región se basan en la estimación de parámetros. El presente trabajo es una revisión de los modelos empleados en esta herramienta para anticipar la llegada de nuevos brotes de la enfermedad, fundamentada en la detección y cuantificación de la carga viral. Finalmente, se presentan algunas sugerencias para el monitoreo de SARS-CoV-2 en aguas residuales, brindando una respuesta más rápida ante posible incremento en el número de contagios por este virus y otros que afectan la salud humana.

Palabras clave: Aguas residuales, epidemiología, SARS-CoV-2, biotecnología, modelos matemáticos.

## Abstract

Current models for correlation between virus genome concentration of SARS-CoV-2 in wastewater and the infected population in a community, city or region are based on parameter estimation. This work is a review of the models used in this tool to anticipate the arrival of new outbreaks of the disease, based on the detection and quantification of viral load. Finally, some suggestions are presented for the monitoring of SARS-CoV-2 in wastewater, providing a faster response to a possible increase in the number of infections by this virus and others that affect human health.

Keywords: Wastewater, epidemiology, SARS-CoV-2, biotechnology, mathematical models.

## INTRODUCCIÓN

La actual pandemia de la enfermedad del coronavirus 2019 (COVID-19), sigue siendo un reto global para identificar su presencia y dispersión del virus que la ocasiona el denominado SARS-CoV-2. El prologado tiempo de incubación y la presencia de infectados asintomáticos han permitido la dispersión rápida del virus, a pesar de las medidas de confinamiento. La estimación de los casos de SARS-CoV-2 en regiones donde se realizan pruebas clínicas individuales de manera extensiva, es la estrategia más precisa para saber cómo se encuentra la población y que el gobierno tome las medidas adecuadas para contener la epidemia, pero en pocos países se ha podido llevar a cabo por su costo. En la mayoría de los países la baja tasa de pruebas realizadas hace que se reporte una incidencia de la enfermedad muy por abajo de la real. Hoy por hoy algunos países están tratando de evaluar a cada individuo (por ejemplo, Islandia) para obtener datos de toda la población, este enfoque es poco práctico, lento y como se mencionó tiene un alto costo, por lo que difícilmente se puede utilizar esa estrategia en la mayoría del mundo.

La epidemiología basada en aguas residuales (WBE por sus siglas en inglés) ha sido identificada como una herramienta de vigilancia de enfermedades infecciosas en toda la población, por ejemplo se ha utilizado con éxito en el caso de polio y hepatitis A (Asghar et al., 2014; Hellmér et al., 2014), y es muy prometedora para la vigilancia de toda la población en la pandemia COVID-19. Cuando se propuso por primera vez para el seguimiento de SARS-CoV-2, la opinión científica predominante era que la concentración del virus en las aguas residuales probablemente era muy baja para permitir su detección y seguimiento de la evolución de la pandemia, además de que el virus y su genoma eran muy lábiles por lo que se descartaba la opción. Sin embargo, informes recientes sobre la presencia de coronavirus en heces humanas (Gao et al., 2020; Holshue et al., 2020; Jiehao et al., 2020; Tang et al., 2020; Wölfel et al., 2020; Zhang et al., 2020a, 2020b, 2020c, 2020d, 2020e) y tres informes preliminares de detección exitosa de SARS-CoV-2 en aguas residuales municipales de los Países Bajos, los Estados Unidos y Australia ha disipado algunas de estas preocupaciones (Ahmed et al., 2020, Lodder y de Roda Husman, 2020, Medema et al., 2020; Wu et al. 2020). No obstante hay incertidumbre sobre qué información puede extraerse del monitoreo del ARN (ácido ribonucleico) del SARS-CoV-2 en aguas residuales y si el ensayo, una vez perfeccionado y habiéndose demostrado la reproducibilidad de los datos obtenidos por diferentes laboratorios, será lo suficientemente sensibles como para hacer el seguimiento epidemiológico y tomar medidas preventivas. Este seguimiento podría ayudar a reducir el daño económico y la carga social asociada al confinamiento masivo, al tomar medidas basadas en la tendencia de la concentración del virus en las aguas residuales de una comunidad, región específica de una ciudad, etc. y así saber aproximadamente con 7 días de anticipación a la aparición de síntomas en la población, que se presentará un aumento de casos. En la actualidad, las intervenciones de salud pública se implementan con brocha gorda; tomando medidas de confinamiento y otras, en áreas donde el virus puede no representar una amenaza, lo que genera contención de la población y los problemas adyacentes, tales medidas no solo son ineficaces sino también económica y socialmente disruptivas.

## EPIDEMIOLOGÍA BASADA EN AGUAS RESIDUALES

La contaminación de las aguas con excretas humanas y animales ha sido históricamente reconocida como un riesgo a la salud humana; ya que el agua se convierte en un vehículo de la dispersión de patógenos, creando las condiciones para brotes o casos esporádicos de infección. Virus patógenos para el hombre son comúnmente detectados en ambientes acuáticos y se consideran los responsables de acarrear diversas enfermedades.



(Hamza and Bibby, 2019; Haramoto et al., 2018; La Rosa et al., 2012; Moreira and Bondelind; Rusinol, and Girones, 2017; WHO, 2017). Los virus que son potencialmente transmitidos a través del agua son en su mayoría son del grupo de los enterovirus. Estos son virus sin envoltura, que se pueden multiplicar en el tracto gastrointestinal y causan padecimientos gastrointestinales, pero también son origen de un amplio espectro de otras enfermedades, tales como conjuntivitis, síntomas respiratorios, hepatitis viral e infecciones del sistema nervioso central.

La pandemia de COVID-19, es una emergencia de salud pública (WHO, 2020a, 2020b). El reporte de síntomas en pacientes con COVID-19 incluye tos, fiebre, dificultad para respirar y diarrea; es importante resaltar que, el virus SARS-CoV-2 ha sido detectado en heces tanto de enfermos sintomáticos como asintomáticos (Gao et al., 2020; Holshue et al., 2020; Jiehao et al., 2020; Tang et al., 2020; Wölfel et al., 2020; Zhang et al., 2020a; Zhang et al., 2020b).

Así pues, las observaciones clínicas y la detección del virus en heces de pacientes sintomáticos y asintomáticos, así como su detección en aguas residuales (Sinclair et al., 2008; Xagorarakis y O'Brien, 2020). implican que la epidemiología basada en aguas residuales podría ser especialmente útil para la alerta temprana de COVID-19, detección de rebrotes y obtener información sobre la eficacia de las intervenciones de salud pública; tal y como se ha demostrado para virus entéricos, como norovirus, hepatitis, A virus y poliovirus (Hellmér et al., 2014; Asghar et al., 2014).

## ANTECEDENTES EN OTROS PAÍSES

### Australia

Utilizando RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa) se cuantificó el ARN viral y estimó el número de copias virales por litro de ARN de SARS-CoV-2 en aguas residuales no tratadas. Con este, dato de concentración de genomas del virus por litro se estimó el número de contagiados por el método Monte Carlo, realizando un balance de masa sobre el número total de copias de ARN viral en las aguas residuales cada día y el número de copias ARN del SARS-CoV-2 eliminadas en las heces por cada individuo infectado por día. La incertidumbre y variabilidad de las variables independientes se incorporó empleando métodos Monte Carlo, estimando la media de infectados en un periodo de tiempo. (Ahmed et. al. 2020). En el artículo se enfatiza que los métodos de concentración del virus son esenciales para mejorar la sensibilidad de la detección de SARS-CoV-2 en las aguas residuales.

### Francia

Se demostró que existe una correlación entre el número de infectados por SARS-CoV-2 y el incremento del virus en aguas residuales, al igual que entre la disminución del virus y el número de infectados en el periodo de cuarentena

con un retraso de una semana, es decir el incremento de la concentración del virus se detecta una semana antes de la aparición de infectados sintomáticos. Se evaluaron los cambios conforme a estudios semanales en diferentes plantas de tratamiento ubicadas en la periferia de París, en periodos previos y posteriores a la cuarentena. En esta publicación se sugiere la epidemiología basada en aguas residuales como una herramienta de evaluación de la población (Wurtzer, et. al., 2020)

### Italia

Se realizó la cuantificación de SARS-CoV-2 en aguas residuales por PCR anidado en las ciudades de Milán y Roma durante los meses de febrero a abril con intervalos desde algunos días hasta un mes, se demostró que las Directrices para el protocolo de vigilancia ambiental del virus de la polio de la OMS 2013 con algunas modificaciones son satisfactorias para el control del virus. Se resalta la eficacia y lo novedoso del método de PCR anidado diseñado, con el fin de elevar la detección así como la implementación de monitoreos en plantas de tratamiento para generar alertas a la población. (La Rosa et al. 2020).

### Estados Unidos

Los diversos estudios muestran las dificultades para el análisis computacional y modelado del virus en los canales de aguas residuales, ya que la degradación del genoma viral depende de la temperatura que se presenta durante la trayectoria del virus a través de tiempo en los canales y del tiempo transcurrido, por lo que la compensación por los efectos de la temperatura es crítica (Hart & Halden, 2020). Las estimaciones del número de contagios fueron mayores a las basadas en las pruebas médicas aleatorias debido a la población infectada asintomática. Se demostró que la herramienta de la epidemiología basada en aguas residuales es fundamental para comprender la propagación del virus en grandes comunidades y regiones, permitiendo una mejor toma de decisiones públicas y que representan un costo mucho menor que la prueba del virus en los individuos de la población. (Wu et al. 2020)

### Países Bajos

El estudio se enfocó en la detección de SARS-CoV-2 en siete plantas de tratamiento de aguas residuales para rastrear la persistencia del virus en el agua, su propagación antes de la pandemia, durante la misma y cuando ésta declinó en el periodo de febrero a marzo (Medema et al., 2020). Los estudios con aguas residuales permiten detectar desde 1 a 3.5 casos por cada 100,000 habitantes, dicha detección no corresponde a los casos médicos reportados en las fechas de recolección de muestras, indicando la presencia de individuos asintomáticos o con síntomas leves, siendo una herramienta muy útil para estimar los casos no registrados de contagio.

En resumen, estos estudios en diversos países muestran la aplicación de WBE para la vigilancia de COVID-19 como una herramienta para el monitoreo a nivel comunitario y para poder tomar medidas a tiempo cuando se presenten rebrotes. En varios países tales como España, Canadá, Reino Unido y Australia han iniciado el monitoreo a gran escala del ARN del coronavirus en aguas residuales en determinadas ciudades, con el fin de que las autoridades puedan detectar nuevos brotes y monitorear la epidemia actual. Lo que hace falta es validar entre varios países las metodologías para la toma de muestras, incluyendo la frecuencia, y las técnicas analíticas.

## METODOLOGÍAS DE DETECCIÓN

Todas las metodologías de detección del coronavirus en aguas residuales se basan en las cargas virales en las heces de los pacientes con COVID-19. Puesto que ARN del SARS-CoV-2 se puede encontrar en concentraciones menores que las de muchos virus entéricos ( $\sim 10^8$  virus por gramo de heces) (Bosch, 1998; Prüss et al., 2002; Wyn-Jones y Sellwood, 2001), es necesario realizar un paso de concentración antes de la detección de ARN del virus (Ahmed et al., 2020; Lodder y de Roda Husman, 2020; Medema et al., 2020; Nemudryi et al., 2020; F. Wu et al., 2020b; Wurtzer et al., 2020).

Se han desarrollado diferentes métodos para concentrar virus en aguas residuales; en su mayoría para virus entéricos, los cuales a diferencia del SARS-CoV-2 no tienen envoltura. También se han utilizado como modelos, virus que se pueden propagar fácilmente en líneas celulares, así como bacteriófagos (Haramoto et al., 2018). Para concentrar los virus a partir de aguas residuales tratadas y no tratadas se utilizan membranas electropositivas o electronegativas (Cashdollar y Wymer, 2013; Haramoto et al., 2018; Ikner et al., 2012). Esta metodología se basa en interacciones electrostáticas entre las membranas y los virus; la mayoría de los virus entéricos tienen una carga neta negativa cercana a pH neutro. Los virus cargados negativamente se adsorben directamente sobre el filtro electropositivo, en el caso de los filtros electronegativos se utiliza un puente salino con un ion multivalente (Ikner et al., 2012; Michen y Graule, 2010). Otro método comúnmente utilizado es la concentración mediante ultrafiltración, basándose en la exclusión por tamaño (Hill et al., 2005, 2007). También se emplean polietilenglicol (PEG) (Lewis y Metcalf, 1988), ultracentrifugación (Fumian et al., 2010) y floculación con leche descremada (Calgua et al., 2013).

Estos métodos de concentración han sido exitosos para detección de varios tipos de virus endógenos entéricos (Fong y Lipp, 2005; Haramoto et al., 2018) y la eficiencia de recuperación de los virus depende del tipo de virus y del agua (Haramoto et al., 2018). Es importante considerar que SARS-CoV-2 tiene características estructurales y propiedades físicas muy diferentes de las de los virus

entéricos.

## MODELAJE DEL SARS-CoV-2 PARA EPIDEMIOLOGÍA BASADA EN AGUAS RESIDUALES.

Los modelos aplicados para realizar la epidemiología en aguas residuales se basan en la presencia y persistencia del virus SARS-CoV-2 conforme al tiempo y la temperatura de las aguas residuales durante el trayecto. La mayoría de los estudios buscan relacionar la carga viral, que se refiere a la concentración del virus en el agua, contra el número de contagiados y las tendencias de las curvas epidemiológicas de contagiados.

Estudios como el de Ahmed et. al. (2020) buscan además estimar el número de contagiados asintomáticos dado que la carga viral corresponde a un número mayor que el esperado. Por medio de simulaciones Monte Carlo se estima el valor de la población contagiada sintomática y asintomática por medio de los datos de concentración viral, obteniendo para una distribución uniforme entre 1.9 y 12 copias del virus por 100 mililitros, con una media del número de infectados de 563.

Por otra parte, Wurtzer, et. al. (2020) han encontrado que la tendencia de las curvas de contagio previas al confinamiento y posteriores determinadas con base a la concentración del genoma del coronavirus en las aguas residuales se desfasan con una semana de antelación respecto al número de contagios médicos reportados, por lo que WBE ofrece un diagnóstico de posible población infectada con una semana de anticipación y permite evaluar estrategias de gobierno para preparar a los sistemas de salud ante nuevos brotes o cambios en el comportamiento de la curva de contagios.

Los modelajes más complejos involucran la estimación del tiempo de vida del virus en las aguas residuales y su dependencia con la temperatura ambiental en zonas tropicales y sub-tropicales de acuerdo a los biomarcadores empleados, así como predicciones de acuerdo a los valores mínimos de detección. (Hart & Halden, 2020).

El modelaje principalmente se basa en la presencia y supervivencia del virus SARS-CoV -2 en el agua residual mediante un decaimiento exponencial de la presencia del virus en el agua residual en, función del tiempo.

$$N(t) = N_0 \left(\frac{1}{2}\right)^{\left(\frac{t}{t_{1/2}}\right)}$$



Donde N(t) es la cantidad que se mantiene y no decae después de un tiempo, es decir la cantidad medida por la muestra de campo); N0 es la cantidad inicial de la substancia que fue excretada y descargada en el sistema de aguas residuales;  $t_{1/2}$  es la vida media del biomarcador y t es el tiempo transcurrido entre el tiempo de excreción (t=0) y el tiempo de observación o recolección de la muestra (t=t).

El ajuste de los biomarcadores que realizan la detección en aguas residuales depende fuertemente de la temperatura, reportándose una vida media a temperatura ambiente, está dado por la ecuación de Arrhenius:

$$R_2 = R_1 \times Q_{10}^{(T_2 - T_1 / 10^\circ C)}$$

Donde R<sub>1</sub> es la tasa de decaimiento inicial, igual al logaritmo natural negativo de dos dividido por la vida media inicial reportada (Laidler, 1984). Resolviendo para la vida media, se obtiene.

$$t_{1/2} = t_{1/2,1} \times \frac{\ln(2)}{\ln(2) \times Q_{10}^{(T_2 - T_1 / 10^\circ C)}}$$

Donde  $t_{1/2,1}$  es la vida media inicial, T<sub>1</sub> es la temperatura a la cual la vida media inicial fue derivada,  $t_{1/2,2}$  es la vida media estacional y espacialmente ajustada a la temperatura del agua residual, T<sub>2</sub> es la temperatura calculada dado el ajuste de la vida media inicial, y Q<sub>10</sub> es un factor de la temperatura dependiente de la tasa de cambio, con un rango entre 2 y 3 para la mayoría de los sistema biológicos (Hart & Halden 2020).

El análisis de la presencia y concentración de la carga viral del SARS-CoV-2 en conjunto con los modelos hidráulicos aplicados a los sistemas de drenaje de aguas negras, empleando valores históricos de las tasas de descarga per cápita, densidad de la población, nodos de mantenimiento y curvas diurnas.

A partir de la temperatura se puede estimar la carga viral detectada en aguas residuales, y con datos del número de contagiados es posible calibrar las estimaciones de contagios a futuro, sin embargo, se necesita de monitoreos semanales para calibrar los métodos de epidemiología en aguas residuales (WBE).

Una de las ventajas de WBE es que la determinación de las áreas de contagio por medio de los mapas de aguas residuales de una ciudad permiten hacer una zonificación y tener un semáforo específico para plantear en donde hacer los análisis clínicos por persona, hacer el seguimiento de sus contactos y evitar la búsqueda aleatoria de los posibles contagiados.

## IMPLEMENTACIONES EN EL SISTEMA DE AGUAS RESIDUALES

Los costos de la implementación se pueden reducir considerablemente hasta menos de una centésima del costo de hacer las pruebas individuales a una población con SARS-CoV -2. Por ejemplo, para los Estados Unidos se reduciría el costo a cientos de miles de dólares comparado con el costo de algunos billones de dólares requeridos para realizar la prueba a toda la población de manera individual, permitiendo el monitoreo de regiones desde 1 infectado en una población de 144 habitantes hasta la detección de 1 infectado entre dos millones de personas en el caso teórico de mejor estimación. (Hart & Halden, 2020).

## CONCLUSIONES

En la actualidad, existen importantes lagunas de conocimiento sobre el papel potencial de aguas residuales en la transmisión de SARS-CoV-2. Por ejemplo, la supervivencia del SARS-CoV-2 en los medios ambientales, incluidas las aguas residuales, se desconoce. Datos recientes indican que la estabilidad del SARS-CoV-2 es similar a la del SARS-CoV en aerosoles y en superficies (Van Doremalen et al., 2020). Por lo que la persistencia de SARS-CoV-2 en aguas residuales, aguas receptoras y los efectos de la temperatura, depredación, UV, luz solar sobre su degradación e inactivación deben investigarse.

También hay escasa información sobre la eliminación del SARS-CoV-2 y / o inactivación en aguas residuales y en los procesos de tratamiento de agua, tales como lodos activados, filtración por membrana, sedimentación por coagulación y desinfección (cloro, cloramina, UV, ozono, etc.). Si bien es difícil determinar los valores de reducción de log 10 del SARS-CoV-2 debido a las restricciones para el manejo del virus y las instalaciones de bioseguridad requeridas, se podrían utilizar como modelos virus tales como CoVs (Leung et al., 2003; Memish et al., 2015), MHV (Casanova et al., 2009, Ye et al., 2016) y el fago Φ6 de Pseudomonas (Casanova and Weaver, 2015, Aquino de Carvalho et al., 2017).

Actualmente, los ensayos RT-qPCR desarrollados para la prueba de muestras clínicas siguen siendo utilizados para la detección del SARS-CoV-2 en aguas residuales, existiendo el riesgo de falsos negativos debido a un diseño incorrecto de cebadores o mutaciones en la región objetivo del genoma viral. Estos ensayos, deben ser estandarizados, en el método analítico así como en la toma de muestras y su frecuencia, además de ser evaluados por múltiples laboratorios en diferentes países.

El ensayo por RT-qPCR no proporciona información sobre el título viral, es decir la cantidad de virus con capacidad infectiva. En otras palabras se sabe que hay trazas del material genético del virus, calculándose la concentración de genomas virales; pero no se sabe si el virus permanece infectivo. A nivel nacional e internacional las campañas de vigilancia de aguas residuales deben llevarse a cabo para

comprender la dinámica temporal y espacial de la prevalencia de la enfermedad del COVID-19, la epidemiología y evolución del virus, así como la eficacia de las intervenciones en la salud pública. Además, un monitoreo continuo y sistemático de las aguas residuales puede proporcionar una alerta temprana en el caso de otros virus y bacterias patógenas, así se pueden identificar enfermedades no diagnosticadas o sucesivas a nivel de la población, alertando a los funcionarios de salud pública sobre la marcha y sobre futuros brotes. En síntesis, la vigilancia de las aguas residuales es crítica y la epidemiología basada en aguas residuales (WBE, por sus siglas en inglés) puede proporcionar información valiosa sobre la prevalencia de infecciones en la comunidad.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jorge Rocha por habernos inducido a trabajar con SARS-CoV-2 en aguas residuales.

## BIBLIOGRAFIA

Asghar H, Diop OM, Weldegebriel G, Malik F, Shetty S, Bassioni L El, Akande AO, Maamoun E Al, Zaidi S, Adeniji AJ, Burns CC, Deshpande J, Oberste MS, Lowther SA (2014). Environmental surveillance for polioviruses in the global polio eradication initiative. J. Infect. Dis. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu384>.

Hellmér M, Paxéus N, Magnus L, Enache L, Arnholm B, Johansson A, Bergström T, Norder H (2014) Detection of pathogenic viruses in sewage provided early warnings of hepatitis A virus and norovirus outbreaks. Appl. Environ. Microbiol. <https://doi.org/10.1128/AEM.01981-14>.

Gao QY, Chen YX, Fang JY (2020) 2019 novel coronavirus infection and gastrointestinal tract. J. Dig. Dis. <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12851>.

Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, Lofy KH, Wiesman J, Bruce H, Spitters C, Ericson K, Wilkerson, S, Tural A, Diaz G, Cohn A, Fox LA, Patel A, Gerber SI, Kim L, Tong S, Lu X, Lindstrom S, Pallansch MA, Weldon WC, Biggs HM, Uyeki TM, Pillai SK (2020). First case of 2019 novel coronavirus in the United States. N. Engl. J. Med. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001191>.

Jiehao C, Jing X, Daojiong L, Lei X, Zhenghai Q, Yuehua Z, Hua Z, Xiangshi W, Yanling G, Aimei X, He T, Hailing C, Chuning W, Jingjing L, Jianshe W, Mei Z, Children N, Women H, Central S, Zeng M, (2020). A case series of children with 2019 novel coronavirus infection: clinical and epidemiological features. Clin. Infect. Dis. <https://doi.org/10.1093/cid/cia198> [Epub ahead of print].

Tang A, Tong Z, Wang H, Dai Y, Li K, Liu J, Wu W, Yuan C, Yu M, Li P, Yan J (2020). Detection of novel coronavirus by RT-PCR in stool specimen from asymptomatic child, China. Emerg. Infect. Dis. <https://doi.org/10.3201/eid2606.200301>.

Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, Niemeyer D, Jones TC, Vollmar P, Rothe C, Hoelscher M, Bleicker T, Brünink S, Schneider J, Ehmann R, Zwirgmaier K, Drosten C, Wendtner C (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature, 1–10 <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>.

Zhang JC, Wang SB, Xue YD (2020a) Fecal specimen diagnosis 2019 novel coronavirus-infected pneumonia. J. Med. Virol. <https://doi.org/10.1002/jmv.25742>.

Zhang N, Gong Y, Meng F, Bi Y, Yang P, Wang F (2020b). Virus Shedding Patterns in Nasopharyngeal and Fecal Specimens of COVID-19 Patients. Infectious Diseases (except HIV/AIDS).

Zhang W, Du RH, Li B, Zheng XS, Yang XL, Hu B, Wang YY, Xiao GF,

Yan B, Shi ZL, Zhou P (2020c) Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. Emerg. Microbes Infect. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1729071>.

Zhang Y, Chen H, Zhu S (2020d) Isolation of 2019-nCoV From a Stool Specimen of a Laboratory Confirmed Case of the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). 2 pp. 123–124.

Zhang N, Gong Y, Meng F, Bi Y, Yang P, Wang F (2020e). Virus Shedding Patterns in Nasopharyngeal and Fecal Specimens of COVID-19 Patients. medRxiv <https://doi.org/10.1101/2020.03.28.20043059>press.

Ahmed W, Angel N, Edson J, Bibby K, Bivins A, O'Brien JW, Choi PM, Kitajima M, Simpson SL, Li J, Tschärke B, Verhagen R, Smith WJM, Zaugg J, Dierens L, Hugenholtz P, Thomas KV, Mueller JF (2020) First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: A proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. Science of the Total Environment <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138764>

Lodder W, de Roda Husman A (2020) SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. Lancet Gastroenterol. Hepatol. 1253, 30087.

Medema G, Heijnen L, Elsinga G, Italiaander R (2020). Presence of SARS-Coronavirus-2 in Sewage. medRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.03.29.20045880>.

Wu F, Amy X, Jianbo Z, Xiaoqiong G, Wei LL, Kathryn K, William H, Mariana M, Newsha G, Noriko E, Claire D, Katya M, Timothy E, Peter C, Janelle T, Eric A (2020) SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. doi:<https://doi.org/10.1101/2020.04.05.20051540>.

Hamza IA, Bibby K (2019) Critical issues in application of molecular methods to environmental virology. J Virol Methods 266, 11e24. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2019.01.008>.

Haramoto E, Kitajima M, Hata A, et al (2018). A review on recent progress in the detection methods and prevalence of human enteric viruses in water. Water Res. 135, 168e186. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.004>.

La Rosa G, Fratini M, della Libera S, Iaconelli M, Muscillo M (2012) Emerging and potentially emerging viruses in water environments. Ann. Ist. Super Sanita 48 (4), 397e406. [https://doi.org/10.4415/ANN\\_12\\_04\\_07](https://doi.org/10.4415/ANN_12_04_07).

Moreira NA, Bondelind M (2017) Safe drinking water and waterborne outbreaks. J. Water Health 15 (1), 83e96. <https://doi.org/10.2166/wh.2016.103>.

Rusinol M, Girones R (2017) Summary of excreted and waterborne viruses. In: Rose, J.B., Jimenez-Cisneros, B. (Eds.), Global Water Pathogen Project. UNESCO, MI. <https://doi.org/10.14321/waterpathogens.19>. <http://www.waterpathogens.Org>. R. Girones (Eds) Part 3 Viruses), E. Lansing. <http://www.waterpathogens.Org/book/summary-Of-Excreted-And-Waterborne-Viruses> Michigan State University.

WHO (2017). Guidelines for Drinking-Water Quality, fourth ed. incorporating the 1st addendum. [https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/drinking-water-quality-guidelines-4-including-1st-addendum/en/](https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/drinking-water-quality-guidelines-4-including-1st-addendum/en/).

WHO (2020a). Pneumonia of unknown cause – China [WWW document]. URL. <https://www.who.int/csr/don/05-january-2020-pneumonia-of-unknown-cause-china/en/>.

WHO (2020b) Statement on the Second Meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee Regarding the Outbreak of Novel Coronavirus (2019-nCoV) [WWW Document].

Sinclair RG, Choi CY, Riley MR, Gerba CP (2008) Pathogen surveillance through monitoring of sewer systems. Adv. Appl. Microbiol. 65, 249–269. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)00609-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)00609-6)



Xagorarakis I, O'Brien E (2020) Wastewater-based epidemiology for early detection of viral outbreaks. In: O'Bannon, D. (Ed.), Women in Water Quality. Springer Nature Switzerland, pp. 75–97. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-17819-2>.

Wurtzer S, Marechal V, Mouchel JM, Maday Y, Teyssou R, Richard E, Almayrac JL, Moulin L (2020) Evaluation of lockdown impact on SARS-CoV-2 dynamics through viral genome quantification in Paris wastewaters, medRxiv, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.12.20062679>.

La Rosa G, Iaconelli M, Mancini P, Bonanno Ferraro G, Veneri C, Bonadonna L, Lucentini L, Suffredini E (2020) First detection of sars-cov-2 in untreated wastewaters in Italy, Cold Spring Harbor Laboratory Press, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.25.20079830>.

Hart OE, Halden RU (2020) Computational analysis of SARS-CoV-2/ COVID-19 surveillance by wastewater-based epidemiology locally and globally: feasibility, economy, opportunities and challenges. Sci. Total Environ. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138875>.

Laidler KJ (1984) The development of the Arrhenius equation. J. Chem. Educ. 61 (6), 494

Bosch A (1998) Human enteric viruses in the water environment: a minireview. Int. Microbiol. 1, 191–196. <https://doi.org/10.2436/im.v1i3.39>.

Prüss A, Kay D, Fewtrell L, Bartram J (2002). Estimating the burden of disease from water, sanitation, and hygiene at a global level. Environ. Health Perspect. 110, 537–542. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110537>.

Wyn-Jones AP, Sellwood J (2001) A review: enteric viruses in the aquatic environment. J. Appl. Microbiol. 91, 945–962. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01470.x>.

Nemudryi A, Nemudraia A, Surya K, Wiegand T, Buyukyoruk M, Wilkinson R, Wiedenheft B (2020) Temporal detection and phylogenetic assessment of SARS-CoV-2 in municipal wastewater. medRxiv <https://doi.org/10.1101/2020.04.15.20066746>.

Haramoto E, Kitajima M, Hata A, Torrey JR, Masago Y, Sano D, Katayama H (2018) A review on recent progress in the detection methods and prevalence of human enteric viruses in water. Water Res. 135, 168–186. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.02.004>.

Cashdollar JL, Wymer L (2013). Methods for primary concentration of viruses from water samples: a review and meta-analysis of recent studies. J. Appl. Microbiol. 115, 1–11. <https://doi.org/10.1111/jam.12143>.

Ikner LA, Gerba CP, Bright KR (2012) Concentration and recovery of viruses from water: a comprehensive review. Food Environ. Virol. 4, 41–67. <https://doi.org/10.1007/s12560-012-9080-2>.

Michen B, Graule T (2010) Isoelectric points of viruses. J. Appl. Microbiol. 109, 388–397. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04663.x>.

Hill VR, Polaczyk AL, Hahn D, Narayanan J, Cromeans TL, Roberts JM, Amburgey JE (2005) Development of a rapid method for simultaneous recovery of diverse microbes in drinking water by ultrafiltration with sodium polyphosphate and surfactants. Appl. Environ. Microbiol. 71, 6878–6884. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.6878>.

Hill VR, Kahler AM, Jothikumar N, Johnson TB, Hahn D, Cromeans TL (2007) Multistate evaluation of an ultrafiltration-based procedure for simultaneous recovery of enteric microbes in 100-liter tap water samples. Appl. Environ. Microbiol. 73, 4218–4225. <https://doi.org/10.1128/AEM.02713-06>.

Lewis GD, Metcalf TG (1988) Polyethylene glycol precipitation for recovery of pathogenic viruses, including hepatitis A virus and human rotavirus, from oyster, water, and sediment samples. Appl. Environ. Microbiol. 54, 1983–1988. <https://doi.org/10.1128/aem.54.8.1983-1988.1988>.

Fumian TM, Leite JPG, Castello AA, Gaggero A, Caillou MSLd, Miagostovich MP (2010) Detection of rotavirus A in sewage samples using multiplex qPCR and an evaluation of the ultracentrifugation and adsorption-elution methods for virus concentration. J. Virol. Methods 170, 42–46. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.08.017>.

Calgua B, Rodriguez-Manzano J, Hundesa A, Suñen E, Calvo M, Bofill-Mas S, Girones R (2013) New methods for the concentration of viruses from urban sewage using quantitative PCR. J. Virol. Methods 187, 215–221. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.10.012>.

Fong T-T, Lipp EK (2005) Enteric viruses of humans and animals in aquatic environments: health risks, detection, and potential water quality assessment tools. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 69, 357–371. <https://doi.org/10.1128/MMBR.69.2.357>.

Wang, Xin W, Li JS, Jin M, Zhen B, Kong QX, Song N, Xiao WJ, Yin, J, Wei W, Wang GJ, Si BY, Guo BZ, Liu C, Ou GR, Wang MN, Fang TY, Chao FH, Li JW (2005) Study on the resistance of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus. J. Virol. Methods 126, 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.02.005>.

Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris D, Holbrook M, Gamble A, Williamson B, Tamin A, Harcourt J, Thornburg N, Gerber S, Lloyd-Smith J, de Wit E, Munster V (2020) Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. N. Engl. J. Med. 382, 1564–1567. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2004973>.

Leung WK, To KF, Chan PKS, Chan HLY, Wu AKL, Lee N, Yuen KY, Sung JJY (2003) Enteric involvement of severe acute respiratory syndrome - associated coronavirus infection. Gastroenterology 125, 1011–1017. <https://doi.org/10.1016/j.gastro.2003.08.001>.

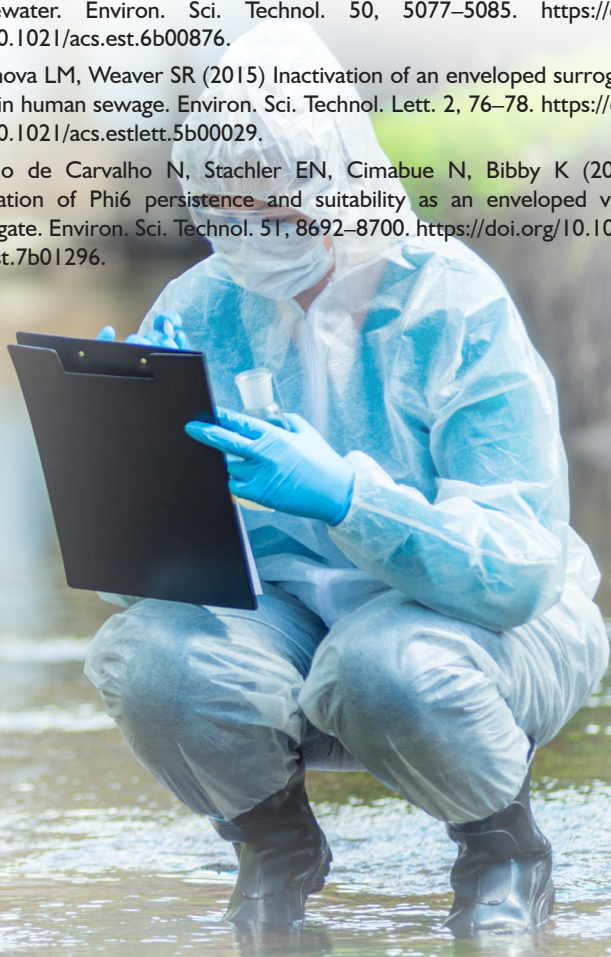
Memish Z, Perlman S, Van Kerkhove M, Zumla A (2015) Middle East respiratory syndrome. Lancet 386, 995–1007. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60454-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60454-8).

Casanova L, Rutala WA, Weber DJ, Sobsey MD (2009) Survival of surrogate coronaviruses in water. Water Res. 43, 1893–1898. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.02.002>.

Ye Y, Ellenberg RM, Graham KE, Wigginton KR (2016) Survivability, partitioning, and recovery of enveloped viruses in untreated municipal wastewater. Environ. Sci. Technol. 50, 5077–5085. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00876>.

Casanova LM, Weaver SR (2015) Inactivation of an enveloped surrogate virus in human sewage. Environ. Sci. Technol. Lett. 2, 76–78. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.5b00029>.

Aquino de Carvalho N, Stachler EN, Cimabue N, Bibby K (2017) Evaluation of Phi6 persistence and suitability as an enveloped virus surrogate. Environ. Sci. Technol. 51, 8692–8700. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01296>.



# LAS BONDADES DE UN HONGO BASIDIOMICETO LLAMADO *PLEUROTUS OSTREATUS*

Yetzemany Huitrón Contreras, Soley Berenice Nava Galicia y Martha Bibbins Martínez\*  
Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada-Instituto Politécnico Nacional  
\*e-mail: mbibbinsm@ipn.mx



RESUMEN

Los hongos basidiomicetos son potenciales fábricas de metabolitos secundarios con actividad biológicamente importante, entre las especies de importancia mundial destaca *Pleurotus ostreatus*, el cual se encuentra clasificado como un organismo **Generalmente Reconocido Como Seguro** (GRAS: “Generally Recognized As Safe”), por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés). Sus propiedades organolépticas, nutricionales, pero sobre todo medicinales, son de gran interés para la ciencia, es por ello que en este artículo se destacan parte de las bondades que ofrece este basidiomiceto en pro de la salud humana a través de los metabolitos que produce.

**PALABRAS CLAVE:** *Pleurotus ostreatus*, nutraceuticos, compuestos bioactivos, metabolismo secundario, GRAS

Abstract

Basidiomycetous fungi are potential factories of secondary metabolites with biologically important activity, and among the species of worldwide importance, *Pleurotus ostreatus* stands out. This organism is classified as GRAS Generally Recognized as Safe) by the Food and Drug Administration (FDA). Its organoleptic, nutritional but above all medicinal, properties are of great interest to science that is why this article highlights part of the goodness offered by this basidiomycete in pro of human health through the metabolites it produces.

**KEYWORDS:** *Pleurotus ostreatus*, nutraceutics, bioactive compounds, secondary metabolism, GRAS

1. INTRODUCCIÓN

Las setas (hongos comestibles) como *Pleurotus ostreatus* (hongo ostra), son uno de los elementos de la dieta humana que se encuentra en muchos países del mundo, su cada vez más creciente aceptación, se basa en sus propiedades nutricionales y organolépticas. Pueden consumirse frescas, cocidas, secas ó fritas. También se han desarrollado numerosos productos alimenticios de mayor valor agregado a base de setas, como pastas, patés, salsas, té, s, bebidas, entre otros que ya se encuentran disponibles comercialmente. El valor nutricional de los hongos se da por su contenido proteico rico en aminoácidos esenciales y altas cantidades de carbohidratos digestibles y no digestibles, predominando los carbohidratos no digestibles considerados como fibra dietética con muchas propiedades beneficiosas para la salud. Además de otros componentes menos abundantes como lípidos, vitaminas, así como micro y macroelementos (potasio, fósforo, calcio).

Como fuente de compuestos bioactivos, los hongos comestibles han sido estudiados por sus potenciales

propiedades anticancerígenas, antivirales, antimicrobianas, inmunopotenciadoras, hipocolesterolémicas, hepatoprotectoras y antidiabéticas, así como otras. La naturaleza química de los compuestos bioactivos es diversa y comprende moléculas pequeñas y macromoléculas poliméricas.

Por lo anterior, se vuelve un tema de gran interés, ahondar en las “bondades” de uno de los hongos comestibles más importantes en la biotecnología moderna, *P. ostreatus*.

2. LAS BONDADES DE LOS HONGOS

2.1 Un vistazo a los hongos basidiomicetos, de la naturaleza a tu plato

Los basidiomicetos forman el segundo grupo más grande de hongos, en su mayoría macroscópicos (visibles a simple vista) e incluyen los conocidos hongos agaricales dentro de los que se encuentran algunas de las setas comestibles más conocidas. Con más de 50,000 especies, de las cuales 684 ya se encuentran descritas y más de 533 ya cuentan con su genoma secuenciado (MycoCosm 2020). En la naturaleza juegan un rol ecológico fundamental al participar en el reciclado de carbono en sistemas forestales a través de la descomposición de la madera, gracias a la maquinaria enzimática que presentan. Así mismo incluye una variedad diversa de especies que tienen un gran impacto en la humanidad ya que suelen ser comestibles (Madigan y Martinko 2009).

Sin lugar a dudas los hongos han sido recolectados y consumidos por la humanidad durante miles de años. China es el país con el registro histórico antiguo y moderno más importante en el uso de hongos, no solo por sus propiedades nutritivas y sabor, sino también por sus propiedades curativas, y son empleados en terapias orientales tradicionales (Manzi et al. 1999).

En la antigua China se consideraban a los hongos como “el elixir de la vida”, en tanto que para la cultura romana, los hongos eran “la comida de los dioses”, y para los primeros egipcios eran considerados “un regalo del Dios Osiris”. (Chen y Li 2015; Doñan et al. 2013).

Aunque el uso de hongos en diversos países tiene una larga historia, en los países occidentales ha aumentado su popularidad en las últimas décadas. Se estima que el mercado mundial de hongos comestibles tiene un valor de 42 000 millones de dólares al año (Knowledge Sourcing Intelligence 2017). Al menos 350 especies de hongos se consumen como alimento, y dentro de los hongos basidiomicetos más consumidos se encuentran el champiñón común (*Agaricus brunnesces*) y el hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) (de Mattos-Shipley et al. 2016; Rodríguez et al. 2006)

2.2. Aspectos importantes en el ciclo de vida

El ciclo de vida de los hongos es muy importante y más aún cuando se quiere conocer en que etapa se producen los compuestos bioactivos. En basidiomicetos presentan tres fenómenos importantes: PLASMOGAMIA (fusión de dos células del micelio que se aparean, a través de la cual los núcleos de dos cepas coexisten en un citoplasma común), CARIOGAMIA (fusión de los núcleos) y MEIOSIS (división celular en la cual el número de cromosomas es reducido del estado diploide a estado haploide) (Figura 1).

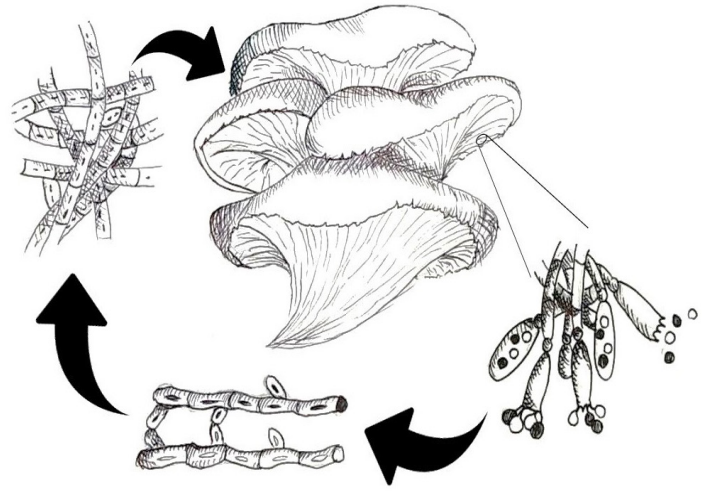


Figura 1. Ciclo de vida del hongo basidiomiceto *P. ostratus*

2.3. *P. ostreatus*, manjar lleno de nutrientes

El género *Pleurotus*, alberga una variedad de setas comestibles que son conocidas por su gran calidad nutricional: alto valor proteico con alto contenido de aminoácidos esenciales, una considerable concentración de vitaminas (B1, B2, B12, C, D, E, y caroteno), micro y macroelementos (potasio, fósforo, calcio, magnesio, hierro, cobre, selenio y zinc), fibra dietaria, además de poseer bajos niveles de sodio y grasas insaturadas (Figura 2) (Cardoso et al. 2017). El método de cultivo de *Pleurotus* se desarrolló exitosamente en Alemania durante la primera guerra mundial para poder dar con una solución para mitigar el problema de hambruna en el pueblo alemán (Piska et al. 2017). En los bosques, los cuerpos fructíferos del hongo ostra, como comúnmente se conoce, surgen en otoño (meses de octubre-noviembre). Este hongo es tolerante a bajas temperaturas, sin embargo, necesita de una gran cantidad de luz, pues en bajas condiciones de luz no se producen cuerpos fructíferos, o bien cuerpos fructíferos pequeños (Piska et al. 2017).

Siendo el segundo hongo comestible más cultivado alrededor del mundo, es empleado en muchas sociedades como sustituto de carne, además de ser buscado por su olor agrisado a benzaldehído característico de anís y almendras (Beltran-Garcia et al. 1997; Sanches 2010) (Figura 2).

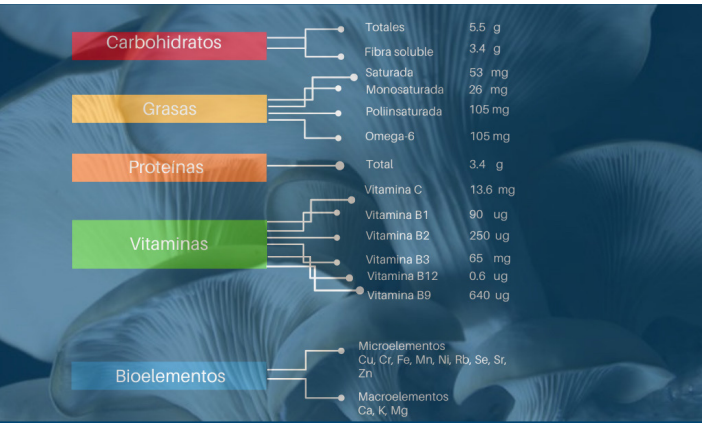


Figura 2. Contenido nutricional de *P. ostreatus*

2.4. Metabolitos secundarios, compuestos bioactivos de Pleurotus ostreatus .... ¿qué son?

Los metabolitos secundarios son aquellos compuestos orgánicos producidos por un organismo, los cuales no están directamente relacionados con el crecimiento, desarrollo o reproducción normal de dicho organismo. Éstos generalmente son bioactivos, usualmente de bajo peso molecular y son producidos como familias de compuestos sintetizados en ciertas etapas del ciclo de vida del organismo así como en determinado estadio de diferenciación morfológica (Keller et al. 2005).

En *Pleurotus*, los metabolitos secundarios, se pueden aislar tanto del micelio como del cuerpo fructífero así como del medio de cultivo empleado. Dentro de estos metabolitos se encuentran: β-glucanos, enzimas, polipéptidos, policétidos, ácidos grasos, polifenoles, flavonoides y terpenoides, entre otros. Algunas de las propiedades atribuidas a estos compuestos son: anticancerígenas, antitumorales, hipocolesterolémicas, antivirales, antibacterianas, o inmunomoduladoras, entre otras (Figura 3) (Barros et al. 2007, 2008; Cardoso et al. 2017; Lindequist et al. 2005).

Uno de los compuestos más importantes en *P. ostreatus* es la lovastatina, policétido que ha sido aprobado desde 1987 por la FDA, para usarse como fármaco para el tratamiento de dislipidemia, (Bobek y Ozdin 1994). Se ha reportado que 1g de peso seco de *P. ostreatus* contiene de 165.5 a 606.5 µg/g de lovastatina (Shin-Yu et al. 2012). Otro compuesto es la ergotioneína, aminoácido derivado de la histidina con propiedades antioxidantes, considerada como un compuesto adyuvante en el tratamiento de golpes, enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares (Cheah y Halliwell 2012; Woldegiorgis et al. 2014). Así mismo, en extractos de *P. ostreatus* se ha encontrado un polisacárido ramificado, el β-glucano llamado pleuran, (Fričová y Koval’aková, 2013; Karácsonyi y Kuniakb, 1994), el cual se ha caracterizado como un agente inmunomodulador con potenciales aplicaciones en el tratamiento de cáncer, infecciones y desórdenes del sistema inmune (Devi et al. 2013, 2015).



También se han caracterizado péptidos con actividad antifungal, en el caso de *P. ostreatus* encontramos la pleurostrina, un péptido de 7 kDa, el cual presenta actividad contra los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Mycosphereella arachidicola* y *Physalospora piricola* (Chu et al., 2005) (Figura 3).

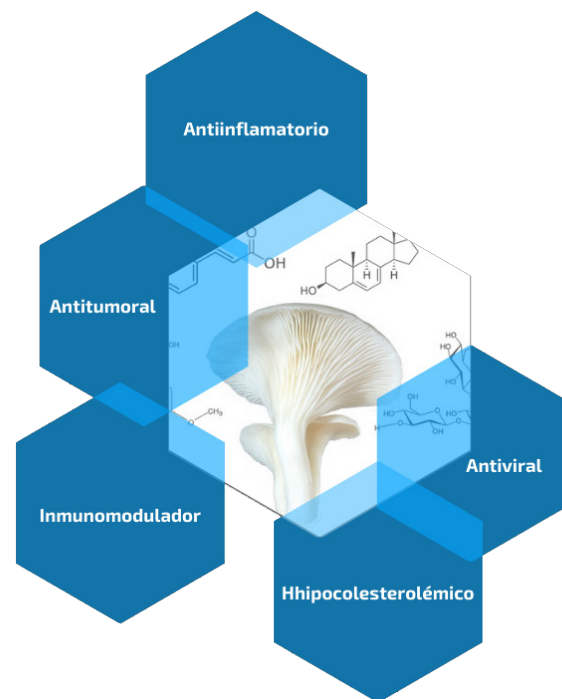


Figura 3. Propiedades nutraceuticas de *P. ostreatus*

### 3. PERSPECTIVAS

Diversos estudios muestran que los hongos comestibles pueden ser potencialmente utilizados para promover la salud ó tratar diversos padecimientos, ya sea como alimento ó como fuente de compuestos bioactivos. La investigación con organismos como *P. ostreatus*, dirigida a la identificación de nuevos compuestos, definición de mecanismos de acción y validación a nivel clínico, sigue siendo de medular importancia para lograr que los compuestos de origen natural logren sustituir a los compuestos de síntesis química y que por tanto ocasionen menos efectos secundarios a la salud.

Por otra parte, emergencias médico-sanitarias como la enfrentada en la reciente pandemia causada por el virus SARS-CoV-2, pone de manifiesto la necesidad de contar con alternativas de tratamiento. Sin duda, una alternativa en la prevención y/o tratamiento, podría ser el empleo de compuestos con actividad antiviral aislados de organismos como *P. ostreatus*.

### 4. AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional y Secretaría de Investigación y Posgrado, proyectos SIP 20200760 y SIP 20201736, al CONACYT beca I506834488.

### 5. REFERENCIAS

Barros L, Baptista P, Correia M, Casal S, Oliveira B, y Ferreira R (2007). Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chem*, 105, 140–145.

Barros L, Cruz T, Baptista P, Estevinho M, y Ferreira R (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2742–2747. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.04.030>

Beltran-Garcia J, Estarron-Espinosa O. (1997). Volatile compounds secreted by the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and their antibacterial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4049–4052.

Bobek, P, y Ozdin L. (1994). The mushroom *Pleurotus ostreatus* accelerates plasma very-low-density lipoprotein clearance in hypercholesterolemic rat. *Physiol Res*, 43, 205–206.

Cardoso C, Fernandes Â, Oliveira P, Calhella C, Barros L, Martins A, y Ferreira R (2017). Development of nutraceutical formulations based on the mycelium of: *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus bisporus*. *Food and Function*, 8(6), 2155–2164. <https://doi.org/10.1039/c7fo00515f>

Cheah K, y Halliwell B (2012). Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1822, 784–793.

Chen H, y Li S (2015). Polysaccharides from Medicinal Mushrooms and Their Antitumor Activities. In K. G. Ramawat & J.-M. Mérillon (Eds.), *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology* (pp. 1893–1910). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-16298-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-16298-0_3)

Chu T, Xia L, y Ng B (2005). Pleurostrin, an antifungal peptide from the oyster mushroom. *Peptides*, 26(11), 2098–2103. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2005.04.010>

de Mattos-Shipley J, Ford L, Alberti F, Banks M, Bailey M, y Foster D (2016). The good, the bad and the tasty: The many roles of mushrooms. *Studies in Mycology*, 85(Litten 1975), 125–157. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2016.11.002>

Devi S, Behera B, Mishra D, y Maiti K (2015). Immune augmentation and Dalton's Lymphoma tumor inhibition by glucans/glycans isolated from the mycelia and fruit body of *Pleurotus ostreatus*. *Int. Immunopharmacol.*, 25, 207–217.

Devi S, Roy B, Patra P, Sahoo B, Islam S, y Maiti K (2013). Characterization and lectin microarray of an immunomodulatory heteroglucan from *Pleurotus ostreatus* mycelia. *Carbohydr. Polym.*, 94, 857–865.

Doğan H, Duman R, Özkalp B, y Aydın S (2013). Antimicrobial activities of some mushrooms in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 51(6), 707–711. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.764327>

Fričová O, y Koval'aková M (2013). Solid-State <sup>13</sup>C CP MAS NMR spectroscopy as a tool for detection of (1→3, 1→6)-β-D-Glucan in products prepared from *Pleurotus ostreatus*. *ISRN Anal. Chem.*, 2013(248164), 1–4.

Karácsonyi Š, y Kuniakb L' (1994). Polysaccharides of *Pleurotus ostreatus*: Isolation and structure of pleuran, an alkali-insoluble β-d-glucan. *Carbohydr. Polym.*, 24, 107–111.

Keller P, Turner G y Bennett W (2005). Fungal secondary metabolism — from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 937–947.

Lindequist U, Niedermeyer J y Jülich D (2005). The pharmacological potential of mushrooms. *ECAM*, 2, 285–299.

Madigan T y Martinko M (2009). Brock. Biología de los microorganismos (12a ed.). PEARSON Education. pp 601.

Manzi P, Gambelli L, Marconi S, Vivanti V y Pizzoferrato L (1999). Nutrients in edible mushroom: An inter-species comparative study. *Food Chem*, 65, 477–482.

MycCosm (2020) <https://mycocosm.jgi.doe.gov/mycocosm/home>

Piska K, Sułkowska-Ziaja K, y Muszyńska B (2017). Edible mushroom *Pleurotus ostreatus* (Oyster mushroom) – Its dietary significance and biological activity. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 16(1), 151–161.

Knowledge Sourcing Intelligence (2017). Global edible mushrooms market – Industry trends, opportunities and forecasts to 2023. Report. Available from: <https://www.knowledge-sourcing.com/products/global-edible-mushrooms-market-industry-trends-opportunitiesand-forecasts-to-2023>

Rodríguez N, Araque M, y Perdomo F (2006). Producción de los hongos comestibles Orellanas y Shiitake. Sena, Asofungicol, FNC, Cenicafe, 33. [http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/857/1/Hongos comestibles Orellanas Shiitake.pdf](http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/857/1/Hongos%20comestibles%20Orellanas%20Shiitake.pdf)

Sanches C (2010). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1321–1377.

Shin-Yu C, Kung-Jui H, Yun-Jung H, Li-Ting W y Jeng-Leun M (2012). Contents of lovastatin, g-aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. *Food Sci. Technol.-Leb*, 47, 274–278.

Woldegiorgis Z, Abate D, Haki D y Ziegler R (2014). Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia. *Food Chem*, 157, 30–36.



# EL PROBLEMA DE LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN MÉXICO, POSIBLES ESTRATEGIAS DE CONTROL

José Emilio Ramírez Piña, Edgardo Ulises Esquivel Naranjo, Fidel Landeros Jaime y José Antonio Cervantes Chávez

Unidad de Microbiología Básica y Aplicada. Facultad de Ciencias Naturales  
Universidad Autónoma de Querétaro. Campus Aeropuerto, Carretera a Chichimequillas,  
Ejido Bolaños, Querétaro, Qro. C.P. 76140  
Anillo Vial Fray Junípero Serra  
Jramirez149@alumnos.uaq.mx

## RESUMEN

La resistencia a antibióticos es un problema de antaño y que aumenta debido a la preinscripción poco o nulamente reglamentada, su uso desmedido o administración de dosis subterapéuticas. La resistencia a antibióticos puede ocasionar estragos en la salud pública, aumentando la mortalidad por infecciones bacterias, mayor número de infecciones postoperatorias y la estancia en el hospital, complicaciones en pacientes en tratamientos con quimioterapia e inmunosuprimidos. Debido a este problema se están investigando nuevas alternativas para mitigar el problema y que sirvan como un tratamiento alternativo a los antibióticos convencionales. En la siguiente revisión se hablará sobre bacterias resistentes a antibióticos aisladas en México y algunas alternativas que se han investigado para el tratamiento de infecciones bacterianas, como puede ser la fagoterapia, el uso de probióticos y antibióticos adyuvantes y la implementación de nanopartículas.

Palabras clave: resistencia a antibióticos, terapia con fagos, antibióticos adyuvantes, probióticos, diseño racional de fármacos.

## Abstract

The antibiotic resistance is a problem of yesteryear and is increasing due to no regulated pre-registration, excessive use, or use of sub-therapeutic doses. Antibiotic resistance can wreak havoc on public health, increasing mortality related with bacterial infections, increased number of postoperative infections resulting in longer stays in the hospital, complications in patients on chemotherapy treatments, and immunosuppressed. Due to this problem, new alternatives are being investigated to mitigate the problem and to serve as an alternative treatment to the use of conventional antibiotics. In the following review, we will discuss isolated antibiotic resistant bacteria in Mexico and some alternatives that have been investigated for the treatment of bacterial infections, such as phage therapy, probiotics and adjuvant antibiotics and the implement of nanoparticles.

Key words: antibiotic resistance, phage therapy, adjuvant antibiotics, probiotics, rational drug design.

## INTRODUCCIÓN

Naturalmente un antibiótico es una sustancia producida por algunos organismos y que puede tener antagonismo en el crecimiento de otro, estos antibióticos también pueden ser preparados por síntesis química. Son importantes en el tratamiento de infecciones, en quimioterapias, en pacientes inmunosuprimidos, prevención de infecciones postoperatorias y se han utilizado en la industria ganadera como promotores del crecimiento y en la agricultura (Ventola 2015). Sin embargo, debido a un mal uso se ha originado la

llamada resistencia a antibióticos (RA) en bacterias, como consecuencia éstas ya no son vulnerables al mecanismo de acción del antibiótico y esto ocurre por mutaciones en el ADN que modifican los blancos de la molécula o se modifican los genes de resistencia ya existentes mejorando su capacidad para responder contra el antibiótico. También puede haber RA por la adquisición de genes para la expresión de mecanismos que pueden prevenir la entrada del antibiótico, expulsar hacia el espacio extracelular la molécula antibiótica, cambiar estructuralmente las dianas terapéuticas, modificar el antibiótico por acción enzimática ya sea la adición o la eliminación de grupos funcionales o bien su destrucción, así como la capacidad del microorganismo para formar biopelículas (Naveed et al., 2020). Un ejemplo es la transformación genética que ocurre de manera natural en *Streptococcus pneumoniae*, éste adquiere genes que codifican para proteínas de unión a penicilina (PUP), las cuales se encargan de sintetizar la pared celular teniendo afinidad a la penicilina, por lo que al unirse el antibiótico a las proteínas se inhibe la síntesis de la pared y la adquisición de otras PUP pueden otorgar resistencia (Naveed et al., 2020). Este fenómeno de RA es multifactorial y varias acciones promueven la resistencia a estas moléculas como lo es su uso excesivo, prescripción inadecuada y su implementación sin regulación en la industria ganadera o agrícola, todos estos factores propician la expresión de genes de resistencia por usar el antibiótico inadecuado, usarlo cuando no se requiere o usar cantidades subterapéuticas (Ventola 2015).

La RA facilita el contraer infecciones postoperatorias, complicaciones durante la quimioterapia o en personas inmunodeprimidas, aumento en la mortalidad por infecciones bacterianas y la diseminación de microorganismos patógenos resistentes (WHO 2018). Esta RA no es un problema nuevo, se documentó en 1930 con el uso de sulfamidas para el tratamiento de infecciones por cocos Gram positivos y negativos; en la Segunda Guerra Mundial no tardaron en aislar entre militares cepas de *Streptococcus pyogenes* resistentes (Stuart 1982). El centro para el control y prevención de enfermedades ha enlistado bacterias que presentan RA y son de importancia en salud pública, entre las bacterias que están en la lista encontramos: *Enterobacteriaceae* carbapenem resistente, *Enterococci*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp. y *Escherichia coli* por mencionar algunas (Ventola 2015).

La RA es un problema presente en México, la red de hospitales en México dedicada a la recolección de datos sobre la resistencia a antibióticos en el país (PUCRA, Plan Universitario de Control de la Resistencia Antimicrobiana) realizó un muestreo en el 2016 y 2017 en pacientes hospitalizados, aislaron cepas de *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *P. aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, resistentes a amikacina, ampicilina, cefalosporinas y algunos otros (Miranda-Novales et al, 2019).



En otro estudio en el cual se tomaron muestras clínicas de 47 hospitales en 20 Estados de la República Mexicana se aislaron cepas de *A. baumannii* y *P. aeruginosa* resistentes a carbapenem, Enterobacterias resistente a vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (SARM), así como *Salmonella* y *Shigella* sp. fluoroquinilona resistente (Garza-González et al. 2018). Debido a este creciente problema se han buscado alternativas con la intención de mitigarlo. En la siguiente revisión hablaremos sobre algunos patógenos RA aislados de muestras clínicas y ambientales en México y sobre algunos estudios que podrían ayudar a mitigar el problema.

# I. Patógenos Resistentes a Antibióticos en México

México como en el resto del mundo se presenta un crecimiento en la población de bacterias RA, entre los microorganismos que requieren una mayor atención están los denominados SKAPE acrónimo de *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *Enterobacter* sp., entre otros (Miranda-Novales et al, 2019). Una de las bacterias presente en hospitales es *S. aureus*, la cual puede causar infecciones en piel, tejidos blandos y hueso, además de presentar alta transferencia horizontal de genes de resistencia (Paniagua-Contreras et al. 2003). En un estudio realizado por Martínez-Medina y colaboradores (2019) se analizó la prevalencia de *S. aureus* en muestras de secreciones, aspirado traqueal, biopsias, catéteres, hemocultivos y exudados nasales de pacientes hospitalizados. Se aislaron 17 cepas SARM y otras cepas con resistencia a clindamicina, eritromicina, levofloxacina y ciprofloxacina por mencionar algunos.

Las bacterias del género *Salmonella* sp., son de interés clínico por su capacidad de causar infecciones gastrointestinales, suele presentarse en alimentos contaminados con heces. Existen diferentes serovares de los cuales los más comunes es *Salmonella enterica* serovar Typhimurium y *S. enterica* serovar Enteritidis (Fábrega y Vila 2013). Puede encontrarse en cuerpos de agua como ríos, lagos y en aguas negras, con el potencial de contaminar cultivos e infectar a la población, además de que pueden ser fuente de bacterias resistentes a antibióticos como se observó en un estudio realizado por Castañeda-Ruelas y Jiménez-Edeza (2018), quienes identificaron distintos serotipos de *Salmonella* no tifoidea con resistencia a ampicilina, tetraciclinas y gentamicina por mencionar algunos antibióticos, aisladas de los ríos Humaya, Tamazula y Culiacán ubicados en el noroeste de México.

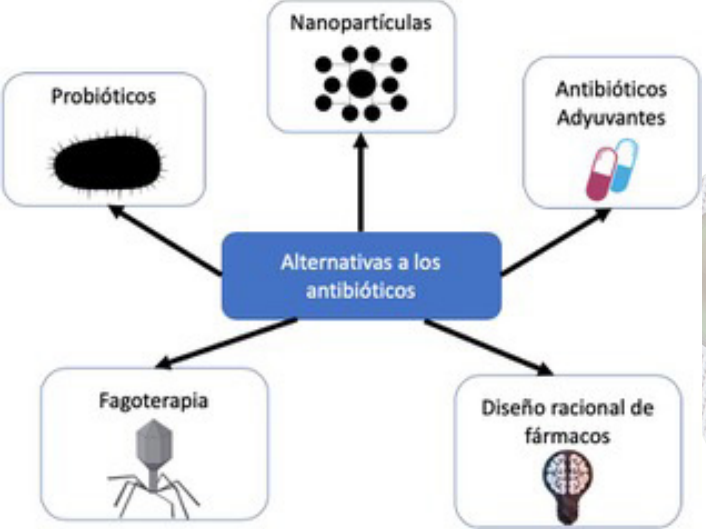
Otra bacteria de gran importancia clínica es *Pseudomonas aeruginosa*, la cual es un bacilo Gram negativo, patógeno oportunista. Esta bacteria tiene la capacidad de formar biopelículas en catéteres o equipos médicos y además tiene la capacidad de causar infecciones nosocomiales. Esta bacteria se ha encontrado en Hospitales de México

(Miranda-Novales et al, 2019). En un estudio realizado por Ochoa y colaboradores (2013) se aislaron cepas de *P. aeruginosa* de salas de cirugía y muestras pediátricas con resistencia a carbapenémicos y con capacidad de formar biopelículas.

Por otro lado, *Streptococcus pyogenes* es una bacteria con la capacidad de infectar tejidos blandos, la piel, hueso, causar bacteriemia, produce enfermedades como la fiebre escarlata y la fascitis necrosante (Ralph y Carapetis, 2012). En un estudio realizado por Gutiérrez-Jiménez y colaboradores (2018) se investigó la prevalencia de la susceptibilidad a antibióticos en cepas de *S. pyogenes* en niños de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Las muestras procedieron de pacientes con fascitis necrosante y lesiones en tejidos blandos del Hospital de Especialidades Pediátricas en un periodo de tres años. Se aislaron 12 cepas de *S. pyogenes*, aunque algunas fueron susceptibles a cefalosporinas y betalactámicos, algunas de las cepas mostraron resistencia a estos antibióticos.

## 2. USOS DE LA BIOTECNOLOGÍA PARA MITIGAR LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Debido a la RA han surgido nuevos enfoques en la búsqueda de nuevos tratamientos para las infecciones bacterianas (Figura 1). Una alternativa interesante cuya aplicación ha crecido en el ámbito biomédico, farmacéutico e industrial por mencionar algunos, es el uso de nanopartículas. Actualmente se sintetiza una gran cantidad de nanopartículas metálicas como, plata, oro o hierro, por medio de síntesis verde que se caracteriza por utilizar extractos de plantas como agente reductor que se mezclan con la sal del metal para producir las nanopartículas (Ahmed et al., 2016).



**Figura 1.** Alternativas a los antibióticos  
Algunos tratamientos que en un futuro podrían servir para las infecciones bacterianas o ser alternativas a los antibióticos pueden ser: nanopartículas, antibióticos adyuvantes, diseño racional de fármacos, fagoterapia y probióticos.

En el trabajo realizado por Elbagory y colaboradores (2017) se sintetizaron nanopartículas de oro en conjunto con el extracto de la planta *Galenia africana* e *Hypoxis hemerocallidea* las cuales tenían una actividad antibacteriana contra *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus* y *S. epidermidis*.

Otras alternativas que funcionan con base a antibióticos conocidos, es el uso de los antibióticos adyuvantes. Estos consisten en un componente que potencia la actividad del antibiótico para minimizar o bloquear la generación de la resistencia, administrándose estos en conjunto con el antibiótico (Wright 2016). Un ejemplo de antibióticos adyuvantes es el augmentin, el cual está compuesto por amoxicilina y ácido clavulánico, éste funciona como un inhibidor de  $\beta$ -lactamasas, las cuales destruyen el anillo betalactámico de la amoxicilina y gracias a su acción le permite la unión de la amoxicilina hacia el sitio de acción (Ball et al., 1980). En un experimento realizado por Kaczor y colaboradores (2019) se probó *in vitro* un compuesto modificado de los 5-arilidinaimidazolonas que ayuda a la unión del antibiótico oxacilina en *E. aerogenes* inhibiendo una bomba de eflujo y en SAMR facilitando la unión de la oxacilina en el sitio alostérico de su PUP.

A lo largo del tiempo, uno de los problemas que se presentaron al momento de elaborar y distribuir los antibióticos es que esto se hizo sin pensar en las consecuencias a largo plazo. Un enfoque más consciente que se ha aplicado para la elaboración de antibióticos y de otros fármacos es el diseño racional de fármacos, en el cual se propone abordar el problema mediante técnicas de biología molecular, técnicas bioinformáticas o el análisis estructural del fármaco y la diana terapéutica, abordando el problema desde distintos ángulos. Un ejemplo de este enfoque es el trabajo realizado por Pavlova y colaboradores (2017) donde se usó la dinámica molecular para simular las interacciones de cuatro derivados de la azitromicina para estudiar con ribosomas resistentes a macrólidos, y descubrieron que con las modificaciones hechas en partes análogas al indol en la molécula se incrementó la interacción de estas moléculas con los ribosomas de cepas resistentes. Otro ejemplo de este enfoque es el uso de antibióticos fluorescentes como se hizo en un estudio realizado por Vashist y colaboradores (2011) se identificaron las PUP en *A. baumannii* resistente a antibióticos con el uso de un antibiótico fluorescente llamado biocillin FL. Descubrieron que las modificaciones presentes en las PUP de esta bacteria impedían la unión del antibiótico fluorescente mientras que en cepas susceptibles este antibiótico si se unía a las PUP observándose una fluorescencia en la región de la pared celular donde están las PUP.

Un problema del uso antibióticos como promotores de crecimiento en animales es que genera microorganismos resistentes a antibióticos en la microbiota del animal con el potencial de diseminar los genes de resistencia a otras bacterias incluidas las de nuestra microbiota

(Mingmongkolchai y Panbangred 2017). En búsqueda de mitigar el problema se han usado algunas cepas de *Bacillus* sp. como probiótico en la dieta de los animales ayudando a prevenir infecciones y mejorar su crecimiento sin generar resistencia a antibióticos, incluso en humanos se han usado a *B. coagulans* y *B. clausii* (Mingmongkolchai y Panbangred 2017). En un estudio realizado por La Ragione y Woodward (2003) se usó la cepa PY79 de *B. subtilis* para determinar la posible reducción en la cantidad de *S. enteritidis* y *Clostridium perfringens* inoculados en aves de corral, observaron que a través del tiempo se redujo efectivamente el número de bacterias que colonizaban el intestino de las aves.

Otra gran alternativa es el uso de los fagos o de sus proteínas líticas utilizadas para lisar a las bacterias, lo cual es ventajoso debido a su especificidad y que las bacterias tienen al menos un fago asociado (Rodríguez-Rubio et al., 2015). Un ejemplo son las endolisinas de los bacteriófagos, las cuales son transcritas en la fase tardía de los fagos líticos acumulándose en el citosol para ser liberadas y destruir la pared bacteriana. En un estudio de Lood y colaboradores (2014) se identificaron proteínas líticas llamadas PlyPy que lisan a *S. pyogenes*, se probó su efectividad en roedores con bacteremia y se les trató con estas proteínas para salvarlos. También se ha llegado a aplicar la terapia con fagos, un caso fue en el tratamiento de una infección complicada por *A. baumannii* multirresistente en un paciente diabético de 68 años que presentaba una pancreatitis necrosante. Se aisló a la bacteria y se probaron diferentes fagos líticos de diferentes colecciones para buscar el fago específico, administraron combinaciones de estos fagos(PhiPC, PhiIV y PhiVB) en diferentes periodos por vía intravenosa y percutánea en los abscesos, logrando así curar al paciente (Schooley et al., 2017).

## CONCLUSIONES

La resistencia a antibióticos es un problema presente en México como en otras partes del mundo por lo que es urgente el seguir buscando nuevas alternativas a los antibióticos o buscar nuevos antibióticos para frenar la problemática, antes de que no haya prácticamente ningún antibiótico funcional. Actualmente existen una gran cantidad de propuestas en búsqueda de nuevos tratamientos a infecciones bacterianas, ejemplos de estos tratamientos son los antibióticos adyuvantes, enzimas líticas producidas por fagos, administración de fagos líticos, nanopartículas y probióticos y nuevos enfoques como el diseño racional de fármacos. Aún falta el seguir investigando más sobre los efectos negativos de las alternativas a los antibióticos y seguir desarrollando estas propuestas para así evitar que nos veamos nuevamente ante la resistencia pero ahora contra estos nuevos tratamientos.



## Referencias Bibliográficas

Ahmed S, Annu Ikram S, Yudha SS (2016) Biosynthesis of gold nanoparticles: A green approach. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 161:141–153.

Ball AP, Geddes AM, Davey PG, Farrell ID (1980) Clavulanic acid and amoxycillin: a clinical, bacteriological, and pharmacology study. *The Lancet* 315:620-623.

Castañeda-Ruelas GM y Jiménez-Edeza M (2018) Evaluación De Ríos Del Valle De Culiacán, México, Como Reservorios De Serotipos De Salmonella Resistentes A Antibióticos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34:191-201.

Elbagory AM, Meyer M, Cupido CN, Hussein AA (2017) Inhibition of bacteria associated with wound infection by biocompatible green synthesized gold nanoparticles from South Africa plants extracts. *Nanomaterials* 1:1-22

Kaczor A, Witek A, Podlowska S, Czekajewska J, Lubelska A, Jęśławska E, Nitek W, Latacz G, Alibert S, Pages JM, Karczewaska E, Kieć-Kononowicz, Handzik J (2019) molecules 5-Arylideneimidazolones with Amine at Position 3 as Potential Antibiotic Adjuvants against Multidrug Resistant Bacteria. *Molecules MDPI*, 24:438.

<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

Fábrega A y Vila J (2013) *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Skills To Succeed in the Host: Virulence and Regulation. *Clinical Microbiology Reviews*, 26:308-341.

Garza-González E, Morfín-Otero R, et al. (2019) A snapshot of antimicrobial resistance in Mexico. Results from 47 centers from 20 states during a six-month period. *PLoS ONE*, 14:1–13.

Gutiérrez-Jiménez J, Mendoza-Orozco MI, Vicente-Serrano A, Luna-Cazás LM, Feliciano-Guzmán JM, Girón-Hernández JA, Vidal JE (2018) Virulence genes and resistance to antibiotics of beta-hemolytic streptococci isolated from children in Chiapas, Mexico. *The journal of infection in developing countries*, 12:80-88.

La Ragione R (2003) Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and *Clostridium perfringens* in young chickens. *Veterinary Microbiology*, 94:245–256.

Levy S (1982) MICROBIAL RESISTANCE TO ANTIBIOTICS. *The Lancet*, 320:83–88.

Lood R, Raz A, Molina H, Euler CW, Fischetti VA (2014) A highly active and negatively charged *Streptococcus pyogenes* lysin with a rare D-alanyl-L-alanine endopeptidase activity protects mice against streptococcal bacteremia. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58:3073–3084.

Martínez-Medina RM, Montalvo-Sandoval FD, Magaña-Aquino M, Terán-Figueroa Y, Pérez-Urizar JT (2019) Prevalencia y caracterización genotípica de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina aisladas en un hospital regional mexicano. *Revista Chilena de Infectología*, 37:37-44.

Mingmongkolchai S, Panbangred W (2017) *Bacillus* probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production. *Journal of Applied Microbiology*, 124:1334-1346.

Miranda-Novales MG, Flores-Moreno K, López-Vidal YL, Rodríguez-Álvarez MC, Solórzano-Santos Fortino, Sto-Hernández JL, León-Rosales SP (2019) Antimicrobial resistance and antibiotic consumption in Mexican hospitals. *Salud Pública de México*, 62:42-49.

Naveed M, Chaudhry Z, Bukhari SA, Meer B, Ashraf H (2020) Antibiotics resistance mechanism. *Advances in environmental Pollution Research series*, 1:292-312.

Paniagua GL, Pérez EM, Pacheco SV, González SE (2003) Resistencia a antibióticos y metales pesados en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*. *Revista Médica Del Hospital General*, 66:13–21.

Ochoa SA, López-Montiel F, Escalona G, Cruz-Córdova A, Dávila LB, López-Martínez B, Jiménez-Tapia Y, Giono S, Eslava C, Hernández-Castro R, Xicohtencatl-Cortes J (2013) Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociadas con la formación de biopelículas. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 70:138-150.

Pavlova A, Parks JM, Oyeler AK, Gumbart JC (2017) Toward the rational design of macrolide antibiotics to combat resistance. *Chemical Biology Drug Design*, 90:641-652.

Ralph AP y Carapetis JR (2012) Group A Streptococcal Diseases and Their Global Burden. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 368:1–27.

Rodríguez-Rubio L, Guitérrez D, Donovan DM, Martínez B, Rodríguez A, García P (2015) Phage lytic proteins: biotechnological applications beyond clinical antimicrobials. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1-11.

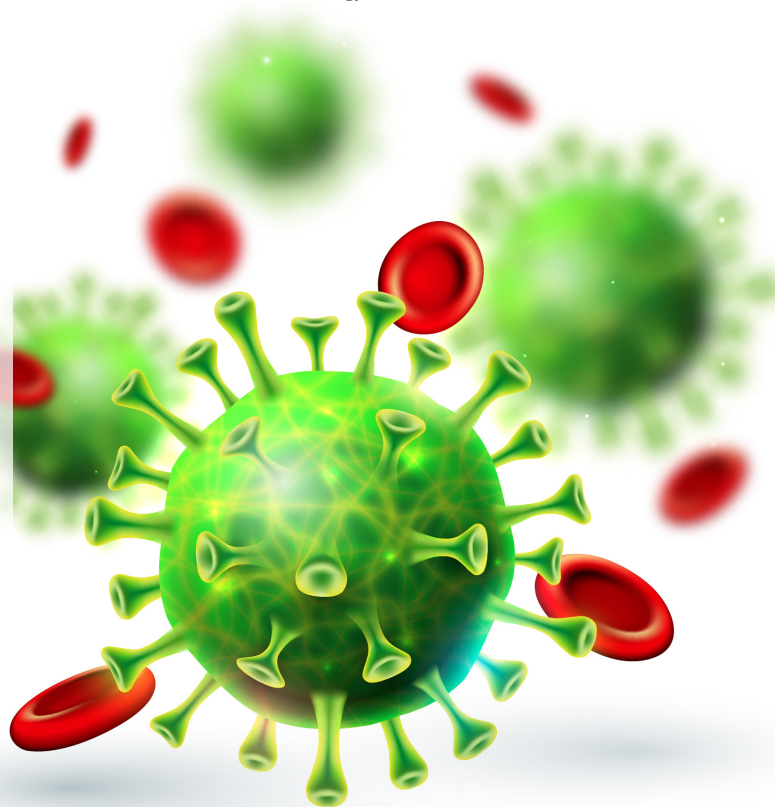
Schooley RT, Biswas B, Gil JJ, Hernandez-Morales A, Lancaster J, Lessor L, Barr JJ, Reed SL, Rohwer F, Benler S, Segall AM, Taplitz R, Smith DM, Kerr K, Kumaraswamy M, Nizet V, Lin L, McCauley MD, Strathdee SA, Benson CA, Hamilton T (2017) Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61:1-14.

Stuart BL (1982) Microbial Resistance to Antibiotics An Evolving and Persistent Problem. *The Lancet*, 83–88.

Vashist J, Tiwari V, Das R, Kapil A, Rajeswari MR (2011) Analysis of penicillin-binding proteins (PBPs) in carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii*. *The Indian Journal of Medical Research*, 133:332–338.

Ventola CL (2015) The antibiotic Resistance Crisis Part 1: Causes and Threats. *P&T: a peer-reviewed journal for formulary management*, 40:277-283

Wright GD (2016) Antibiotic Adjuvants: Rescuing Antibiotics from Resistance. *Trends in Microbiology*, 24:862-869.



# INVESTIGACIÓN +

## POSGRADOS

- Maestría en Biotecnología Aplicada
- Maestría en Biotecnología Productiva
- Doctorado en Ciencias en Biotecnología
- Doctorado en Biotecnología Productiva



**Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada**

Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal  
Tecuexcomac - Tepetitla K. 1.5, Tlaxcala, C.P. 90700, México  
[www.cibatlaxcala.ipn.mx](http://www.cibatlaxcala.ipn.mx)