



SECTEI



AVANCE DEL PROYECTO

19 de octubre de 2020

# DE CONVENIO	047/2020
1. Título del proyecto	<i>“Programa de Investigación COVID-19 CDMX: Aplicación de estrategias para el conocimiento de la prevalencia de la infección por SARS-CoV-2 y validación de pruebas para diagnóstico en población abierta de la Ciudad de México”</i>
2. Responsables técnicos e instituciones	Dr. Luis Alonso Herrera Montalvo, Dr. José Sifuentes OSORNIO, Dra. Tatiana Fiordalisio. Instituto Nacional de Medicina Genómica, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Facultad de Ciencias UNAM.
3. Periodo que se reporta	Segundo informe trimestral: 8 de julio a 7 de septiembre, 2020
4. Listado de los Objetivos alcanzados en el periodo	VER REPORTE DETALLADO
5. Cumplimiento de las metas alcanzadas en el periodo reportado con respecto a las metas comprometidas en el protocolo del proyecto.	Los objetivos planteados en el proyecto han logrado un cumplimiento al 98% de acuerdo con las metas y el cronograma establecidos en el mismo.

6. Descripción de los resultados obtenidos en el periodo.	Se anexa reporte detallado de los resultados y publicaciones en preparación.
7. Relación de los entregables alcanzados en el período, con sus respectivos comprobantes, válidos únicamente con los créditos y agradecimientos a la SECTEI:	VER REPORTE DETALLADO
8. Relación de los becarios de licenciatura, maestría o doctorado	No aplica
9. Porcentaje de avance general del proyecto	98%

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES Y TAREAS

Actividad	Tarea	Meses							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Organización administrativa	Compra de insumos y equipos.	■	■						
Toma de muestras	Toma de muestras de exudados faríngeo y nasal en centros de salud	■	■	■	■	■			
Detección de SARS-CoV-2 mediante RT-PCR		■	■	■	■	■	■	■	
Evaluación de prevalencia de SARS-CoV-2 en trabajadores de la salud y población general		■	■	■	■	■	■	■	
Descripción de las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con diagnóstico confirmado de COVID-19		■	■	■	■	■	■	■	
Desarrollo de prueba LAMP	Trabajo de laboratorio para desarrollo y optimización de las técnicas	■	■	■	■				
Desarrollo de prueba PCR punto final		■	■	■	■				
Desarrollo de prueba con partículas magnéticas		■	■	■	■				

Evaluación de la capacidad diagnóstica de las pruebas moleculares	Correlación de resultados de la RT-PCR con los obtenidos con las pruebas nuevas	■	■	■	■	■	■	■	■
Escritura y envío a publicación de artículos		■	■	■	■	■	■	■	■
Informe técnico y financiero.	Reporte de resultados e informe financiero.	■	■	■	■	■	■	■	■

AVANCES DETALLADOS

Objetivo 1. Conocer la prevalencia de portadores de SARS-CoV-2 en los trabajadores de la salud de la Ciudad de México y en contactos de pacientes con diagnóstico de COVID-19.

El día 17 de julio de 2020 se alcanzó el 100% del objetivo; se analizaron 25,137 pruebas en el INMEGEN. Las muestras fueron provenientes de Jurisdicciones Sanitarias de la CDMX, y el porcentaje de positividad en estas muestras fue de 32% en promedio, siendo la alcaldía de Tlalpan la que presentó el mayor porcentaje de positividad (54%), seguida de Azcapotzalco (50%) y Tláhuac (41%). (Cuadro 1).

Cuadro 1. DESGLOSE DE CASOS POR JURISDICCIÓN SANITARIA DE MUESTRAS ANALIZADAS DE JULIO A SEPTIEMBRE DE 2020

JURISDICCIÓN	SARSCoV2	NEGATIVO	INDETERMINADO	Porcentaje positividad
ÁLVARO OBREGÓN	75	75	29	39%
AZCAPOTZALCO	152	168	42	50%
BENITO JUÁREZ	62	137	35	25%
COYOACÁN	128	203	30	35%
CUAJIMALPA	78	177	36	21%
CUAUHTÉMOC	163	408	121	22%
GUSTAVO A. MADERO	183	354	84	30%
IZTACALCO	156	248	43	34%
IZTAPALAPA	3254	6233	591	32%
LA MAGDALENA CONTRERAS	10	179	15	27%
MIGUEL HIDALGO	36	153	7	13%
MILPA ALTA	18	40	15	27%
TLÁHUAC	1924	2483	293	41%
TLALPAN	40	31	3	54%
VENUSTIANO CARRANZA	1779	4320	379	28%
XOCHIMILCO	56	78	13	35%
TOTALES	8114	15287	1736	32%
TOTAL MUESTRAS				

En relación con la prevalencia de portadores del virus SARS-CoV-2 en los trabajadores de la Salud en la Ciudad de México, hemos iniciado el programa en **el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ)**.

Cuadro 1. De 2000 trabajadores hisopados entre 28 de abril y 08 de julio de 2020:

Características	Total: 2,000 (100%)	Positivos: 121 (6%)
Edad mediana (rango 19 a 84)	34 a	69a
Mujeres	1149 (57.4)	65 (53.7)
Hombres	851 (42.5)	56 (46.2)
Area de trabajo		
Enfermería	542 (27.2)	46 (38)
Administrativos	288 (14.4)	16 (13.2)
Médicos	411 (20.5)	18 (14.8)
Residentes	245 (12.5)	11 (9)
Adscritos	166 (8.3)	7 (5.7)
Limpieza	144 (7.2)	10 (8.2)
Químicos	110 (5.5)	4 (3.3)
Técnicos	87 (4.3)	5 (4.1)
Cocina	71 (3.5)	9 (7.4)
Nutriología	19 (0.9)	1 (0.8)
Camilleros	11 (0.5)	0
Otros	267 (13.5)	12 (9.9)

Asintomáticos	940 (47)	34 (28)
Algún síntoma menor 7 días previos*	1060 (53)	87 (71.9)

*Síntoma menor: tos, odinofagia, cefalea, mialgias o artralgias.

Por grupo, la prevalencia de resultados positivos fue la siguiente: 8.4% de enfermería (46/542), 4.3% de los médicos (18/411), 5.5% de los administrativos (16/288), 6.9% del personal de limpieza (10/144), 3.6% de los químicos (4/110), 5.7% de los técnicos (5/87), 9.8% de la cocina (9/71), 4.4% de los otros (12/267). En el Cuadro 2 se describe el número de pruebas realizadas en el INCMNSZ, distribuidas por alcaldía de origen o de instituciones hermanas., donde aprecia una tasa general de postividad de 37.7%, con un número pequeño de resultados indeterminados (menos del 0.05%), un pequeño número de muestras rechazadas para problemas de calidad de la misma (0.09%) y un pequeño número de muestras no recibidas (0.13%). Todo ello habla de un programa muy eficiente y coordinado para la toma, transporte, ejecución y reporte de los resultados.

Cuadro 2. Reporte de las muestras procesadas en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán hasta el día 15 de julio de 2020.

MUESTRAS PROCESADAS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN						
JURISDICCIÓN SANITARIA	SARSCov-2	NEGATIVO	INDETERMINADO (No amplifico)	RECHAZADA (No Adecuada)	NO RECIBIDA	TOTAL
ALVARO OBREGÓN	408	874	0	1	0	1,283
AZCAPOTZALCO	270	516	0	0	0	786
BENITO JUAREZ	182	519	0	0	0	701
COYOACÁN	583	973	0	2	0	1,558
CUAJIMALPA DE MORELOS	184	100	0	0	0	284
CUAUHTEMOC	270	539	0	0	0	809
GUSTAVO A. MADERO	459	874	0	7	0	1,340
IZTACALCO	366	580	0	2	0	948
IZTAPALAPA	1,568	2,410	0	10	1	3,989
LA MAGDALENA CONTRERAS	1,016	2,456	4	4	2	3,482
MIGUEL HIDALGO	825	1,097	0	3	0	1,925
MILPA ALTA	1,535	2,013	2	1	1	3,552
TLAHUAC	811	1,119	1	2	0	1,933
TLALPAN	2,511	3,597	4	5	0	6,117
VENUSTIANO CARRANZA	410	794	0	8	1	1,213
XOCHIMILCO	2,265	2,940	5	1	0	5,211
ZONA CONURBADA EDO. DE MEX. Y OTROS	1,859	3,061	0	0	0	4,941
INSTITUTOS NACIONALES DE SALUD	2,814	5,628	4	0	60	8,506
Total general	18,336	30,090	20	46	65	48,578

Objetivo 2. Describir las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con diagnóstico confirmado de COVID-19.

En relación con la descripción de las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con diagnóstico confirmado de COVID-19, hemos podido describir los primeros datos significativos con los siguientes reportes científicos:

a. Ortiz-Brizuela E, Villanueva-Reza M, Gonzalez-Lara MF, Tamez-Torres KM, Roman-Montes CM, Diaz-Mejia BA, Perez-Garcia E, Olivas-Martinez E, Rajme-Lopez S, Martinez-Guerra BA, de-Leon-Cividanes NA, Fernandez-Garcia OA, Guerrero-Torres L, Torres-Gonzalez L, Carrera-Patiño FA, Corral-Herrera EA, Hernandez-Aleman AN, Tovar-Vargas MA, Serrano-Pinto YG, Espejo-Ortiz CE, Morales-Ortega ML, Lozano-Cruz OA, Cardenas-Fragoso JL, Vidal-Mayo JJ, Hernandez- Gilsoul T, Rivero-Sigarroa E, Dominguez-Cherit G, Cervantes-Villar LE, Ramos-Cervantes MP, Ibarra-Gonzalez V, Calva-Mercado JJ, Sierra-Madero

JG, Lopez-Iñiguez A, Ochoa-Hein E, Crabtree-Ramirez BE, Galindo-Fraga A, Guerrero-Almeida ML, Ruiz-Palacios GM, Gulias-Herrero A, Sifuentes-Osornio J, Kershenovich-Stalnikowitz D, Ponce-de-Leon A. Clinical and Epidemiological Characteristics of Patients Diagnosed with COVID-19 in a Tertiary Care Center in Mexico City: A Prospective Cohort Study. *Revista de Investigación Clínica*. 2020, 72(3):165-177.

Abstract

Background: Regional information regarding the characteristics of patients with coronavirus disease (COVID)-19 is needed for a better understanding of the pandemic.

Objective: The objective of the study to describe the clinical features of COVID-19 patients diagnosed in a tertiary-care center in Mexico City and to assess differences according to the treatment setting (ambulatory vs. hospital) and to the need of intensive care (IC).

Methods: We conducted a prospective cohort, including consecutive patients with COVID-19 from February 26, 2020 to April 11, 2020.

Results: We identified 309 patients (140 inpatients and 169 outpatients). The median age was 43 years (interquartile range, 33-54), 59.2% men, and 18.6% healthcare workers (12.3% from our center). The median body mass index (BMI) was 29.00 kg/m² and 39.6% had obesity. Compared to outpatients, inpatients were older, had comorbidities, cough, and dyspnea more frequently. Twenty-nine (20.7%) inpatients required treatment in the IC unit (ICU). History of diabetes (type 1 or 2) and abdominal pain were more common in ICU patients compared to non-ICU patients. ICU patients had higher BMIs, higher respiratory rates, and lower room-air capillary oxygen saturations. ICU patients showed a more severe inflammatory response as assessed by white blood cell count, neutrophil and platelet count, C-reactive protein, ferritin, procalcitonin, and albumin levels. By the end of the study period, 65 inpatients had been discharged because of improvement, 70 continued hospitalized, and five had died.

Conclusions: Patients with comorbidities, either middle-age obese or elderly complaining of fever, cough, or dyspnea, were more likely to be admitted. At admission, patients with diabetes, high BMI, and clinical or laboratory findings consistent with a severe inflammatory state were more likely to require IC.

b. En preparación tres artículos más:

i. Miranda-Zazueta G, Ortiz-Brizuela E, Garay-Mora JAS, Gonzalez-Lara MF, Roman-Montes CM, Diaz-Mejia B, Perez-Garcia E, Villanueva-Reza M, Uscanga-Dominguez L, Chapa-Ibarguengoitia M, Sifuentes-Osornio J, Kershenobich D, Tamez-Torres KM, Ponce-de-Leon A, Moctezuma-Velazquez C. The role of liver steatosis in the prognosis of COVID-19 pneumonia: A prospective cohort study. *Hepatology*, 2020. Enviado para publicacion.

ii. Bello-Chavolla OY, Antonio-Villa NE, Ortiz-Brizuela E, Vargas-Vazquez A, Gonzalez-Lara MF, Ponce de Leon A, Sifuentes-Osornio J, Aguilar-Salinas C. Validation and repurposing of the MSL-COVID-19 score for prediction of severe COVID-19 using simple clinical predictors in a triage setting: The Nutri-CoV score. 2020 en preparacion.

iii. Cárdenas Fragoso JL, Lozano Cruz O, Olivas Martínez A, Jiménez V, Ortiz Brizuela E, González Lara MF, Ponce de León A, Kershenobich Stalnikowitz D, Sifuentes Osornio J. Factores relacionados con mortalidad en pacientes con COVID-19 atendidos en un hospital de tercer nivel de atención. En preparación.

iv. Lozano Cruz O, Cárdenas Fragoso JL, Olivas Martínez A, Azamar Llamas D, Rodríguez Rodríguez S, Oseguera Moguel J, Dorantes García J, Barrón Magdaleno C, Cazares Diazleal A, Ortiz Brizuela E, González Lara MF, Ponce de León A, Kershenobich Stalnikowitz D, Sifuentes Osornio J. Perfil de seguridad del



SECTEI



Instituto Nacional de
Medicina Genómica
MÉXICO



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN



uso de hidroxiclороquina/clороquina durante la pandemia de COVID-19 en un centro de tercer nivel de atención. En preparación.

ANEXO 1

ARTÍCULO ENVIADO.

***Saliva is a reliable and accessible source for the detection of SARS-CoV-2.
Se anexa PDF del comprobante de envío a la revista Journal of Infection.***

Objetivo 3. Desarrollar, calibrar y validar la utilidad diagnóstica de tres herramientas moleculares para identificar COVID-19 y ponerlas disponibles para su uso en población abierta de la Ciudad de México.

a) PCR (Reacción de polimerasa en cadena) de punto final.

INTRODUCCION.

El objetivo de este trabajo se centra en diseñar una prueba de diagnóstico del virus SARS-CoV-2 que sea alternativa a la detección por PCR tiempo real. Al respecto, en el INMEGEN el método elegido para la detección del virus en muestras biológicas fue el descrito por la Centers for Disease Control (CDC), dicho protocolo consideró en primer instancia la evaluación de 3 fragmentos (N1, N2, N3) ubicados dentro de la región codificante 28274-29533 correspondiente al exón N que codifica a la proteína nucleocápside (N) del virus. Una segunda versión del protocolo de CDC consideró solo dos regiones (N1 y N2); adicional a ello, el protocolo contempla la evaluación del gen constitutivo RNAsa P del genoma humano como control de extracción.

Nuestro grupo consideró estudiar otras regiones del genoma viral. Un fragmento del exón codificante a la proteína Spike (S) la cual determina la interacción del virus con su receptor, así como una región del exón 1a que codifica a la proteína no estructural 3 (NSP3) del complejo replicativo vira. Finalmente se conformó una prueba de PCR punto final con la cual se evaluaron mas de 200 muestras de pacientes, al evaluar la prueba de PCR punto final vs q-PCR se llegó a las conclusiones preliminares siguientes: el método es confiable para detectar el virus cuando la prueba q-PCR es positiva, la prueba posee robustez para detectar la ausencia del virus cuando la prueba de qPCR sea negativa; sin

embargo la prueba obtuvo baja sensibilidad para lograr distinguir casos verdaderos positivos, por lo que surge la necesidad de complementar la prueba para buscar alcanzar mejores niveles de dicho parámetro.

Mejora de la prueba PCR punto final.

Se realizó un segundo diseño de cebadores para detectar otros blancos del SARS-CoV 2 en muestras de pacientes. Dos pares de oligos fueron generados, el primer par amplifica un fragmento de 131pb correspondiente a la región genómica 26,245 a 26,376 en el ORF “E” (Envoltura), mientras que el segundo oligo amplifica un fragmento de 130 pb que corresponde a la región genómica 27,400 a 27,530 del ORF-7a (proteína accesoria de la cápside).

Resultados.

Estandarización de la prueba PCR punto final.

Se estandarizó la PCR para el nuevo par de oligos en muestras de RNA viral de células de mono infectadas con SARS-CoV-2 (VERO E6), donde se observaron las bandas correspondientes al tamaño de los amplicones esperados. El oligo “E” mostró baja inespecificidad en comparación con el oligo ORF-7 en pacientes no infectados, aunado a la presencia de la banda del fragmento esperado en muestras de pacientes positivos a Covid-19 con diagnóstico previo por qPCR. Por tanto el oligo “E” fue adicionado como marcador específico junto con los cebadores ya establecidos al primer protocolo de PCR punto final conformando así, una nueva prueba diagnóstica que incluyó el escrutinio de los siguientes marcadores: RNAsa P (RP), Nucleocápside (N1), Spike (S), Envoltura (E).

Evaluación de la nueva prueba PCR punto final.

Se evaluaron 94 muestras aleatorias de pacientes positivos y negativos con previo diagnóstico por q-PCR, de las cuales 17 fueron positivas a SARS-CoV-2 en relación a 13 positivas confirmadas por PCR punto final, lo cuál representó positividad de 19% y 14% respectivamente. La comparación entre ambos métodos registró un valor Cohen-Kappa de ($\kappa= 0.81$) el cual fue mayor al valor obtenido con el protocolo de PCR punto final inicial

($\kappa=0.65$) lo que sugiere que la nueva prueba posee concordancia substancial al equipararse con la q-PCR.

Respecto a la sensibilidad de la prueba se obtuvo un índice 0.76 con el cual el desempeño de la prueba es al q-PCR para lograr distinguir casos verdaderos positivos. En especificidad tuvo un valor de 1 con el cual la prueba de PCR punto final es equivalente al q-PCR para distinguir casos negativos.

Tomando como estándar de referencia a la prueba de q-PCR, se estimaron los siguientes valores: el valor predictivo positivo fue de 1 resultando que la prueba de PCR punto final es un método excelente para detectar el virus cuando la prueba q-PCR es positiva, en contraste al valor negativo fue 0.95 demostrando que la prueba posee robustez para detectar la ausencia del virus cuando la prueba de q-PCR sea negativa.

El índice de verosimilitud positivo o LR positivo muestra tendencia al infinito por tanto la interpretación es: alta confiabilidad cuando es positiva lo que implica que la prueba es muy confiable para detectar casos positivos a Covid-19 y puede ser equiparable al estándar de referencia. El índice RL negativo fue de 0.23 por tanto la prueba posee gran capacidad de discriminación a los casos negativos cuando el diagnóstico por qPCR es negativo.

Finalmente los límites de detección en comparación con el q-PCR se sitúan en un rango de 15 a 36.9 CTs .

Conclusiones y perspectivas.

- El nuevo par de oligos mejoró el desempeño de la prueba, haciéndola casi equivalente al q-PCR.
- El nuevo método proporciona confiabilidad para determinar casos positivos y negativos de Covid-19.
- Se requiere ampliar la n experimental para obtener mayor redundancia estadística.

BORRADOR ARTÍCULO 2

Validation of a loop-mediated isothermal amplification method for the detection of SARS-CoV-2 infection in clinical samples.

The current COVID-19 pandemic caused by infection with the SARS-CoV-2 coronavirus has challenged the worldwide chain of supplies for the necessary reagents and equipment needed for massive testing. Management of the sanitary emergency requires the deployment of diagnostic tests, a situation that has proven difficult, particularly in areas where access to testing facilities capable of processing high volumes of samples is difficult. These situations combined with a global shortage of reagents and equipment necessary for testing, represent a major hurdle for the deployment of the required sampling and testing capacity for proper patient management and massive population testing necessary to articulate effective mitigation and surveillance actions.

Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) is the gold standard for SARS-CoV-2 detection worldwide¹, this has created bottlenecks in the availability of reagents, consumables and equipment necessary for diagnosis, highlighting the importance of implementing additional testing strategies which do not depend so heavily on the supply chains associated to the RT-PCR method.

Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) is an amplification method which combines reverse transcription with strand-displacement amplification of DNA in a single reaction at a single temperature² thus, eliminating the need of a thermal cycler. RT-LAMP has been applied for the diagnosis of different pathogens in humans, including Zika³, hepatitis C subtypes⁴, human immunodeficiency virus⁵. In the wake of the COVID-19 pandemic, several RT-LAMP protocols have been described⁶⁻⁹, including different modifications to

improve the sensitivity of the test and the use of colorimetric based detection of the results¹⁰. Applications of RT-LAMP are being evaluated in the clinical setting with promising results and suggesting that a robust and properly validated RT-LAMP could replace RT-PCR in specific settings where it might be used as an initial screening tool or in population screening where it can identify highly contagious individuals¹¹.

In this paper, we compared two different sets of published RT-LAMP protocols and primers, and further validated two sets of primers through the comparison of the results obtained through RT-PCR and RT-LAMP in 984 clinical samples. This assay can identify positive samples either by color change or by fluorescence in 40 minutes and shows a high concordance with RT-PCR in samples with Cts lower than 30. The RT-LAMP protocol does not depend on the use of a real-time thermal cycler and can be performed with simple equipment, like a final point thermal cycler or even a water bath which can maintain the reaction at 65° C for 40 minutes. The assay can be deployed in single tubes or in 96 well plates and the results can be readily assessed by eye.

Material and Methods

Clinical Samples.

Samples were analyzed at the National Institute of Genomic Medicine in Mexico City, and were collected from patients with suspected COVID-19 symptoms in different hospitals from the Mexico City Health System.

SARS-CoV-2 RNA extraction and detection

Total nucleic acid was extracted from 300 µl of viral transport media from the nasopharyngeal swabs using the MagMAX Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation kit (ThermoFisher Scientific) following the manufacturer's protocol and eluted into 75 µl of elution buffer. For SARS-CoV-2 RNA detection, 5 µl of RNA template was tested using the U.S. CDC real-time RT-PCR primer/probe sets for 2019-nCoV_N1

and 2019-nCoV_N2 and the human RNase P (RP) as an extraction control¹². Samples were classified as positive for SARS-CoV-2 when both N1 and N2 primer-probe sets were detected with a Ct of less than 40¹³. All tests were run on Thermo Fisher's ABI QuantStudio 5 or QuanStudio 7 real time thermal cyclers.

RT-LAMP protocols

We first tested the five primer sets and conditions described in reference¹⁴, three sets of the primers target the ORF1a gene and the two additional sets the N gene. However, in our hands these conditions resulted in inespecific amplification and a high number of false positives.

The second protocol was based on the use of primers reported in reference¹⁵, targeting the S1 to S5 genes. After initial validation with viral RNA, we selected primers S1 and S3 for further validation.

The RT-LAMP reaction mixture included 10 ul WarmStart colorimetric LAMP master mix from New England Biolabs, 2ul of oligonucleotides, 800 mM of guanidine chloride, 0.5 of gel green fluorescent dye and nuclease free water to 20 ul.

Results

Table 1 show a significative concordance value between the RT-PCR results and the RT-LAMP assay.

When we focused on the concordance between the positive samples with Cts lower than 30 (high viral load), our concordance was even better, with 60 samples out of 70 which were positive by RT-PCR but were negative with RT-LAMP.

The results of the assay can be readily identified by eye after a 40 minute reaction at 65° C, negative results are pink, positive results show a bright yellow color. A potential improvement in sensitivity for detection might be achieved by using fluorescence as detection tool. However, this can only be detected by the use of an ultraviolet light source, such as a trans-illuminator or a portable fluorescence viewer.

In conclusion, we have established a robust, simple and cheap protocol for the detection of SARS-CoV-2 infection in setting where specialized equipment or personnel is not readily available and which can be deployed and escalated to high-throughput sample processing at a fraction of the current gold standard. However, it is important to mention that samples with CTs higher than 35 in the RT-PCR assay were not detectable as positive using this colorimetric assay. Regardless to this, isothermal colorimetric amplification might still represent a useful option for screening in places with limited access to devoted equipment. Finally, the sensitivity of the isothermal amplification method, might be enhanced by the use of other molecular based detection methods, such as next generation sequencing

		RT-qPCR			Total
		Positive	Negative	Inconclusive	
RT-LAMP S1	Positive	336 (34.15%)	3 (0.30%)	28 (2.85%)	367 (37.30%)
	Negative	155 (15.75%)	272 (27.64%)	190 (19.31%)	617 (62.70%)
Total		491 (49.90%)	275 (27.95%)	218 (22.15%)	984 (100.00%)

		RT-qPCR			Total
		Positive	Negative	Inconclusive	
RT-LAMP S3	Positive	323 (32.83%)	8 (0.81%)	10 (1.02%)	341 (34.65%)
	Negative	168 (17.07%)	267 (27.13%)	208 (21.14%)	643 (65.35%)
Total		491 (49.90%)	275 (27.95%)	218 (22.15%)	984 (100.00%)

		RT-qPCR		Total
		Negative	Positive	

RT-LAMP S1	Negative	272 (35.5%)	155 (20.2%)	427 (55.7%)
	Positive	3 (0.4%)	336 (43.9%)	339 (44.3%)
	Total	275 (35.9%)	491 (64.1%)	766 (100%)

	Value	asymmetric standard error	Approx. T	Significance
S1				
Cohen's kappa coefficient	0.600	0.026	18.001	0.000
Number of valid cases	766			

		RT-qPCR		
		Negative	Positive	Total
RT-LAMP S3	Negative	267 (34.9%)	168 (21.9%)	435 (56.8%)
	Positive	8 (1%)	323 (42.2%)	331 (43.2%)
	Total	275 (35.9%)	491 (64.1%)	766 (100%)

References

- 1 Corman, V. M. *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* **25**, doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045 (2020).
- 2 Notomi, T. *et al.* Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* **28**, E63, doi: 10.1093/nar/28.12.e63 (2000).
- 3 Faria, N. R. *et al.* Mobile real-time surveillance of Zika virus in Brazil. *Genome Med* **8**, 97, doi:10.1186/s13073-016-0356-2 (2016).
- 4 Yang, C. *et al.* Distinguishing Four HCV Genotypes by Loop Mediated Isothermal Amplification Assay. *Clin Lab* **65**, doi:10.7754/Clin.Lab.2019.190142 (2019).
- 5 Curtis, K. A. *et al.* A multiplexed RT-LAMP assay for detection of group M HIV-1 in plasma or whole blood. *J Virol Methods* **255**, 91-97, doi:10.1016/j.jviromet.2018.02.012 (2018).

- 6 Lu, R. *et al.* Development of a Novel Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Rapid Detection of SARS-CoV-2. *Virology* **35**, 344-347, doi:10.1007/s12250-020-00218-1 (2020).
- 7 Park, G. S. *et al.* Development of Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays Targeting Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *J Mol Diagn* **22**, 729-735, doi:10.1016/j.jmoldx.2020.03.006 (2020).
- 8 Yan, C. *et al.* Rapid and visual detection of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) by a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *Clin Microbiol Infect* **26**, 773-779, doi:10.1016/j.cmi.2020.04.001 (2020).
- 9 Baek, Y. H. *et al.* Development of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification as a rapid early-detection method for novel SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect* **9**, 998-1007, doi:10.1080/22221751.2020.1756698 (2020).
- 10 Zhang, Y. *et al.* Enhancing colorimetric loop-mediated isothermal amplification speed and sensitivity with guanidine chloride. *Biotechniques*, doi:10.2144/btn-2020-0078 (2020).
- 11 Fowler, V. L. *et al.* A reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the rapid detection of SARS-CoV-2 within nasopharyngeal and oropharyngeal swabs at Hampshire Hospitals NHS Foundation Trust. *medRxiv*, 2020.2006.2030.20142935, doi:10.1101/2020.06.30.20142935 (2020).
- 12 CDC, U. CDC 2019-nCoV Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel. Acceptable Alternative Primer and Probe Sets. (2020).
- 13 Control, C. f. D. CDC 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel (2020).

- 14 Zhang, Y. *et al.* Rapid Molecular Detection of SARS-CoV-2 (COVID-19) Virus RNA Using Colorimetric LAMP. *medRxiv*, 2020.2002.2026.20028373, doi:10.1101/2020.02.26.20028373 (2020).
- 15 Mohon, A. N. *et al.* Development and validation of direct RT-LAMP for SARS-CoV-2. *medRxiv*, 2020.2004.2029.20075747, doi:10.1101/2020.04.29.20075747 (2020).

Resultados de las pruebas de detección de la COVID-19 SVB Facultad de Ciencias.

1. Responsable técnico: Dra. Tatiana Fiordeliso Coll, Facultad de Ciencias, UNAM

2. Reporte técnico correspondiente al periodo del 1 de agosto al 30 de septiembre de 2020

3. Objetivos alcanzados:

- Validar la utilidad diagnóstica de una herramienta molecular para identificar COVID-19 a partir de muestras purificadas de RNA.
- Inicio del proceso de verificación ante las autoridades correspondientes (InDRE).

4. Metas desarrolladas en el periodo:

- Compra de insumos y equipos.
- Toma de muestras de exudados faríngeo y nasal en la clínica 198 del IMSS.
- Detección de SARS-CoV-2 mediante RT-PCR para validación de diagnóstico.
- Desarrollo de prueba con partículas magnéticas para muestras purificadas.
- Compilación de los documentos solicitados por el InDRE para realizar la verificación del kit de diagnóstico.

5. Descripción de los resultados:

Después de la validación de muestras del InDRE y el refinamiento de la técnica de diagnóstico, realizamos una validación con 400 muestras purificadas en la Unidad de Medicina Familiar 198 de Coacalco. Según esta validación y en

comparación con nuestros PCRs, nuestro método tiene una sensibilidad de 83%, especificidad de 90% y eficacia de 87%. Todo el proceso se llevo a cabo en la Unidad Familiar en condiciones no óptimas de labortorio.

Adicionalmente se han tenido 2 reuniones con el IndRE, para esclarecer la ruta que debemos seguir. Hemos entregado el inserto del kit de diagnostico (anexo) nos hicieron saber toda el expediente documental que debemos integrar. Actualmente nos encontramos en ese proceso para pasar la primera fase de revisión y después que ellos realicen la verificación. Para ello debemos entregar los kits de reacción para que hagan las 400 pruebas de muestras, más la especificidad (muestras de virus respiratorios) y la curva de dilución.

Firmamos un convenio de colaboración con el Tec Salud para para poder ir y utilizar 1200 muestras tanto en purificado como en RNAShield.

Hemos avanzando con la Unidad de Vinculación de Química de la UNAM en la estrategia de servicios y comercialización, tratando de cubrir los pasos normativos que siguen hemos trabajado con la CGCI de la UNAM (cumplimiento de la NOM 240 ISO 13485 y 1013), con la CVTT de la UNAM la parte legal y de transferencia y estamos viendo cual sería el modelo de negocio que nos permitiera tener un capital de inicio para poder empezar a trabajar.

Hemos avanzado con proveedores como ThermoFisher y OligoT4 en que nos de una cotización a mayoreo para bajar los costos.

6. Relación de los entregables alcanzados en el período, con sus respectivos comprobantes,

d) En desarrollo tecnológico:

Anexo inserto y foto del kit diagnóstico

7. NO APLICA

8. Porcentaje de avance general del proyecto (sombrear la barra).

0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	------

9. Cronograma de actividades y compromisos para el siguiente periodo:

Octubre, prueba de validación con 1200 muestras en el Tec Salud y entrega de documentación al InDRE

Octubre-Noviembre, verificación técnica del InDRE.

Formato de Síntesis ejecutiva

1. Avance de la evaluación sobre Programa de Investigación COVID-19 CDMX: Aplicación de estrategias para el conocimiento de la prevalencia de la infección por SARS-CoV-2 y validación de pruebas para diagnóstico en población abierta de la Ciudad de México.

2. Responsable técnico: Dra. Tatiana Fiordeliso Coll, Facultad de Ciencias, UNAM

3. Reporte técnico correspondiente al periodo del 1 de agosto al 30 de septiembre de 2020

Según los resultados compilados de todas las muestras evaluadas hasta ahora del IMSS, INER e InDRE, cuando purificamos la muestra tenemos 91% sensibilidad, 91% especificidad y 91% eficacia y cuando la utilizamos directo del liquido donde se toma e inactiva (RNA Shield) 92% sensibilidad, 80% especificidad y 86% eficacia. En el último caso si bien los porcentajes bajan tiene la gran ventaja que no hay que hacer nada más y la muestra tal como se toma se puede medir además de que el transporte es seguro, pensamos que podría funcionar bien como una prueba de tamizaje bastante buena.

Nos encontramos en fase de revisión documental por parte del InDRE y posterior a eso de ser positiva la evaluación pasaremos a la verificación técnica.