

Dr. Luis Amado Ayala Pérez  
Director de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
PRESENTE

Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
--------------------	-----	-----	-----	---------------------	-----	-----	-----

**Datos del Alumno**

Nombre :	
Matrícula :	Licenciatura :
Domicilio :	
Teléfono :	Celular :
Correo Electrónico :	CURP :

**Datos del Proyecto**

Nombre del Proyecto :							
Lugar donde se realizó el Servicio Social :							
Dependencia :							
Entidad Federativa :							
Municipio :				Localidad :			
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año

**PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES**

Sector: \_\_\_\_\_ Tipo: \_\_\_\_\_

Orientación: \_\_\_\_\_

**FIRMAS**

  
**Asesor Interno**  
Nombre, firma y No. Económico

  
**Asesor Externo**  
Nombre, firma y No. Económico

  
**Alumno**  
Nombre, firma

**Vo. Bo. de la Comisión**  
Nombre y firma de la persona que autoriza



GOBIERNO DE  
MÉXICO



Coordinación de Investigación en Salud  
Unidad de Investigación Biomédica CMN La Raza

Ciudad de México 12 de Diciembre 2022

Asunto: **Carta de liberación de servicio social**

UIMII-85-2022

**Dr. Luis Amado Ayala Pérez**  
Director de la Dirección de la División  
de Ciencias Biológicas y de la Salud

Por este conducto hago de su conocimiento que el alumno **María de loa Angeles Ortiz Cruz** con número de matrícula **2173063479**, inscrito en la licenciatura de **Química Farmacéutica Biológica**, ha concluido su servicio social en el programa o proyecto denominado: **Procedimiento Normalizado de Operación para la extracción de material genético de Heces.**

Realizando las siguientes actividades:

1. Lectura del Reglamento de la Unidad de Investigación "Procedimiento para medidas de Bioseguridad en la Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología CMN La Raza.
2. Revisión de literatura
3. Inducción en Laboratorio
4. Reclutamiento de muestras de Heces
5. Extracción de RNA, Retrotranscripción
6. Registro en bitácora de procedimientos
7. Encargada del inventario de muestras

Cabe mencionar que la acreditación del mismo, requirió de un mínimo de 480 horas dentro de un plazo no menor a seis meses, cubriendo un horario de cuatro horas de lunes a viernes, con fecha de inicio del **18 de Abril al 18 de Noviembre del año en curso.**

Sin otro particular, quedo de usted.

**Atentamente**

Dra. Vilma Carolina Bekker Méndez  
Jefe de Unidad de Investigación  
Hospital de Infectología e Inmunología, C.M.N. "La Raza"



Ciudad de México., a 12 de diciembre del 2022.

**DR. LUIS AMADO AYALA PÉREZ**  
**DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**PRESENTE**

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que el alumno: **Ortiz Cruz Maria de los Angeles** con matrícula: **2173063479** concluyó el proyecto de Servicio Social titulado: **“Procedimiento normalizado de operación para la extracción de material genético de heces”**. Qué se realizó de forma remota del **18 de abril de 2022 al 18 de noviembre de 2022** bajo mi asesoría cubriendo un total de 480 horas.

ATENTAMENTE



Dra. Luz María Zenit Tovar Castro  
Departamento de Sistemas Biológicos  
Profesora. 32252



No. Oficio UIMII-75-2022

Ciudad de México, a 12 de Diciembre de 2022.

**DR. LUIS AMADO AYALA PÉREZ**  
**DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**PRESENTE**

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que la alumna: Ortiz Cruz María de los Ángeles con matrícula: 2173063479 concluyó el proyecto de Servicio Social titulado: "Procedimiento normalizado de operación para la extracción de material genético de heces". Qué se realizó de forma presencial del 18 de abril de 2022 al 18 de noviembre de 2022 bajo mi asesoría cubriendo un total de 480 horas.

ATENTAMENTE

Dra. Charmina Aguirre Alvarado Químico Clínico  
Cedula profesional: 4249870

---

---

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**

**LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

Proyecto de liberación de servicio social por actividades  
vinculadas con la profesión

**“PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN PARA LA  
EXTRACCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO DE HECES”**

Proyecto genérico: Análisis clínico de muestras

PRESENTA:

Ortiz Cruz María de los Ángeles 2173063479

TUTORES:

Asesor externo:

Dra. Charmina Aguirre Alvarado

Químico Clínico

4249870

Asesor interno

Dra. Luz María Zenit Tovar Castro

Departamento de Sistemas Biológicos Profesora

32252

Lugar donde se realizó el Servicio Social: Laboratorio de la Unidad  
de Investigación Biomédica del Centro Médico Nacional La Raza,  
Ciudad de México, Calzada Vallejo y Paseo de las Jacarandas  
S/N, colonia la Raza, alcaldía Azcapotzalco, C.P.02990.

Periodo: 18 de abril de 2022 al 18 de noviembre de 2022.



12 de diciembre de 2022

## Tabla de contenido

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>4</b>
2.1	UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA DEL HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA E INMUNOLOGÍA (UIMII) .....	4
2.2	COVID- 19 .....	5
2.3	PROTOCOLO FANTAZE.....	6
2.4	NITAZOXANIDA Y FAVIPIRAVIR EN COVID-19.....	7
<b>3</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>7</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>8</b>
4.1	GENERAL .....	8
4.2	ESPECÍFICOS .....	8
<b>5</b>	<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>8</b>
5.1	PROTOCOLO FANTAZE Y LAS ACTIVIDADES PARA LA LIBERACIÓN DEL SERVICIO SOCIAL .....	8
5.2	MÉTODOS.....	9
5.2.1	<i>Recepción y almacenamiento de componentes sanguíneos</i> .....	9
5.2.2	<i>Extracción de células mononucleares de sangre periférica (PBMC)</i> .....	10
5.2.3	<i>Recepción y almacenamiento de heces</i> .....	11
5.2.4	<i>Extracción de RNA en heces</i> .....	11
5.2.5	<i>Recepción y almacenamiento de muestras nasofaríngeas</i> .....	12
5.3	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES .....	13
<b>6</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES</b> .....	<b>13</b>
6.1	BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA SOBRE LA EXTRACCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO EN MUESTRAS HECES .....	13
6.2	PNO PARA LA EXTRACCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO DE HECES.....	13
6.2.1	<i>Actividades del día 7 o 14</i> .....	14
6.3	RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS FECALES DE PACIENTES POSITIVOS A COVID-19 .....	16
6.4	CUANTIFICACIÓN Y PUREZA DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS DE ARN .....	17
6.5	RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS DE SANGRE PERIFÉRICA Y COMPONENTES SANGUÍNEOS.....	20
6.6	BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA SOBRE LA EXTRACCIÓN DE PBMC .....	21
6.6.1	<i>Actividades del día 1</i> .....	22
6.7	BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA SOBRE EL CORRECTO ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS NASOFARÍNGEAS .....	24
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>25</b>
<b>8</b>	<b>OBJETIVOS Y METAS ALCANZADOS</b> .....	<b>26</b>
<b>9</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>26</b>

## 1 INTRODUCCIÓN

La biología molecular puede definirse como la disciplina encargada del estudio de los procesos moleculares de la vida y del flujo de la información genética incluyendo el ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN) y proteínas (Chu H, 2021). El término diagnóstico molecular abarca técnicas de la detección y/o cuantificación de secuencias de ADN, ARN o proteínas. Esta etapa es crítica para el manejo del paciente, para así darle un mejor tratamiento o pronóstico (Collins, 2021).

El crecimiento de este campo ha ido en aumento con alrededor un 12% anual. Principalmente se ha utilizado en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, al contar con un mayor desarrollo al enfocarse en áreas como Cáncer y enfermedades genéticas, dándole un gran dinamismo y crecimiento, para el tratamiento de diversas patologías y condiciones de salud. Hoy día hay numerosas técnicas de diagnóstico molecular como lo son la extracción de ácidos nucleicos como ADN y ARN, electroforesis, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y sus variantes como transcripción inversa (PCR en tiempo real [RT-PCR, del inglés real-time PCR]) entre la más importantes, entre otras (Korcsmaros, 2017). Con el creciente desarrollo tecnológico en el área biomédica y diagnóstico, la biología molecular se ha convertido en una de las áreas más relevantes en la práctica profesional del Químico Farmacéutico Biólogo (Q.F.B.) el cual podrá analizar y aplicar las tecnologías moleculares para el diagnóstico y la terapéutica en humanos de enfermedades que representan problemas de salud en México. Una de las mejores opciones para que un Q.F.B pueda desarrollar dichas habilidades (López M, 2016) es a través de instituciones públicas como el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), el cual es el mayor proveedor en atención médica, hospitalaria y farmacéutica de la población mexicana, contando con la Unidad de Investigación Biomédica (UIMII) del Centro Médico Nacional La Raza, pioneros en investigación de enfermedades como leucemia infantil, virus de inmunodeficiencia humana (VIH), virus causante de COVID-19 (SARS-CoV-2).

En la actualidad se lleva a cabo el protocolo de FANTAZE, el cual es un ensayo clínico que propone un tratamiento a pacientes positivos a COVID-19, con un tratamiento antiviral a través de la combinación de medicamentos: Nitazoxanida y Favipiravir, cuyo objetivo principal es evaluar el tratamiento antiviral temprano con Favipiravir + Nitazoxanida, éste última asociado con una disminución en la carga viral en comparación con Favipiravir. Este protocolo se realiza en esa Institución de Salud, en donde se permitió la realización de este servicio social por actividades vinculadas con la profesión, principalmente con la recepción y procesamiento de muestras de sangre periférica; para la separación de suero y plasma, además de la extracción de células monoclonales, y la recepción y procesamiento de heces para la extracción de ARN. Con lo anterior se pretende que el Q.F.B. desarrolle las habilidades y capacidades necesarias para conocer, analizar y aplicar las tecnologías moleculares para el diagnóstico y la terapéutica en humanos, dando lugar al desarrollo de su actividad profesional en instituciones de salud y biotecnológicas, dentro de un marco jurídico y social. Por tanto, esta actividad se realizó profesional dentro de la normatividad vigente del IMSS.

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1 Unidad de Investigación Médica del Hospital de Infectología e Inmunología (UIMII)

El Instituto Mexicano del Seguro Social es uno de los mayores organismos en presencia en atención a la salud y protección social en México, desde su fundación en 1943, a través de la investigación y práctica médica, con el desarrollo de nuevas y mejores estrategias en el tratamiento y diagnóstico de enfermedades. La misión del IMSS es ser el instrumento básico de la seguridad social, establecido como un servicio público de carácter nacional, para todos los trabajadores y sus familias.

El diseño de políticas públicas para el beneficio de la salud en México se vio más que favorecido por la aplicación del conocimiento científico, dando lugar a una mejor atención y pronóstico en la salud de los mexicanos, sin embargo, no dejando de lado la investigación, al contrario, se ha convertido en uno de los principales ejes del IMSS, para la creación e implementación de centros de investigación a nivel institucional e internacional. Con la intención de integrar y fortalecer la investigación científica en el IMSS, en 1961 con la creación del Centro Médico Nacional, se consiguió la interacción de grupos, iniciando la primera línea de investigación en biología de la reproducción. Ya en el año de 1966, se crea el Departamento de Investigación Científica, por el Doctor Jorge Martínez Manatou, integrando la participación de ginecólogos, endocrinólogos, patólogos y bioquímicos. Posteriormente, se incorporaron especialistas en inmunología, farmacología y genética (Mercado M, 2021).

La Unidad de Investigación Médica del Hospital de Infectología e Inmunología (UIMII) comenzó sus trabajos en julio de 1998 cargo del doctor Cesar Gonzales Bonilla, en el segundo piso del hospital de Infectología Centro Médico Nacional “La Raza”, pero para el 2004 fue reubicada en un área acondicionada en el antiguo Banco de Sangre de La Raza. Por el año de 2009 se vieron interrumpidas las actividades debido a la pandemia de influenza para ayudar en el diagnóstico molecular en los casos de influenza, y ya para el año 2011 reanudaron sus actividades de investigación, quedando como jefa de la Unidad la Doctora Vilma Carolina Bekker Méndez (IMSS, 2018). En esta etapa se trabajó con la prioridad y lineamientos para fortalecer el vínculo entre la investigación y la atención de derechohabientes; en el cual se lleva a cabo investigación en materia de enfermedades infecto infecciosas como: el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), además el virus causante de COVID-19 (SARS-CoV-2) y en el diagnóstico de algunos tipos de translocaciones en leucemias infantiles, entre muchas cosas más, siendo pioneros en el campo de la investigación en biología molecular. Con todo lo anterior y con el objetivo muy en claro se crea su misión y visión como la UIMII:

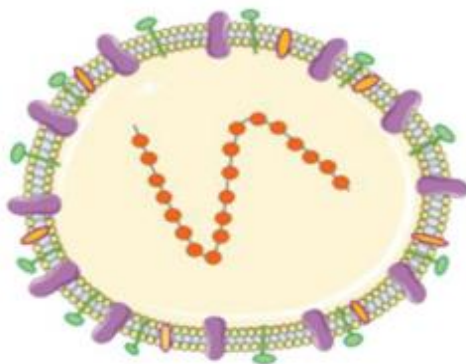
- Misión: Es llevar a cabo la investigación y diagnósticos de calidad sujetos a vigilancia epidemiológica en el IMSS, de acuerdo con las recomendaciones del Comité Nacional de Vigilancia Epidemiológica (CONAVE) y el cumplimiento del sistema de gestión de calidad.
- Visión: Convertirse en el centro de referencia en investigación epidemiológica de excelencia en el IMSS que proporcione información oportuna de calidad, que ayude en la integración y coordinación de actividades de laboratorios institucional, logrando prestigio nacional e



internacional a través de proyectos de investigación orientados a la solución de problemas prioritarios del IMSS, con la interacción de instituciones nacionales e internacionales.

## 2.2 COVID- 19

A finales del 2019 un nuevo coronavirus denominado SARS-CoV-2 (Síndrome Respiratorio Agudo Severo-coronavirus), localizado en Wuhan, china provocó el brote de la enfermedad denominada coronavirus 2019 (COVID-19). Al propagarse de manera rápida por el mundo, fue declarada por la OMS (Organización Mundial de la Salud) el 11 de marzo de 2020 como pandemia (Ghasemnejad-Berenji M, 2021). Es un virus de ARN monocatenario de sentido positivo, con una longitud de 30kb, en el que hay 14 marcos de lectura abiertos (ORF), el cual codifica proteínas no estructurales (NSP) para los procesos de replicación y ensamblaje del virus, proteínas estructurales que incluyen spike (S), envoltura (E), membrana (M) y nucleocápside (N) y proteínas accesorias (imagen1) (Mohamadian M, 2021).



Proteínas estructurales	Figura en el esquema
Membrana	
Envoltura	
Nucleocápside	
Proteína Spike (S)	
RNA	

Imagen 1. Estructura del virus SARS-CoV-2 (Mohamadian M, 2021).

La proteína S es una proteína transmembrana que facilita la unión de la envoltura viral a los receptores de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2). El receptor ACE2 se expresa en células epiteliales dentro de una variedad de órganos que incluyen pulmones, riñones y vasos sanguíneos. El análisis del dominio de unión al receptor (RBD) de la proteína S revela que la mayoría de los residuos de aminoácidos importantes para la unión del receptor se conservan entre el SARS-CoV y el SARS-CoV-2, lo que implica que las cepas del SARS-CoV-2 usan el mismo receptor del huésped para la entrada a la célula, es decir da lugar a la patogenia de la enfermedad. Por otro lado, la proteína N se une al genoma viral y participa en la replicación del ARN, la formación de viriones y la evasión inmunitaria expresado en la superficie de la célula huésped (imagen 2) (Habas K, 2020).

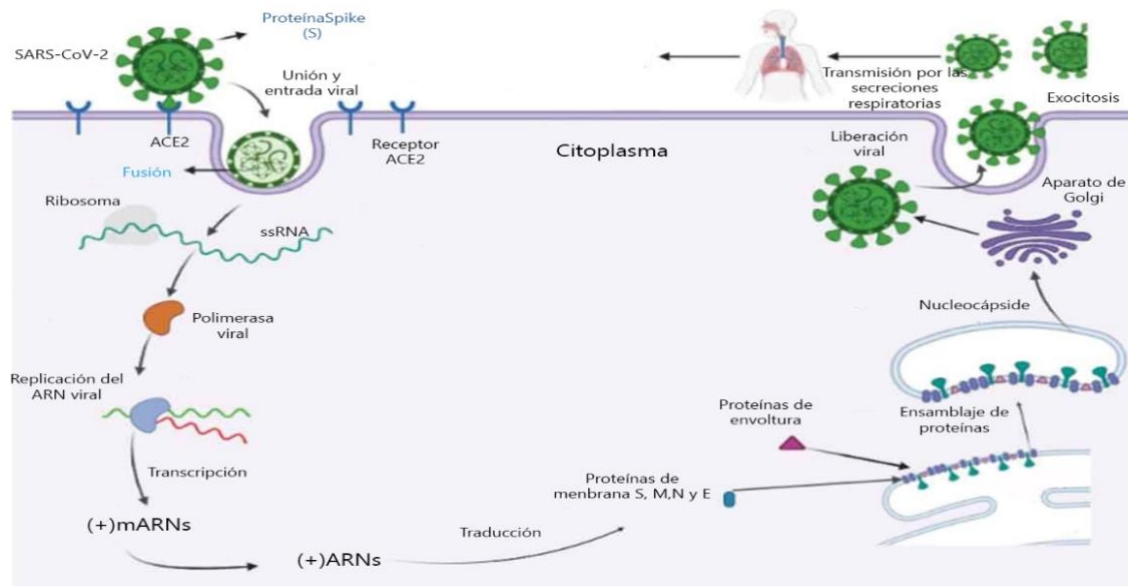


Imagen 2. Forma de propagación del virus SARS-CoV-2 (Habas K, 2020).

### 2.3 Protocolo FANTAZE

El manejo actual de la COVID-19 se basa generalmente en la terapia de apoyo. La opción eficaz de la terapia antiviral y la vacunación se encuentran actualmente en evaluación y desarrollo. Por lo que a través de la unión de investigadores del IMSS y Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) trabajan de la mano con el University College London (UCL) y con Hakken Enterprise se comenzó el estudio FANTAZE, el cual propone un tratamiento a pacientes positivos a COVID-19 con un tratamiento antiviral con la combinación de dos medicamentos: Nitazoxanida y Favipiravir, teniendo como objetivo principal evaluar el tratamiento antiviral temprano con Favipiravir + Nitazoxanida, el cual está asociado con una disminución en la carga viral en comparación con Favipiravir (Ichgcp, 2022). A través de un ensayo aleatorizado, doble ciego controlado con placebo para el tratamiento temprano de COVID-19 (Smith T, 2022).

Para ser candidatos deben cumplir estos requisitos y características en sus perfiles:

1. Ser derechohabientes del IMSS.
2. Ser mayores de 18 años y otorgar un consentimiento informado previo y libre.
3. Positivos a la infección por SARS-CoV-2 y que hayan enfermado en los últimos 7 días.
4. Asintomáticos que hayan dado positivo a una prueba de SARS-CoV-2, 48 horas previo al reclutamiento.
5. Sospechosos de infección (por sintomatología más exposición), dentro de los primeros cinco días de aparición de síntomas.

## 2.4 Nitazoxanida y Favipiravir en COVID-19

La nitazoxanida inicialmente antiprotozoario de molécula pequeña, ha sido probada para el tratamiento de la diarrea causada por el protozoo *Cryptosporidium* o *Giardia* en adultos y niños inmunocompetentes. Es un profármaco que contiene una fracción de salicilamida y tiene actividad como analgésico, antioxidante, antiinfeccioso (contra bacterias, hongos, parásitos y virus), afecta la producción de interleucina, regula las respuestas inmunes, la actividad antipolimerasa contra el virus de la hepatitis, bloquea la entrada viral de la influenza y la fusión de la membrana celular huésped, mientras la fracción de nitrotiazol exhibe efecto antiprotozoario, antiproliferativo, antiinfectivo (Rocco, 2021). Por lo tanto, ha demostrado inhibir varias etapas del ciclo de replicación del virus, además de potenciar la inmunidad innata. Ha mostrado promover un equilibrio entre actividad proinflamatoria y antiinflamatoria, jugando un papel en la tormenta de citocinas hiperinflamatoria en COVID-19. Los desafíos potencialmente mortales surgen en fases severas y críticas atribuidas a la tormenta de citoquinas, este puede frenar incluso etapas severas de la enfermedad y en pacientes que presente comorbilidades (Lokhande AS, 2021).

El Favipiravir es un derivado de pirazinacarboxamida con actividad frente a virus ARN, es un agente antiviral que inhibe la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp), que son necesarias para la transcripción y replicación de los genomas virales, el cual se utiliza como un profármaco (Sreekanth Reddy O, 2021). Puede metabolizarse a un metabolito activo, favipiravir ibofuranosil 5' trifosfato (T-705-RTP), que actúa como competidor de los nucleósidos de purina y puede interferir con la replicación viral. Inicialmente se ha aprobado para su uso terapéutico en casos de influenza y ha demostrado ser eficaz en tratamiento de COVID-19, al disminuir la carga viral (Ghasemnejad-Berenji M, 2021).

## 3 JUSTIFICACIÓN

Un muestreo no invasivo es aquel con el que se obtiene material biológico sin la necesidad de capturar, manipular o incluso observar a los individuos investigados entre los cuales se encuentran; las biopsias, toma de sangre o heces (Lefort, 2022). La extracción y análisis de ácidos nucleicos en heces y otras muestras no invasivas (Schultz, 2021) permite obtener información detallada sobre la estructura genética (Ferreira, 2018) y genómica (Russello, 2020).

Durante la pandemia de COVID-19, los esfuerzos del servicio de salud dieron lugar al avance en investigación para su mitigación y tratamiento (Jones DL, 2020). Por lo que se propusieron distintos protocolos como lo es FANTAZE; estudio doble ciego que consiste en administrar a pacientes diagnosticados con COVID-19 tratamiento farmacológico. A través de la recolección de muestras heces se ha demostrado el hallazgo del virus SARS-CoV-2, en pacientes asintomáticas, presintomáticas o postsintomáticas, ya que puede permanecer en heces hasta 22 días en condiciones ambientales (Godin B, 2021). Como parte de las actividades principales para la liberación de servicio social, se realizará, el procedimiento normalizado de operación para la extracción de material genético

de heces que tiene como objetivo: la reproducibilidad de la calidad y pureza de las muestras para su uso en estudios posteriores de biología molecular. Este procedimiento es una rutina que se realiza en el área de Laboratorio de la Unidad de Investigación Biomédica del Centro Médico Nacional La Raza.

La principal problemática de la extracción de heces proviene de las células descamadas del lumen del epitelio intestinal de los individuos, ya que casi siempre se encuentran acompañadas de otros componentes de bajo interés para el desarrollo de la investigación, presentando una serie de inconvenientes como: poca cantidad y calidad de material genético, errores de genotipificación y problemas de contaminación (Reck, Michael et al, 2015). En consecuencia, es necesario utilizar metodologías que permitan extraer la mayor cantidad de ácidos nucleicos de buena calidad para evitar la pérdida de información importante, lo que aumenta la eficiencia de los marcadores moleculares empleados.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 General

Extraer material genético de heces de pacientes con COVID-19 para su uso en estudios posteriores de Biología Molecular siguiendo un Procedimiento Normalizado de Operación (PNO).

### 4.2 Específicos

1. Realizar una búsqueda bibliográfica sobre la extracción de material genético en muestras heces
2. Describir e implementar el PNO para la extracción de material genético de heces de pacientes con COVID-19.
3. Recolectar y almacenar muestras fecales de pacientes positivos a COVID-19.
4. Realizar la cuantificación y pureza de las muestras obtenidas de ARN.
5. Recolectar y almacenar muestras de sangre periférica y componentes sanguíneos
6. Realizar una búsqueda bibliográfica sobre la extracción de células mononucleares
7. Realizar una búsqueda bibliográfica sobre el correcto almacenamiento de muestras nasofaríngeas

## 5 METODOLOGÍA

### 5.1 Protocolo FANTAZE y las actividades para la liberación del servicio social

Cada paciente que cumplió con los requisitos previamente descritos fue sometido a este protocolo y se obtuvieron las muestras biológicas para su posterior análisis o almacenamiento:

- Sangre periférica
- Heces
- Nasofaríngeos

En dicho protocolo se realizaron las siguientes actividades para la liberación del servicio social:

- Recepción y almacenamiento de componentes sanguíneos
- Extracción de células mononucleares de sangre periférica (PBMC)
- Recepción y almacenamiento de heces
- Extracción de RNA en heces
- Recepción y almacenamiento de nasofaríngeo

## 5.2 Métodos

La recepción y manipulación de muestras de pacientes positivos a COVID-19 se llevó a cabo a partir del 5 de mayo a 15 de noviembre del 2022. Las muestras que se procesaron fueron alrededor de 34, de las cuales se registraron en bitácora. Al iniciar el contacto con muestras que tuvieron algún tipo de manipulación o almacenamiento, fue de vital importancia verificar todos los datos y etiquetados, en el caso de este protocolo la persona encargada de realizar la entrega, siempre verificó y mostró el número de folio; en casos donde no se percibían estos datos se pidió su correcta rotulación; se llevó a cabo para todo tipo de muestras que llegaban, es decir sangre periférica, heces y nasofaríngeos, para su posterior manipulación.

### 5.2.1 Recepción y almacenamiento de componentes sanguíneos

Se define a la sangre como el tejido hemático con todos sus componentes no fraccionado suspendido en solución anticoagulante con o sin soluciones aditivas (Brake,2019). Para garantizar la autosuficiencia, cobertura universal y seguridad de la sangre y sus componentes, debe fomentar una coordinación eficiente de los bancos de sangre y además de recintos como hospitales y unidades de investigación, con el fin de implementar técnicas de laboratorio con mayor sensibilidad y especificidad para el uso adecuado y racional de los productos sanguíneos.

Para la recepción de muestras y componentes sanguíneos se establecieron y mantuvieron procedimientos documentados para la inspección y los exámenes de actividades para verificar que se cumplen los requisitos especificados. De los cuales a cada muestra de sangre se designó una identificación única a cada una de las unidades, componentes y muestras de sangre, la cual debió adaptarse al lugar donde se procesó o solicitó, con un folio único de identificación.

Para el correcto almacenamiento se conservó a una temperatura de entre -1 a -20 °C con máximo de 24 meses a partir de la congelación para una muestra sanguínea (Febrer-Sendra,2022).

### 5.2.2 Extracción de células mononucleares de sangre periférica (PBMC)

La sangre humana está compuesta por partes iguales de plasma y células sanguíneas. Estos incluyen eritrocitos (glóbulos rojos), leucocitos (glóbulos blancos) y trombocitos (plaquetas). Los leucocitos están divididos en diferentes tipos de células. Estos incluyen linfocitos y monocitos, que forman la base del sistema inmunitario innato y a los que nos referimos como células mononucleares de sangre periférica (PBMC), es una célula sanguínea con un solo núcleo redondo (Kleiveland CR, 2015). Las PBMC que a veces se denominan PMNC (células mononucleares periféricas) o MNC (células mononucleares) incluyen todos los leucocitos mononucleares como los linfocitos (células T, células B, células NK), monocitos, células dendríticas y basófilos (Nüssing, 2018). El término linfocito engloba dos categorías muy importantes, linfocitos B y linfocitos T. Los linfocitos B son responsables de la producción de anticuerpos, mientras que los linfocitos T producen moléculas de señalización que conducen a la eliminación de células extrañas (Cronkite, 2018).

La fracción celular correspondiente a eritrocitos y leucocitos se eliminó de la sangre total mediante centrifugación en un gradiente de densidad de 1.077 g/mL separando la sangre en dos fases. Esto se pudo lograr con Ficoll-Paque PLUS que es un medio de centrifugación en gradiente de densidad estéril para la separación de células mononucleares de la sangre humana. Debido a su densidad más elevada, los eritrocitos, los granulocitos y las células muertas pasaron por la capa de Ficoll mientras que los linfocitos y los monocitos, debido a una menor densidad, se acumularon en la barrera gradiente de plasma (imagen 3) (Conogasi, 2018).

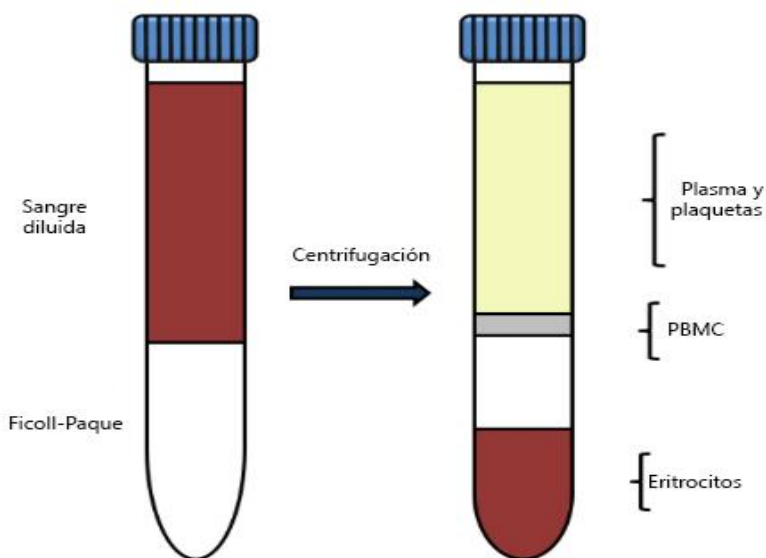


Imagen 3. Aislamiento de PBMC por centrifugación en gradiente de densidad (Conogasi, 2018).

### 5.2.3 Recepción y almacenamiento de heces

Las heces se definen como material que se evacúa durante la defecación. Las heces están compuestas de alimentos que no se digirieron, bacterias, moco y células del revestimiento de los intestinos. También se llama deposición, deyección o materia fecal (Vandeputte, 2016).

La recepción y procesamiento de muestras se realizó lo antes posible para evitar mal olor y que la misma muestra no se degradara. Se realizaron procedimientos de documentación y etiquetado para muestra y fracciones estas. Estas muestras tuvieron un folio único de identificación dado por el laboratorio o solicitante (Sánchez-Romero MI, 2019). Se recomienda que la conservación de las muestras de heces sea a -20°C sin adicionarles preservos. Las muestras a temperatura de 4 °C sin preservantes se pueden mantener hasta 1 mes (Su, Wenquan et al., 2022).

### 5.2.4 Extracción de RNA en heces

La extracción de biomoléculas, ADN, ARN y proteínas es el método más importante utilizado en biología molecular. Es el punto de partida para los procesos posteriores y el desarrollo de productos, incluidos los kits de diagnóstico. El ADN, el ARN y las proteínas se pueden aislar de cualquier material biológico, como tejidos vivos o conservados, células, partículas de virus u otras muestras con fines analíticos o preparativos (Wink M, 2020). El ARN es un puente de información que conecta el ADN con la proteína en la expresión génica, entre las características que posee es una molécula inestable y tiene una vida media muy corta una vez extraído de la célula o los tejidos (Wang, 2022). El ARN consta de nucleótidos de ribosas unidos por enlaces fosfodiéster, tiene entre sus bases nitrogenadas adenina, guanina, citosina y uracilo, este último reemplaza a la timina en el ADN. Hay varios tipos de ARN de origen natural, incluidos el ARN ribosómico (ARNr) (80 %–90 %), el ARN mensajero (ARNm) (2,5 %–5 %) y el ARN de transferencia (ARNt) (Vicens, 2022).

La extracción de ARN se realizó en tres etapas consecutivas: disgregación de las células o tejidos (lisis celular), inactivación de las nucleasas intracelulares y separación de los ácidos nucleicos de los demás componentes celulares.

#### ○ *Lisis celular*

El primer paso en la extracción de material genético es la ruptura de las células de tal manera que se obtenga una muestra intacta, mediante la aplicación de detergentes y enzimas (Rodríguez, 2020).

#### ○ *Inactivación de nucleasas*

Consiste en la remoción de proteínas de la solución de la muestra. Además del uso de enzimas digestivas como la proteinasa K, empleada en la remoción de proteínas de la muestra. También en este paso se deben remover aminoácidos e impurezas de bajo peso molecular, a través de la precipitación usando la diferencia de tamaño con alcoholes como etanol o isopropanol (Rodríguez, 2020).

○ *Determinación de pureza y concentración*

Finalmente se evalúa la pureza, concentración y rendimiento de la extracción de ácidos nucleicos. La pureza del ARN se calcula al comparar la de lectura de absorbancia a 260 y 280 nm con valores de 2.0-2.2 se considera indicativa de un ARN de pureza óptima (Rodríguez, 2020).

### 5.2.5 Recepción y almacenamiento de muestras nasofaríngeas

Es un examen en el cual se analizan muestras en las secreciones de la parte superior de la faringe (garganta), es decir detrás de la nariz; con el objetivo de obtener células superficiales del epitelio respiratorio que contienen el virus o bacterias (Medlineplus,2022).

Todas las muestras fueron identificadas y sanitizadas, para así ser transportadas. Cada una tuvo un embalaje el cual consistió en un contenedor primario impermeable o hermético; un contenedor secundario rígido, impermeable o hermético de material absorbente. Para su correcto almacenamiento se conservaron a una temperatura de entre -1 a -4 °C (Morales-Angulo C, 2020).

Las actividades para la liberación del servicio social se describen a continuación (Tabla 1).

Día 1	Recepción de muestras: Tubo de sangre 1 morado + 1 rojo 1 nasofaríngeo Recepción de consentimiento informado	Procedimiento: Extracción de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) Separación de suero y plasma Recepción y almacenamiento de nasofaríngeo
Día 7	Recepción de muestras: Tubo de sangre 3 morado + 1 rojo 6 nasofaríngeo Heces	Procedimiento: Separación de suero y plasma Extracción de RNA de heces Recepción y almacenamiento de nasofaríngeo
Día 14	Recepción de muestras: heces	Procedimiento: Extracción de RNA de heces



### 5.3 Cronograma de actividades

Diagrama 3. Cronograma de actividades

Actividad	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre
Revisión bibliográfica								
Recepción y almacenamiento de muestras								
Obtención de material genético								
Obtención, análisis y reporte de resultados								
Reporte final								

## 6 RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 6.1 Búsqueda bibliográfica sobre la extracción de material genético en muestras heces

Se investigaron los fundamentos y metodología a realizar, para el desarrollo de actividades dentro del servicio social a través de herramientas de búsqueda detallada. El tiempo de recuperación fue de 1990 a 2022. Las herramientas de búsqueda incluyeron bases de datos en inglés como PubMed, SCI y SpringerLink. Los materiales y la información buscados cubrieron diversas formas de documentación, como manuscritos de revistas, tesis de maestría y doctorado, libros electrónicos, revisiones en línea, estándares y patentes.

Palabras claves: heces, material genético, extracción de RNA entre otras.

### 6.2 PNO para la extracción de material genético de heces

Es aquel documento que contiene las instrucciones mínimas para llevar a cabo una operación de manera reproducible (Sedivy, 2021). Antes de la manipulación de muestras dentro de las actividades dentro del servicio social se llevó a cabo la investigación y fundamentos de cada una. Además, se instruyó en el correcto uso de la micropipeta a través de distintos ejercicios con el fin de conseguir destreza y habilidad práctica.

Para cada actividad se leyó el manual y protocolo que correspondía tanto para las actividades y los que correspondían al funcionamiento de equipos.

En el caso de Recepción y almacenamiento de componentes sanguíneos y extracción de células PBMC se llevó a cabo por la metodología del manual “Diagnóstico molecular de traslocaciones cromosómicas frecuentes en casos de leucemia pediátrica en México”.

Cada actividad se registró en bitácoras físicas y electrónicas, anotando observaciones e inconvenientes.

#### 6.2.1 Actividades del día 7 o 14

- Recepción, procesamiento y extracción de ARN en muestras de heces y almacenamiento; recepción, procesamiento y almacenamiento de componentes sanguíneos (Suero y plasma solo en el día 7).

Las muestras que se analizaron en este punto fueron:

- Sangre periférica (3 tubos morados / 1 tubo rojo)
- Muestra de heces

El Procedimiento Normalizado de Operación para la extracción de heces en muestras de pacientes positivos a COVID-19 fue el siguiente:

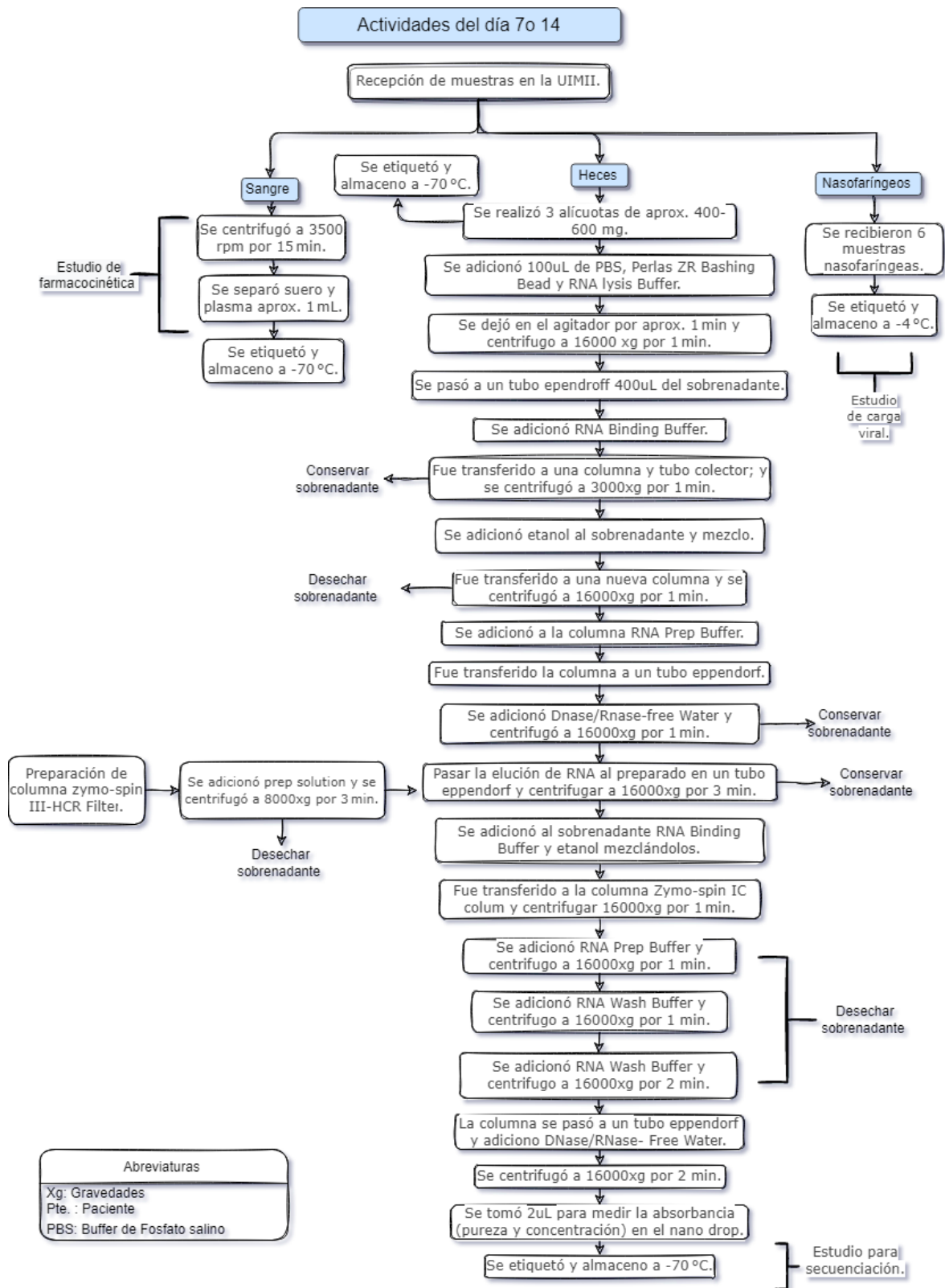


Diagrama 1. Separación de suero y plasma; extracción de RNA de heces\* la técnica es realizada a treves de un kit comercial Zymo Research.

Para la extracción de RNA se estudió y leyó el manual del kit Quick-RNA Fecal/Soil Microbe Microprep Kit, el cual contiene las instrucciones y recomendaciones para su correcta manipulación.

Uno de los aportes importantes en este estudio fue la adición de PBS a la muestra de heces antes de iniciar toda la metodología del kit, como modificación al PNO original, con lo cual se logró ablandar la muestra y mejorar la homogenización al momento de pasarla al agitador.

### 6.3 Recolección y almacenamiento de muestras fecales de pacientes positivos a COVID-19

En el caso de las muestras de heces (Tabla 2) se realizaron alícuotas. Se intentó conseguir un peso uniforme el cual se veía dificultado por la consistencia y cantidad de ésta, además en varios casos se encontraba con bastantes restos de comida o muestra insuficiente; el peso ideal fue de 400 mg, por lo que se llegó a optar por adicionar un poco más de muestra con un peso máximo de 600mg, ya que esto por experiencias anteriores a mi estancia, se demostró que era contraproducente para la extracción de ARN, llegando a dar resultados muy variados al momento de comprobar el espectro de absorción. Las muestras fueron almacenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  para su posterior manipulación. Como se observa en la tabla 2 en la mayoría de los participantes dentro del protocolo tuvo una respuesta positiva. En la mayoría de los casos solo se obtuvo del día 7, a diferencia del día 14 debido a que los pacientes abandonaron el protocolo y no fue posible la recolecta. A pesar de este tipo de inconveniente la extracción de ARN se realizó de manera normal.

Tabla 2. Muestras procesadas de heces				
Número de muestras	Alícuotas			
	Día 7 (V2)		Día 14 (V3)	
	Número de alícuotas	Peso (~mg)	Número de alícuotas	Peso (~mg)
044	3	400-600	3	400-600
045	3	400	NP	
046	3	400	NP	
047	NP			
048	3	400	NP	
049	3	400	NP	
050	3	400	NP	
051	3	400	3	400
052	3	400	NP	
053	3	400	NP	

054	NP			
055	3	400	NP	
056	3	400	NP	
057	3	400	NP	
058	3	400	NP	
059	3	400	NP	
060	3	400	NP	
061	3	400	NP	
062	3	400	NP	
063	3	400	3	400
064	3	400	3	400
065	3	400	NP	
066	3	400	NP	
067	NP			
068	3	400	NP	
069	3	400	NP	
070	NP			
071	3	400	NP	
072	3	400	NP	
073	3	400	NP	
074	3	400	NP	
075	SM			
076	3	400	NP	
077	3	600		
Notas				
NP: No se presentó				
SM: Sin muestra				

#### 6.4 Cuantificación y pureza de las muestras obtenidas de ARN

Para la extracción de ARN se utilizó el kit Quick-RNA Fecal/Soil Microbe Microprep Kit el cual demostró que es efectivo siempre y cuando se realice de forma adecuada. En muchos de los casos se realizó la extracción al acumular cierta cantidad de muestras, por lo que en la mayoría de los casos se mantuvieron en congelación para su posterior manipulación de manera adecuada. En el momento en que se tenían alrededor de 4 a 6 muestras se comenzaba el proceso. Todas las muestras se dejaban descongelar a temperatura ambiente alrededor de una hora a hora y media. En la mayoría de las extracciones (Tabla 3) se consiguió un espectro característico de una curva de absorbancia obteniendo su pico más alto a 260 nm. Hay muchos factores que afectan el proceso de los cuales son principalmente el proceso en sí mismo, ya que se necesitaba mucha atención para no confundir

reactivos y pasos, esto se ve reflejado en las muestras 063 a la 065, en la primera extracción se mostraron absorbancias de alrededor 2.8 a 0.8, el ARN esta degradado y contaminado ya que hay lectura de alguna otra sustancia. Además, en muchos de los casos dependerá de la cantidad de células que contenga la muestra y manipulación del personal ya que, si la muestra llega a tener una alta cantidad, pero no se procesa de forma adecuada no se podrá lograr dar un buen resultado. Todas las muestras de RNA fueron resguardadas a -70°C ya que se utilizarán para posteriores estudios de secuenciación o carga viral.

Tabla 3. Extracción de ARN de heces			
Número de muestra	Concentración (ng / $\mu$ L)	Absorbancia	
		260/280	260/230
013 V3	218	2.05	2.03
026 V2	306.0	2.12	2.42
027 V2	226.5	2.13	2.14
028 V2	274.7	2.13	1.84
029 V2	970	2.11	2.48
030 V2	1681	2.12	2.33
035 V2	1151.2	2.10	2.29
041 V2	3044.5	2.11	2.43
042 V2	420.8	2.11	2.43
043 V2	61.22	2.01	2.09
	10.4	2.21	1.53
043 V3	166.1	1.98	2.17
	272.1	2.08	2.16
044 V2	181.9	2.05	2.03
	871.8	2.17	22.36
043 V3	1052.0	2.13	2.53
	323.2	1.98	1.8
045 V2	301.0	2.11	2.12
	536.0	1.98	1.8
046 V2	917.0	2.17	2.42
	1768.1	2.11	2.24
048 V2	119.8	2.05	1.56
	192.7	2.04	1.77
049 V2	589.7	2.13	2.19
	1158.9	2.16	2.30
050 V2	1129.4	2.10	2.38
	284.2	2.07	2.30

051 V2	133.8	2.15	3.00
	30.7	2.18	1.81
051V3	411.1	2.10	2.44
	1896.0	2.12	2.39
052 V2	427.4	2.00	2.10
	391.9	2.12	1.94
053 V2	911.3	2.08	2.30
	460.2	2.09	2.24
055 V2	244.3	2.08	1.99
	188.6	2.11	2.09
056 V2	578.0	2.10	2.66
	580.9	2.12	2.44
057 V2	153.6	1.98	1.07
	308.9	2.15	2.07
058 V2	143.2	2.07	1.56
	249.9	2.08	2.42
059 V2	292.5	2.06	1.83
	696.0	2.13	3.08
060 V2	246.3	2.06	1,98
	438.2	2.10	2.03
061 V2	20	2.01	0.91
	36.6	2.37	0.75
062 V2	37.8	2.17	0.9
	86.0	2.30	2.64
063 V2	7.3	2.11	0.74
	908.3	1.93	2.46
063 V3	14.4	1.63	0.54
	664.7	2.07	2.40
064 V2	11	1.32	0.14
	67.6	2.11	1.51
064 V3	14.4	1.63	0.54
	664.7	2.07	2.40
065 V2	3.2	1.78	0.18
	473.3	2.07	2.46
066 V2	2053.9	2.09	2.29
	15599.2	2.14	2.37
068 V2	992.7	2.07	2.34
	601.9	2.11	2.31
069 V2	1803.5	2.15	2.31
	1063.6	2.16	2.34

071 V2	182.2	1.95	1.15
	235.2	2.17	1.85
074 V2	4.1	3.42	0.40
	3.7	2.89	0.83
076 V2	631.3	2.04	1.89
	391.1	2.01	2.25
077 V2	53.9	1.87	1.76
	69.3	2.06	1.81

## 6.5 Recolección y almacenamiento de muestras de sangre periférica y componentes sanguíneos

Para el caso de muestras de sangre periférica se separó suero y plasma; además de la extracción de PBMC (Tabla 4). En la mayoría de las muestras se consiguió recolectar alícuotas, 2 sueros y 2 plasmas de la visita 1; además de 2 sueros y 6 plasmas de la visita 2. Obteniendo en total 4 sueros y 8 plasmas para los pacientes que cumplieron el protocolo. Para los pacientes que renunciaron, solo se recolectaron 2 sueros y 2 plasmas. Para cada alícuota la cantidad establecida a recolectar fue de 1000  $\mu\text{L}$ , esto se logró en la mayoría de las muestras, pero en otras la cantidad fue insuficiente, por lo que se optó por tomar menor volumen y así tener un resguardo de la muestra. Su almacenamiento fue a  $-70^{\circ}\text{C}$  para garantizar su viabilidad para posteriores estudios de farmacocinética. Además, de todas las muestras se consiguió obtener PBMC de la visita 1, lo cual da la ventaja al investigador al fácil acceso de células inmunes humanas o extracción de ácidos nucleicos entre otros para estudios posteriores.

Número de muestra	Separación de suero y plasma Tubos obtenidos (~1000 $\mu\text{L}$ )								
	Día 1				Día 7				
	Suero		Plasma		Suero		Plasma		
	Tubo 1 ( $\mu\text{L}$ )		Tubo 2 ( $\mu\text{L}$ )		Tubo 1 ( $\mu\text{L}$ )		Tubo 2 ( $\mu\text{L}$ )		
	1	2	1	2	1	2	0 min	30 min	60 min
044	1000	300	1000	200	1000	800	1000	800	800
045	1000	500	1000	200	1000	300	1000	900	700
046	1000	300	1000	200	1000	400	1000	800	800
047	1000	400	1000	300	SM				600
048	1000	400	1000	100	1000	300	1000	700	900
049	1000	300	1000	400	1000	200	1000	800	500



050	1000	200	1000	700	1000	500	1000	900	900
051	1000	300	1000	300	1000	200	1000	900	500
052	1000	200	1000	200	1000	200	1000	1000	500
053	1000	500	1000	500	1000	300	1000	1000	700
054	1000	300	1000	400	NP				
055	1000	300	1000	700	1000	300	1000	800	500
056	1000	500	1000	400	1000	200	1000	800	800
057	1000	500	1000	500	1000	300	1000	900	900
058	1000	200	1000	400	1000	200	1000	700	500
059	1000	300	1000	300	1000	500	1000	1000	700
060	1000	300	1000	200	1000	500	1000	900	900
061	1000	200	1000	200	1000	300	1000	1000	800
062	1000	400	1000	300	1000	700	1000	800	500
063	1000	300	1000	200	1000	800	1000	700	700
064	1000	200	1000	500	1000	300	1000	600	400
065	1000	200	1000	300	1000	300	1000	800	500
066	1000	300	1000	300	1000	200	1000	SM	
067	1000	200	1000	200	1000	400	SM		
068	1000	500	1000	200	1000	200	1000	900	500
069	1000	300	1000	300	1000	300	1000	900	800
070	1000	300	1000	200	1000	200	SM		
071	1000	200	1000	300	1000	400	1000	SM	
072	1000	400	1000	200	1000	300	SM		
073	1000	300	1000	500	1000	200	1000	900	500
074	1000	200	1000	200	1000	300	1000	700	800
075	1000	300	1000	300	1000	200	1000	SM	
076	1000	400	1000	200	1000	500	1000	800	800
077	1000	200	1000	500	1000	1000	1000	1000	1000
078	1000	1000	1000	900	1000	1000	1000	1000	700
Notas; SM: Sin muestra      NP: No se presentó									

## 6.6 Búsqueda bibliográfica sobre la extracción de PBMC

Se investigaron los fundamentos y metodología a realizar, a través del manual que lleva por nombre “Diagnóstico molecular de traslocaciones cromosómicas frecuentes en casos de leucemia pediátrica en México”, además de bases de datos en inglés como PubMed, SCI y Springer Link, considerando búsquedas desde 2015 hasta 2022.

La extracción de PBMC se realizó de forma conjunta a la separación de componentes sanguíneos. Para la correcta obtención de PBMC era necesario una buena homogenización con el PBS, lo que

permite sangre más diluida, con el fin de mejorar su pureza. La muestra total se dividió en dos alícuotas las cuales fueron almacenadas a -70°C.

### 6.6.1 Actividades del día 1

- Recepción, procesamiento, extracción de PBMC y almacenamiento (Tabla 5) de componentes sanguíneos (suero y plasma) .

#### Muestras biológicas

- Sangre periférica (1 tubo morado /1 tubo rojo)

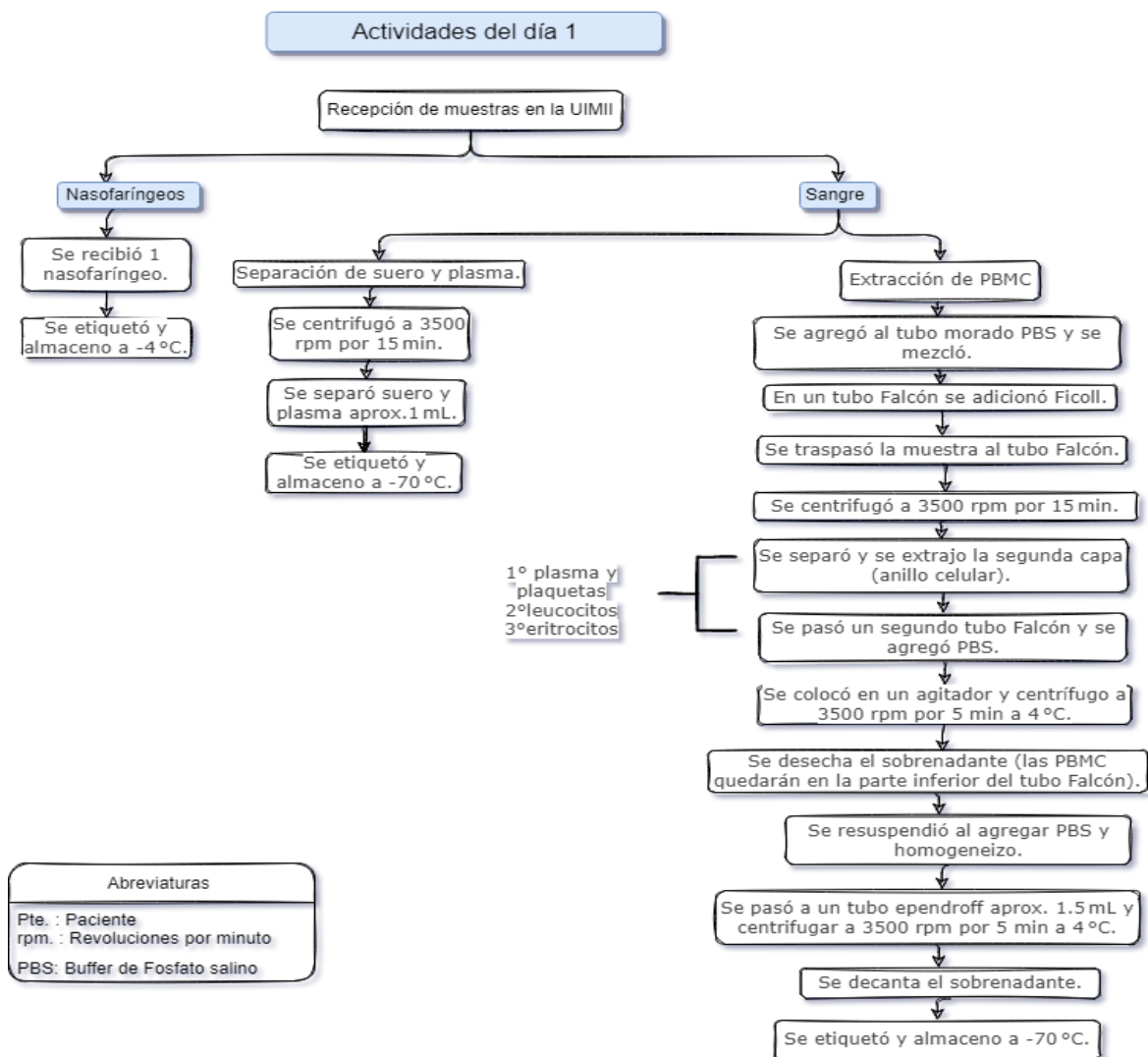


Diagrama 2. Actividades del día 1 Extracción de PBMC\* la técnica está estandarizada en el laboratorio y separación de suero y plasma; además del almacenamiento de nasofaríngeas.

Tabla 5. Muestras procesadas de sangre periférica para la extracción de PBMC

Número de muestra	Número de botones o PBMC obtenidos	Cantidad de muestra obtenida por tubo (uL)
044	2	~1500µL
045		
046		
047		
048		
049		
050		
051		
052		
053		
054		
055		
056		
057		
058		
059		
060		
061		
062		
063		
064		
065		
066		
067		
068		
069		
070		
071		
072		
073		
074		
075		
076		
077		
078		

## 6.7 Búsqueda bibliográfica sobre el correcto almacenamiento de muestras nasofaríngeas

Para las muestras de nasofaríngeo solo se realizó su almacenamiento y revisó su correcto etiquetado, todas se almacenaron a -4°C, estas se utilizarán para posteriores pruebas de carga viral (Tabla 6).

Número de muestra	Número de faríngeos	
	Día 1	Día 7
044	1	6
045	1	6
046	1	NP
047	1	6
048	1	6
049	1	6
050	1	6
051	1	6
052	1	6
053	1	6
054	1	NP
055	1	6
056	1	6
057	1	6
058	1	6
059	1	6
060	1	6
061	1	6
062	1	6
063	1	6
064	1	6
065	1	6
066	1	6
067	1	NP
068	1	6
069	1	6
070	1	NP
071	1	6

072	1	NP
073	1	6
074	1	6
075	1	6
076	1	6
077	1	6
078	1	6
Notas NP: No se presentó		

## 7 CONCLUSIONES

Las aportaciones de la biología molecular al intentar explicar los procesos y sistemas biológicos a nivel molecular en conjunto a distintas técnicas físicas y bioquímicas aportan al estudiante de Q.F.B. conocimiento sobre la estructura molecular y la función de las moléculas, además de la identificación de cómo interactúan dichos factores y moléculas. La biología molecular es relevante para una amplia gama de materias básicas dentro del plan de estudios de Q.F.B entre las cuales se destacan la patología, microbiología, endocrinología, parasitología, inmunología, farmacología y epidemiología. A través de la estancia en el servicio social se lleva cabo la comprensión de conceptos básicos de genética, biología celular y bioquímica, así como un nuevo léxico para tratar estos temas, antes de pasar a las técnicas y, finalmente, a las aplicaciones de la biología molecular en el protocolo FANTAZE y rol que se desempeñó en dicho periodo de tiempo.

En la experiencia práctica dentro de un laboratorio de investigación como lo es el de la UIMII donde se realiza investigación clínica se adquirieron habilidades y prácticas en técnicas simples como la extracción de ácidos nucleicos como ARN y PBMC, las cuales se consideran de rutina en el campo de biología molecular.

Con ayuda de la búsqueda de bibliográfica y entendimiento de las PNO establecidas dentro del laboratorio se realizó la integración teórica y práctica de cada una de las actividades. Se implementaron las condiciones adecuadas para la extracción de RNA total de heces, adaptándolas a la infraestructura y condiciones de la UIMII, obteniendo material genético integro y de buena calidad para estudios posteriores de biología molecular El concepto de trabajo en equipo fue de suma importancia, se veía influenciado desde una buena técnica en la recolecta de muestras ya sea en la cantidad y mantener en condiciones óptimas como por ejemplo la temperatura; además de la correcta identificación de cada una antes, durante y después de su manipulación dentro del laboratorio, destaco los buenos resultados obtenidos en cada una de las actividades.

Los conocimientos obtenidos durante el servicio social aportaron bases sólidas para mi formación como futuro profesional de la salud. En especial en el tipo de técnicas que se realizan en el laboratorio,

indicando sus ventajas y limitaciones. Sé aprendió a conducirse bajo las buenas prácticas de laboratorio que rigen en un laboratorio de investigación clínica.

En general es importante informar y educar al personal de salud y a los futuros profesionales de salud como fue en este caso, sobre este tipo de técnicas, indicando sus ventajas y limitaciones, con el fin de fomentar el desarrollo de equipos multidisciplinarios que en el futuro puedan diseñar, implementar, estandarizar, controlar e interpretar estas herramientas diagnósticas y terapéuticas.

## 8 OBJETIVOS Y METAS ALCANZADOS

- Se realizó la búsqueda bibliográfica sobre la extracción de material genético en muestras heces.
- Se describió e implementó el PNO para la extracción de material genético de heces provenientes de pacientes positivos a COVID-19. Así mismo, se propuso e incorporó una modificación a este PNO como mejora para el tratamiento de la muestra en estudio.
- Se llevó a cabo la recolecta y almacenamiento de muestras fecales en pacientes positivos a COVID-19.
- Se realizó la cuantificación y pureza de las muestras obtenidas de ARN.
- Se llevó a cabo la búsqueda bibliográfica sobre la extracción de células mononucleares.
- Se llevó a cabo la recolecta y almacenamiento de muestras en sangre periférica y componentes sanguíneos.
- Se realizó una búsqueda bibliográfica sobre el correcto almacenamiento de muestras nasofaríngeas.

## 9 REFERENCIAS

1. Brake, Marisa A et al. "Assessing Blood Clotting and Coagulation Factors in Mice." *Current protocols in mouse biology* vol. 9,2 (2019): e61. doi:10.1002/cpmo.61
2. Chu H, Liu C, Liu J, Yang J, Li Y, Zhang X. Recent advances and challenges of biosensing in point-of-care molecular diagnosis. *Sens Actuators B Chem.* 2021 Dec 1;348:130708. doi: 10.1016/j.snb.2021.130708. Epub 2021 Sep 3. PMID: 34511726; PMCID: PMC8424413.
3. Collins, Francis S et al. "Human Molecular Genetics and Genomics - Important Advances and Exciting Possibilities." *The New England journal of medicine* vol. 384,1 (2021): 1-4. doi:10.1056/NEJMp2030694
4. Conogasi Método: aislamiento de células sanguíneas por gradiente de Ficoll-Paque [Internet]. Conogasi. 2018 [citado el 11 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://conogasi.org/articulos/metodo-aislamiento-de-celulas-sanguineas-por-gradiente-de-ficoll-paque/>

5. Cronkite, David Alex, and Tara M Strutt. "The Regulation of Inflammation by Innate and Adaptive Lymphocytes." *Journal of immunology research* vol. 2018 1467538. 11 Jun. 2018, doi:10.1155/2018/1467538
6. Febrer-Sendra, Begoña et al. "Colorimetric and Real-Time Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) for Detection of Loa loa DNA in Human Blood Samples." *Diagnostics (Basel, Switzerland)* vol. 12,5 1079. 25 Apr. 2022, doi:10.3390/diagnostics12051079
7. Ferreira, Clara Mendes, et al. "Genetic non-invasive sampling (gNIS) as a cost-effective tool for monitoring elusive small mammals." *European Journal of Wildlife Research* 64.4 (2018): 1-15. doi.org/10.1007/s10344-018-1188-8
8. Ghasemnejad-Berenji M, Pashapour S. Favipiravir and COVID-19: A simplified summary. *Drug Res (Stuttg)* [Internet]. 2021;71(3):166–70. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1055/a-1296-7935>
9. Godin B, Tejada L, Arroyo B. SARS-CoV-2: A leap from feces to aquatic ecosystems. *Rev Chilena Infectol* [Internet]. 2021 [citado el 11 de noviembre de 2022];38(2):306–7. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0716-10182021000200306&lng=en&nrm=iso&tlng=en](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182021000200306&lng=en&nrm=iso&tlng=en)
10. Habas K, Nganwuchu C, Shahzad F, Gopalan R, Haque M, Rahman S, et al. Resolution of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Expert Rev Anti Infect Ther* [Internet]. 2020;18(12):1201–11. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/14787210.2020.1797487>
11. Ichgcp.net. [citado el 11 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://ichgcp.net/es/clinical-trials-registry/NCT04918927>
12. Instituto Mexicano del Seguro Social. Contribuciones del IMSS a la medicina mundial. Pasado, presente y futuro. Instituto Mexicano del Seguro Social/Instituto Politécnico Nacional;2018
13. Jones DL, Baluja MQ, Graham DW, Corbishley A, McDonald JE, Malham SK, et al. Shedding of SARS-CoV-2 in feces and urine and its potential role in person-to-person transmission and the environment-based spread of COVID-19. *Sci Total Environ* [Internet]. 2020;749(141364):141364. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969720348932>
14. Joshi S, Parkar J, Ansari A, Vora A, Talwar D, Tiwaskar M, et al. Role of favipiravir in the treatment of COVID-19. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2021;102:501–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.069>
15. Kleiveland CR. Peripheral blood mononuclear cells. En: *The Impact of Food Bioactives on Health*. Cham: Springer International Publishing; 2015. p. 161–7.
16. Korcsmaros, Tamas et al. "Next generation of network medicine: interdisciplinary signaling approaches." *Integrative biology : quantitative biosciences from nano to macro* vol. 9,2 (2017): 97-108. doi:10.1039/c6ib00215c
17. Lefort, Marie-Caroline, et al. "Blood, sweat and tears: a review of non-invasive DNA sampling." *Peer Community Journal* 2 (2022).doi: 10.24072/pcjournal.98

18. Lokhande AS, Devarajan PV. A review on possible mechanistic insights of Nitazoxanide for repurposing in COVID-19. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2021;891(173748):173748. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299920308402>
19. López M. Unidad de enseñanza aprendizaje tecnologías moleculares para el diagnóstico y la terapéutica [Internet]. 2016 sep. Disponible en: [www2.xoc.uam.mx/oferta-educativa/divisiones/cbs/licenciaturasposgrados/pplic/qfb/plan/336022\\_TMPDT.pdf](http://www2.xoc.uam.mx/oferta-educativa/divisiones/cbs/licenciaturasposgrados/pplic/qfb/plan/336022_TMPDT.pdf)
20. Medlineplus .Cultivo nasofaríngeo [Internet]. Medlineplus.gov. [citado el 11 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003747.htm>
21. Mercado M, Torres J, Guerrero-Romero F, Lopez-Alarcón M, Mayani H. La investigación médica en el Instituto Mexicano del Seguro Social: siete décadas de trabajo, logros y retos. *Gac Med Mex* [Internet]. 2021; 157(4 ): 470-478. Disponible en: <https://doi.org/10.24875/gmm.21000389>.
22. Mohamadian M, Chiti H, Shoghli A, Biglari S, Parsamanesh N, Esmailzadeh A. COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. *J Gene Med* [Internet]. 2021;23(2):e3303. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/jgm.3303>
23. Morales-Angulo C, González-Zubizarreta R, Martín-Toca G, Ramírez-Bonilla A, Gonzalo-Margüello M, Rodríguez-Fernández A. Toma de muestras nasofaríngeas para diagnóstico de COVID-19. *Rev ORL* [Internet]. 2020 [citado el 11 de noviembre de 2022];11(4):389–94. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2444-79862020000400001](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2444-79862020000400001)
24. Nüssing, Simone et al. “Innate and adaptive T cells in influenza disease.” *Frontiers of medicine* vol. 12,1 (2018): 34-47. doi:10.1007/s11684-017-0606-8
25. Reck, Michael et al. “Stool metatranscriptomics: A technical guideline for mRNA stabilisation and isolation.” *BMC genomics* vol. 16,1 494. 4 Jul. 2015, doi:10.1186/s12864-015-1694-y
26. Rocco, Patricia R M et al. “Early use of nitazoxanide in mild COVID-19 disease: randomised, placebo-controlled trial.” *The European respiratory journal* vol. 58,1 2003725. 8 Jul. 2021, doi:10.1183/13993003.03725-2020
27. Rodríguez, Antonio et al. “Comparison of procedures for RNA-extraction from peripheral blood mononuclear cells.” *PloS one* vol. 15,2 e0229423. 21 Feb. 2020 doi:10.1371/journal.pone.0229423
28. Russello, Michael et al. “Conservation Genetics and Genomics.” *Genes* vol. 11,3 318. 17 Mar. 2020, doi:10.3390/genes11030318
29. Sánchez-Romero MI, García-Lechuz Moya JM, González López JJ, Orta Mira N. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología. *Enferm infecc microbiol clin (Engl )* [Internet]. 2019;37(2):127–34. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>
30. Schultz, Anthony James et al. “Testing the effectiveness of genetic monitoring using genetic non-invasive sampling.” *Ecology and evolution* vol. 12,1 e8459. 27 Dec. 2021, doi:10.1002/ece3.8459
31. Smith T, Hoyo-Vadillo C, Adom AA, Favari-Perozzi L, Gastine S, Dehbi H-M, et al. Favipiravir and/or nitazoxanide: a randomized, double-blind, 2x2 design, placebo-controlled trial of early



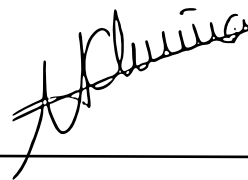
- therapy in COVID-19 in health workers, their household members, and patients treated at IMSS (FANTAZE). *Trials* [Internet]. 2022;23(1):583. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s13063-022-06533-0>
32. Sreekanth Reddy O, Lai W-F. Tackling COVID-19 using remdesivir and favipiravir as therapeutic options. *Chembiochem* [Internet]. 2021;22(6):939–48. doi.org/10.1002/cbic.202000595
  33. Su, Wenquan et al. “Standards for Collection, Preservation, and Transportation of Fecal Samples in TCM Clinical Trials.” *Frontiers in cellular and infection microbiology* vol. 12 783682. 20 Apr. 2022, doi:10.3389/fcimb.2022.783682
  34. Vandeputte, Doris et al. “Stool consistency is strongly associated with gut microbiota richness and composition, enterotypes and bacterial growth rates.” *Gut* vol. 65,1 (2016): 57-62. doi:10.1136/gutjnl-2015-309618
  35. Vicens, Quentin, and Jeffrey S Kieft. “Thoughts on how to think (and talk) about RNA structure.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 119,17 (2022): e2112677119. doi:10.1073/pnas.2112677119
  36. Wang, David. and Aisha Farhana. “Biochemistry, RNA Structure.” *StatPearls*, StatPearls Publishing, 8 May 2022
  37. Wink M. *An introduction to molecular biotechnology an introduction to molecular biotechnology: Fundamentals, methods and applications*. 3a ed. Wink M, editor. Weinheim, Alemania: Wiley-VCH Verlag; 2020.
  38. Sedivy, Arthur. “Standard operating procedure for NanoTemper Monolith measurements.” *European biophysics journal : EBJ* vol. 50,3-4 (2021): 381-387. doi:10.1007/s00249-021-01534-4

Vo.Bo. DE LOS ASESORES



---

Asesora interna  
Dra. Luz María Zenit Tovar Castro  
Departamento de Sistemas Biológicos  
32252



---

Asesora externa  
Dra. Charmina Aguirre Alvarado  
Químico Clínico  
4249870