

## Tecnología de detección del coronavirus SARS-CoV-2 basada en el sistema de edición genética CRISPR/Cas

SARS-CoV-2 coronavirus detection technology based on the CRISPR/Cas gene editing system

José Miguel Rodríguez Perón<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-4824-8713>

Mario Miguel Rodríguez Izquierdo<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2879-2527>

<sup>1</sup>Universidad de Ciencias Médicas de las Fuerzas Armadas Revolucionarias. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Universidad de Ciencias Médicas de la Habana, Facultad de Ciencias Médicas de Mayabeque. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [jmperon@infomed.sld.cu](mailto:jmperon@infomed.sld.cu)

### RESUMEN

**Introducción:** Existe una necesidad inmediata de contar en los centros de atención de pacientes con COVID-19 de una herramienta diagnóstica para el SARS-CoV-2, cuyas características muestren una alta sensibilidad y especificidad, bajos costos y tiempos de detección reducidos.

**Objetivo:** Describir la utilización de los sistemas CRISPR/Cas para el diagnóstico molecular de la infección por SARS-CoV-2.

**Métodos:** Se utilizó el motor de búsqueda Google Académico y se consultaron artículos de libre acceso en las bases de datos Pubmed, SciELO, LILACS, CUMED y HINARI entre septiembre de 2020 hasta abril de 2021. Las palabras clave utilizadas para esta revisión fueron: “SARS-CoV-2”, “COVID-19”, “sistema CRISPR”, “CRISPR/Cas”, “diagnósticos” y sus equivalentes en inglés, según el descriptor de Ciencias de la Salud (DeCS). Se consideraron artículos originales y de revisión; se incluyen revisiones sistemáticas. Se revisaron un total de 57 artículos.

**Desarrollo:** Las plataformas en desarrollo que emplean el sistema inmunológico adaptativo CRISPR-Cas como SHERLOCK, STOP-Covid, DETECTR, AIOD-CRISPR, CARMEN, CONAN constituyen herramientas de diagnóstico molecular para la

detección del SARS-CoV-2. Son tecnologías de detección avanzadas que se están validando en entornos clínicos como métodos de diagnóstico rápido y de vigilancia viables para esta infección emergente, por sus amplias capacidades de detección temprana, ser adecuados para un uso de alto rendimiento y tener un bajo costo por prueba.

**Conclusiones:** La expansión de las capacidades de secuenciación de estas plataformas permitirá rastrear el virus SARS-CoV-2 y sus mutaciones en tiempo real, con posibles implicaciones para la eficacia de futuras vacunas y terapias anti COVID-19.

**Palabras clave:** SARS-CoV-2; COVID-19; sistema CRISPR; CRISPR/Cas; diagnósticos; ácido nucleico.

## ABSTRACT

**Introduction:** There is an immediate need to have a diagnostic tool for SARS-CoV-2 in the care centers for patients with COVID-19, whose characteristics show high sensitivity and specificity, low costs and reduced detection times.

**Objective:** To describe the use of CRISPR-Cas systems for the molecular diagnosis of SARS-CoV-2 infection.

**Methods:** The Google Scholar search engine was used and free access articles were consulted in the Pubmed, SciELO, LILACS, CUMED and HINARI databases from September 2020 to April 2021. The keywords used for this review were: "SARS-CoV-2", "COVID-19", "CRISPR system", "CRISPR / Cas", "diagnostics" and their equivalents in English, according to the Health Sciences descriptor (DeCS). Original, review articles, including systematic reviews, were considered. A total of 57 articles were reviewed.

**Development:** The platforms in development that use the adaptive immune system CRISPR-Cas such as SHERLOCK, STOP-Covid, DETECTR, AIOD-CRISPR, CARMEN, CONAN constitute molecular diagnostic tools for the detection of SARS-CoV-2. They are advanced detection technologies that are being validated in clinical settings as viable rapid diagnostic and surveillance methods for this emerging infection because of their extensive early detection capabilities, being suitable for high throughput use, and having a low cost per test.

**Conclusions:** Expanding the sequencing capabilities of these platforms will allow us to track the SARS-CoV-2 virus and its mutations in real time with possible implications for the efficacy of future anti-COVID-19 vaccines and therapies.

**Keywords:** SARS-CoV-2; COVID-19; CRISPR system; CRISPR/Cas; diagnostics; nucleic acid

Recibido: 18/06/2021

Aceptado: 22/07/2021

## Introducción

*“La imaginación es el límite de las aplicaciones CRISPR”*

Lluís Montoliu

La tecnología de edición del genoma CRISPR (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*) ha revolucionado el campo de la biomedicina y biotecnología, y está siendo ampliamente utilizada en la investigación de COVID-19.<sup>(1,2,3)</sup>

En el contexto de la COVID-19, las trascendentales contribuciones basadas en CRISPR se dividen en dos grandes grupos: la detección del virus y el desarrollo de terapias dirigidas a destruir al virus.<sup>(4,5)</sup>

Normalmente, las herramientas CRISPR de edición genética son capaces de editar ADN. Esta es su aplicación más común y se la conoce con el nombre de aplicaciones CRISPR 1.0. Sin embargo, algunas variantes de las herramientas CRISPR pueden también editar ARN, y son conocidas como las aplicaciones CRISPR 2.0.<sup>(6)</sup>

En estos momentos existen dos aproximaciones principales para utilizar las tijeras programables CRISPR en la detección del coronavirus SARS-CoV-2. La base metodológica de ambas tecnologías fue desarrollada para detectar moléculas de ARN y ADN de forma específica. Recientemente, la pandemia de COVID-19 ha impulsado su adaptación a la detección de SARS-CoV-2, una vez se conoció el genoma de este coronavirus.<sup>(7)</sup>

Para la detección rápida y sensible de las secuencias deseadas de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2, se han establecido recientemente plataformas de diagnóstico basadas en CRISPR como SHERLOCK (*Specific High Sensitivity Enzymatic Reporter unLOCKing*),<sup>(8)</sup> STOP-Covid,<sup>(9)</sup> DETECTR (*DNA Endonuclease-Targeted CRISPR Trans Reporter*),<sup>(10)</sup> AIOD-CRISPR,<sup>(11)</sup> CARMEN (*Combinatorial Arrayed Reactions for Multiplexed Evaluation of Nucleic acids*),<sup>(12)</sup> CONAN (*Cas3-Operated Nucleic Acid detection*)<sup>(13)</sup> y otros en desarrollo. Estos constituyen métodos de vigilancia viables para el seguimiento de esta infección letal emergente por sus amplias capacidades de detección, ser adecuados para un uso de alto rendimiento y tener un bajo costo por prueba.

El objetivo de la presente investigación es describir la utilización de los sistemas CRISPR/Cas para el diagnóstico molecular de la infección por SARS-CoV-2.

## Métodos

Se realizó una revisión documental tanto de bibliografía nacional como internacional publicada en los últimos 5 años. Se utilizó el motor de búsqueda Google Académico y se consultaron artículos de libre acceso en las bases de datos Pubmed, SciELO, LILACS, CUMED y HINARI entre septiembre de 2020 hasta abril de 2021. Las palabras clave utilizadas para esta revisión fueron: “SARS-CoV-2”, “COVID-19”, “sistema CRISPR”, “CRISPR/Cas”, “diagnósticos”, “ácidos nucleicos” y sus equivalentes en inglés, según el descriptor de Ciencias de la Salud (DeCS). Se consideraron artículos originales y de revisión; se incluyen revisiones sistemáticas. Fueron seleccionados 57 artículos (5 en idioma español, 52 en inglés).

## Desarrollo

Desde el comienzo de la crisis sanitaria mundial por COVID-19, la comunidad científica ha reorientado sus investigaciones hacia la búsqueda de soluciones frente al coronavirus SARS-CoV-2, particularmente en el ámbito del diagnóstico.<sup>(14)</sup>

El diagnóstico eficaz de SARS-CoV-2 es un requisito previo importante para controlar la pandemia de COVID-19. La OMS propuso los criterios ASSURED (asequible, sensible, específico, fácil de usar, rápido y robusto, sin equipo y entregable a los usuarios finales) para determinar si los métodos de diagnóstico que se utilizan, satisfacen las necesidades de control epidémico.<sup>(15)</sup>

Actualmente, la prueba molecular considerada el estándar de oro en el diagnóstico del coronavirus SARS-CoV-2 es la amplificación del gen N (proteína de la nucleocápsida), mediante una reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa cuantitativa (RT-qPCR). Sin embargo, las tasas excesivas de resultados falsos negativos, la disponibilidad limitada de reactivos y equipos, y los prolongados tiempos de respuesta, han llevado a la búsqueda de métodos alternativos como el CRISPR/Cas para el diagnóstico temprano y preciso del SARS-CoV-2.<sup>(16,17)</sup>

Aunque la RT-qPCR es una prueba serológica rápida y requiere un equipo mínimo, su utilidad puede ser limitada para el diagnóstico de la infección aguda por SARS-

CoV-2, porque pueden pasar varios días o semanas después del inicio de los síntomas para que un paciente genere una respuesta de anticuerpos detectable.

Las ventajas de la tecnología basada en CRISPR/Cas sobre RT-qPCR incluyen: especificidad de un solo objetivo, tiempo de respuesta reducido, costo relativamente bajo, amplificación de señal isotérmica sin necesidad de una configuración de laboratorio compleja e informes de fácil acceso con tiras de flujo lateral.<sup>(18,19)</sup>

La tecnología CRISPR y la variedad de enzimas Cas asociadas a CRISPR proporcionan edición de genomas y detección de ácido nucleico. La identificación del ácido nucleico del SARS-CoV-2 es crucial para confirmar la enfermedad COVID-19.<sup>(20,21)</sup>

Actualmente, se disponen de nuevos métodos que aplican el sistema CRISPR/Cas en el diagnóstico molecular del coronavirus SARS-CoV-2 como: SHERLOCK (*Specific High-sensitivity Enzymatic Reporter Unlocking*),<sup>(22,23)</sup> STOP-Covid,<sup>(24,25)</sup> DETECTR (*DNA Endonuclease-Targeted CRISPR Trans Reporter*),<sup>(26,27)</sup> AIOD-CRISPR,<sup>(28)</sup> CARMEN (*Combinatorial Arrayed Reactions for Multiplexed Evaluation of Nucleic acids*),<sup>(29)</sup> CONAN (*Cas3-Operated Nucleic Acid detection*)<sup>(30)</sup> y otros en desarrollo. Estos detectan los ácidos nucleicos y han mostrado una especificidad y sensibilidad mayor o igual que la RT-qPCR, con un tiempo de detección muy inferior.

El 7 de octubre de 2020, la Real Academia de Ciencias Sueca anunciaba al mundo que las investigadoras *Emmanuelle Charpentier* y *Jennifer Doudna* habían sido galardonadas con el Premio Nobel de Química por el desarrollo de un método de edición genética, en clara referencia a las herramientas CRISPR/Cas.<sup>(31)</sup>

La técnica de edición genética a través del sistema CRISPR/Cas consiste en la programación del sistema molecular CRISPR (en español: repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente interespaciadas) para señalar regiones específicas de ADN y “cortar” las secuencias elegidas. Son casi un comodín que puede usarse en cualquier circunstancia en la que haya material genético de por medio.<sup>(32)</sup>

Esta plataforma de edición genética es conocida principalmente por el uso de proteínas Cas9 para redirigir el sistema CRISPR a un punto específico de ADN y realizar una especie de corte molecular. Lo curioso de este sistema es que no solo existe la variedad Cas9, sino que el CRISPR puede ser complementado con otro tipo de proteínas. Es gracias a esta característica que 2 variedades del CRISPR han podido emplearse para diagnosticar al COVID-19: el CRISPR/Cas13 y el CRISPR/Cas12.<sup>(33)</sup>

El diagnóstico basado en CRISPR/Cas es la mejor elección para desarrollar una detección rápida no basada en laboratorio para el SARS-CoV-2 y otros patógenos relacionados.

Las herramientas CRISPR han sido utilizadas para determinar qué genes son importantes en el desarrollo de la enfermedad e identificar potenciales dianas terapéuticas. Con el avance de la pandemia de COVID-19, diferentes grupos de investigación han abordado su utilización para conocer mejor cómo actúa el virus en las células humanas y desarrollar formas de hacerle frente.<sup>(34)</sup>

Investigadores de la Universidad de *Yale* y el Instituto *Broad* de la Universidad de *Harvard* y el Instituto de Tecnología de *Massachusetts* han utilizado el sistema CRISPR para rastrear qué genes son importantes para la infección de SARS-CoV-2 y otros coronavirus relacionados.

Los investigadores han utilizado células de primate especialmente sensibles a la infección por SARS-CoV-2 y han rastreado, a través de la mutación dirigida mediada por CRISPR, qué genes favorecen o previenen la infección por parte de los virus. A través de esta estrategia, el equipo ha identificado proteínas del hospedador ya conocidas por su participación en la infección por parte de SARS-CoV-2, como el receptor ACE2, o la proteasa Catepsina L.<sup>(35)</sup>

La primera aplicación del sistema CRISPR/Cas en el diagnóstico molecular del coronavirus SARS-CoV-2, fue la implementación del método SHERLOCK (en español: desbloqueo específico del reportero enzimático de alta sensibilidad), desarrollado en el 2017 por el laboratorio de *Feng Zhang* del Instituto Broad-MIT en Boston (EE. UU.).<sup>(36)</sup>

El método SHERLOCK-Covid está basado en la sustitución en la plataforma CRISPR de la nucleasa Cas9 por la Cas 13a, cuya actividad es capaz de cortar RNA (una actividad de RNAsa) en lugar de DNA. La prueba está dirigida a detectar el gen de la proteína S (proteína de pico) que interviene en la entrada del virus a las células humanas, y el gen ORF1ab que codifica una replicasa del virus.<sup>(37)</sup>

Cas13 es único porque exhibe actividad de escisión colateral para virus de ARN monocatenario como el SARS-CoV-2. Debido a esta actividad de escisión trans de ácido nucleico monocatenario, CRISPR se puede combinar con amplificación isotérmica de ácido nucleico para simplificar el método de detección. Permite visualizar el resultado de muestras positivas o negativas a ojo desnudo bajo una luz específica, un lector de placas de fluorescencia o un ensayo de flujo lateral.<sup>(38)</sup>

SHERLOCK es una plataforma de detección rápida, ultrasensible, precisa y de bajo costo que utiliza como elemento efector la enzima Cas13a. Esta tiene como característica principal que al ser activada con la unión del ARN guía al fragmento complementario de ARN (es decir, cuando detecta la presencia del ARN diana), degrada los fragmentos de ARN presentes.<sup>(39)</sup>

El funcionamiento básico de SHERLOCK es simple. En presencia de la secuencia de ARN a detectar, en este caso un fragmento del ARN del coronavirus, el ARN guía se une a su secuencia diana y activa a la enzima Cas13, que comienza a degradar el ARN presente en la reacción. Para detectar si el ARN del virus está

presente y se produce la degradación de ARN, los investigadores incluyen en la reacción unos pequeños fragmentos de ARN marcados, que al ser degradados emiten una señal que puede ser detectada mediante fluorescencia o reacción colorimétrica.<sup>(40)</sup>

En mayo del 2020 *Sherlock Biosciences* (Cambridge, MA, EE. UU.) recibió la autorización de uso en emergencias de la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) para su kit Sherlock™ CRISPR SARS-CoV-2, para la detección del virus que causa la COVID-19, proporcionando resultados en aproximadamente una hora.<sup>(41)</sup>

El kit de análisis Sherlock™ CRISPR SARS-CoV-2 kit fue diseñado para uso en laboratorios con certificación CLIA (*Clinical Laboratory Improvement Amendments*) para realizar pruebas de alta complejidad. Basado en el método SHERLOCK, el kit funciona mediante la programación de una molécula CRISPR para detectar la presencia de una firma genética específica, en este caso, la firma genética para el SARS-CoV-2, en un hisopo nasal, hisopo nasofaríngeo, hisopo orofaríngeo o muestra de lavado broncoalveolar. Cuando se encuentra la firma, la enzima CRISPR se activa y libera una señal detectable.<sup>(42)</sup>

Tras la caracterización del genoma de SARS-CoV-2 los investigadores adaptaron SHERLOCK para poder detectar el coronavirus en aproximadamente una hora. El protocolo utiliza 25 min para amplificar los ácidos nucleicos extraídos de la muestra, 30 min de incubación con los elementos de CRISPR y los ARNs con la sonda fluorescente y 2 min de incubación para obtener la lectura visual de la reacción.

Si se utiliza un *kit* comercial, estas secuencias son sometidas a una reacción de amplificación isotérmica combinada de una recombinasa y polimerasa (LAMP-RPA). La presencia en la reacción de una transcriptasa inversa genera el DNA complementario (cDNA) correspondiente, que será utilizado, en la misma reacción, para su transcripción *in vitro* produciendo el RNA viral blanco que será reconocido por los RNAs guías (gRNA) específicos y a su vez produce la activación de la nucleasa Cas 13a. La enzima activada es capaz de cortar cualquier RNA presente en la reacción. La detección específica de la secuencia blanco del SARS-CoV-2, se lleva a cabo mediante métodos fluorescentes producto de la degradación de pequeños RNA reporteros incluidos en la reacción y portadores de un fluorosforo cuya emisión de fluorescencia está asociada a la actividad de la Cas 13a. De no estar presente la secuencia blanco diagnóstico específico, no es posible la activación de Cas 13a por lo tanto la reacción será negativa. El ensayo puede completarse en aproximadamente 1 h, no necesita termociclador y muestra una sensibilidad del orden de 10-100 moléculas del coronavirus/microlitro. El ensayo ha sido validado utilizando muestras de personas negativas para el SARS-CoV-2, o que tenían una enfermedad respiratoria distinta de COVID-19.<sup>(43)</sup>

Tras el sistema SHERLOCK aparecieron dos métodos mejorados de diagnóstico genético mediante CRISPR, desarrollados por los laboratorios de *Feng Zhang* (SHERLOCKv2)<sup>(44)</sup> y *Jennifer Doudna* (DETECTR).<sup>(45)</sup>

En paralelo, el laboratorio de *Feng Zhang* respondió combinando hasta cuatro proteínas Cas con actividades RNasa (Cas13b de dos bacterias distintas, Cas13a y Cas12a) para detectar hasta cuatro moléculas de ADN (o ARN) distintas, en un desarrollo tecnológico que denominó como SHERLOCK versión 2 (SHERLOCKv2).

En mayo del 2020, *Feng Zhang* hace público un nuevo método de diagnóstico optimizado y simplificado el STOP-Covid, derivado de SHERLOCK, aplicable para detectar directamente el coronavirus SARS-CoV-2, sin mediar extracción o aislamiento de ARN, que apenas requiere de 40-70 min para obtenerse el resultado, tras una incubación a 60 grados.<sup>(46)</sup>

El STOP-Covid es un ensayo optimizado que combina la extracción simplificada de ARN viral con amplificación isotérmica mediada por bucle y detección mediada por CRISPR-Cas12b. A diferencia de SHERLOCK, proporciona sensibilidad sin requerir un proceso de amplificación de ácido nucleico de varios pasos, incluidos los pasos de manipulación de fluidos, lo que permite su implementación fuera de los laboratorios clínicos y no afecta la cuantificación precisa del objetivo.<sup>(47)</sup>

El nuevo método es una técnica diagnóstica para detectar el genoma del virus de forma mucho más rápida y simple que mediante RT-qPCR. El límite de detección de este método es de unas 100 copias del ARN del coronavirus por reacción.

La segunda tecnología de detección del coronavirus SARS-CoV-2 basada en CRISPR es el ensayo de flujo lateral DETECTR (pronunciado en inglés como “detector” de coronavirus). Esta fue desarrollada inicialmente en el laboratorio de *Jennifer Doudna* de la Universidad de California en Berkeley.<sup>(48)</sup>

El sistema de diagnóstico DETECTR es un poco más complejo, pues para poder aplicarlo en la detección de coronavirus, cuyo genoma es una molécula de ARN, lo primero que hay que hacer es convertirlo a ADN mediante un ciclo de transcriptasa inversa. Una vez ya en formato ADN, el genoma del virus puede ser detectado con su guía de ARN correspondiente y, tras la activación específica de la nucleasa Cas12a, se produce la respuesta inespecífica que origina luz u otra reacción química fácilmente detectable.

El sistema DETECTR original estaba diseñado para detectar únicamente ADN. La enzima seleccionada para aportar función, Cas12a, es una nucleasa que corta ADN y que, de forma similar a Cas13a, al ser activada, corta otras moléculas de ADN cercanas. La detección se visualiza si se sigue el mismo mecanismo que en SHERLOCK, pero con ADN. Se utilizan moléculas de ADN de cadena sencilla marcadas para liberar una señal fluorescente que también puede ser detectada mediante color en una tira de papel.<sup>(49)</sup>

Un equipo de investigadores de la Universidad de California, San Francisco y la empresa *Mammoth Biosciences*, de la que es cofundadora *Jennifer Doudna*, ha adaptado DETECTR para detectar SARS-CoV-2 mediante Cas12a. En este caso, al tratarse de un virus de ARN, tras realizar la extracción de ARN de la muestra se realiza un paso previo en el que el ARN de la muestra se copia a ADN y se amplifica. Los genes del virus que se detectan son el gen N (que codifica la proteína N de la nucleocápside que compacta el ARN vírico) y el gen E (que codifica para una proteína de la envoltura del virus).

El método DETECTR es 90 % sensible y 100 % específico para identificar el nuevo coronavirus en hisopos respiratorios, y es económico porque no requiere instrumentación de laboratorio costosa.<sup>(50)</sup>

La plataforma de detección de SARS-CoV-2 DETECTR ha sido validada en muestras clínicas de pacientes con diferentes infecciones virales, incluida la COVID-19. No obstante, todavía no ha sido aprobada su utilización en diagnóstico clínico por la FDA.

Una de las ventajas de SHERLOCK y DETECTR es que pueden ser utilizados en cualquier laboratorio equipado con instrumental básico. Además, ambos métodos utilizan reactivos diferentes a los de las pruebas basadas en PCR, por lo que representan una alternativa a tener en cuenta cuando hay problemas de disponibilidad de los reactivos necesarios para estas pruebas, lo que ya ocurre en algunos laboratorios. La principal limitación de momento es que su sensibilidad es todavía menor a la de las pruebas basadas en PCR.

SHERLOCK y DETECTR no son los únicos métodos que utilizan CRISPR para detectar el coronavirus. Otros investigadores han utilizado estrategias similares.

El ensayo SHERLOCK como DETECTR tienen varias ventajas respecto al ensayo de RT-qPCR para la detección de SARS-CoV-2, entre ellas se tienen:

- Sensibilidad comparable con la prueba estándar RT-qPCR.
- Menor tiempo del ensayo y obtención de resultados económicos, ya que no requieren de termociclador.
- Ambos métodos han sido validados en muestras clínicas con resultados prometedores.

De cualquier manera, estos métodos innovadores de diagnóstico de la presencia del genoma ARN del coronavirus mediante SHERLOCK o DETECTR representan la punta de lanza biotecnológica de los diagnósticos genéticos basados en CRISPR. Seguramente serán la respuesta que se necesita para poder detectar este virus de forma masiva, rápida y sencilla.

Recientemente, *Ding* y otros<sup>(51)</sup> realizaron un método de ensayo todo en uno dual CRISPR-Cas12a, denominado AIOD-CRISPR, para identificar el SARS-CoV-2, diseñado para llevar a cabo todos los pasos de las reacciones necesarias en un tubo único. El artículo señala que el trabajo no ha sido revisado por expertos y

sus resultados son preliminares. Mientras el artículo sigue los cauces habituales de revisión, sus creadores ya han manifestado que su objetivo a corto plazo es integrar AIOD-CRISPR en un chip de diagnóstico para desarrollar una plataforma rápida y asequible de diagnóstico. AIOD-CRISPR, diseñado en la Universidad de Connecticut, utiliza Cas12a y dos ARNs guía para aumentar su especificidad. Además, también utiliza amplificación isoterma y todo el proceso puede realizarse a 37 °C. Las reacciones positivas de la prueba se detectan mediante fluorescencia.

El ensayo AIOD-CRISPR emplea un sistema de reacción único completo por lo que puede ser un método de detección de ácido nucleico isotérmico sensorial rápido, potente, ultraspecífico, versátil y casi de una sola molécula.

La investigadora *Jennifer Doudna*, junto a otros colaboradores, ha diseñado un nuevo método de diagnóstico genético de la COVID-19, para detectar la presencia del coronavirus SARS-CoV-2. Este se encuentra basado en la proteína Cas13a que no requiere amplificación previa y que detecta la fluorescencia de moléculas de ARN indicadoras al añadir directamente una guía ARN complementaria a uno de los genes del virus. Con una sola guía, el método consigue detectar hasta 100 000 copias del virus/microlitro, lo cual es una carga viral importante, y por lo tanto el método no sería muy sensible. Sin embargo, combinando el uso de dos guías ARN se consigue llegar a 100 copias del virus/microlitro, lo cual es una sensibilidad similar a los otros métodos basados en SHERLOCK y DETECTR, que sí tienen su fase de amplificación. La diferencia en este caso es que la respuesta se obtiene en 5 min. Esta es la novedad y la innovación de este nuevo método, que puede revolucionar la detección del coronavirus en múltiples sitios, sin requerir equipamiento sofisticado. De momento no está aprobado por la FDA.<sup>(52)</sup>

Otra tecnología CRISPR para la detección del coronavirus SARS-CoV-2 (y de muchos otros virus) se llama CARMEN (*Combinatorial Arrayed Reactions for Multiplexed Evaluation of Nucleic acids*), propuesto por dos equipos del instituto BROAD en Boston (EE. UU.). Estos han decidido combinar SHERLOCK con una plataforma de análisis de alta capacidad basada en la tecnología de microfluidos (nanogotas) en un chip que consigue realizar miles de reacciones de detección simultáneas.<sup>(53)</sup>

Para detectar ácidos nucleicos específicos utilizando CARMEN, el proceso comienza con la amplificación de ácidos nucleicos virales objetivo (si están presentes) en un espécimen mediante métodos como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o la amplificación por recombinasa y polimerasa (RPA). El ácido nucleico amplificado puede ser el producto de una reacción de amplificación específica dirigida a una sola secuencia viral, o puede ser el producto de reacciones combinadas utilizadas para amplificar potencialmente una gama de diferentes secuencias virales. La muestra de ARN amplificado recibe un código de color único mediante el uso de cuatro tintes fluorescentes mezclados en una

proporción que confiere una de las 1050 combinaciones de color posibles. A continuación, se añade aceite para generar gotas de un nanolitro emulsionadas. Cada mezcla de detección estaba compuesta por un ARN reportero unido a un fluoróforo apagado y por Cas13 unido a un ARN guía necesario para detectar un objetivo viral.<sup>(54)</sup>

La versatilidad del nuevo sistema de reacciones combinadas en matriz para la evaluación multiplexada de ácidos nucleicos CARMEN permite desde detectar la presencia de centenares de virus distintos en diversos pacientes, a la vez, hasta diagnosticar la presencia del coronavirus causante de la COVID-19 en más de mil muestras clínicas, simultáneamente.

La combinación de detección CARMEN y Cas13 (CARMEN - Cas13) permite realizar pruebas sólidas de más de 4500 pares de crRNA-objetivo en una única matriz. CARMEN - Cas13 es sensible, específico y estadísticamente sólido. La plataforma de detección de ácidos nucleicos altamente multiplexados CARMEN - Cas13 detecta secuencias de SARS-CoV-2 con sensibilidad atómolar, aprovechando la actividad de escisión colateral de CRISPR/Cas13 para igualar la sensibilidad del desbloqueo de reportero enzimático de alta sensibilidad específico (SHERLOCK) y los ensayos basados en PCR.

CARMEN - Cas13 aumenta las tecnologías de detección de ácido nucleico basadas en CRISPR, incrementa el rendimiento, disminuye el consumo de reactivos y muestras por prueba y permite la detección en un rango dinámico más amplio.<sup>(55)</sup>

Un equipo de investigadores japoneses también han propuesto el sistema CONAN (*Cas3-Operated Nucleic Acid detection*). En este utilizan la proteína CRISPR-Cas3 (de clase I, de la bacteria *Escherichia coli*) con una actividad y comportamiento inespecífico tras encontrar la secuencia complementaria similar a Cas12a, para detectar la presencia del coronavirus SARS-CoV-2, causante de la COVID-19.<sup>(56,57)</sup>

La detección rápida y específica del ácido nucleico del SARS-CoV-2 sigue siendo un desafío para los proveedores de atención médica. La detección del SARS-CoV-2 mediada por el sistema CRISPR/Cas representa una plataforma prometedora para el desarrollo de diagnósticos moleculares de próxima generación de COVID-19 en el punto de atención. Tiene el potencial de desempeñar un papel crucial en las medidas efectivas de prueba, rastreo y aislamiento para contener la COVID-19.

Si bien el CRISPR/Cas es un sistema tecnológico en desarrollo, los avances en sus múltiples variedades y las viables soluciones contra el SARS-CoV-2 que de ellos se derivan, recuerdan la importancia de que se profundice en sus estudios. Los métodos de detección basados en CRISPR/Cas tienen el potencial de volverse más simples, más confiables, más asequibles y más rápidos en un futuro cercano, lo cual es muy importante para lograr diagnósticos en el punto de atención.

## Aporte científico

La versatilidad de los sistemas CRISPR/Cas ha hecho posible su utilización en múltiples ámbitos de la investigación sobre la COVID-19, como son el desarrollo de sistemas de detección rápida del virus, la creación de modelos animales para investigar cómo actúa en los organismos o el diseño de estrategias para destruirlo.

## Referencias bibliográficas

1. Palaz F, Kerem Kalkan A, Tozluyurt A, Ozsoz M. CRISPR-based tools: Alternative methods for the diagnosis of COVID-19. Clin Biochem. 2021 [acceso: 03/03/2021];89:1-13. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7796800/>
2. Rahman R, Hossain A, Mozibulla A, Al Mujib F, Afrose A, Al-Mahmud S, et al. CRISPR is a useful biological tool for detecting nucleic acid of SARS-CoV-2 in human clinical samples. Biomed Pharmacother. 2021 [acceso: 06/03/2021];140:[aprox. 15 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8156908/>
3. Safari F, Afarid M, Rastegari B, Borhani-Haghighi A, Barekati-Mowahed M, Behzad-Behbahani A. CRISPR systems: Novel approaches for detection and combating COVID-19. Virus Res. 2021 [acceso: 03/03/2021];294:[aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7832022/>
4. Montoliu LL. Coronavirus: utilizan la técnica Crispr contra el corazón del Covid-19. CSIC probará las 'tijeras' programables de edición genética para cortar el genoma ARN del SARS-Cov-2. Redacción Médica. 2020 [acceso: 05/03/2021]:[aprox. 15 pant.]. Disponible en: <https://www.redaccionmedica.com/secciones/sanidad-hoy/coronavirus-crispr-cura-covid-19-6411>
5. Carter LJ, Garner LV, Smoot JW, Li Y, Zhou Q, Saveson CJ, et al. Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis. ACS Cent. Sci. 2020 [acceso: 06/04/2021];6:591-613. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acscentsci.0c00501>
6. Islam KU, Iqbal J. An Update on Molecular Diagnostics for COVID-19. Front Cell Infect Microbiol. 2020 [acceso: 12/03/2021];10:[aprox. 10 pant.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7683783/>
7. Martín J, Tena N, Asuero AG. Current state of diagnostic, screening and surveillance testing methods for COVID-19 from an analytical chemistry point of view. Microchem J. 2021 [acceso: 04/04/2021];167:[aprox. 15 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8054532/>

8. Mendoza-León A. Diagnóstico molecular del Coronavirus SARS-CoV-2. El método SHERLOCK. PIEL Latinoamericana. 2020 [acceso: 06/04/2021]:[aprox. 05 p.]. Disponible en: <https://piel-l.org/blog/48452>
9. Joung J, Ladha A, Saito M, Kim NG, Woolley AE, Segel M, et al. Detection of SARS-CoV-2 with SHERLOCK One-Pot Testing. N Engl J Med. 2020 [acceso: 07/03/2021];383(15):1492-4. Disponible en: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc2026172>
10. Mustafa MI, Makhawi AM. SHERLOCK and DETECTR: CRISPR-Cas Systems as Potential Rapid Diagnostic Tools for Emerging Infectious Diseases. J Clin Microbiol. 2021 [acceso: 07/03/2021];59(3):[aprox. 15 p.]. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/pdf/10.1128/JCM.00745-20>
11. Dara M, Talebzadeh M. CRISPR/Cas as a Potential Diagnosis Technique for COVID-19. Avicenna Journal of Medical Biotechnology. 2020 [acceso: 08/03/2021]; 12 (3):1-2. Disponible en: [https://www.ajmb.org/pdf/en/fulltext/30433.pdf\\_sherlock](https://www.ajmb.org/pdf/en/fulltext/30433.pdf_sherlock)
12. Ackerman CM, Myhrvold C, Gowtham Thakku S , Freije CA, Metsky HC, Yang DK, et al. Massively multiplexed nucleic acid detection with Cas13. Nature. 2020 [acceso: 13/04/2021];582(7811):277-82. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/32349121/>
13. Yoshimi K, Takeshita K , Yamayoshi S, Shibumura S, Yamauchi Y, Yamamoto M, et al. Rapid and accurate detection of novel coronavirus SARS-CoV-2 using CRISPR-Cas3. medRxiv preprint. 2020 [acceso: 06/03/2021]. Disponible en: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.06.02.20119875v1.full.pdf>
14. Tombuloglu H, Sabit H, Al-Suhaimi E, Al Jindan R, Alkharsah KR. Development of multiplex real-time RT-PCR assay for the detection of SARS-CoV-2. PLoS ONE. 2021 [acceso: 03/03/2021];16(4):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0250942>
15. Shihong Gao D, Zhu X , Lu B. Development and application of sensitive, specific, and rapid CRISPR-Cas13-based diagnosis. J Med Virol. 2021 [acceso: 11/04/2021]; 93(7):4198-204. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8014745/>
16. Hart Casares M. Diagnóstico microbiológico de SARS-CoV 2. Rev Cubana Med. 2020 [acceso: 17/03/2021];59(2):[aprox. 12 p.]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75232020000200006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232020000200006)
17. Williams E, Bond K, Zhang B, Putland M, Williamson DA. Saliva as a Noninvasive Specimen for Detection of SARS-CoV-2. J Clin Microbiol. 2020 [acceso: 19/04/2021]; 58(8):776-20. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7383524/>
18. Wang Y , Zhang Y , Chen J , Wang M, Zhang T , Luo W, et al. Detection of SARS-CoV-2 and Its Mutated Variants via CRISPR-Cas13-Based Transcription Amplification. Anal Chem. 2021 [acceso: 16/04/2021];93(7):3393-402. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7860141/>

19. Nouri R, Tang Z, Dong M, Liu T, Kshirsagar A, Guan W. CRISPR-based detection of SARS-CoV-2: A review from sample to result. *Biosens Bioelectron.* 2021 [acceso: 13/04/2021];178:[aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7826142/>
20. Lotfi M, Rezaei N. CRISPR/Cas13: A potential therapeutic option of COVID-19. *Biomed Pharmacother.* 2020 [acceso: 05/04/2021];131:[aprox. 11 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7498250/>
21. Kumar P, Singh Malik Y, Ganesh B, Rahangdale S, Saurabh S, Natesan S, et al. CRISPR-Cas System: An Approach With Potentials for COVID-19 Diagnosis and Therapeutics. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020 [acceso: 17/04/2021];10:[aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7673385/>
22. Xiong D, Dai W, Gong J, Li G, Liu N, Wu W, et al. Rapid detection of SARS-CoV-2 with CRISPR-Cas12a. *PLoS Biol* 2020 [acceso: 06/04/2021];18(12):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.3000978>
23. Vatankhah M, Azizi A, Sanajouyan Langeroudi A, Ataei Azimi S, Khorsand I, Amin Kerachian M, et al. CRISPR-based biosensing systems: a way to rapidly diagnose COVID-19. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2021 [acceso: 02/03/2021];58(4):225-41. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408363.2020.1849010>
24. Straiton J. CRISPR vs COVID-19: how can gene editing help beat a virus? *BioTechniques.* 2020 [acceso: 16/03/2021];69(5):[aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://www.future-science.com/doi/10.2144/btn-2020-0145>
25. Bergeret M. CRISPR: The Future of Molecular Diagnostics? CRISPR-Cas systems can improve the speed, sensitivity, and specificity of diagnostic tests, but are they ready for prime time? *CLINICAL LAB MANAGER.* 2021 [acceso: 16/03/2021]:[aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://www.clinicallabmanager.com/technology/crispr-the-future-of-molecular-diagnostics-25264>
26. Brandsma E, Verhagen HJMP, van de Laar TJW, Claas ECJ, Cornelissen M, van den Akker E. Rapid, Sensitive, and Specific Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Detection: A Multicenter Comparison Between Standard Quantitative Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction and CRISPR-Based DETECTR. *J Infect Dis.* 2021 [acceso: 16/04/2021];223(Issue 2):206-13. Disponible en: <https://academic.oup.com/jid/article/223/2/206/5920647>
27. Sun Y, Yu L, Liu CH, Ye S, Chen W, Li D, et al. One-tube SARS-CoV-2 detection platform based on RT-RPA and CRISPR/Cas12a. *J Transl Med.* 2021 [acceso: 04/03/2021];19(1):74. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/33593370/>
28. Song Q, Sun X, Dai Z, Gao Y, Gong X, Zhou B, et al. Point-of-care testing detection methods for COVID-19. *Lab on a Chip.* 2021 [acceso: 03/03/2021];Issue

- 9:[aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2021/lc/d0lc01156h#!divAbstract>
29. Storch GA. Detección de virus, más allá de CRISPR. Nature. 2020 [acceso: 06/04/2021];582(7811):188-9. Disponible en: <https://www.savlnet.cl/cienciaymedicina/progresosmedicos/deteccion-de-virus-mas-alla-de-crispr.html>
30. Jayamohan H, Lambert CJ, Sant HJ, Jafek A, Patel D, Feng H, et al. SARS-CoV-2 pandemic: a review of molecular diagnostic tools including sample collection and commercial response with associated advantages and limitations. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2021 [acceso: 08/03/2021];413:49-71. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00216-020-02958-1.pdf>
31. Benzigar MR, Bhattacharjee R, Baharfar M, Liu G. Current methods for diagnosis of human coronaviruses: pros and cons. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2021 [acceso: 03/03/2021];413:2311-30. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00216-020-03046-0.pdf>
32. Jalandra R, Yadav AK, Verma D, Dalal N, Sharma M, Singh R. Strategies and perspectives to develop SARS-CoV-2 detection methods and diagnostics. Biomed Pharmacother. 2020 [acceso: 05/03/2021];129: [aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7303646/>
33. Broughton JP, Deng X, Yu G, Fasching CL, Servellita V, Singh J, et al. CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2. Nature Biotechnol. 2020 [acceso: 11/03/2021];38(7):870-4. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41587-020-0513-4.pdf>
34. Shaffaf T, Ghafar-Zadeh E. COVID-19 Diagnostic Strategies. Part I: Nucleic Acid-Based Technologies. Bioengineering 2021 [acceso: 06/04/2021];8(4):[aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2306-5354/8/4/49/html>
35. Jannat Oishee M, Ali T, Jahan N, Saif Khandker S, Ahsanul Haq M, Ullah Khondoker M, et al. COVID-19 Pandemic: Review of Contemporary and Forthcoming Detection Tools. Infect Drug Resist. 2021[acceso: 07/03/2021];14:1049-82. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7982560/>
36. Zhang F, Abudayyeh OO, Gootenberg JS. A protocol for detection of COVID-19 using CRISPR diagnostics. 2020 [acceso: 06/04/2021]: 1-8. Disponible en: [https://www.broadinstitute.org/files/publications/special/COVID-19%20detection%20\(updated\).pdf](https://www.broadinstitute.org/files/publications/special/COVID-19%20detection%20(updated).pdf)
37. Lall S. SHERLOCK-based one-step test provides rapid and sensitive Covid-19 detection. MIT News. 2020 [acceso: 14/03/2021]. [aprox. 10 pant.]. Disponible en: <https://news.mit.edu/2020/sherlock-based-one-step-test-provides-rapid-sensitive-covid-19-detection-0505>
38. Dhanda R. COVID, CRISPR, and a Commitment to Global Health: An Interview with Sherlock Bio's Rahul Dhanda. Genetic Engineering and Biotechnology News.

- 2021 [acceso: 13/03/2021]. Disponible en: <https://www.genengnews.com/insights/covid-crispr-and-a-commitment-to-global-health-an-interview-with-sherlock-bios-rahul-dhanda/>
39. Joung J, Ladha A, Saito M, Segel M, Bruneau R, Huang MW, et al. Point-of-care testing for COVID-19 using SHERLOCK diagnostics. medRxiv. Preprint. 2020 [acceso: 06/04/2021]:[aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7273289/>
40. Sherlock Biosciences. Instructions for Use SHERLOCK™ CRISPR SARS-CoV-2 kit. For Emergency Use Authorization (EUA) only. 2021 [acceso: 03/03/2021]:[aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://www.fda.gov/media/137746/download>
41. Zhang W, Liu K, Zhang P, Cheng W, Li L, Zhang F, et al. CRISPR-Based Approaches for Efficient and Accurate Detection of SARS-CoV-2. Lab Med. 2021 [acceso: 08/04/2021];52(2):116-121. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/33316059/>
42. Pacheco Morffi PM, Pacheco González JD, Hernández Millán AB, Cázares de León F. Consideraciones sobre el diagnóstico de COVID-19 y el papel del diagnóstico salival. Revista ADM 2020 [acceso: 16/04/2021];77(4):191-6. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2020/od204c.pdf>
43. Konwarh R. Can CRISPR/Cas Technology Be a Felicitous Stratagem Against the COVID-19 Fiasco? Prospects and Hitches. Front. Mol. Biosci. 2020 [acceso: 06/04/2021]:[aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2020.557377/full>
44. Freije CA, Sabeti PC. Detect and destroy: CRISPR-based technologies for the response against viruses. Cell Host & Microbe. 2021 [acceso: 06/04/2021];29(5):689-703. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8080417/>
45. Biosciences S. Sherlock Biosciences announces clinical data from study of Sherlock CRISPR SARS-CoV-2 Kit. BUSINESS WIRE. 2020 [acceso: 03/03/2021]:[aprox. 10 p.]. Disponible en: <https://www.businesswire.com/news/home/20200901005358/en/Sherlock-Biosciences-Announces-Clinical-Data-from-Dartmouth-Hitchcock-Health%E2%80%99s-Pilot-Study-of-Sherlock%E2%84%A2-CRISPR-SARS-CoV-2-Kit>
46. Moehling TJ, Choi G, Dugan LC, Salit M, Meagher RJ. LAMP Diagnostics at the Point-of-Care: Emerging Trends and Perspectives for the Developer Community. Expert Rev Mol Diagn. 2021 [acceso: 13/04/2021];21(1):43-61. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14737159.2021.1873769>
47. Patchsung M, Jantarug K, Pattama A, Aphicho K, Suraritdechachai S, Meesawat P, et al. Clinical validation of a Cas13-based assay for the detection of SARS-CoV-2 RNA. Nature Biomedical Engineering. 2020 [acceso: 03/03/2021];4:1140-9. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41551-020-00603-x>
48. Sethuraman N, Stanleyraj Jeremiah S, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. JAMA. 2020 [acceso: 17/04/2021];323(22):2249-51. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2765837>

49. Rahimi H, Salehiabar M, Barsbay M, Ghaffarlou M, Kavetsky T, Sharafi A, et al. CRISPR Systems for COVID-19 Diagnosis. ACS Sens. 2021 [acceso: 18/03/2021]: [aprox. 09 p.]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7860143/>
50. Olena A. Toward COVID-19 Testing Any Time, Anywhere. News & Opinion. 2020 [acceso: 17/03/2021]: [aprox. 08 p.]. Disponible en: <https://www.the-scientist.com/news-opinion/toward-covid-19-testing-any-time-anywhere-67906>
51. Ding X, Yin K, Li Z, Lalla RV, Ballesteros E, Sfeir MM, et al. Ultrasensitive and visual detection of SARS-CoV-2 using all-in-one dual CRISPR-Cas12a assay. Nature Communications. 2020 [acceso: 13/04/2021];11(4711): [aprox. 15 p.]. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-18575-6.pdf>
52. Zhan Y, Li XP, Yin JY. COVID-19 one year later: a retrospect of CRISPR-Cas system in combating COVID-19. Int J Biol Sci. 2021 [acceso: 08/04/2021];17(8):2080-8. Disponible en: <https://www.ijbs.com/v17p2080.htm>
53. Zhang Y, Tanner NA. Development of multiplexed reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification for detection of SARS-CoV-2 and influenza viral RNA. BioTechniques. 2021 [acceso: 16/04/2021];70:167-74. Disponible en: <https://www.future-science.com/doi/pdf/10.2144/btn-2020-0157>
54. Kragh Jakobsen R. Massive CRISPR-Cas13 surveillance chip to fight COVID19 and future pandemics. Crispr Medicine News.2020 [acceso: 16/04/2021]: [aprox. 5 p.]. Disponible en: <https://crisprmedicineneeds.com/news/massive-crispr-cas13-surveillance-chip-to-fight-covid19-and-future-pandemics/>
55. Kumar M, Gulati S, Hussain Ansari A, Phutela R, Acharya S, Kathpalia P, et al. RAY: CRISPR diagnostic for rapid and accurate detection of SARS-CoV2 variants on a paper strip. medRxiv. 2021 [acceso: 17/03/2021]: [aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.02.01.21250900v1.full>
56. Yoshimi K, Takeshita K, Yamayoshi S, Shibumura S, Yamauchi Y, Yamamoto M, et al. Development of an accurate and rapid diagnostic method for COVID-19 using CRISPR-Cas3. medRxiv. 2020 [acceso: 17/03/2021]:1-5. Disponible en: <https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/content/000002986.pdf>
57. Rasmi Y, Li X, Khan J, Ozer T, Ru Choi J. Emerging point-of-care biosensors for rapid diagnosis of COVID-19: current progress, challenges, and future prospects. Anal Bioanal Chem. 2021 [acceso: 17/03/2021]: [aprox. 12 p.]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-021-03377-6>

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

### Contribuciones de los autores

*José Miguel Rodríguez Perón*: Concepción y diseño del artículo, revisión bibliográfica, análisis de la información obtenida, redacción del borrador y del informe final.

*Mario Miguel Rodríguez Izquierdo*: Concepción y diseño del artículo, revisión bibliográfica, análisis de la información obtenida, redacción del borrador y del informe final.