



Title Paper/Título del artículo:

Estrategia para la reactivación del turismo en México; evidencia del uso de pools de saliva para la detección de COVID-19 en un complejo turístico.

Strategy for the reactivation of tourism in Mexico; Evidence of the use of saliva pools for the detection of COVID-19 in a tourist resort.

Authors/Autores: Bueno-Duran, A. Y., Barrón-Arreola, K. S., Benitez-Trinidad, A. B., Ventura-Ramon, G. H., Toledo-Ibarra, G. A., Covantes-Rosales, C. E., Navidad-Murrieta, M. S., Zambrano-Soria, M., Razura-Carmona, F. F., Ojeda-Duran, A. J., Barcelos-Garcia, R. G., Vazquez-Pulido, E. Y., Mercado-Salgado, U., Ezquivel- Esparza, Z. E., Girón-Pérez, D. A.

ID: e1256

DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.09.e1256>

Received/Fecha de recepción: June 06th 2022

Accepted /Fecha de aceptación: May 28th 2022

Available online/Fecha de publicación: June 13th 2022

Please cite this article as/Como citar este artículo: Bueno-Duran, A. Y., Barrón-Arreola, K. S., Benitez-Trinidad, A. B., Ventura-Ramon, G. H., Toledo-Ibarra, G. A., Covantes-Rosales, C. E., Navidad-Murrieta, M. S., Zambrano-Soria, M., Razura-Carmona, F. F., Ojeda-Duran, A. J., Barcelos-Garcia, R. G., Vazquez-Pulido, E. Y., Mercado-Salgado, U., Ezquivel- Esparza, Z. E., Girón-Pérez, D. A. (2022). Strategy for the reactivation of tourism in Mexico; Evidence of the use of saliva pools for the detection of COVID-19 in a tourist resort. *Revista Bio Ciencias* 9, e1256. <https://doi.org/10.15741/revbio.09.e1256>

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

Este archivo PDF es un manuscrito no editado que ha sido aceptado para publicación. Esto es parte de un servicio de *Revista Bio Ciencias* para proveer a los autores de una versión rápida del manuscrito. Sin embargo, el manuscrito ingresará a proceso de edición y corrección de estilo antes de publicar la versión final. Por favor note que la versión actual puede contener errores de forma.

Estrategia para la reactivación del turismo en México; evidencia del uso de pools de saliva para la detección de COVID-19 en un complejo turístico

Strategy for the reactivation of tourism in Mexico; Evidence of the use of saliva pools for the detection of COVID-19 in a tourist resort.

Bueno-Duran, A. Y.¹, Barrón-Arreola, K. S.², Benitez-Trinidad, A. B.¹ Ventura-Ramon, G. H.¹ Toledo-Ibarra, G. A.¹ Covantes-Rosales, C. E.¹ Navidad-Murrieta, M. S.¹ Zambrano-Soria, M.¹ Razura-Carmona, F. F.¹ Ojeda-Duran, A. J¹, Barcelos-Garcia, R. G.¹ Vazquez-Pulido, E. Y.¹ Mercado-Salgado, U.¹ Ezquivel-Esparza, Z. E.¹ Girón-Pérez, D. A.^{1*}

¹Universidad Autónoma De Nayarit, Laboratorio Nacional De Investigación Para La Inocuidad Alimentaria (Laniia)-unidad Nayarit, Calle Tres S/n. Colonia. Cd. Industrial. Tepic, Nayarit, México

²Unidad Académica de Economía, Universidad Autónoma de Nayarit, Tepic, México

**Corresponding autor.* Daniel Alberto Girón-Pérez. Universidad Autónoma De Nayarit, Laboratorio Nacional De Investigación Para La Inocuidad Alimentaria (Laniia)-unidad Nayarit, Calle Tres S/n. Colonia. Cd. Industrial. Tepic, Nayarit, México.

RESUMEN

La pandemia ha causado una disminución en la actividad turística afectado económicamente esta industria, en este sentido, se han planteado diferentes propuestas para reactivar esta actividad. Este artículo tiene como objetivo ofrecer una metodología para el monitoreo masivo de sujetos clínicamente sanos, incluyendo también portadores asintomáticos de SARS-CoV-2, que viajaron a un complejo turístico. El protocolo de monitoreo consiste en coleccionar muestra individual de saliva (n=120) y formar pools de 10 personas. Se analizaron un total de 12 pools, mediante RT-PCR ("Real-Time Polimerase Chain Reaction"). Los resultados mostraron que todas las muestras analizadas fueron negativas, esto indica que ningún individuo estaba infectado por SARS-CoV-2 antes y después del viaje.

El protocolo molecular propuesto permite evaluar masivamente gran cantidad de muestras de saliva y detectar individualmente infectados (negativos o positivos), esto con el fin de promover activación de la industria turística.

PALABRAS CLAVES: Resorts, SARS-CoV-2, RT-PCR, Saliva, Pools

Introducción

Datos obtenidos de la “Data Fromm te Untad Natíos Word Turismo Organización” (UNWTO) indican que el turismo antes de la pandemia del COVID-19 presentaba más de 1.5 billones de viajeros a nivel mundial, lo cuales generaban millones de empleos directos. El turismo es el tercer sector económico más importante en términos de exportación, representando cerca de 1.7 trillones de dólares, haciendo de esto uno de los sectores de más rápido crecimiento en las economías avanzadas y emergentes. Sin embargo; la UNWTO estima que entre enero y octubre del 2020, disminuyó un 72 % los viajes turísticos, mientras que el impacto económico es estimado como una reducción de 10 veces con respecto a la crisis global del 2009, así como la pérdida entre 100-120 millones de empleos directos (UNWTO, 2021).

Datos publicados por “Oxford Economices” mostró que las reuniones académicas y de trabajo en 2017 representó cerca de 1, 500,000 participantes, los cuales fueron atendidos en diferentes destinos turísticos, los cuales se concentraron en 180 países y generando alrededor de 25.9 millones de empleos directos e indirectos (Oxford Economices, 2018). En México estimaciones del 2019, se ha demostrado que las reuniones de trabajo generaron 900 mil empleos y 30 millones de habitaciones de hotel, correspondiendo al 18.8 % de la ocupación nacional; mientras que los turistas por cuestiones de trabajo aumentaron un 94 %. Sin embargo, hasta septiembre del 2020, se ha estimado que en México se perdieron cerca de 11 billones de dólares, así como la pérdida de 408 mil empleos. En los primeros 6 meses del año 2020, se cancelaron cerca de 109 eventos, y cerca de 12 millones de personas que asistirían a los eventos. (Alegría, 2021).

De acuerdo con Pillai *et al.* (2021) sugiere que la aplicación de medidas de limpieza y protocolos de higiene en los hoteles, podría ser un factor relevante en la recuperación económica. Las grandes ventajas de utilizar un sistema masivo

para el diagnóstico de SARS-CoV-2, puede ser parte de una política pública, para reducir el número de víctimas por infección y permitir la reactivación económica, ocasionando el restablecimiento de las actividades de restaurantes y hoteles (De Walque *et al.*, 2020).

Hoy en día, el método más eficaz para conocer si una persona está infectada con el virus SARS-CoV-2 es a través del método de la RT-PCR, que permite la amplificación de genes virales, presentes en las muestras de hisopado nasofaríngeos. La estrategia molecular es cara y requiere que la recolección de muestras sea desarrollada por personal especializado. Así mismo, la presente investigación tiene como objetivo validar una metodología de muestreo masivo utilizando saliva como fuente viral para la detección de SARS-CoV-2, en un grupo de turistas (Girón-Pérez *et al.*, 2021).

La implementación de una estrategia masiva provee una herramienta diagnóstica para que las personas pueda regresar a trabajar y retornar a recreaciones turísticas, además, de que pueda asistir a otras actividades (eventos masivos) donde se requiera concentrar un gran número de personas en espacio físicos pequeños.

La detección de SARS-Cov-2 a través de saliva ha sido demostrada en diversos trabajos, Se ha reportado que en una corte de 95 pacientes donde se tomaron muestras nasofaríngeas y de saliva, no se encontró diferencia entre ambos tipos de muestra para obtención del virus, así como tampoco existieron grandes diferencias en el Ct. (Leung *et al.*, 2021). Estos resultados fueron de pacientes sintomáticos y asintomáticos (Leung *et al.*, 20211).

Un metaanálisis de diferentes estudios para la detección de SARS-CoV-2 ha revelado que el uso de pools de saliva tiene una sensibilidad del 83.2 % y una especificidad de 98.2 %, sugiriendo que la estrategia debería ser considerada para el muestreo masivo en comunidades (Butler-Laporta *et al.*, 2021). Por lo tanto, los pools de saliva son una poderosa herramienta para detener las cadenas de transmisión en diferentes lugares de trabajo o centros recreativos y la reactivación económica asociada a la industria del turismo.

Material y Métodos

Modelo de estudio

En la presente investigación, 120 personas fueron analizadas (58 hombres y 62 mujeres) con una edad promedio de 22 años, donde ninguno de los individuos analizados presentó síntomas relacionados a COVID-19. Los participantes estuvieron en el complejo turístico de Nuevo Vallarta del 4 de noviembre al 10 de noviembre del 2020.

El empleo de esta estrategia fue a través del análisis de 12 pools de saliva (10 muestras individuales de salivas fueron mezcladas) un primer pool se realizó un día antes y el segundo pool después de la estancia en el complejo turístico (5 días) usando la técnica de (RT-PCR), aprobada por las autoridades de Secretaría de Salud de México “Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos” (Indre) basada en el protocolo Berlín (Corman *et al.*, 2020).

Las muestras de saliva fueron recolectadas en recipientes estériles (aproximadamente 2 mL), que les fue proporcionado en el laboratorio y este muestreo estuvo bajo la supervisión de miembros del laboratorio, no fue necesario que los pacientes tuvieran una higiene bucal previa, pero si se les prohibió el uso de lápiz labial, para evitar la contaminación de la muestra. Las muestras de saliva fueron correctamente etiquetadas y los pools fueron realizados (mínimo unas 6 muestras y un máximo de 10), de las muestras recolectadas se tomaron 14 μ L y se colocó en un tubo de 1.5 mL, la metodología utilizada fue la reportada por Girón-Pérez *et al.* (2021). La prueba de RT-PCR se realizó el mismo día de la colección de la muestra de saliva. Se utilizó como control interno de extracción el gen RP y como control positivo el plásmido pT7 S10 RRV, contenido en un fragmento que codifica el gen E.

Modelo de interpretación

La detección negativa de SARS-CoV-2 ocurre cuando el gen E no amplifica o no es detectado antes del ciclo 38, significando que los individuos incluidos en el pool no eran portadores de SARS-CoV-2.

De otra manera, cuando el gen E es amplificado por debajo del ciclo 38, esto indica que al menos uno de los individuos es positivo y, por lo tanto, cada muestra de saliva debe ser analizada individualmente para identificar a la persona infectada.

Medidas sanitarias del hotel

Una de las medidas sanitarias necesarias fue el uso de cubre bocas en áreas comunes (bar, restaurantes, salón de eventos), adicionalmente se amplió el lavado de manos, el uso de gel antibacterial, (recepción, lobby, y otros espacios comunes), así mismo, la capacidad del hotel fue del 50 % (el hotel solo puede hospedar 650 personas), por lo cual la implementación de medidas de prevención permite tener un ambiente seguro, permitiendo una reactivación económica potencial de este sector.

Resultados

Datos obtenidos indican que todos los participantes que estuvieron en el evento no fueron portadores de SARS-CoV-2 tanto en la llegada al complejo turístico, durante la estancia o a la finalización del evento.

Tabla 1. **Resultados de pools en el complejo turístico**
Table 1. **Results of tourist in hotel resort**

No of person/No of Pools	Date of Sample	Results
120/12	Before of travel (November 3th 2020)	Negative pools
120/12	After of travel (November 11th 2020)	Negative pools

Se muestra la amplificación del Gen E de los pools de los participantes, así mismo se muestran los controles positivos y negativos. Figura 1.

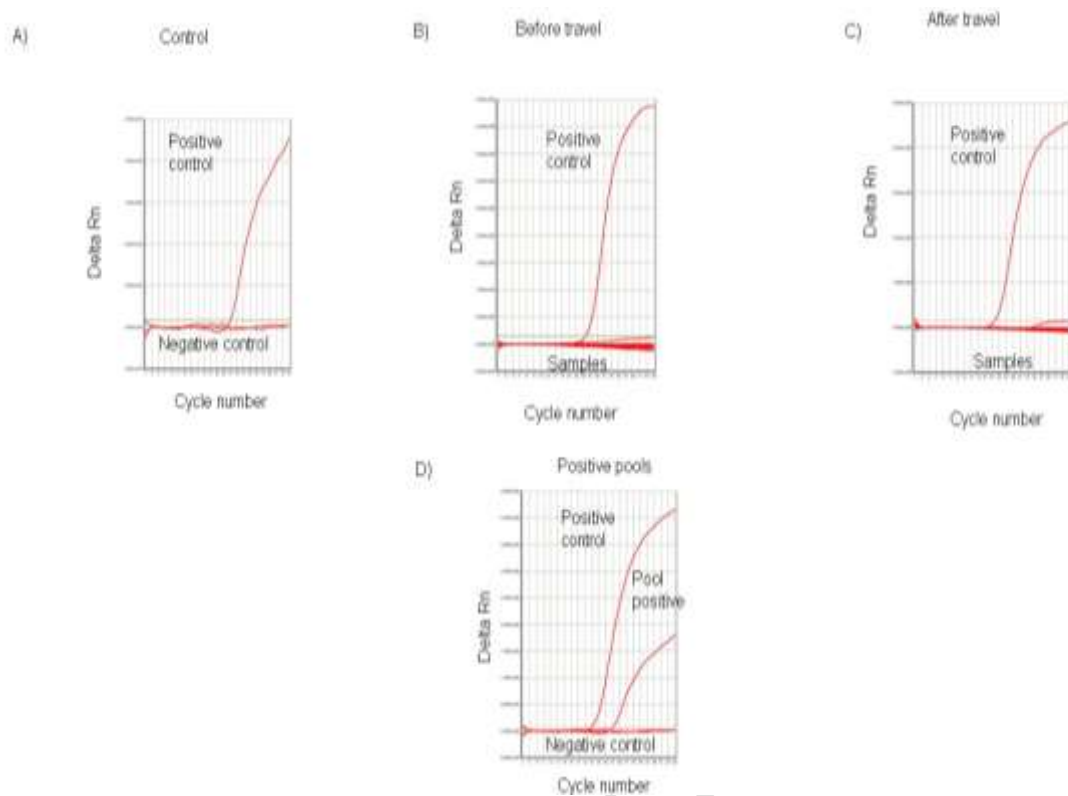


Figura 1. **Amplificación de curvas del gen E de SARS-CoV-2.** A) Amplificación del transcrito T7 S10 RRV del gen E (control positivo) y amplificación del control negativo (medio de transporte viral). B) Amplificación de pools de salivas individuales antes de viajar C) Amplificación de pools de salivas individuales después de viajar. D) Amplificación del transcrito del gen E (pT7 S10 RRV) control positivo de pools de saliva y control negativo (medio de transporte viral) de SARS-CoV2.

Figure 1. **Amplification curves of the E gene of SARS-CoV-2.** A) Amplification of the pT7 S10 RRV transcript of the E gene (positive control) and amplification of the negative control (viral transport medium). B) Amplification of saliva pools of individuals before traveling. C) Amplification of saliva pools of individuals after traveling. D) Amplification of the E gene transcript (pT7 S10 RRV,) positive control of saliva pool and negative control (viral transport medium) of SARS-CoV-2.

Estos resultados muestran que la detección de SARS-CoV-2 antes y después del arribo es una buena herramienta y modelo para el monitoreo de grandes grupos.

Discusión

La muestra de saliva es una fuente confiable para la detección de SARS-CoV-2 (To *et al.*, 2020; Pasmosa *et al.*, 2021; Williams *et al.*, 2020), estos estudios han demostrado una sensibilidad entre 81-99 % (Braz-Silva *et al.*, 2021). La utilización de esta metodología es indispensable para la reactivación

de la industria del turismo alrededor del mundo, ya que esta puede ser utilizada para disminuir los costos de las pruebas moleculares.

Nuestros resultados demostraron que la implantación de esta técnica reduce el número de muestras a analizar, ya que solo se realizaron 12 RT-PCR para analizar 120 pacientes, obteniendo resultados confiables, reproducibles y sensibles. Adicionalmente, la aplicación de las pruebas masivas permite descartar portadores asintomáticos, acarreadores de virus, los cuales pueden transmitir agentes patógenos a otros individuos.

La implementación de medidas sanitarias es imperativa para la reactivación del turismo en México y el mundo entero, entre las cuales encontramos el lavado de manos, el uso de gel antibacterial (recomendado por el “Center for Disease Center” (CDC)), ya que tiene actividad antiviral. Adicionalmente la reducción de la capacidad del hotel puede ser una opción para tener vacaciones en lugares seguros (Berardi *et al.*, 2020). Además de las medidas mencionadas el uso de cubre bocas debe ser obligatorio, para evitar el paso de partículas al tracto respiratorio y la sana distancia (Howard *et al.*, 2021).

La detección de SARS-CoV-2 y la aplicación de medidas de sanidad deberían ser aplicadas a pesar del proceso de vacunación, ya que la protección inmune después de la vacunación puede ser parcial; además de esta protección puede ser quebrada por las nuevas variantes de COVID-19, por lo que, a pesar del proceso de vacunación existe la posibilidad de que las personas se pueden contagiar y transmitir o diseminar el virus. Por lo que las nuevas variantes de SARS-CoV-2 podrían evadir la respuesta generada por las vacunas (Delta-variante) (CDC, 2021).

Los pools de saliva han sido ampliamente propuestos como un modelo para incrementar la capacidad de muestreo de SARS-CoV-2; una de las ventajas es de ser un procedimiento no invasivos y sensible. Sin embargo, estas variables pueden ser dependientes del número de muestras y el tiempo de recolección de la muestra (Huang, *et al.*, 2021).

La temporalidad entre la toma de muestra y el análisis en el pool de saliva es una de las razones por la cual no ha sido aprobada por la Food and Droga Administración (FDA) (US, FDA 2020), como una metodología estándar. La implementación de pools de saliva debería ser cuidadosamente planeada, ya que los pools con pocas muestras (menores a 11) tiene un bajo porcentaje de

error (2 %), mientras pools con muchas muestras (mayores a 11) el error se incrementa alrededor del 14 % (Watkins *et al.*, 2020).

En conclusión, el uso de la estrategia de pools de saliva para la detección de SARS-CoV-2 por RT-PCR permite el monitoreo de individuos de forma rápida y económica, por lo cual, en conjunto del establecimiento de medidas sanitarias, pueden contribuir la reactivación de la industria del turismo.

Limitaciones del estudio

Una limitación del presente estudio es el tipo de pacientes, ya que solamente se tuvo acceso a pacientes ambulatorio (no es un grupo heterogéneo) además de que no se tiene otros grupos de edad, ya que los pacientes se encuentran en la edad entre 18 y 25 años; así mismo, la sintomatología (enfermedades respiratorias, infecciones bacterianas) no fue tomando en cuenta, sin embargo; este trabajo muestra una metodología sensible, rápida y segura; además, esta puede ser implementada en Universidades o grupos de trabajo

Conflicto de interés: Los autores declara no tener conflicto de intereses

Referencias

- Alegria, A. (2021). Turismo de reuniones y congresos han perdido 220 mil mdp or Covid-19. La Jornada. Update <https://www.jornada.com.mx/ultimas/economia/2020/09/24/turismo-de-reuniones-y-congresos-ha-perdido-220-mil-mdp-por-covid-19-4041.html>
- Berardi, A., Perinelli, D. R., Merchant, H. A., Bisharat, L., Basheti, I. A., Bonacucina, G., Cespi, M., & Palmieri, G. F. (2020). Hand sanitisers amid CoViD-19: A critical review of alcohol-based products on the market and formulation approaches to respond to increasing demand. *International journal of pharmaceutics*, 584, 119431. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119431>
- Braz-Silva, P. H., Mamana, A. C., Romano, C. M., Felix, A. C., de Paula, A. V., Ferreira, N. E., Buss, L. F., Tezetto- Mendoza, T. R., Caixeta, R. A. V., Leal, F. E., Grespan, R. M. Z, Bizario, J. C. S., Ferraz, B. C., Sapkota, D., Gianecchini, S., To, K. K., Doglio, A., & Mendes-Correa, M. C. (2021). Performance of at-home self-collected saliva and nasal-oropharyngeal swabs in the surveillance of COVID-19. *Journal of oral microbiology*, 13(1), 1858002. <https://doi.org/10.1080/20002297.2020.1858002>
- Butler-Laporte, G., Lawandi, A., Schiller, I., Yao, M., Dendukuri, N., McDonald, E. G., & Lee, T. C. J. J. I. M. (2021). Comparison of saliva and nasopharyngeal swab

- nucleic acid amplification testing for detection of SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *JAMA internal medicine*, 181(3), 353-358. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.8876>
- Center for Disease Control and Prevention. [CDC]. Science Brief: COVID -19 Vaccines And Vacuation. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/fully-vaccinated-people.html>
- Corman, V., Bleicker, T., Brünink, S., Drosten, C., & Zambon, M. (2020). Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR. *World Health Organization*, 156. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf>
- De Walque, D., Friedman, J., Gatti, R., & Mattoo, A. (2020). How two tests can help contain COVID-19 and revive the economy. *World Bank Research and Policy Briefs*, (147504). https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3590818
- Girón-Pérez, D.A., Ruiz-Manzano, R.A., Benitez-Trinidad, A.B., Ventura-Ramón, G.H., Covantes-Rosales, C.E., Ojeda-Durán, A.J., Mercado-Salgado, U., Toledo-Ibarra, G.A., Díaz-Reséndiz, K.J., & Girón-Pérez, M.I. (2021). Saliva Pooling Strategy for the Large-Scale Detection of SARS-CoV-2, Through Working-Groups Testing of Asymptomatic Subjects for Potential Applications in Different Workplaces. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. Published, 63(7): 541–547. <https://doi.org/10.1097/JOM.0000000000002176>
- Huang, N., Pérez, P., Kato, T., Mikami, Y., Okuda, K., Gilmore, R. C., Domínguez, C. C., Gasmi, B., Stein, S., Beach, M., Pelayo, E., Maldonado, J. O., Lafont, B. A., Jang, S. I., Nasir, N., Padilla, R. J., Murrah, V. A., Maile, R., Lovell, W., Wallet, S. M., ... Byrd, K. M. (2021). SARS-CoV-2 infection of the oral cavity and saliva. *Nature medicine*, 27, 892–903. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01296-8>
- Howard, J., Huang, A., Li, Z., Tufekci, Z., Zdimal, V., van der Westhuizen, H. M. & Rimoin, A. W. (2021). An evidence review of face masks against COVID-19. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(4). <https://doi.org/10.1073/pnas.201456411>
- Leung, E. C. M., Chow, V. C. y., Lee, M. K. P., & Lai, R. W. (2021). Deep throat saliva as an alternative diagnostic specimen type for the detection of SARS-CoV-2. 93(1), 533-536. <https://doi.org/10.1002/jmv.26258>
- Oxford Economics (2018). Global Economics Significance of Business Event. Events Industry Council. <https://insights.eventscouncil.org/Portals/0/OE-EIC%20Global%20Meetings%20Significance%20%28FINAL%29%202018-11-09-2018.pdf>
- Pasomsub, E., Watcharananan, S. P., Boonyawat, K., Janchompoo, P., Wongtabtim, G., Sukswan, W., & Phuphuakrat, A. (2021). Saliva sample as a non-invasive specimen for the diagnosis of coronavirus disease 2019: a cross-sectional study. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(2), 285-e1. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.05.001>
- Pillai, S. G., Haldorai, K., Seok, W., & Gon, W. (2021) COVID-19 and hospitality 5.0: Redefining hospitality operations. *International Journal of Hospitality Management*, 94, 102869. <https://doi.org/10.1016/j.ijhm.2021.102869>
- To, K. K. W., Tsang, O. T. Y., Leung, W. S., Tam, A. R., Wu, T. C., Lung, D. C., & Yuen, K. Y. (2020). Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal

saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 20(5), 565-574. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30196-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1)

UNWTO. (2021) COVID19 and Turisms. <https://www.unwto.org/covid-19-and-tourism-2020> (Last Access: February 18th 2021).

US Food and Drug Administration. (2020). Coronavirus (COVID-19) update: FDA issues first emergency authorization for sample pooling in diagnostic testing. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-issues-first-emergency-authorization-sample-pooling-diagnostic>

Watkins, A. E., Fenichel, E. P., Weinberger, D. M., Vogels, C. B. F., Brackney, D. E., Casanovas-Massana A., Campbell, J. F., Bermejo, S., Datta, R., The yale IMPACT Researchs Team, De la Cruz, C., Farhadian, S. F., leasaki, A., Ko. A.I., Grubaugh, N. D., and Wyllie, A. L. (2020). Pooling saliva to increase SARS-CoV-2 testing capacity. *medRxiv : the preprint server for health sciences*, <https://doi.org/10.1101/2020.09.02.20183830>

Williams, E., Bond, K., Zhang, B., Putland, M., & Williamson, D. A. (2020). Saliva as a noninvasive specimen for detection of SARS-CoV-2. *Journal of clinical microbiology*, 58(8), e00776-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.00776-20>

ARTÍCULO EN PR...