



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Lima, 01 de Julio del 2021.

VISTOS:

El Expediente N° 20-011089-002, sobre la aprobación de la Guía Técnica de Procedimiento para la Detección de SARS-CoV-2 por el método RT-LAMP, que contiene el INFORME N° 284-2020-INCN-DEIDAEADT, MEMORANDON°38-2021-INCN-DEIDAEADT, MEMORANDO N° 57-2021-INCN-DEIDAEADT, INFORME N° 77-2021-DEIDAEADT-INCN del Director Ejecutivo de la Dirección Ejecutiva de Investigación, Docencia y Atención Especializada de Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento, INFORME N° 020-2020 EP-OEPE/INCN, del Especialista en Planeamiento y PROVEIDO N° 580-2020-OEPE/INCN, de la Directora Ejecutiva de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico, INFORME N° 023-2021-INCN-DIDADL, del Departamento de Investigación, Docencia y Apoyo al Diagnóstico en Laboratorio, INFORME N° 035-2021-UO-OEPE/INCN, INFORME N° 036-2021-UO-OEPE/INCN del Jefe de la Unidad de Organización de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico, PROVEIDO N° 155-2021-OEPE/INCN, PROVEIDO N° 166-2021-OEPE/INCN de la Directora Ejecutiva de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico y el INFORME N° 291-2021-OAJ/INCN, de la Jefa de la Oficina de Asesoría Jurídica del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, y;

CONSIDERANDO:

Que, los numerales I, II y VI del Título Preliminar de la Ley N° 26842, Ley General de Salud, disponen que la salud es condición indispensable del desarrollo humano y medio fundamental para alcanzar el bienestar individual y colectivo, siendo responsabilidad del Estado regular, vigilar y promover la protección de servicios de salud, cualquiera sea la persona o institución que los provea, siendo responsabilidad del Estado promover las condiciones que garanticen un adecuada cobertura de prestaciones de salud a la población, en términos socialmente aceptables de seguridad, oportunidad y calidad; además que es irrenunciable la responsabilidad del Estado en la provisión de servicios de salud pública y que el Estado interviene en la provisión de servicios de atención médica con arreglo a principios de equidad;

Que, el artículo 5 del Reglamento de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, aprobado mediante el Decreto Supremo N° 013-2006-SA. Establece que los establecimientos de salud y servicios médicos de apoyo deben contar, en cada área, unidad o servicio, con manuales de procedimientos, guías de práctica clínica referidos a la atención de los pacientes, personal, suministros, mantenimiento, seguridad y otros que sean necesarios, según sea el caso, en tal sentido el inciso s) del artículo 37 del citado Reglamento, establece que corresponde al Director Médico disponer la elaboración del Reglamento Interno de las guías de práctica clínica y de los manuales de procedimientos referidos a la atención de los pacientes, personal, suministros,

mantenimiento, seguridad, y otros que sean necesarios. Asimismo, el artículo 57 señala que es obligación de los establecimientos de salud contar con documentos técnicos normativos y guías de práctica clínicas;

Que, el numeral 5.2 del documento denominado "Normas para la Elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud", aprobado mediante la Resolución Ministerial N° 850-2016/MINSA, define al Documento Normativo del Ministerio de Salud a todo aquel documento oficial que tiene por objetivo transmitir información estandarizada y aprobada sobre aspectos técnicos, sean estos asistenciales, sanitarios, y/o administrativos, relacionados al ámbito del Sector Salud, en cumplimiento de sus objetivos. Estas normas tienen el objetivo de facilitar el adecuado y correcto desarrollo de funciones procesos, procedimientos y/o actividades en los diferentes niveles y según correspondan;

Que, el numeral 5.4 del dispositivo mencionado en el párrafo precedente, establece que, dentro de los documentos Normativos, se encuentra la Guía Técnica, que es la que regulan procesos y/o procedimientos, considerándose en el numeral 6.1.3 Guía Técnica "Es el Documento Normativo del Ministerio de Salud, con el que se define por escrito y de manera detallada el desarrollo de determinados procesos, procedimientos, metodologías instrucciones o indicaciones que permite al operador seguir un determinado recorrido, orientándolo al cumplimiento del objeto de un proceso y al desarrollo de una buena práctica;

Que, la NTS N° 117-MINSA/DGSP-V.01, "Norma Técnica de Salud para la Elaboración y Uso de Guías de Práctica Clínica del Ministerio de Salud", aprobado mediante Resolución Ministerial N° 302-2015/MINSA, tiene como finalidad contribuir a la calidad y seguridad de las atenciones de salud, respaldadas por Guías de Práctica Clínica, basadas en evidencias científicas, ofreciendo el máximo beneficio y el mínimo riesgo para los usuarios de las prestaciones en salud. Así como la optimización y racionalización del uso de recursos. Asimismo, el numeral 5.7 señala que "Los establecimientos de salud del segundo y tercer nivel, públicos y privados, están obligados a disponer, implementar y aplicar el uso de GPC, referidas a las patologías de mayor demanda en su perfil epidemiológico";



R. FERNÁNDEZ

Que, el Instituto Nacional de Ciencias Neuroiológicas es un órgano desconcentrado del Ministerio de Salud-MINSA, que, según el Reglamento de Organización y Funciones, aprobado por Resolución Ministerial N° 787-2006/MINSA tiene como visión contribuir a extender atención integral altamente especializada a mas peruanos en concordancia con los lineamientos de política de salud, en tales condiciones que asegure el pleno respeto de los derechos ciudadanos;



G. VARGAS

Que, de los documentos de vistos mediante INFORME N° 77-2021-DEIDAEADT-INCN, de fecha 20 de abril de 2021, el Director Ejecutivo de la Dirección Ejecutiva de Investigación, Docencia y Atención Especializada de Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento, presenta la Guía Técnica de Procedimiento para Detección de SARS – COV2, por el método RT-LAMP, elaborado por el Departamento de Laboratorio Clínico;



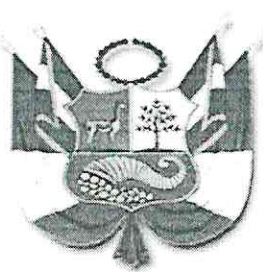
F. AQUINO P.

Que, con INFORME N° 036-2021-UO-OEPE/INCN, de fecha 22 de abril de 2021, el Jefe de la Unidad de Organización de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico, emite opinión favorable sobre la Guía Técnica de Procedimiento para la Detección de Sars-CoV-2 por el método RT-LAMP y con PROVEIDO N° 166-2021-OEPE/INCN, de fecha 22 de abril de 2021, la Dirección Ejecutiva de Planeamiento Estratégico, hace suyo en todos sus extremos el contenido del referido informe, brindando opinión favorable;



R. SUÁREZ

Con la opinión favorable de la Jefa de la Oficina de Asesoría Jurídica;



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Lima, 01 de Julio del 2021.

Con las Visaciones del Director Ejecutivo de la Dirección Ejecutiva de Investigación, Docencia y Atención Especializada de Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento, de la Directora Ejecutiva de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico, de la Jefa de la Oficina de Asesoría Jurídica del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas;

De conformidad con el Reglamento de Organización y funciones, aprobado mediante Resolución Ministerial N° 787-2006/MINSA, el Texto Único Ordenado de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, aprobado por Decreto Supremo N° 004-2019-JUS, la Ley N° 26842, Ley General de Salud, el Decreto Supremo N° 013-2006-SA, Reglamento de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, Resolución Ministerial N° 850-2016/MINSA "Normas para la Elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud", Resolución Ministerial N°302-2015/MINSA, NTS N° 117-MINSA/DGSP-V.01, "Norma Técnica de Salud para la Elaboración y Uso de Guías de Práctica Clínica del Ministerio de Salud", y demás normas complementarias y conexas;

SE RESUELVE:

Artículo Primero. - APROBAR la Guía Técnica de Procedimiento para la Detección de SARS-CoV-2 por el método RT-LAMP del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, y que en once (11) folios, forma parte integrante de la presente Resolución Directoral.

Artículo Segundo. - ENCARGAR al Departamento de Investigación, Docencia y Atención Especializada en Apoyo al Diagnóstico en Laboratorio la implementación, monitoreo y aplicación de la Guía Técnica de Procedimiento para la Detección de SARS-CoV-2 por el método RT-LAMP aprobada en el artículo 1 del presente acto resolutivo, en el ámbito de sus competencias.

Artículo Tercero. - DISPONER que la Oficina de Comunicaciones publique la presente Resolución Directoral en la página web institucional del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, conforme a las normas de la Ley de Transparencia y Acceso a la Información Pública.

Regístrese, Comuníquese y Cúmplase

RJSR/RFT
VISACIONES COPIAS
DG
DEIDAEADT
OEPE
OAJ

MINISTERIO DE SALUD
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
Dirección General
Med. Cf. Esp. RAFAEL JOSÉ SUAREZ REYES
Director del Instituto Especializado(e)



PERÚ

Ministerio
de Salud

Viceministerio
de Prestaciones y
Aseguramiento en Salud

Instituto Nacional
de Ciencias Neurológicas

DIRECCIÓN EJECUTIVA DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y ATENCIÓN ESPECIALIZADA EN APOYO AL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y APOYO AL
DIAGNÓSTICO EN LABORATORIO



GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE SARS - CoV - 2 POR EL MÉTODO RT-LAMP



2021

Jr. Ancash N° 1271
Barríos Altos, Lima – Perú
Dirección General – Teléfono N° 328-1473
Central Teletónica N° 411-77000
www.incn.gob.pe



PERÚ

Ministerio
de Salud

Viceministerio de
Prestaciones y
Aseguramiento en Salud

Instituto Nacional de
Ciencias Neurológicas

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para mujeres y hombres"

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"



DIRECCIÓN EJECUTIVA DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y ATENCIÓN ESPECIALIZADA EN APOYO AL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y APOYO AL DIAGNÓSTICO EN LABORATORIO



R. FERNÁNDEZ

GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE SARS – CoV - 2 POR EL MÉTODO RT-LAMP



F. AQUINO P.



G. VARGAS



R. SUÁREZ



GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTO PARA LA
DETECCIÓN DE SAR – COV – 2 POR EL MÉTODO RT-LAMP

www.incn.gob.pe
direcciongeneral@incn.gob.pe
Jr. Ancash 1271
Barrios Altos,
Lima 1 Perú
Tel. (511) 411-7700



PERÚ

Ministerio
de Salud

Viceministerio de
Prestaciones y
Aseguramiento en Salud

Instituto Nacional de
Ciencias Neurológicas

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para mujeres y hombres"

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"



DIRECTORIO:

M.C. ESP. RAFAEL J. SUAREZ REYES

DIRECTOR GENERAL

ING. HÉCTOR R. NÚÑEZ FLORES

DIRECTOR EJECUTIVO DE LA OFICINA EJECUTIVA DE ADMINISTRACIÓN

MG. GLORIA A. VARGAS NÚÑEZ

DIRECTORA EJECUTIVA DE LA OFICINA EJECUTIVA DE PLANEAMIENTO ESTRATÉGICO

M.C. ESP. E. FRANCISCO AQUINO PEÑA

DIRECTOR EJECUTIVO DE LA DIRECCIÓN EJECUTIVA DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA
Y ATENCIÓN ESPECIALIZADA EN APOYO AL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

M.C. ANA DEL ROSARIO ESTEBAN DELGADO

RESPONSABLE DEL DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y APOYO AL DIAGNÓSTICO EN LABORATORIO

ELABORADO POR:

M.C. ESP. ANTONIO J. ESPINOZA MEDINA

PATOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y APOYO AL DIAGNÓSTICO EN LABORATORIO

LIC. CARMEN CRISTINA QUISPE LEIVA

TECNÓLOGO MÉDICO

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y APOYO AL DIAGNÓSTICO EN LABORATORIO

REVISADO INTERNAMENTE POR:

M.C. ESP. MARÍA VICTORIA VERA CHALCO

PATOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO - SERVICIO DE INMUNO-HEMATOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y APOYO AL DIAGNÓSTICO EN LABORATORIO

APOYO ADMINISTRATIVO:

JULIO CASTRO VILLACORTA

LUIS MIGUEL CRUZADO SALAZAR

UNIDAD DE ORGANIZACIÓN

OFICINA EJECUTIVA DE PLANEAMIENTO ESTRATÉGICO



R. FERNÁNDEZ



F. AQUINO P.



G. VARGAS

Lima, Perú
2021



R. SUAREZ



www.incn.gob.pe
direcciongeneral@incn.gob.pe

Jr. Ancash 1271
Barrios Altos,
Lima 1 Perú
Tel. (511) 411-7700

GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTO PARA LA
DETECCIÓN DE SAR – COV – 2 POR EL MÉTODO RT-LAMP

ÍNDICE

Nº	CONTENIDO	PÁG.
	CARÁTULA	1-2
	DIRECTORIO	3
	ÍNDICE	4
	CUADRO DE CONTROL	5
	PRESENTACIÓN	6
I.	FINALIDAD	7
II.	OBJETIVO	7
	2.1. OBJETIVO GENERAL	7
	2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	7
III.	ÁMBITO DE APLICACIÓN	7
IV.	NOMBRE DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO A ESTANDARIZAR	7
V.	CONSIDERACIONES GENERALES	7
VI.	DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROCEDIMIENTO	8
	6.1. DESCRIPCIÓN DEL TIPO DE ENSAYO O PRUEBA CONSIDERACIONES GENERALES	8
	6.2. EQUIPOS, REACTIVOS Y CONSUMIBLES	8
	6.3. TIPO DE MUESTRA / CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS	9
	6.4. RECHAZO DE MUESTRAS	9
VII.	EJECUCIÓN DE ENSAYO	9
VIII.	INFORME DE RESULTADOS	10
IX.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	10
X.	LIMITACIONES	10
XI.	REFERENCIAS	11

MINISTERIO DE SALUD
VºBº
Oficina de Asesoría Jurídica
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
R. FERNÁNDEZ

MINISTERIO DE SALUD
VºBº
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
F. AQUINO P.

MINISTERIO DE SALUD
VºBº
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
G. VARGAS

MINISTERIO DE SALUD
VºBº
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
F. AQUINO P.

MINISTERIO DE SALUD
VºBº
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
R. SUÁREZ

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS NEUROLÓGICAS
JEFATURA
LABORATORIO



PERÚ

Ministerio
de SaludViceministerio de
Prestaciones y
Aseguramiento en SaludInstituto Nacional de
Ciencias Neurológicas

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para mujeres y hombres"

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"



GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE SARS – CoV - 2 POR EL MÉTODO RT-LAMP

CUADRO DE CONTROL

ROL	ORGANO	FECHA	V° B°
ELABORADO	DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y APOYO AL DIAGNÓSTICO EN LABORATORIO	ABRIL, 2021	
REVISADO POR	DIRECCIÓN EJECUTIVA DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y ATENCIÓN ESPECIALIZADA EN APOYO AL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	ABRIL, 2021	
	OFICINA EJECUTIVA DE PLANEAMIENTO ESTRATÉGICO (UNIDAD DE ORGANIZACIÓN)	ABRIL, 2021	
	ASESORÍA JURÍDICA	JUNIO, 2021	
APROBADO	DIRECCIÓN GENERAL	JUNIO, 2021	



R. FERNÁNDEZ



G. VARGAS



F. AQUINO P.



R. SUÁREZ





PRESENTACIÓN

Debido a la alta incidencia y la falta de control de la pandemia por la demora en el diagnóstico de covid-19, la comunidad científica ha trabajado sobre un método alternativo, que sea más rápido y accesible para diagnosticar y evitar la propagación del virus.

El diagnóstico de covid-19 se lleva a cabo por la detección de SARS-CoV-2 en un hisopado nasofaríngeo mediante la técnica RT-PCR. Esta técnica, si bien es altamente sensible, cuenta con la limitante del equipamiento necesario para realizar la técnica, los kits para la detección y el tiempo que demora en ser realizada. El tiempo entre la toma de la muestra y la obtención del resultado puede tomar entre 24 y 72 horas, o incluso días, dependiendo del país en el que se realicen los test, los recursos asignados, así como la saturación del sistema de salud, en tal sentido la detección de casos positivos de covid-19 ha dificultado el control de la pandemia.

El método LAMP, es un novedoso método de amplificación de ácido nucleico isotérmico, que muestra una mayor sensibilidad y especificidad debido a una característica de amplificación exponencial que utiliza 6 secuencias objetivo diferentes, identificadas simultáneamente por distintos "primers" o cebadores en la misma reacción. Si bien es una técnica ya utilizada previamente, ha ido mejorando con el paso del tiempo. Los actuales ensayos LAMP que utilizan un total de seis cebadores reconocen ocho sitios distintos de la secuencia del objetivo. Este método permite la detección de plantillas o "templates" de ADN y ARN en aproximadamente 1 hora, superando la eficiencia de la técnica RT-PCR que se utiliza preferencialmente para testear caso de covid-19. Dado que los casos de sospechosos de padecer esta enfermedad es creciente, los centros hospitalarios y de diagnóstico se ven sobrecargados y muchos pacientes requieren ser examinados y tener sus resultados. Esta pérdida de tiempo conlleva a que se continúe propagando la infección. Si bien el costo de reactivos es similar entre LAMP y RT-PCR, el costo en equipamiento que se requiere para LAMP es menor ya que no requiere termociclador con medida de fluorescencia en tiempo real. La lectura de los resultados de esta nueva técnica puede darse a simple vista, ya que el reactivo cambia de color rosado (negativo) a amarillo (positivo) en presencia del virus. Esto facilita mucho la comprensión de los resultados, al mismo tiempo que permite que no solamente expertos científicos en el área de biología molecular puedan analizarlos. Estos hechos levantarían una gran barrera, ya que posibilitaría la aplicación de puntos de testeo en diversos sitios, favoreciendo al control de la pandemia.



F. AQUINO P.

R. FERNÁNDEZ-GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTO PARA LA
DETECCIÓN DE SAR – COV – 2 POR EL MÉTODO RT-LAMP

G. VARGAS



www.incn.gob.pe
direcciongeneral@incn.gob.pe
Jr. Ancash 1271
Barrios Altos.
Lima 1 Perú
Tel. (511) 411-7700



GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETECCIÓN DE SARS – CoV - 2 POR EL MÉTODO RT-LAMP

I. FINALIDAD

La transcripción reversa acoplada a la amplificación mediada por lazo (RT-LAMP), permite el uso del ARN como molde para la detección y amplificación del virus SARS CoV-2 causante de la enfermedad (covid-19).

Los resultados positivos indican la presencia de ARN de SARS-CoV-2; la correlación clínica con los antecedentes del paciente y otra información diagnóstica es necesaria para determinar el estado infectado del paciente. Los resultados negativos no descartan la infección por el virus SARS-CoV-2, y no deben utilizarse como único criterio para tomar decisiones relacionadas con el tratamiento de los pacientes. Los resultados negativos deben combinarse con las observaciones clínicas, los antecedentes del paciente y la información epidemiológica.

II. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Ser un centro de referencia a nivel nacional como Instituto especializado que realice sus propios exámenes moleculares.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar pruebas moleculares en el menor plazo posible, sin depender de otras instancias.
- Tener a la población hospitalaria correctamente atendida.

III. ÁMBITO DE APLICACIÓN/ALCANCE

La prueba RT-LAMP para detectar el virus SARS-CoV-2 es una prueba de RT-PCR para la detección cualitativa de ácidos nucleicos del virus SARS-CoV-2 en muestras de hisopados nasofaríngeos, hisopados nasales o lavado/aspirado nasal de toda persona con sospecha de covid-19.

También su uso podría permitir la obtención de datos estadísticos para estudios epidemiológicos y seguimiento continuo de la pandemia.

IV. NOMBRE DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO A ESTANDARIZAR

- PRUEBA RT-LAMP PARA DETECTAR EL VIRUS SARS-COV-2
- Código CPT:
 - Prueba Molecular PCR : 87635
 - Prueba Rápida Serológica : 87635.01
- Deberá ser asignado por el área de planeamiento del Instituto
- Tiempo del procedimiento
 - Deberá ser no mayor a 3 horas desde que se recibe la solicitud de toma de muestra, siempre que se cuente con la cantidad de personal solicitado



R. FERNÁNDEZ



R. SUAREZ

V. CONSIDERACIONES GENERALES

- **Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR):** Técnica enzimática que permite la amplificación in vitro (aumento de número de copias) de una región especificada de ADN.



F. AQUINO P.



G. VARGAS



- **RT – LAMP:** la amplificación isotérmica mediada por bucle (lazo) de transcripción inversa es un método de amplificación de ácido nucleico de un paso (una sola temperatura) para multiplicar secuencias específicas de ARN. Se utiliza para diagnosticar enfermedades infecciosas causadas por virus ARN.
- **B3:** primer revers externo.
- **BIP:** primer revers interno.
- **F3:** primer forward externo.
- **FIP:** primer revers Loop.
- **LF:** primer Forward interno.
- **EPP:** equipo de protección personal.
- **RT-PCR:** Variante de la PCR con una transcriptasa reversa.
- **SARS-Cov-2:** Coronavirus (2019-nCov).
- **COVID – 19:** Enfermedad infecciosa por el coronavirus del 2019.

RESPONSABILIDADES / REQUERIMIENTOS BASICOS:

- 1 Médico patólogo (exclusivo) del Servicio de Biología molecular (responsable)
- 2 Lic. Tecnólogos Médicos
- 2 técnicos de Laboratorio
- Área de implementación adecuada mínimo de 12 m² para área de proceso y 4 m² para área de desecho de residuos biocontaminados.

VI. DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROCEDIMIENTO

6.1. DESCRIPCION DEL TIPO DE ENSAYO O PRUEBA CONSIDERACIONES GENERALES

El RT-LAMP es una prueba in vitro de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) previa transcripción inversa para la determinación cualitativa de ácidos nucleicos del virus SARS-CoV-2. Los cebadores RT-LAMP corresponden a la región codificante de la proteína no estructural 3 (NSP3) del marco de lectura abierto (ORF) 1Ab.

La prueba RT-LAMP cuenta con el reactivo de LAMP, la polimerasa y 3 pares de primers para la detección de ARN del virus SARS-CoV-2; previamente los ácidos nucleicos son obtenidos con un kit de extracción comercial. Esta prueba incluye un control negativo, un control positivo y un control de extracción que garantiza las condiciones adecuadas en los procedimientos para la prueba, además de un control NTC que evalúa condiciones adecuadas de nuestra cabina de preparado de primers.

6.2. EQUIPOS, REACTIVOS Y CONSUMIBLES

- Centrifuga para viales de 1,5 ml.
- Baño maría
- Pipetas de transferencia desechables de 1 a 10 ul; de 20 a 200 ul: de 100 a 1000 ul.
- Cabina de bioseguridad
- Medio de transporte viral
- Hisopo de microcerdas de nylon o equivalente.
- Guantes de nitrilo.
- Termobloque.
- Tips desechables para PCR.
- Viales de 1,5 ml y 0,2 ml para Biología molecular.
- Kit de extracción para ácidos nucleicos. m Reactivo de LAMP, primers y agua PC m. Reactivo de LAMP, primers y agua PCR.



6.3. TIPO DE MUESTRA / CONSIDERACIONES ESPECIFICAS

El ensayo ha sido validado solo para las muestras de hisopado nasofaríngeo. La recogida, conservación y transporte correctos de las muestras son fundamentales para el rendimiento de esta prueba. Las muestras de hisopados nasofaríngeos pueden almacenarse en medio de transporte viral o solución salina a temperatura ambiente (15 °C – 30 °C) durante un máximo de 8 horas y refrigerarse (2 °C – 8 °C) durante un máximo de 7 días antes de realizar la prueba.

6.4. RECHAZO DE MUESTRAS

- Discordancia entre los datos de la muestra y la solicitud médica.
- Muestras derramadas o con escaso volumen (< 1ml).
- Muestras que no cumplan los criterios de almacenamiento.

VII. EJECUCIÓN DE ENSAYO

TRATAMIENTO DE LA MUESTRA / DESCRIPCION DETALLADA DEL PROCESO (PROCEDIMIENTO)

- Limpiar y desinfectar el área de trabajo (el procedimiento se realizará en una cabina de bioseguridad)
- Prender el baño maría y llevarlo a 56 °C.
- Asegurarse de tener listo el kit de extracción con todos los reactivos correctamente llevados a temperatura ambiente.
- Compruebe que el medio de transporte que contiene la muestra este cerrado (si fue refrigerado, esperar a que alcance la temperatura ambiente).
- Vortexear el medio de transporte unos 10 segundos. Destapar el medio de transporte de la muestra.
- Seguir los procedimientos indicados en el inserto del kit de extracción, para obtener los ácidos nucleicos del virus, dependiendo de la marca algunos procedimientos pueden variar.

Inicio de la prueba:

- a) Encender el termobloque y llevarlo a 65°C.
- b) Preparar el **Mix de primers LAMP**:

Solución de reserva (elución 100uM)	Volumen (ul)
FIP	16.0
BIP	16.0
F3	2.0
B3	2.0
LOOP F	4.0
LOOP B	4.0
H2O PCR	56.0
Volumen total	100.0



R. FERNÁNDEZ



F. AQUINO P.



G. VARGAS



R. SUAREZ



- Preparación de la **mezcla de reacción** en un vial de 0,2 ml:

REACTIVOS	Volumen para una reacción (ul)
Kit de WarmStart Colorimetric LAMP 2X Master Mix Typical LAMP	12.5
Mix de primers LAMP	2.5
H2O PCR	5
ARN (usar una cabina diferente a la usada en la preparación de Mix de Primers)	5
Volumen Final	25

- Llevar el vial al termobloque, 65°C durante 45 minutos.
- Terminado los 45 minutos de incubación, sacar los viales del termobloque y modificar la temperatura hasta 85 °C, para ser incubado por 5 minutos.
- Terminado la incubación de 5 minutos a 85°C, realizar la lectura.

VIII. INFORME DE RESULTADOS

- Muestra Positiva: color de reacción **AMARILLA**.
- Muestra Negativa: color de reacción **ROJA**.
- Aquellas muestras que presenten reacción intermedia (color naranja) tendrán que ser repetidas, si el color naranja persiste se enviara la muestra al Instituto Nacional de Salud.
- El analista registrara el resultado en el **FOR-CNSP-610**: Registro de RESULTADOS para LAMP, el registro es revisado por un profesional autorizado por el responsable de Laboratorio quien deja evidencia de la revisión del registro colocando un check en la columna de resultado final (si hubiera alguna observación se comunica al analista quien toma las acciones correspondientes).
- Luego, se entrega el registro de resultado al analista para el ingreso en el sistema informático Netlab2. Finalmente, el personal autorizado para la revisión realiza la validación en el sistema Netlab2 dejando evidencia de la acción en la columna número del **FOR-CNSP-610**: Registro de resultados para LAMP.

IX. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- El control NTC:** debe presentar un color de reacción roja sin coloraciones intermedias.
- Los controles Positivo:** debe presentar un color de reacción amarilla sin coloraciones intermedias. Se debe cambiar de control si éste presenta reacción intermedia. Si se visualiza una coloración roja se puede deber a problemas en los reactivos o en el cargado de control.
- El control Negativo:** debe presentar un color de reacción rojo sin coloraciones intermedias.

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO:

No aplica.

CONTROL DE CAMBIOS:

No aplica.



R. FERNÁNDEZ

X. LIMITACIONES

La eficacia diagnóstica de esta prueba se ha determinado solamente con los tipos de muestra especificados anteriormente. No se ha evaluado el rendimiento de este ensayo con otros tipos de muestras.



F. AQUINO P.



HOJA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTO PARA LA
PREPARACIÓN DE SAR – COV – 2 POR EL MÉTODO RT-LAMP



R. SUÁREZ





La recogida, transporte o manipulación incorrecta de la muestra puede dar lugar a resultados falsos negativos.

Al igual que ocurre con cualquier prueba molecular, las mutaciones en las regiones diana de la prueba RT-LAMP pueden afectar a la unión de las sondas y cebadores e impedir la detección de la presencia del virus.

VERSION	FECHA	MOTIVO DEL CAMBIO

XI. REFERENCIAS

1. Laboratory testing strategy recommendations for COVID-19. Organización Mundial de la Salud, 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331509>.
2. Laboratory assessment tool for laboratories implementing COVID-19 virus testing. Organización Mundial de la Salud, 8 de abril de 2020, 7 de julio de 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331715>.
3. Orientaciones de bioseguridad en el laboratorio relacionadas con la COVID-19. Organización Mundial de la Salud, 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332076>.
4. Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19. Organización Mundial de la Salud, 8 de abril de 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331713>.
5. Antigen detection in diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays, interim guidance. Organización Mundial de la Salud, 2020; disponible en <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334253>.



F. AQUINO P.



R. FERNÁNDEZ



G. VARGAS



R. SUÁREZ

