



LUIS A. CERNA PEREIRA
FEJANARIO
MINISTERIO DE SALUD
HOSPITAL NACIONAL "HIPÓLITO UNANUE"

30 MAR 2021

Resolución Directoral

El presente documento es
COPIA FIEL DEL ORIGINAL
que he tenido a la vista

Lima, 29 de Marzo de 2021

Visto, el Expediente N° 21-008927-001 conteniendo el Memorando N° 313-DPCyAP14-SMlyBM22-LMyBM-HNHU-L-21 de la Jefa del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, solicitando la aprobación del proyecto de la Guía Técnica del Procedimiento Operativo Estándar de Transcripción Reversa - Amplificación Isotérmica mediada por Lazo (RT-LAMP) para la detección molecular SARS-CoV2 del Hospital Nacional Hipólito Unanue;

CONSIDERANDO:

Que, los numerales I y II 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, y que la protección de la salud es de interés público. Por tanto, es responsabilidad del Estado regularla, vigilarla y promoverla;

Que, los artículos 76° y 79° de la Ley N° 26842, Ley General de Salud, establecen que la Autoridad de Salud de nivel nacional es responsable de dirigir y normar las acciones destinadas a evitar la propagación y lograr el control y erradicación de las enfermedades transmisibles en todo el territorio nacional, ejerciendo la vigilancia epidemiológica e inteligencia sanitaria y dictando las disposiciones correspondientes, estando asimismo facultada a dictar las medidas de prevención y control para evitar la aparición y propagación de enfermedades transmisibles, quedando todas las personas naturales o jurídicas obligadas al cumplimiento de dichas medidas;

Que, mediante Decreto de Urgencia N° 025-2020 y sus modificatorias, dictan medidas urgentes y excepcionales destinadas a reforzar el Sistema de Vigilancia y Respuesta Sanitaria frente al COVID -19 en el territorio nacional, disponiendo que el Ministerio de Salud, en cumplimiento de su función rectora, es el encargado de planificar, dictar, dirigir, coordinar, supervisar y evaluar todas las acciones orientadas a la prevención, protección, y control de la enfermedad producida por el COVID -19, con todas las instituciones públicas y privadas, personas jurídicas y naturales que se encuentren en el territorio nacional;

Que, mediante Resolución Ministerial N° 850-2016/MINSA, se aprobó el Documento denominado "Normas para la Elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud", cuyo objetivo general es establecer las disposiciones relacionadas con los procesos de formulación, aprobación, modificación y difusión de los documentos normativos que expide el Ministerio de Salud, siendo de observancia obligatoria por los órganos, unidades orgánicas y órganos desconcentrados del Ministerio de Salud;

Que, mediante Memorando N° 313-DPCyAP14-SMlyBM22-LMyBM-HNHU-L-21, la Jefa del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica propone el proyecto de Guía Técnica del Procedimiento Operativo Estándar de Transcripción Reversa - Amplificación Isotérmica mediada por Lazo (RT-LAMP) para la detección molecular SARS-CoV2 del Hospital Nacional Hipólito Unanue, para su aprobación;

30 MAR 2021

El presente documento es
COPIA FIEL DEL ORIGINAL
que he tenido a la vista

Que, con Nota Informativa N° 149-2021-OGC/HNHU de fecha 19 de marzo de 2021, la Jefa (e) de la Oficina de Gestión de la Calidad adjunta el Informe N° 39-2021-KMGM/HNHU en la cual informa que el proyecto de guía técnica ha sido evaluado y aprobado, por lo que solicita la aprobación mediante acto resolutivo del proyecto presentado;

Estando a lo informado por la Oficina de Asesoría Jurídica en su Informe N° 118-2021-OAJ/HNHU;

Con el visado de la Jefa del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, de la Jefa (e) de la Oficina de Gestión de la Calidad y del Jefe de la Oficina de Asesoría Jurídica; y,

De acuerdo a las facultades establecidas en la Ley N° 26842, Ley General de Salud y en el Reglamento de Organización y Funciones del Hospital Nacional Hipólito Unanue, aprobado por Resolución Ministerial N° 099-2012/MINSA;

SE RESUELVE:

Artículo 1.- Aprobar la "Guía Técnica del Procedimiento Operativo Estándar de Transcripción Reversa - Amplificación Isotérmica mediada por Lazo (RT-LAMP) para la detección molecular SARS-CoV2 del Hospital Nacional Hipólito Unanue, la misma que forma parte integrante de la presente Resolución y por las razones expuestas en la parte considerativa.

Artículo 2.- Encargar a la Jefa del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica, la difusión, seguimiento y monitoreo de la Guía Técnica aprobada por el artículo 1 de la presente Resolución.

Artículo 3.- Disponer que la Oficina de Comunicaciones proceda a la publicación de la presente Resolución en la Página Web del Hospital.

Regístrese y comuníquese.

MINISTERIO DE SALUD
Hospital Nacional "Hipólito Unanue"

Dr. Luis W. MIRANDA MOLINA
DIRECTOR GENERAL
CMP N° 27123

LWMVSCDC/Mariela G
DISTRIBUCIÓN
() Dirección Adjunta
() Ofic. Asesoría Jurídica
() OPE
() DPCyAP
() DCI
() Archivo



MINISTERIO DE SALUD



**DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y ANATOMÍA
PATOLÓGICA**

**SERVICIO DE MICROBIOLOGÍA, INMUNOLOGÍA Y BIOLOGÍA
MOLECULAR**

**LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGÍA
MOLECULAR**

**GUIA TECNICA DEL PROCEDIMIENTO OPERATIVO
ESTANDAR DE TRANSCRIPCIÓN REVERSA-
AMPLIFICACIÓN ISOTÉRMICA MEDIADA POR
LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCIÓN
MOLECULAR DEL SARS-CoV-2**



Lima, 2020



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

EQUIPO DE GESTIÓN DEL HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNANUE

M.C. Luis Wilfredo Miranda Molina

Director General del HNHU

M.C. Yudy Miluska Roldán Concha

Directora Adjunta del HNHU

Eco. Ruth Rocío Moreno Galarreta

Directora Ejecutiva de Administración del HNHU

M.C. Silvia Vargas Chugo

Jefa (e) de la Oficina de Gestión de la Calidad

EQUIPO TÉCNICO

M.C. Karina Priscilla Altamirano Cáceres

Jefa del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica

M.C. Blanca Elizett Sierra Chávez

Jefa del Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular

M.C. Rosa Vilma Acurio Usca

Médico Coordinadora del Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular

M.C. Mirella Zegarra Moreno

Médico Asistente del Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR



GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

Tabla de contenidos

I.	Finalidad.....	5
II.	Ámbito de aplicación.....	10
III.	Base legal.....	10
IV.	Disposiciones generales.....	12
	4.1. Definiciones operativas.....	12
	4.1.1. Siglas.....	12
	4.2. Fundamento del método.....	13
V.	Disposiciones específicas.....	13
	5.1. Desarrollo del método de ensayo.....	13
	5.1.1. Aspectos de bioseguridad.....	13
	5.1.2. Tipos de muestras.....	14
	5.1.3. Material de referencia.....	14
	5.1.4. Equipos e insumos requeridos (trazabilidad metrológica).....	14
	5.1.5. Especificaciones técnicas.....	16
	5.1.6. Interferencias y reacciones cruzadas.....	16
	5.1.7. Fuentes potenciales de variabilidad.....	16
	5.1.8. Condiciones previas.....	16
	5.1.9. Procedimiento.....	18
	5.2. Informe de Resultados.....	23
	5.3. Interpretación de Resultados.....	23
	5.4. Formularios.....	24
	5.5. Referencias.....	24
VI.	Responsabilidades.....	25

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MMyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA			



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

VII.	Anexos.....	28
VIII.	Bibliografía.....	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Mix de primers LAMP.....	19
Tabla 2: Mezcla de reacción.....	20

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MMyBM M.C:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

I. Finalidad

Los coronavirus son una familia de virus causantes de enfermedades respiratorias, digestivas y del sistema nervioso en humanos y animales. En diciembre de 2019, se identificó en la provincia de Wuhan, China una cepa de coronavirus nunca encontrada en humanos, la cual recibió el nombre de SARSCoV-2. La infección por SARS-CoV-2 se ha extendido a más de 212 países y fue declarada pandemia por la Organización Mundial de la Salud ¹.

En marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la Pandemia por COVID-19, debido al elevado número de casos en 112 países fuera de China ². En Perú, se confirmó el primer caso importado por COVID-19, en una persona con historial de viajes a España, Francia y República Checa ³, desde esa fecha hasta el 10 de diciembre de 2020 se han informado 979,111 casos positivos de COVID-19 y 4,237,975 casos negativos y 36,499 defunciones. Desde entonces el Ministerio de Salud de Perú (MINSA) realizó la declaratoria de Emergencia Sanitaria de carácter nacional ⁴.

MINSA ha adoptado diferentes medidas para el control del COVID-19, entre las cuales se encuentra el diagnóstico molecular para la detección de SARS-CoV-2 (COVID-19) mediante ensayos de RT-PCR en tiempo real, así como la detección de anticuerpos como IgM/IgG. El Centro Nacional de Salud Pública, a través de sus laboratorios de referencia nacional, es el órgano de línea del INS, encargado de desarrollar y aplica tecnologías apropiadas para el diagnóstico de enfermedades transmisibles y no transmisibles, aportando criterios técnicos para la formulación de políticas que orienten la atención de la salud en el área de su competencia.

La prueba de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en (RT-PCR o qRT-PCR si es cuantificada en tiempo real) es una técnica molecular de detección

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MMyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

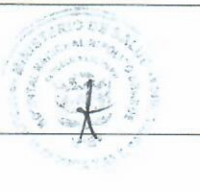
GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

y amplificación de ácidos nucleicos, es decir de material genético, ARN, del SARS-CoV-2 en distintas muestras biológicas clínicas. En la actualidad es la técnica de referencia y de elección para el diagnóstico de COVID-19.

Se han obtenido resultados positivos de la RT-PCR para SARS-CoV-2 tanto en muestras respiratorias como no respiratorias: orina, heces, incluso en sangre. Siendo las muestras más utilizadas para el diagnóstico de COVID-19 son las nasofaríngeas y orofaríngeas. Las que ofrecen más rendimiento son las nasofaríngeas (positividad 63% y 32% respectivamente en un estudio con pocas muestras nasofaríngeas) y son las que recomienda el CDC aunque las orofaríngeas también son válidas y son las que más se usaron en China ⁵.

La OMS recomienda muestras nasofaríngea y orofaríngea en el mismo tubo para aumentar la carga viral. En infecciones graves se pueden recoger muestras de vías respiratorias bajas, esputo (si hay expectoración) o de aspirado endotraqueal o bronquial y lavado bronco alveolar, en las que se puede encontrar positividad hasta al cabo de 3 semanas tras el inicio de la enfermedad. Si bien se ha detectado ARN viral en orina y heces, aún no se ha podido determinar si implica la presencia de virus viables y por lo tanto cuál es su papel en la transmisión de la infección, aunque se cree que es menor que por vía respiratoria ⁶.

Las medidas de seguridad para la recolección de las muestras se deben realizar según las recomendaciones oficiales de la OMS y Ministerio de Salud; a través de un equipo de protección individual (EPI) para la prevención de infección por microorganismos transmitidos por gotas y por contacto que incluya bata impermeable a fluidos, mascarilla FFP2, guantes y protección ocular (gafas o pantalla facial). La recolección de muestras

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MMyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

de vías bajas genera aerosoles por lo que es elevado el riesgo de contagio y debe realizarse con la protección y medidas adecuadas, además de la misma protección que para la recogida de muestras respiratorias de vías altas, se deben realizar en una habitación adecuadamente ventilada: como mínimo, ventilación natural con un flujo de aire de al menos 160 litros/segundo por paciente, o habitaciones de presión negativa con al menos 12 cambios de aire por hora ⁷.

La carga viral en nariz y faringe va ascendiendo desde el momento de la infección (inicio del periodo de incubación) hasta alrededor del 7º día y va disminuyendo a partir de ese día, pudiendo detectarse ARN viral tras la desaparición de los síntomas por un tiempo aún indeterminado. La RT-PCR puede detectar ARN viral desde unos días antes de la aparición de los síntomas, aumentando la probabilidad de positividad hasta ser máxima alrededor del 7º día y disminuyendo a partir de ahí hasta aproximadamente el final de la segunda semana. Por lo tanto, en los primeros días del periodo de incubación y tras la desaparición de los síntomas la carga viral es baja y puede no ser detectada por la PCR por estar por debajo del umbral de detección ⁶.

Diversos estudios han demostrado, que las pruebas moleculares basadas en amplificación isotérmica mediada en lazo de transcriptasa inversa (RT-LAMP) podrían mostrar mayor sensibilidad y especificidad que las pruebas RT-PCR, además de ser más rápidas y no requerir reactivos o instrumentos costosos ⁴.

Las pruebas RT-LAMP fueron desarrolladas para identificar con mayor frecuencia el gen N (04 estudios), seguido de los genes ORF1a y N (02 estudios), gen RdRp (01 estudio), gen ORF1a (01 estudio) y genes ORF1ab y S (01 estudio). Existió variabilidad en los protocolos seguidos en cada estudio. Comparado con RT-PCR, las pruebas RT-LAMP

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

desarrolladas en los estudios identificados mostraron una sensibilidad entre 80% y 100%, y una especificidad entre 73% y 100% para el diagnóstico de SARS-CoV-2².

Es una prueba más sensible de los métodos disponibles⁷. Es una técnica de referencia y elección para el diagnóstico de COVID-19, ensayo de primera línea de despistaje, con una tasa de aciertos del 95%, o sea una especificidad de casi el 100% y sin reactivada cruzada con otros virus y coronavirus⁸.

La estrategia más eficiente para diagnosticar el COVID-19 en pacientes sospechosos debe combinar los hallazgos de la RT-PCR con datos clínicos y epidemiológicos (probabilidad de exposición, síntomas y signos) y la radiología torácica (la más sensible es el TAC), ya que las alteraciones radiológicas en el COVID-19 son a veces más precoces que la positividad de la RT-PCR. Como se ha comentado, se debe repetir la RT-PCR en pacientes con uno o más resultados negativos y alta sospecha de COVID-19⁹.

En Estados Unidos (EEUU) el Xpert Xpress SARS-CoV-2® (Cepheid) es el primer test de diagnóstico rápido (TDR) o point-of-care de rRT-PCR que ha obtenido la aprobación EUA (Autorización para Uso en Emergencias) de la FDA. Utiliza muestras nasofaríngeas y ofrece resultados en 45 minutos. Aunque no es necesario enviar las muestras al laboratorio, se ejecuta en máquinas automatizadas de las que no es fácil disponer. Y tiene el inconveniente de que solo puede procesar las muestras de una en una¹⁰.

Algunas de las pruebas rápidas de PCR en desarrollo utilizan la amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa¹¹ (RT-LAMP, del inglés reverse transcription loop-mediated isothermal amplification), una nueva técnica de amplificación y detección de ácidos nucleicos para el diagnóstico de agentes infecciosos. Tiene las ventajas de

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MMyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

funcionar a una temperatura constante, ser menos compleja y precisar menos energía que la PCR convencional ¹².

Tomando en cuenta el escenario pandémico actual por COVID-19 y las condiciones limitadas de infraestructura y personal especializado para diagnóstico confirmatorio de laboratorio a nivel nacional. LAMP resulta ser una de las alternativas más adecuadas para la detección molecular del virus SARS-CoV-2 ¹³.

Luego del Proceso de transferencia tecnológica del método en mención, se deberá elaborar la Guía Técnica del Procedimiento Operativo Estándar del Método de Transcripción Reversa – Amplificación Isotérmica mediada por Lazo (RT-LAMP) con la finalidad de realizar la Detección molecular del virus SARS – CoV – 2, en el Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular -Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular - del Hospital Nacional Hipólito Unanue, para el diagnóstico de Covid-19, de pacientes sospechosos de esta enfermedad, cumpliendo con las disposiciones y requisitos exigidos por el Instituto Nacional de Salud.

Este proceso de Transferencia Tecnológica se inició con la capacitación del personal del laboratorio del Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica - Servicio de Microbiología, Inmunología y Biología Molecular - del Hospital Nacional Hipólito Unanue, y se entregó, con fecha 21/09/2020, la constancia de transferencia tecnológica para la detección molecular del virus SARS –CoV-2, por haber cumplido satisfactoriamente los requisitos para realizar el método de transcripción reversa – amplificación isotérmica mediada por lazo (RT-LAMP), para la detección del virus SARS-CoV-2, en pacientes con sospecha de Covid-19 ¹⁴.

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

II. Ámbito de aplicación

El presente Procedimiento Operativo Estándar del Método de Transcripción Reversa – Amplificación Isotérmica mediada por Lazo (RT-LAMP) para la Detección molecular del SARS – CoV – 2, deberá ser aplicado en el Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular del Hospital Nacional Hipólito Unanue, donde el personal profesional Biólogo y técnico de laboratorio del Laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular, ejecutará el ensayo con muestras humanas respiratorias de hisopado nasal y faríngeo, para la detección in vitro del genoma ¹⁵.

III. Base legal

1. Ley No 26842, “Ley General de Salud”.
2. Ley N° 27815 - Ley del Código de Ética de la Función Pública.
3. Decreto Supremo N° 013-2006-SA, Reglamento de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo; y, su modificatoria.
4. Decreto Supremo N° 008-2017-SA, Reglamento de Organización y Funciones del Ministerio de Salud; y, sus modificatorias.
5. Decreto Legislativo N° 1161, Ley de Organización y Funciones del Ministerio de Salud
6. Decreto de Urgencia N° 039-2020, Decreto de Urgencia que dicta medidas complementarias para el sector salud en el marco de la emergencia sanitaria por los efectos del Coronavirus (COVID-19); y, su modificatoria.
7. Resolución Ministerial N° 703-2006/MINSA, Norma Técnica de Salud N° 050–MINSA/DGSP-V01 Norma Técnica de Salud para la Acreditación de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo.

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZECARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

8. Resolución Ministerial N° 627-2008-MINSA, que aprueba la NTS N° 072-2008/MINSA/DGSP: V.01. Norma Técnica de Salud de la Unidad Productora de Servicios de Patología Clínica.
9. Resolución Ministerial N° 141-2020-MINSA, que aprueba la Directiva Sanitaria N° 088-MINSA/2020/CDC: “Directiva Sanitaria para la implementación y funcionamiento de los Equipos de Respuesta Rápida (ERR) que realizan Vigilancia Epidemiológica de casos sospechosos de COVID-19”.
10. Resolución Ministerial N° 182-2020-MINSA, que aprueba el Documento Técnico: Lineamientos que refuerzan cuidado integral de salud en el 1er nivel de atención en el contexto de la Pandemia COVID-19.
11. Resolución Ministerial N° 193-2020/MINSA, que aprueba el Documento Técnico: Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de personas afectadas por COVID-2019 en el Perú; y, su modificatoria.
12. Resolución Ministerial N° 255-2020-MINSA, que aprueba el Documento Técnico: Lineamientos para el fortalecimiento de acciones de respuesta en establecimientos de salud, redes de salud y oferta móvil frente al COVID-19 (en fase de transmisión comunitaria), en el marco de la alerta roja declarada por Resolución Ministerial N° 225-2020- MINSA.

IV. Disposiciones generales

4.1. Definiciones operativas

Control Positivo: ARN positivo de aislamientos virales de referencia o preparados en el laboratorio.

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

Control Negativo: ARN a partir de hisopados nasal y faríngeos de personas clínicamente sanas.

NTC: Siglas de “No Template Control”, tubo de reacción utilizado como control que contiene la mezcla de reacción completa excepto de ácidos nucleicos (ARN o ADN) o molde para la amplificación.

Primer o cebador: Es una secuencia corta de ácido nucleico que contiene un grupo 3' hidroxilo libre que forma pares de bases con una hebra molde complementaria y actúa como punto de inicio para la adición de nucleótidos con el fin de copiar la hebra molde. Para la RT-LAMP se utilizan 3 juegos de primers los cuales son: FIB, BIP, F3, B3, LF, LB.

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.

4.1.1. Siglas

B3: Primer Revers externo

BIP: Primer Revers interno

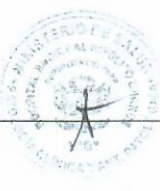
EPP: Equipo de Protección Personal

F3: Primers Forware externo

FIB: Primers Forware interno

LB: Primer Revers loop

RT – LAMP: Transcripción Reversa – Amplificación Isotérmica Mediana por Lazo.

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

4.2. Fundamento del método

La transcripción reversa acoplada a la amplificación mediada por lazo (RT- LAMP), permite el uso de ARN como molde, la detección y amplificación de ARN de coronavirus COVID-19.

El ARN es transcrito de forma inversa a ADN complementario (cADN) y amplificado por las enzimas Bst 2.0 Warm Start DNA Polymerase y la WarmStart RTx Reverse Transcriptase ADN, las cuales realizan su actividad a una temperatura de 65°C (reacción isotérmica), temperatura a la cual los primers también se adhieren a la cadena objetivo y amplifican el gen de interés generando un cambio en el pH de la reacción y visualizando por cambio de color el resultado.

V. Disposiciones específicas

5.1. Desarrollo del método de ensayo

5.1.1. Aspecto de bioseguridad

La prueba de RT-LAMP en tiempo real se realiza en el laboratorio de Micobacterias y Biología Molecular (Laboratorio del CENEX del HNHU), en ambientes de Nivel de Bioseguridad II, según lo detallado en el ITT-CNSP-455: Instrucciones de bioseguridad para el laboratorio de microbiología y biomedicina del centro nacional de salud pública.

Para el desarrollo de esta técnica se deben de tomar en cuenta la disponibilidad de 2 ambientes: 1) Área técnica para el proceso de extracción de ARN y Amplificación, y 2) Área de preparación de los reactivos de la mezcla de reacción (Mix) para el PCR (Área Limpia- LBBM).

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

5.1.2. Tipos de muestras

- Muestras primarias Hisopado nasal y faríngeo.
- Considerar otros aspectos de acuerdo con el ITT-CNSP-385: Obtención, conservación y envío de muestras para el diagnóstico de virus respiratorio.2

5.1.3. Material de referencia

Controles Positivos.

Controles (OPS): ARNs positivos de coronavirus COVID-19

5.1.4. Equipos e insumos requeridos (trazabilidad metrológica)

5.1.4.1. Equipos / instrumentos

- Cabina de bioseguridad clase IIA.
- Estación de trabajo para PCR.
- Termobloque
- Microcentrifuga no refrigerada.
- Refrigeradora 2 a 8°C.
- Congelador -20 °C
- Congelador -80 °C
- Vortex
- Micropipeta de 0.5 – 10 µL
- Micropipeta de 20 - 200 µL
- Micropipeta de 100 – 1000 µL
- Micropipeta de 2 – 20 µL

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MiyBM M.C:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

5.1.4.2. Insumos

5.1.4.2.1. Materiales

- Puntas con filtro estériles de 0.5 a 10 µL
- Puntas con filtro estériles de 20 - 200 µL
- Puntas con filtro estériles de 2 - 20 µL
- Puntas con filtro estériles de 1000 µL
- Gradilla para tubos de 1.5 mL
- Gradilla para tubos de 0.2 mL
- Tubos para centrifuga de 1.5 mL libres de ARNasas y ADNasas.
- Tubos para centrifuga de 0.2 mL libres de ARNasas y ADNasas.
- Tubo de polipropileno de 15 mL
- Tubo de polipropileno de 50 ML
- Cajas Criogénicas
- Parafilm

5.1.4.2.2. Reactivos

- Kit para extracción manual de RNA viral.
- Kit de detección colorimétrica LAMP.
- Primers LAMP
- Agua destilada ultra pura de grado molecular (libre de RNasa y DNasa)

5.1.5. Especificaciones técnicas

5.1.5.1. Criterios de la prueba

Negativo: Color rojo (R)

Positivo: Color amarillo (A)

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISIÓN: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

5.1.6. Interferencias y reacciones cruzadas

- Muestras que no se encuentran en cadena de frio.
- Muestras contaminadas.
- Muestras con hisopos de madera o alginato.
- Condiciones Ambientales (amplicones, polvo)
- Baja concentración de ARN.

5.1.7. Fuentes potenciales de variabilidad

- Almacenamiento inadecuado de reactivos.
- Inadecuada preparación de reactivos: buffer de lisis, controles positivos, control negativo y mix de RT- LAMP.

5.1.8. Condiciones previas

5.1.8.1. Preparación de reactivos y materiales

- Realizar la limpieza de superficies de trabajo, pipetas y centrifugas con productos como: alcohol 70 % o solución comercial que elimine contaminantes, como ácido nucleico para minimizar el riesgo de contaminación.
- La cabina de bioseguridad, antes de iniciar la extracción de ARN debe ser limpiada con solución de descontaminación comercial o alcohol de 70% y colocar los materiales mínimos necesarios y pipetas a ser utilizadas e irradiar con luz ultravioleta durante 15 minutos.
- La cabina de PCR del área limpia, antes de iniciar la preparación de la mezcla de reacción se debe limpiar con solución de descontaminación comercial o alcohol del

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

70% e irradiar con luz ultravioleta durante 15 minutos con la finalidad de eliminar contaminantes.

- d) La cabina para carga de ARN, debe ser limpiada con solución de descontaminación comercial o alcohol del 70% y colocar las puntas para micropipetas, las micropipetas a ser utilizadas e irradiar con luz ultravioleta durante 15 minutos.

Nota: Esto se realizará cada vez que se procese las muestras.

- e) El termo bloque o termociclador será limpiado después de su uso con solución de descontaminación (alcohol a 70% o alguna solución comercial que elimine contaminantes).
- f) Los reactivos deben ser previamente descongelados y conservados en cadena de frio.
- g) Otros:
- Mantener temperatura ambiental del laboratorio entre 19 a 25 °C.
 - Verificar el funcionamiento de los equipos.

5.1.9. Procedimiento

Utilizar el formato de Protocolo de trabajo de extracción de ADN/ARN de virus influenza y otros virus respiratorios para registrar los códigos de las muestras, FOR-CNSP-610: Registro de resultados para LAMP.

5.1.9.1. Extracción de ARN:

El procesamiento de extracción se realiza en el ambiente de Nivel de Bioseguridad III
Homogenizar la muestra con el agitador de tubos por 10 a 15 segundos.

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

5.1.9.1.1. Extracción de ARN manual (GenElute™ Kit de Purificación de ARN 9 Es total. Sigma-Aldrich. Merck).

- Transfiera hasta 100 ul de suspensión viral a un tubo microcentrífugo sin RNAsa (no suministrado).
- Añada 350 uL de tampón RL. Lise las células virales por vórtexado durante 15 segundos.
- Añade 200ul de etanol 96 100% (proporcionado por el usuario) al lisado. Mezclar por medio de vórtice durante 10 segundos.
- Ensamblar una columna con uno de los tubos de recolección proporcionados.
- Aplique hasta 600 ul del lisado con el etanol en la columna y centrifugue durante 1 minuto a 6,000 rpm.
- Luego centrifugar durante un minuto adicional a 14.000 rpm.
- Aplique a la columna usada en el paso anterior 400 uL de Solución de Lavado “A” a la columna y centrifugue durante 1 minuto. Asegúrense de que toda la solución de etanol ha pasado por el tubo de recogida.
- Repita los pasos para lavar la columna dos veces más.
- Después del lavado final, centrifugar la columna durante 2 minutos para secar bien la resina. Deseche el tubo de recolección.
- Colocar la columna en un tubo de elución de 1,7 mL suministrado con el kit.
- Añadir 50 uL de Solución de Elusión “A” a la columna. Centrifugar durante 2 minutos a 2.000 rpm, seguido de 1 minuto a 14.000 rpm.

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

5.1.9.1.2. Preparación de la mezcla de reacción:

- La preparación de la mezcla de reacción se realiza en el área limpia del laboratorio de Biología Molecular (LBM-NBS-II).
- Reconstituir los primer LAMP agregando H₂O PCR a cada tubo de primers LAMP liofilizados llevándolos a una concentración de 100 puM. Una vez reconstituidos los primers se prepara el Mix de primer LAMP (Tabla 1).
- Calcular los volúmenes de los reactivos según el número de muestras a evaluar (Tabla 2).

Tabla 1: Mix de primers LAMP

Solución de reserva (Elución 100 uM)	Volumen (µL)
FIP	16.0
BIP	16.0
F3	2.0
B3	2.0
LOOP F	4.0
LOOP B	4.0
H ₂ O PCR	56.0
Volumen final	100

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA			



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

Tabla 2: Mezcla de reacción

REACTIVOS	Volumen para una reacción (µL)
Kit de Warm Start Colorimetric LAMP 2X	12.5
Master Mix Typical LAMP	
Mix de primers LAMP	2.5
H2O PCR	5
ARN (Agregar en área de cargado)	5
Volumen Final	25

- Colocar los tubos de 0.2 mL, en sus respectivos soportes y distribuir 20 uL de la mezcla de reacción en los tubos.
- Agregar 5 uL agua de PCR en el primer tubo, tapar todos los tubos de la mezcla de reacción (NTC).
- Trasladar al área de procesamiento y almacenar en refrigeración 2 a 8 °C, hasta el cargado del ARN.

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

5.1.9.1.3. Cargado de material ARN:

- Este proceso se realiza en el Laboratorio de NBS-III. Mezclar suavemente con micropipeta los ARN extraídos o agitador de tubos y agregar 5 HL de ARN extraídos al mix de reacción LAMP según corresponda, siguiendo el orden del protocolo de trabajo. (Volumen final 25 HL).
- Agregar 5 uL del control negativo (CN)
- Agregar 5 uL del control positivo (CP). Cerrar firmemente la tapa de cada tubo y colocar en el termobloque.

5.1.9.1.4. Amplificación

- Programar el termobloque o termociclador a una temperatura de 65°C por 45 minutos.
- Una vez transcurrido el tiempo de incubación retirar los tubos del termobloque o termociclador y visualizar los resultados.
- Programar el termobloque o termociclador a una temperatura de 85°C por 5 minutos y colocar nuevamente los tubos para la inactivación de la reacción.
- Una vez transcurrido el tiempo de incubación realizar la lectura de los resultados

5.2. Informe de resultados

- Muestra Positiva: Color de reacción amarilla, se reportará como Covid-19.
- Muestras Negativas: Color de reacción roja y color de reacción roja para el control interno, se reportará como negativo a Covid-19.

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION Nº 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

- Aquellas muestras que presenten coloración intermedia en la reacción (color naranja), tendrán que ser repetidas.
- El analista registra los resultados en el formato de: 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 final del Registro de resultados para LAMP.

5.3. Interpretación de resultados

- a) El Control NTC, debe presentar un color de reacción roja sin coloraciones intermedias.
- b) Los Controles Positivo (CP), deben presentar un color de reacción amarilla sin coloraciones intermedias. Se debe cambiar de control si este presenta coloración intermedia. Si se visualiza una coloración roja se puede deber a por problemas en los reactivos o en el cargado del control.
- c) El Control negativo (CN), deben presentar un color de reacción rojo sin coloraciones intermedias.

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MMyBM M.C.:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR



GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

5.4. Formularios

- Protocolo de trabajo de extracción de ADN/ARN de virus Influenza y otros virus respiratorios (ver anexo 3).
- Registro de resultados para LAMP (ver anexo 4).

5.5. Referencias

- DOC-EXT-CNSP-966: GenElute™ Kit de Purificación de ARN total. Sigma-Aldrich. Merck.
- DOC-EXT-CNSP-962: Qubit® RNA Assay Kit.
- DOC-EXT-CNSP-961: Inserto WarmStart Colorimetric LAMP-2X Master Mix Typical LAMP Protocol (M1800).
- EXT-CNSP-007: BD Universal Viral transport.
- EXT-CNSP-863: REMEL Micro Test TM M4RT Medio multimicrobiano.
- EXT-CNSP-673: Copan universal Transport medium system (UTM-RT).
- Wang W 1, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, WuG, Tan W, Detection of SARS-Cov-2 in Different Types of Clinical Specimens, JAMA 020,323(18): 1843-1844, doc:10.1001/jama 2020.3786.

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA			





- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

VI. Responsabilidades

a) **Del Médico Patólogo Clínico:** Coordinación y Supervisión de las etapas preanalítica, analítica y post-analítica de la Prueba Molecular (RT-LAMP) , para la detección del virus SARS-COV-2

- En la etapa preanalítica:

- 1.- Supervisión del registro de datos de las fichas epidemiológicas
- 2.- Supervisión del cumplimiento de los criterios de aceptación y rechazo de las muestras de hisopado nasal y faríngeo.
- 3.- Supervisión del Ingreso de datos al Sistema informático NETLABv2 del INS.

- En la etapa analítica:

- 4.- Supervisión del proceso de RT-LAMP, según POE
- 5.- Supervisión de la elaboración de los protocolos de extracción y de resultado

- En la etapa pos-analítica:

- 6.- Correlación clínico-laboratorial de los resultados emitidos en cada protocolo de LAMP.
- 7.- Validación de resultados en el sistema informático NETLABv2 del INS (si hubiera alguna observación se comunica al analista quien toma las acciones correspondientes).
- 8.- Entrega de reporte estadístico diario de las muestras tomadas, procesadas con sus respectivos resultados en físico y a través de correo electrónico.
- 9.- Envío de reporte de consumo diario de medios de transporte viral a la Diris Lima Este

Médicos Patólogos clínicos responsables:

M.C. Rosa Vilma Acurio Usca

M.C. Mirella Zegarra Moreno

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO LMyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR



GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

b) Del Biólogo: Responsables del Proceso Analítico de Prueba Molecular (RT-LAMP), de la lectura e interpretación colorimétrica de los resultados

- 1.- Preparación del protocolo y Alicuotado de las muestras de hisopado nasofaríngeo en viales.
- 2.- Extracción del ARN manual
- 3.- Preparación de la mezcla de reacción y Mix Primers
- 4.- Amplificación isotérmica, lectura e interpretación colorimétrica de los resultados
- 5.- Registro de los resultados en el sistema informático NETLABv2 para la validación respectiva.
- 6.- Entrega diaria del reporte de consumo de kit de extracción, del reactivo Lamp y de los primers, para el envío al INS.

Biólogos responsables:

Lic. Marilú Jesús Farfán Salazar

Lic. Sylvia Denisse Gutiérrez Asin

Lic. Víctor Wilder De la Cruz Grimaldo

Lic. Jesús Gabriel Basurto Bustos

Lic. Melissa Yvon Carrascal Huyhua

Lic. Gustavo Adolfo Valdivieso Díaz

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

c) Del Técnico de Laboratorio: Responsables de la Recepción de Muestras de Hisopado Nasofaríngeo para el proceso de la prueba molecular RT-LAMP, para la detección del virus SARS-COV-2

- 1.- Revisar que las fichas epidemiológicas tengan datos completos
- 2.- Que las muestras cumplan con criterios de aceptación.
- 3.- Cumplir con el registro adecuado de datos al Sistema NETLABv2 del INS.
- 4.- Elaboración de base de datos de pacientes ingresados de acuerdo a cuadros estandarizados en el servicio.
- 5.- Impresión de resultados y entrega con cargo a los servicios solicitantes.

Técnicos de Laboratorio responsables:

Tec. Laboratorio. Inés Rivera Mendoza

Tec. Laboratorio. Janeth Pacheco Soto

Tec. Laboratorio. Pamela Condor Gamarra

Tec. Laboratorio. Rosa Mary Tomás Quispe

Tec. Laboratorio. Nelson Palomino Melendez

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

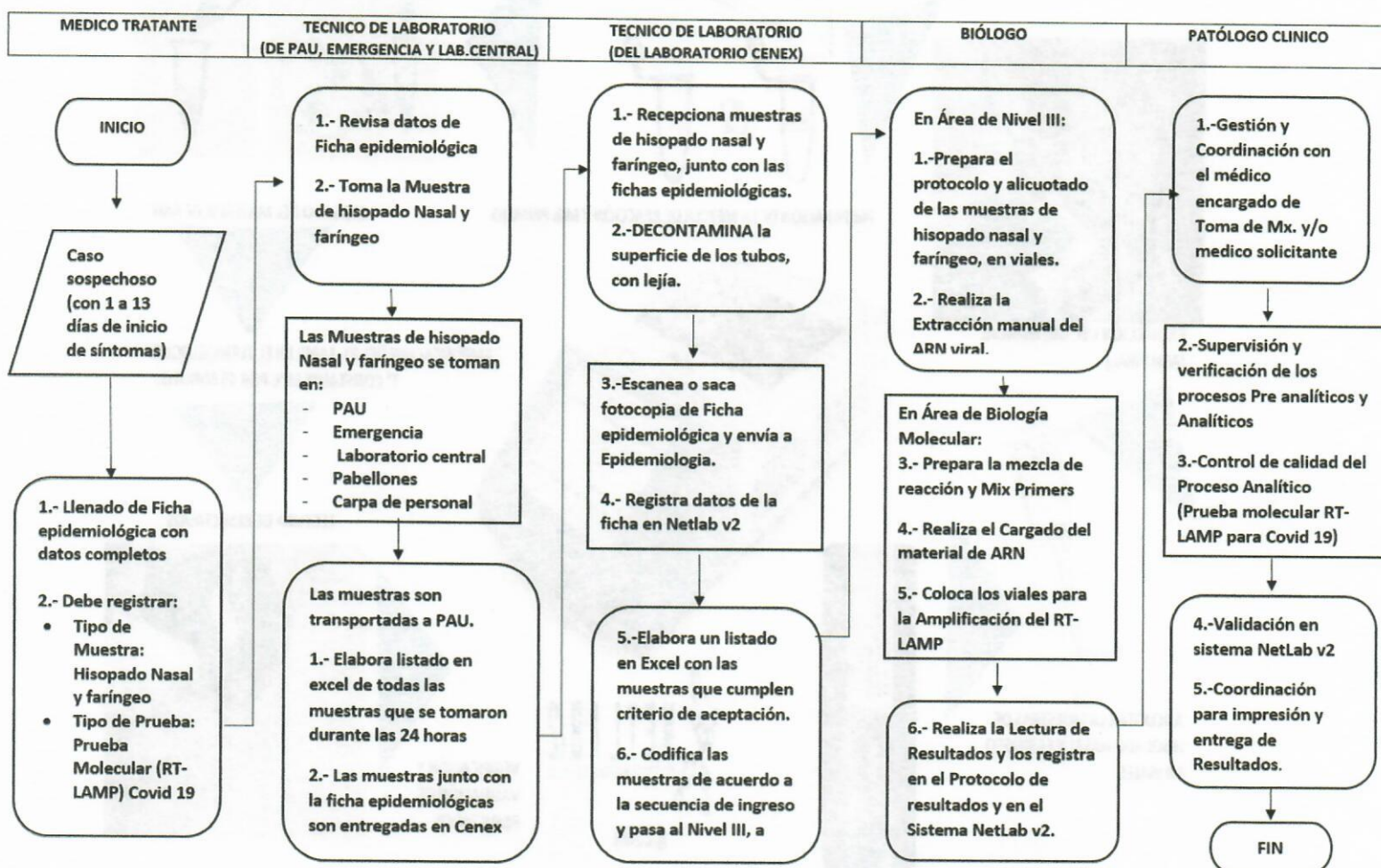
VII. Anexos

ANEXOS 1: Fluxograma de pruebas moleculares de casos sospechosos de covid-19.

HOSPITAL NACIONAL HIPOLITO UNZUE

DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLINICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

FLUXOGRAMA DE ATENCION DE PRUEBAS MOLECULARES DE CASOS SOSPECHOSOS DE COVID 19 PARA MODULO, UNIDADES CRITICAS, PABELLONES Y TRABAJADORES DE SALUD DEL HHU



	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA			



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

ANEXO 2: Fluxograma del procedimiento

FLUJOGRAMA DEL PROCEDIMIENTO RT-LAMP PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2



	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA			



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

ANEXO 3: protocolo de trabajo de extracción de ADN/ARN de virus influenza y otros virus respiratorios

	FORMULARIO	FOR-CENEX/HHNU-025
	PROTOCOLO DE TRABAJO DE EXTRACCION DE ADN/	Edición N° 01
		Página 30 de 31

Área: Lab. Referencia Nacional Virus Respiratorios – NBS-II

Responsable: _____ Lote y Marca de Kit extracción: _____

Fecha de extracción: _____ Equipo: _____

Limpieza de equipo con alcohol de 70% ☐

Nº Orden	Cod_INS
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	

Nº Orden	Cod_INS
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	

Observaciones:.....

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MMyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA			





- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

ANEXO 4: Registro de resultados para LAMP

	FORMULARIO	FOR-CENEX/HNHU-26
	REGISTRO DE RESULTADOS PARA LAMP	Edición N° 01
		Página 30 de 31

Responsable del método de ensayo: _____

Fecha: ____/____/____

N° de Protocolo: _____

N°	Apellidos y nombres del paciente.	Código	COVID-19		Resultado final
			Gen:		
			Cambio de color	Sin cambio de color	
			CONTROL POSITIVO	CP	
CONTROL NEGATIVO	CN				
CONTROL DE EXTRACCION	CE				
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	





- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

ANEXO 5: Ficha de investigación clínico-epidemiológica de COVID-19

DIRECTIVA SANITARIA N° 122 -Minsa/2020/CDC
DIRECTIVA SANITARIA PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA ENFERMEDAD POR CORONA VIRUS (COVID-19) EN EL PERÚ
Anexo 1: Ficha de investigación clínico epidemiológica de COVID19

PERU Ministerio de Salud Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades		FICHA DE INVESTIGACIÓN CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICA COVID-19	
I. DATOS GENERALES DE LA NOTIFICACIÓN			
1. Fecha notificación: ____/____/____	4. Inst. Adm: ☐ MINSA		
2. GERESA/DIRESA/DIRIS: _____	☐ EsSalud		
3. IPRESS: _____	☐ FFAA / PNP		
5. Clasificación del caso: ☐ Confirmado ☐ Probable ☐ Sospechoso	☐ Privado		
II. DATOS DEL PACIENTE			
6. Apellidos y nombres: _____		7. N° Teléfono: _____	
8. Fecha de nacimiento: ____/____/____	9. Edad: ____ Años ____ Meses ____ Días		
10. Sexo: ☐ Masculino ☐ Femenino	11. N° DNI/CE/Pasaporte: _____		
12. Peso: ____ gramos	13. Talla: ____ metros		
14. Etnia o raza: ☐ Mestizo ☐ Andino ☐ Asiático descendiente			
☐ Afrodescendiente ☐ Indígena amazónico ☐ Otro			
15. Nacionalidad: ☐ Peruano ☐ Extranjero	País de nacionalidad: _____		
16. Migrante: ☐ Si ☐ No	País de origen: _____		
17. Dirección de residencia actual: _____		País: _____	
Departamento: _____	Provincia: _____	Distrito: _____	
III. ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS Y PATOLÓGICOS			
18. Fecha de inicio de síntomas: ____/____/____		Fecha de inicio de aislamiento: ____/____/____	
19. Lugar probable de infección: _____			
Departamento: _____		Provincia: _____	Distrito: _____
20. Síntomas:			
☐ Tos	☐ Malestar general	☐ Dolor de oído	
☐ Dolor de garganta	☐ Diarrea	☐ Irritabilidad/confusión	
☐ Congestión nasal	☐ Náuseas/vómitos	☐ Dolor Marque todos los que aplica:	
☐ Dificultad respiratoria	☐ Cefalea	☐ Muscular	☐ Pecho
☐ Fiebre	☐ Anosmia	☐ Abdominal	☐ Articulaciones
☐ Escalofrío	☐ Ageusia		
Otros, especificar: _____			
21. Signos:			
☐ Exudado faríngeo	☐ Disnea/taquipnea	☐ Hallazgos anormales en radiografía	
☐ Inyección conjuntival	☐ Auscultación pulmonar anormal	☐ Hallazgos anormales en ecografía	
☐ Convulsión		☐ Hallazgos anormales en tomografía	
Otros, especificar: _____		☐ Hallazgos anormales en RMN	
22. Condiciones de comorbilidad o factores de riesgo			
☐ Embarazo (Edad gestacional: _____)		☐ Post parto/aborto (< 6 semanas o 42 días)	
☐ Enfermedad cardiovascular (incluye hipertensión)		☐ Inmunodeficiencia (incluye VIH)	
☐ Diabetes		☐ Enfermedad renal	
☐ Enfermedad hepática		☐ Enfermedad pulmonar crónica	
☐ Enfermedad crónica neurológica o neuromuscular		☐ Asma	
☐ Obesidad		☐ Cáncer	
☐ Tuberculosis			
Otros, especificar: _____			
23. Fecha de culminación del embarazo: ____/____/____			

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA			



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

DIRECTIVA SANITARIA N° 122 -Minsa/2020/CDC

DIRECTIVA SANITARIA PARA LA VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA ENFERMEDAD POR CORONAVIRUS (COVID-19) EN EL PERÚ

24 Ocupación				
☐ Trabajador de Salud	Si es trabajador de salud, especifique profesión			
☐ Policía	☐ Médico			
☐ Militar	☐ Enfermera			
☐ Estudiante	☐ Obstetra			
☐ Otros especifique	☐ Laboratorista			
	☐ Técnico en enfermería			
	☐ Otros			
25 Lugar de trabajo				
IPRESS				
Departamento				
Provincia				
Distrito				
26 ¿Ha tenido contacto directo con un caso sospechoso, probable o confirmado en los 14 días previos al inicio de síntomas?				
☐ Si ☐ No ☐ Desconocido				
Si la respuesta es si, marque según corresponda				
☐ Entorno de salud	☐ Entorno familiar	☐ Entorno laboral		
☐ Casa de reposo	☐ Centro penitenciario	☐ Albergue		
☐ Desconocido	☐ Otros, especifique			
IV. HOSPITALIZACIÓN (Si fue hospitalizado, complete la siguiente información)				
27 Hospitalizado ☐ Si ☐ No		28 Fecha de hospitalización: ____/____/____		
29 Nombre del Hospital: _____		Tipo de seguro: _____		
30 Diagnóstico de ingreso: _____				
31 Signos				
☐ Convulsión	☐ Coma	☐ Hallazgos anormales en radiografía		
☐ Disnea/taquipnea	☐ Auscultación pulmonar anormal	☐ Hallazgos anormales en ecografía		
☐ Otros, especifique: _____		☐ Hallazgos anormales en tomografía		
		☐ Hallazgos anormales en RMN		
32 Servicio de hospitalización: ☐ Sala de aislamiento ☐ UCI ☐ Otro				
33 El paciente estuvo en ventilación mecánica: ☐ Si ☐ No ☐ Desconocido				
34 ¿El caso está o estuvo intubado en algún momento durante la enfermedad? ☐ Si ☐ No				
35 ¿El caso tiene o tuvo diagnóstico de neumonía durante la enfermedad? ☐ Si ☐ No				
VI. EVOLUCIÓN				
36 Evolución del paciente: ☐ Favorable ☐ Desfavorable ☐ Falleció ☐ Alta				
37 Fecha de alta, si aplica: ____/____/____				
38 Fecha de defunción, si aplica: ____/____/____				
39 Hora de defunción: _____				
40 Lugar de defunción				
☐ Hospital / Clínica	☐ Vivienda			
☐ Centro de aislamiento temporal	☐ Centro penitenciario			
☐ Vía pública	☐ Otros			
V. LABORATORIO				
41 Fecha de toma de muestra: ____/____/____	42 Tipo de muestra: _____	43 Tipo de prueba	44 Resultado	45 Fecha resultado: ____/____/____
		☐ Prueba molecular	☐ Positivo	
		☐ Prueba antigénica	☐ Negativo	
		☐ Prueba serológica		
2 ____/____/____		☐ Prueba molecular	☐ Positivo	
		☐ Prueba antigénica	☐ Negativo	
		☐ Prueba serológica		
3 ____/____/____		☐ Prueba molecular	☐ Positivo	
		☐ Prueba antigénica	☐ Negativo	
		☐ Prueba serológica		
VI. INVESTIGADOR				
46 Persona que llena la ficha: _____				
47 Firma y sello: _____				

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA			



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

VIII. Bibliografía

1. Precisión diagnóstica de Pruebas basadas en amplificación isotérmica mediada en lazo de transcriptasa inversa (RT-LAMP) para SARS-CoV-2. Serie Revisiones rápidas N° 08-2020. INS R.D
2. OPS/OMS Organización Panamericana de la Salud [Internet]. Paho.org. 2018 [citado el 19 de enero de 2021]. Disponible en <https://www.paho.org/es/respuesta-emergencia-por-covid-19-peru>
3. Coronavirus en Perú: "Vamos a mantener la calma y confiar en el sistema de salud", dice Martín Vizcarra. El comercio [Internet]. 2020 [citado 25 enero 2020];. Disponible en <https://elcomercio.pe/peru/coronavirus-en-peru-martin-vizcarra-confirma-primer-caso-del-covid-19-en-el-pais-nndc-noticia/>
4. Minsa: Casos confirmados por coronavirus Covid-19 ascienden a 980 943 en el Perú (Comunicado N°351) [Internet]. Lima. Perú: MINSA [citado el 28 de enero de 2021]. Disponible en <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/320282-minsa-casos-confirmados-por-coronavirus-covid-19-ascienden-a-980-943-en-el-peru-comunicado-n-351>
5. Specimens for COVID-19 [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 [citado el 27 de enero de 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html>

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MMyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA			



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

6. Novel Coronavirus (2019-nCoV) technical guidance: Laboratory testing for 2019-nCoV in humans [Internet] World Health Organization [citado el 27 de enero de 2021]. Disponible en <https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501>
7. Lippi, G., Simundic, A.-M., & Plebani, M. (2020). Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 0(0). <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0285>
8. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. New England Journal of Medicine [Internet]. Disponible en <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmc2001737>
9. Jason Chin-Huat YAP, Yi I, Hui S, Jacinta I-Pei CHEN, Ruth Frances LEWIS, YANG Q, et al. COVID-19 Science Report: Diagnostics. [Internet]. 2020 [citado el 27 de enero de 2021]. Disponible en <https://scholarbank.nus.edu.sg/handle/10635/164812>
10. Nguyen T, Duong Bang D, Wolff A. 2019 Novel Coronavirus Disease (COVID-19): Paving the Road for Rapid Detection and Point-of-Care Diagnostics. Micromachines [Internet]. 2020 [citado el 27 de enero de 2021];11(3):306. Disponible en <https://doi.org/10.3390/mi11030306>
11. Lamb LE, Bartolone SN, Ward E, Chancellor MB. Rapid Detection of Novel Coronavirus (COVID-19) by Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification. 2020 [citado el 27 de enero de 2021]; Disponible en <https://doi.org/10.1101/2020.02.19.20025155>

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204, POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.: BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MMyBM M.C.: PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA			



- DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA CLÍNICA Y ANATOMIA PATOLOGICA
- SERVICIO MICROBIOLOGIA, INMUNOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR
- LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR

GT de POE	TRANSCRIPCION REVERSA – AMPLIFICACION ISOTERMICA MEDIADA POR LAZO (RT-LAMP) PARA LA DETECCION MOLECULAR DE SARS-CoV2		
GT de POE-LMyBM-11	REVISION N° 001	FECHA DE REVISION: 25-09-2020	FECHA DE APLICACION: 28-09-2020

12. Yang T, Wang Y-C, Shen C-F, Cheng C-M. Point-of-Care RNA-Based Diagnostic Device for COVID-19. Diagnostics [Internet]. 2020 [citado el 27 de enero de 2021];10(3):165. Disponible en <https://doi.org/10.3390/DIAGNOSTICS10030165>
13. Silva SJR da, Pardee K, Pena L. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) for the Diagnosis of Zika Virus: A Review. Viruses [Internet]. 2019 [citado el 27 de enero de 2021];12(1):19. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31877989/>
14. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Eurosurveillance [Internet]. 2020 [citado el 27 de enero de 2021];25(3). Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31992387/>
15. Lu R, Wu X, Wan Z, Li Y, Zuo L, Qin J, et al. Development of a Novel Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Rapid Detection of SARS-CoV-2. Virologica Sinica [Internet]. 2020 [citado el 27 de enero de 2021];35(3):344–7. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7110266/>

	ADAPTADO DEL MET-CNSP-204 , POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
NOMBRE	M.C.: ROSA VILMA ACURIO USCA COORDINADORA DEL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS Y BIOLOGIA MOLECULAR M.C.: MIRELLA ZEGARRA MORENO	M.C.:BLANCA ELIZETT SIERRA CHAVEZ: JEFA DEL SERVICIO MlyBM M.C:PRISCILA K. ALTAMIRANO JEFA DEL DPTO. PCyAP	
FIRMA		 	