



RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Lima, 09 de mayo de 2025

Visto, el expediente N° 25-007733-001, que contiene el INFORME N° 163-2025-NG/INCEN, del Servicio de Neurogenética, INFORME N° 205-2025-INCEN-NP, del Departamento de Investigación, Docencia y Apoyo al Diagnóstico en Neuropatología, INFORME N° 298-2025-DEIDAEADT-INCEN, de la Dirección Ejecutiva de Investigación, Docencia y Atención Especializada en Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento, INFORME N° 092-2025-UO-OEPE/INCEN, de la Unidad de Organización de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico, PROVEÍDO N° 075-2025-OEPE/INCEN, de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico, y;

CONSIDERANDO:

Que, los numerales I y II del Título Preliminar de la Ley N° 26842 - Ley General de Salud, dispone que "La salud es condición indispensable del desarrollo humano y medio fundamental para alcanzar el bienestar individual y colectivo". La protección de la salud es de interés público, por tanto, es responsabilidad del Estado, regularla, vigilarla y promoverla";

Que, la Ley N° 27658, Ley del Marco de Modernización de la Gestión del Estado y sus Modificatorias, en su numeral 1.1, del artículo 1°, CAPITULO I, establece Declárase al Estado peruano en proceso de modernización en sus diferentes instancias, dependencias, entidades, organizaciones y procedimientos, con la finalidad de mejorar la gestión pública y construir un Estado democrático, descentralizado y al servicio del ciudadano, asimismo en el artículo 2° tiene como objeto establecer los principios y la base legal para iniciar el proceso de modernización de la gestión del Estado, en todas sus instituciones e instancias;

Que, mediante Ley N° 29414, Ley que establece los derechos de las personas usuarias de los servicios de salud precisando el alcance de los derechos al acceso a la atención integral de la salud que comprende la promoción, prevención, tratamiento, recuperación y rehabilitación, así como el acceso a la información y consentimiento informado;

Que, específicamente el numeral 15.3 del artículo 15° de la Ley precitada en el párrafo precedente, sobre la Atención y recuperación de la salud, dispone que toda persona tiene derecho a) A ser atendida con pleno respeto a su dignidad e intimidad sin discriminación por acción u omisión de ningún tipo; así como: b) A recibir tratamientos cuya eficacia o mecanismos de acción hayan sido científicamente comprobados o cuyas reacciones adversas y efectos colaterales le hayan sido advertidos;

Que, el artículo 126° del Reglamento de Organización y Funciones del Ministerio de Salud, aprobado mediante Decreto Supremo N° 008-2017-SA, menciona al Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas en su literal f); como Instituto especializado, son órganos desconcentrados del Ministerio de Salud, dependientes de la Dirección General de Operaciones en Salud, así como servicios de salud altamente especializados en Salud;

Que, el artículo 5° del Reglamento de Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo, aprobado mediante Decreto Supremo N° 013-2006-SA, establece que los establecimientos de salud y servicios médicos de apoyo deben contar en cada área, unidad orgánica o servicios con manuales de procedimientos, guías de práctica clínica referidos a la atención de pacientes, personal, suministros, mantenimiento, seguridad y otros que sean necesarios, según sea el caso;

Asimismo, el inciso s) del artículo 37° del citado Reglamento Interno establece que corresponde al Director Médico disponer la elaboración del Reglamento Interno, de las guías de práctica clínica y de los manuales de procedimientos referido a la atención de los pacientes, personal suministro, mantenimiento, seguridad y otros que sean necesarios;

Que, con Resolución Ministerial N° 787-2006-MINSA, se aprueba el Reglamento de Organización y Funciones del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, en su artículo 5° del Título I, tiene por Objetivo establecer la Organización del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, normando su naturaleza, visión, misión y objetivos funcionales generales, estructura orgánica y objetivos funcionales de sus Unidades Orgánicas;

Que, el artículo 39°, Director Ejecutivo de Investigación, Docencia y Atención Especializada en Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento, es la unidad orgánica encargada de lograr la innovación, la actualización, difusión y capacitación de los conocimientos, métodos y técnicas de la atención especializada en investigación, docencia y apoyo al diagnóstico y tratamiento;

Asimismo, el artículo 43° el Departamento de Investigación, Docencia y apoyo al Diagnóstico en Neuropatología, es la unidad orgánica encargada de lograr la innovación, actualización, difusión y capacitación de los conocimientos, métodos y técnicas de la atención especializada en Diagnóstico en Neuropatología, depende de la Dirección Ejecutiva de Investigación, Docencia y Atención Especializada en apoyo al Diagnóstico y tratamiento;



Que, mediante INFORME N° 163-2025-NG/INCN, del 22 de abril de 2025, el Jefe del Servicio de Neurogenética, remite la "Guía Técnica de Procedimiento para la Genotipificación del Microsatélite CAG del GEN ATXN3", el cual es trasladado a la Dirección Ejecutiva de Investigación, Docencia y Atención Especializada en Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento, con el INFORME N° 205-2025-INCN-NP, del jefe del Departamento de Investigación, Docencia y Apoyo al Diagnóstico en Neuropatología;



Que, mediante INFORME N° 298-2025-DEIDAEADT-INCN, del 24 de abril de 2025, el Director Ejecutivo de Investigación, Docencia y Atención Especializada en Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento, remite a la Dirección General del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, la Guía Técnica: "Procedimiento para la Genotipificación del Microsatélite CAG del GEN ATX3" CPMS 81180, asimismo solicita su revisión y posterior aprobación mediante acto resolutivo;

Que, el artículo 13° del Reglamento de Organización y Funciones del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, aprobado con Resolución Ministerial N° 787-2006/MINSA, establece que la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico es la unidad orgánica encargada entre otros, de Lograr el diagnóstico y análisis organizacional para formular y mantener actualizados los documentos de gestión en cumplimiento a las normas vigentes para organizar el Instituto Especializado;

Que, con el INFORME N° 092-2025-UO-OEPE/INCN, del 25 de abril del 2025, el jefe de la Unidad de Organización de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico, emite opinión técnica favorable acerca Documento Normativo - "Guía Técnica de Procedimiento para la Genotipificación del Microsatélite CAG DEL GEN ATXN3" CPMS 81180, elaborado por el servicio de Neurogenética, para su aprobación mediante acto resolutivo, que es refrendado con el PROVEÍDO N° 075-2025-OEPE/INCN, del 25 de abril de 2025, por el Director Ejecutivo de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico;

Que, a través de la Resolución Ministerial N° 826-2021/MINSA se aprueba las "Normas para la Elaboración de Documentos Normativos del Ministerio de Salud" que tiene por finalidad fortalecer el rol de Rectoría del Ministerio de Salud, ordenando la producción normativa de la función de regulación que cumple como Autoridad Nacional de Salud (ANS) y el objetivo de establecer las disposiciones relacionadas con las etapas de planificación, formulación o actualización, aprobación, difusión, implementación y evaluación de los Documentos Normativos que expide el Ministerio de Salud; así como específicamente de establecer la aplicación de etapas estandarizadas, transparentes y explícitas para la emisión de (DN), y brindar herramientas que facilite el desarrollo de sus funciones normativas;





RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Lima, 09 de mayo de 2025

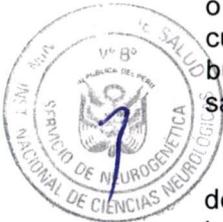
Que, mediante la Resolución Directoral N° 077-2023-DG-INCN, se resuelve aprobar la Directiva Administrativa: "LINEAMIENTOS PARA LA ELABORACIÓN, FORMULACIÓN Y APROBACIÓN DE DOCUMENTOS NORMATIVOS Y PLANES ESPECIFICOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS NEUROLÓGICAS", ello con el objetivo general de establecer criterios técnicos, disposiciones y lineamientos metodológicos, que faciliten la determinación, seguimiento, medición, análisis y mejora de los procedimientos para maximizar las etapas de planificación, formulación, actualización, aprobación, difusión, implementación y evaluación;



Que, el numeral 5.3 de la V Disposiciones Generales, define al Documento Normativo (DN) a todo aquel documento aprobado por el INCN, que tiene por finalidad transmitir información estandarizada y aprobada sobre aspectos técnicos, sean estos asistenciales, sanitarios y/o administrativos y facilita un adecuado desarrollo de competencias, funciones, procesos, procedimientos y/o actividades, en los diferentes niveles de atención de salud, según corresponda;



Que, el sub-numeral 5.3.7 del numeral 5.3. de la V Disposiciones Generales, define a la Guía Técnica como el Documento Normativo del INCN, con el que se define por escrito y de manera detallada al desarrollo de determinados procesos, procedimientos y actividades administrativas, asistenciales o sanitarias. En ella se establecen metodologías, instrucciones o indicaciones que permite al operador seguir un determinado recorrido, orientándolo al cumplimiento del objetivo de un proceso, procedimientos o actividades, y al desarrollo de una buena práctica. Las Guías Técnicas pueden ser del campo administrativo, asistencial o sanitario;



Que, la "Guía Técnica de Procedimiento para la Genotipificación del Microsatélite CAG del GEN ATXN3" CPMS 81180, tiene como finalidad estandarizar el diagnóstico molecular de la ataxia espinocerebelosa tipo 3 (SCA3), a través de una guía técnica para la genotipificación del número de repeticiones CAG del gen ATXN3, sustentada en la evidencia científica vigente para este procedimiento, y el Objetivo General es normar el procedimiento de genotipificación del número de repeticiones CAG del gen ATXN3 con una técnica basada en PCR y TP-PCR en apoyo al diagnóstico de la ataxia espinocerebelosa tipo 3 (SCA3), en el Laboratorio de Neurogenética del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN);

Que, estando al plan propuesto por el Departamento de Investigación, Docencia y apoyo al Diagnóstico en Neuropatología y lo opinado por el Jefe de la Oficina de Asesoría Jurídica, con INFORME N° 239-2025-OAJ/INCN, del 06 de mayo de 2025;

Con los vistos del Director Ejecutivo de la Oficina Ejecutiva de Planeamiento Estratégico, del Director Ejecutivo de la Dirección Ejecutiva de Investigación, Docencia y Atención Especializada en Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento, del Jefe del Servicio de Neurogenética, de la Jefa del Departamento de Investigación, Docencia y apoyo al Diagnóstico en Neuropatología y del Jefe de la Oficina de Asesoría Jurídica del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas;

Que, conforme al literal g) del artículo 11° del Título III, del Reglamento de Organización y Funciones del INCN, aprobado por Resolución Ministerial N° 787-2006/MINSA, establece las atribuciones y responsabilidades del Director General es expedir resoluciones directorales en los asuntos de su competencia;



De conformidad con, Ley N° 26842 – Ley General de Salud, Ley N° 27658, Ley del Marco de Modernización de la Gestión del Estado y sus Modificadorias, Ley N° 29414, Ley que establece los derechos de las personas usuarias de los servicios de salud, Resolución Ministerial N° 787-2006- MINSA, que aprueba el Reglamento de Organización y Funciones del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas y Resolución Ministerial N° 001-2025/MINSA, artículo 13°, numeral 13.1 que delega facultades a diversos funcionarios del Ministerio de Salud durante el año fiscal 2025, disponer que la aprobación que se expida mediante acto resolutivo;

SE RESUELVE:

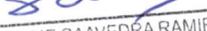
Artículo 1° APROBAR la “Guía Técnica de Procedimiento para la Genotipificación del Microsatélite CAG del GEN ATXN3” CPMS 81180, a dieciocho (18) folios que formará parte integrante de la presente Resolución Directoral.

Artículo 2° ENCARGAR al Jefe del Servicio de Neurogenética del INCN, la implementación, aplicación, monitoreo y supervisión del cumplimiento la “Guía Técnica de Procedimiento para la Genotipificación del Microsatélite CAG del GEN ATXN3” CPMS 81180, en el ámbito de su competencia.

Artículo 3° DEJAR SIN EFECTO todo acto resolutivo que se oponga o contravenga la presente Resolución Directoral.

Artículo 4° DISPONER que la Oficina de Comunicaciones efectúe la publicación y difusión de la presente Resolución Directoral en el Portal de Transparencia del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas.

Regístrase, comuníquese y publíquese.

MINISTERIO DE SALUD
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
Dirección General

M.C. Esp. LUIS JAIME SAAVEDRA RAMIREZ
Director General
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas

LJSR/LMLV/JJCS/DRF/ERSC/PDRG/megf





PERÚ

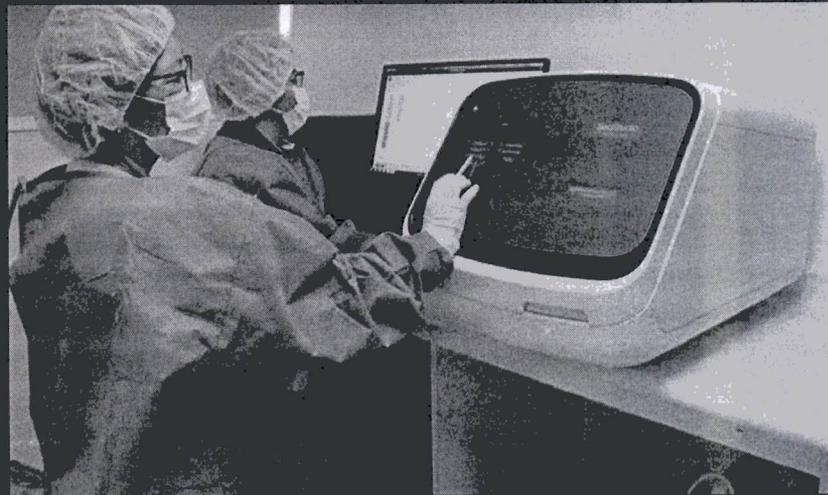
Ministerio
de Salud

Instituto Nacional
de Ciencias Neurológicas

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

**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA
Y ATENCIÓN ESPECIALIZADA EN APOYO AL
DIAGNÓSTICO EN NEUROLOGÍA**

SERVICIO DE NEUROGENÉTICA



**GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTO:
PARA LA GENOTIPIFICACIÓN DEL
MICROSATÉLITE CAG DEL GEN ATXN3
CPMS 81180**



2025





INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS NEUROLÓGICAS

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

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y ATENCIÓN ESPECIALIZADA EN APOYO AL DIAGNÓSTICO EN NEUROLOGÍA

SERVICIO DE NEUROGENÉTICA



GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTO: PARA LA GENOTIPIFICACIÓN DEL MICROSATÉLITE CAG DEL GEN ATXN3 CPMS 81180





DIRECTORIO:

M.C. ESP. LUIS JAIME SAAVEDRA RAMÍREZ

DIRECTOR GENERAL

M.C. ESP. LEONEL MARIO LOZANO VASQUEZ

DIRECTOR EJECUTIVO DE LA OFICINA EJECUTIVA DE PLANEAMIENTO ESTRATÉGICO

M.C. ESP. JOSÉ JAVIER CALDERON SANGINEZ

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

M.C. ESP. DIANA M. RIVAS FRANCHINI

JEFA DEL DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN DOCENCIA Y ATENCIÓN ESPECIALIZADA AL APOYO AL DIAGNÓSTICO EN NEUROLOGÍA

M.C. ESP. ELISON SARAPURA CASTRO

JEFE DEL SERVICIO DE NEUROGENÉTICA

EQUIPO DE TRABAJO:

ING. MARÍA VICTORIA MARCA YSABEL

BLGO. GERARDO OLIMPIO ORTEGA DÁVILA

BLGA. CARLA MANRIQUE ENCISO

BLGO. GARY ERNESTO MALPARTIDA GUZMÁN

M.C. ESP. MARIO REYNALDO CORNEJO OLIVAS

M.C. ESP. MARYENELA ZAIDA ILLANES MANRIQUE

M.C.ESP. ZOILA ANDREA RIVERA VALDIVIA

M.C. ESP. ELISON HUGO SARAPURA CASTRO

APOYO Y SOPORTE ADMINISTRATIVO:

TÉC. ADM. LUIS MIGUEL CRUZADO SALAZAR

JEFE DE LA UNIDAD DE ORGANIZACIÓN
OFICINA EJECUTIVA DE PLANEAMIENTO ESTRATÉGICO

BACH. DIEGO ALEXANDER FERIA ROJAS

ESPECIALISTA EN PROCESOS
OFICINA EJECUTIVA DE PLANEAMIENTO ESTRATÉGICO

Lima, Perú

2025





ÍNDICE

N°	CONTENIDO	PÁG.
	CUADRO DE CONTROL	05
I.	FINALIDAD	06
II.	OBJETIVO	06
	2.1.OBJETIVO GENERAL	06
	2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS	06
III.	ÁMBITO DE APLICACIÓN	06
IV.	NOMBRE DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO A ESTANDARIZAR	06
V.	CONSIDERACIONES GENERALES	06
	5.1.DEFINICIONES OPERATIVAS	06
	5.2.CONCEPTOS BÁSICOS	06
	5.3.REQUERIMIENTOS BÁSICOS	07
	5.3.1. RECURSOS HUMANOS	07
	5.3.2. INFRAESTRUCTURA DE LA UPS	07
	5.3.3. EQUIPAMIENTO	08
	5.3.4. RECURSOS MATERIALES	08
	5.4.CONSENTIMIENTO INFORMADO	10
VI.	CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS	10
	6.1.INDICACIONES	10
	6.2.CONTRAINDICACIONES	11
	6.3.DESCRIPCIÓN DETALLADA DE PROCESO O PROCEDIMIENTO PARA GENOTIPIFICACIÓN DEL MICROSATÉLITE CAG DEL GEN ATXN3	11
	6.3.1. REQUISITOS	11
	6.3.2. TIEMPO	11
	6.3.3. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO	11
	6.4.COMPLICACIONES	15
VII.	RECOMENDACIONES	15
VIII.	ANEXOS	15
	ANEXO 01: FLUJOGRAMA DE PROCEDIMIENTO DE PRUEBA GENÉTICA PARA LA ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 3 (SCA3)	16
	ANEXO 02: CONSENTIMIENTO INFORMADO	17
IX.	BIBLIOGRAFÍA	18





CUADRO DE CONTROL

ROL	ORGANO	FECHA	
ELABORADO	SERVICIO DE NEUROGENÉTICA	FEBRERO, 2025	
REVISADO POR	DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN DOCENCIA Y ATENCIÓN ESPECIALIZADA AL APOYO AL DIAGNÓSTICO EN NEUROPATOLOGÍA	ABRIL, 2025	
	DIRECCIÓN EJECUTIVA DE INVESTIGACIÓN, DOCENCIA Y ATENCIÓN ESPECIALIZADA EN APOYO AL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	ABRIL, 2025	
	OFICINA EJECUTIVA DE PLANEAMIENTO ESTRATÉGICO (UNIDAD DE ORGANIZACIÓN)	ABRIL, 2025	
	OFICINA DE ASESORÍA JURÍDICA	ABRIL, 2025	
APROBADO	DIRECCIÓN GENERAL	ABRIL, 2025	



**GUÍA TÉCNICA DE PROCEDIMIENTO:
PARA LA GENOTIPIFICACIÓN DEL MICROSATÉLITE CAG DEL GEN ATXN3
CPMS 81180**

I. FINALIDAD

Estandarizar el diagnóstico molecular de la ataxia espinocerebelosa tipo 3 (SCA3), a través de una guía técnica para la genotipificación del número de repeticiones CAG del gen *ATXN3*, sustentada en la evidencia científica vigente para este procedimiento.

II. OBJETIVO

2.1. OBJETIVO GENERAL

Normar el procedimiento de genotipificación del número de repeticiones CAG del gen *ATXN3* con una técnica basada en PCR y TP-PCR en apoyo al diagnóstico de la ataxia espinocerebelosa tipo 3 (SCA3).

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Estandarizar la genotipificación del microsatélite CAG en el gen *ATXN3* en el Laboratorio de Neurogenética del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN).

III. ÁMBITO DE APLICACIÓN

Guía técnica de aplicación obligatoria para el personal del Servicio de Neurogenética del INCN.

IV. CÓDIGO Y NOMBRE DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO A ESTANDARIZAR.

CÓDIGO CPMS	NOMBRE DEL PROCEDIMIENTO
81180	ATXN3 (ATAXINA3), ENFERMEDAD DE MACHADO-JOSEPH, ANÁLISIS DE GENES, EVALUACIÓN PARA DETECTAR ALELOS ANORMALES

V. CONSIDERACIONES GENERALES

5.1. DEFINICIONES OPERATIVAS

- **Ataxia espinocerebelosa tipo 3 o SCA3:** Enfermedad neurodegenerativa autosómico dominante causada por el microsatélite CAG anormalmente expandido en el gen *ATXN3* ubicado en la región autosómica 14q32.12.
- **Genotipificación del gen *ATXN3*:** Proceso de la determinación del genotipo de un individuo con respecto al número de repeticiones CAG en el gen *ATXN3*.

5.2. CONCEPTOS BÁSICOS

- **Consentimiento Informado:** Procedimiento mediante el cual se garantiza que el sujeto ha expresado voluntariamente su intención de participar en una prueba genética.
- **PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa, procedimiento mediante el cual se amplifica (obtienen muchas copias) de ADN y permite determinar el número de repeticiones de tres nucleótidos hasta un rango determinado.





- **TP-PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa con triple cebador. Este procedimiento es complementario a la PCR convencional, se aplica en casos que resultan aparentemente homocigotos por PCR. El resultado es cuantitativo, sólo determina la presencia o ausencia de un alelo mutado que la PCR no pudo detectar.
- **Genotipificación del microsatélite CAG por TP-PCR:** Este procedimiento es complementario a la PCR. El resultado es cualitativo, sólo determina la presencia o ausencia de un alelo mutado mayor a 60 repeticiones CAG que la PCR no pudo detectar.
- **Electroforesis capilar:** Técnica utilizada para separar las diferentes moléculas presentes en una disolución de acuerdo con la relación masa/carga de las mismas.
- **Nucleótido:** es una molécula que es la unidad estructural básica y el bloque de construcción del ADN y/o ARN, una de sus partes es una base nitrogenada las cuales pueden ser adenina (A), guanina (G), timina (T), citosina (C) o uracilo (U).
- **Genotipo humano:** en el contexto de un estudio molecular, se refiere a los dos alelos o formas heredadas de un gen (o una variante de un gen) específico de un individuo.
- **ADN:** Ácido Desoxirribonucleico, contiene la información de las características hereditarias y las secuencias para la creación de aminoácidos que generarán proteínas para el funcionamiento de un organismo.
- **Microsatélite:** Secuencia de ADN que consiste en una repetición de unidades cortas de nucleótidos, típicamente de 1 a 6 pares de bases, que se repiten en tándem.
- **Analizador genético:** Dispositivo que emplea electroforesis capilar y un sistema de detección fluorescente para medir con precisión la longitud de las repeticiones CAG. Utiliza capilares para separar los fragmentos de ADN basados en su tamaño y fluorescencia para identificar y cuantificar las repeticiones con alta precisión.
- **Reporte genético:** Documento que contiene los resultados del análisis de los genes de interés para identificar si es que existen variaciones patógenas.
- **Asesoría genética:** Servicio realizado por un médico especialista/formación en genética médica para ofrecer información y apoyo a las personas que tienen riesgos de trastornos genéticos, además de la entrega posterior del reporte genético.

5.3. REQUERIMIENTOS BÁSICOS

5.3.1. RECURSOS HUMANOS

- 02 biólogos genetistas o con entrenamiento en biología molecular.
- 01 médico especialista/formado en genética médica
- 01 médico neurólogo
- 01 asistente administrativo

5.3.2. INFRAESTRUCTURA DE LA UPS

- Laboratorio del servicio de Neurogenética.
- Área de toma de muestra.
- Oficina administrativa.
- Consultorio especializado de Neurogenética.



5.3.3. EQUIPAMIENTO

- Termociclador Proflex (Applied Biosystems)
- Analizador genético SeqStudio™ (Applied Biosystems)
- Espectrofotómetro Epoch (Biotek)
- Sistema de documentación de geles OmniDoci (Clever Scientific)
- Cabina de PCR (ESCO®)
- Cámara de electroforesis vertical profesional (Clever)
- Fuente poder (Thermo Scientific)
- Balanza analítica (Shimadzu)
- Agitador magnético (Velp)
- Refrigeradora a 4°C (Thermo Scientific)
- Refrigeradora a 4°C (Miray)
- Congeladora a -20°C (Miray)
- Picocentrífuga
- Vórtex
- Cronómetro
- Computadoras de escritorio
- Impresora
- Sistema de alimentación eléctrica estable
- Estabilizador

5.3.4. RECURSOS MATERIALES

A. MATERIAL MÉDICO NO FUNGIBLE

Implementos moleculares

- Cebador MJD52 (Forward): 5'- CCAGTGACTACTTTGATTCG-3'
- Cebador MJD25 (Reverse): 5'-6-FAM-TGGCCTTTCACATGGATGTGAA -3'
- Cebador ForTail: 5' - TACGCATCCCAGTTTGAGACG -3'
- Cebador IntRep: 5' - TACGCATCCCAGTTTGAGACGCAGCAGCAGCAGCAG -3'
- dNTPs mix: A, T, G y C (2.5 mM c/u)
- DMSO 100% (Sigma-Aldrich)
- Agua ultrapura libre de nucleasa
- Platinum® Taq DNA polymerase 5 U/μL (Invitrogen). Incluye: Buffer PCR 10x y MgCl₂ 50 mM.
- Marcador de peso molecular de 10 pb (Invitrogen)
- GeneScan LIZ 500 dye Size Standard
- Hi-Di Formamide
- SeqStudio Genetic Analyzer Cartridge
- SeqStudio™ Cathode Buffer Container

Reactivos químicos

- Acrilamida
- Bisacrilamida
- Nitrato de Plata
- TEMED





- Persulfato de amonio
- Trizma base
- Ácido bórico
- EDTA 0.5M pH 8
- Ácido Clorhídrico
- Xilencianol
- Azul de Bromofenol
- Glicerol
- Formamida
- Etanol absoluto
- Ácido acético
- Hidróxido de sodio
- Formaldehído 37%
- Agua ultrapura

Material de plástico

- Micropipetas 10 μ L, 20 μ L, 100 μ L, 200 μ L y 1000 μ L.
- MicroampTM 8-Tube Strip, 0.2mL
- MicroampTM 8-Cap Strip
- Tubos de centrífuga 2 mL
- Gradilla para tubos de 0.2 mL
- Gradilla para tubos de 2 mL
- Pissetas
- MicroAmp[®] 96-Well Tray/Retainer Set
- Enfriador de placas PCR y Microtubos
- Soporte para micropipetas
- Septa for 0.2 mL MicroAmp tubes
- Cathode Buffer Container Reservoir Septa for SeqStudio Genetic Analyzer

Material de vidrio

- Matraz aforado de 500 mL.
- Probeta de 1000 mL.
- Vasos de precipitados de 50 mL.
- Pipeta de vidrio de 10 mL
- Pipeta de vidrio de 25 mL.
- Propipetas
- Baguetas
- Frasco transparente de 500 y 1000 mL.
- Frasco color caramelo de 200 mL.

B. MATERIAL MÉDICO FUNGIBLE

- Tips con filtro 10 μ L, 20 μ L, 100 μ L, 200 μ L y 1000 μ L
- Tubos de PCR de tapa plana 0.2 mL
- Tubos de PCR de tapa cónica 0.2 mL





- Tubos de centrífuga 2 mL
- Papel lente para laboratorio
- Papel aluminio
- Lejía
- Solución DNAsa y RNAsa.
- Papel Toalla
- Parafilm
- Mascarilla descartable
- Guante de nitrilo descartable
- Mandil descartable
- Gorro descartable
- Bolígrafo
- Forro de plástico
- Papel bond A4
- Sobre manila
- Marcador indeleble
- Tóner para impresora
- Archivador

C. OTROS MATERIALES

- Accesorios para electroforesis: Peine de 24 pocillos, separadores de 1mm, vidrios con mueca y sin mueca y cables de fuente de energía.

D. SOTFWARE

- Plate manager (Applied Biosystems)
- GeneMapper™ Software 5 (Applied Biosystems)
- Gen5™ versión 2.0 (Biotek)

5.4. CONSENTIMIENTO INFORMADO

- Todo procedimiento de diagnóstico genético requiere un proceso de consentimiento informado que debe evidenciarse con la firma del consentimiento informado respectivo (*ver anexo 2*)

VI. CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS

6.1. INDICACIONES

- Durante la toma de muestra, las muestras de sangre total deben ser colectadas en 02 tubos EDTA de 3 mL y homogenizada por inversión de cinco a ocho veces. En caso se necesite otro tipo de muestra biológica, seguir el Instructivo para la recolección de muestras biológicas (RD N° 346-2024-DG-INCN).
- Condiciones de conservación: Las muestras de sangre deben ser procesadas en un plazo máximo de una semana después de su recolección y deben mantenerse refrigeradas a una temperatura de 2 a 8°C.





- El personal debe usar EPPs, incluido guantes de nitrilo, gorra, bata desechable de manga larga y cubrecalzados durante los procedimientos en el laboratorio.

6.2. CONTRAINDICACIONES

- Para la toma de muestra de sangre no requiere ayunas ni ningún tipo de preparación especial. Si hay algún motivo que contraindique la toma de muestra de sangre venosa periférica (condición médica, problemas de coagulación, entre otras) o si se obtiene una muestra de ADN de baja concentración y pureza, se tendrá que considerar tomar otra muestra o cancelar el procedimiento.

6.3. DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO PARA GENOTIPIFICACIÓN DEL MICROSATÉLITE CAG DEL GEN ATXN3

6.3.1. REQUISITOS

- Indicación Médica realizada por médico especialista en genética médica o neurólogo con formación en Neurogenética.

6.3.2. TIEMPO

- Tiempo efectivo : 83 minutos (estimación de costo) *
- Tiempo del procedimiento : El tiempo global del procedimiento, incluyendo pasos previos y posteriores al procedimiento genético es de 147 minutos, que se detallan en la tabla.

* Metodología para la estimación de Costos Estándar de Procedimientos Médicos o Procedimientos Sanitarios en las Instituciones Prestadoras de Servicios de Salud – Resolución Ministerial N° 1032-2019/MINSA.

6.3.3. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO O PROCEDIMIENTO

A. PREVIO AL PROCEDIMIENTO

- Realizar el proceso de consentimiento Informado que concluye con la firma del formato de consentimiento informado.
- Emitir orden de Procedimiento.
- Registrar los datos del paciente.
- Toma de muestra según Instructivo para la recolección de muestras biológicas (Resolución Directoral N° 346-2024-DG-INCN).
- Extracción de ADN (según procedimiento estandarizado).



B. DURANTE EL PROCEDIMIENTO

1. AMPLIFICACIÓN DEL MICROSATÉLITE CAG MEDIANTE PCR

- Preparar la siguiente mezcla de reacción para: una muestra problema, una muestra control y una muestra blanca:

En la cabina de PCR, preparar 10 uL de mezcla de reacción con las siguientes concentraciones finales para cada muestra:





- DMSO 10%
 - Buffer de PCR para enzima taq Platinum 1X
 - dNTPs 0.15mM c/u
 - MgCl₂ 1.5Mm
 - Mix Cebador: MJD52 + MJD25 FAM 1 uM c/u
 - Enzima taq platinum 0.05 U/uL
 - ADN genómico 0.3 ng/uL
- Emplear el siguiente programa de amplificación: 2 minutos de denaturación inicial a 95°C, 28 ciclos (denaturación a 94°C por 30 segundos, hibridación a 58.9°C por 30 segundos, y extensión a 72°C por 1 minuto); seguido por un paso de extensión final a 72°C por 10 minutos. Se deja a 4°C.

2. VISUALIZACIÓN DE PRODUCTOS DE PCR POR ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA

- Preparar un gel de poliacrilamida al 6% no denaturante para la electroforesis de los productos de PCR.
- Sembrar en cada pocillo 2uL de producto de PCR con 2uL de buffer de siembra. Además, se debe colocar un 0.8 uL marcador de peso molecular de 10pb con 2uL de buffer de siembra.
- Administrar un voltaje de 150 V por 30 minutos.
- Realizar la tinción del gel con el protocolo de tinción argéntica usando solución de nitrato de plata. Verificar que las muestras hayan sido amplificadas correctamente.

3. AMPLIFICACIÓN DEL MICROSATÉLITE CAG MEDIANTE TP-PCR

En la cabina de PCR, preparar 10 uL de mezcla de reacción con las siguientes concentraciones finales para cada muestra.

- DMSO 6%, 0.6 uL
- Buffer de PCR para enzima Taq platinum 1X, 1 uL
- dNTPs 0.2 mM c/u, 0.8 uL
- MgCl₂ 1.5 mM, 0.3 uL
- Cebadores:
 - MJD25R 0.2 uM, 0.1 uL
 - For Tail 0.2 uM, 0.1 uL
 - IntRep 0.06 uM, 0.12 uL
- Enzima Taq Platinum 0.04 U/uL, 0.08 uL
- ADN 1ng/uL, 1-2 uL
- Agua ultrapura hasta completar 10 uL





Emplear el siguiente programa de amplificación: 2 minutos de denaturación inicial a 94°C, 30 ciclos de denaturación a 94°C por 30 segundos, hibridación a 62°C por 30 segundos, y extensión a 72°C por 45 segundos; seguido por un paso de extensión final a 72°C por 10 minutos.

4. VISUALIZACIÓN DE PRODUCTOS DE TP-PCR POR ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA

- Electroforesis en gel de poliacrilamida no denaturante al 10%
- Sembrar en cada pocillo 8 uL de producto de TP-PCR con 2 uL de buffer de siembra
- Voltaje de corrida: 200 V por 90 minutos
- Correr hasta que el Xilencianol se desplace a 4 cm del borde de la placa de corrida.
- Realizar la tinción del gel con el protocolo de tinción argéntica usando solución de nitrato de plata.

5. ELECTROFORESIS CAPILAR USANDO ANALIZADOR GENÉTICO SEQSTUDIO™

- Preparación de la placa de Fragmento usando termociclador Proflex.
 - En una placa compatible con el equipo proceder con los siguientes pasos: Preparar una mezcla de 14.5 µL de Formamida 0.5 µL Marcador GeneScan™ 500 LIZ, por cada muestra, control estandar y muestra blanco a evaluarse.
 - Dispensar 15 µL de la mezcla en cada pocillo de la placa
 - Añadir 2.5 µL. del ADN obtenido en las reacciones de PCR.
 - Denaturalizar las muestras a 98°C por 5 minutos.
 - Shock térmico de la placa a -20°C antes de introducirla al analizador
- Una vez preparada la placa, los productos de las reacciones deben ser sometidas a electroforesis capilar. Se emplearán las condiciones recomendadas por el fabricante.
- Usando el Software Plate manager se ingresa la información de la placa para que sea reconocida por el analizador genético.
- Para programar las condiciones de electroforesis capilar se debe tener en cuenta que el rango de amplificación varía entre 100 a 500 pb,
- Los cebadores empleados están marcados con 6-FAM y el patrón de peso molecular está marcado con GeneScan™ 500 LIZ.



J. CALDERON S.

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y ESTIMACIÓN DEL NÚMERO DE REPETICIONES

- Empleando el programa GeneMapper™, analizar el tamaño de los fragmentos generados. El resultado será un electroferograma con picos de intensidad determinada y separados de manera proporcional al tamaño del fragmento.
- Para el análisis de los resultados de TP-PCR: Establecer una línea límite de normalidad a una altura correspondiente a 228 pb. La muestra positiva mostrará un patrón de bandas en escalera que supera el límite de



P. RODRIGUEZ



L. SAAVEDRA R





normalidad. En el caso de una muestra negativa este patrón no superará el límite de normalidad.

- Para calcular el número de repeticiones de un alelo desconocido, se debe comparar el electroferograma obtenido empleando el control estándar de secuencia específica para este procedimiento y los electroferogramas obtenidos por cada muestra analizada.
- Los dos biólogos cegados entre ellos, responsables de cada genotipificación realizada en paralelo, contrastan sus resultados para elaborar un reporte en conjunto. En caso de incongruencia se reevalúan los procesos y se repiten las genotipificaciones.

7. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- El médico especialista en genética médica o neurogenetista evalúa la propuesta de reporte, revisa los electroferogramas e información asociada, y valida el reporte con firma y sello correspondiente.

C. DESPUÉS DEL PROCEDIMIENTO

1. REGISTRO Y REPORTE DE PROCEDIMIENTO

- Registrar "Reporte de laboratorio a disposición" en base de datos "Genotipificaciones" y reporte de genotipificación para SCA3.

2. ENTREGA DE RESULTADO

El médico especialista con formación en asesoría genética, entrega el resultado en una consulta especializada de asesoría genética.

Tabla1. Tiempo global del procedimiento

PROCESO O PROCEDIMIENTO					
CÓDIGO	ACTIVIDAD		Responsable	Duración (minutos)	
81180	A. PREVIO AL PROCEDIMIENTO	Consentimiento informado y registro de datos	Biólogo	5	
		Preparación de ADN	Biólogo A	15	
	Biólogo B		15		
	B. DURANTE EL PROCEDIMIENTO (GENOTIPIFICACIÓN DE MICROSATÉLITE CAG DEL GEN ATXN3)			Biólogo A	36
				Biólogo B	36
				Biólogo A	17.5
		Biólogo B	17.5		





C. DESPUÉS DEL PROCEDIMIENTO (validación, interpretación y emisión de resultados genéticos)	Médico neurólogo/especialista en genética médica	5
Tiempo total de duración (aproximado)		147

6.4. COMPLICACIONES

- Algunas situaciones propias del procedimiento podrían extender el tiempo del procedimiento incluyendo:
 - Factores de la muestra: baja calidad y concentración de ADN
 - Factores de los equipos: problemas de calibración o inoperatividad.
 - Factores del procedimiento: No corra bien los amplificadores en la electroforesis en gel de poliacrilamida, No se produzca una buena tinción con nitrato de plata y por lo tanto no se visualicen las muestras amplificadas.

VII. RECOMENDACIONES

- Todo estudio genético debe ser realizado previo proceso de consentimiento informado que autorice el procedimiento genético.
- La solicitud de la prueba genética y la entrega del reporte de resultado, debe realizarse directamente con la persona afectada en el contexto de una evaluación médica y de asesoría genética que incluye evaluación pre-test, test y post-test.

VIII. ANEXOS

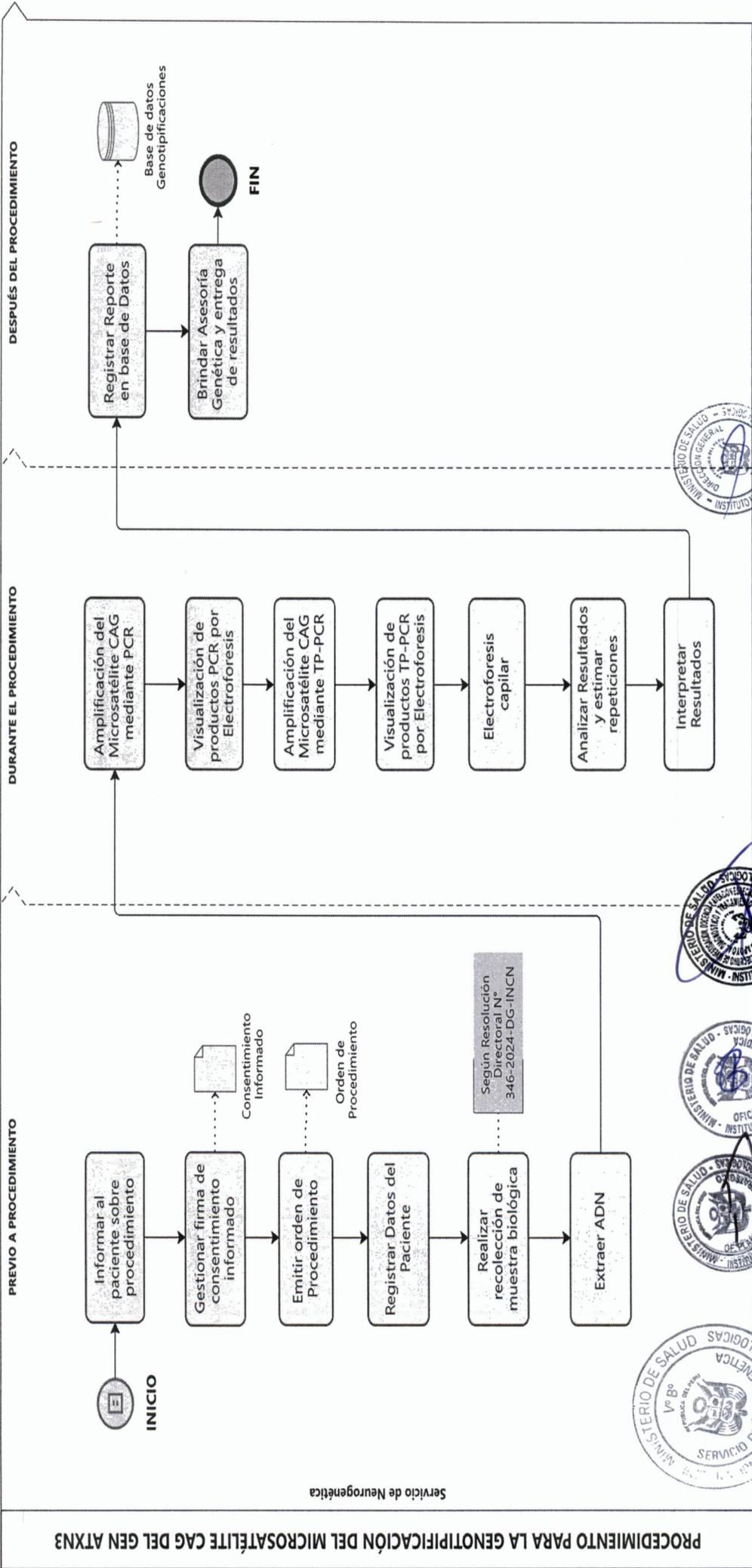
- ANEXO 01 : FLUJOGRAMA DE PROCEDIMIENTO DE PRUEBA GENÉTICA PARA LA ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 3 (SCA3)
- ANEXO 02 : CONSENTIMIENTO INFORMADO



PROCEDIMIENTO PARA LA GENOTIPIFICACIÓN DEL MICROSATÉLITE CAG DEL GEN ATXN3

Servicio de Neurogenética

ANEXO 01
FLUJOGRAMA DE PROCEDIMIENTO DE PRUEBA GENÉTICA
PARA LA ATAXIA ESPINOCEREBELOSA TIPO 3 (SCA3)



L. LOZANO V.

P. RODRIGUEZ

J. CALDERON S.

L. SAAVEDRA R.



ANEXO 02
CONSENTIMIENTO INFORMADO



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PRUEBA GENÉTICA

¿Qué procedimiento es necesario para realizar el estudio genético?

El ADN es la sustancia que se encuentra en nuestras células y controla tanto su funcionamiento como la herencia. En el laboratorio de Neurogenética del Servicio de Neurogenética del Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas (INCN), hacemos exámenes que nos permiten encontrar cambios en el ADN, llamados mutaciones. Se requiere una muestra de sangre, de hisopado bucal u otros tejidos para obtener el ADN, según la solicitud del médico tratante. La muestra será empleada exclusivamente para estudio genético relacionado con su enfermedad. No nos es posible emplear su muestra para otros exámenes como hemoglobina, glucosa, etc. Identificar los cambios o mutaciones en el ADN puede tomar varios meses.

¿Cuáles son los beneficios del estudio genético?

El estudio genético nos permitirá conocer el diagnóstico preciso de su enfermedad y poder darle así una atención más específica; así como también una orientación sobre su evolución, pronóstico y posible tratamiento. También le permitirá tomar decisiones de vida con la información más adecuada.

¿Cuál puede ser el resultado del estudio?

El resultado puede confirmar su enfermedad, descartarla o algunas veces ser incierto o poco claro; en este último caso, no podríamos precisar el diagnóstico. La entrega de resultados se realiza como parte de una consulta especial donde le daremos información sobre su enfermedad y los riesgos para Usted y su familia, es por ello que no informamos resultados por teléfono. En el tiempo que se le haya indicado que demore el procesamiento de su muestra, Ud. debe coordinar una cita para entrega de resultados y/o asesoría genética.

¿Cuáles son las molestias y riesgos para Ud. al realizar el estudio genético?

Las molestias que Ud. sentirá en la obtención de sangre será algo de dolor por el pinchazo de la aguja y rara vez podrá presentar un moretón en el área donde se le introdujo la aguja o bien una infección en la zona de punción. En este último caso, será atendido por personal de la institución sin costo adicional. Al conocer el resultado, esta información podría ocasionarle preocupación y temor por las consecuencias personales, familiares, laborales y sociales de llevar una enfermedad hereditaria, para lo cual se le brindará apoyo y orientación en consultas especiales de asesoría. Igualmente, si otras personas saben que uno tiene una enfermedad hereditaria, otros miembros de la familia o las personas alrededor de uno pueden discriminarlos.

DECLARACIÓN DEL SOLICITANTE

He sido informado(a) acerca de la posibilidad de realizarme un estudio genético y he tenido la oportunidad de hacer las preguntas necesarias acerca del procedimiento; estoy satisfecho(a) con las explicaciones recibidas y doy voluntariamente mi consentimiento para:

- Que se me extraiga una muestra para estudio genético de:
83891.01 - Extracción de ADN a partir de sangre periférica
81180 - ATXN3 (ataxina 3, Enfermedad de Machado-Joseph, análisis de genes, evaluación para detectar alelos anormales

- Que SI NO se me informe el resultado genético obtenido.

Sobre el paciente:

Nombre completo: _____

DNI: _____ FIRMA: _____

Sobre el profesional de salud que brinda el consentimiento informado:

Nombre completo: _____

DNI: _____ FIRMA: _____

Fecha: _____

Si el solicitante no está capacitado para dar su consentimiento

Yo como responsable del solicitante, doy consentimiento para el estudio genético.

Nombre completo: _____

DNI: _____

FIRMA: _____

REVOCATORIA DEL CONSENTIMIENTO

Nombre completo: _____

DNI: _____

Fecha y hora: _____

FIRMA: _____

Servicio de Neurogenética
Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas
www.incngen.org.pe

Jr. Ancash N°1271 Lima Cercado, Perú.
Teléfono: +51 1 411 7779





IX. BIBLIOGRFÍA

1. Paulson H, Shakkottai V. Spinocerebellar Ataxia Type 3. 1998 Oct 10 (Update 2020 Jun 4). In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® (Internet). Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1196>

2. Rodríguez-Labrada R, Martins AC, Magaña JJ, Vazquez-Mojena Y, Medrano-Montero J, Fernandez-Ruiz J, Cisneros B, Teive H, McFarland KN, Saraiva-Pereira ML, Ceredo-Zapata CM, Gomez CM, Ashizawa T, Velázquez-Pérez L, Jardim LB; PanAmerican Hereditary Ataxia Network. Founder Effects of Spinocerebellar Ataxias in the American Continents and the Caribbean. Cerebellum. 2020 Jun;19(3):446-458.

