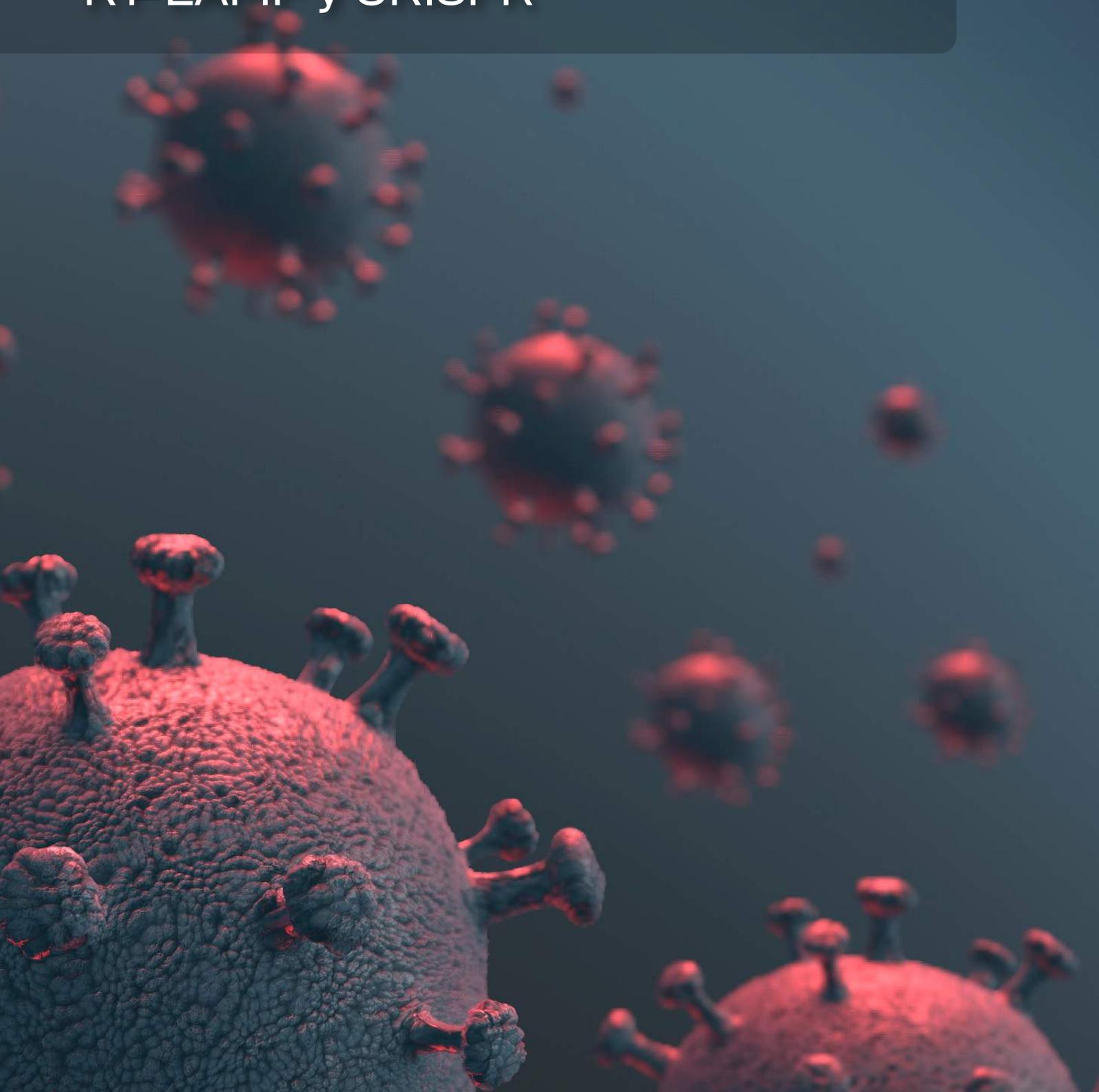


Informe vigilancia tecnológica

NUEVAS PRUEBAS MOLECULARES DE DETECCIÓN SARS-CoV-2: RT-LAMP y CRISPR



PERÚ

Ministerio
de Salud



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

EL PERÚ PRIMERO

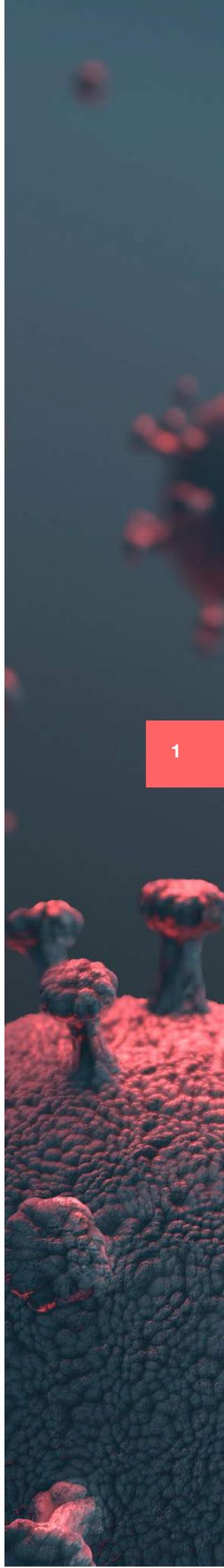
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

OFICINA GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA (OGITT)

Directora: Joshi Rosa Magali Acosta Barriga

OFICINA EJECUTIVA DE TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA Y CAPACITACIÓN

Director: Franco Romaní Romaní



Elaborado por: Paolo Cayetano Terrel

Revisado por: Franco Romani Romani

NOTA LEGAL

Toda la información, recomendaciones, dibujos, gráficas y tablas contenidas en el presente informe son proporcionadas únicamente con fines informativos.

Las fotos utilizadas en el informe son de uso libre.

ÍNDICE

1. PRESENTACIÓN	4
2. INTRODUCCIÓN	5
3. VIGILANCIA TECNOLÓGICA	6
4. METODOLOGÍA	7
5. BÚSQUEDA DE INFORMACIÓN	8
6. TRATAMIENTO Y PUESTA EN VALOR DE LA INFORMACIÓN	9
6.1. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN EN PATENTES	9
6.2. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN EN PUBLICACIONES CIENTÍFICAS	15
7. ANÁLISIS DE LAS INVESTIGACIONES Y DESARROLLOS NACIONALES	18
7.1. PROYECTOS PERUANOS	18
8. CONCLUSIONES	22

1. PRESENTACIÓN

En diciembre del 2019, en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei en China, se originó un brote de casos de neumonía de origen desconocido. Después de varias pruebas se encontró que era causado por un coronavirus, el SARS-CoV-2, causante de la enfermedad denominada, actualmente, COVID-19. A la fecha de elaboración de este Boletín, existen más de 10.3 millones personas contagiadas a nivel mundial, con más de 500 mil fallecidos, donde Perú está cerca de los 280 mil casos y más de 9500 fallecidos.¹

Dentro de las estrategias, la primera es detectar a los contagiados para conocer el impacto real de la enfermedad y en función a eso tomar decisiones. Para ello, primero se deben realizar pruebas en cantidades adecuadas a la población expuesta.

La prueba estándar para detectar el SARS-CoV-2 es la de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa o RT-PCR, una prueba de amplificación de ácidos nucleicos, la cual mediante muestras de hisopado del tracto respiratorio y un posterior secuenciamiento de fragmentos génicos puede detectar la presencia del virus en una persona. La otra prueba es la determinación de anticuerpos o serológica, la cual detecta nuestra respuesta inmunológica contra el patógeno. Las pruebas serológicas son exámenes rápidos, de ahí su nombre de pruebas rápidas, inmunocromatográficos o de inmunoensayo de flujo lateral, sencillos y fáciles de realizar, estas usan plasma.

Durante los últimos meses han aparecido pruebas más eficientes en el uso de recursos y en el tiempo de detección, estos son las pruebas RT-LAMP (Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification) y el CRISPR, que permiten detectar el SARS-CoV-2 en menos de una hora, a un rango de temperatura estable y colorimétricamente.

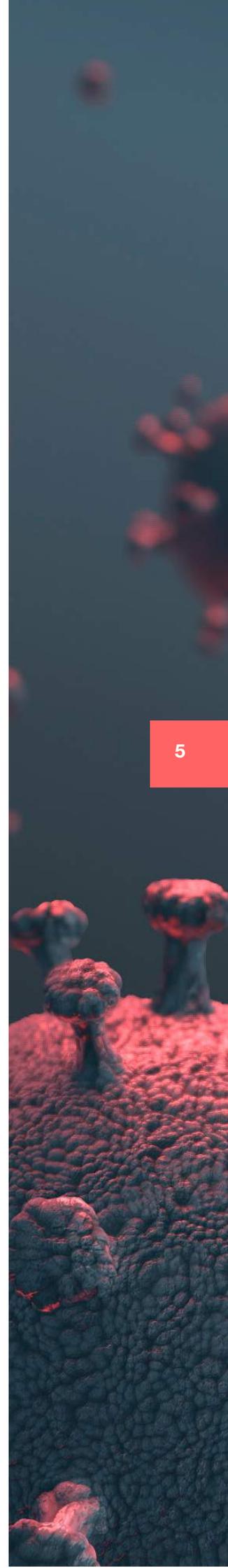
El presente boletín realiza un análisis de las tecnologías relacionadas a las pruebas de detección del SARS-CoV-2 enfocándose principalmente en las tecnologías RT-LAMP y el CRISPR. Asimismo, incluye los proyectos que se vienen desarrollando en el Perú para la detección del SARS-CoV-2.

¹ Google. Enfermedad por el nuevo coronavirus Perú. 2020. Visto en: https://www.google.com/search?q=mapa+coronavirus+peru&rlz=1C1CHBF_esPE886PE886&oq=mapa+coronavirus&aqs=chrome.1.69i57j0l7.3926j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8

2. INTRODUCCIÓN

La vigilancia tecnológica es el proceso que de manera sistemática detecta, analiza, difunde, comunica y explota las informaciones técnicas útiles para la organización, alerta sobre las innovaciones científicas y técnicas susceptibles de crear oportunidades y amenazas para la misma, investiga los hallazgos realizados para el desarrollo de productos, servicios y procesos, y en algunos casos busca soluciones tecnológicas a problemas concretos de la organización. La vigilancia tecnológica es una herramienta fundamental en el marco de los sistemas de gestión.

El presente boletín busca mostrar la información tecnológica respecto a las pruebas de detección del SARS-CoV-2, dándose principalmente en las tecnologías RT-LAMP y el CRISPR, para ello busca, validar y trata la información disponible en bases de datos científicas a nivel mundial, donde se recopilan los resúmenes y resultados obtenidos; asimismo, se realiza una búsqueda y análisis de los desarrollos nacionales con el fin de conocer nuestras capacidades internas para la adaptabilidad de las nuevas tecnologías.

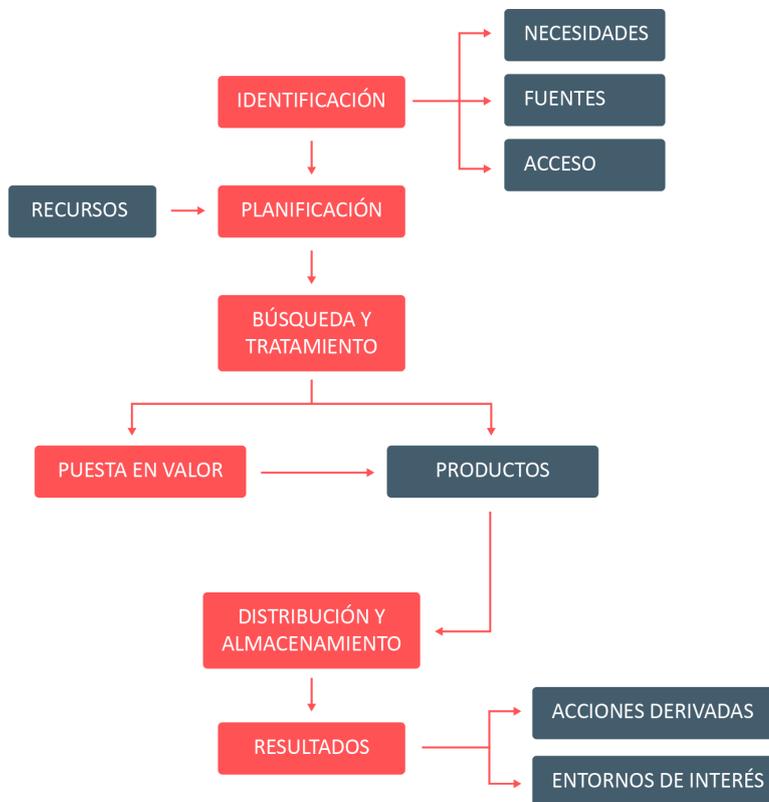


3. VIGILANCIA TECNOLÓGICA

La vigilancia es una herramienta fundamental en el marco de los sistemas de gestión de I+D+i puesto que a través de ella se recolectan datos e información que son la base para generar conocimiento que serán utilizados en generar productos o procesos, nuevos o mejorados en función a las necesidades que identifiquemos. Mediante el proceso de vigilancia se detecta difunde, comunica y explota las informaciones técnicas útiles para la organización, se alerta sobre las innovaciones y técnicas que puedan generar oportunidades o amenazas.²

El proceso de la vigilancia orientado a tecnologías inicia con la identificación de las necesidades de la información, continúa con la planificación, la búsqueda y tratamiento de la información, la puesta en valor, y finaliza con la distribución y almacenamiento de los productos generados, siendo este boletín uno de estos productos. El proceso de toma de decisiones a partir de este boletín, para obtener resultados corresponde al proceso de inteligencia.²

Figura 1 - Proceso de Vigilancia e inteligencia. NTP 732.004 del 2019.



² INACAL. Norma Técnica Peruana NTP 732.004 del 2019. GESTIÓN DE LA I+D+i. Sistema de vigilancia e inteligencia. Requisitos 2019

4. METODOLOGÍA

Se ha realizado el análisis en base a la metodología propuesta por la NTP 732.004 del 2019, la cual consiste en las siguientes fases:

Identificación: Consiste en identificar las necesidades de información. Para este boletín, se han identificado las siguientes necesidades de información:

PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO PARA EL SARS-CoV-2 CAUSANTE DEL COVID-19

Planificación: El presente documento será realizado por especialistas en vigilancia tecnológica y consultado con expertos del Instituto Nacional de Salud para su aprobación.

Búsqueda y tratamiento: Hemos utilizado la base de datos de patentes Patentscope de la Organización Mundial de Propiedad Intelectual (OMPI) y la base de datos privada de patentes Patent Inspiration®, y para la búsqueda de publicaciones científicas se ha utilizado la base de PubMed®. Asimismo, se ha utilizado la base de patentes del Indecopi para buscar patentes solicitadas en el Perú, y la base de datos de proyectos de Innovate Perú, del Concytec y del INS para buscar proyectos financiados.

Las ecuaciones de búsquedas utilizadas tienen por palabras clave a las siguiente: COVID-19, SARS-CoV-2, CRISPR, y RT-LAMP, y combinaciones de estos.

Puesta en valor: Se ha realizado un análisis de la información en función a su pertinencia y aplicabilidad.

Distribución y almacenamiento: El boletín es de libre disposición y se encuentra en la página web del Centro de Apoyo a la Tecnología y a la Innovación del INS, cuya web es la siguiente: cati.ins.gob.pe

5. BÚSQUEDA DE LA INFORMACIÓN

El objetivo de la búsqueda es encontrar tecnologías relacionadas a pruebas de diagnóstico para el SARS-CoV-2, causante del COVID-19, las cuales sean de importancia, puedan ser replicadas o que sirvan de base para líneas de investigación. La fecha de búsqueda fue el 28 de junio del 2020.

Para la realización de la búsqueda de la información se utilizaron las siguientes fuentes de información que se muestran en la Tabla:

Tabla 1 - Bases de datos

TIPO DE INFORMACIÓN	PRINCIPALES BASES DE DATOS
Investigaciones	Pubmed www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/ Scielo scielo.org
Tesis	Alicia de Concytec alicia.concytec.gob.pe Repositorios de cada Universidad
Patentes	Base de datos del Indecopi servicio.indecopi.gob.pe/portalSAE/Personas/tituloOIN.jsp Base de datos de la OMPI patentscope.wipo.int/search/en/search.jsf Google Patents patents.google.com Patent Inspiration www.patentinspiration.com
Proyectos financiados	Innovate Perú www.innovateperu.gob.pe Fondecyt - Becas y Co-financiamiento de Concytec fondecyt.gob.pe

6. TRATAMIENTO Y PUESTA EN VALOR DE LA INFORMACIÓN

6.1. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN EN PATENTES

A la fecha de elaboración del presente boletín no se encontraron patentes relacionadas de manera directa a pruebas de diagnóstico del COVID-19. Sin embargo, es posible que estas se hayan presentado y se encuentren en etapa confidencial.

6.2. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN EN PUBLICACIONES CIENTÍFICAS

Hemos dividido las pruebas de diagnóstico en dos principales campos de interés, las pruebas RT-LAMP y las pruebas CRISPR/cas.

Se muestran los resúmenes y los resultados obtenidos de las publicaciones en las tablas 2 y 3, donde se encuentran ordenadas por la fecha de publicación, siendo la primera la más reciente:

6.2.1. RT-LAMP (Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification)

Se basa en la detección de los ácidos nucleicos mediante su amplificación isotérmica y en bucle (LAMP), para luego combinarla con la transcripción inversa (RT-LAMP). La prueba RT-LAMP es realizada a condiciones isotérmicas a 63°C, donde se obtienen los resultados en aproximadamente 15 a 40 minutos. Para ello, se detectan los genes ORF1ab, spike (S), envelope (E) y N del SARS CoV - 2. Además, para la obtención de las muestras en este ensayo, generalmente, se hace el hisopado nasal y de la garganta. Por otro lado, estudios recientes muestran que la prueba RT-LAMP dirigida al gen N del SARS CoV – 2 detecta específicamente los ARN del SARS CoV - 2 sin tener una reacción cruzada con otros tipos de coronavirus.³

A continuación, se muestra el resumen y los resultados obtenidos en las publicaciones:

³ Li, C., & Ren, L. (2020). Recent progress on the diagnosis of 2019 Novel Coronavirus. Transboundary and emerging diseases. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7272792/>

Tabla 2 - Publicaciones científicas relacionadas a la prueba RT-LAMP

TÍTULO ORIGINAL	TÍTULO EN ESPAÑOL	INSTITUCIÓN LÍDER	FECHA DE PUBLICACIÓN	MÉTODO	PATRON DE REFERENCIA	RESULTADOS
Rapid detection of novel coronavirus/Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification.	Detección rápida de coronavirus novedoso / coronavirus agudo severo y síndrome respiratorio agudo 2 (SARS-CoV-2) mediante amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa.	Department of Urology, Beaumont Health System, Royal Oak	12 de junio de 2020	Se eligieron un total de 20 muestras de hisopos nasofaríngeos RT-qPCR positivos y se analizó por RT-LAMP. Además, de un total de 10 muestras RT-qPCR positivos se analizaron por RT-LAMP sin aislamiento de ARN de muestras de hisopos nasofaríngeos.	Se analizó el RT-LAMP frente al RT-qPCR.	El ensayo RT-LAMP mostró que, las muestras positivas por RT-LAMP tuvieron un alto nivel de viremia, como lo indican los valores de Ct menores de 24 Ct por qRT-PCR. Por el contrario, todas las muestras negativas por RT-LAMP tenían un valor de Ct mayor que 24 Ct por qRT-PCR. Para el grupo de 20 muestras positivas qRT-PCR, 19 fueron positivas por RT-LAMP, y para el segundo grupo de 10 muestras positivas por qRT-PCR 4 fueron positivas por RT-LAMP.
Rapid and Visual Detection of 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) by a Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay	Detección rápida y visual del nuevo coronavirus 2019 (SARS-CoV-2) mediante un ensayo RT-LAMP.	Capital Institute of Paediatrics	12 de junio de 2020	Se analizó la temperatura óptima para el ensayo RT-LAMP, luego se diseñaron dos cebadores para ORF1ab-4 y S-123, donde se analizó la sensibilidad de cada cebador. Finalmente, se eligieron aleatoriamente un total de 130 muestras. 58 muestras RT-qPCR positivos y 72 RT-qPCR negativos. Simultáneamente, se analizó por RT-LAMP las 130 muestras y se comparó.	Se analizó el RT-LAMP frente al RT-qPCR	Se obtuvo que la temperatura óptima para el ensayo RT-LAMP fue de 63°C. Por otro lado, los cebadores obtuvieron una sensibilidad de 2×10^1 copias de ORF1ab-4 y 2×10^2 copias de S-123. Finalmente, la comparación realizada con el qPCR mostró concordancia siendo 100% de sensibilidad y 100% de especificidad para 130 muestras.

Cont. Tabla 2 - Publicaciones científicas relacionadas a la prueba RT-LAMP

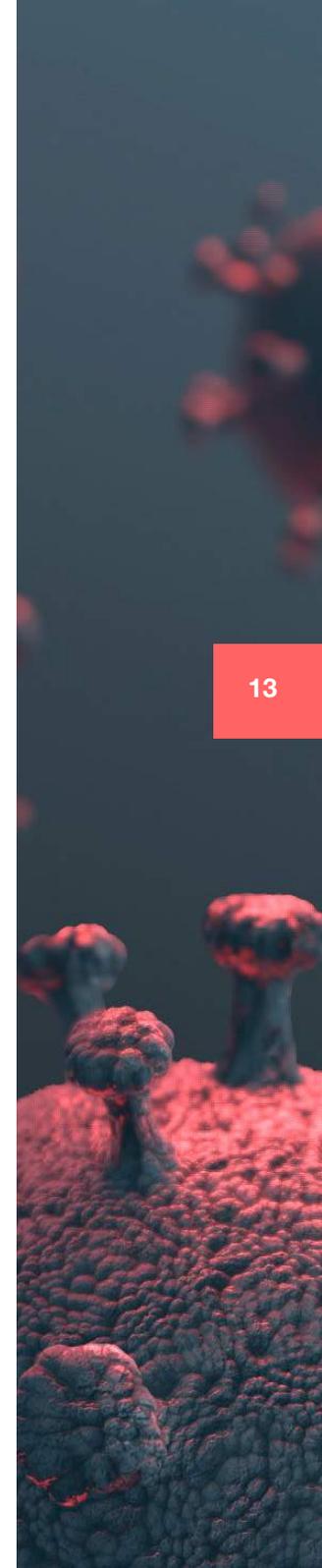
TÍTULO ORIGINAL	TÍTULO EN ESPAÑOL	INSTITUCIÓN LÍDER	FECHA DE PUBLICACIÓN	MÉTODO	PATRON DE REFERENCIA	RESULTADOS
Real-time reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of SARS-CoV-2.	RT-LAMP para la detección rápida de SARS-CoV-2	Department of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia	3 de junio de 2020	Se eligieron aleatoriamente un total de 47 muestras de hisopos nasofaríngeos RT-qPCR positivos y 42 RT-qPCR negativos. Se extrajo el ARN y se analizó por RT-qPCR y RT-LAMP.	Se analizó el RT-LAMP frente al RT-qPCR.	El ensayo RT-LAMP demostró una sensibilidad del 100% ya que todas las 47 muestras de ARN que fueron positivas por RT-qPCR fueron positivas con RT-LAMP. Ninguna de las 42 muestras negativas de RT-qPCR fueron positivas para SARS-CoV-2 usando este ensayo. No se observaron reacciones falsas positivas.
Evaluation of rapid diagnosis of novel coronavirus disease (COVID-19) using loop-mediated isothermal amplification.	Evaluación del rápido diagnóstico de la nueva enfermedad de coronavirus (COVID – 19) mediante LAMP.	Department of Clinical Laboratory, Saitama Medical University Hospital	21 de mayo de 2020	Se eligieron aleatoriamente un total de 76 muestras de hisopos nasofaríngeos, 30 RT-qPCR positivos y 46 RT-qPCR negativos. Se extrajo el ARN y se analizó por RT-qPCR y RT-LAMP.	Se analizó el RT-LAMP frente al RT-qPCR	El ensayo RT-LAMP demostró una sensibilidad del 100% y una especificidad de 97.6%, ya que las 30 muestras positivas por RT-qPCR fueron positivas con RT-LAMP, y de las 46 negativas por RT-qPCR 44 fueron negativas por RT-LAMP.
Development of Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays Targeting Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)	Desarrollo de ensayos RT-LAMP dirigidas al SARS-CoV-2.	Center for Convergent Research of Emerging Virus Infection	18 de mayo de 2020	Se eligieron un total de 154 muestras. Se realizó RT-LAMP para todas las muestras, obteniendo 16 positivas para el nuevo coronavirus, las cuales se analizaron con RT-qPCR.	Se analizó el RT-LAMP frente al RT-qPCR	Se obtuvo que de 154 muestras clínicas 16 reaccionaron positivamente en el ensayo RT-LAMP. De 16 muestras, 14 eran de muestras respiratorias de pacientes con COVID-19. Las 16 se analizaron por RT-qPCR y se encontró 2 falsos positivos para RT-LAMP.

Cont. Tabla 2 - Publicaciones científicas relacionadas a la prueba RT-LAMP

TÍTULO ORIGINAL	TÍTULO EN ESPAÑOL	INSTITUCIÓN LÍDER	FECHA DE PUBLICACIÓN	MÉTODO	PATRON DE REFERENCIA	RESULTADOS
Rapid and Extraction-Free Detection of SARS-CoV-2 From Saliva With Colorimetric LAMP	Detección rápida y extracción libre de SARS-CoV-2 a partir de la saliva con LAMP colorimétrica.	Department of Genetics, Washington University School of Medicine	11 de mayo de 2020	Se eligieron aleatoriamente un total de 5 muestras de saliva. 4 RT-qPCR positivos y 1 RT-qPCR negativos. Y se comparó con los resultados de RT-LAMP	Se realizó RT-qPCR con la sonda CDC N1 directamente a las muestras no tratadas y tratadas, junto con los controles positivos y negativos.	Se obtuvo una sensibilidad de genomas virales menor a 10 ² por reacción en los controles de saliva artificial. Además, mencionan que, si bien necesita una validación para que este tipo de ensayo sea aplicado, los resultados que muestran tienen un enfoque prometedor que ayudaría a superar los cuellos de botella que hay en los sistemas de salud.
Rapid Isothermal Amplification and Portable Detection System for SARS-CoV-2	Sistema de detección portátil, rápido y de amplificación isotérmica para el SARS-CoV-2.	Department of Bioengineering, University of Illinois	11 de mayo de 2020	Se prepararon diluciones de virus SARS-CoV-2 inactivos enriquecidos en los 16 µL de las reacciones RT-LAMP. Se mostró el límite de detección de RT-LAMP para 50 copias/µL	Se evaluó la eficacia de RT-LAMP con una serie de diluciones del virus SARS-CoV-2.	Se obtuvo que el límite de detección de 50 copias de ARN/µL en la solución VTM en 20 minutos. Además, el límite de detección en la solución nasal es de 5000 copias de ARN/µL. También, comprobaron la utilidad de este ensayo como una prueba de tiempo real "Point of use" por su rápida detección (40 minutos).

Cont. Tabla 2 - Publicaciones científicas relacionadas a la prueba RT-LAMP

TÍTULO ORIGINAL	TÍTULO EN ESPAÑOL	INSTITUCIÓN LÍDER	FECHA DE PUBLICACIÓN	MÉTODO	PATRON DE REFERENCIA	RESULTADOS
RT-LAMP for Rapid Diagnosis of Coronavirus SARS-CoV-2	RT-LAMP para rápido diagnóstico de coronavirus SARS-CoV-2	Oxford Suzhou Centre for Advanced Research (OSCAR)	25 de abril de 2020	Se eligieron aleatoriamente un total de 16 muestras clínicas de saliva. 8 muestras RT-qPCR positivos y 8 RT-qPCR negativos. Luego, se analizó por RT-LAMP las 16 muestras clínicas de saliva y se comparó.	Se analizó el RT-LAMP frente al RT-qPCR	Se mostró que la prueba RT-LAMP tiene una sensibilidad de 80 copias de ARN viral por ml de una muestra, el estudio llegó aplicarse en un hospital en China para 16 muestras, donde las pruebas con RT-LAMP guardaron concordancia con las pruebas de qPCR. Resaltan que, es muy importante tener buenas prácticas de biología molecular al aplicar esta prueba porque las pruebas RT-LAMP son fácilmente contaminadas.
A Novel Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Rapid Detection of SARS-CoV-2	Un novedoso método de amplificación isotérmica mediada por un bucle de transcripción inversa (RT-LAMP) para la detección rápida de SARS-CoV-2.	Clinical Laboratory, Nantong Third Hospital Affiliated to Nantong University	18 de abril de 2020	Se eligieron aleatoriamente un total de 56 muestras. 34 muestras RT-qPCR positivos y 188 RT-qPCR negativos. Luego, se analizó por RT-LAMP las 56 muestras y se comparó.	Se analizó el RT-LAMP frente al RT-qPCR	Se obtuvo que el límite de detección del ensayo fue de 118.6 copias de ARN de SARS-CoV-2 por reacción de 25uL. Para observar la viabilidad comercial, hicieron una comparación con un RT-qPCR, donde se observó una perfecta concordancia.



Cont. Tabla 2 - Publicaciones científicas relacionadas a la prueba RT-LAMP

TÍTULO ORIGINAL	TÍTULO EN ESPAÑOL	INSTITUCIÓN LÍDER	FECHA DE PUBLICACIÓN	MÉTODO	PATRON DE REFERENCIA	RESULTADOS
Development of a Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification as a Rapid Early-Detection Method for Novel SARS-CoV-2	Desarrollo de un RT-LAMP como método de detección temprana para el nuevo SARS-CoV-2.	Department of microbiology, Chungbuk National University College of Medicine and Medical Research Institute, Cheojung, Republic of Korea.	27 de marzo de 2020	Se evaluaron aleatoriamente un total de 154 muestras clínicas, de las cuales 14 muestras de torunda nasal fueron diagnosticadas en el Centro Médico Nacional de la Republica de Korea con COVID-19 previamente, mientras que el resto fueron muestras clínicas de torundas nasales diagnosticadas para otros virus que causan enfermedades respiratorias. Luego, se obtuvo 16 muestras positivas para SARS-CoV-2 mediante RT-LAMP, estas 16 muestras fueron evaluadas con un RT-qPCR.	Se analizó el RT-LAMP frente al RT-qPCR	Se observó que 16 de 154 muestras reaccionaron positivamente en el ensayo RT-LAMP. De 16 muestras, 14 eran de muestras respiratorias de pacientes con COVID-19. De 140 muestras negativas utilizadas para esta evaluación, se observó que dos (1.33%) muestras mostraban una reacción positiva. El resultado de la qRT-PCR para las 14 muestras mostró que RT-LAMP dio 2 falsos positivos. Los resultados del ensayo RT-LAMP desarrollado mostraron una sensibilidad calculada del 100% y una especificidad del 98,70%.

6.2.2. CRISPR/Cas

El descubrimiento y el avance reciente en las repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente espaciadas (CRISPR) y las proteínas Cas asociadas a CRISPR han llevado a una rápida expansión de la investigación y al diagnóstico molecular. El locus CRISPR se descubrió por primera vez en 1987 y se describió como repeticiones altamente homólogas con espaciadores en *Escherichia coli*.⁴

Esta tecnología fue de gran utilidad en el 2016, donde las herramientas basadas en CRISPR/Cas se utilizaron por primera vez para detectar virus, en este caso se detectó el virus Zika.⁵

Recientemente, los protocolos basados en CRISPR proporcionan un ensayo de diagnóstico rápido y preciso para la neumonía emergente del nuevo coronavirus 2019 (COVID-19). Por lo que la tecnología basada en CRISPR / Cas tiene un buen potencial para su aplicación como un ensayo de diagnóstico rápido, preciso y portátil para enfermedades infecciosas emergentes.⁶

A continuación, se muestran el resumen y los resultados obtenidos en las publicaciones en la siguiente tabla 3, donde se encuentra ordenada por la fecha de publicación, siendo la primera la más reciente:

⁴ Xiang, X., Qian, K., Zhang, Z., Lin, F., Xie, Y., Liu, Y., & Yang, Z. (2020). CRISPR-cas systems based molecular diagnostic tool for infectious diseases and emerging 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia. *Journal of drug targeting*, 1–5. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/1061186X.2020.1769637>

⁵ Pardee K, Green AA, Takahashi MK, et al. Rapid, Low-Cost Detection of Zika Virus Using Programmable Biomolecular Components. *Cell*. 2016;165(5):1255-1266. doi:10.1016/j.cell.2016.04.059

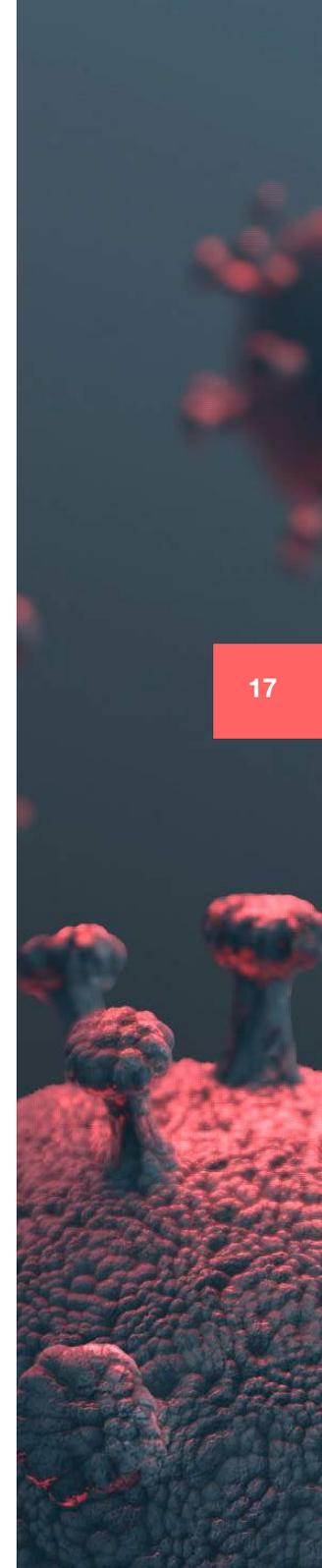
⁶ Wang X, Zhong M, Liu Y, et al. Rapid and Sensitive Detection of COVID-19 Using CRISPR/Cas12a-based Detection with Naked Eye Readout, CRISPR/Cas12a-NER [published online ahead of print, 2020 May 5]. *Sci Bull (Beijing)*. 2020;10.1016/j.scib.2020.04.041. doi:10.1016/j.scib.2020.04.041

Tabla 3 - Publicaciones científicas relacionadas a la prueba CRISPR/Cas

TÍTULO ORIGINAL	TÍTULO EN ESPAÑOL	INSTITUCIÓN LÍDER	FECHA DE PUBLICACIÓN	MÉTODO	PATRON DE REFERENCIA	RESULTADOS
Ultra-sensitive and High-Throughput CRISPR-powered COVID-19 Diagnosis	Diagnóstico de COVID-19 potenciado por CRISPR ultra sensible y de alto rendimiento.	Center for Cellular and Molecular Diagnostics, Tulane University School of Medicine	23 mayo de 2020	Se eligieron aleatoriamente un total de 29 muestras de hisopado nasal, de los cuales 19 son qPCR positivos y 10 RT-qPCR negativos. Luego, con el resto de las muestras de hisopado nasal se analizaron mediante el ensayo de CRISPR.	Se analizó el ensayo CRISPR frente al qPCR.	El ensayo COVID-19 CRISPR-FDS demostró una sensibilidad del 100%, ya que 19 de 29 muestras de hisopado nasal fueron positivas y concuerdan con el qPCR, sin embargo, tiene una especificidad de 71.4% porque detectó una señal de SARS-CoV-2 en 3 muestras.
Rapid Detection of 2019 Novel Coronavirus SARS-CoV-2 Using a CRISPR-based DETECTR Lateral Flow Assa	Detección rápida del nuevo coronavirus SARS-CoV-2 de 2019 utilizando un ensayo de flujo lateral DETECTR basado en CRISPR	Mammoth Biosciences, Inc.	27 marzo de 2020	Se escogieron 6 muestras de torunda respiratorias qPCR positivos para SARS-CoV-2, 3 muestras de torunda respiratorias qPCR positivos para coronavirus estacionales, 4 muestras de torunda respiratorias qPCR positivos para la influenza y 5 muestras de torunda respiratorias de pacientes sanos. Luego, se analizaron cada una de las muestras mediante CRISPR-Cas12 para detección de SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2-DETECTR).	Se analizó el ensayo CRISPR frente al qPCR.	El ensayo SARS-CoV-2-DETECTR demostró una sensibilidad de 90% y una especificidad de 91.7% para las 18 muestras de torunda respiratorias, donde 6 muestras son qPCR positivos para SARS-CoV-2, 3 muestras son qPCR positivos para coronavirus estacionales, 4 muestras son qPCR positivos para la influenza y 5 muestras son de pacientes sanos.

Cont. Tabla 3 - Publicaciones científicas relacionadas a la prueba CRISPR/Cas

TÍTULO ORIGINAL	TÍTULO EN ESPAÑOL	INSTITUCIÓN LÍDER	FECHA DE PUBLICACIÓN	MÉTODO	PATRON DE REFERENCIA	RESULTADOS
CRISPR–Cas12-based detection of SARS-CoV-2	Detección basada en CRISPR–Cas12 de SARS-CoV-2	Mammoth Biosciences, Inc., South San Francisco, CA, United States	En revisión	Se evaluaron muestras de referencia artificiales y muestras clínicas de pacientes en los Estados Unidos, incluidos 36 pacientes con COVID-19 y 42 pacientes con otras infecciones virales respiratorias.	Se analizó el ensayo CRISPR frente al RT-PCR.	Se obtuvo un un 95% de predicción positiva y 100% de predicción negativa.
Rapid and sensitive detection of COVID-19 using CRISPR/Cas12a-based detection with naked eye readout, CRISPR/Cas12a-NER	Detección rápida y sensible de COVID-19 utilizando la detección basada en CRISPR / Cas12a con lectura a simple vista, CRISPR / Cas12a-NER	Shanghai Institute for Advanced Immunochemical Studies, ShanghaiTech University, Shanghai, 201210, China	En revisión	Se utilizaron un total de 31 muestras de ARN extraídas clínicamente para la detección de COVID-19 con el ensayo CRISPR / Cas12a-NER y TaqMan qPCR (GenScript, Nanjing, China) para el gen E en paralelo.	Se analizó el ensayo CRISPR frente al qPCR.	Entre estas muestras, de acuerdo con el diagnóstico clínico, 16 se determinó que eran positivas al SARS-CoV-2 por los ensayos CRISPR / Cas12a-NER y qPCR y mostraron un 100% de concordancia.



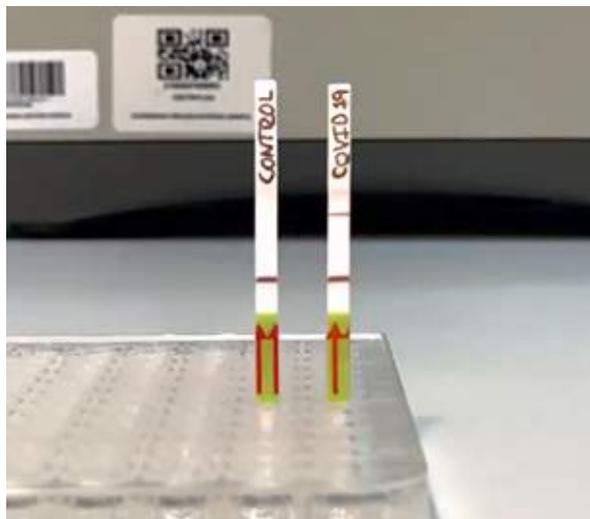
7. ANÁLISIS DE LAS INVESTIGACIONES Y DESARROLLOS NACIONALES

7.1. PROYECTOS PERUANOS

Se encontraron 6 proyectos peruanos orientados hacia el desarrollo de pruebas de diagnóstico del SARS-CoV-2, principalmente desarrollados por la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Las pruebas desarrolladas utilizan principalmente tecnología RT-LAMP y CRISPR debido a su bajo costo y su fácil utilización.

7.1.1. Prueba molecular de diagnóstico de SARS-CoV-2 mediante amplificación isotérmica y detección enzimática CRISPR-Cas.⁷

La prueba molecular de diagnóstico de SARS-CoV-2 que utiliza amplificación isotérmica y detección enzimática por CRISPR-Cas⁸ es un proyecto de la Universidad Peruana Cayetano Heredia liderado por el investigador Edward Málaga-Trillo, que permite detectar la presencia del COVID-19 en 40 minutos.



Fuente: UPCH

⁷ Universidad Cayetano Heredia. Científico de la Cayetano logra prueba rápida molecular para detectar Coronavirus. 2020. Visto en: <https://investigacion.cayetano.edu.pe/prensa/250-cientifico-de-la-cayetano-logra-prueba-rapida-molecular-para-detectar-coronavirus>

⁸ Universidad Cayetano Heredia. Científico de la Cayetano logra prueba rápida molecular para detectar Coronavirus. 2020. Visto en: <https://investigacion.cayetano.edu.pe/prensa/250-cientifico-de-la-cayetano-logra-prueba-rapida-molecular-para-detectar-coronavirus>

7.1.2. Validación y escalamiento de un kit molecular para el diagnóstico específico del COVID-19

Este proyecto financiado por Innovate Perú ganador del concurso de Validación de la Innovación Reto InnoVA COVID-19, se encuentra a cargo de la empresa BTS Consultores S.A. en asociación con el Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales (CITBM) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, donde buscan desarrollar un kit de diagnóstico molecular de bajo costo utilizando tecnología RT-PCR.⁹



Fuente : Innovate Perú

⁹ Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Reto InnoVA COVID-19: proyecto para producir kits de diagnóstico molecular es uno de los ganadores. 2020. Visto en: <http://www.unmsm.edu.pe/noticias/ver/reto-innovacovid-proyecto-para-producir-kits-de-DIAGNÓSTICO-molecular-es-ganador>

7.1.3. Diagnóstico molecular rápido, accesible y preciso de SARS-CoV-2 mediante la implementación de las tecnologías RT-LAMP y CRISPR-Cas12 y Análisis de patógenos asociados a COVID-19 mediante MALDI TOF TOF

El proyecto está a cargo de la Universidad Nacional de Tumbes e IncaBiotec y es uno de los ganadores del concurso Proyectos Especiales: Respuesta a la COVID-19 del Fondo de Desarrollo en Ciencia y Tecnología (Fondecyt). Este proyecto busca desarrollar un diagnóstico molecular rápido, accesible y preciso de SARS-CoV-2 mediante la implementación de las tecnologías RT-LAMP y CRISPR-Cas12 y análisis de patógenos asociados a COVID-19 mediante MALDI TOF TOF, esta prueba se estima obtendría resultados en 30 minutos.¹⁰

7.1.4. Desarrollo y validación de una prueba rápida molecular para la detección de SARS-CoV-2 empleado el método isotérmico RPA-LF (Recombinase Polymerase Amplification)

El proyecto está a cargo de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y es uno de los ganadores del concurso Proyectos Especiales: Respuesta a la COVID-19 del Fondo de Desarrollo en Ciencia y Tecnología (Fondecyt). Este proyecto busca desarrollar una alternativa al RT-qPCR por medio del uso de una prueba isotérmica RPA-LF, lo cual reducirá el tiempo de detección del SARS-CoV-2 a 35 minutos. Además, la prueba tendrá la capacidad de ser utilizada en cualquier parte sin la necesidad de contar con equipamiento costoso y laboratorio sofisticado.¹¹

7.1.5. Desarrollo y validación de una prueba molecular portable y colorimétrica para el diagnóstico rápido de infecciones por el virus SARS-CoV 2 (COVID-19)

El proyecto está a cargo del Instituto Nacional de Salud y es uno de los ganadores del concurso Proyectos Especiales: Respuesta a la COVID-19 del Fondo de Desarrollo en Ciencia y Tecnología (Fondecyt). Este proyecto

¹⁰Universidad Nacional de Tumbes. Proyecto científico unetino destaca entre 600 a nivel nacional. 2020. Visto en: <http://www.untumbes.edu.pe/blogs/index.php/proyecto-cientifico-unetino-destaca-entre-600-a-nivel-nacional/>

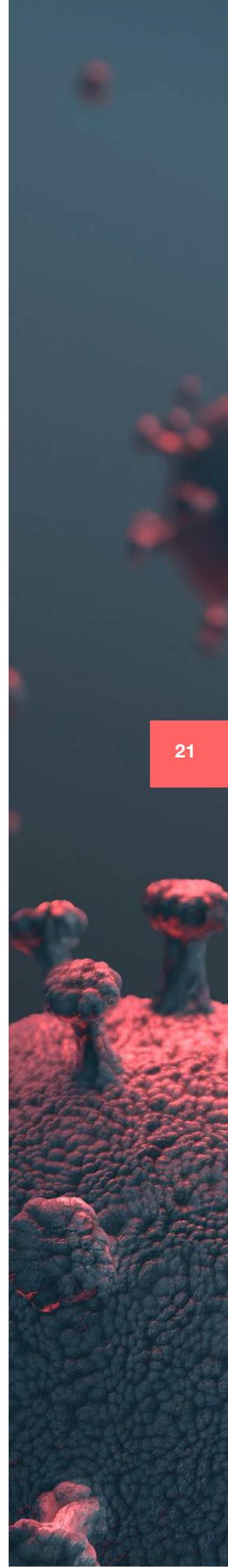
¹¹Instituto Nacional de Salud. Desarrollo y validación de una prueba rápida molecular para la detección de SARS-CoV-2 empleando el método isotérmico RPA-LF (RECOMBINASE POLYMERASE AMPLIFICATION). 2020. Visto en: <https://prisa.ins.gob.pe/index.php/acerca-de-prisa/busqueda-de-proyectos-de-investigacion-en-salud/1158-desarrollo-y-validacion-de-una-prueba-rapida-molecular-para-la-deteccion-de-SARS-CoV-2-empleando-el-metodo-isotermico-rpa-lf-recombinase-polymerase-amplification>

desarrollará y validará el método RT-LAMP que permite la detección y una alta cantidad de copias de una región específica del genoma del virus. El líder del proyecto, el biólogo genetista Eduardo Juscamayta, menciona que la prueba molecular propuesta es rápida, funciona a una temperatura constante en comparación con otras pruebas moleculares, no requiere equipos complejos ni costosos y puede ser realizada en un termobloque simple o en baño María.¹²

7.1.6. Adaptación y personalización de un sensor SPR “artesanal” operativo de bajo costo, para la detección rápida, altamente sensible y específica del virus SARS-CoV-2

El proyecto está a cargo de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y es uno de los ganadores del concurso Proyectos Especiales: Respuesta a la COVID-19 del Fondo de Desarrollo en Ciencia y Tecnología (Fondecyt).

¹² Gestión. INS crea propuesta de prueba molecular para diagnóstico de COVID-19 en menos de una hora. 2020. Visto en: <https://gestion.pe/peru/politica/coronavirus-peru-ins-crea-prueba-molecular-para-el-DIAGNÓSTICO-del-COVID-19-que-entrega-resultados-en-menos-de-una-hora-informo-minsa-cuarentena-estado-de-emergencia-nndc-noticia/>



8. CONCLUSIONES

Hasta la actualidad no se han registrado patentes a pruebas de diagnóstico del COVID-19. Sin embargo, cabe la posibilidad que estas se hayan presentado y se encuentren en etapa confidencial.

A la fecha de análisis, se cuentan con 10 publicaciones científicas relacionadas a la prueba RT-LAMP, y 4 publicaciones científicas relacionadas a la prueba CRISPR/Cas.

En el Perú existen 6 proyectos orientados hacia el desarrollo de pruebas moleculares diferentes al RT-PCR para el diagnóstico del SARS-CoV-2. Estos son desarrollados principalmente por la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Su desarrollo implica, sobre todo, la tecnología RT-LAMP y CRISPR debido a su bajo costo y su fácil utilización.



INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Cápac Yupanqui 1400 - Jesús María, Lima - Perú

T. (511) 748 1111 - (511) 748 0000

OFICINA EJECUTIVA DE TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA Y CAPACITACIÓN

Av. Defensores del Morro 2268 (Ex Huaylas) - Chorrillos

T. (511) 748 0000 - Anexo 1717

