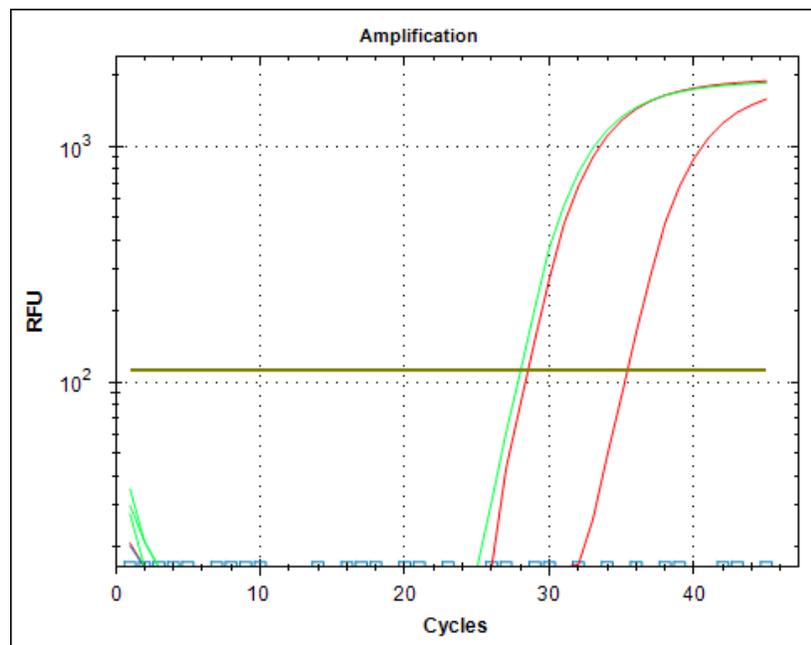


**INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
DIRECCIÓN DE REDES EN SALUD PÚBLICA
SUBDIRECCIÓN LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA
GRUPO MICROBIOLOGÍA**

Programa de Evaluación Externa del Desempeño en PCR en tiempo real para la identificación de *Bordetella* spp.



Elaborado por	Efraín Andrés Montilla Escudero
Fecha	2019-12
Revisado por	Francia Patricia Correa Responsable técnico PEED
Fecha	2020-02
Aprobado por	Carolina Duarte Coordinadora Grupo Microbiología DRSP
Fecha	2020-02

CONTENIDO

1. OBJETIVOS	3
2. DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD.....	3
3. INFORMACIÓN GENERAL DEL PROGRAMA	3
4. PERIODICIDAD.....	4
5. MATERIAL DE CONTROL/ ÍTEMS DE ENSAYO	4
6. MANEJO MATERIAL CONTROL / ÍTEM DE ENSAYO.....	4
7. MÉTODOS DE ENSAYO	5
8. UNIDADES CONSIDERADAS	6
9. VALOR ASIGNADO	6
10. ENVÍO DE RESULTADOS.....	6
11. CRITERIOS/MÉTODOS DE EVALUACIÓN.....	7
12. INFORME DE RESULTADOS.....	9
13. CONTÁCTENOS.....	10
CANALES DE COMUNICACIÓN INSTITUCIONAL.....	10

1. OBJETIVOS

- ✓ Evaluar el desempeño y calidad de los laboratorios inscritos en el programa que cuenten con PCR en tiempo real para búsqueda de *Bordetella* spp. en muestras nasofaríngeas.
- ✓ Proveer una herramienta a los laboratorios para el control de calidad en sus resultados con el fin de identificar problemas e iniciar acciones para su mejora.
- ✓ Proporcionar confianza adicional a los clientes de los laboratorios participantes.

2. DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD

Cada participante inscrito, recibirá un código único, el cual le permitirá ser evaluado y comparado con los demás participantes garantizando una comunicación independiente y estrictamente confidencial. Adicionalmente, aunque los resultados e información de los participantes son confidenciales por estar asociados a un número único de inscripción, pueden ser dados a conocer como resultados no personalizados en informes o publicaciones para fines pertinentes y según corresponda.

3. INFORMACIÓN GENERAL DEL PROGRAMA

Desde el 2010 el Grupo de Microbiología del Instituto Nacional de Salud realiza la vigilancia de tos ferina por la técnica de PCR en casos probables de esta enfermedad, realizando un cubrimiento a más de 30 departamentos durante los últimos siete años; desde el 2011 hasta el 2013 el Laboratorio Nacional de Referencia fue evaluado por los centros de referencia internacional como la Universidad de la Plata de Argentina y desde 2014 se participa en evaluaciones externas del desempeño con los CDC (Centros para el Control y Prevención de Enfermedades) de Atlanta, obteniendo resultados satisfactorios en la identificación de especies de *Bordetella*.

Actualmente, la técnica PCR en tiempo real se ha convertido en una herramienta indispensable para el diagnóstico clínico de múltiples enfermedades infecciosas que involucra tanto la identificación, mecanismos de resistencia, factores de virulencia, entre otros. Por lo tanto, la evaluación externa del desempeño de PCR para la búsqueda de *Bordetella* spp. intenta evaluar la concordancia de los resultados que emiten las diferentes metodologías de PCR en tiempo real implementadas en la actualidad y sus resultados pueden repercutir en el manejo clínico y en las decisiones en la salud pública.

Adicionalmente el programa de control de calidad es requisito de obligatorio cumplimiento para los Laboratorios de Salud Pública según el literal 7 del artículo 16 del decreto 2323 de 2006 “deberán participar en los programas nacionales de evaluación externa del desempeño acorde con los lineamientos establecidos por los laboratorios nacionales de referencia”.

El programa está dirigido en el año 2020 para los Laboratorios de Salud Pública (LSP) que realizan PCR en tiempo real de manera rutinaria (10681, 10690, 10987, 11154) porque son los únicos que tienen implementada la metodología. Adicionalmente para la participación, los laboratorios deben haber realizado la inscripción como se detalla en el documento **INSTRUCTIVO DE INSCRIPCIÓN PEEDS** que se encuentra disponible en la página web del Instituto Nacional de Salud.

4. PERIODICIDAD

Frecuencia un envío anual

5. MATERIAL DE CONTROL/ ÍTEMS DE ENSAYO

Los ítems suministrados para el ejercicio interlaboratorio son ADN deshidratados obtenidos a partir de cepas que fueron utilizadas para la estandarización de PCR en tiempo real para la identificación de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* y *Bordetella holmesii*. Consta de una caja con nueve viales de microcentrífuga de 1,5 ml y con un número que identifica la prueba en la tapa de cada tubo.

Esta selección se realiza de acuerdo con el siguiente criterio:

- La importancia del patógeno en la epidemiología del país.
- La dificultad en la interpretación de los resultados.

6. MANEJO MATERIAL CONTROL / ÍTEM DE ENSAYO

Una vez el laboratorio participante recibe los ítems de ensayo de aptitud debe diligenciar el documento “SUMINISTRO E INSPECCIÓN DEL PAQUETE”, el cual se encuentra publicado y disponible para descarga en la página institucional www.ins.gov.co INS - Instituto Nacional de Salud > Trámites y Servicios > Inscripción y participación en los programas de Evaluación Externa del Desempeño del INS/ PEED-PCR-BORDETELLA o el que está adjunto en el correo electrónico. Si se presentan inconvenientes con algún componente enviado se debe informar al líder técnico del programa al correo pcrtosferina@ins.gov.co, con el fin de tomar las medidas pertinentes y programar un nuevo envío. Tenga en cuenta que el documento “SUMINISTRO E INSPECCIÓN DEL

PAQUETE”, es obligatorio y en el caso de no diligenciarse se asume que el paquete fue recibido a conformidad por lo tanto no será tenido en cuenta reclamaciones posteriores.

La respuesta a esta prueba se debe realizar en cuatro semanas y las fechas serán establecidas en el calendario publicado en la página web o adjunto al correo de envío.

Los tubos con el ADN se deben hidratar únicamente hasta el momento que se vaya a realizar la PCR. Después de hidratados se llamarán eluidos y tendrán una estabilidad máxima de un mes después de reconstituidos para el caso que sea necesario realizar una repetición o confirmación. A continuación, siga las siguientes instrucciones:

1. Los tubos se deben hidratar en una cabina o zona de adición de eluidos.
2. Se deben hidratar con 100 µL de agua grado molecular estéril
3. Mezclar en un vórtex por cinco segundos.
4. Centrifugar por un minuto a 10.000 rpm.
5. Adicionar los eluidos a las mezclas de PCR.
6. Realizar el análisis de los resultados de acuerdo con el algoritmo utilizado en el laboratorio.

Nota: si requieren repetir la prueba deben guardar los eluidos a -20 °C por un mes

ES NECESARIO QUE LAS MUESTRAS SEAN ANALIZADAS SIGUIENDO LOS PROCEDIMIENTOS ESTABLECIDOS EN CADA LABORATORIO PARTICIPANTE DE LA MISMA MANERA QUE LA MAYORÍA DE LAS MUESTRAS ENSAYADAS RUTINARIAMENTE

7. MÉTODOS DE ENSAYO

El programa recomienda que los métodos empleados por los laboratorios participantes en el procesamiento de los ítems de ensayo sean los utilizados en el trabajo analítico de rutina. Es obligación del participante reportar el método utilizado en cada ítem analizado, con el fin de comparar las técnicas utilizadas por cada participante. Adicionalmente deberán diligenciar todos los campos solicitados en el formato de resultados el cual será enviado al participante por correo electrónico.

8. UNIDADES CONSIDERADAS

Se evaluará concordancia de presencia o ausencia de ADN de *Bordetella* spp, no se evaluará controles internos. Esta evaluación no otorgará puntaje de calificación.

Tanto para las muestras positivas como las negativas se evaluará concordancia de la interpretación de los resultados, esta evaluación otorgará el puntaje para la calificación.

9. VALOR ASIGNADO

Debido a que el ítem de ensayo es de carácter cualitativo y semi-cuantitativo, el valor asignado será el valor obtenido por el laboratorio nacional de referencia.

10. ENVÍO DE RESULTADOS

Los resultados deberán ser diligenciados en la hoja de cálculo enviada al participante y deberán ser impresos y firmados por la persona quien realizó el ensayo y escanearlos para envío posterior al correo pcrtosferina@ins.gov.co. También se debe incluir las fotografías de los resultados correspondientes.

El documento de reporte de resultados cuando se diligencia se torna en registro confidencial, basado en el código único asignado a cada laboratorio y debe ser enviado con toda la información cuando se reportan los datos por ronda, UNICAMENTE al correo electrónico del programa.

No se otorgará ningún plazo extra para la entrega de los resultados, se tendrán en cuenta los resultados enviados hasta la fecha límite prevista en el calendario disponible para consulta y descarga en la **ruta INS - Instituto Nacional de Salud > Trámites y Servicios > Inscripción y participación en los programas de Evaluación Externa del Desempeño del INS/ PEED-PCR-BORDETELLA.**

11. CRITERIOS/MÉTODOS DE EVALUACIÓN

Evaluación cualitativa

La evaluación se realizará comparando el resultado reportado por el laboratorio participante frente al valor asignado por el Laboratorio Nacional de Referencia, en el cual se considerará:

Satisfactorio: mayor o igual a 80%

Insatisfactorio: menor al 80%

- 1- Evaluación de concordancia: en presencia o ausencia de ADN de *Bordetella* spp (no calificable):

Concordancia = 100%

Sin concordancia = 0%

No-respuesta = 0%

- 2- Evaluación de concordancia en la interpretación de identificación de especie de acuerdo con la PCR disponible para los laboratorios participantes (calificable):

Tabla 1. Puntajes posibles de concordancia de acuerdo con los blancos disponibles de PCR en tiempo real de los laboratorios participantes.

		Concordancia de acuerdo con los blancos de PCR en tiempo real disponibles en el laboratorio del participante				
		Resultado participante	IS481/pIS1001	IS481/ (toxina)	IS481/pIS1001/(toxina)	IS481/pIS1001/hIS1001 (toxina)
Resultado Laboratorio Nacional de Referencia	<i>B. pertussis</i>	<i>Bordetella</i> spp.	100%	50%	50%	25%
		<i>B. pertussis</i>	25%	100%	100%	100%
		<i>B. parapertussis</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B. holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.pertussis/B.parapertussis</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.pertussis/B.holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.parapertussis/B.holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
	<i>B. parapertussis</i>	<i>Bordetella</i> spp.	0%	0%	0%	0%
		<i>B. pertussis</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B. parapertussis</i>	100%	0%	100%	100%
		<i>B. holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.pertussis/B.parapertussis</i>	0%	0%	0%	0%



		Concordancia de acuerdo con los blancos de PCR en tiempo real disponibles en el laboratorio del participante				
		Resultado participante	IS481/pIS1001	IS481/ (toxina)	IS481/pIS1001/(toxina)	IS481/pIS1001/hIS1001 (toxina)
Resultado Laboratorio Nacional de Referencia		<i>B.pertussis/B.holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.parapertussis/B.holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
	B. holmesii	<i>Bordetella spp.</i>	100%	100%	100%	0%
		<i>B. pertussis</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B. parapertussis</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B. holmesii</i>	100%	0%	0%	100%
		<i>B.pertussis/B.parapertussis</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.pertussis/B.holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.parapertussis/B.holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
	B. pertussis/ B. parapertussis	<i>Bordetella spp.</i>	50%	0%	0%	0%
		<i>B. pertussis</i>	25%	75%	50%	50%
		<i>B. parapertussis</i>	50%	0%	50%	50%
		<i>B. holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.pertussis/B.parapertussis</i>	100%	0%	100%	100%
		<i>B.pertussis/B.holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.parapertussis/B.holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
	B. pertussis/ B. holmesii	<i>Bordetella spp.</i>	100%	25%	25%	0%
		<i>B. pertussis</i>	0%	100%	100%	50%
		<i>B. parapertussis</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B. holmesii</i>	0%	0%	0%	50%
		<i>B.pertussis/B.parapertussis</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.pertussis/B.holmesii</i>	100%	0%	0%	100%
		<i>B.parapertussis/B.holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
	B. parapertussis/ B. holmesii	<i>Bordetella spp.</i>	50%	100%	50%	25%
		<i>B. pertussis</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B. parapertussis</i>	50%	0%	50%	50%
		<i>B. holmesii</i>	0%	0%	0%	50%
		<i>B.pertussis/B.parapertussis</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.pertussis/B.holmesii</i>	0%	0%	0%	0%
		<i>B.parapertussis/B.holmesii</i>	50%	0%	0%	100%
<i>B. parapertussis/ Bordetella spp.</i>		100%	0%	100%	0%	

En el caso que los resultados sean negativos para el LNR y el participante obtenga un resultado negativo tendrá una concordancia del 100%, sin embargo, cuando obtenga una amplificación en cualquier blanco será interpretado como una contaminación y la concordancia será 0%.

12. INFORME DE RESULTADOS

- Se analizará la información y se emitirá un informe anual en donde se presentan los resultados de la PEED que incluye adicionalmente un análisis de los Ct (valor de ciclo umbral en el que la fluorescencia generada está significativamente por encima de la fluorescencia de fondo debido a la presencia del blanco de interés) obtenidos durante la prueba y que no influirán en el desempeño de la prueba. Adicionalmente se enviará información o recomendaciones que mejoren la realización de la técnica en el caso que se observen resultados no concordantes.
- Evaluación anual: este informe integra los resultados de la evaluación realizada en el año.
- Los certificados de participación se entregarán únicamente a los laboratorios que hayan dado respuesta a la prueba y haya obtenido una concordancia igual o mayor del 80%.

Este informe se publicará en la página web del INS y se enviará por correo electrónico. De acuerdo con las fechas establecidas en el calendario

13. CONTÁCTENOS

**Instituto Nacional de Salud
Grupo Microbiología
Avenida Calle 26 No 51 – 20 Bloque B Segundo Piso**

Carolina Duarte Valderrama
Coordinadora Grupo Microbiología
Teléfono: 2207700 ext. 1430
E-mail: cduarte@ins.gov.co

Efraín Andrés Montilla Escudero
Líder técnico PEED-PCRBORDETELLA
Teléfono: 2207700 ext. 1421-1423
E-mail: pcrtosferina@ins.gov.co

CANALES DE COMUNICACIÓN INSTITUCIONAL

Para mejorar la comunicación, solo se recibirá información a través de los canales oficiales disponibles en el Instituto Nacional de Salud

Horario de Atención lunes a viernes 8:30 am a 4:30 pm

- Canal Virtual: pcrtosferina@ins.gov.co.
- Canal Telefónico: Bogotá Fijo 2207700
 - ✓ Ext 1421: Grupo de Microbiología - Asesorías técnicas, reporte de resultados
 - ✓ Ext 1219: Subdirección Gestión de Calidad

Línea Gratuita Nacional 018000113400

Para la atención de peticiones, quejas, reclamos, apelaciones y consultas, los canales de comunicación son:

Canal Virtual: contactenos@ins.gov.co

- Canal Virtual:
 - ✓ contactenos@ins.gov.co
 - ✓ www.ins.gov.co - Link Información al Ciudadano /Sistema de Peticiones, Quejas y Reclamos
 - ✓ Chat Atención al Ciudadano - Link Información al Ciudadano de Atención al Ciudadano/chat



- Canal Telefónico:
 - ✓ Call Center 2207700 ext. 1703 – 1704
 - ✓ Línea Gratuita Nacional 018000113400
 - ✓ Fijo y Móvil marca 100 opción 1-7-1
- Gobierno en Línea Min TIC: Fijo 5953525 Opción 7
- Línea Gratuita Nacional 018000952525 Opción 7