

**PROTOCOLO PROGRAMA DE ENSAYOS DE APTITUD DE MICOBACTERIAS
PREAM 2016**

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



| | |
|-----------------------|---|
| Elaborado por: | Yanely Angélica Valbuena Arias |
| Fecha: | 2016 – 03 – 02 |
| Revisado por: | Yanely Angélica Valbuena Arias Grupo de Micobacterias |
| Fecha: | 2016 – 03 – 02 |
| Aprobado por: | Claudia Llerena Polo Coordinadora Grupo de Micobacterias |
| Fecha: | 2016 – 03 – 02 |

CONTENIDO

| | |
|--|-----------|
| 1. OBJETIVO | 3 |
| 2. DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD | 3 |
| 3. INFORMACION GENERAL DEL PROGRAMA | 3 |
| 4. PERIODICIDAD | 4 |
| 5. MATERIAL DE CONTROL / ITEMS DE ENSAYO | 4 |
| 6. MANEJO DE MATERIAL / ITEM DE ENSAYO | 5 |
| 7. METODOS DE ENSAYO | 6 |
| 8. UNIDADES CONSIDERADAS | 6 |
| 9. VALOR ASIGNADO | 6 |
| 10. ENVIO RESULTADOS | 7 |
| 11. CRITERIOS/METODOS DE EVALUACION | 7 |
| 12. INFORME DE RESULTADOS | 13 |
| 13. CONTACTENOS | 15 |
| CANALES DE COMUNICACIÓN INSTITUCIONAL | 16 |

1. OBJETIVO

- ✓ Evaluar el desempeño de los laboratorios inscritos en el programa que realizan:
 - diagnóstico y control de tuberculosis y clasificación y control de lepra por la metodología de baciloscopia
 - identificación de especie mediante la prueba de idoneidad de *M. tuberculosis*
 - pruebas de sensibilidad a los fármacos antituberculosis

Esta evaluación permite desarrollar conocimientos, y contribuye con la eficiencia de una red de servicios organizados.

- ✓ Proporcionar confianza adicional a los clientes de los laboratorios participantes.

2. DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD

En el programa cada laboratorio inscrito oficialmente, es identificado con un número aleatorio, que es el número único de inscripción; este se usa para interactuar todo lo correspondiente al ciclo del programa, protege la identidad de los participantes y una comunicación independiente y estrictamente confidencial.

Aunque los resultados e información de los participantes es confidencial por estar asociados al número único de inscripción, estos pueden ser dados a conocer como resultados no personalizados en informes o publicaciones y también a las entidades estatales de regulación, vigilancia o control para fines pertinentes y según corresponda.

3. INFORMACION GENERAL DEL PROGRAMA

El Programa de Ensayos de Aptitud de Micobacterias (PREAM) es generado por el Instituto Nacional de Salud, como ensayo de aptitud/comparación de tipo cualitativo, simultáneo y continuo según criterios previamente establecidos por el Laboratorio Nacional de Referencia, para la lectura de la baciloscopia de tuberculosis y lepra, prueba de idoneidad en la identificación de *M. tuberculosis* y pruebas de sensibilidad a los fármacos antituberculosis.

El INS como Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) según el Decreto 2323 de 2006 tiene establecido el Programa de Evaluación Externa del Desempeño Directa para todos los Laboratorios de Salud Pública (LSP) y con los laboratorios de la red para pruebas de alta complejidad.

Este programa se divide en:

- Lectura de Baciloscopia de Tuberculosis y Lepra
- Idoneidad en la identificación de *M. tuberculosis*
- Pruebas de sensibilidad a los fármacos antituberculosis

Los programas de lectura de baciloscopia de tuberculosis y lepra y prueba de idoneidad en la identificación de *M. tuberculosis* están dirigidos a los LSP del país, y el de pruebas de sensibilidad a los fármacos antituberculosis a los laboratorios de carácter público, privado y/o mixto, que realizan estas pruebas.

Para la participación, los laboratorios deben haber realizado la inscripción como se detalla en el documento **INSTRUCTIVO DE INSCRIPCIÓN PEEDS** disponible en:

[www.ins.gov.co/Trámites y servicios / Programas de Evaluación Externa del Desempeño / Programas Directos / PREAM](http://www.ins.gov.co/Trámites_y_servicios/Programas_de_Evaluación_Externa_del_Desempeño/Programas_Directos/PREAM)

4. PERIODICIDAD

De todos los programas PREAM, se realiza un envío al año, el cual socializado con anticipación a los participantes oficialmente inscritos, mediante un calendario que se publica en la página institucional disponible en:

[www.ins.gov.co/Trámites y servicios / Programas de Evaluación Externa del Desempeño / Programas Directos / PREAM](http://www.ins.gov.co/Trámites_y_servicios/Programas_de_Evaluación_Externa_del_Desempeño/Programas_Directos/PREAM)

5. MATERIAL DE CONTROL / ITEMS DE ENSAYO

El programa de evaluación de lectura de baciloscopia consiste en el envío de diez láminas de tuberculosis y cuatro de lepra que hacen parte del material de referencia del LNR.

El programa de prueba de idoneidad en la identificación de *M. tuberculosis* consiste en el envío de diez cepas de referencia, el LNR prepara estos paneles previo al envío para que cumplan las condiciones de tiempo de desarrollo, positividad y los criterios de estabilidad definidos por la institución.

En el programa de pruebas de sensibilidad a los fármacos antituberculosis por métodos convencionales se envía un panel de aislamientos de *M. tuberculosis* en medio de Löwenstein – Jensen, para técnicas moleculares se envían diez cepas inactivas, todo este material de referencia hace parte del panel que el Laboratorio Supranacional de Referencia utiliza para evaluar al LNR.

6. MANEJO DE MATERIAL / ITEM DE ENSAYO

Todos los paquetes son enviados cumpliendo las recomendaciones para el transporte de sustancias infecciosas por correo certificado según la categoría que corresponda.

Los paneles de prueba de idoneidad en la identificación de *M. tuberculosis* y pruebas de sensibilidad a los fármacos antituberculosis por métodos convencionales contienen aislamientos de micobacterias clasificados como especímenes potencialmente infecciosos que deben ser considerados como capaces de transmitir enfermedades de riesgo biológico III.

Durante el procesamiento de pruebas los laboratorios receptores deben aplicar las normas de bioseguridad señaladas por la Organización Mundial de la Salud (OMS), Centro para Control y Prevención de Enfermedades (CDC), Manual de Bioseguridad para Laboratorios de Tuberculosis de la OMS.

Una vez el laboratorio participante recibe los paneles para la realización del PREAM debe diligenciar el documento “SUMINISTRO E INSPECCIÓN DEL PAQUETE”, el cual se envía en físico, debe revisar el protocolo con las indicaciones básicas disponibles en la

Si se presentan inconvenientes con algún panel, se debe informar al responsable del programa el documento junto con la evidencia fotográfica, esto debe ser enviado a los correos peedmicobacterias@ins.gov.co y cllerena@ins.gov.co

Tenga en cuenta que este documento es de trazabilidad administrativa, por lo cual es obligatorio su diligenciamiento y reporte al INS; en caso de no ser enviado, se presume que el panel fue recibido de conformidad, reclamaciones posteriores no serán consideradas.

7. METODOS DE ENSAYO

Como principio general, el programa PREAM recomienda que los métodos empleados por los laboratorios participantes en el procesamiento de los paneles sean los utilizados en el trabajo de rutina; éstos deben ser normalizados y si es el caso soportados por una validación.

Es obligación del participante reportar el método utilizado en el procesamiento de cada panel, debido que esto se debe considerar en el análisis de resultados.

8. UNIDADES CONSIDERADAS

El PREAM de evaluación de lectura de baciloscopia de tuberculosis y lepra, prueba de idoneidad en la identificación de *M. tuberculosis* y pruebas de sensibilidad a los fármacos antituberculosis utiliza unidades de porcentaje que se interpretan mediante concordancia.

9. VALOR ASIGNADO

Los valores del PREAM para la lectura de baciloscopia de tuberculosis y lepra así como para la prueba de idoneidad en la identificación de *M. tuberculosis* fueron definidos por el LNR, en pruebas de sensibilidad a los fármacos antituberculosis los valores de aceptación son definidos por consenso de los Laboratorios Supranacionales de Referencia.

10. ENVIO RESULTADOS

Todos los resultados son entregados mediante el diligenciamiento de los siguientes formatos:

- Resultados de la Evaluación Externa del Desempeño Directa (EEDD) de Baciloscopia de TB
- Resultados de la Evaluación Externa del Desempeño Directa (EEDD) de Baciloscopia de Lepra
- Resultados de la Evaluación Externa del Desempeño Directa (EEDD) Identificación *Mycobacterium tuberculosis*
- Resultados Evaluación Externa de Desempeño Directa Pruebas de Sensibilidad de *Mycobacterium tuberculosis* a fármacos antituberculosis por método convencional
- Resultados Evaluación Externa de Desempeño Directa Pruebas de Sensibilidad de *Mycobacterium tuberculosis* a fármacos antituberculosis por método molecular

Los resultados deben ser enviados en la fecha límite establecida con toda la información al correo electrónico peedmicobacterias@ins.gov.co

11. CRITERIOS/METODOS DE EVALUACION

El Programa de Evaluación de Lectura de Baciloscopia de Tuberculosis evalúa los siguientes parámetros:

Calidad de la lectura

El proceso se debe realizar según la escala adoptada internacionalmente para el informe de los resultados:

| Escala semicuantitativa para la lectura de la baciloscopia | | |
|--|--------------|--|
| Resultado de la baciloscopia | | Informe |
| Negativo | (-) | No se observan BAAR en los 100 campos microscópicos observados |
| Número exacto de bacilos | 1 a 9 | Se observan de 1 a 9 BAAR en 100 campos microscópicos observados |
| Una cruz | (+) | Se observan de 10 a 99 BAAR por campo en 100 campos microscópicos observados |
| Dos cruces | (++) | Se observan de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos microscópicos observados |
| Tres cruces | (+++) | Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos microscópicos observados. |

Resultados:

Correcto: baciloscopias concordantes para el LSP y el supervisor teniendo en cuenta que el número de bacilos y/o cruces identificados presenten una diferencia de solo una cruz en la escala semicuantitativa, que equivale a 10%.

Error de cuantificación (EC): diferencia de más de un grado en el número de cruces en el resultado de la lectura de la baciloscopia que realiza el laboratorio evaluado y el evaluador, se considera un error menor que equivale a 5%.

Error mayor: diferencia en el resultado de la lectura de la baciloscopia entre el evaluado y el evaluador, incluye Altos Falsos Negativos (AFN) y Altos Falsos Positivos (AFP), equivale a 0.

Error menor: diferencia en el resultado en el número de cruces de la lectura de la baciloscopia entre el evaluado y el evaluador la cual se debe a la detección de pocos BAAR que pueden estar distribuidos irregularmente en el extendido, incluye Bajo Falso Positivo (BFP) y Bajo Falso Negativo (BFN), equivale a un 5%.

| Tipos de error | |
|----------------|------------------------------|
| No hay errores | Correcto (C) |
| Error menor | Error de cuantificación (EC) |
| | Bajo Falso Negativo (BFN) |
| | Bajo Falso Positivo (BFP) |
| Error mayor | Alto Falso Negativo (AFN) |
| | Alto Falso Positivo (AFP) |

Clasificación de los errores

| Resultado del laboratorio evaluado | Resultado del laboratorio evaluador | | | | |
|--|---|--|--|---|--|
| | Negativo para BAAR en 100 campos microscópicos observados | De 1 a 9 BAAR en 100 campos microscópicos observados | (+) de 10 a 99 BAAR en 100 campos microscópicos observados | (++) de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos microscópicos observados | (+++) más de 10 BAAR por campo en 20 campos microscópicos observados |
| Negativo para BAAR en 100 campos microscópicos observados | Correcto | BFN | AFN | AFN | AFN |
| De 1 a 9 BAAR en 100 campos microscópicos observados | BFP | Correcto | Correcto | EC | EC |
| (+) de 10 a 99 BAAR en 100 campos microscópicos observados | AFP | Correcto | Correcto | Correcto | EC |
| (++) de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos microscópicos observados | AFP | EC | Correcto | Correcto | Correcto |
| (+++) más de 10 BAAR por campo en 20 campos microscópicos observados | AFP | EC | EC | Correcto | Correcto |

| Concordancia | Valor aceptable |
|----------------------------|-----------------|
| Lectura de la baciloscopia | > 95% |

El Programa de Evaluación de Lectura de Baciloscopia de Lepra evalúa los siguientes parámetros:

Calidad de la lectura

El proceso se debe realizar según la escala semicuantitativa de la siguiente forma:

| Escala semicuantitativa para la lectura de la baciloscopia | | |
|---|--------------|--|
| Resultado de la baciloscopia | | Informe |
| Negativo | (-) | No se observan BAAR en los 100 campos microscópicos observados |
| Una cruz | (+) | Se observan de 10 a 99 BAAR por campo en 100 campos microscópicos observados |
| Dos cruces | (++) | Se observan de 1 a 10 BAAR por campo en 50 campos microscópicos observados |
| Tres cruces | (+++) | Se observan más de 10 BAAR por campo en 20 campos microscópicos observados. |

Sistema de calificación:

Correcto: baciloscopias con resultado negativo para el Laboratorio de Salud Pública (supervisado) y resultado negativo para el supervisor y baciloscopias con resultado positivo para el Laboratorio de Salud Pública (supervisado) y resultado positivo para el supervisor.

| Lectura de la baciloscopia de lepra | Porcentaje |
|--|-------------------|
| Correcto (C) | 25% |
| Incorrecto | 0% |

| Concordancia | Valor aceptable |
|----------------------------|------------------------|
| Lectura de la baciloscopia | > 99% |

El Programa de Evaluación Prueba de Idoneidad en la Identificación de *M. tuberculosis*, evalúa los siguientes parámetros:

Para los laboratorios que hacen pruebas bioquímicas y enzimáticas se evalúa por separado la concordancia en las pruebas (coloración de ZN, reducción de nitratos, inhibición de catalasa a 68°C y detección de niacina)

A los laboratorios que emplean metodologías de inmunocromatografía, sondas de DNA u otra técnica rápida; se les evalúa la concordancia entre los resultados obtenidos y el registro que tenga el LNR.

Los parámetros definidos por el LNR son:

| Parámetro | Concordancia |
|---------------------|---------------------|
| Excelente | >90% |
| Bueno | 80% a 89% |
| Aceptable | 70% a 79% |
| No aceptable | <69% |

El programa de Pruebas de Sensibilidad a los Fármacos Antituberculosis, evalúa según los siguientes parámetros:

Se realizará un informe con los resultados correctos e incorrectos, verdaderos resistentes, y sensibles, falsos resistentes y sensibles, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y predictivo negativo, eficiencia y repetitividad, para cada uno de los fármacos evaluados.

Las metodologías de proporciones en Löwenstein–Jensen y BACTEC™ MGIT® evalúan los fármacos isoniazida (H) y rifampicina (R), para las pruebas de sondas en línea se evalúan los genes *rpoβ*, *katG* e *inhA*.

A los laboratorios que hacen pruebas de sensibilidad a fármacos de segunda línea se les evalúa en Amikacina (Am), Kanamicina (Km), Capreomicina (Cm) y Ofloxacina (Ofx).

La herramienta estadística utilizada para el análisis es Epidat 4.0.

Sistema de calificación

Se contabilizan los resultados correctos, es decir son los verdaderos resistentes y sensibles y los resultados incorrectos son los falsos resistentes y sensibles.

El informe se hace así:

Metodología de Sondas en Línea

| Resultados de PEED para pruebas de sensibilidad realizadas por la metodología de sondas en línea. | | | |
|---|-------------|-------------|-------------|
| Fármacos Antituberculosos Evaluados | H | | R |
| Mutación | <i>katG</i> | <i>inhA</i> | <i>rpoβ</i> |
| Total de Resultados Correctos | | | |
| Total de Resultados no Correctos | | | |
| Verdaderos Sensibles | | | |
| Verdaderos Resistentes | | | |
| Falsos Resistentes | | | |
| Falsos Sensibles | | | |
| Resultados no Interpretables | | | |
| Sensibilidad | | | |
| Especificidad | | | |
| Eficiencia | | | |

Metodología de Proporciones en LJ y BACTEC™ MGIT ®

| Resultados de PEED para pruebas de sensibilidad realizadas por la metodología proporciones en LJ y BACTEC MGIT 960® | | |
|---|---|---|
| Fármacos antituberculosos | H | R |
| Concentración | | |
| Total de Resultados Correctos | | |
| Total de Resultados no Correctos | | |
| Verdaderos Sensibles | | |
| Verdaderos Resistentes | | |
| Falsos Resistentes | | |
| Falsos Sensibles | | |
| Resultados no Interpretables | | |
| Sensibilidad | | |
| Especificidad | | |
| Eficiencia | | |

El cuadro anterior se ajusta cuando se evalúan fármacos de segunda línea.

12. INFORME DE RESULTADOS

Para todos los PREAM se hace una gráfica comparativa de los resultados obtenidos por todos los participantes, cada uno de ellos se identifica con el número único de inscripción.

FECHAS DE INSCRIPCIÓN

Del 1 hasta el 25 Abril de 2016

NOTA: Para una correcta inscripción por favor consultar el INSTRUCTIVO DE INSCRIPCIÓN PEEDS que se encuentra en el link:
[www.ins.gov.co / Trámites y servicios / Programas de Evaluación Externa del Desempeño / Programas Directos / PREAM](http://www.ins.gov.co/Trámites_y_servicios/Programas_de_Evaluación_Externa_del_Desempeño/Programas_Directos/PREAM)

COSTOS DEL PAQUETE

El paquete no tiene ningún costo

3. CONTACTENOS

Instituto Nacional de Salud
Grupo Micobacterias RNL
Avenida Calle 26 No 51 – 20 Bloque A Segundo Piso

Claudia Llerena Polo

Coordinadora Grupo Micobacterias

Teléfono: 2207700 ext 1260

cllerena@ins.gov.co

Angélica Valbuena

Responsable Técnica Programa PREAM

Teléfono: 2207700 ext 1260

yvalbuena@ins.gov.co

peedmicobacterias@ins.gov.co

CANALES DE COMUNICACIÓN INSTITUCIONAL

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:

peedmicobacterias@ins.gov.co

- Canal Telefónico: Bogotá Fijo 2207700
 - ✓ Ext 1260: Micobacterias - Asesorías técnicas, reporte de resultados
 - ✓ Ext 1219: Subdirección Gestión de Calidad de LSP

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