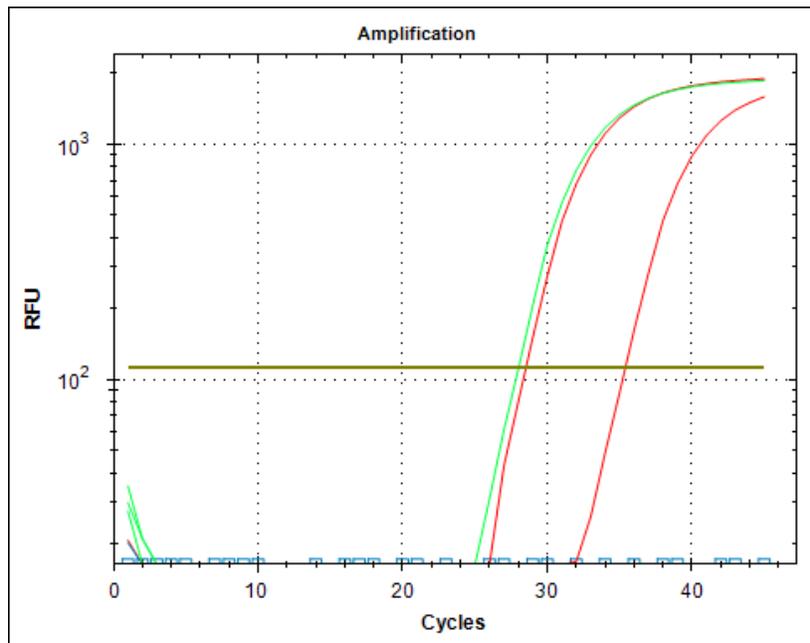


**INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
DIRECCIÓN DE REDES EN SALUD PÚBLICA
SUBDIRECCIÓN LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA
GRUPO MICROBIOLOGÍA**

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



Elaborado por

Efraín Andrés Montilla Escudero

Fecha

2018-05 -15

**Revisado y
Aprobado por**

**Carolina Duarte
Coordinadora Grupo Microbiología DRSP**

Fecha

2018-05-17

CONTENIDO

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

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 por la técnica de PCR el apoyo en el diagnóstico de tosferina 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 centros de referencia internacional como la Universidad de la Plata de Argentina dirigido por la doctora Daniela Hozbor y desde 2014 se participa en evaluaciones externas del desempeño con los CDC (Centros para el Control y Prevención de Enfermedades) de Atlanta obteniendo satisfactorios en la identificación de especies de *Bordetella*.

Actualmente, la técnica PCR se ha convertido parte de la rutina del diagnóstico clínico para múltiples enfermedades infecciosas que involucra tanto la identificación, mecanismos de resistencia, factores de virulencia, entre otros. Por tanto, la evaluación externa del desempeño de PCR en tiempo real 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 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 para los Laboratorios de Salud Pública (LSP) de Bogotá, Valle y Antioquia ya que son los únicos LSP que tienen implementado los métodos de ensayo para la extracción de ADN y PCR en tiempo real. Adicionalmente para la participación, los laboratorios deben haber realizado la inscripción como se detalla en el documento **INSTRUCTIVO DE INSCRIPCIÓN PEEDS**.

PERIODICIDAD

Frecuencia anual

4. MATERIAL DE CONTROL/ ÍTEMS DE ENSAYO

Los ítems de ensayos 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*. Recibirán 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:

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

5. 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 será enviado adjunto por correo electrónico. Si se presentan inconvenientes con algún componente enviado se debe informar al responsable del programa en este mismo documento, la cual debe ser enviada al correo del programa pcrtosferina@ins.gov.co, con el fin de tomar las medidas pertinentes para hacerla llegar nuevamente y así la prueba pueda ser contestada en su totalidad. Tenga en cuenta que dicho documento es de trazabilidad administrativa, por lo cual es obligatorio su diligenciamiento y reporte al INS; si no se reporta, 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 de acuerdo con el calendario publicado en la página web.

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. Adicione los eluidos a las mezclas de PCR.
6. Realice 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

6. 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 junto con el reporte del método utilizado el cual será enviado al participante por correo electrónico.

7. 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.

8. 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.

9. ENVÍO DE RESULTADOS

Los resultados deberán ser diligenciados en una hoja de cálculo enviada al participante y los resultados deberán ser enviados por correo electrónico, adicionalmente debe imprimirse y escanear el reporte de resultados.

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.**

10. 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.

		Resultado participante	Concordancia de acuerdo con los blancos de PCR en tiempo real disponibles en el laboratorio del participante			
			IS481/pIS1001	IS481/ (toxina)	IS481/pIS1001/(toxina)	IS481/pIS1001/hIS1001 (toxina)
Laboratorio Nacional de	<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%

		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)
		<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. parapertussis	<i>Bordetella spp.</i>	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%
		<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%
	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%	
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%	

		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)
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%

11. INFORME 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 pctosferina@ins.gov.co. También se debe incluir las fotografías de los resultados correspondientes.
- 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 en octubre de 2018 únicamente a los laboratorios que hayan dado respuesta a la prueba y haya obtenido una concordancia igual o mayor del 80%.

Este informe se encontrará disponible en la página web del INS y se enviará por correo electrónico.

12. 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
Responsable Técnico PEED-PCR-BORDETELLA
Teléfono: 2207700 ext. 1421-1423
E-mail: pcrtosferina@ins.gov.co

CANALES DE COMUNICACIÓN INSTITUCIONAL

HORARIO DE ATENCIÓN:

Lunes a viernes de 8:00 a.m. a 5:00 p.m.

contactenos@ins.gov.co | denuncias.ciudadano@ins.gov.co

LÍNEAS TELEFÓNICAS:

Línea de Atención al Ciudadano (PQRSD): (57 +1)3244576

Teléfono Conmutador: (57 +1) 2207700 Opción 2

Línea Gratuita Nacional: 018000113400

CANAL ESCRITO:

Ventanilla Única de Correspondencia y Buzón de Sugerencias. Avenida Calle 26 N° 51 – 20

CANAL VIRTUAL:

Chat Atención al Ciudadano

<http://www.ins.gov.co/AtencionAlCiudadano/Paginas/atencion-al-ciudadano.aspx>

contactenos@ins.gov.co | denuncias.ciudadano@ins.gov.co