


09

	FORMULARIO	FOR-CNSP-256
	REPORTE TÉCNICO	Edición N° 04

Código:	VIN-008-24
----------------	-------------------


Título:	«Resultados del Plan de ensayo de aptitud en el método de ensayo PCR en tiempo real para la detección de <i>Monkeypox virus</i> (MPOX) a los laboratorios de la Red 2024»
Elaborador (es):	Blga. Lucía Valeria Rojas Zúñiga Blga. Priscila Lope Pari
Revisor (es):	T.M. Maribel Huaranga Nuñez
Fecha de elaboración:	08 /11 /2024

ÍNDICE

		Pág.
	RESUMEN	2
	SIGLAS	2
1.	INTRODUCCIÓN	3
2.	OBJETIVOS	3
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	3
4.	RESULTADOS	6
5.	CONCLUSIONES	8
6.	RECOMENDACIONES	8
7.	REFERENCIAS	9



8

	FORMULARIO	FOR-CNSP-256
	REPORTE TÉCNICO	Edición N° 04

RESUMEN

Introducción:
El Instituto Nacional de Salud (INS) en el marco de la descentralización, organiza el Plan de ensayo de aptitud en los laboratorios que han recibido la transferencia en el método de ensayo PCR tiempo real para la detección de *Monkeypox virus* (MPOX), con la finalidad de garantizar resultados oportunos y confiables.

Objetivo:
Evaluar el desempeño de la detección molecular de MPXV por el método PCR en Tiempo Real en los laboratorios participantes.

Método:
Evaluación a través de paneles, los cuales fueron preparados a partir del aislamiento por cultivo celular y de muestras obtenidas de hisopado nasal y faríngeo. Constituidos por 10 viales: 6 positivos y 4 negativos. Para la evaluación se asignó un código a cada vial y se consideró el nivel de concordancia del laboratorio participante con respecto al INS.

Resultados:
Los 20 laboratorios participantes enviaron sus resultados y de ellos, 19 laboratorios resultaron con una concordancia de 100% (MUY BUENO) y 01 laboratorio con concordancia 70% (DEFICIENTE).

Conclusiones:
De los 20 laboratorios participantes evaluados, 19 obtuvieron resultado aprobatorio para el panel de evaluación y 01 laboratorio desaprobado.

Recomendaciones:
El personal titular y alterno debe mantenerse actualizado en el procedimiento de detección molecular por el método PCR en tiempo real y participar en las evaluaciones programadas por el Laboratorio de Referencia Nacional.


Siglas:

- INS** : Instituto Nacional de Salud.
- PEED** : Programa de Evaluación Externa del Desempeño
- LP** : Laboratorio Participante.
- PCR** : Reacción cadena de la polimerasa.
- LRNVIN** : Laboratorio de Referencia Nacional de Virus Inmunoprevenibles.
- CCVIN** : Control de Calidad Virus Inmunoprevenibles.
- MPOX** : Enfermedad Mpox
- MPXV** : Virus del Mpox (*Orthopoxvirus monkeypox*)



[Handwritten signature]

07

	FORMULARIO	FOR-CNSP-256
	REPORTE TÉCNICO	Edición N° 04

1. INTRODUCCIÓN

El INS en el marco de la descentralización viene ejecutando el Plan de ensayo de aptitud a los laboratorios participantes que recibieron capacitación en el método de ensayo PCR en tiempo real para la detección de MPXV. El personal encargado de la referida actividad en los laboratorios participantes es evaluado al año mediante paneles conformados por viales que contienen virus inactivados y muestras negativas; con la finalidad de garantizar resultados oportunos y confiables, así como fortalecer el diagnóstico molecular de Mpox en el país.

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el desempeño de los laboratorios participantes en el diagnóstico de Mpox por el método de PCR en tiempo real.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la concordancia de los resultados del panel para el diagnóstico de Mpox mediante PCR en tiempo real entre el evaluador (INS) y el evaluado (laboratorio participante - LP).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

- Viales de 2.0 ml.
- Cajas de Tecnopor
- Ice pack
- Aislados de MPXV en cultivo *in vitro* de células
- Tubos cónicos de polipropileno de 50 ml
- Criobox
- Medio MEM
- Puntas con filtro estéril 20 – 200 µl
- Puntas con filtro estéril 100 – 1000 µl
- Parafilm

Métodos

Preparación de Panel

- Se realizó el aislamiento viral en cultivo celular *in vitro* de MPXV (*Orthopoxvirus monkeypox*).
- Se seleccionaron muestras caracterizadas como negativas a Mpox mediante PCR-tiempo real y se preparó un pool de muestras como indica el



[Handwritten signature]

06

	FORMULARIO	FOR-CNSP-256
	REPORTE TÉCNICO	Edición N° 04

ITT-CNSP-604: Elaboración, embalaje, y envío de paneles de ensayos interlaboratorios para la detección molecular de SARS-CoV-2 y Monkeypox virus (MPOX).

- El pool negativo fue filtrado al vacío y cada fracción del pool negativo fue reconfirmado por PCR en tiempo real para Mpx.
- Después de diluir el pool negativo en medio MEM según ITT-CNSP-604, se envasó 500 µl de este como muestras negativas del panel de evaluación en crioviales.
- También se realizó diluciones consecutivas con el aislado de MPXV en cultivo *in vitro* de células Vero-81, las mismas que fueron evaluadas mediante el **MET-CNSP-235: PCR en tiempo real para la detección de Monkeypox virus (MPOX)** para verificar que las diluciones cuenten con Ct y corroborar los perfiles de amplificación.
- Los resultados se registraron en el **FOR-CNSP-696: Registro de resultados para seleccionar las muestras positivas y negativas incluidas en el panel de virus respiratorios y MPOX.**
- El panel de evaluación estuvo constituido por 10 viales conteniendo 500 µl de material biológico:

- 01.MPOX.2.24.PCR: Negativo
- 02.MPOX.2.24.PCR: *Orthopoxvirus monkeypox* (1:50)
- 03.MPOX.2.24.PCR: *Orthopoxvirus monkeypox* (1:100)
- 04.MPOX.2.24.PCR: *Orthopoxvirus monkeypox* (1:50)
- 05.MPOX.2.24.PCR: Negativo
- 06.MPOX.2.24.PCR: Negativo
- 07.MPOX.2.24.PCR: *Orthopoxvirus monkeypox* (1:10000)
- 08.MPOX.2.24.PCR: *Orthopoxvirus monkeypox* (1:100)
- 09.MPOX.2.24.PCR: Negativo
- 10.MPOX.2.24.PCR: *Orthopoxvirus monkeypox* (1:10000)

Periodo de evaluación	Código de viales	N° de laboratorios participantes
2024	Del 01.MPOX.2.24.PCR al 10.MPOX.2.24.PCR	20




[Handwritten signature]

Codificación de laboratorios participantes

A los laboratorios participantes: LRR Áncash, LRR Arequipa, LRR Lambayeque, LRR Ucayali, LRR Ayacucho, LRIS Jaén, LRR Amazonas, LRR Moquegua, LRR Cusco, LRR San Martín, LRR Ica, LRR Puno, LRR Piura, LRR Tacna, LRR Tumbes, LRR Apurímac, LRR Cajamarca, LRR La Libertad, LRR Madre de Dios y LRR Loreto se les asignó un código con carácter confidencial con la siguiente nomenclatura:

05

	FORMULARIO	FOR-CNSP-256
	REPORTE TÉCNICO	Edición N° 04

CCVIN_MPXV-XX

Donde:

CCVIN_MPXV: Control de Calidad de Virus Inmunoprevenibles_MPXV
 XX : Número correlativo del 01 al 20

Envío y recepción de panel

Según el plan de ensayo de aptitud, el panel se envió en octubre del 2024 en condiciones de conservación (2°-8° C). Asimismo, se adjuntó las instrucciones y el formulario para el reporte de resultados.

Los laboratorios participantes confirmaron la recepción de los paneles vía telefónica y/o email.

Procesamiento del panel

El procesamiento de los paneles en los LP fue realizado por el personal **titular** y **alterno**, responsables del diagnóstico de Mpxo mediante el método PCR en tiempo real, lo cual se evidencia en el formulario de resultados.

Criterios de evaluación

Etapas

- Analítica: Proceso: Extracción de ADN, Mezcla de reacción (mix) y Amplificación por PCR en tiempo real.
- Post analítica: Lectura e interpretación de resultados.

Valoración y Puntaje


- El resultado del análisis tuvo un puntaje de 10 - Puntaje 10 viales:100.
- Los siguientes rangos porcentuales se utilizan para la evaluación final en términos de concordancia y discordancia.

- ≥ 95% a 100% : Muy bueno
- ≥ 90% a < 95% : Bueno
- ≥ 80% a < 90% : Regular
- < 79% : Deficiente



[Handwritten signature]

04

	FORMULARIO	FOR-CNSP-256
	REPORTE TÉCNICO	Edición N° 04

4. RESULTADOS


- Se elaboraron 21 paneles, de los cuales 20 LP remitieron sus resultados y 01 laboratorio indicó no contar con reactivos para el procesamiento del panel (Anexos), por lo cual no fueron considerados en la evaluación del informe.
- Los 20 LP que remitieron sus resultados, obtuvieron calificación entre deficiente y muy buena (Tabla 1, Grafico 1 y 2).

Tabla 1: Resultado final del panel por Código de laboratorio

Código de Laboratorio	Porcentaje de concordancia (%)	Calificación
CCVIN_MPXV-01	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-02	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-03	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-04	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-05	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-06	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-07	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-08	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-09	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-10	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-11	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-12	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-13	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-14	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-15	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-16	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-17	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-18	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-19	100	Muy Bueno
CCVIN_MPXV-20	70	Deficiente



[Handwritten signature]

	FORMULARIO	FOR-CNSP-256
	REPORTE TÉCNICO	Edición N° 04

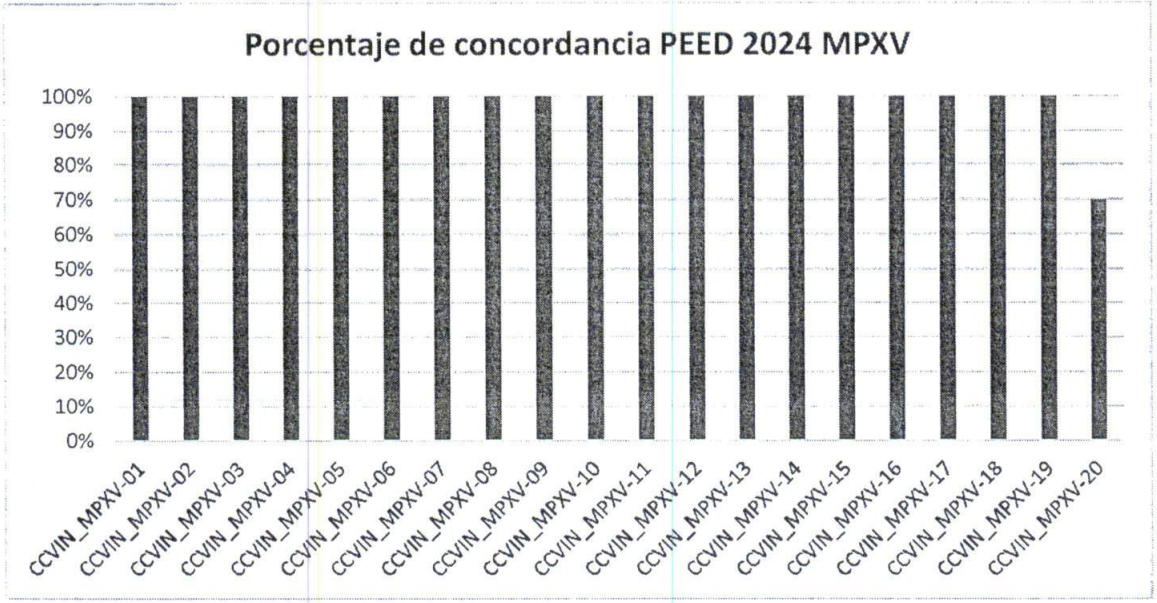


Figura 1: Porcentaje de concordancia por cada laboratorio (PEED 2024)

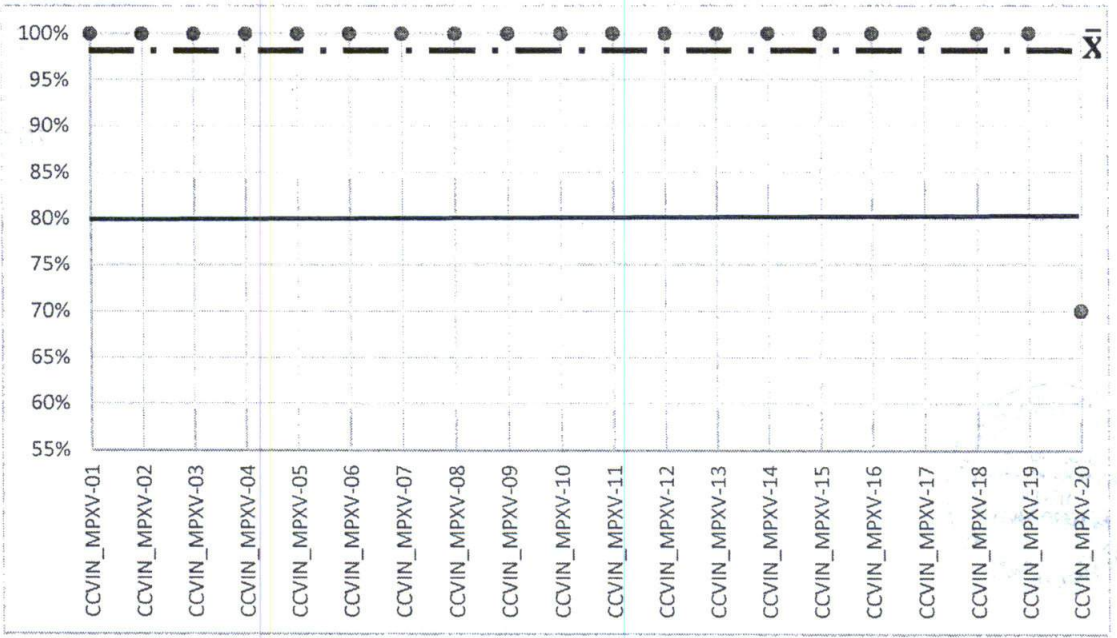



Figura 2: Promedio de Concordancia de los LP (PEED 2024)



[Handwritten signature]

02

	FORMULARIO	FOR-CNSP-256
	REPORTE TÉCNICO	Edición N° 04

Calificación:

Los laboratorios participantes mostraron las siguientes calificaciones:

Aprobado
 MUY BUENO (≥ 95% de concordancia) : 19 laboratorios.
Desaprobado

DEFICIENTE (< 79% de concordancia) : 01 laboratorio

Se entrega una CONSTANCIA de participación del Plan de ensayo de aptitud a los LP con la calificación ≥ 80 %.

5. CONCLUSIONES

- Los 20 laboratorios participantes, 19 obtuvieron resultado aprobatorio para el panel de evaluación y se encuentran aptos para continuar con el diagnóstico de Mpx.
- De los 20 Laboratorios Participantes (01/20) tubo resultado desaprobado.

6. RECOMENDACIONES

- Considerar CT: ≤37 para los resultados positivos y >37 para resultados negativos.
- Monitorear constantemente el uso de controles positivos y negativos utilizados en la ejecución del método PCR en tiempo real para la detección de MPXV.
- El personal titular y alerno deben mantenerse actualizados en la ejecución del método PCR en tiempo real para la detección de MPXV.
- Participar en las evaluaciones programadas por el Laboratorio de Referencia Nacional de Virus Inmunoprevenibles.
- Verificar la cadena de frío en la recepción y durante el procesamiento del panel.
- Implementar el programa de mantenimiento preventivo y/o correctivo de los equipos involucrados en el método de PCR en tiempo real.
- El uso de equipos en el procedimiento de PCR en tiempo real debe ser registrado en el formulario correspondiente (Gestión de la Calidad).
- Cumplir oportunamente con la emisión de resultados indicados.
- El LP, que obtenga resultados no concordantes, producto del análisis de los resultados emitidos, deberá realizar el análisis de causas para implementar las acciones correctivas inmediatas y preventivas, en coordinación con el Equipo de Gestión de Calidad y el Laboratorio organizador del Ensayo Interlaboratorios.

