


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

Código:	VIN-006-24
----------------	-------------------

Título:	«Resultados del Plan de ensayo de aptitud en el método de ensayo RT-PCR en tiempo real para la detección de virus influenza a los laboratorios de la Red 2024»
Elaborador (es):	Blga. Priscila Lope Pari Blga. Lucia Rojas Zuñiga Tec. Lab. Sila Ruitón Cueva
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



	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 diagnóstico RT-PCR en Tiempo Real, con la finalidad de garantizar resultados oportunos y confiables.

Objetivo:

Evaluar el desempeño del diagnóstico de Virus Influenza por el método RT-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, cada una de ellos con una etiología diferente, 7 positivas y 3 negativas. 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 16 laboratorios participantes que enviaron sus resultados, catorce laboratorios resultaron con una concordancia de 100% (MUY BUENO), un laboratorio con concordancia de 90% (BUENO), y un laboratorio con concordancia de 70% (DEFICIENTE).

Conclusiones:

De lo 16 laboratorios participantes evaluados (15/16) tuvieron un resultado aprobatorio.


Recomendaciones:

El personal titular y alerno deben mantenerse actualizados en el procedimiento de diagnóstico molecular por el método Influenza RT-PCR en Tiempo Real y participar en las evaluaciones programadas por el Laboratorio de Referencia Nacional.

Siglas:

INS	: Instituto Nacional de Salud.
LP	: Laboratorio Participante.
RT-PCR	: PCR por Transcriptasa Reversa.
LVR	: Laboratorio de Virus Respiratorios.
CCVR	: Control de Calidad Virus Respiratorios.
ETI	: Enfermedad Tipo influenza
IRAG	: Infección Respiratoria Aguda Grave



	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 RT-PCR en Tiempo Real para el diagnóstico de virus Influenza. El personal encargado del diagnóstico de Virus Influenza en los laboratorios participantes es evaluado al año mediante paneles conformados por viales con virus inactivados con la finalidad de garantizar resultados oportunos y confiables, así como fortalecer las vigilancias de Síndrome Gripal e IRAG

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el desempeño del diagnóstico de Virus Influenza por el método de RT-PCR en Tiempo Real en los laboratorios participantes.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar la concordancia del diagnóstico de Virus Influenza mediante la RT-PCR en Tiempo Real entre los resultados del evaluador (INS) y el evaluado (laboratorio participante).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

- Viales de 2.0 ml.
- Cajas de Tecnopor
- Ice pack


Métodos

Preparación de Panel

- Se realizó el aislamiento viral de Influenza A/(H1N1) pdm09, influenza A/H3N2 estacional, influenza B/Victoria, influenza B/Yamagata por cultivo celular.
- Se realizó la extracción de ácidos nucleicos con 140 µL de cada una de las cepas y de las muestras negativas de acuerdo al **MET-CNSP-143: RT-PCR en tiempo real para la detección de virus influenza.**
- Se realizó diluciones de los extractos con agua PCR (1:500 y 1:1000)
- Las diluciones se probaron de acuerdo al **MET-CNSP-143: RT-PCR en tiempo real para la detección de virus influenza**, para verificar que los extractos cuenten con Ct menores o iguales a 35 (cepas) y que los negativos tengan Ct mayores a 35.



06

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

- Los resultados se registraron en el **FOR-CNSP-486: REGISTRO DE PREPARACIÓN DEL PANEL DE CEPAS DE VIRUS RESPIRATORIOS PARA EL ENSAYO INTERLABORATORIOS DE RT-PCR EN TIEMPO REAL**
- El panel de evaluación estuvo constituido por diez viales conteniendo 500 ul de material biológico, se realizó dos paneles diferentes los cuales fueron distribuidos de forma alterna, 8 LRR recibieron el Panel 2 y los otros 8 el Panel 3.

PANEL 2


- 01.VR.01.2024: Negativo
- 02.VR.01.2024: Influenza A/H1N1pdm09 (1:1000)
- 03.VR.01.2024: Influenza A/H3N2 (1:1000)
- 04.VR.01.2024: Influenza B/VIC (1:1000)
- 05.VR.01.2024: Influenza B/YAM (1:1000)
- 06.VR.01.2024: Influenza A/H3N2 (1:500)
- 07.VR.01.2024: Influenza B/VIC (1:500)
- 08.VR.01.2024: Influenza B/YAM (1:500)
- 09.VR.01.2024: VSR (1:1000)
- 10.VR.01.2024: Negativo

PANEL 3

- 01.VR.01.2024: VSR
- 02.VR.01.2024: Influenza A/H1N1pdm09 (1:1000)
- 03.VR.01.2024: Negativo
- 04.VR.01.2024: Negativo
- 05.VR.01.2024: Influenza A/H3N2 (1:1000)
- 06.VR.01.2024: Influenza A/H3N2 (1:500)
- 07.VR.01.2024: Influenza B/VIC (1:500)
- 08.VR.01.2024: Influenza B/VIC (1:1000)
- 09.VR.01.2024: Influenza B/YAM (1:1000)
- 10.VR.01.2024: Influenza B/YAM (1:500)

Periodo de evaluación	Código de viales	N° de laboratorios participantes
2024	01.VR.01.2024, 02.VR.01.2024, 03.VR.01.2024, 04.VR.01.2024, 05.VR.01.2024, 06.VR.01.2024,	16



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

	07.VR.01.2024, 08.VR.01.2024, 09.VR.01.2024, 10.VR.01.2024	
--	---	--

Codificación de laboratorios participantes

Los Laboratorios participantes (LRRSP Ancash, LRRSP Arequipa, LRRSP Ayacucho, LRRSP Cajamarca, LRRSP Cusco, LRRSP Lambayeque, LRRSP Apurimac, LRRSP Piura, LRRSP Tacna, LRRSP Tumbes, LRRSP Ucayali, LRRSP La Libertad, CIETROP, LRRSP Amazonas, LRRSP Madre de Dios, LRSP Cajamarca-Jaén) tuvieron asignado un código con carácter confidencial con la siguiente nomenclatura:

CCVR: XX

Donde:

- CCVR : Control de Calidad de Virus Respiratorios
- XX : Numeral correlativo

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.

En base al plan de ensayo de aptitud se realizó la invitación a 18 Laboratorios que cuentan con el método transferido.

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 virus Influenza por el método RT-PCR en Tiempo Real, lo cual se evidencia en el formulario de resultados.


Criterios de evaluación

Etapas

- Analítica: Proceso: Extracción de ARN, Mezcla de reacción (mix) y Amplificación de RT-PCR en Tiempo Real.
- Post analítica: Lectura e interpretación de resultados.



04

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

- Se considero el resultado opcional para la muestra con resultado de VSR, tomando en cuenta el kit de amplificación usado por cada LP.
- Se consideró los subtipos y linajes de influenza según la disponibilidad de reactivo de cada LP.

Valoración y Puntaje

- Cada vial tuvo un puntaje de 10 (10 viales: puntaje 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


4. RESULTADOS

- Se elaboraron 18 paneles, de los cuales 16 LP remitieron sus resultados y 2 laboratorios indicaron que no contaban con reactivos para el procesamiento del panel (Anexos), por lo cual no fueron considerados en la evaluación del informe.
- Los 16 LP que remitieron sus resultados, obtuvieron calificación entre deficiente, buena y muy buena (Tabla 1, Grafico 1 y 2).

Tabla 1: Resultado final del panel por Código de laboratorio

Código LP	% Concordancia	Calificación
CCVR-01	100	Muy Bueno
CCVR-02	100	Muy Bueno
CCVR-03	100	Muy Bueno
CCVR-04	100	Muy Bueno
CCVR-05	100	Muy Bueno
CCVR-08	100	Muy Bueno
CCVR-09	70	Deficiente
CCVR-10	100	Muy Bueno
CCVR-13	100	Muy Bueno
CCVR-14	100	Muy Bueno
CCVR-15	100	Muy Bueno
CCVR-18	100	Muy Bueno



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

CCVR-21	90	Bueno
CCVR-24	100	Muy Bueno
CCVR-27	100	Muy Bueno
CCVR-30	100	Muy Bueno

Gráfico 1: Resultado final del panel por Código de laboratorio (2024)

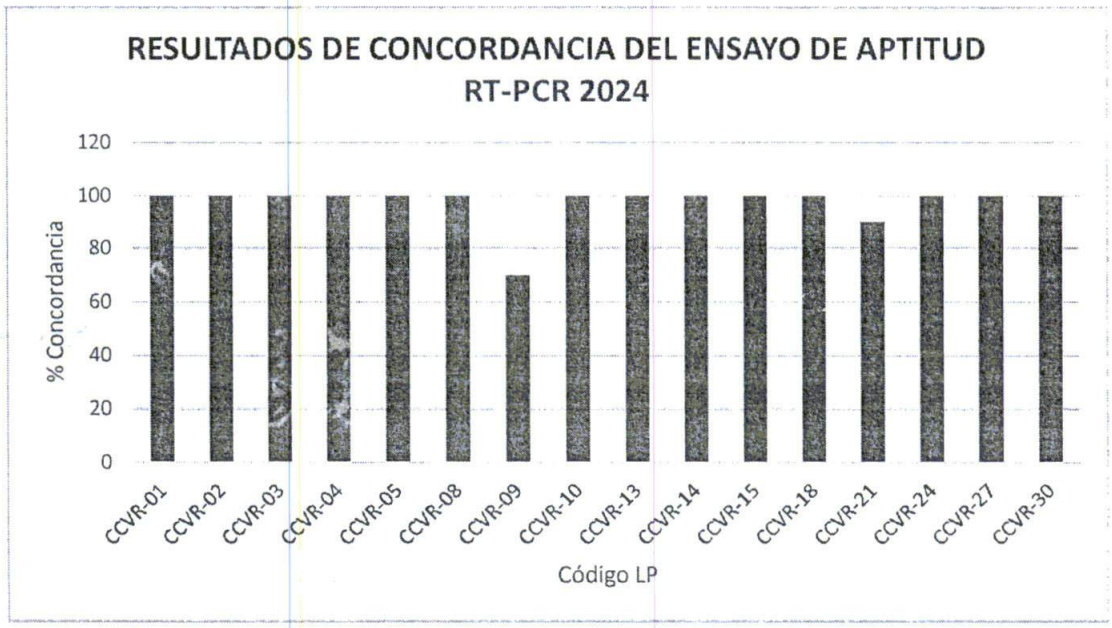
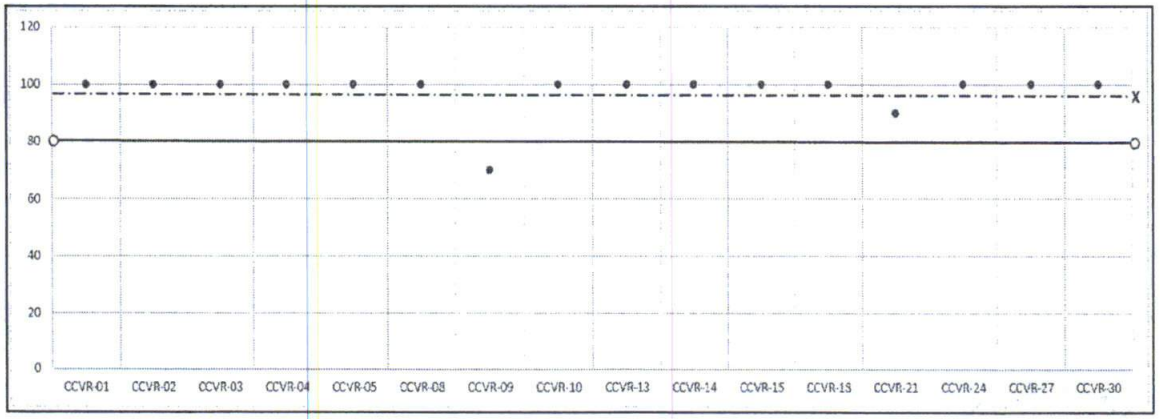



Gráfico 2: Promedio de Concordancia de los LP (2024)



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

Calificación:

Los laboratorios participantes mostraron las siguientes calificaciones:

Aprobado

MUY BUENO (≥ 95% de concordancia) : 14 laboratorios.
 BUENO (≥ 90% de concordancia) : 01 laboratorio.

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

- De los dieciséis Laboratorios Participantes solo (15/16) obtuvieron un resultado aprobatorio, y se encuentran aptos para continuar con el diagnóstico de virus influenza
- De los dieciséis Laboratorios Participantes (01/16) tubo resultado desaprobado.

6. RECOMENDACIONES

- Evitar los falsos positivos y reporte de dos etiologías (excepto de co-infecciones sustentadas)
- Considerar CT: ≤35 para los resultados positivos y >35 resultados negativos.
- El personal titular y alerno deben mantenerse actualizados en el diagnóstico virus de respiratorios por el Método de RT-PCR en Tiempo Real.
- Definir el resultado final por consenso del miembro Titular y Alerno, encargados del diagnóstico.
- 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 RT-PCR en Tiempo Real.
- El uso de equipos en el procedimiento de RT-PCR en Tiempo Real debe ser registrado en el formulario correspondiente (Gestión de la Calidad).
- Cumplir el tiempo de emisión de resultados indicados en el instructivo.
- 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 Interlaboratorio.



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

7. REFERENCIAS

- MET-CNSP-143: RT-PCR en tiempo real para la detección de virus influenza.
- ITT-CNSP-465: Elaboración, embalaje, envío y evaluación de paneles de ensayos interlaboratorios para la detección molecular de virus respiratorios
- PRT-CNSP-012: Ensayos Interlaboratorios e Intralaboratorios.
- PRA-CNSP-022: Transferencia Tecnológica de Métodos de Ensayo de Laboratorio.

