



INSTITUTO
NACIONAL DE
SALUD



La salud
es de todos

Minsalud

LINEAMIENTO TÉCNICO

Verificación de métodos moleculares
por parte de la Red Ampliada
de Diagnóstico de SARS-CoV-2

Actualización 2021-05-07

Versión 2
Resumen

Este documento aclara aspectos técnicos y jurídicos
de la verificación de métodos para el diagnóstico de SARS-CoV-2
en la Red ampliada de laboratorios autorizados

Dirección de Redes en Salud Pública
aflorez@ins.gov.co

Créditos

Martha Lucía Ospina Martínez
Directora General

Astrid Carolina Flórez Sánchez
Director Técnico Redes en Salud Pública

Elaboró

Sergio Yebrail Gómez Rangel
Coordinador Técnico
Grupo de Virología. Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Liseth Carolina Pardo Herrera
Coordinador administrativo
Profesional especializado
Grupo de Virología. Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Revisó

Esther Cristina Barros Liñan
Profesional especializado
Dirección de Redes en Salud Pública

Aprobó

Astrid Carolina Flórez Sánchez
Director Técnico Redes en Salud Pública

El documento requirió revisión por la Oficina Asesora de Jurídica SI X NO
El documento requirió revisión por una instancia externa asesora SI NO
¿Cuál?

©

Instituto Nacional de Salud
Bogotá, Colombia
Av. Calle 26 No. 51-20

PARA: COORDINADORES DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA (LSP) DEPARTAMENTALES Y DEL DISTRITO CAPITAL, LABORATORIOS RED AMPLIADA PARA DIAGNOSTICO DE SARS-CoV-2

DE: Dirección Técnica de Redes en Salud Pública - Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia

El Instituto Nacional de Salud -INS es una entidad de naturaleza científica y técnica, con personería jurídica, autonomía administrativa y patrimonio propio creado por el Decreto 470 de 1968, con cambio de naturaleza mediante el Decreto 4109 de 2011 y reestructurado a través de los Decretos 2774 y 2775 del 28 de diciembre de 2012, adscrita al Ministerio de Salud y Protección Social, perteneciente al Sistema General de Seguridad Social en Salud y al Sistema Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación. Uno de sus objetos es: *“actuar como laboratorio nacional de referencia y coordinador de las redes especiales, en el marco del Sistema General de Seguridad Social en Salud y del Sistema de Ciencia, Tecnología e Innovación”*.

De acuerdo al artículo 2.8.8.2.14 del Decreto 780 de 2016, *los laboratorios de salud pública departamentales y del Distrito Capital, como laboratorios de referencia en su jurisdicción, serán los actores intermedios de articulación en el área de su competencia entre el nivel nacional y municipal y tendrán las siguientes funciones: “(...) 6. Implementar el sistema de gestión de la calidad para garantizar la oportunidad, confiabilidad y veracidad de los procedimientos desarrollados. 8. Vigilar la calidad de los exámenes de laboratorio de interés en salud pública desarrollados por los laboratorios del área de influencia 12. Realizar y participar activamente en investigaciones de los principales problemas de salud pública, según las directrices nacionales y las necesidades territoriales. 13. Brindar capacitación y asistencia técnica a los municipios y a otras entidades dentro y fuera del sector salud en las áreas de sus competencias”*.

Actualmente los laboratorios que hacen parte de la red ampliada de diagnóstico molecular de Covid-19 pueden realizar procesos de validación secundaria o verificación de métodos comerciales normalizados, para determinar si su desempeño cumple con los requisitos de validación primaria. Este es un procedimiento que se realiza para evaluar y aportar evidencias objetivas del cumplimiento de los requisitos particulares para el uso previsto específico que ha sido diseñado el método analítico, el cual manifiesta cumplir y declarar en su inserto que hace parte del estuche o kit. Es decir que, a través de estas evidencias objetivas se confirma que los requisitos particulares corresponden a las características del desempeño del método y son apropiados para una aplicación específica, que en este caso es el diagnóstico molecular del SARS-CoV-2.

En los métodos analíticos comerciales para diagnóstico de Covid-19, estas características de desempeño o rendimiento diagnóstico deben verificarse en cualquier laboratorio que se encuentre autorizado para realizar diagnóstico del SARS-CoV2 que haga parte de la red ampliada y decida implementar su uso, antes de proceder a generar resultados de diagnóstico.

En el caso que las características de desempeño del método no puedan confirmarse y no logren los resultados esperados, existen variaciones o posibles influencias internas que deben ser identificadas y subsanadas.

Dentro de las posibles variables a considerar, se encuentran:

- Problemas asociados a la competencia técnica del personal.
- Falta de intervenciones metrológicas incluidas condiciones ambientales donde se realizan los ensayos.
- Uso de áreas inadecuadas que pueden generar contaminación cruzada.
- Uso de métodos de extracción de ácidos nucleicos con baja capacidad de purificación. En este caso se recomienda el uso de controles desde el proceso de extracción para garantizar el resultado final.
- Variaciones inherentes directamente relacionadas con el desempeño del método.

Diseño experimental inadecuado. Se sugiere seguir el documento guía publicado en la página institucional <https://www.ins.gov.co/BibliotecaDigital/Protocolo-verificacion-rt-pcr-sars-cov2.pdf>

Los LSP conforme a sus competencias establecidas en el decreto 780 de 2016, son los laboratorios de referencia en su jurisdicción, así lo indica el artículo 2.8.8.2.14 cuando dice “Los LSP son laboratorios de referencia en su jurisdicción y serán los actores intermedios de articulación en el área de su competencia entre el nivel nacional y municipal (...)” y adicionalmente tienen dentro de sus funciones...“8.Vigilar la calidad de los exámenes de laboratorio de interés en salud pública desarrollados por los laboratorios del área de su influencia”.

Asimismo, de acuerdo con la resolución 1229 de 2013 que define el modelo de inspección y control, se establece que cada autoridad sanitaria debe desarrollar una red de laboratorios atendiendo los siguientes requerimientos: “La gestión de los modelos de garantía de calidad de laboratorio mediante programas específicos de validación y control de calidad de las técnicas y ensayos analíticos básicos, definidos en

las normas técnicas de inspección, vigilancia y control sanitario y.... el desarrollo y aplicación de procedimientos e instrumentos para la autorización de laboratorios públicos y privados en el desarrollo de análisis especializados, con criterios de eficiencia, pertinencia y calidad”, este último alineado con la resolución 1619 de 2015, que adopta los estándares de calidad y en cuya herramienta actualmente vigente, en el requisito de organización y gestión (numeral 1.19), la verificación y validación de métodos está incluida como un requisito de aseguramiento del método de ensayo.

Del mismo modo, de acuerdo a la resolución del Invima 2013038979 del 26 de Diciembre de 2013 “Por la cual se implementa el Programa Nacional de Reactivovigilancia” y la resolución 2020007532 del 28 de Febrero del 2020 por medio de la cual se modifica el programa de Reactivovigilancia “Las entidades territoriales de salud en virtud del principio de articulación contenido en el Modelo de Inspección, Vigilancia y Control establecido por el Ministerio de Salud y Protección Social enviarán al Invima, los reportes de efectos indeseados y otras situaciones de riesgo relacionadas con los reactivos contemplados en los Decretos 3770 de 2004 y 1036 de 2018. Estas entidades deben estar atentas a las medidas derivadas del Programa Nacional de reactivovigilancia y adelantar las acciones pertinentes, en coordinación con el Invima”

De acuerdo con lo anterior, son los LSP departamentales y del Distrito capital los que deben realizar la debida revisión de los informes de verificación secundaria de estuches o kits (métodos de fabricante) con registro sanitario emitido por el Invima, realizadas por los laboratorios de la red ampliada de diagnóstico molecular para SARS-CoV2.

El LNR del INS posteriormente, realizará la revisión de estos informes de verificación y emitirá observaciones, una vez haya recibido los comentarios del respectivo LSPD y del Distrito capital, teniendo en cuenta:

USO DE MÉTODOS MOLECULARES SOMETIDOS A VERIFICACIÓN SECUNDARIA

Para la revisión de estos informes se tendrán en cuenta los siguientes parámetros

- Revisión preliminar por parte del LSP del origen o procedencia y caracterización de las muestras utilizadas para la verificación o validación secundaria en el ejercicio desarrollado por el laboratorio que somete una técnica a verificación. Si los resultados de la caracterización de estas muestras provienen de la vigilancia rutinaria que realiza el LSP de la entidad territorial o del mismo LNR del INS, deberá estar claramente especificado en el informe con la descripción de la gestión de autorización otorgada por parte del LSP respectivo o por parte del LNR del INS. Si las muestras no provienen de la vigilancia rutinaria, se debe anejar el consentimiento informado donde conste el uso de estas muestras para tal fin.
- Revisión por parte del LSP del cumplimiento de los criterios de desempeño establecidos en los lineamientos vigentes del Ministerio de Salud y Protección Social <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/VSP/pyps04-lineamiento-uso-pruebas-lsp-covid-19.pdf>.
- Adicionalmente el LSP deberá conocer y notificar si la metodología o técnica verificada por el laboratorio es realizada con fines comerciales para autorización, para incrementar su portafolio de servicios o para realizar un cambio de metodología. En cualquiera de estos casos, el laboratorio deberá haber realizado el proceso de verificación secundaria siguiendo las recomendaciones dadas por el INS publicadas en <https://www.ins.gov.co/BibliotecaDigital/Protocolo-verificacion-rt-pcr-sars-cov2.pdf>

Una vez se surta la revisión por parte del LSP, el LNR del INS procederá a revisar los informes de verificación, de acuerdo con:

- Conocimiento de los datos de la validación primaria del método comercial a verificar, los cuales deben estar declarados en el inserto.
- Que el informe haya seguido un diseño experimental adecuado para obtención de los resultados, dependiendo de los parámetros a verificar que declare el inserto comercial del fabricante.
- Muestras utilizadas para el proceso de verificación, las cuales deberán estar previamente caracterizadas por uno o varios métodos verificados “gold estándar” por laboratorios autorizados (incluyendo nombres de las metodologías utilizadas), descripción de su origen y que haya un cálculo del número de muestras o “n” muestral representativo dependiendo de los valores de desempeño y si se encuentran declarados sus intervalos de confianza en el inserto comercial del método.
- Procedimiento alineado con recomendaciones dadas por el protocolo de verificación de métodos moleculares del INS.
- Tabla comparativa de los resultados obtenidos a partir de los análisis de las muestras con la técnica verificada vs. datos de caracterización de las muestras con el “gold estándar”.
- Análisis de datos con pruebas estadísticas que verifiquen los parámetros de desempeño declarados en la validación primaria del método con respectivos intervalos de confianza (Ejemplo: sensibilidad, especificidad, precisión con repetibilidad y reproducibilidad, exactitud, valores predictivos, etc), así como índice Kappa.
- De acuerdo con el lineamiento vigente del Ministerio de Salud y Protección Social el cumplimiento deberá tener un desempeño mínimo de 85% de sensibilidad y 95% de especificidad.
- Instituciones participantes en el ejercicio de verificación.

Cuando el informe cumpla con todos los parámetros recomendados por este lineamiento y los documentos citados en el mismo, el LNR del INS emitirá un concepto favorable y se procederá a publicar en la página del INS el informe de validación o verificación secundaria.

USO DE MÉTODOS MOLECULARES PREVIAMENTE VERIFICADOS

Cuando los métodos de ensayo comerciales han cumplido con un proceso previo de verificación, realizado por parte de un laboratorio autorizado de la red ampliada de diagnóstico de Covid-19 y han surtido el debido proceso hasta la instancia de revisión por parte del LNR del INS y otro laboratorio está interesado en hacer parte de esta red, deberá tener en cuenta lo siguiente para ser autorizado si se desea implementar su uso:

- Realizar un ejercicio interno para determinar si el método cumple con los requisitos bajo el medio ambiente de trabajo que posee el laboratorio y bajo sus propias condiciones que controla.
- Como el método ha sido previamente verificado por otro laboratorio autorizado, no necesitará realizar una evaluación rigurosa de los parámetros de desempeño del método. Podrá realizar un diseño experimental para evaluar la exactitud mediante el uso y correlación de material de referencia comercial que actualmente el mercado ha ido diseñando y comercializando. De no ser posible, una alternativa será la estimación de la precisión y exactitud de los controles internos del método y de muestras altamente caracterizadas con valor conocido para definir las características de rendimiento de la prueba.
- Estudios de repetibilidad con un mínimo de tres (3) y preferiblemente cinco (5) muestras con tres (3) réplicas de la muestra original, podrá ser una alternativa y la variación en los resultados de las distin-

tas réplicas se podrán expresar como desviaciones estándar, intervalos de confianza, u otras opciones posibles. El objetivo principal será garantizar de manera permanente la confiabilidad en los resultados.

Estos 3 puntos anteriores, aplican para métodos moleculares de RT-qPCR incluyendo aquellos laboratorios interesados en la implementación del protocolo Charité (Berlín, Alemania) “*in house*”.

Cuando el método de diagnóstico molecular se realice con estuches comerciales, casetes o cartuchos que usan equipos automatizados o dispositivos de lectura propios de la técnica, o se usen diseños con tecnologías o plataformas cerradas, como por ejemplo algunas plataformas de diagnóstico de PCR Isotérmica o PCR multiplex, el uso de las réplicas puede obviarse siempre y cuando el protocolo / inserto demuestre que el procedimiento se realiza sin manipulación del analista en fases intermedias y su intervención está destinada solamente para el cargue inicial de las muestras que el equipo procesará y emitirá un resultado.

La información de la corrida analítica deberá garantizar el control de calidad interno del método que garantice su aseguramiento de la calidad en el laboratorio que iniciará su implementación como método de diagnóstico del SARS-CoV2. En caso contrario, deben cumplirse los criterios de réplicas descritos anteriormente para garantizar la estimación del posible error humano que pueda alterar los resultados.

RECOMENDACIONES

- El laboratorio candidato a ser autorizado, que pretenda cambiar su metodología o incrementar su portafolio de servicios para el diagnóstico de Covid-19, teniendo en cuenta que el método ya está previamente verificado por otro laboratorio, deberá demostrar su competencia mediante el informe de la corrida analítica de este diseño

experimental, el LSP por competencia como autoridad y laboratorio de referencia departamental o distrital realizará la revisión de la corrida analítica y emitirá su concepto al laboratorio de su red teniendo en cuenta los parámetros anteriormente mencionados en **“USO DE MÉTODOS MOLECULARES PREVIAMENTE VERIFICADOS”**. Este informe deberá ser remitido al LNR del INS como evidencia técnica para fines de autorización del laboratorio, de tal manera que pueda ser realizada la correspondiente acta de inicio del laboratorio que empezará a ser parte de la red ampliada de diagnóstico de Covid19.

- Si bien el INS emite el concepto final sobre el desempeño de un método nuevo que no haya sido previamente verificado por parte de un laboratorio autorizado de la red ampliada de diagnóstico de Covid-19, la entidad territorial a través de su LSP en el marco del trabajo articulado y como cabeza de red de laboratorios de su jurisdicción, deberá tener claridad y conocimiento sobre los métodos que está implementando cada laboratorio de su red.
- Adicionalmente, el laboratorio autorizado deberá asumir el compromiso de la participación en ensayos de aptitud o ensayos interlaboratorios o la estrategia de control de calidad o evaluación externa del desempeño indirecto establecido por el LSP de la entidad territorial al cual se encuentra adscrito como laboratorio colaborador de la red ampliada de diagnóstico de Covid-19, en cumplimiento de seguir garantizando la calidad y validez de los resultados y de acuerdo a las competencias de los LSP.
- Asimismo, es necesario tener presente que los laboratorios de la red ampliada que deseen realizar un cambio de metodología o implementar una metodología molecular adicional, igualmen-

te deberán realizar la notificación al LSP y deberá surtir el proceso interno de un ejercicio experimental para garantizar el aseguramiento de la calidad del método y los resultados, antes de su uso como método de diagnóstico. El LSP deberá notificar al LNR al respecto.

- El INS y los LSP de acuerdo con sus competencias no emiten avales a pruebas comerciales. Cada laboratorio tiene unas condiciones técnicas que debe controlar, por lo tanto el concepto del método verificado se emite al laboratorio que realiza el procedimiento técnico de validación secundaria o verificación del desempeño y no al proveedor o casa comercial.
- El informe de verificación será publicado en página web del INS, una vez se hayan realizado los ajustes a las recomendaciones dadas por parte del LSP y el LNR del INS.
- De acuerdo con lo anterior, si un laboratorio de la red ampliada de diagnóstico de Covid-19 o que quiera hacer parte de ella y ya haya surtido todos los requisitos técnicos relacionados con el cumplimiento de estándares y además haya cumplido con los requisitos administrativos relacionados con el convenio especial de cooperación con el INS, desea implementar una metodología molecular, este debe realizar un ejercicio de verificación técnica que demuestre el cumplimiento de los criterios de desempeño definidos por el fabricante. De esta manera, el INS avala su uso en el laboratorio que realizó la verificación bajo sus condiciones técnicas y sus estándares de calidad, y no se debe entender como una autorización para su uso inmediato en otros laboratorios. Cada laboratorio debe demostrar su propia competencia para usar la técnica que otro laboratorio de la red ampliada ya verificó, teniendo siempre como premisa el aseguramiento de la calidad de los resultados.

FIN DEL DOCUMENTO

