

	<b>Protocolo Verificación Secundaria Pruebas Moleculares</b>	<b>Código</b>	ILA-12 v.00
		<b>Página</b>	1 de 4

## 1. Objetivo y Alcance

Indicar el debido proceso para la validación secundaria o verificación de las pruebas de biología molecular realizadas en el Centro Experimental de Diagnóstico e Investigación Molecular -CEDIMOL- de la Universidad de Pamplona.

Se orienta una serie de pasos necesarias para desarrollar un protocolo de validación adecuado para las pruebas de biología molecular a desarrollarse en CEDIMOL, con la finalidad de usarse en el diagnóstico clínico y emitir resultados apropiados y confiables; para aquellos resultados no concluyentes se realizará verificación mediante pruebas confirmatorias que se encuentren debidamente validadas, con la finalidad de garantizar un los resultados.

## 2. Responsable

Los responsables del proceso de aplicación y ejecución del protocolo de Validación secundaria o verificación corresponderán al personal del centro experimental de Diagnostico e Investigación Molecular (CEDIMOL).

## 3. Definiciones

### 3.1 Verificación

Ratificación mediante evidencias reales que se cumplen los requisitos necesarios para el desarrollo de un método de acuerdo a lo especificado por el fabricante.

### 3.2 Confiabilidad

Recibe igualmente el sinónimo de reproducibilidad de una prueba, e indica la cantidad de error que se puede presentar al realizar una medición.

### 3.3 Especificidad

Es la cantidad de personas que no poseen la enfermedad pero que se han definido como ello.

### 3.4 Exactitud

Cantidad de individuos clasificados adecuadamente.

### 3.5 Sensibilidad

Elaboró		Aprobó		Validó	
Firma Mónica Alexandra Bustos Carvajal		Firma Freddy Solano Ortega		Firma Jhon Arvery Arenas	
<b>Fecha</b>	16 de junio de 2021	<b>Fecha</b>	16 de junio de 2021	<b>Fecha</b>	23 de julio de 2021

\*\*\*INFORMACIÓN DOCUMENTADA NO CONTROLADA\*\*\*

	<b>Protocolo Verificación Secundaria Pruebas Moleculares</b>	<b>Código</b>	ILA-12 v.00
		<b>Página</b>	2 de 4

Número de personas verdaderamente enfermas que han sido catalogadas como tale.

Las demás definiciones que aplican para el presente Documento se encuentran contempladas en la **Norma NTC ISO 9000 Vigente Sistema de Gestión de la Calidad. Fundamentos y vocabulario y protocolo de validación secundaria del Instituto Nacional de Salud.**

#### 4 Contenido

Nº DE ACTIVIDAD	ACTIVIDADES	TIEMPO	RESPONSABLE
1	<b>SELECCIÓN DEL TIPO, DISEÑO Y METODOLOGÍA DE LA PRUEBA</b>		
1.1	<p>Todo proceso de Biología molecular para diagnóstico de entidades clínicas debe considerarse como pruebas de estudio primario y por ello se deben evaluar las características de sensibilidad, especificidad, exactitud y valores predictivos de positivos y negativos con muestras clínicas, de acuerdo a ello se deben definir los siguientes ítems:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Tipo de muestras o controles a procesar: (Diseño de las muestras) para ello se debe incluir muestras con la característica de positivas, negativas, muestras exentas del proceso que cumplan las condiciones de aceptación para incluirlas en el proceso, junto con ello se deben incluir muestras de pacientes que estén cursando la enfermedad o infección en diferentes fases y de igual manera que sean de diferentes edades.</li> <li>b. Definición de los Criterios de Selección para las muestras a involucrar en el proceso de validación: para ello se debe definir los tipos de pacientes que se pueden encontrar en el proceso de desarrollo del proceso clínico a evaluar intentando incluir pacientes sospechosos, sintomáticos, asintomáticos procedentes de instancias hospitalarias o de ambientes de comunidad.</li> <li>c. Definición de los Criterios de Exclusión para aquellas muestras que se rechazarán el proceso de validación: se rechazan en el proceso las muestras que no cumplan las condiciones de conservación, marcaje y transporte, que presenten algún grado de posible contaminación o que se presenten con volumen insuficiente.</li> <li>d. Determinación del tamaño de muestra: se deberá indicar si es un estudio de distribución binomial donde se tendrá en cuenta resultado positivo y negativo por ello para el cálculo de muestra este será definido por las características de sensibilidad que indicara el número de muestras positivas a usar y por la especificidad que indicara el número de muestras negativas a incluir con el fin de establecer el número de pruebas suficientes para realizar el proceso de validación.</li> <li>e. Paneles de evaluación: para los paneles de evaluación de sensibilidad y especificidad se hace necesario incluir muestras positivas y negativas previamente evaluadas y certificadas en su resultado.</li> </ul>	<p>Determinados por cada uno de los procesos a realizar</p>	<p>Equipo de trabajo</p>
2	<b>SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS Y PROCEDIMIENTO</b>		



## Protocolo Verificación Secundaria Pruebas Moleculares


Código

ILA-12 v.00

Página

3 de 4

	<p>Para todo proceso de validación secundaria será necesario realizar un procedimiento el cual se puede generalizar aclarando que puede estar sujeto a modificaciones producto del mismo proceso que indique la casa comercial si incluye alguna salvedad puntual; por lo anterior las muestras se deberán tratar de una manera uniforme siguiendo las siguientes indicaciones generales:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Elaboración de una base de datos donde se incluyan las muestras con su respectiva información.</li><li>• Realizar la adecuación de los espacios donde se ejecutarán las pruebas, teniendo en cuenta que se deberá realizar una inspección inicial de los elementos y equipos necesarios para el procesamiento garantizando que se cuenta con lo necesario para proceder y de igual manera los equipos deberán contar con las respectivas calibraciones, validaciones y revisiones metrológicas necesarias para su uso, y en el lugar destinado para la misma indicar el número de muestras a procesar, ordenarlas de acuerdo a la codificación establecida y proceder a realizar el procedimiento a validar, teniendo en cuenta que se deberán manejar muestras en óptimas condiciones y bajo las especificaciones dadas por la casa comercial a trabajar.</li><li>• El procedimiento deberá realizarse por un profesional con experiencia en biología molecular y para garantizar la reproducibilidad se deberá tener disponibilidad de profesionales con los cuales se pueda evaluar esta característica.</li></ul>	Determinados por cada uno de los procesos a realizar	Equipo de trabajo
<b>3</b>	<b>RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN</b>		
<b>3.1</b>	<p>Una vez el profesional de biología molecular realice el respectivo procedimiento para la validación de algún protocolo deberá realizarse la entrega de los resultados los cuales se convertirán en la información primaria la cual es obtenida de las pruebas de PCR realizadas, resultados que tendrán como finalidad de ser evaluados de acuerdo a los criterios establecidos por el laboratorio o por las casas comerciales a probar, una vez revisado los criterios del laboratorio, del kit se procede a interpretar los resultados indicando el resultado de la muestra y su adecuada interpretación. Todos los procesos que estén orientados hacia la validación deberán compararse con la respectiva prueba ESTANDAR DE REFERENCIA o ESTANDAR DE ORO, con la finalidad de establecer correspondencia entre lo obtenido y lo esperado por el procedimiento aplicado.</p>	Determinados por cada uno de los procesos a realizar	Equipo de trabajo
<b>4</b>	<b>PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN OBTENIDA</b>		
<b>4.1</b>	<p>Una vez obtenidos los resultados del procedimiento de validación se debe proceder a realizar el análisis de los mismo con la finalidad de evaluar si lo realizado puede ser aceptado o rechazado, para ello se deberá construir el documento que contenga la unificación de las variables iniciales de las muestras junto con los resultados obtenidos, lo anterior para poder realizar los respectivos análisis, los cuales corresponderán a:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>a. Análisis univariado: donde se determinará la frecuencia de los resultados positivos y negativos.</li><li>b. Análisis Bivariado: donde se realizará una comparación los resultados obtenidos del análisis univariado con los resultados obtenidos por el patrón de referencia.</li></ol>	Determinados por cada uno de los procesos a realizar	Equipo de trabajo

	<b>Protocolo Verificación Secundaria Pruebas Moleculares</b>		<b>Código</b>	ILA-12 v.00
			<b>Página</b>	4 de 4
<b>5</b>	<b>ANÁLISIS DE DATOS</b>			
<b>5.1</b>	Una vez se tenga toda la información del proceso de validación se deberá proceder a realizar la estimación de las características mínimas operativas que incluyen el cálculo de la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos positivo y negativo, la exactitud y los intervalos de confianza.	Determinados por cada uno de los procesos a realizar	Equipo de trabajo	
<b>6</b>	<b>INFORME FINAL</b>			
<b>6.1</b>	El laboratorio del Centro Experimental de Diagnóstico e Investigación Molecular -CEDIMOL se encargará de emitir un informe técnico con los datos obtenidos en el proceso de validación secundaria, el cual tendrá la validez frente a los entes nacionales tales como el Instituto Nacional de Salud y/o el INVIMA.	Determinados por cada uno de los procesos a realizar	Equipo de trabajo	

## 5 Documentos de Referencia

- NTC ISO 9000 Sistema Integrado de Gestión. Fundamentos y Vocabulario.
- Protocolo de verificación (validación secundaria) para pruebas moleculares de PCR en tiempo real (RT-qPCR) para la detección del SARS-CoV-2” Instituto Nacional de Salud.
- Directrices de Laboratorio para la Detección y Diagnóstico de la Infección con el Nuevo Coronavirus 2019 (2019-nCoV). 01 de febrero de 2020, Organización Panamericana de la Salud

## 6 Historia de Modificaciones

<b>Versión</b>	<b>Naturaleza del Cambio</b>	<b>Fecha de Aprobación</b>	<b>Fecha de Validación</b>

## 7 Anexos

No Aplica