

# ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA

Madrid 27-29 de junio de 2011

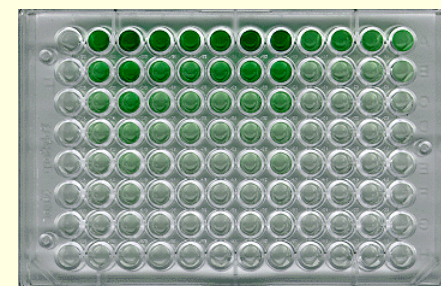
## Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología

Departamento de Patología Aviar  
Azucena Sánchez

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011  
Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología

## Ensayos de Intercomparación serología realizados por el LCV

- PESTE EQUINA AFRICANA
- ENFERMEDAD AUJESZKY DETECCIÓN DE ANTICUERPOS gE y Gb
- LEUCOSIS ENZOÓTICA BOVINA
- LENGUA AZUL
- INFLUENZA AVIAR
- ENFERMEDAD DE NEWCASTLE





**ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011**

**Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología**

## Requisitos para la preparación de ensayos de intercomparación

- ✓ Definición de los objetivos del ensayo
- ✓ Planificación
- ✓ Preparación de las muestras
- ✓ Estudios de homogeneidad y estabilidad de las muestras obtenidas
- ✓ Envío de muestras e instrucciones a los participantes
- ✓ Evaluación de los resultados obtenidos
- ✓ Comunicación de los resultados.
- ✓ Informe final y reunión con los laboratorios participantes

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011  
Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología

## PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA SEROLOGÍA

Tener en cuenta:

- N° de laboratorios participantes
- Tipo de muestra a ensayar y origen: **suero**
- Test a utilizar: **ELISA** para determinación de Ac
- Las condiciones ambientales adecuadas para la preparación y ensayo de las muestras y la calibración/validación de los equipos y métodos de ensayo



ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011  
Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología



## SELECCIÓN DEL PANEL DE MUESTRAS

Origen de las muestras de ensayo:

- Sueros de referencia: OIE, EU-RLs
- Colecciones preparadas en el LCV: sueros de campo recibidos para su análisis
- Sueros obtenidos por inoculación de animales de experimentación en el animalario del LCV





ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011  
Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología

- N° de muestras : 10 o 12 (numeradas del 1 al 12)
- Elección de los sueros y del valor de referencia: **positivo**, **negativo**, **dudoso**.
  - Ej. 8 muestra positivas y 2 negativas
  - 6 positivas, 2 neg y 2 dudosas
  - muestras duplicadas o distintas diluciones de una misma muestra 1/16, 1/32, 1/64
- Preparación de las distintas diluciones con suero fetal bovino. La cantidad se prepara según en n° de participantes.





**ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011**  
**Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología**

---

Una vez distribuidas se conservan congelados o liofilizados.

- **Asegurar** que las condiciones ambientales son las adecuadas durante el almacenamiento
- Asegurar medios de transporte y distribución adecuados
- El LCV participa en el ensayo como un laboratorio mas.

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011  
Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología

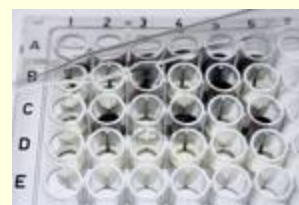
## Estudios de homogeneidad y estabilidad

El sistema de **preparación** de las muestras  
las **características** de las mismas

y

las condiciones de **conservación** tienen que asegurar

La homogeneidad y estabilidad de las mismas durante  
todo el periodo de ejecución del ensayo.





ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011  
Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología

## Estudios de homogeneidad y estabilidad

Después de envasar los sueros se eligen al azar **10-15** viales (de cada suero) y se realizan los siguientes controles:

- Un control después de conservarlas a  $5^{\circ}\text{C} \pm 3$  durante una semana (refrigeradas o liofilizadas).
- Un control después de conservarlas a  $-20^{\circ}\text{C} \pm 5$  durante una semana y descongelarlas (refrigeradas)
- Un control después de conservarlas a temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5$ ) durante una semana (refrigeradas o liofilizadas).

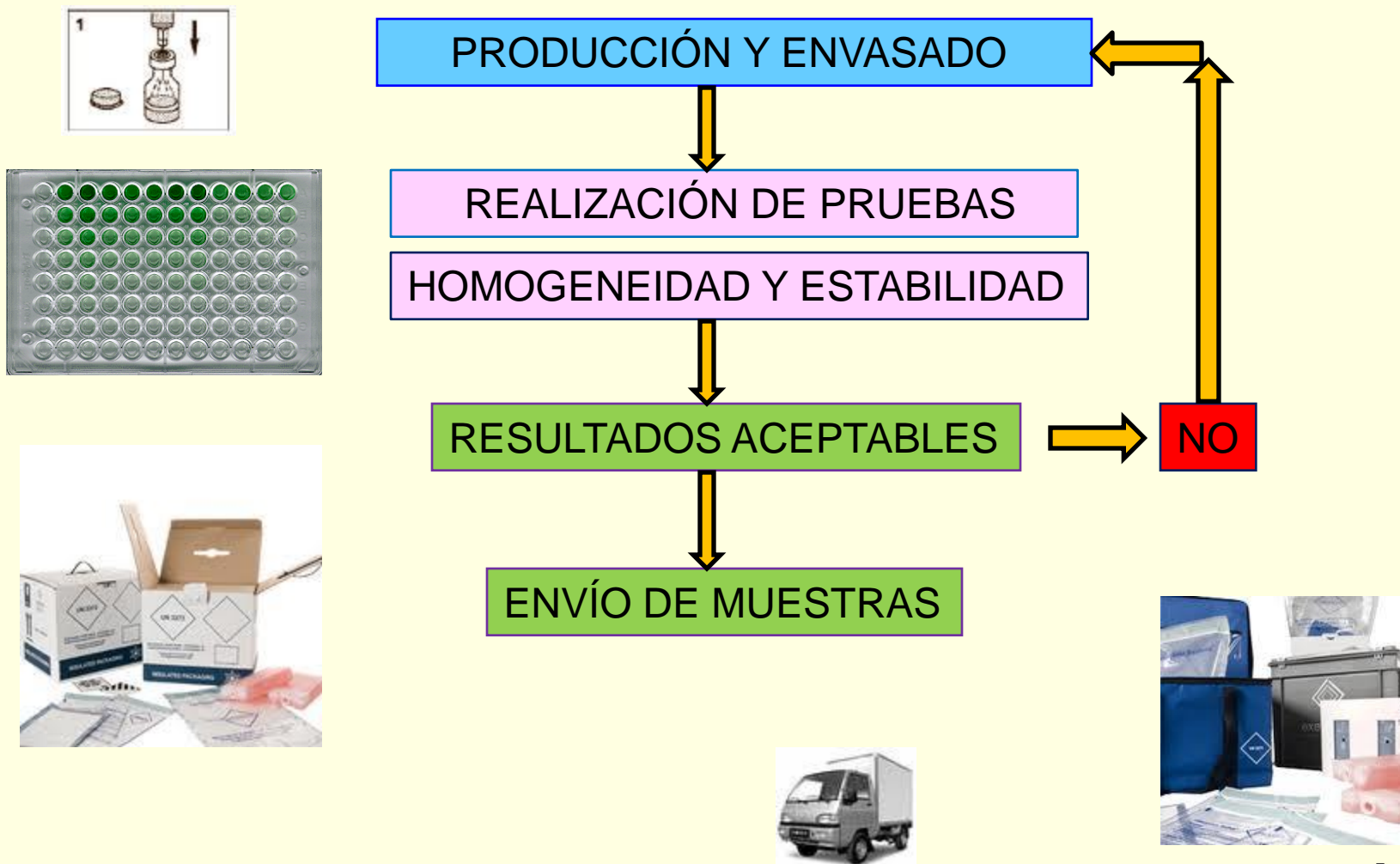
Los resultados deben ser satisfactorios

$$\%CV \leq 10$$



## ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011

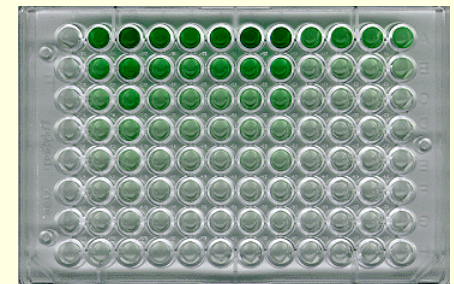
### Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología



**ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011**  
**Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología**

## Preparación de instrucciones a los participantes

- Forma de manipular la muestra y conservarla
- N° de replicas por cada muestra enviada
- Método analítico empleado
- Forma de expresar los resultados
- Intervalo de tiempo para enviar los resultados
- Envío de hoja de remisión de resultados



# Hoja de remisión de resultados

Fecha límite de envío de resultados:

Laboratorio: Código: Persona de contacto: E-mail de contacto								
Código de la muestra	Resultado ELISA 1			Resultado ELISA 2				
	OD	ELISA %BLOQUEO/COMP ET.	RESULTADO	OD	ELISA INDIRECTO	RESULTADO		INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO (pos/neg/dudos o)
							Si es necesario añadir más columnas para más ensayos con otros kits de diagnóstico	

Kit ELISA 1:  
Nº Lote:  
Fabricante:  
OD Control +:  
OD Control -:  
Cutt off:  
Estado  
acreditación:

Kit ELISA 1:  
Nº Lote:  
Fabricante:  
OD Control +:  
OD Control -:  
Cutt off:  
Estado  
acreditación:



## ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011

### Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología

### Tabla de códigos para cada laboratorio

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
<b>LAB 01</b>	01-01	01-02	01-03	01-04	01-05	01-06	01-07	01-08	01-09	01-10
<b>LAB 02</b>	02-02	02-03	02-04	02-05	02-06	02-07	02-08	02-09	02-10	02-01
<b>LAB 03</b>	03-03	03-04	03-05	03-06	03-07	03-08	03-09	03-10	03-01	03-02
<b>LAB 04</b>	04-04	04-05	04-06	04-07	04-08	04-09	04-10	04-01	04-02	04-03
<b>LAB 05</b>	05-05	05-06	05-07	05-08	05-09	05-10	05-01	05-02	05-03	04-04
<b>LAB 06</b>	06-06	06-07	06-08	06-09	06-10	06-01	06-02	06-03	06-04	06-05
<b>LAB 07</b>	07-07	07-08	07-09	07-10	07-01	07-02	07-03	07-04	07-05	07-06
<b>LAB 08</b>	08-08	08-09	08-10	08-01	08-02	08-03	08-04	08-05	08-06	08-07
<b>LAB 09</b>	09-09	09-10	09-01	09-02	09-03	09-04	09-05	09-06	09-07	09-08
<b>LAB 10</b>	10-10	10-01	10-02	10-03	10-04	10-05	10-06	10-07	10-08	10-09

Cada laboratorio tiene un n<sup>o</sup> codificado

## Ejemplo de muestras enviadas para un ensayo de IA

VIALES	DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS
1	<b>SUERO NEGATIVO</b> Suero negativo de pavos de campo Lote 02/10
2	<b>SUERO POSITIVO</b> H7N1 suero de referencia de la OIE Lote 01/07 diluido al 1/16
3	<b>SUERO POSITIVO</b> H2N3 suero de referencia de la OIE Lote 01/06 diluido al 1/16
4	<b>SUERO POSITIVO</b> H4N8 suero de referencia de la OIE Lote 01/07 diluido al 1/16
5	<b>SUERO POSITIVO</b> H7N1 suero de referencia de la OIE Lote 01/07 diluido al 1/32
6	<b>SUERO POSITIVO</b> H2N3 suero de referencia de la OIE Lote 01/06 diluido al 1/32
7	<b>SUERO DÉBIL POSITIVO</b> H4N8 suero de referencia de la OIE Lote 01/07 diluido al 1/32
8	<b>SUERO NEGATIVO</b> Suero negativo de gallinas del animalario del LCV Lote 01/10
9	<b>SUERO POSITIVO</b> H2N3 suero de referencia de la OIE Lote 01/06 diluido al 1/32
10	<b>SUERO POSITIVO</b> H7N1 suero de referencia de la OIE Lote 01/07 diluido al 1/32





## ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA Madrid, 27– 29 de junio de 2011

### Preparación de paneles de muestras para Ensayos de Intercomparación de serología


## Evaluación de los resultados

En el caso de ensayos cualitativos los resultados serán:

- **Correctos** cuando coinciden con el valor de referencia
- **incorrectos** cuando no coinciden.

A partir de los valores se puede calcular:

- Sensibilidad: porcentaje + reales correctamente asignados
- Especificidad: porcentaje – reales correctamente asignados
- Repetitividad
- Eficiencia: aciertos respecto de muestras totales
- Falsos positivos: % de + detectados incorrectamente
- Falsos negativos: % de – detectados incorrectamente

A wide-angle photograph of Madrid, Spain, taken from an elevated position during sunset. The sky is a vibrant mix of orange, red, and purple, with scattered clouds. A white swan is captured in mid-flight, its wings spread wide, flying from the right side of the frame towards the left. Below the horizon, the city of Madrid is visible, with its lights beginning to glow as dusk falls. The city's layout, including its grid-like streets and various buildings, is partially obscured by the darkness of the evening. In the foreground, some of the city's architecture and greenery are visible, though less distinct due to the low light.

GRACIAS POR SU ATENCIÓN  
MERCI

Madrid a vista de pájaro