

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA

Madrid, 27 – 29 de junio de 2011

PREPARACIÓN DE PANELES PARA EL ENSAYO DE INTERCOMPARACIÓN DE PCR

Elena San Miguel Ibáñez. Dpto. de PCR

LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA (ALGETE)

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

- Son ensayos de aptitud
- Objetivo: determinar la capacidad del laboratorio participante en la detección del genoma del virus o bacteria objeto del ensayo

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011

MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS

Matriz: deben simular, en lo posible, las que van a analizar en su trabajo rutinario los laboratorios participantes

Representantes de todos o de un espectro amplio de los **subtipos / serotipos** de interés en el momento actual en el país

Valores diferentes:

- positivos fácilmente detectables
- positivos cercanos al límite de detección de la técnica
- negativos

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011

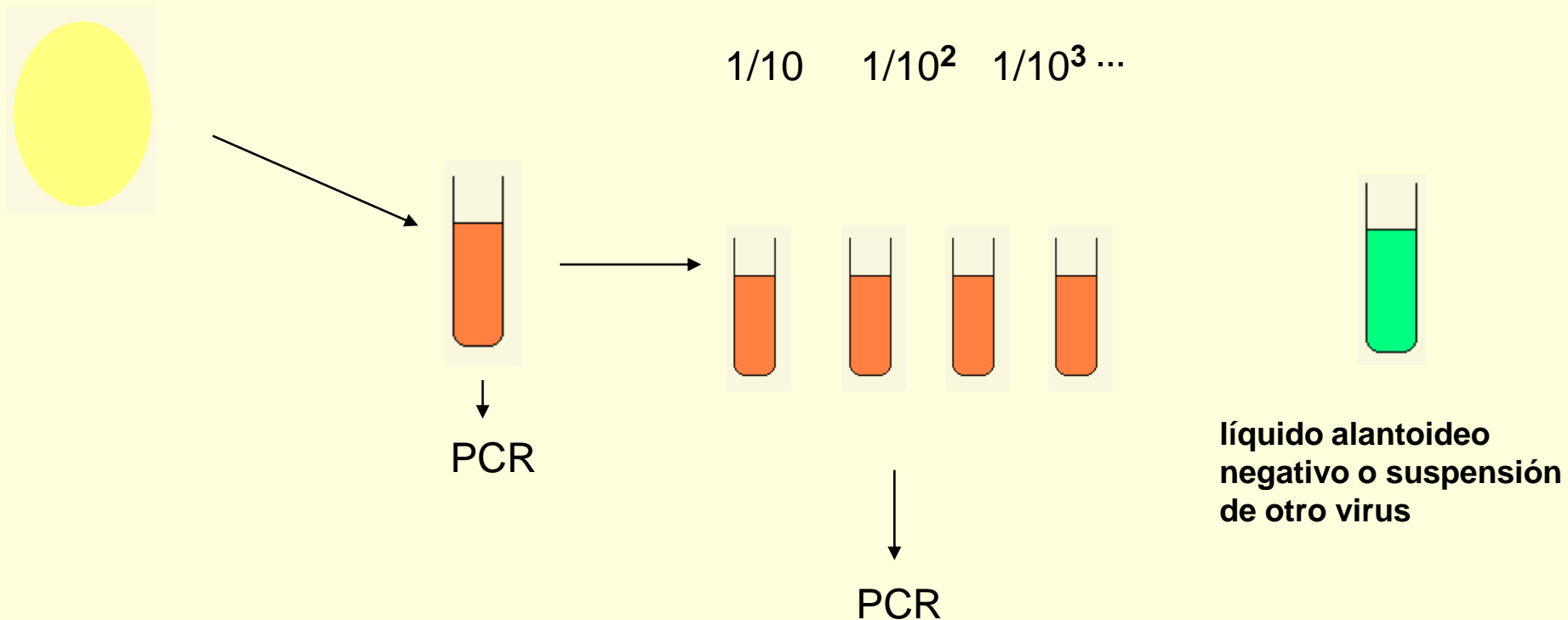
MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

POSITIVAS	NEGATIVAS
<u>Suspensiones de virus:</u> ej. cultivo en líquido alantoideo de virus de Enfermedad de Newcastle, de la Influenza Aviar	Líquido alantoideo de huevos no inoculados o inoculados con un virus que interese diferenciar del que es objeto del Ensayo de aptitud (ej. Virus de la Enfermedad de Newcastle en un ensayo de Influenza Aviar)
<u>Muestras reales:</u> ej. sangres de rumiantes infectados con el virus de la Lengua Azul	Sangres de animales sanos
<u>Muestras positivas preparadas artificialmente:</u> matrices de diferentes muestras animales dopadas con virus: ej. heces porcinas + virus de la Enfermedad Vesicular Porcina	Heces de animales sanos

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011

MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

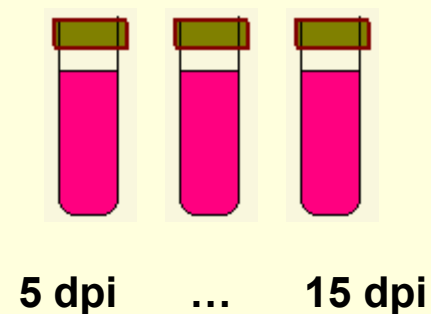
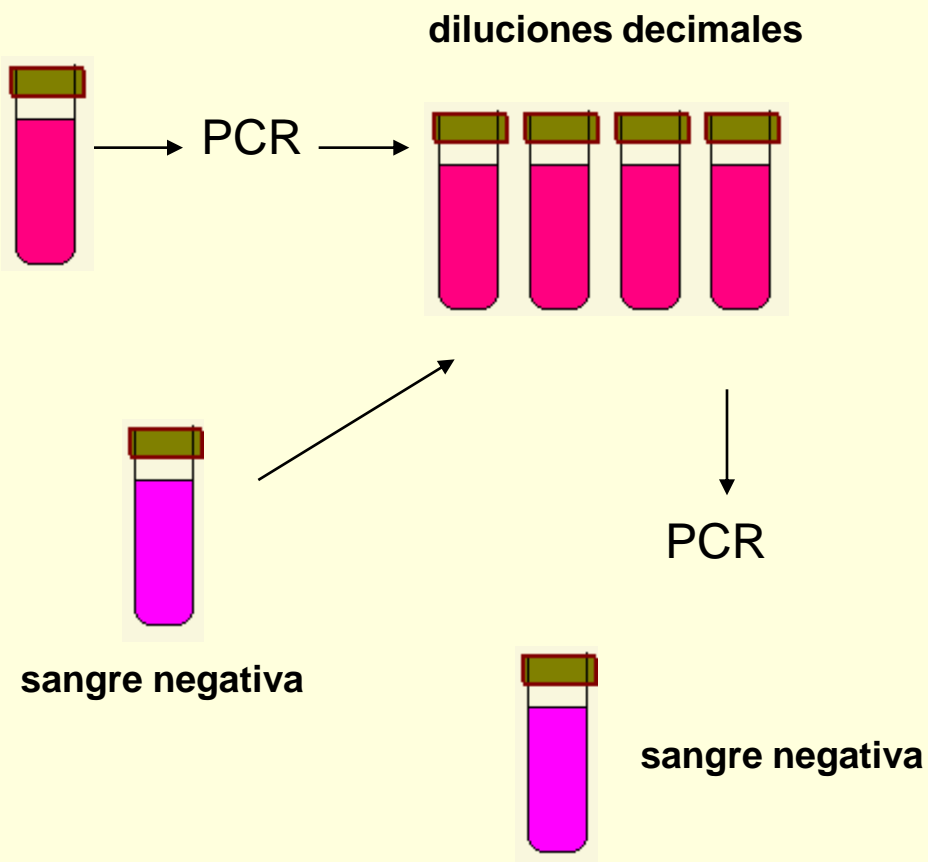
Ensayos AIV ó NDV:



ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011

MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

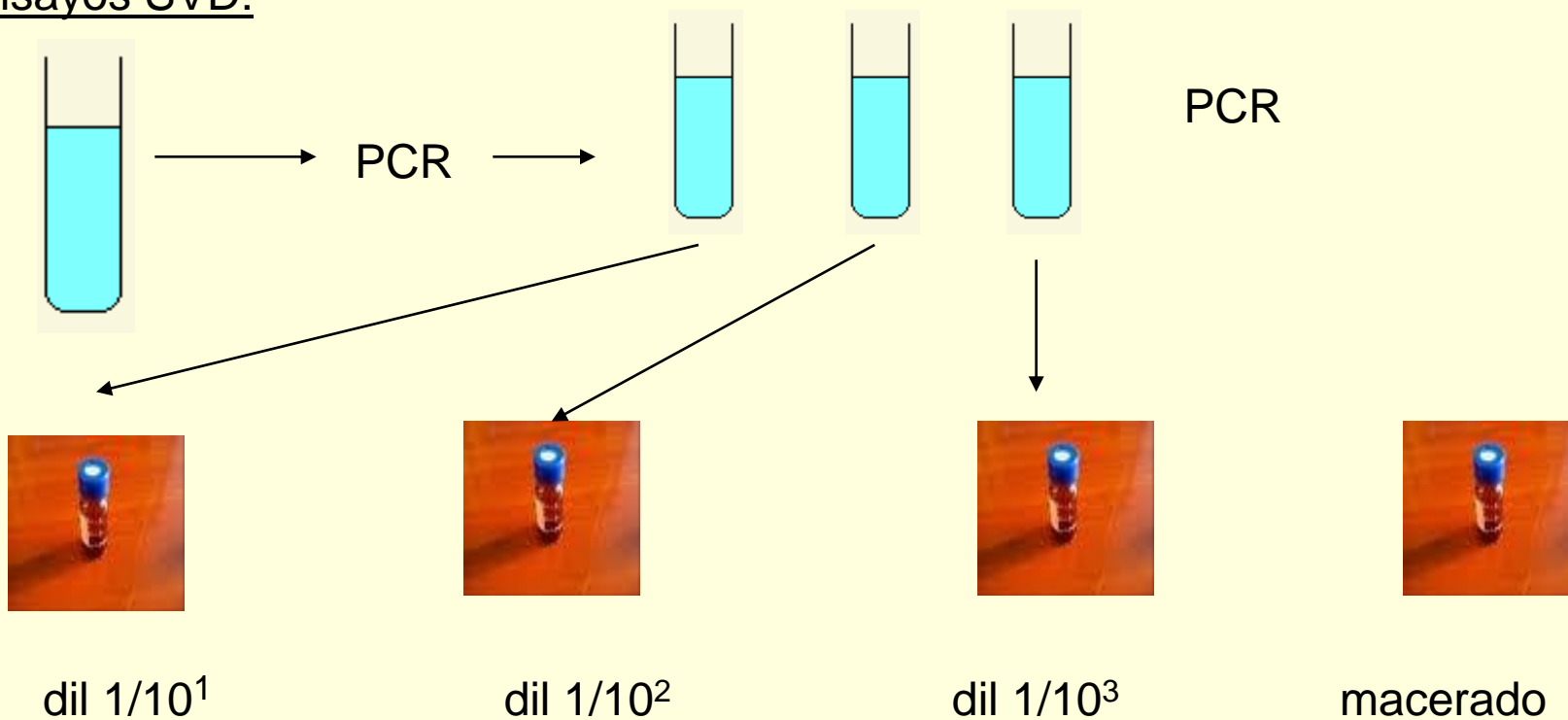
Ensayos BTV:



ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011

MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

Ensayos SVD:



ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011

MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

Ensayo cualitativo: resultados POSITIVO / NEGATIVO / NO CONCLUYENTE

Técnicas de extracción y PCR: las utilizadas habitualmente en cada laboratorio

Condiciones de envío y conservación de las muestras:

-En viales conteniendo 800 – 100 μ l

-En refrigeración

* Otra posibilidad: liofilizado.

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011

MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

Evaluación de la homogeneidad:

- sobre viales ya preparados
- 10 paneles: sobre estos datos se obtiene el **VALOR ASIGNADO**

Evaluación de la estabilidad:

- experiencia de años anteriores
- se mantiene algún panel en las mismas condiciones de refrigeración hasta la finalización del periodo de recepción de resultados

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011

MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS:

- Evaluación cualitativa

-Resultado correcto:

muestras conteniendo virus	—————>	POSITIVO o NO CONCLUYENTE
muestras negativas	—————>	NEGATIVO

•**Se analizan con el laboratorio participante las causas de los resultados incorrectos.**

* **Los valores de Ct sirven para analizar el funcionamiento de la técnica en cada laboratorio.**

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011

MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

-Ej. Panel ensayo AIV 2010

			INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO
Código de la MUESTRA	VALOR MEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	Detección del genoma de AIV (pos/neg/no concluyente)
1 - A sv AIV H9N7	27,2	0,6	POS
2 - B sv NDV Ulster 2C	No Ct	--	NEG
3 - C sv AIV H5N2	35,2	0,9	NO CONCLUYENTE
4 - A sv AIV H9N7	28,0	0,8	POS
5 - D sv AIV H7N9	32,4	2,3	POS
6 - C sv AIV H5N2	35,0	2,7	POS
7 - C sv AIV H5N2	33,2	0,7	POS
8 - E sv AIV H7N4	27,8	0,3	POS
9 - E sv AIV H7N4	28,1	0,2	POS
10 - D sv AIV H7N9	32,0	1,2	POS

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011

MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

Ej. Panel ensayo BTV 2010

	VALOR DE REFERENCIA		INTERPRETACIÓN
MUESTRA	VALOR MEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	Detección del genoma de BTV
1 - A Sangre bovino BTV+ Ser 1	28,3	0,7	POSITIVO
2 - B Sangre bovino BTV + Ser 1	28,8	2,5	POSITIVO
3 - C Sangre bovino BTV -	No Ct	-	NEGATIVO
4 - D Sangre ovino BTV + Ser 8	28,7	1,0	POSITIVO
5 - B Sangre bovino BTV+ Ser 1	29,8	1,2	POSITIVO
6 - C Sangre bovino BTV -	No Ct	-	NEGATIVO
7 - E Sangre ovino BTV -	No Ct	-	NEGATIVO
8 - D Sangre ovino BTV + Ser 8	30,1	2,5	POSITIVO
10 - B Sangre bovino BTV + Ser 1	31,3	1,5	POSITIVO

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011

MATERIALES DE REFERENCIA. PCR

Muchas gracias por su atención