

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA

Madrid, 27 – 29 de junio de 2011

**VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS.
TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS
REGIONALES.**

Elena San Miguel. Dpto. PCR

LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA (ALGETE)

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Guía exposición

1- VALIDACIÓN

2 - VALIDACIÓN / VERIFICACIÓN ---- TIPOS DE MÉTODOS

3 - PROCESO DE VALIDACIÓN

4 - Ej. VALIDACIÓN: Métodos de PCR

5 - VERIFICACIÓN

6 -TRANSFERENCIA DE TÉCNICAS ANALÍTICAS A LOS LABORATORIOS
REGIONALES

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011 VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

DOCUMENTOS EN LOS QUE SE BASA ESTA EXPOSICIÓN

*ISO/IEC 17025:2005: [Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración](#)

•Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2011 [Principles of validation of diagnostic assays for infectious diseases](#) (NB: Version adopted in May, 2009)

•

* ENAC NT56 Rev. 1 Febrero 2011 [Laboratorio de ensayos en el ámbito de la Sanidad Animal: Directrices para la acreditación](#)

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Guía exposición

1- VALIDACIÓN

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

ISO/IEC 17025:2005: “la validación (de un método) es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto”.

Manual OIE (capítulo 1.1.4/5, versión mayo 2009): “proceso por el que se determina la adecuación de un ensayo al propósito para el que va a ser utilizado”.

ENAC NT56 Rev. 1 Febrero 2011 Remite a la definición de la ISO/IEC 17025:2005.

Proceso de evaluación de las características de un procedimiento de medida y comprobación de que dichas características cumplen una serie de requisitos preestablecidos para el uso específico previsto.

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Por qué un laboratorio valida un método analítico:

Por ser una exigencia de calidad del propio laboratorio.

Por ser una exigencia del cliente (particular, organismo oficial).

Por ser una exigencia de la ISO 17025:

* a su vez, exigencia del cliente (particular, organismo oficial).

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

ISO/IEC 17025:2005: “la validación (de un método) es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto”.

Manual OIE (capítulo 1.1.4/5, versión mayo 2009): “proceso por el que se determina la adecuación de un ensayo al propósito para el que va a ser utilizado”.

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Se validan **procedimientos de medida** (procedimientos de análisis)

Para un **uso específico** previsto

Ej. Detección por RT-PCR del genoma del virus de la Lengua Azul

Elisa para la detección de anticuerpos de la Enfermedad de Aujeszky

Inhibición de la hemaglutinación para la detección de Anticuerpos de la
Influenza Aviar H5 y H7

Aislamiento del virus de la Peste Equina Africana en cultivo celular

Evidencias documentadas de la demostración de todo esto.

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

[Guía exposición](#)

2 - VALIDACIÓN / VERIFICACIÓN

TIPOS DE MÉTODOS

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

VALIDACIÓN / VERIFICACIÓN

VALIDACIÓN: confirmación, a través del estudio y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto. Estudio de las características del método (sensibilidad, especificidad, robustez ...) y comprobación de que sus valores son adecuados para el uso previsto del método.

VERIFICACIÓN = VERIFICACIÓN INTERNA: sólo comprobación del correcto funcionamiento del método en el propio laboratorio.

En otras palabras: una vez que conocemos las características del método (porque la validación ha sido ya realizada por otro laboratorio), comprobar que el método en nuestras manos funciona igual de bien, que los valores de las características del método (sensibilidad, especificidad, robustez ...) obtenidos en nuestro laboratorio son, al menos, iguales a los obtenidos en la validación ya realizada por el laboratorio que se encargó de ella.

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

TIPOS DE MÉTODOS

ISO/IEC 17025:2005 “El laboratorio debe utilizar los métodos de ensayo o de calibración (...) que satisfagan las necesidades del cliente y que sean apropiados para los ensayos o las calibraciones que realiza”.

- 1) MÉTODOS PUBLICADOS EN NORMAS ISO/IEC 17025:2005 “Se deben utilizar preferentemente los métodos publicados como normas internacionales, regionales o nacionales”.
“El laboratorio debe seleccionar los métodos apropiados que hayan sido publicados en normas internacionales, regionales o nacionales (ISO; EN, UNE), por organizaciones técnicas reconocidas (OIE, laboratorios de referencia), ...

**Métodos descritos en normas sin valores sus características (p.ej. repetibilidad, reproducibilidad)

- 2) MÉTODOS DESCRITOS EN NORMAS, CON MODIFICACIONES

- 3) MÉTODOS NO NORMALIZADOS ISO/IEC 17025:2005 “ ... o en libros o revistas científicas especializados (artículos científicos), o especificados por el fabricante del equipo”.

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

TIPOS DE MÉTODOS ENAC NT56 Rev. 1 Febrero 2011

Laboratorio de ensayos en el ámbito de la Sanidad Animal: Directrices para la acreditación

Los métodos de ensayo presentados para su acreditación deben estar validados

1. Métodos de referencia (Tipo I). Son métodos que gozan de reconocimiento nacional o internacional y son ampliamente aceptados. Entre los métodos de referencia se encuentran los publicados en legislación, normas internacionales o nacionales elaboradas por los Organismos de Normalización o por Organizaciones Técnicas reconocidas (ej. OIE, EFSA, laboratorios nacionales o comunitarios de referencia, etc.). (...) Asimismo, en este tipo de métodos se inscriben los que utilizan kits comerciales autorizados para las pruebas de diagnóstico de enfermedades.



MÉTODOS PUBLICADOS EN NORMAS

2. Métodos basados en métodos de referencia (Tipo II). Métodos descritos en procedimientos internos del laboratorio, que están basados en métodos de referencia y que no suponen una modificación técnica respecto del método de referencia que ponga en cuestión su validez técnica.

Nota. Las modificaciones realizadas no podrán afectar a características relevantes como la sensibilidad y especificidad diagnóstica.



MÉTODOS DESCRITOS EN NORMAS, CON MODIFICACIONES

3. Otros métodos (Tipo III)

Son aquellos métodos desarrollados por el propio laboratorio o por cualquier otra parte (artículos científicos) y que no disponen del reconocimiento de los métodos de referencia.




MÉTODOS DESCRITOS NO NORMALIZADOS

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

¿ES NECESARIO VALIDAR LOS MÉTODOS? ¿CUÁLES?

<div> MÉTODOS PUBLICADOS EN NORMAS </div> <div>=</div> <div> MÉTODOS DE REFERENCIA (TIPO I) </div>	<div> NO, SI SE SIGUEN AL PIE DE LA LETRA </div> <div> ISO/IEC 17025:2005 “El laboratorio debe confirmar que puede aplicar correctamente los métodos normalizados antes de utilizarlos para los ensayos o las calibraciones” </div> <div> ENAC NT56 “Los métodos de referencia (Tipo I) no requieren de una validación completa. No obstante, el laboratorio debe determinar las características de funcionamiento del método en su propia situación, por lo que deberá llevar a cabo la Verificación Interna del método, así como disponer de los datos de la validación. </div> <div>  </div> <div> VERIFICACIÓN </div> <div> Los <u>kits de diagnóstico comerciales</u> se consideran métodos de referencia a efectos de las actividades a realizar para su validación siempre que dispongan de una validación adecuada y completa (ej. <u>declaración de método validado</u> requerida para su autorización) y deben estar autorizados por el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM) y contar con el correspondiente nº de registro. </div>
<div> MÉTODOS DESCRITOS EN NORMAS SIN VALORES DE ALGUNOS PARÁMETROS (REPETIBILIDAD, REPRODUCIBILIDAD) </div>	<div> COMPLETAR LA VALIDACIÓN OBTENIENDO LOS PARÁMETROS QUE FALTAN </div>

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

¿ES NECESARIO VALIDAR LOS MÉTODOS? ¿CUÁLES?

<p>MÉTODOS DESCRITOS EN NORMAS CON MODIFICACIONES</p> <p>=</p> <p>MÉTODOS BASADOS EN MÉTODOS DE REFERENCIA (TIPO II)</p>	<p>DEPENDE DE LA MODIFICACIÓN</p> <p>NO ENAC NT56 Los Métodos basados en métodos de referencia (Tipo II) tampoco precisan de una validación completa. En la mayoría de los casos las modificaciones realizadas en este tipo de métodos sólo requerirán la necesaria comprobación de su funcionamiento mediante la Verificación Interna, así como disponer de los datos de la validación del método de referencia (Ej. cambio de una ADN polimerasa en un método de PCR)</p> <p>SI ISO/IEC 17025:2005 “El laboratorio debe validar ... los métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, así como las ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados, para confirmar que los métodos son aptos para el fin previsto” (Ej. cambio de matriz)</p>
<p>MÉTODOS NO NORMALIZADOS</p> <p>=</p> <p>OTROS MÉTODOS (TIPO III)</p>	<p>SI ISO/IEC 17025:2005 “El laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los métodos que diseña o desarrolla ... para confirmar que los métodos son aptos para el fin previsto”.</p> <p>ENAC NT56 Para los considerados Otros métodos (Tipo III, desarrollados por el laboratorio o por cualquier otra parte), el laboratorio debe disponer de evidencias completas de que dichos métodos han sido adecuadamente validados de acuerdo a estándares reconocidos, así como de toda la información sobre el trabajo experimental realizado para la validación del método.</p>

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

[Guía exposición](#)

3 - PROCESO DE VALIDACIÓN

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

VALIDACIÓN / VERIFICACIÓN

VALIDACIÓN: confirmación, a través del estudio y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto. Estudio de las características del método (sensibilidad, especificidad, robustez ...) y comprobación de que sus valores son adecuados para el uso previsto del método.

VERIFICACIÓN = VERIFICACIÓN INTERNA: sólo comprobación del correcto funcionamiento del método en el propio laboratorio.

En otras palabras: una vez que conocemos las características del método (porque la validación ha sido ya realizada por otro laboratorio), comprobar que el método en nuestras manos funciona igual de bien, que los valores de las características del método (sensibilidad, especificidad, robustez ...) obtenidos en nuestro laboratorio son, al menos, iguales a los obtenidos en la validación ya realizada por el laboratorio que se encargó de ella.

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

PROCESO DE VALIDACIÓN

ISO/IEC 17025:2005 / Manual OIE Cap.1.1.4/5, versión mayo 2009 / Guías ENAC

1º) DEFINICIÓN DEL MÉTODO

2º) DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL MÉTODO

3º) DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Proceso de validación. 1º) DEFINICIÓN DEL MÉTODO (1)

todo el personal involucrado.

5.4.4 Métodos no normalizados. Cuando sea necesario utilizar métodos no normalizados, éstos deben ser acordados con el cliente y deben incluir una especificación clara de los requisitos del cliente y del objetivo del ensayo o de la calibración. El método desarrollado debe haber sido validado adecuadamente antes del uso.

NOTA – Para los métodos de ensayo o de calibración nuevos es esencialmente obligatorio procedimientos antes de la realización de los ensayos o las calibraciones, los cuales definen condiciones, como mínimo, la información siguiente:

- una identificación apropiada;
 - el cliente;
 - la descripción del tipo de item a ensayar o a calibrar;
 - los parámetros o las magnitudes y los rangos a ser determinados;
 - los aparatos y equipos, incluidos los requisitos técnicos de funcionamiento;
 - los patrones de referencia y los materiales de referencia requeridos;
 - las condiciones ambientales requeridas y cualquier período de estabilización que sea necesario.
- b) la descripción del procedimiento, incluida la siguiente información:
- la colocación de las marcas de identificación, manipulación, transporte, almacenamiento y preparación de los items;
 - las verificaciones a realizar antes de comenzar el trabajo;
 - la verificación del correcto funcionamiento de los equipos y, cuando corresponda, su calibración y ajuste antes de cada uso;
 - el método de registro de los observaciones y de los resultados;
 - las medidas de seguridad a observar;
 - los criterios o requisitos para la aprobación o el rechazo;
 - los datos a ser registrados y el archivo de análisis y de presentación;
 - la incertidumbre o el procedimiento para estimar la incertidumbre.

5.4.5 Validación de los métodos

5.4.5.1 La validación es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos para el uso de un método en condiciones de ensayo.


Documento escrito (PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS)

- establezca los límites de aplicación (matriz, patógeno)
- descripción con suficiente detalle de los pasos para realizar el análisis de modo que asegure la realización correcta del ensayo.
- puede ser externo: ejemplo una norma ISO (tener copia) o interno

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011 **VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.**

Proceso de validación. 1º) DEFINICIÓN DEL MÉTODO (2)

Método interno

 <small>MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO</small>	LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA	PESCPOR-01
	DETECCION - IDENTIFICACION DE VIRUS ARN POR TRANSCRIPCION REVERSA - REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (rRT-PCR)	Rev. 03
		Hoja 1 de 1

ÍNDICE

1. OBJETO
2. ALCANCE
3. REFERENCIAS
 - 3.1 Documentos utilizados en la elaboración
 - 3.2 Documentos a utilizar conjuntamente
4. GENERAL
 - 4.1 Principio del método
 - 4.2 Abreviaturas
 - 4.3 Definiciones
5. DESCRIPCIÓN
 - 5.1 Equipos y materiales
 - 5.2 Preparación
 - 5.2.1 Precauciones
 - 5.2.2 Reconstitución, alícuotado y conservación de los primers o cebadores
 - 5.2.3 Reconstitución, alícuotado y conservación de las sondas
 - 5.2.4 Alícuotado (si es preciso) y conservación de la mezcla maestra o tampón de RT-PCR (Master mix, Buffer de RT-PCR) del kit de rRT-PCR.
 - 5.3 Realización
 - 5.3.1 Precauciones
 - 5.3.2 Controles
 - 5.3.3 Preparación de la plantilla de trabajo
 - 5.3.4 Preparación de la reacción en las rRT-PCR de orbivirus
 - 5.3.5 Preparación de la reacción en las rRT-PCR de otros virus (no Orbivirus)
 - 5.3.6 Realización de la rRT-PCR
 - 5.3.7 Lectura de resultados
 - 5.4 Tratamiento de resultados
 - 5.5 Puntos críticos
 - 5.6 Medidas de seguridad
 - 5.7 Control de calidad
6. ANEXOS Y FORMATOS

FPGSC-0162 Rev. 01

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Proceso de validación.

2º) DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL MÉTODO (1)

ISO/IEC 17025:2005 “La validación debe ser tan amplia como sea necesario para satisfacer las necesidades del tipo de aplicación o del campo de aplicación dados”

“Es conveniente utilizar una o varias de las técnicas siguientes para la determinación del desempeño de un método:

- calibración utilizando patrones de referencia o materiales de referencia;
- comparación con resultados obtenidos con otros métodos;
- comparaciones interlaboratorios;
- evaluación sistemática de los factores que influyen en el resultado;
- evaluación de la incertidumbre de los resultados basada en el conocimiento científico de los principios teóricos del método y en la experiencia práctica”.

“La gama y la exactitud de los valores que se obtienen empleando métodos validados (por ejemplo, la incertidumbre de los resultados, el límite de detección, la selectividad del método, la linealidad, el límite de repetibilidad o de reproducibilidad, la robustez ante influencias externas o la sensibilidad cruzada frente a las interferencias provenientes de la matriz de la muestra o del objeto de ensayo) tal como fueron fijadas para el uso previsto, deben responder a las necesidades de los clientes.

NOTA 1 -La validación incluye la especificación de los requisitos, la determinación de las características de los métodos, una verificación de que los requisitos pueden satisfacerse utilizando el método, y una declaración sobre la validez.

.....

NOTA3 -La validación es siempre un equilibrio entre los costos, los riesgos y las posibilidades técnicas. Existen muchos casos en los que la gama y la incertidumbre de los valores (por ejemplo, la exactitud, el límite de detección, la selectividad, la linealidad, la repetibilidad, la reproducibilidad, la robustez y la sensibilidad cruzada sólo pueden ser dadas en una forma simplificada debido a la falta de información”

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Proceso de validación.

2º) DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL MÉTODO (2)

Para demostrar que el método es válido para el uso previsto se pueden determinar diversos parámetros (Guía ENAC G-CSQ-02):

- Exactitud
- Precisión (repetibilidad, reproducibilidad)
- Selectividad / especificidad
- Intervalo de trabajo
- Linealidad
- Límites de detección / cuantificación
- Incertidumbre

Para métodos cualitativos.

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Proceso de validación.

2º) DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL MÉTODO (3)

Manual OIE (capítulo 1.1.4/5, versión mayo 2009): “La validación incluye la estimación de las **características de funcionamiento analíticas y diagnósticas**”.

“Lo primero es definir el **propósito del ensayo** (...) Las variables pueden ser agrupadas en tres categorías: a) la muestra (individual o en pool), la composición de la matriz, interacciones hospedador-huésped (...) b) factores relacionados con el sistema de ensayo (físicos, químicos, biológicos o relacionados con el operador) que afecten a la capacidad de detectar un analito específico en la muestra c) la interpretación de los resultados del test (la capacidad del ensayo de identificar con precisión el estado del individuo o la población en relación con el analito en cuestión”.

- a)** “La **matriz** (...) (suero, heces, tejido, etc.) puede contener **inhibidores** endógenos o exógenos que dificulten el funcionamiento de ensayos como los ELISA o las PCRs. Otros **factores** que pueden afectar (...) pueden atribuirse al **hospedador**, tanto inherentes (ejemplo edad, sexo, estado nutricional, preñez, respuesta inmunológica) como adquiridos (inmunidad pasiva, inmunidad activa adquirida por vacunación o por infección). Otros factores como la **contaminación** o el **deterioro** de la muestra también afectan (...)”
- b)** “Factores que interfieren con el funcionamiento del **sistema de ensayo** incluyen la **instrumentación**, errores del operador, elección de **reactivos**, calibración, límites de precisión y aceptación de los controles del ensayo, ... calidad del agua, buffers y diluyentes, temperatura y duración de las **incubaciones** (...)”.
- c)** Los factores que pueden influir negativamente en el **funcionamiento diagnóstico** del ensayo están fundamentalmente asociados a la elección de los **paneles de muestras de referencia** de animales infectados/expuestos o no infectados con los que se evalúa la sensibilidad y la especificidad diagnósticas del ensayo. (...) Evaluar el funcionamiento diagnóstico del ensayo es **aún más complicado cuando no hay disponibles paneles de muestras con estado de infección conocido** (...).

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Proceso de validación.

2º) DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL MÉTODO (4)

Manual OIE (capítulo 1.1.4/5, versión mayo 2009):

1. Adecuación al propósito del ensayo

*Los métodos de ensayo deben ser apropiados para **aplicaciones de diagnóstico** específicas (...). La principal consideración a tener en cuenta en la validación del método de análisis es la capacidad de determinar con precisión el **estado de infección o exposición** del animal o de la población de animales que tenga el ensayo.*

2. Optimización

3. Estandarización

4. Robustez

5. Repetibilidad

6. Sensibilidad analítica

7. Especificidad analítica

8. Umbral (cut-offs)

9. Sensibilidad diagnóstica

10. Especificidad diagnóstica

11. Reproducibilidad

12. Robustez interlaboratorios (ruggedness)

Desarrollo del método y definición del protocolo

Características analíticas

Características diagnósticas

Reproducibilidad

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Proceso de validación.

2º) DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL MÉTODO (5)

Manual OIE (capítulo 1.1.4/5, versión mayo 2009):

Mantenimiento del estado de validación (monitorización y mantenimiento de los criterios de validación):

Reactivos caducados o “empobrecidos”

Ensayos de aptitud

Revalidación cuando hay una modificación del ensayo

Monitorización de la exactitud y de la precisión

} Control de calidad
(ISO/IEC 17025:2005)

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Proceso de validación.

2º) DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL MÉTODO (6)

ENAC NT56

“En el estudio de validación deberán tenerse en cuenta parámetros como los siguientes:

- Determinación de especificidad y sensibilidad diagnóstica.
- Determinación de especificidad y sensibilidad analítica.
- Repetibilidad/Reproducibilidad.
- Robustez”.

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Proceso de validación.
3º) DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO

ISO/IEC 17025:2005 5.4.5.2 El laboratorio debe registrar (...) y una **declaración** sobre la aptitud del método para el uso previsto.

Expresión por escrito de que el método está validado, es decir, de que es adecuado para el uso previsto.

Puede ser una declaración al final de un informe o un documento con un formato exclusivo para la declaración de método validado.

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

[Guía exposición](#)

4 - Ej. VALIDACIÓN: Métodos de PCR

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Ejemplo de validación: **MÉTODOS DE PCR**

En el Laboratorio Central de Veterinaria (LCV), los métodos de PCR utilizados:

- No son kits comerciales

La técnica utilizadas son:

- recomendación del Laboratorio de Referencia de la Unión Europea, EU-RL:
 - . técnica validada por EU-RL, protocolo detallado hecho público para los Laboratorios Nacionales de Referencia, NRL (Tipo II)
 - . referencia bibliográfica recomendada (Tipo II-III)
- publicadas en el manual OIE:
 - . método de análisis descrito detalladamente (Tipo II)
 - . referenciado el artículo (Tipo II-III)
- utilizadas por distintos laboratorios europeos en los Ensayos de Aptitud con resultados satisfactorios (conclusiones de las reuniones de los LNR, estudio del informe recopilatorio del EU-RL artículo científico) (Tipo III)
- artículos científicos seleccionados del estudio de la bibliografía (Tipo III)
- diseño “in house” (Tipo III)

Son de tipo II o III: por lo tanto, requieren una validación más o menos extensa y/o la recopilación de datos de la validación.

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Ejemplo de validación: **MÉTODOS DE PCR**

Requieren validación (más o menos extensa) porque:

- Son métodos tipo III (NO NORMALIZADOS)
- O tipo II (DESCRITOS EN NORMAS CON MODIFICACIONES)

Modificaciones: Método de extracción

Kit / reactivos de PCR

Termocicladores, programa de temperaturas termociclador

Matrices

Demostrar que estas modificaciones no afectan a las características del método.

Validación limitada // Verificación extensa

Tanto los ensayos realizados expresamente para la validación como la información de interés recopilada se plasman en un [informe de validación](#).

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Ejemplo de validación: MÉTODOS DE PCR

Método cualitativo: POSITIVO / NEGATIVO / NO CONCLUYENTE

Intentar reducir al mínimo la parte experimental realizada exclusivamente para validar el método.

Aprovechar:

- Ensayos de Aptitud
- Análisis de rutina realizados hasta el momento en el laboratorio (ensayos de vacunación, análisis realizados por otras técnicas sobre la misma muestra)

Parte experimental para la validación:

- Límite de detección
- Distintas matrices / sistemas de extracción

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Ejemplo de validación: **MÉTODOS DE PCR**

INFORME DE VALIDACIÓN (1)

Ejemplo: DETECCIÓN - IDENTIFICACION DE VIRUS ARN POR TRANSCRIPCION REVERSA – REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (rRT-PCR) / DETECCIÓN DE VIRUS DE LA LENGUA AZUL (BTV) – rRT-PCR basada en Toussaint et al (2007)

1. Referencias del método.

Se indica la referencia bibliográfica.

2. Participación del Laboratorio Central de Veterinaria en Ensayos de Aptitud organizados por el Laboratorio Comunitario de Referencia.

Recopilación de los resultados de los PT en los que se ha participado Comprobación del buen funcionamiento de la técnica en nuestro laboratorio, con los kits y sistemas de extracción utilizados.

3. Resultados de los Ensayos de Aptitud organizados por el LCV como Laboratorio Nacional de Referencia.

Recopilación de los resultados de los PT organizados por el LCV Estudio del funcionamiento de la técnica en otros laboratorios, con diferentes sistemas de extracción y kits de RT-PCR.

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Ejemplo de validación: **MÉTODOS DE PCR**

INFORME DE VALIDACIÓN (2)

4. Análisis realizados por el LCV durante los años 2007-2009

Comparación con otras técnicas: RT-PCR específicas de serotipo.

5. Análisis de muestras de animales virémicos y libres de virus: ensayos de vacunación

Muestras de las que se conoce el estado de infección.

6. Sensibilidad y especificidad analíticas: ensayo con diferentes aislados BTV y no BTV

7. Ensayos para calcular el límite de detección (*cut-off*) de la técnica

Con suspensiones de virus tituladas (TCID₅₀/ml) sobre sangre.

8. Ensayos realizados distintas matrices (sangre, vísceras, cultivos celulares) con muestras negativas y muestras positivas de diferente valor, con diferentes métodos de extracción, y variando algunos factores: días de realización, equipos, analistas.

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Ejemplo de validación: **MÉTODOS DE PCR**

INFORME DE VALIDACIÓN (3)

CONCLUSIONES FINALES:

- 1) rRT-PCR (primers y sonda)
- 2) Los reactivos de rRT-PCR
- 3) Sistemas de preparación y extracción de las muestras
- 4) Parámetros de calidad del ensayo

Límite de detección (punto 7)

El límite de detección de la técnica (extracción + rRT-PCR) es $< 30 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$

Sensibilidad y especificidad analíticas (datos del punto 6)

Especificidad analítica: $(9 / 9) * 100 = 100 \%$

Sensibilidad analítica: $(28 / 28) * 100 = 100 \%$

Sensibilidad y especificidad diagnósticas

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Ejemplo de validación:

MÉTODOS DE PCR

INFORME DE VALIDACIÓN (4)

	Ensayos interlaboratoriales organizados por LCR 2007-2009	Ensayos (2007/2008) interlaboratoriales organizados por LCV	Experimento de verificación	animales día -0 y Controles positivos ensayos de vacunación	Total
Matriz	Sangre, cultivo celular	Sangre	Sangre,vísceras, c.celulares	Sangre	
Sistemas de extracción	BioSprint 96, BioSprint 15, QiAmp Viral (tubo)	BioSprint 96	BioSprint 96, BioSprint 15, QiAmp Viral (tubo)	BioSprint 96	
kit rt-pcr	QuantiTect Probe RT-PCR, AgPath ID One-Step RT-PCR	QuantiTect Probe RT-PCR, AgPath ID One-Step RT-PCR	AgPath ID One-Step RT-PCR	QuantiTect Probe RT-PCR, AgPath ID One-Step RT-PCR	
Serotipos	1, 2, 4, 6, 8, 11, 9, 16	1, 8	1, 8	1,8,4	
Valor de referencia por:	LCR	Muestras experimentales: animales inoculados / no inoculados	Sangre: inoculados / no, Visceras: virémicos / no Cultivos: Inoculados / no	Muestras experimentales: animales inoculados / no inoculados	
+ por la técnica objeto del informe y + con certeza	29	24	75	2723	2851
.....					

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Ejemplo de validación:

MÉTODOS DE PCR

INFORME DE VALIDACIÓN (5)

	Ensayos interlaboratoriales organizados por LCR 2007-2009	Ensayos (2007/2008) interlaboratoriales organizados por LCV	Experimento de verificación	animales día -0 y Controles positivos ensayos de vacunación	Total
+ por la técnica objeto del informe y + con certeza	29	24	75	2723	2851
+ por la técnica objeto del informe y - con certeza	0	0	0	0	0
- por la técnica objeto del informe y + con certeza	0	0	0	35	35
- por la técnica objeto del informe y - con certeza	5	6	42	1550	1603


Especificidad diagnóstica: $(1603 / 1603) * 100 = 100 \%$

Sensibilidad diagnóstica: $(2851 / 2886) * 100 > 98.8 \%$

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Ejemplo de validación: MÉTODOS DE PCR



LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA

DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO
ENSAYOS CUALITATIVOS

Página 1 de 1

MÉTODO: Detección-identificación de virus ARN por Transcripción Reversa – Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (rRT-PCR); Detección del virus de la Lengua Azul (BTV) basada en Toussaint et al (2007)

RESPONSABLE DE VALIDACIÓN:
Elena San Miguel Ibáñez

OBJETIVOS/USO PREVISTO:
Detección del genoma del virus de la Lengua Azul (BTV) en muestras animales: sangre, vísceras, cultivos celulares.

BIBLIOGRAFÍA:
Toussaint, J.F. et al. Bluetongue virus detection by two real-time RT-qPCRs targeting two different genomic segments. J Vi Met 140 (2007): 115-123.

OBJETIVOS A OBTENER		
PARÁMETRO	VALOR	OBSERVACIONES
Especificidad analítica	≥ 95 %	
Sensibilidad analítica	≥ 95 %	
Especificidad diagnóstica	≥ 95 %	
Sensibilidad diagnóstica	≥ 95 %	

PROCEDIMIENTO: Informe de validación IG/PCR-02

VALORES OBTENIDOS		
PARÁMETRO	RESULTADO	OBSERVACIONES
Especificidad analítica	100 %	Extracción: kits BioSprint 96 DNA Blood, Qiamp Viral RNA Mini, Biosprint 15 DNA Blood (Qiagen)
Sensibilidad analítica	100 %	Amplificación: kit Quantitect Probe RT-PCR de Qiagen, kit AgPath ID One-Step RT-PCR de Applied Biosystems
Especificidad diagnóstica	100 %	
Sensibilidad diagnóstica	≥ 98.8 %	

DECLARACIÓN:
MÉTODO VALIDADO ☒
MÉTODO NO VALIDADO ☐
MÉTODO VALIDADO CON RESTRICCIONES ☐
Indicadas:

Fecha: 15 de enero de 2010

Fdo. RD: Elena San Miguel Ibáñez

Declaración de método validado

Al transferir la técnica, se proporciona a los Laboratorios Regionales

FRGSC-1001 Rev. 01

Laboratorio Central de Veterinaria

LCV

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

[Guía exposición](#)

5 - VERIFICACIÓN

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

VALIDACIÓN / VERIFICACIÓN

VALIDACIÓN: confirmación, a través del estudio y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto. Estudio de las características del método (sensibilidad, especificidad, robustez ...) y comprobación de que sus valores son adecuados para el uso previsto del método.

VERIFICACIÓN = VERIFICACIÓN INTERNA: sólo comprobación del correcto funcionamiento del método en el propio laboratorio.

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

VERIFICACIÓN

ENAC NT56 “Los parámetros objeto de estudio en la Verificación Interna dependerán del método de ensayo:

Sensibilidad analítica: se determinará mediante el uso de un material de referencia de trabajo positivo a diluciones al nivel de interés (ej. próximas al punto de corte en método ELISA). Se considera necesaria la realización de un mínimo de $n=10$ ensayos para determinar este parámetro. Si es necesario, el estudio de este parámetro debe llevarse a cabo en matrices representativas.

Repetibilidad y Reproducibilidad intralaboratorio: La realización de este tipo de estudio debe implicar un número de pruebas mínimo de $n=10$ e incluir al menos valores próximos al nivel de interés. Si es necesario, el estudio de estos parámetros debe llevarse a cabo en matrices representativas”.

“Los **criterios de aceptación** de la Verificación Interna serán los establecidos en los estudios de validación o en la documentación de referencia disponible o los aceptados por el sector como adecuados para el uso previsto en caso de que no se disponga de la información anterior”.

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

VERIFICACIÓN

-PCR Laboratorios Regionales:

Declaración de Método Validado

+

Verificación

+

Participación en Ensayos de Intercomparación

- Kits comerciales (ejemplos otros Departamentos)

ACTIVIDADES DE LABORATORIOS DE REFERENCIA. Madrid, 27-29 de junio de 2011
VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

[Guía exposición](#)

6 -TRANSFERENCIA DE TÉCNICAS ANALÍTICAS A LOS LABORATORIOS REGIONALES

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Transferencia de métodos analíticos

NT55 Rev. 1 Febrero 2011 Laboratorios de referencia en el sector agroalimentario: Política sobre participación en el sistema de acreditación

“ENAC considerará en todo momento como adecuadas las decisiones, prácticas y procedimientos de ensayo utilizados por los laboratorios que operan en el control oficial que sigan las instrucciones, directrices, recomendaciones o documentos publicados por el correspondiente Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) de cualquier estado miembro o el Laboratorio de Referencia de la UE (EU-RL) respectivo.

En cualquier caso, no será obligatorio que el Laboratorio Autorizado para participar en el Control Oficial siga necesariamente los procedimientos de ensayo del LNR o del EU-RL respectivo, salvo indicación expresa en la legislación al respecto.

“ENAC considerará suficiente prueba de validación de un procedimiento de ensayo la publicación de éste por el correspondiente Laboratorio Nacional de Referencia de cualquier estado miembro o por el Laboratorio de Referencia de la UE respectivo, por lo que los laboratorios que soliciten la acreditación para dichos procedimientos de ensayo solo deberán realizar las tareas de confirmación exigidas por la cláusula 5.4.2 de la norma ISO 17025” (El laboratorio debe confirmar que puede aplicar correctamente los metodos normalizados antes de utilizarlos para los ensayos o las calibraciones) .

“ENAC considerará suficiente la participación en intercomparaciones por parte de los laboratorios que operan en el control oficial si éstos participan en ejercicios de intercomparación en las familias de ensayo y con las frecuencias establecidas, en su caso, por el correspondiente Laboratorio Nacional de Referencia...”.

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

Transferencia de métodos analíticos

DIRECCIÓN GENERAL DE RECURSOS AGRÍCOLAS Y GANADEROS
SUBDIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD DE LA PRODUCCIÓN PRIMARIA
LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA

MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO

DETECCIÓN-IDENTIFICACIÓN DE VIRUS ARN POR TRANSCRIPCIÓN REVERSA – REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (RT-PCR); DETECCIÓN DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL (BTV) basada en Toussaint et al (2007)

Toussaint, J.F. et al. Bluetongue virus detection by two real-time RT-qPCRs targeting two different genomic segments. J Virol Methods 2007, 140 (1-2):115-23

Primers y sonda Taqman

Primer BTV-S5-F1: 5' GGCAACTACCAACATGGA 3'

Primer BTV-S5-R1: 5' AAAGTYCTCGGTGCATTWGC 3'

Sonda:

- LNA

BTV-S5-PR2: 5' FAM-CYCCA+CTG+ATRTT+GTA+TT+TT+CTCAA-TAMRA 3'

*Esta sonda lleva 6 residuos de ácido nucleico LNA (locked nucleic acid residues), marcados con un signo + delante y en negra

- MGB

BTV-S5-PR1: 5' FAM-CCACTGATRTTGTATTTTC-MGB 3'

(Se pueden utilizar indistintamente la sonda MGB o la LNA).

Desnaturalización del ARN

Mezcla de desnaturalización

Volumen de reacción	7 microlitros
Primer BTV-S5-F1	1.25 M final
Primer BTV-S5-R1	1.25 M final
ARN muestra	2 1

Programa de desnaturalización

95 °C durante 5 minutos

Muy importante: inmediatamente después de haber sido sometida esta mezcla al tratamiento de calor, enfríarla colocando los tubos o placas en hielo.

lcv@mapa.es

Ctra. de Algite, Km 8
28110 ALGITE (MADRID)
TEL: 916290300
FAX: 916290598

DIRECCIÓN GENERAL DE RECURSOS AGRÍCOLAS Y GANADEROS
SUBDIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD DE LA PRODUCCIÓN PRIMARIA
LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA

MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO

Mezcla de reacción y programa para la RT-PCR empleando el kit QuantiTect Probe RT-PCR kit (Qiagen)

Mezcla de reacción

Volumen de reacción	20 microlitros
Tampón de reacción	10 microlitros
Enzimas	0.2 microlitros
Sonda BTV-S5-Pr1 ó BTV-S5-Pr2	0.25 M final
ARN muestra + mix desnaturalización	7 1

Programa de amplificación

En termocicladores ABI 7000, 7500 Fast e IQ5 (BioRad) es el siguiente:

25 minutos a 48°C
10 minutos a 95°C
40 repeticiones del ciclo: 15 segundos a 95°C + 1 minuto a 61°C

La fluorescencia se lee al final de cada paso de 61°C.
*Estas condiciones pueden no ser óptimas en otros equipos

Mezcla de reacción y programa para la RT-PCR empleando el kit AgPath One-Step ID RT-PCR kit (Ambion- Applied Biosystems)

Mezcla de reacción

Volumen de reacción	20 microlitros
Tampón de reacción	10 microlitros
Enzimas	0.8 microlitros
Sonda BTV-S5-Pr1 ó BTV-S5-Pr2	0.25 M final
ARN muestra + mix desnaturalización	7 1

Programa de amplificación

En termocicladores ABI 7500 Fast (Applied Biosystems) e IQ5 (BioRad) es el siguiente:

10 minutos a 48°C
10 minutos a 95°C
40 repeticiones del ciclo: 2 segundos a 97°C + 30 segundos a 61°C

La fluorescencia se lee al final de cada paso de 61°C.
*Estas condiciones pueden no ser óptimas en otros equipos

Nota: en este documento se presentan los protocolos con los kits de RT-PCR utilizados en el LCV para cada reacción. Estos protocolos pueden adaptarse para ser utilizados con otros kits/enzimas.

lcv@mapa.es

Ctra. de Algite, Km 8
28110 ALGITE (MADRID)
TEL: 916290300
FAX: 916290598

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

VALIDACIÓN DE TÉCNICAS ANALÍTICAS. TRANSFERENCIA A LOS LABORATORIOS REGIONALES.

MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN