

REGISTRO DE KITS DE DIAGNOSTICO CONTRASTACIÓN

LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA

Esmeralda del Sur Mora



❖ Ley 8/2003, de 24 de abril, de Sanidad Animal

❖ RD 488/2010, de 23 de abril, por el que se regulan los productos zoosanitarios .

ENTIDADES ELABORADORAS Y / O IMPORTADORAS

Dirección General de Recursos Agrícolas y Ganaderos del MARM

Requisitos

- ❖ Personal suficiente y con la cualificación adecuada para garantizar tanto la calidad de los productos fabricados y/o importados como la ejecución de los pertinentes controles.
- ❖ Técnico responsable con un nivel de cualificación adecuado, cuyo nombramiento será comunicado a la DGRAG.
- ❖ Disponer de los locales y el equipamiento adecuado.

ENTIDADES ELABORADORAS Y / O IMPORTADORAS

❖ La fabricación, el control o el almacenamiento podrán concertarse. y estas empresas concertadas serán mencionadas en los documentos de autorización.

❖ El traslado, ampliación o modificación sustancial de las instalaciones deberá ser autorizado previamente al inicio de las actividades.

❖ Cualquier cambio en la entidad titular de una autorización (domicilio denominación cese ..) deberá ser comunicado

SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN

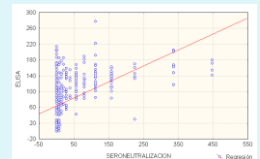
Memoria Técnica

- ❖ Principios de la técnica, y referencias a la normativa vigente y recomendaciones científico-técnicas de organismos con competencias en la materia.
- ❖ Descripción detallada del reactivo y sus componentes (incluyendo ficha de seguridad, si procede), formas de presentación
- ❖ Bioseguridad: incompatibilidades, efectos secundarios e interacciones.
- ❖ Proceso de producción y sistema de loteado



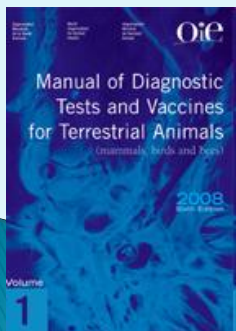
Memoria Técnica

- ❖ Controles de calidad intermedios, en el proceso de producción, y final, del producto acabado
- ❖ Estudio de **validación (evaluación del rendimiento): sensibilidad y especificidad analítica y diagnóstica, repetibilidad y reproducibilidad, frente a patrones nacionales e internacionales de referencia; robustez; período de vida útil y períodos de estabilidad real y forzada (condiciones de mantenimiento y manejo); interferencias y reacciones cruzadas observadas en la técnica.**
- ❖ Cuando sea necesario, correlación con otras técnicas de referencia.
- ❖ Declaración de método validado, firmado por el responsable técnico



❖ Validación:

- Metodología para el cálculo de resultados llevada a cabo
- Número de muestras e identificación de las mismas utilizadas para la valoración de cada parámetro
- Resultados de los parámetros de validación,
- Valoración final de la validación y firma del técnico responsable



Estos parámetros deberán ser obtenidos por el propio fabricante, pudiéndose complementar con datos bibliográficos. Asimismo deberán basarse en las recomendaciones de la OIE u otras instituciones oficiales reconocidas

Memoria Técnica junto con una muestra del *kit de diagnóstico* sobre el que se solicita el Registro, serán remitidos al Laboratorio Nacional de Referencia.

- ❖ Memoria Técnica se recibe en el LNR, identificada con un código cuya letra final es una “T” de “trámite” (ejemplo: 01-09 T), indicativa de que el expediente ha sido recepcionado por el registro General del MARM y ha sido satisfecha el pago de la correspondiente tasa de servicios veterinarios.

- ❖ El LNR valorará la documentación presentada en la Memoria Técnica requiriendo sea completada y/o corregida si fuera necesario
- ❖ Paralelamente realizará una contrastación para comprobar que el *kit de diagnóstico presentado es adecuado para su uso previsto y cumple los parámetros indicados en su validación.*



TIPOS DE CONTROL DE CALIDAD

- ❖ REGISTRO DE KITS
- ❖ RENOVACIÓN DE REGISTRO
- ❖ CONCURSO
- ❖ CONTROL DE LOTES



Muestras	Nº	Porcentaje (%)
Positivas	0	0
Inconclusas	0	0
Negativas	84	100
Total (n)	84	100

- ❖ En el caso de los kits adquiridos por el MARM
- ❖ kits de las enfermedades objeto de campañas de erradicación se contrastarán todos los nuevos lotes antes de su comercialización en el LNR.



KITS DE CONCURSO

- ❖ *Concurso Público, se requiere a las empresas solicitantes kits de diagnóstico de dos lotes diferentes.*
- ❖ *Se realiza la contrastación de dichos lotes y se emite un Informe a la DGRAG. Dicho informe se considerará como una prescripción técnica más de la solicitud del Concurso.*
- ❖ *Una vez resuelto el concurso la empresa adjudicada tiene la obligación de presentar cada nuevo lote emitido mientras el concurso siga en validez para su contrastación previa en el LNR.*

- ❑ Una vez finalizada la contrastación se emite un Informe indicando si el kit evaluado es apto o no, cumpliendo los parámetros de validación indicados.

Una vez el producto ha sido registrado
(validado por el fabricante y contrastado por el LNR)

se consideraran métodos “normalizados”. En estos casos el Laboratorio Oficial de Análisis de una CC.AA. procederá a garantizar el correcto funcionamiento de la técnica en las condiciones de su Laboratorio.

A las operaciones que se realicen para ello se les denominará **Verificación Interna del método.**

Datos relacionados con la Validación:

Documentos que debe disponer como mínimo el laboratorio oficial de la CCAA

- ❖ Informe Verificación Interna de la técnica.
- ❖ Declaración de Método Validado firmado por el Responsable Técnico de la Validación (empresa fabricante, LNR, LCR,...)

DECLARACION METODO VALIDADO

<u>MÉTODO / METHOD:</u>		
<u>RESPONSABLE DE VALIDACIÓN / VALIDATION RESPONSIBLE:</u>		
<u>OBJETIVOS-USO PREVISTO / APPLICATIONS:</u>		
<u>BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAPHY:</u>		
<u>OBJETIVOS A OBTENER / OBJECTIVES TO REACH</u>		
<u>PARÁMETRO / PARAMETER</u>	<u>VALOR / VALUE</u>	<u>OBSERVACIONES / COMMENTS</u>
<u>PROCEDIMIENTO / PROCESS:</u>		
<u>VALORES OBTENIDOS / VALUES OBTAINED</u>		
<u>PARÁMETRO / PARAMETER</u>	<u>RESULTADO / RESULT</u>	<u>OBSERVACIONES / COMMENTS</u>
<u>DECLARACIÓN / DECLARATION:</u> MÉTODO VALIDADO / VALID <input type="checkbox"/> MÉTODO NO VALIDADO / NOT VALID <input type="checkbox"/> MÉTODO VALIDADO CON RESTRICCIONES / VALID WITH RESTRICTIONS <input type="checkbox"/> Indicarlas / Indicate:		Fecha / Date: Fdo. Responsable Técnico / Signature of the validation responsible:

UNE-EN ISO 17.025 Competencia de los laboratorios de ensayo / calibración

Validación de técnicas de diagnóstico

VALIDACIÓN



**LR-UE / LNR / organismos
internacionalmente
reconocidos / estudios
científicos / EIC / etc.**

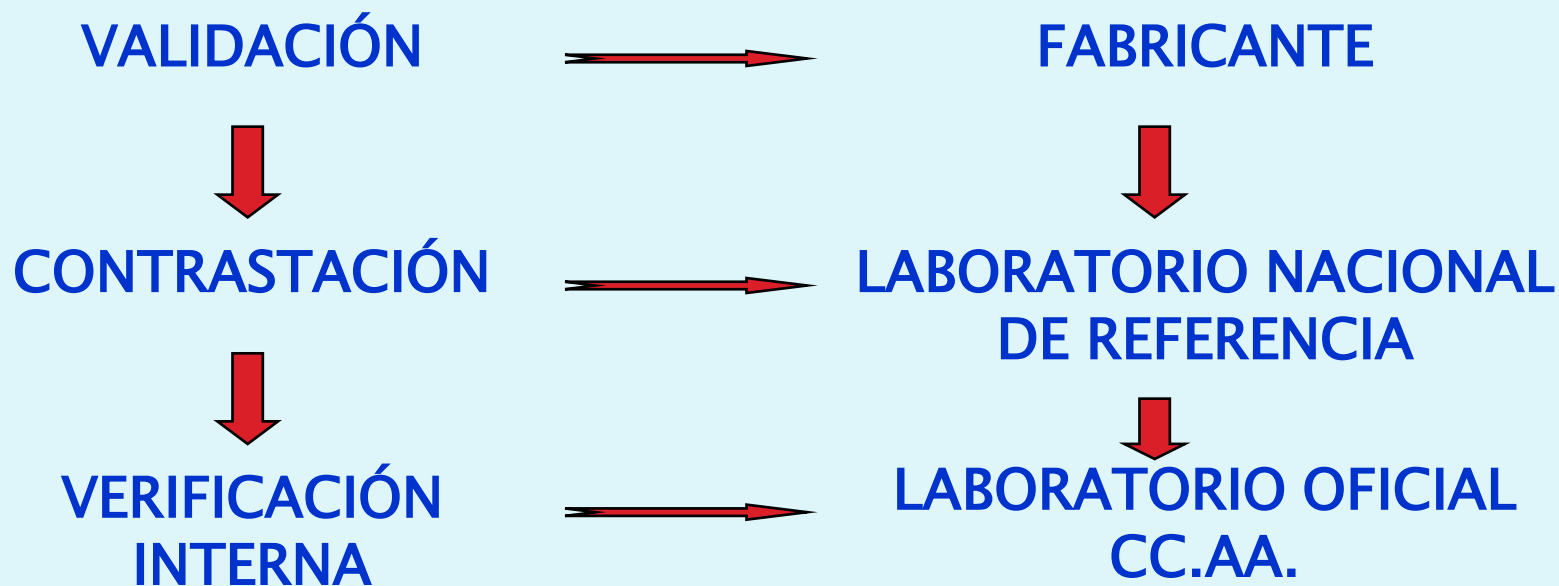


**VERIFICACIÓN
INTERNA**



**LABORATORIO OFICIAL
CC.AA.**

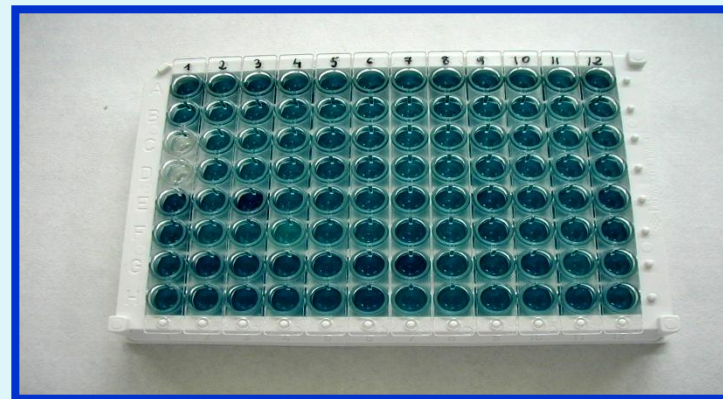
Validación *kits* de diagnóstico comerciales



LABORATORIO OFICIAL CC.AA.

Verificación Interna del método.

- ❖ Sueros estándar terciarios calibrados respecto a un suero estándar secundario que será preparado por el Laboratorio Nacional de Referencia.
- ❖ El suero estándar de referencia primario corresponde al “estándar de referencia internacional “



LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

Dos controles



a la llegada del kit al laboratorio



al final de su periodo de caducidad

Se estudian los parámetros de

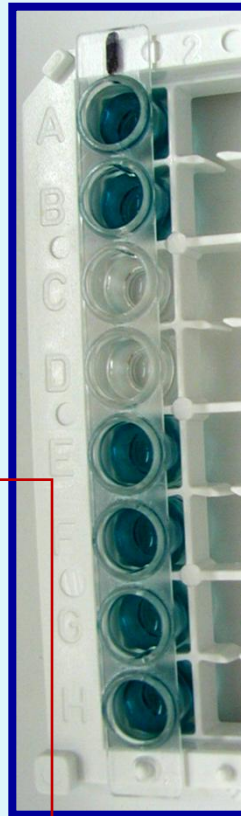
Sensibilidad analítica y diagnostica

Especificidad analítica y diagnostica

Repetibilidad intra-placa

Repetibilidad inter-placa

Se solicita al fabricante un número de kits suficiente para realizar el estudio de contrastación estos dos períodos: inicio y final de caducidad del producto.



Sensibilidad analítica es la menor cantidad detectable de anticuerpos

Sensibilidad diagnóstica es la proporción de animales conocidos de referencia infectados que se detectan como positivos en el ensayo, los animales infectados que se detectan

Especificidad analítica es el grado para el cual el ensayo no presenta reacciones cruzadas con otros anticuerpos.

Especificidad diagnóstica es la proporción de animales conocidos de referencia negativos que se detectan como negativos en el ensayo, los animales negativos que se detectan con resultado positivo se consideran como falsos positivos

CONTRASTACION DE KITS ELISA DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY

Centro Nacional de Referencia RD 28/4/1995

CONTROL DE LOTES gE

- **ADV -1 positivo a la dilución 1/8**
- **ADV- gE G negativo**
- **ADV-gE Q negativo**

**R.D. 360 / 2009 establece las condiciones
que deben reunir los kits de diagnostico**


**Subpatrones de los Sueros de
Referencia Internacionales**

CONTROL DE LOTES gB

- **ADV-1 positivo a la dilucion 1/2**
- **ADV gE G positivo**
- **ADV gE Q negativo**

❖ Se abre un expediente para cada lote del kit

❖ Incluye el control interno de la casa Comercial

 <p>MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO</p>	LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA
	FICHA CONTROL CALIDAD

Enfermedad:

Registro:

Fecha de llegada:

Técnica:

Casa comercial:

Lote:

Fecha caducidad:

Primer Control	Control Final


	Lote
Control positivo	
Control negativo	
Placas	
Solución de lavado	
Diluyente de muestras	
Diluyente conjugado	
Conjugado	
Diluyente sustrato	
Sustrato	
Solución de frenado	

OBSERVACIONES:

Subpatrones de los sueros de referencia

- ❖ 10 sueros positivos campo
- ❖ 32 sueros negativos campo


Repetición de suero positivo y negativo
8 veces

 MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO		LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA											
CONTROL DE CALIDAD AUJESZKY PLACA1													
		1º Control						Control final					
ELISA Anticuerpos:		gE		gB		totales		Fecha:					
Reactivo:		Lote:		Nº Registro:									
Nº de placa: 1													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C+	C+						A ₂	1/64				
B	C-	C-						Q					
C	A ₂	1/2						G					
D	A ₂	1/4											
E	A ₂	1											
F		8											
G	A ₂	1/16											
H	A ₂	1/32											
EQ/MCB		101	102	106	107	104	105	108	109	111	112	103	113
Incubación:		Tiempo						Temperatura					
Validación Test:								Control Test:					
Observaciones:													
Realizado por:							Revisado por:						
Firma:							Firma:						

Subpatrones de los sueros de referencia

- ❖ 10 sueros positivos campo
- ❖ 32 sueros negativos campo


Repetición de suero positivo y negativo 8 veces

LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA																																																																																																																						
CONTROL DE CALIDAD AUJESZKY PLACA 2																																																																																																																						
<div> <div>  <p>MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO</p> </div> <div> <p>1º Control</p> </div> </div>																																																																																																																						
<div> <div> <p>Control final</p> </div> </div>																																																																																																																						
ELISA Anticuerpos:	<div> <div>gE</div> <div>B</div> <div>totales</div> </div>																																																																																																																					
Reactivo:	<div> <div>Lote</div> </div>																																																																																																																					
<div> <div>Fecha:</div> <div>Nº Registro:</div> </div>																																																																																																																						
<div> <div>Nº de placa: 2</div> </div>																																																																																																																						
	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> <th>6</th> <th>7</th> <th>8</th> <th>9</th> <th>10</th> <th>11</th> <th>12</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>C+</td> <td>C+</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>B</td> <td>C-</td> <td>C-</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>C</td> <td>Q</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>D</td> <td>G</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>E</td> <td>A₂</td> <td>1/2</td> <td>A₂</td> <td>1/4</td> <td>A₂</td> <td>1/8</td> <td>A₂</td> <td>1/16</td> <td>A₂</td> <td>1/32</td> <td>A₂</td> <td>1/64</td> </tr> <tr> <td>F</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>8</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>G</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>H</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	A	C+	C+											B	C-	C-											C	Q												D	G												E	A ₂	1/2	A ₂	1/4	A ₂	1/8	A ₂	1/16	A ₂	1/32	A ₂	1/64	F						8							G													H												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																																																																																										
A	C+	C+																																																																																																																				
B	C-	C-																																																																																																																				
C	Q																																																																																																																					
D	G																																																																																																																					
E	A ₂	1/2	A ₂	1/4	A ₂	1/8	A ₂	1/16	A ₂	1/32	A ₂	1/64																																																																																																										
F						8																																																																																																																
G																																																																																																																						
H																																																																																																																						
EQ/MCB	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>101</td> <td>102</td> <td>106</td> <td>107</td> <td>104</td> <td>105</td> <td>108</td> <td>109</td> <td>111</td> <td>112</td> <td>103</td> <td>113</td> </tr> </tbody> </table>	101	102	106	107	104	105	108	109	111	112	103	113																																																																																																									
101	102	106	107	104	105	108	109	111	112	103	113																																																																																																											
Incubación:	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tiempo</th> <th>Temperatura</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo	Temperatura																																																																																																																			
Tiempo	Temperatura																																																																																																																					
Validación Test:	Control Test:																																																																																																																					
Observaciones:																																																																																																																						
<div> <div>Realizado por:</div> <div>Firma:</div> </div>																																																																																																																						
<div> <div>Revisado por:</div> <div>Firma:</div> </div>																																																																																																																						

Subpatrones de los sueros de referencia

- ❖ 10 sueros positivos campo
- ❖ 32 sueros negativos campo

Repetición de suero positivo y negativo 8 veces

 MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO	LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA											
	CONTROL DE CALIDAD AUJESZKY PLACA 3											

<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">1º Control</div>	Control final
---	---------------

ELISA Anticuerpos:	gE	gB	totales	Fecha:
--------------------	----	----	---------	--------

Reactivo:	Lote:	Nº Registro:
-----------	-------	--------------

Nº de placa: 3

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C+	C+					G					
B	C-	C-										
C												
D												
E			A ₂	1/2	A ₂	1/16						
F			A ₂	1/4	A ₂	1/32						
G			A ₂	1/8	A ₂	1/64						
H				1/8	Q							

EQ/MCB	101	102	106	107	104	105	108	109	111	112	103	113
--------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Incubación:	Tiempo	Temperatura


Validación Test:	Control Test:
Observaciones:	

Realizado por:	Revisado por:
Firma:	Firma:

❖ Se emite un informe

❖ El kit se mantiene en el laboratorio

❖ Temperatura adecuada hasta el final de su periodo de caducidad

 MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO	LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA
	PARÁMETROS DE CONTROL DE CALIDAD

Repetibilidad intraplaca

	PLACA 2	PLACA 1	PLACA 3
	+	+	+
	-	-	-
	-	-	-
Promedio			
Desv std			
CV			

Repetibilidad interplaca

	+	-	-
Placa 1			
Placa 3			
Promedio			
Desv std			
CV			

Sensibilidad y especificidad diagnóstica

M. Positives	
--------------	--

VP	
FN	

$S = (VP / (VP + FN)) * 100$	
------------------------------	--


M. Negatives	
--------------	--

VN	
FP	

$E = (VN / (VN + FP)) * 100$	
------------------------------	--

❖ Informe final

❖ El kit obtiene un nº de registro definitivo



MINISTERIO
DE MEDIO AMBIENTE Y
MEDIO RURAL Y MARINO

LABORATORIO CENTRAL DE VETERINARIA

CONTROL DE CALIDAD AUJESZKY PLACA1

1ª Control

Control final

ELISA Anticuerpos:

qE
qB
totales

Error:

Reactivo:
Lote:
Nº Registro:

Nº de placa: 1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C+	C+					A ₂	1/64				
B	C-	C-					Q					
C	A ₂	1/2					G					
D	A ₂	1/4										
E	A ₂	1 /										
F		/ 8										
G	A ₂	1/16										
H	A ₂	1/32										

EQ/MCB
101
102
106
107
104
105
108
109
111
112
103
113

Incubación:

Tiempo
Temperatura

Validación Test:

Control Test:

Observaciones:

Realizado por:
Firma:

Revisado por:
Firma:



MUCHAS GRACIAS
POR SU ATENCIÓN

