

GUÍA ORIENTATIVA PARA EL DOCUMENTO DE ADOPCIÓN DEL MÉTODO PARA TÉCNICA ELISA

1. Objetivo y alcance del ensayo

Los laboratorios deberán elaborar un documento de adopción del método de ELISA para la detección de virus en plantines de frutilla. El objetivo de este informe es verificar que el laboratorio domina la técnica y que sus resultados son confiables.

2. Detalle de insumos, reactivos, materiales de referencia y acondicionamiento de las muestras.

3. Listado de equipamiento necesario para su aplicación.

Se debe detallar todo el equipamiento, reactivos y material de referencia involucrado en los ensayos, así como el personal que lo realice. También se debe detallar el acondicionamiento previo al análisis que se haya realizado a las muestras. En los ensayos correspondientes a cada parámetro se deberán incluir los respectivos controles positivos (fuerte y débil), negativos (tres) y blanco.

4. Parámetros a evaluar

- **Repetibilidad**

Definición: Proximidad entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mesurando realizadas bajo las mismas condiciones de medición. Ejemplo: A partir de repeticiones de un mismo mesurando (mínimo dos repeticiones) se realizan análisis independientes (distintas placas). Ambos análisis deben conservar la misma metodología de operación (analista, protocolo, equipamiento, tiempo de lectura, etc). Se espera que en ambos análisis los resultados sean los mismos para el mesurando seleccionado, es decir que ambos resultados sean positivos o negativos.

- **Reproducibilidad**

Definición: Proximidad entre los resultados de mediciones de un mismo mesurando, realizadas bajo distintas condiciones de medición.

Ejemplo: A partir de repeticiones de un mismo mesurando (mínimo dos repeticiones) se realizan análisis independientes (distintas placas), variando algún factor entre los análisis, por ejemplo: distintos analistas, tiempo de lectura, marca de la placa utilizada, etc. Se espera que en los distintos análisis se obtengan los mismos resultados para el mesurando seleccionado, es decir que ambas resulten positivas o negativas.

- **Límite de detección**

Definición: Menor concentración del analito que puede ser confiablemente distinguida del blanco.

Ejemplo: A partir de una muestra positiva se realizará diluciones sucesivas hasta que la muestra deje de comportarse como positiva, la última dilución de la serie que se distingue del blanco será el límite de detección y será utilizada por el laboratorio como control positivo de baja concentración para el virus analizado. Los resultados se deberán expresar en tabla indicando: virus analizado, diluciones y resultados encontrados (positivo o negativo). Este procedimiento

se deberá realizar en cada muestra positiva nueva que utilice el laboratorio, en el caso que utilice controles positivos comerciales la dilución podrá mantenerse siempre y cuando los controles positivos correspondan al mismo lote.

- **Robustez**

Definición: Capacidad de un método analítico para que los resultados no se vean afectados por variaciones deliberadas en los parámetros del procedimiento.

Ejemplo: A partir de repeticiones de un mismo medido (mínimo dos) se realizan análisis independientes (distintas placas) variando algún factor en el procedimiento analítico como, por ejemplo: variaciones en los volúmenes de buffers, método de conservación de la muestra, pH del buffer, tiempo de lectura, cantidad de anticuerpos, temperatura de incubación, etc. Se espera que ante las variaciones en el procedimiento los resultados del medido se mantengan inalterados, o si varían se identifique a esos puntos del ensayo como críticos. Los ensayos son más robustos cuanto menos varían los resultados frente a cambios deliberados.

- **Especificidad/Selectividad**

Definición: estos parámetros aseguran la confiabilidad de la medición del analito en presencia de interferencias.

Ejemplo: Sobre placas sensibilizadas con un determinado anticuerpo se colocan muestras o controles positivos (mínimo dos) no correspondientes al anticuerpo seleccionado. Se espera que los anticuerpos específicos para cada virus reaccionen solamente con su correspondiente antígeno y no viceversa. Este parámetro normalmente está garantizado por el fabricante de los anticuerpos en estos casos no requiere que se verifique mediante un ensayo del laboratorio.

- **Intervalo de trabajo/Linealidad**

Este punto solo lo deben determinar aquellos laboratorios que realicen las lecturas mediante un lector de microplacas y cuando el resultado que se informe sea de tipo cuantitativo.

Definición: El rango de trabajo de un método analítico es el intervalo entre los niveles más bajo y más alto de concentraciones que ha sido demostrado que puede ser determinado con la precisión y la exactitud requeridas para una determinada matriz.

Resultados

Los resultados de los ensayos de cada parámetro deberán presentarse de manera clara y completa mediante tablas, fotos, gráficos u otra forma de presentación.

Conclusiones

Las conclusiones de cada parámetro deberán ser acordes con los resultados obtenidos y se deberán especificar los criterios de aceptación y rechazo de los resultados.

5. Conclusión del documento de adopción del método

La conclusión del informe deberá abarcar todos los virus para los cuales el laboratorio haya solicitado habilitación y todos los tipos de matriz que analice.

6. Presentación

El documento de adopción del método deberá ser presentado ante la Dirección de Evaluación de Calidad debiendo estar en cada una de las hojas firmado y sellado por el Director Técnico y constar todos los datos identificatorios del Laboratorio.