



REACTIVOS DE DIAGNÓSTICO DE USO VETERINARIO

DIRECTRICES GENERALES QUE DEBEN SEGUIR LOS PRODUCTORES O ENTIDADES TITULARES DE LOS REACTIVOS DE DIAGNÓSTICO DE USO VETERINARIO PARA LA PREPARACIÓN DEL DOSIER TÉCNICO QUE DEBE ACOMPAÑAR A LA SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN Y/O MODIFICACIÓN DE LA INSCRIPCIÓN EN EL REGISTRO DE ENTIDADES Y PRODUCTOS ZOOSANITARIOS

ÍNDICE

1. OBJETIVO	2
2. ALCANCE	2
3. DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO DE VALIDACIÓN	2
3.1 CRITERIOS GENERALES	3
3.2 ESTUDIO DE VALIDACIÓN: PARÁMETROS QUE DEBEN SER EVALUADOS POR EL FABRICANTE	4
4. DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO (DMV)	4
5. REFERENCIAS	5
TABLA 1: PARÁMETROS QUE DEBEN SER EVALUADOS POR EL FABRICANTE EN EL ESTUDIO DE VALIDACIÓN DEL DOSIER TÉCNICO	6
TABLA 2: EJEMPLO DE DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO (DMV)	8



OBJETIVO

El objetivo de este documento es establecer las directrices generales que deben seguir los productores o entidades titulares de los reactivos de diagnóstico de uso veterinario para la preparación del dossier técnico que debe acompañar a la solicitud de autorización y/o modificación de la inscripción en el Registro de Entidades y Productos Zoosanitarios (en adelante, el Registro), conforme al Real Decreto 867/2020 *de 29 de septiembre, por el que se regulan los productos zoosanitarios de reactivos de diagnóstico de uso veterinario, los sistemas de control de parámetros fisiológicos en animales y los productos destinados al mantenimiento del material reproductivo animal.*

1. ALCANCE

En este documento se describen los criterios técnicos generales que deben considerarse y los parámetros que deben ser evaluados por el fabricante o entidad titular y que deben estar recogidos en el dossier técnico de un reactivo de diagnóstico que se presente para solicitar su autorización e inscripción y/o modificación en el Registro.

Estas directrices pueden no ser aplicables a todos los reactivos de diagnóstico existentes, en particular a aquellos para los que determinados parámetros descritos en este documento no puedan ser evaluados debido, por ejemplo, a la ausencia de un método de referencia específico y/o de materiales de referencia accesibles y debidamente validados.

Tampoco serán aplicables a aquellos reactivos de diagnóstico que cuenten con una validación conforme a normas reconocidas internacionalmente o llevada a cabo por laboratorios de referencia internacionales u organismos de certificación.

Con carácter general, toda la información incluida en el dossier técnico, y en todo caso las instrucciones de uso, el Certificado de análisis, la Declaración de Método Validado y el etiquetado serán remitidos en español, cuando el reactivo de diagnóstico sea comercializado en España.

2. DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO DE VALIDACIÓN

Los criterios de conformidad por parte de los laboratorios nacionales de referencia del MAPA para el control de los reactivos de diagnóstico de uso veterinario se basan en el documento *PSGL-01 "Procedimiento de actuación en los laboratorios oficiales designados del MAPA para el control de reactivos de diagnóstico de uso veterinario"*.



3.1 Criterios generales

- a. Todas las matrices (suero, sangre, leche, fluidos, etc.) y las especies (ovino, bovino, caprino, aves, etc.) a las que aplica el reactivo deberán ser validadas por el fabricante mediante los pertinentes análisis y/o estar sustentadas por referencias bibliográficas.
- b. Las especies y matrices a las que aplica deberán quedar claramente identificadas en las instrucciones de uso y en la declaración de método validado.
- c. Si el reactivo de diagnóstico tuviera más de un protocolo de uso, todos ellos deberán ser asimismo validados.
- d. En el caso de que exista material de referencia europeo o internacional caracterizado y esté disponible, éste deberá ser empleado en el proceso de validación.
- e. En aquellas enfermedades/técnicas en las que existan métodos de referencia (Gold-standard), los resultados obtenidos con el reactivo para el que se solicita autorización de registro deberán ser comparados con los proporcionados por el método de referencia para las mismas muestras.
- f. Si existen criterios de sensibilidad o especificidad diagnóstica, o de cualquier otra índole, recogidos en la legislación o normativa internacional, europea o nacional específica para un patógeno/enfermedad/método, o establecida por los laboratorios de referencia internacionales para ese patógeno/enfermedad/método, éstos tendrán que ser aplicados y los reactivos de diagnósticos validados en consecuencia.
- g. En función de la situación epidemiológica y de la relevancia de la enfermedad, el número de muestras positivas y negativas empleadas en los análisis de validación para evaluar la sensibilidad y especificidad diagnóstica, deberán ser lo suficientemente representativas y estar perfectamente caracterizadas. Se deberán incluir diferentes grados de positividad (fuertes, moderadas y débiles).
- h. La expresión de los resultados obtenidos deberá reflejarse de forma concisa, clara y detallada; para ello podrán emplearse tablas, gráficos etc.
- i. Los estudios de estabilidad podrán ser reales o basarse en análisis de estabilidad forzada o acelerada (EN ISO 23640:2011), en cuyo caso los estudios reales de estabilidad opcionalmente podrán ser remitidos a la fecha de caducidad del reactivo de diagnóstico.



- j. Si el reactivo de diagnóstico incluye el empleo de mezclas de muestras, éste deberá seguir las directrices establecidas en la nota informativa NI-DL-17.
- k. Cuando el reactivo de diagnóstico sufra una **modificación** que tenga un impacto significativo en los resultados obtenidos, deberá presentarse el correspondiente dossier técnico incluyendo los estudios de validación siguiendo los criterios establecidos que les aplique de este documento.

El laboratorio encargado del control de los reactivos de diagnóstico de uso veterinario podrá solicitar al fabricante o entidad titular información adicional sobre los mismos, mediante un comunicado a través del buzón: bnz-Zoosan@mapa.es, siendo el plazo máximo de respuesta de la entidad de 3 meses. En el caso de no recibir respuesta en el plazo indicado se procederá a la emisión del informe de resultados con los datos del dossier técnico presentado.

3.2 Estudio de validación: Parámetros que deben ser evaluados por el fabricante

Los parámetros que deben ser evaluados por el fabricante y presentados en el estudio de validación que acompaña al dossier técnico se describen en la [tabla 1](#).

- Definición de la interpretación del método y de los puntos de corte.
- Sensibilidad analítica /límite de detección y especificidad analítica.
- Coherencia dosis-respuesta.
- Sensibilidad y especificidad diagnóstica.
- Repetibilidad (intra-laboratorio e intra-ensayo).
- Reproducibilidad (intra-laboratorio e inter-ensayo).
- Robustez.
- Estabilidad.

3. DECLARACIÓN DE MÉTODO VALIDADO (DMV)

La DMV ([tabla 2](#)) es uno de los documentos que forman parte del dossier técnico del reactivo de diagnóstico que reflejará de forma resumida los estudios de validación del reactivo disponible para los clientes.

La DMV deberá contener como mínimo:

- Descripción del método.
- Objetivos.
- Matrices y especies a las que aplica.
- Descripción breve de las muestras empleadas en la validación.
- Parámetros evaluados.



- Resultados obtenidos.
- Legislación aplicable (si es relevante).
- Bibliografía de interés.
- Declaración de la validación del reactivo.
- Indicación de las posibles restricciones, si las hubiera, o cualquier observación o comentario relevante.
- Fecha, firma y nombre completo del Responsable técnico de la validación.

En aquellos reactivos validados conforme a normas reconocidas internacionalmente por organismos de certificación, no será necesaria la presentación de la DMV.

4. REFERENCIAS

- Real Decreto 867/2020, por el que se regulan los productos zoonos de reactivos de diagnóstico de uso veterinario, los sistemas de control de parámetros fisiológicos en animales y los productos destinados al mantenimiento reproductivo animal.
- NI-01. Directrices para la tramitación de solicitudes de autorización de reactivos de diagnóstico de uso veterinario.
- NI-01. Anexo A. Listado de enfermedades cuyos kits deben ser testados para su autorización.
- NI-15. Sistemática para el control de los reactivos de diagnóstico de uso veterinario.
- NI-17. Control de reactivos de diagnóstico de uso veterinario. Directrices para el análisis de mezclas de muestras.
- PSG-01. Procedimiento de actuación en los laboratorios oficiales designados del MAPA para el control de reactivos de diagnóstico de uso veterinario.
- ISO 23640:2011 (E) *In vitro* diagnostic medical devices – Evaluation of stability of *in vitro* diagnostic reagents.
- Capítulo 1.1.6. Validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas de animales terrestres. Manual de Pruebas de Diagnóstico y Vacunas para los Animales Terrestres. Organización Mundial de la Sanidad Animal (OMSA).
- Sección 2.2. Validación de Pruebas de diagnóstico. Manual de Pruebas de Diagnóstico y Vacunas para los Animales Terrestres. Organización Mundial de la Sanidad Animal (OMSA).



Tabla 1: Parámetros que deben ser evaluados por el fabricante/entidad titular en el estudio de validación del dossier técnico.

PARÁMETRO	FABRICANTE/ENTIDAD TITULAR
	Requisitos dossier de validación
Definición de la interpretación del método y de los puntos de corte	<ul style="list-style-type: none"> • Según las directrices definidas por el fabricante. • Si existiera alguna norma, directrices o reglamentos europeos y/o internacionales deberán aplicarse.
Sensibilidad analítica o Límite de detección	<ul style="list-style-type: none"> • Se deberá emplear 1 o más Materiales de Referencia (MRs). <ul style="list-style-type: none"> ○ MR internacional o europeo positivo, si no existiese: ○ MR nacional positivo, si no existiese: ○ MR interno positivo • Si existiera alguna norma, directrices o reglamentos europeos y/o internacionales deberán aplicarse.
Especificidad analítica	<ul style="list-style-type: none"> • Exclusividad: Enfermedades o secuencias genómicas que puedan dar reacciones cruzadas, deben ser incluidas. • Inclusividad: Enfermedades o secuencias genómicas relacionadas con cepas, o grupos de organismos.
Coherencia dosis-respuesta (si aplica)	Se deberá testar al menos 4 niveles de concentración preparados mediante diluciones seriadas de un MR positivo.
Sensibilidad diagnóstica	<p>El número de muestras a ensayar debe ser representativo de la población. Podrán ser analizadas:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Muestras de animales infectados natural o experimentalmente. ○ Muestras de animales vacunados. <ul style="list-style-type: none"> • Se debe especificar: origen, especie, estatus sanitario debidamente justificado (epidemiológico o basado en técnicas analíticas de referencia) y si es relevante edad y sexo. • Deberán incluirse, según disponibilidad, muestras positivas a tres niveles (fuertes, moderadas y débiles). • Los resultados obtenidos deberán: <ul style="list-style-type: none"> ○ Compararse con los resultados con el Método de Referencia (si existe). ○ Compararse con los resultados con otras técnicas de diagnóstico.



	<ul style="list-style-type: none">• El resultado deberá expresarse en porcentaje de positivos con respecto a los positivos esperados.
Especificidad diagnóstica	<p>El número de muestras a ensayar debe ser representativo de la población. Podrán analizarse:</p> <ul style="list-style-type: none">○ Muestras de animales negativos catalogados como libres de la enfermedad. <ul style="list-style-type: none">• Se debe especificar: origen, especie, estatus sanitario y si es relevante edad y sexo.• Los resultados obtenidos deberán:<ul style="list-style-type: none">○ Compararse con los- resultados con Método de Referencia (si existe).○ Compararse con los- resultados con otros métodos o kits de ensayo• El resultado deberá expresarse en porcentaje de negativos con respecto a los negativos esperados.
Repetibilidad (intra-laboratorio e intra-ensayo)	<ul style="list-style-type: none">• <u>Kits de técnicas inmunológicas</u><ul style="list-style-type: none">• Kits de ELISA<ul style="list-style-type: none">• Repetición en 3 placas completas de un mismo lote de:<ul style="list-style-type: none">○ Controles positivo y negativo del kit.○ Al menos 1 muestra positiva cercana al punto de corte establecido.• Para otros métodos (inmunocromatografía, AGID etc.)<ul style="list-style-type: none">• Al menos 1 muestra positiva repetida en 3 soportes completos.• <u>Kits de PCR</u><ul style="list-style-type: none">• Al menos 2 muestras positivas analizadas por duplicado en el mismo ensayo estando 1 de ellas cercana al punto de corte.
Reproducibilidad (intra-laboratorio e inter-ensayo)	<p>Se utilizarán las mismas muestras utilizadas para el ensayo de repetibilidad.</p> <ul style="list-style-type: none">• <u>Kits de técnicas inmunológicas</u><ul style="list-style-type: none">• Al menos 2 operadores en diferentes días y empleando diferentes equipos (si es posible).• Al menos deberán ser testados en 2 lotes diferentes.• <u>Kits de PCR</u><ul style="list-style-type: none">• Al menos 2 operadores en diferentes días y empleando diferentes equipos (si es posible).
Robustez	<p>Analizar con pequeñas modificaciones los tiempos/temperatura de incubación y volúmenes de reacción (Kits de PCR), y/o empleando diferentes lotes.</p> <ul style="list-style-type: none">• Los controles del kit.• Al menos 3 muestras positivas, 1 de ellas cercana al punto de corte.



Estabilidad forzada/acelerada o real	Analizar al menos: <ul style="list-style-type: none"> • Controles positivos y negativos del kit. • Muestra positiva fuerte. • Muestra positiva débil cercana al punto de corte establecido en el kit.
--------------------------------------	--

Tabla 2: Ejemplo de Declaración de Método Validado (DMV)

<u>MÉTODO / METHOD:</u>		
<u>RESPONSABLE DE VALIDACIÓN / VALIDATION RESPONSIBLE:</u>		
<u>OBJETIVOS-USO PREVISTO / APPLICATIONS:</u>		
<u>ESPECIES Y MATRICES A LAS QUE APLICA / TARGETED SPECIES AND MATRICES:</u>		
<u>BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAPHY:</u>		
<u>OBJETIVOS A OBTENER / OBJECTIVES TO REACH</u>		
PARÁMETRO / PARAMETER	VALOR / VALUE	OBSERVACIONES / COMMENTS
<u>PROCEDIMIENTO / PROCESS:</u>		
<u>VALORES OBTENIDOS / VALUES OBTAINED</u>		
PARÁMETRO / PARAMETER	RESULTADO / RESULT	OBSERVACIONES / COMMENTS



<p><u>DECLARACIÓN / DECLARATION:</u></p> <p>MÉTODO VALIDADO / <i>VALIDATED</i></p> <p><input type="checkbox"/></p> <p>MÉTODO NO VALIDADO / <i>NOT VALIDATED</i></p> <p><input type="checkbox"/></p> <p>MÉTODO VALIDADO CON RESTRICCIONES / <i>VALIDATED WITH RESTRICTIONS</i></p> <p><input type="checkbox"/></p> <p>Indicarlas / <i>Indicate:</i></p>	<p>Fecha / <i>Date:</i></p> <p>Fdo. Apellidos y nombre.</p> <p>Responsable Técnico / <i>Signature of the validation responsible:</i></p>
---	---