

SVLTest, Estándar para Verificación
en laboratorio del Test Legipid®
Legionella Fast Detection

Referencia de catálogo:

311-30-SV

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I. INTRODUCCIÓN

II. DESCRIPCIÓN Y COMPONENTES DEL KIT

III. ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD

IV. MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO

V. PRECACUCIONES Y RECOMENDACIONES

VI. PROTOCOLO

I. INTRODUCCIÓN

SVLTest, Estándar para Verificación en laboratorio de Legipid® (Ref. No. 311-30-SV) es un sistema simple y rápido para que el laboratorio pueda verificar el test **Legipid® Legionella Fast Detection**. La norma UNE-EN ISO/IEC 17025, 2017, indica la necesidad de “usar métodos y procedimientos apropiados para todas las actividades del laboratorio” y, para ello, dice que “el laboratorio debe verificar que puede llevar a cabo apropiadamente los métodos antes de utilizarlos, asegurando que puede lograr el desempeño requerido”. La norma UNE-EN ISO 16140-1 define la validación de un método como el “establecimiento de las características de comportamiento de un método y la provisión de evidencia objetiva, que demuestre que se cumplen los requisitos de comportamiento para un uso previsto.” Por otro lado, la norma UNE-EN ISO 16140-2, añade como objetivo que los estudios de validación “se desarrollen por parte de organizaciones dedicadas a la validación de métodos”. El test **Legipid®** es un método ya validado por la organización internacional competente AOAC-RI y corresponde al usuario proveer “de evidencia objetiva” de que se adecua al “uso previsto”.

Para realizar esta verificación, se propone un protocolo que también aplica los criterios específicos de acreditación recogidos en el documento de la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC) CEA-ENAC-20 rev.1 de mayo de 2017, que permite confirmar las características de funcionamiento, al menos, de recuperación y reproducibilidad. Estos parámetros evalúan tanto la capacidad técnica de un laboratorio con el método como su robustez. Además, como este método se presenta en forma de kit de ensayo, también se han aplicado las directrices recogidas en la Guía para la selección y utilización de kits de ensayo por los laboratorios acreditados (G-ENAC-20 Rev.1) de ENAC.

SVLTest permite preparar una serie de muestras estándar de 9 mL, a tres niveles distintos de **Log₁₀ UFC_{eq}**, con n-réplicas (hasta 10) por cada nivel. Además, permite inocular esos mismos niveles a muestras de las matrices seleccionadas, que son concentradas por filtración. El laboratorio registra las **absorbancias relativas** obtenidas para cada concentración, al aplicar el test **Legipid®** a las muestras, tanto en las muestras directas como en las filtradas.

Los datos se introducen en una hoja de cálculo que calcula los parámetros de reproducibilidad, recuperación y las incertidumbres.

II. DESCRIPCIÓN Y COMPONENTES DEL KIT

La referencia **311-30-SV** contiene 10 viales por nivel (alto, medio, bajo) con un volumen de 0.6 mL/vial de una suspensión congelada de una concentración conocida de *Legionella pneumophila* sg 1 **Log₁₀ UFC_{eq}** y una botella de L0 con un volumen de 300ml.

III. ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD

Una vez recibidos, los viales deben ser inmediatamente guardados a -20 °C y la botella del reactivo L0 en el refrigerador a ±5°C. La caducidad del material, adecuadamente guardado, es de 3 **meses** desde la fecha de suministro. Cada conjunto de viales por nivel está etiquetado con su número de lote y condiciones de almacenamiento. Además, el protocolo incluye código, número de lote y caducidad, por lo que la trazabilidad de todos los viales está garantizada.

IV. MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO

- ◆ Pipetas de 100-1000µl.

V. PRECAUCIONES Y RECOMENDACIONES

- ◆ El vial debe ser inmediatamente guardado en congelación a su recepción.
- ◆ Descongele y atempere el vial a utilizar. Una vez descongelado y atemperado, use el contenido como se describe en VI. Protocolo, y no guarde ningún resto.

VI. PROTOCOLO

Antes de empezar:

Saque del congelador el número de viales exacto que precise, para cada nivel o rango. Tantos como réplicas por nivel vaya a utilizar. Deje descongelar y atempere a temperatura ambiente, antes de preparar las muestras estándar y analizarlas con el kit Legipid® *Legionella* Fast Detection.

Procedimiento:

Preparación de muestras directas:

1. Descongelar y atemperar n-viales por nivel, tantos como réplicas vaya a emplear (hasta un máximo de 10).
2. Para cada nivel y n-viales, **tome 0.5 mL** de cada vial y añádalo en cada una de las n-cubetas Legipid®.
3. Llevar todas las cubetas a un volumen final de 9 mL con L0 (es decir, añadir 8.5 mL de L0).

Preparación de muestras concentradas:

1. Descongelar y atemperar n-viales por nivel, tantos como réplicas vaya a emplear (hasta un máximo de 10)
2. **Tome 0.5 mL** de un vial e inocule en 1000 ml de matriz, con n-réplicas por cada nivel de contaminación y matriz. Homogenice por inversiones suaves y repetidas.
3. Filtre cada muestra inoculada y eluya el filtro siguiendo el protocolo del test Legipid®.

Análisis:

4. Realizar el ensayo Legipid® en todas las muestras (utilizar un control negativo por tanda)
5. Registrar el valor de la **absorbancia absoluta del control negativo**
6. Registrar los valores de **absorbancia relativa (con respecto al control negativo) de las muestras**

Interpretación:

La hoja de cálculo permite introducir las lecturas de las réplicas **para una matriz y un nivel**. Replique la hoja en su archivo tantas veces como necesite según el número de matrices y niveles. En el encabezado de la hoja puede anotar el método, la matriz, el rango o nivel, y el microorganismo.

Para una matriz y un nivel dados, introducir en la hoja de cálculo:


- En la columna titulada PASO 1: TITULACIÓN DE LA CEPA
 - La lectura de **absorbancia absoluta registrada del control negativo**.
 - Calcule e introduzca las lecturas de **absorbancia relativa de las réplicas de las muestras directas**.
- En la columna titulada PASO 2: MATRIZ INOCULADA (*)
 - La lectura de **absorbancia absoluta registrada del control negativo**.
 - Calcule e introduzca las lecturas de **absorbancia relativa de las réplicas de las muestras concentradas**.

(*) *No recomendamos el filtro de nylon por su baja recuperación respecto de otros tipos de filtro.*

La hoja devolverá en CÁLCULOS:

- Los **valores de concentración (UF_{Ceq} y Log₁₀UF_{Ceq})** de cada réplica.
- Los **estadísticos (media y desviación)** tanto para la titulación como para el nivel o rango de la matriz.
- La **Incertidumbre** y sus componentes.
- La **precisión** y la **recuperación**.

2	MÉTODO:										
3	MATRIZ:										
4	RANGO:										
5	MICROORGANISMO:										
6	PARTE DOCUMENTAL										
7	PROSPECTO		Introducción Tecnología del test Legipid® Reactivos y componentes del test Caducidad y almacenamiento Precauciones y recomendaciones Protocolo Certificación referenciada (AOAC)				VALIDACIÓN		Certificado AOAC Publicaciones científicas		
14	PARTE EXPERIMENTAL										
15	PRINCIPIO		Verificar las competencia técnica del usuario para desempeñar el ensayo con el test Legipid				MATERIAL		Levertest (cepa), tubos, frascos de elución, filtros de membrana, sistema de vacío, pipetas		
17	PROCEDIMIENTO										
18	PASO 1: TITULACIÓN DE LA CEPA					PASO 2: MATRIZ INOCULADA					
19	Introduzca control negativo (u.a.):					Introduzca control negativo (u.a.):					
20	Réplicas	ABS relativa	ABS absoluta	UFCEq	Log ₁₀ UFCEq	Analista	Réplicas	ABS relativa	ABS absoluta	UFCEq	Log ₁₀ UFCEq
21	1		Falta control negativo			Alvaro	1		Falta control negativo		
22	2		Falta control negativo				2		Falta control negativo		
23	3		Falta control negativo				3		Falta control negativo		
24	4		Falta control negativo				4		Falta control negativo		
25	5		Falta control negativo				5		Falta control negativo		
26	6		Falta control negativo				6		Falta control negativo		
27	7		Falta control negativo				7		Falta control negativo		
28	8		Falta control negativo				8		Falta control negativo		
29	9		Falta control negativo				9		Falta control negativo		
30	10		Falta control negativo				10		Falta control negativo		
31	CÁLCULOS					Introduzca control negativo (u.a.):					
33	Estadísticos para titulación		Media Xr = Desviación n= 0			Analista	Réplicas	ABS relativa	ABS absoluta	UFCEq	Log ₁₀ UFCEq
34						Vicky	1		Falta control negativo		
35							2		Falta control negativo		
36	Estadísticos para matriz/rango		Media XR = Desviación n= 0				3		Falta control negativo		
37							4		Falta control negativo		
38							5		Falta control negativo		
39							6		Falta control negativo		
40	COMPONENTE		FÓRMULA		RESULTADO						
41	INCERTIDUMBRE DE CEPA (PASO 1)		$I_{cepa} = \frac{SR}{\sqrt{n}}$		I _{cepa} =						
42	INCERTIDUMBRE DE REPRODUCIBILIDAD		$I_{rep} = \frac{SR}{\sqrt{n}}$		I _{rep} =						
43	INCERTIDUMBRE DE RUTINA		$I_{rut} = \frac{SR}{\sqrt{n}}$		I _{rut} =						
44	INCERTIDUMBRE DE RECUPERACIÓN		$I_{rec} = \frac{ XR - Xr }{\sqrt{3}}$		I _{rec} =						
45	INCERTIDUMBRE DE MEDIDA		$I_{medida} = \sqrt{I_{cepa}^2 + I_{rep}^2 + I_{rut}^2}$		I _{medida} = 0,000						
46	INCERTIDUMBRE EXPANDIDA		$I_{exp}(log) = 2 \times I_{medida}$		I _{exp} = 0,000						
47	PRECISIÓN (log), P (%)		$P = (SR/XR) \cdot 100$		P (%) =						
48	RECUPERACIÓN, R (%)		$R = (XR/Xr) \cdot 100$		R (%) =						
49											
50											
51											
52											
53											
54											
55											
56											

<p>Número de lote: <input type="text"/></p> <p>Concentración (orden de magnitud, UFC_{eq}):</p> <p>○ Nivel 1: <input type="text"/></p> <p>○ Nivel 2: <input type="text"/></p> <p>○ Nivel 3: <input type="text"/></p> <p>Caducidad desde fecha de suministro:</p> <p>__/__/__</p>	<p>Para asistencia técnica por favor contacte con: Biótica, Bioquímica Analítica, S.L. Parque Científico y Tecnológico, Universidad Jaume I Edificio Espaitec 2, planta baja, lab 2 E12071 – Castellón, España www.biotica.es info@biotica.es Tel.: +34 964108131 Fax: +34 964737790</p>	 <p>biótica[®] FAST DETECTION FOR LIFE</p>
---	--	---

Nota para el usuario: Use este producto sólo para ensayos internos