

ESTRATEGIAS DE VALIDACIÓN DE ENSAYOS DE RESPUESTA INMUNITARIA PARA EVALUAR VACUNAS HUMANAS: ISO 17025:2017

Blancas-Ruiz C*, Palencia-Reyes , Sixtos-Bermúdez , Zamudio-Meza H, Nieto-Ponce M, Reyna-Rosas E, Carranza-Salazar C, Chavez-Dominguez R, Juárez-Carvajal E, Vietri-Pinto M, Corona-Galvan I, Torres-Rojas M.

*Laboratorio de Inmunobiología de la Tuberculosis, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, CDMX, México.

DESFÍOS ACTUALES

- Costo y complejidad de la implementación de un Sistema de Gestión de Calidad (QMS).
- Falta de una validación rigurosa para métodos de prueba no estandarizados, modificados o recién desarrollados.
- Literatura limitada para la validación de métodos innovadores y específicos.
- Ausencia de estándares de referencia y materiales certificados.
- Variabilidad intrínseca de las muestras biológicas.
- Complejidad de la heterogeneidad biológica y la matriz analítica.
- Difícil aplicación de límites de detección y cuantificación.
- Ausencia de laboratorios acreditados en este tipo de ensayos

MATERIAL Y MÉTODOS

La implementación se realizó en el Laboratorio de Inmunobiología de la Tuberculosis del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas, México, donde se evaluó la inmunogenicidad de una vacuna contra el SARS-CoV-2 utilizando las siguientes técnicas:

- Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para cuantificación de anticuerpos específicos.
- Citometría de flujo para cuantificación de citocinas antigeno-específicas.
- Ensayos de detección múltiple (Multiplex detection assays) para cuantificación de citocinas solubles.
- Ensayo de microneutralización para cuantificación de anticuerpos neutralizantes.

Se realizó una investigación bibliográfica sobre procesos de validación y análisis estadísticos. Se consultaron guías de validación internacionales y se diseñaron procedimientos de validación específicos para cada técnica con base en los siguientes parámetros: Límite de Detección (LOD) y cuantificación (LOQ), Precisión (repetibilidad y precisión intermedia), Veracidad (sesgo) e Incertidumbre.



RESULTADOS

Logramos ajustar los criterios para cada técnica superando los desafíos relacionados con la falta de materiales de referencia mediante el uso de estándares internos o externos, los cuales caracterizamos.

Se validaron los métodos inmunológicos en un entorno de investigación bajo un contexto regulatorio, con resultados consistentes en todos los ensayos.

La inclusión de pruebas de incertidumbre y una evaluación detallada de la precisión y exactitud fueron requisitos esenciales para lograr la acreditación del laboratorio bajo los criterios ISO 17025:201 por parte de la Entidad Mexicana de Acreditación.

Criterios de aceptación para las técnicas

Parámetro de validación	Ensayos evaluados	Criterio de aceptación
LOD	ELISA	LOD > LOQ
	Citometría de Flujo	
	Multiplex	
	ELISA	
LOQ	Citometría de Flujo	%CV < 20%
	Multiplex	%CV < 20%
	Microneutralización	%CV < 30%
	Citometría de Flujo	80 ≤ %R ≤ 120
Repetibilidad y Precisión Intermedia	Multiplex	70 ≤ %R ≤ 130
	Microneutralización	
	ELISA	
	Citometría de Flujo	
Veracidad (sesgo)	Multiplex	N/A
	Microneutralización	
	ELISA	
	Citometría de Flujo	
Incertidumbre	Multiplex	
	Microneutralización	
	ELISA	
	Citometría de Flujo	

CONCLUSIONES

- La estrategia adoptada en el estudio con base en los criterios de aceptación definidos específicamente y en los controles internos adecuados a cada técnica, nos permitió cumplir con los parámetros críticos establecidos de manera confiable y trazable.
- La integración de tecnologías validadas amplía la capacidad del laboratorio para realizar evaluaciones multifacéticas de la respuesta inmune, lo cual es crucial en el desarrollo y seguimiento de vacunas.