

Nota Técnica

DESEMPEÑO EN LABORATORIOS DE DIAGNÓSTICO DE MICOPLASMAS POR COMPARACIONES INTERLABORATORIOS

A. Betancourt*, Evelyn Lobo*, N. Rodríguez**, C. Fernández**, Y. Riberón*, A. Vega*,
Y. Lozada*, E. Echeverría**

* Dirección de Calidad. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. Correo electrónico: arsenio@censa.edu.cu; ** Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. Maníanao 13. Ciudad de La Habana. Apdo. Postal 601. Correo electrónico: ciipk@ipk.sld.cu

RESUMEN: Se comprobó el desempeño en los laboratorios de diagnóstico de Micoplasma del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri y MYCOLAB del CENSA, mediante un programa anual de ensayos de aptitud por medio de comparaciones interlaboratorios para la detección de micoplasmas en fluidos biológicos. Ambos laboratorios por dos años consecutivos identificaron de forma correcta seis muestras negativas y nueve muestras positivas de referencia incluidas a ciegas. Se demostró la capacidad para obtener resultados confiables en la detección de micoplasmas por las técnicas de cultivo y reacción en cadena de la polimerasa.

(Palabras claves: comparaciones interlaboratorios; desempeño del laboratorio; micoplasma)

MYCOPLASMA DIAGNOSTIC LABORATORY PERFORMANCE BY INTERLAB COMPARISONS

ABSTRACT: The performance of diagnostic laboratories for mycoplasmas from the Tropical Medicine Institute Pedro Kouri and MYCOLAB from CENSA was proved an annual program of proficiency assays testing by interlab comparisons for mycoplasmas detection in biological fluids. During two consecutive years both laboratories, correctly identified six blind negative reference samples and nine blind positive reference samples. The ability to obtain reliable results in detecting mycoplasmas by culture and PCR was demonstrated.

(Keys word: interlab comparisons; laboratory performance; mycoplasma)

Los laboratorios de diagnóstico de micoplasmas del CENSA y del Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK) realizan determinaciones de micoplasmas relacionadas con enfermedades provocadas por estos microorganismos en aves y humano respectivamente (1, 2). Por otra parte, los micoplasmas son contaminantes frecuentes de cultivos celulares, sueros y productos biotecnológicos de aplicación médica, con una alta incidencia de la infección entre un 15 y un 80% en cultivos celulares (3); por ello las organizaciones internacionales como la Organización Internacional de Epizootias (OIE) y la Organización Mun-

dial de la Salud (OMS) que regulan estas producciones exigen demostrar la ausencia de micoplasmas para ser liberados al mercado (4, 5, 6). Con este fin el laboratorio MYCOLAB del CENSA realiza el diagnóstico de micoplasmas a productos biotecnológicos, productos intermedios y materias primas de diferentes clientes como parte del control de la calidad durante su producción.

Los laboratorios de diagnóstico de micoplasmas del IPK y CENSA aplican el control interno de la calidad para demostrar confianza de sus resultados; sin embargo, el control externo es un nivel superior que

permite a un grupo de laboratorios comprobar la veracidad de los resultados obtenidos, es por eso que el objetivo de este trabajo consistió en demostrar la capacidad de los laboratorios involucrados del CENSA y el IPK para obtener resultados confiables en la detección de micoplasmas, por las pruebas descritas en la Farmacopea Europea (7, 8) para el cultivo y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Estos laboratorios participan en un programa anual cualitativo de ensayos de aptitud por medio de comparaciones interlaboratorios. (9)

Se realizaron dos estudios interlaboratorios en el período del 2007-2008, se evaluó un total de 15 muestras por cada laboratorio, distribuidas en seis muestras negativas con matrices de suero fetal bovino (HyClone) y cultivo de células VERO certificadas (Institute of Virology, Hannover, Germany), así como nueve muestras positivas con las matrices mencionadas a las que se adicionó *Mycoplasma arginini* (cepa NCTC10129) a seis muestras y *Mycoplasma hyohinis* (cepa NCTC10130) a las restantes muestras positivas. La homogeneidad de la muestra durante el estudio interlaboratorio se comprobó por la evaluación de tres réplicas de cada muestra analizada a ciegas además, se realizaron determinaciones por duplicado, de manera que se evaluaron seis réplicas por muestra cuyos resultados coincidieron en su totalidad (10, 11). Las matrices empleadas como muestras negativas no provocaron interferencia de efecto matriz sobre los ensayos y las mismas resultaron representativas del trabajo diario del laboratorio MYCOLAB, ya que los cultivos de células VERO y el suero fetal bovino constituyeron el 52,5% y 9,32% del total de muestras solicitadas por los clientes para su análisis en un año. Este elevado número de muestras se corresponde con la necesidad de los clientes de evitar el riesgo para emplear materias primas que se pueden contaminar frecuentemente con micoplasmas (3, 12, 13). Las concentraciones de micoplasmas empleadas en las muestras positivas aseguraron un resultado efectivo para *Mycoplasma arginini* y *Mycoplasma hyohinis* que son frecuentes contaminantes de productos biofarmacéuticos (3, 13). La metodología aplicada permitió armonizar los reactivos y métodos analíticos (14) y evitó el aumento en la variabilidad de los resultados, lo que puede limitar el desempeño de los laboratorios participantes (15, 16).

Se empleó un formato único para el registro e interpretación de resultados, lo que evitó errores de transcripción, facilitó el recorrido de las muestras, la transparencia en la introducción de las mismas y la confidencialidad del estudio.

Las comparaciones interlaboratorios realizadas mostraron un desempeño satisfactorio y reproducible de los laboratorios (9, 17), fueron adecuadas para el objetivo planteado y constituyen las primeras evaluaciones de control externo de la calidad de los laboratorios de diagnóstico de micoplasmas bajo condiciones de trabajo armonizadas en Cuba.

REFERENCIAS

1. OIE. Micoplasmosis aviar. Manual sobre animales terrestres. Capítulo 2.7.3:905-909; 2004.
2. Owen M and Clenney T: Management of vaginitis. Am.Fam.Physician. 2004; 70:2125-2140.
3. Lobo E, Vega A. Mycoplasmas in cell cultures. Rev. Salud Anim. 2004;26(1):3-6.
4. British Pharmacopeia Veterinary. Tests for absence of Mycoplasmas. Appendix XVI. B (vet) 3, p. A17-A19, 2000.
5. OIE. Pruebas para esterilidad y ausencia de contaminación en materiales biológicos Manual sobre animales terrestres. Capítulo 1.1.5:40-45, 2004.
6. World Health Organization (WHO). General requirements for the sterility of biological substance. WHO technical report, 2000, series no.872, annex 3:69-74, 2000.
7. European Pharmacopoeia 5,8. Micoplasmas, chapter 2.6.7:5201-5205, 2007.
8. Lobo E, Vega A, Hernández Y. Desarrollo de un sistema de diagnóstico para la detección de micoplasmas en cultivos celulares, sueros y productos biofarmacéuticos. Rev. Salud Anim. 2006;28(1):21-30.
9. NC ISO/IEC Guía 43-1. Ensayos de aptitud por comparaciones interlaboratorios. Parte 1. Desarrollo y funcionamiento de programas de ensayos de aptitud. Ed 1:1-25, 2000.
10. ISO 16140. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Protocol for the validation of alternative methods. First edition:1-74, 2003.
11. ISO/Guide 35. Reference materials. General and statistical principles for certification. Ed 3:1-64, 2006.

12. Duorakova H, Valicek L, Reichelova M. Detection of mycoplasma contamination in cell cultures and bovine sera. *Vet Med-Czech*. 2007;50(6):262-268.
13. Sobrazo G, Martínez M, Vidal R, Martínez M C, Avendaño L. Detección de contaminación por Mollicutes en cultivos celulares mediante la amplificación del gen 16 S rARN. *Acta Bioquím Clin Latinoam*. 2006;40 (4):515-520
14. ISO/IEC 17025. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. Ed 2:1-29, 2005. Technical Corrigendum 1: 2006.
15. Hernández Y, Lobo E, Martínez S, Zamora L, Lozada Y. [CD-Rom ISBN 978-959-282-047-3]. Evaluación de diferentes métodos de extracción de ADN en micoplasmas mediante un ensayo de PCR. VI Congreso Internacional de Veterinaria; 2007.
16. Hess M, Neubauer C, Hacki R. Interlaboratory comparison of stability to detect nucleic acid of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* by polymerase chain reaction. *Avian Pathol*. 2007;36(2):127-133.
17. ISO 5725-2. Accuracy of measurement methods and results. Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. Ed 1:1-42, 1994. Corrigendum 1:2002.

(Recibido 3-6-2009; Aceptado 9-10-2009)



Su solicitud...

Dr.C. Jesús Rodríguez Diego
E.mail: jesus@censa.edu.cu

Maestrias en:

Reproducción Animal ■

Microbiología Veterinaria ■

Doctorados en:

Farmacología Veterinaria ■

Toxicología Veterinaria ■

Epizootiología ■

Reproducción Bovina ■

Patología Veterinaria ■

Virología Veterinaria ■

Inmunología Veterinaria ■

Bacteriología Veterinaria ■

Parasitología Veterinaria ■

Producción y Calidad de la leche ■