

Contribución de los ensayos de aptitud a la detección confiable de micoplasmas en productos biológicos

Contribution with proficiency testing scheme to mycoplasmas detection in biological products

Arsenio Betancourt-Bravo^{1✉}, Evelyn Lobo-Rivero², Anisleydi Pérez-Castillo², Arianna Duque-Ortiz², Yaima Burgher-Pulgarón², Nadia María Rodríguez Preval³, Brian Mondeja-Rodríguez³, Amalia Núñez-Drake¹, Maite Lorenzo-Hernández¹

¹*Departamento de Gestión de la Calidad. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Mayabeque, Cuba.*

²*Laboratorio de Referencia de la OIE para el diagnóstico de micoplasmas (MYCOLAB). Departamento de Microbiología. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Mayabeque, Cuba.*

³*Laboratorio de Diagnóstico de micoplasmas, División de Microbiología. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri, La Habana, Cuba.*

RESUMEN: En la modalidad de ensayos de aptitud, las comparaciones interlaboratorios son un requisito del sistema de gestión de la calidad que se utiliza para comprobar el desempeño y establecer la competencia de los laboratorios de ensayo. En tal sentido, el Laboratorio de Diagnóstico de Micoplasmas (MYCOLAB), perteneciente al Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, y el Laboratorio de Diagnóstico de Micoplasmas del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”, realizaron desde el año 2007 hasta 2014 rondas anuales de ensayos de aptitud. La actividad contó con un panel de muestras de referencia que representaron las cuatro principales matrices biológicas utilizadas por los clientes, contaminadas con cepas de referencia de micoplasmas. Como resultado de estas comparaciones se demostró la competencia técnica del laboratorio con resultados satisfactorios durante el periodo evaluado, se reforzó el control interno de los ensayos utilizados y se demostró la capacidad del sistema de diagnóstico para detectar muestras con bajas concentraciones de micoplasmas, lo que aumenta la confiabilidad en los resultados emitidos por el laboratorio. Esta actividad, mantenida como política del laboratorio MYCOLAB y los resultados satisfactorios obtenidos, fueron esenciales para alcanzar la acreditación de los ensayos microbiológicos destinados a la detección de micoplasmas.

Palabras clave: ensayo de aptitud, micoplasmas, productos biológicos.

ABSTRACT: In the proficiency testing modality, interlaboratory comparisons are a requirement of the quality management system used to test performance and establish the competence of test laboratories. In that sense, the Mycoplasma Diagnostic Laboratory (MYCOLAB) belonging to the National Center for Animal and Plant Health, together with the Mycoplasma Diagnostic Laboratory of the Tropical Medicine Institute “Pedro Kouri”, conducted annual rounds of proficiency testing from 2007 to 2014. The activity had a panel of reference samples representing the four main biological matrices used by the clients, contaminated with reference strains of mycoplasmas. As a result of these comparisons, the technical competence of the laboratory was

✉ Autor para correspondencia: Arsenio Betancourt Bravo. E-mail: arsenio@censa.edu.cu

Recibido: 10/1/2017

Aceptado: 15/7/2017

demonstrated with satisfactory results during the period evaluated, the internal control of the tests used was strengthened and the diagnostic system was able to detect samples with low concentrations of mycoplasmas, which increased reliability in the results obtained by the laboratory. This activity, maintained as a policy of the MYCOLAB laboratory and the satisfactory results obtained, were essential to achieve the accreditation of microbiological tests for the detection of mycoplasmas.

Key words: proficiency testing scheme, mycoplasmas, biological products.

El Laboratorio de Diagnóstico de Micoplasmas (MYCOLAB), perteneciente al Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), además de las investigaciones en la salud animal, realiza el servicio de detección de micoplasmas como contaminantes de cultivos celulares, sueros y productos biotecnológicos de aplicación médica (1,2,3,4). Debido a que el diagnóstico de micoplasmas se realiza para demostrar el cumplimiento de los requisitos de una industria tan altamente regulada como la de medicamentos, sujeta a rigurosas inspecciones, se hace imprescindible demostrar la confiabilidad de los resultados que brinda el laboratorio(5).

Uno de los procedimientos que se utiliza para comprobar el desempeño y establecer la competencia de los laboratorios de ensayo es la realización de las comparaciones interlaboratorios, en la modalidad de ensayos de aptitud (6). En tal sentido, y con el objetivo de demostrar la confiabilidad de los resultados brindados por MYCOLAB, se estableció como política la realización anual de rondas de ensayos de aptitud.

Para cumplimentar este objetivo se realizaron, desde el año 2007 hasta 2014, seis rondas de comparación interlaboratorios, entre MYCOLAB y el laboratorio de diagnóstico de micoplasmas del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK). Los ensayos de aptitud se efectuaron con un programa que incorporó un panel de muestras de referencia, donde quedaron representadas las cuatro principales matrices biológicas recibidas de los clientes. Estas se contaminaron con dos concentraciones de micoplasmas, cercanas al límite de detección de los ensayos, en el nivel

promedio esperado (orden de 10^3 y 10^6) y se suministraron a ciegas al analista. Con respecto a los métodos de ensayo, los analistas utilizaron métodos normalizados, como los descritos en la Farmacopea Europea para el cultivo microbiológico y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (7). El programa propuesto por MYCOLAB se aprobó por el Órgano Nacional de Acreditación de la República de Cuba (ONARC) (6).

Para lograr un buen desempeño en los ensayos de aptitud, se ejecutaron mejoras de las instalaciones y equipos, valor agregado que permitió renovar la licencia que otorga el Centro de Seguridad Biológica para el manejo de agentes biológicos. Por otra parte, la prioridad de las inversiones para adquirir equipos demostró el interés de los líderes científicos por la mejora integral del laboratorio, que se complementó con un estricto control del plan de calibración y calificación de pipetas de pistón, pHmetro, incubadora y gabinetes de seguridad, por órganos nacionales autorizados.

Como resultado de estas comparaciones interlaboratorios, se demostró la competencia técnica de los laboratorios participantes, con resultados satisfactorios durante el periodo evaluado. La validación de los métodos para las matrices incorporadas se publicó en revistas indizadas, lo que contribuyó a demostrar la robustez de los ensayos (8).

El empleo de *Mycoplasma arginini*, *Mycoplasma hyorhinis* y *Mycoplasma orale*, incorporados a matrices comerciales como cultivo de células, suero equino, suero porcino y suero fetal bovino (Life Technologies, Germany) en concentraciones cercanas al límite de detección de los ensayos (orden 10^2 -

10³ UFC/ml), demostró la capacidad del sistema de diagnóstico para detectar muestras con baja concentración de micoplasmas que resultan frecuentes en las contaminaciones de los medios de cultivo y productos biotecnológicos (5). La demostración de la competencia para detectar valores bajos e intermedios de micoplasmas ofreció mayor seguridad a los productos, además de que los clientes expresaron su confianza en los resultados recibidos de MYCOLAB (9).

Se reforzó el control interno de los ensayos al incorporar los paneles de muestras de los ensayos de aptitud y contar con cepas de referencias de firmas comerciales reconocidas (National Collection of Type Cultures, London) que garantizaron la trazabilidad de los resultados analíticos, acorde a la política de uso del depósito de micoplasmas con que se cuenta y la capacidad de los ensayos para detectar el género *Mollicutes* (5).

Las comparaciones interlaboratorios, como indicador de competencia de los laboratorios de ensayo, constituyen una expectativa de las organizaciones porque permiten demostrar reproducibilidad de los ensayos, detectar los desvíos, evaluar las causas y realizar las acciones correctivas necesarias (7,8). Esta actividad, mantenida como política de MYCOLAB, está acorde con la establecida por las regulaciones nacionales e internacionales sobre este tema y resultó esencial para alcanzar la acreditación de los ensayos microbiológicos, condición otorgada por el ONARC (10).

REFERENCIAS

1. OIE. Micoplasmosis aviar. Manual sobre animales terrestres. 2015; Capítulo 2.3.5.
2. Fernández C, Zamora Y, Rodríguez N, Rodríguez I, Berdasquera D, Ortega LM. Diagnóstico de *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* y *Ureaplasma urealyticum* en pacientes con vaginosis bacteriana. Rev Cubana Med Trop.2007;59(2):
3. Lobo E, Vega A. Mycoplasmas in cell cultures. Rev Salud Anim. 2004;26(1):3-6.
4. OIE. Pruebas para esterilidad y ausencia de contaminación en materiales biológicos Manual sobre animales terrestres. 2015; Parte 1,Capítulo 1.1.7.
5. Lozada Y. Detección confiable de micoplasmas en cultivos celulares, sueros y productos biofarmacéuticos de aplicación biomédica. Tesis defendida en opción al título de Master en Medicina Veterinaria. Rev Salud Anim. 2012;34(2):136.
6. ONARC. PGA 23. Sistema Nacional de Acreditación. Procedimiento para la conducción y control de los Programas de Ensayos de Aptitud. 2012.
7. European Pharmacopeia 5,8. Micoplasmas Chapter. 2007;2.6.7:5201-5205.
8. Lozada Y, Lobo L, Burgher Y, Duque A, Martínez S. Validación el método de cultivo microbiológico para su utilización en el diagnóstico de micoplasmas en sueros, cultivos celulares y productos biofarmacéuticos. REDVET - Revista Electrónica de Veterinaria - ISSN 1695-7504. 2012;13(11):1-15.
9. Betancourt A, De la Noval N, Roque E, Lobo E, Losada Y, Frías M.T, Obret Y. Sistema de gestión de la calidad en laboratorios de diagnóstico veterinario. Rev Salud Anim. 2014;36(3):189-195.
10. Betancourt A, Lobo E, Rodríguez N, Fernández C, Riberón R, Vega A, Lozada Y, Echeverría E. Desempeño en laboratorios de diagnóstico de micoplasmas por comparaciones interlaboratorios. Rev Salud Anim. 2009;31(3):193-195.