

Experiencia de MYCOLAB en las actividades de Calidad y Acreditación como laboratorio de alcance microbiológico

Yoesley Lozada, Yaima Burgher, Arianna Duque, Arsenio Betancourt, Armando Vega, Evelyn Lobo¹,

MYCOLAB (Laboratorio Acreditado y de Referencia de la OIE para el diagnóstico de micoplasmas), Dirección de Microbiología, CENSA, Mayabeque, CUBA

Contacto: Dra. Evelyn Lobo, PhD. J^r MYCOLAB. Directora de Microbiología, CENSA. elobo@censa.edu.cu

RESUMEN

Los micoplasmas son contaminantes frecuentemente de cultivos celulares, sueros y productos biofarmecéuticos de aplicación médica, lo que hace necesario controlar estrictamente estas contaminaciones como parte de los sistemas de calidad en la fabricación y liberación de estos productos. MYCOLAB, tiene implementado un sistema de diagnóstico para la detección de estos microorganismos tanto por cultivo microbiológico como por Reacción en Cadena de la Polimerasa. Para demostrar la confiabilidad de sus resultados fue imprescindible contar con ensayos validados y acreditados bajo un Sistema de Gestión de la Calidad según la NC ISO/IEC 17025:2006. El objetivo de este trabajo es exponer la experiencia de MYCOLAB en la actividad de calidad y acreditación como laboratorio de alcance microbiológico. Como parte del trabajo realizado fue diseñado un Sistema de Gestión de la Calidad implementando requisitos técnicos y relativos a la gestión, según establece la NC ISO/IEC 17025:2006, así como se identificaron requisitos referentes a la bioseguridad que están fuera del alcance de esta norma, pero necesarios para un laboratorio de microbiología. Como resultado final el Órgano Nacional de Acreditación de la República de Cuba (ONARC), adjunto a la Organización Internacional de Estándares (ISO) otorgó la condición de Laboratorio Acreditado y la Organización Internacional para la Sanidad Animal (OIE), lo reconoce como Laboratorio de Referencia para el diagnóstico de micoplasmas. Todo el trabajo realizado ha permitido lograr un servicio más rápido y confiable.

Palabras claves: micoplasmas, calidad, acreditación, ISO/IEC: 17025, bioseguridad

ABSTRACT: Mycoplasmas are frequently contaminating cell culture sera biofarmecéuticos application and medical products, making these contaminations necessary to strictly control systems as part of the

manufacturing quality and release of these products. MYCOLAB has implemented a diagnostic system for detection of these organisms by cultivation both microbiological as Chain Reaction Polymerase. To demonstrate the reliability of their results was imperative to have validated and accredited testing under a certified Quality Management according to the NC ISO / IEC 17025:2006. The objective of this paper is to present the experience of the activity MYCOLAB in quality and accreditation scope as microbiological laboratory. As part of the work was designed a system implementing quality management and technical requirements related to the management, as established by the NC ISO / IEC 17025:2006 and were identified concerning biosafety requirements that are beyond the scope of this standard, but necessary for a microbiology lab. As a final result the National Accreditation Body of the Republic of Cuba (ONARC), attached to the International Standards Organization (ISO) granted the status of Accredited Laboratory and the International Organization for Animal Health (OIE) recognizes it as Reference Laboratory for diagnosis of avian mycoplasma. All work has allowed for faster service.

Key works: mycoplasmas, quality, ISO/IEC: 17025, biosafety

I.-INTRODUCCIÓN

Dentro de los sistemas de calidad la detección de contaminaciones biológicas juega un importante rol, de modo que las agencias reguladoras han establecido normas relacionadas con la detección de estas contaminaciones y entre ellas, específicamente, la detección de micoplasmas como prueba determinante para la liberación o no de productos biotecnológicos (Farmacopea Británica, 2004; Regulación 16:2006 CECMED; Farmacopea Europea, 2007). La necesidad de controlar estrictamente las contaminaciones por micoplasmas están basadas en los efectos indeseables que producen estos microorganismos en el individuo que recibe los productos contaminados, el error en la interpretación de un diagnóstico y en las alteraciones que inducen los micoplasmas en la actividad y funciones de la célula

MYCOLAB (Laboratorio Acreditado y de Referencia de la OIE para el Diagnóstico de Micoplasmas), realiza investigaciones en la temática de la micoplasmología, además de brindar servicios científico técnicos en el diagnóstico de estas especies en cultivos celulares y productos biofarmacéuticos de aplicación médica. Debido a que el diagnóstico de micoplasmas se realiza para demostrar cumplimiento de requisitos de una industria tan altamente regulada como la de medicamentos, sujeta a estas rigurosas inspecciones se hace imprescindible demostrar su confiabilidad a través de ensayos acreditados.

Un laboratorio que tenga implementado un sistema de gestión de la calidad es un modo para demostrar su eficacia en la obtención de resultados apropiados

en intervalos de variabilidad aceptados, sin embargo la acreditación "al ser una evaluación de tercera parte" está reconocida como la mejor manera de desarrollar la confiabilidad en los resultados obtenidos por un laboratorio de ensayo (Castillo et al., 2011).

En el presente trabajo tiene como **objetivo** exponer, de manera general, la experiencia de MYCOLAB en la actividad del Sistema de gestión de la calidad y la acreditación como laboratorio con alcance microbiológico.

2.-MATERIALES Y METODOS

2.1.- Diseño del sistema de gestión de la calidad en MYCOLAB.

2.1.1.- Identificación de requisitos de calidad en MYCOLAB según NC ISO/IEC 17025:2006.

Fueron identificados los requisitos Técnicos y relativos a la Gestión según lo refiere la NC ISO/IEC 17025:2006, para laboratorios acreditados. Esta norma es utilizada para comprobar la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración y la misma comprenden requisitos relativos a la organización y al personal del laboratorio.

2.1.1.1.- Identificación de los requisitos relativos a la gestión: En este aspecto se agruparan los elementos relacionados con: Organización, Sistema de gestión, Control de los documentos, Revisión de los pedidos, ofertas y contratos. Subcontratación de ensayos y de calibraciones, Compras de servicios y de suministros, Servicio al cliente, Mejora de sistema, Acciones correctivas, Análisis de las causas, Seguimiento de las acciones correctivas, Control de los registros, Auditorías internas del laboratorio e Informes de las Revisiones por la dirección del laboratorio.

2.1.1.2.- Identificación de los requisitos relativos al personal: Como su nombre lo indica, en este aspecto, se agruparan los elementos relacionados con: Personal, Instalaciones y condiciones ambientales, Métodos de ensayo y de calibración validación de los métodos, Calibración de Equipos, Trazabilidad de las mediciones, Aseguramiento de la calidad de los resultados de ensayo y de calibración e Informes finales de los resultados técnicos

2.1.2.-Estudio interlaboratorio (EIL)

Para la realización de los EIL se elaboró un protocolo por el Laboratorio de Microbiología de la Dirección de Aseguramiento de la Calidad, CENSA, el cual fungió como coordinador, y fue aprobado por el Órgano Nacional de Acreditación de la Republica de Cuba (ONARC). Esto propicia la transparencia y confiabilidad de los resultados obtenidos. Para cada estudio se mantuvo el mismo protocolo que señalamos a continuación:

Se realizaron tres (3), estudios interlaboratorios en los años 2007-20010-2012 respectivamente.

Se evaluaron 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 siguiendo lo recomendado por Farmacopeia europea, 2010

La homogeneidad de la muestra durante el desarrollo de cada 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 según se recomienda la ISO 16140:2003 y en la ISO/Guide 35:2006

2.2. - Identificación de requisitos de Bioseguridad.

Se establecieron los requisitos relativos a Seguridad Biológica en MYCOLAB, donde se hace uso de agentes biológicos, productos y fragmentos de estos con información biológica y genética, según lo describen las Resoluciones 8/2000 y 103/2002 del Ministerio de Ciencia y Técnica (CITMA), además se tuvo en cuenta la Resolución 136/2009 CITMA que hace referencia a la autorización de explotación de áreas dedicadas al trabajos con agentes biológicos.

RESULTADOS y DISCUSION

Diseño del Sistema de Gestión de la Calidad en MYCOLAB por la NC ISO/IEC 17025:2006.

Identificación de requisitos en MYCOLAB.

Los aspectos desarrollado en nuestro laboratorio para dar cumplimiento a los **Requisitos relativos a la gestión**, según la NC ISO/IEC 17025:2006, fueron los siguientes:

Como parte del sistema de **organización** del laboratorio, se establecieron dos organigramas, el primero, evidencia la ubicación de nuestro laboratorio y la relación entre diferentes áreas de nuestra institución (Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, CENSA); identificándose, además, el personal que apoya el SGC de MYCOLAB. El segundo organigrama corresponde a la estructura, responsabilidades y especialistas que forman parte de nuestro laboratorio.

Dentro del **SGC** se tuvieron en cuenta aspectos fundamentales relativos a la política de la calidad del laboratorio y su alcance, además se definieron los objetivos de la calidad tomados como base para los análisis de la mejora continua de forma tal que los mismos sean cuantificables, se reelaboraron los procedimientos y registros del laboratorio, así como el Manual de la Calidad (MC). Todos fueron incluidos en la lista de documentos oficiales del área que abarca además procedimientos y registros de las áreas relacionadas con el desempeño del laboratorio. Similares resultados fueron señalados por Brumm,

1999; García, 2006 quienes plantearon que la creación, actualización de los documentos y registros en un laboratorio, traen consigo una optimización en la calidad, una mejora de la destreza del personal, la veracidad y confiabilidad de los resultados, la gestión de la calidad y la reducción de pérdidas económicas.

El laboratorio de MYCOLAB estableció como política de calidad proporcionar a nuestros clientes resultados confiables y oportunos, utilizando tecnologías de acuerdo con los métodos establecidos y los requisitos de los clientes, ejecutadas por personal capacitado e identificado con los modelos de calidad para laboratorios de ensayo según la NC ISO/IEC 17025:2006, además de trabajar para lograr la acreditación y la mejora continua del SGC el cuál quedo bien documentado y organizado (Tabla 1).

Tabla 1.- Documentación del SGC en MYCOLAB.

Documentos elaborados	Cantidad y Funciones
Manual de Calidad (MC-03) MYCOLAB	Documento rector del SGC.
Procedimientos Normativos Operacionales (PNO) e Instructivos Técnicos (IT)	. 29 PNO-BI (Propios de MYCOLAB) . 22 PNO-G (Vinculados al Sistema de Gestión de la Calidad CENSA). . 5 IT. Soportan los procedimientos técnicos, métodos estadísticos de control de calidad para mostrar la precisión, exactitud y otros indicadores metodológicos para la realización de técnicas en el laboratorio.
Registros de los Procedimientos Normativos Operacionales (RPNO)	. 31 RPNO-BI (Propios de MYCOLAB) . 12 RPNO-G (Vinculados al SGC CENSA). Los cuales van a suministrar los datos necesarios para evidenciar un buen desempeño del laboratorio y trazabilidad de los resultados. Tanto a auditorías internas como auditorías realizadas por clientes y agencias reguladoras internacionales.

Por otra parte el laboratorio, dentro del SGC, determinó la extensión de la documentación requerida y los medios a utilizar, teniendo en cuenta factores tales como, el tipo y el tamaño de la organización, la complejidad e interacción de los procesos, la complejidad de los productos que se reciben, requisitos de los clientes, requisitos reglamentarios que sean aplicables, como es el caso de la bioseguridad, la competencia demostrada del personal y el grado en que fue necesario demostrar el cumplimiento de los requisitos del SGC (NC ISO/IEC 9000:2005).

Es importante destacar que toda la documentación que pertenece a MYCOLAB se encuentra bien protegida en la oficina del jefe del laboratorio bajo estricta seguridad y la versión electrónica de los resultados solo se almacena de manera segura, en la máquina del laboratorio la cual no posee red, además solo podrá acceder a esta el jefe del laboratorio y el responsable de calidad, según lo establecido en la NC ISO/IEC 17025:2006.

La documentación establecida en MYCOLAB permitió la comunicación del propósito y la coherencia de las acciones encaminadas a demostrar la trazabilidad de la información y la confiabilidad de los resultados emitidos por nuestro laboratorio, esto está en concordancia con lo señalado por Castillo et al., 2011 el cual atribuye la utilización de este tipo de documentación a lograr la conformidad con los requisitos del cliente, la mejora de la calidad, proveer la formación apropiada, la repetibilidad y la trazabilidad, proporcionar evidencias objetivas, evaluar la eficacia y la adecuación continua del sistema de gestión de la calidad.

La revisión de los pedidos, ofertas y contratos, se establecieron a través de la dirección de Economía, que es la encargada legalmente de realizar este tipo de trámites, esta dirección se apoya para la selección de los proveedores y la recepción de materiales en los procedimientos (PNO-G-004, PNO-G-056), estos proveedores son evaluados por el Grupo de Aseguramiento de la Calidad del CENSA, una vez que los productos llegan a MYCOLAB se asientan en el registro de recepción y control de reactivos (IT-207), coincidiendo con lo establecido en la NC ISO/IEC 17025:2006, donde el laboratorio debe contar con una política y procedimientos para la selección y la compra de los servicios y suministros que utiliza que pueden afectar la calidad de los ensayos o de las calibraciones.

Los resultados del control del SGC incluyen los requisitos de mejora de sistema, acciones correctivas, análisis de las causas, seguimiento de las acciones correctivas, control de los registros y auditorías internas del laboratorio. En nuestro caso el laboratorio recibió en el período del 2010-2012 un total de cuatro auditorías dos de seguimiento del Órgano Nacional de Acreditación de la República de Cuba (ONARC) como parte de la inspección *in situ* que realiza éste en el proceso de acreditación y el segundo grupo auditor de nuestros clientes

Como resultados de estas auditorías fueron detectadas 13 no conformidades (NC) en la inspección del ONARC y cuatro (4) por el otro grupo de inspectores. En ambos casos fueron tratadas estas NC con acciones correctivas según lo establece el Documento regulador (DR-23), del SGC del CENSA.

En relación a los **Requisitos Técnicos**, según la NC ISO/IEC 17025:2006, uno de los más importantes es el del **personal**. En el caso de MYCOLAB, el acápite 6.1. Alcance, del MC-03 MYCOLAB (Manual de Calidad), describe la calificación, nivel educacional y la experiencia de trabajo del personal fundamental y de apoyo, también se describe los aspectos para instrumentar el mejoramiento ininterrumpido del adiestramiento del personal. Todo el personal del MYCOLAB se rige por un reglamento interno (R-40) y en el RPNO-G-065 se registran las responsabilidades y funciones de los trabajadores.

Dentro de los resultados obtenidos en el laboratorio MYCOLAB se encuentra la alta preparación del personal en la temática de la micoplasmología registrados en el RPNO-G-064 y el RPNO-G-364 que son establecidos como registros de los cursos, seminarios y adiestramientos en general recibidos por el personal del laboratorio tanto con alcance nacional como internacional. Este documento

es conservado por el responsable de calidad para los fines previstos. En el RPNO-G-065, se registran las tareas, operaciones y responsabilidades por plaza de cada uno de los especialistas del laboratorio.

Los requisitos técnicos relacionados con los **métodos de ensayo y validación** de los mismos, fueron cumplimentados según recomienda la norma NC ISO/IEC 17025:2006. La **evaluación de desempeño** de estos ensayos se realizó mediante estudios interlaboratorios los cuales se relacionan a continuación:

Estudio interlaboratorio

Las muestras utilizadas en los ensayos provenían de un panel de muestras conformado en MYCOLAB, estable por un periodo de tres meses según lo reportado por Furr, 1998 y fueron previamente clasificado por ensayos de referencia para demostrar su estabilidad.

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 constituyen el 52,5% y 9,32%, como promedio, 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 (Lobo et al., 2004; Sobrazo et al., 2006 y Duorakova et al., 2007).

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 y coincide con lo señalado por Duorakova et al., 2007 y Rivera-Tapia et al., 2010).

La metodología aplicada permitió armonizar los reactivos y métodos analíticos (ISO/IEC 17025:2005) y evitó el aumento en la variabilidad de los resultados, lo que puede limitar el desempeño de los laboratorios participantes (Hess et al., 2007; Hernández et al., 2009). El empleo de un formato único para el registro e interpretación de resultados, evitó errores de transcripción, facilitó el recorrido de las muestras, la transparencia en la introducción de las mismas y la confidencialidad del estudio.

De acuerdo a lo referido en la NC ISO Guía 35, 1989, para la realización de estudios de homogeneidad de las muestras utilizadas fue necesario demostrar este parámetro en dos niveles: dentro de una muestra y entre muestras iguales. Para ello se prepararon tres réplicas de cada muestra, y a su vez cada réplica se realizó por duplicado. Los resultados obtenidos en cuanto a coincidencia entre las replicas y los duplicados hablan a favor de la homogeneidad de las muestras trabajadas

Las comparaciones interlaboratorios realizadas mostraron un desempeño satisfactorio y reproducible de los laboratorios (NC ISO/IEC Guía 43-1: 2000; ISO/IEC 5725-2:1994), 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.

La **calibración de equipos y trazabilidad de las mediciones** de nuestro laboratorio se encuentra bajo el plan de verificación, calibración y calificación perteneciente al Grupo de Aseguramiento de la Calidad del CENSA que se registra en el RPNO-AC-020, este mantiene constante seguimiento de los instrumentos de medición el cual va a garantizar que el SGC asegure que las calibraciones y las mediciones hechas por el laboratorio sean trazables al Sistema Internacional de Unidades y cuenta con los certificados de calibración coincidiendo con lo establecido por el Decreto Ley No. 183, "De la Metrología" de 23 de febrero de 1998; NC ISO/IEC 10012: 2003 y la NC ISO/IEC 17025:2006.

Tabla 2.-Requisitos identificados referentes a la Bioseguridad.

No	Nombre	Contenido
Decreto ley 190	De la seguridad biológica	Temas generales, <u>desechos biológicos, liberación de agentes al medio.</u>
Res 103/02	Reglamento para el establecimiento de requisitos y procedimientos de Seguridad Biológica en las instalaciones en las que se hace uso de agentes biológicos, sus productos y fragmentos de estos con información biológica.	Medidas a cumplir en los laboratorios por niveles de seguridad: - <u>Diseño de las instalaciones</u> - <u>Prácticas y procedimientos</u> - Requisitos de diseño Responsabilidades de los jefes de laboratorio.
Res 38/06	Listado oficial de agentes biológicos que afectan al hombre, los animales y las plantas	<u>Listado de cada agente biológico por grupo de riesgo.</u>
Res. 136 /2009	Reglamento para la Autorización de seguridad biológica. CITMA	Procesos para otorgar autorizaciones. <u>Conceptos de licencias, permisos y notificaciones.</u> Anexos con guías para elaborar expedientes técnicos clasificados en licencias, permisos y notificaciones.
Res 8/00	Reglamento general de seguridad biológica para las instalaciones donde se manipulan agentes biológicos, sus productos y fragmentos de estos con información genética.	Como debe estructurarse la bioseguridad, funciones del oficial de bioseguridad, <u>niveles de riesgo de los laboratorios, transporte de sustancias y planes de emergencias.</u>

Sobre el **Informe Final de los resultados**, el laboratorio establece el PNO-BI-078 y se registran en el RPNO-BI-318, el mismo recoge todos los datos

obtenidos durante los ensayos que realiza el laboratorio según se establece en la NC ISO/IEC 17025:2006, en el mismo se incluye el número de registro de laboratorio acreditado que otorgó el ONARC.

En cuanto a los **Requisitos de Bioseguridad** en el laboratorio se establecieron los requisitos relativos a Seguridad Biológica en las instalaciones donde se hace uso de agentes biológicos, sus productos, fragmentos de estos con información biológica y genética, según lo describen las Resoluciones 8/2000 y 103/2002 del CITMA, además se tuvo en cuenta la Resolución 136/2009 CITMA que hace referencia a la autorización de explotación de áreas dedicadas al trabajos con agentes biológicos.

Los requisitos de Bioseguridad identificados y que son imprescindibles cumplir en laboratorios de microbiología se presentan en la Tabla 2

Como parte de la integración de los requisitos de la NC ISO/IEC 17025:2006, y los mencionados anteriormente (Tabla 2), MYCOLAB cuenta con un Reglamento (R-21), que rige todo lo relacionados con la bioseguridad en el laboratorio y se sustenta en el reglamento general que tiene el CENSA. Estos requisitos brindan confiabilidad en los resultados emitidos por el laboratorio, propician una protección al operario y al medio ambiente

Teniendo en cuenta los aspectos anteriores y como parte del SGC de MYCOLAB se confeccionó el expediente para solicitar la Licencia de explotación de las instalaciones, el mismo fue objeto de revisión por el Centro de Seguridad Biológica (CSB). ***Como resultado el laboratorio cuenta con la Licencia de explotación con No. HB05-P (27) 10.***

Conclusión

A partir del trabajo realizado se logró desarrollar e implementar un SGC en MYCOLAB bajo la NC ISO/IEC 17025:2006, identificándose e implementándose, además, los requisitos relativos a bioseguridad necesarios para el funcionamiento de un laboratorio de microbiología que se encontraban fuera del alcance de la NC ISO/IEC 17025:2006. Por otra parte se logró la acreditación del laboratorio por la NC ISO/IEC 17025:2006 lo que demostró la adecuada implementación del Sistema de gestión de la calidad de MYCOLAB y avala la confiabilidad de los resultados emitidos por este laboratorio con los mismos estándares de los laboratorios internacionales que brindan este tipo de servicio. Este trabajo sirvió de base para obtener la categoría de Laboratorio de Referencia de la OIE para el diagnóstico de la micoplasmosis

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- **British Pharmacopoeia Veterinary.** (2004): Test for Absence of Mycoplasmas. Appendix XVI. B (Vet) 3. pp A17- A19.
- **Brumm, E. (1999):** Administración de la documentación en las normas ISO 9000. Primera edición. Rojas Eberhard Ltda. Bogotá, Colombia. pp 3-100.
- **Castillo, Yerlen. S.; Lora, J. G.; Castro, M. N.; Delá, E. H.; Cabrera, P. L.; Figueroa, L. F.; Guillen, B. O. y Vélez, H. C. (2011):** Experiencias en la acreditación de un ensayo para el control de la calidad de medicamentos. Revista Normalización No. 1; pp: 23-28. La Habana. ISSN 2223-179X.
- **Decreto Ley 190.** De la Seguridad biológica. Temas generales, desechos biológicos, liberación de agentes al medio
- **Decreto Ley No. 183,** "De la Metrología" de 23 de febrero de 1998
- **Duorakova, H.; Valicek, L. y Reichelova, M. (2007):** Detection of mycoplasma contamination in cell cultures and bovine sera. Vet Med-Czech.; 50(6):262-268.
- **European Pharmacopeia 5.8 (2007):** Mycoplasmas. Appendix 2.6.7.
- **European Pharmacopeia 5.8 (2010):** Mycoplasmas. Appendix 2.6.7.
- **Furr, P. (1998):** Cultivation of Ureaplasma. En: *Mycoplasma protocols*. Miles, R. y Nicholas, R. (eds). Humana Press. Inc.; Totowa, New Jersey.
- **García, C. D. (2006):** Revisión y actualización de los procedimientos documentados del laboratorio de microbiología de alimentos de la Pontificia Universidad Javeriana y elaboración de manual de manejo de equipos. Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar por el título de Microbiología Industrial. Pontificia, Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Industrial, Bogotá, D.C
- **Hernández, Yenney. (2007):** Desarrollo de un Ensayo de PCR para la detección de micoplasmas en cultivos celulares, sueros y productos biofarmacéuticos. Tesis en opción al grado de Máster en Microbiología Veterinaria. CENSA.
- **Hernández, Yenney.; Lobo, E.; Martínez, S. y Zamora, L. (2009):** Evaluación de diferentes métodos de extracción de ADN en micoplasmas para su empleo en el diagnóstico por PCR. Rev. Salud Anim. Vol. 31 No. 2: 108-114.
- **Hess et al., 2007; Hess, M.; Neubauer, C. and Hacki, R. (2007):** Interlaboratory comparison of stability to detect nucleic acid of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* by polymerase chain reaction. Avian Pathol.; 36(2):127-133.
- **ISO 16140:2003.** Microbiology of food and animal feeding stuffs- Protocol for the validation of alternative methods.
- **ISO 9000/2000.** Sistema de gestión de la calidad: Fundamentos y vocabulario.
- **ISO/Guide 35: 2006.** Reference materials. General and statistical principles for certification. Ed 3: 1-64.
- **ISO/IEC 5725-2:1994. 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. Corrigendum 1. 2002.

- **Lobo, E. and Vega, A. (2004):** Mycoplasmas in cell cultures. Rev.Salud Anim.; Vol. 26 No. 1: 3-6.
- **NC ISO/IEC 10012: 2003.** Sistemas de gestión de las mediciones- Requisitos para los procesos de medición y los equipos de medición
- **NC-ISO/IEC 17025: 2006.** Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.
- **NC-ISO/IEC Guía 43-1: 2000.** Ensayos de aptitud por comparaciones interlaboratorios. Parte 1. Desarrollo y funcionamiento de programas de ensayos de aptitud. Ed 1:1-25.
- Norma EN 45001,
- **Resolución 103/2002.** Reglamento para el establecimiento de requisitos y procedimientos de Seguridad Biológica en las instalaciones en las que se hace uso de agentes biológicos, sus productos y fragmentos de estos con información biológica.
- **Resolución 136/2009.** Reglamento para la Autorización de Seguridad Biológica. CITMA
- **Resolución 38/2006.** Listado oficial de agentes biológicos que afectan al hombre, los animales y las plantas.
- **Resolución 8/2000.** Reglamento general de Seguridad Biológica para las instalaciones donde se manipulan agentes biológicos, sus productos y fragmentos de estos con información genética.
- **Rivera-Tapia, J. A.; Castillo, V.; Valeria, L. y Hernández, S. J. A. (2010):** Detección de micoplasmas en cultivos celulares. Rev.cienc. biomed;1 (2): 187 – 189.
- **Sobrazo, G.; Martínez, M.; Vidal, R.; Martínez, M. C. y Avendaño, L. (2006):** Detección de contaminación por Mollicutes en cultivos celulares mediante la amplificación del gen 16 S rARN. Acta Bioquím Clin Latinoam.; 40 (4):515-520.

REDVET: 2013, Vol. 14 N° 6

Recibido 12.11.2012 / Ref. prov. NOV1225B_RED VET / Revisado 01.03.2013
Aceptado 24.04.2013 / Ref. def. 061301_RED VET / Publicado: 01.06.2013

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050513.html>
concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060613/061301.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®.
Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con
REDVET®- <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>