

 <b>INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA</b> Dr. Leopoldo Izquieta Pérez	<b>Procesamiento de cepas enviadas (ítems de ensayo de aptitud) para la evaluación externa de calidad en bacteriología y resistencia a los antimicrobianos</b>		Código:	I-RAM-016
			Edición:	04
	Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	Proceso Interno: Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Fecha Aprobación:	14/08/2023

### 1. OBJETIVO:

Determinar los criterios de homogeneidad y estabilidad para asegurar la pureza de las cepas enviadas (ítems de ensayo de aptitud) para la evaluación externa de calidad en bacteriología y resistencia a los antimicrobianos.

### 2. ALCANCE:

Aplica desde la selección de la cepa bacteriana en el Cepario del Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos hasta la llegada de los ítems de ensayo de aptitud hacia los hospitales que conforman la red de resistencia antimicrobiana.

### 3. RESPONSABLES

**Especialista del Centro de Referencia Nacional de Resistencias a los Antimicrobianos:** Es el encargado de supervisar que lo indicado en este instructivo se realice adecuadamente.

**Analista técnico:** Es el encargado de llevar a cabo las actividades que se detalle en este instructivo.

### 4. DEFINICIONES

**Cepa:** conjunto de microorganismos del mismo género y especie que provienen de un mismo ancestro común y pueden expresar la misma información.

**Cultivo puro:** Medio de cultivo con un solo tipo de microorganismos.

**Ensayo de aptitud:** Evaluación del desempeño de los participantes con respecto a criterios previamente establecidos mediante comparaciones interlaboratorios.

**Ítem de ensayo de aptitud:** Muestra, producto, material de referencia, parte de un equipo, patrón de medida, conjunto de datos u otra información utilizada en el ensayo de aptitud.

**Medio de cultivo bacteriano:** Cualquier material que presente una adecuada combinación de nutrientes para permitir el crecimiento o el incremento del número de células de una población microbiana.

**Contenedor o triple empaque:** Contenedor con recipiente primario, embalaje secundario y externo rígido.

Página 1 / 10

Esta prohibida la reproducción total o parcial de este documento. La información contenida es de propiedad del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI- Dr. Leopoldo Izquieta Pérez.



COPIA CONTROLADA  
SISTEMA DE GESTIÓN

 <b>INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA</b> Dr. Leopoldo Izquieta Pérez	<b>Procesamiento de cepas enviadas (ítems de ensayo de aptitud) para la evaluación externa de calidad en bacteriología y resistencia a los antimicrobianos</b>		Código:	I-RAM-016
			Edición:	04
	Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	Proceso Interno: Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Fecha Aprobación:	14/08/2023

### 5. DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES:

Responsable	SEC	Descripción de Actividad	Instructivos, Registros, Documentos Asociados
Analista técnico	01	<p><b>Selección de las cepas bacterianas</b></p> <p>El CRN-RAM selecciona las cepas bajo criterios de impacto clínico /epidemiológico: importancia médica, fenotipo de resistencia prevalente o emergente en el Ecuador, Latinoamérica y a nivel mundial.</p> <p>Para seleccionar a estas cepas se toma como referencia los resultados previamente obtenidos en el programa de evaluación externa de años anteriores, para conocer sus criterios de homogeneidad, estabilidad y valor de la propiedad de las mismas.</p> <p>Estas cepas se encuentran almacenadas en el Ceparío del Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobiano en medio BHI (Brain Heart Infusion) +glicerol 20% (Ver Anexo 1-2).</p> <p>Al concluir la selección de cepa bacteriana, la misma será considerada como ítem de ensayo de aptitud para su envío en el Programa de Evaluación Externa de la Calidad que provee el Centro de Referencia Nacional de Resistencias a los Antimicrobianos.</p>	<p>F-RAM-027</p> <p>I-RAM-015</p>

 INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA Dr. Leopoldo Izquieta Pérez	<b>Procesamiento de cepas enviadas (ítems de ensayo de aptitud) para la evaluación externa de calidad en bacteriología y resistencia a los antimicrobianos</b>		Código:	I-RAM-016
			Edición:	04
	Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	Proceso Interno: Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Fecha Aprobación:	14/08/2023

Analista técnico	02	<p align="center"><b>Procesamiento del ítem de Ensayo de Aptitud</b></p> <p>Con el fin de garantizar la homogeneidad, estabilidad, pureza y valor de la propiedad del ítem de ensayo de aptitud, se parte de una cepa de referencia caracterizada la cual fue obtenida directamente de una colección internacional reconocida (laboratorio referente INEI-ANLIS "Dr. Carlos G. Malbran" para el Programa Latinoamericano de Control de Calidad en Bacteriología y Resistencia a los Antimicrobianos), la misma que se encuentra en el Cepario de Control de Calidad del CRN RAM-INSPI CZ9.</p> <p>Para la reconstitución de estas cepas, se toma del Cepario los stocks de referencia almacenados en alícuotas congeladas a -80°C.</p> <p>Para esto el CRN toma en cuenta el no realizar más de cinco generaciones (o pasajes) de la cepa de referencia original.</p> <p>Adicionalmente, se realizarán pruebas confirmatorias de identificación bacteriana para cada una de las cepas seleccionadas como ítem de ensayo de aptitud para el envío, para lo cual se utiliza un cultivo puro mediante el uso de un agar enriquecido (ABS) o un medio selectivo según la necesidad del crecimiento de la bacteria. Igualmente, se realizan pruebas bioquímicas manuales y</p>	F-RAM-027
		F-RAM-016	



INSTITUTO NACIONAL  
DE INVESTIGACIÓN  
EN SALUD PÚBLICA  
Dr. Leopoldo Izquieta Pérez

**Procesamiento de cepas enviadas (ítems de ensayo de aptitud) para la evaluación externa de calidad en bacteriología y resistencia a los antimicrobianos**

Código:

I-RAM-016

Edición:

04

Macro-Proceso:  
Laboratorios de  
Vigilancia  
Epidemiológica y  
Referencia Nacional

Proceso Interno: Centro  
de Referencia Nacional  
de  
Resistencia a los  
Antimicrobianos

Fecha  
Aprobación:

14/08/2023

		<p>automatizadas, junto con técnicas genotípicas (PCR) efectuadas en el área de biología molecular para la comprobación tanto de la cepa bacteriana como del mecanismo de resistencia.</p>	
Analista técnico	03	<p><b><u>Microbiología convencional</u></b></p> <p>Para el trabajo fenotípico de las cepas estudiadas se utilizan metodologías de susceptibilidad antimicrobiana, las cuales pasan un control de calidad interno que garantiza la confiabilidad de los reactivos utilizados.</p> <p><b><u>Biología Molecular</u></b></p> <p><b><u>Para el trabajo genotípico de las cepas estudiadas se utilizan metodologías de PCR convencional, las cuales pasan un control de calidad interno que garantiza la confiabilidad de los reactivos utilizados.</u></b></p> <p><b><u>Medios de cultivo</u></b></p> <p>Los medios de cultivo empleados son elaborados por el área de medios de cultivo, mismos que se basan en norma UNE-EN ISO 11133-2014 y certificación de la Norma ISO 9001 de su Centro de Referencia Nacional, mismo que garantizan la pureza y control de calidad de los medios utilizados para la siembra de los distintos organismos.</p>	<p>P-RAM-031 F-RAM-018  F-RAM-009  I-MDC-019</p>

 <b>INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA</b> Dr. Leopoldo Izquierda Pérez	<b>Procesamiento de cepas enviadas (ítems de ensayo de aptitud) para la evaluación externa de calidad en bacteriología y resistencia a los antimicrobianos</b>		Código:	I-RAM-016
			Edición:	04
	Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	Proceso Interno: Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Fecha Aprobación:	14/08/2023

Analista técnico	04	<p align="center"><b>Manipulación y almacenamiento</b></p> <p>Una vez caracterizada la bacteria como ítem de ensayo de aptitud, se procede a su almacenamiento siguiendo las directrices del Instructivo de Almacenamiento de Cepas del Centro de Referencia Nacional a los antimicrobianos hasta su envío dentro del PEEC.</p> <p>Este proceso se lo realiza bajo cámara de flujo laminar, lo cual garantiza la pureza de las cepas a ser evaluadas. (Ver Anexo 3)</p>	I-RAM-015
	Analista técnico	05	<p align="center"><b>Embalaje</b></p> <p>Al ser un producto biológico se aplicarán los parámetros establecidos por la Organización Mundial de la Salud, los mismos que se encuentran en la Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas recomendado por esta organización internacional.</p> <p>Se utilizará un sistema de embalaje/envasado constituido por un triple empaque, es decir recipiente primario el cual contiene el ítem de ensayo de aptitud a evaluarse. El envase secundario lo constituye un embalaje impermeable que encierra y protege al recipiente primario. Finalmente, el envase exterior cumple la función de proteger el contenido de los elementos exteriores como daños físicos, donde ninguna de las caras del embalaje/envase exterior tenga dimensiones inferiores a 10x10cm.</p>

 INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA Dr. Leopoldo Izquierdo Pérez	<b>Procesamiento de cepas enviadas (ítems de ensayo de aptitud) para la evaluación externa de calidad en bacteriología y resistencia a los antimicrobianos</b>		Código:	I-RAM-016
			Edición:	04
	Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	Proceso Interno: Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Fecha Aprobación:	14/08/2023

Analista técnico	06	<p align="center"><b>Etiquetado</b></p> <p>Todos los envases primarios y externos tendrán etiquetas que proporcionen información acerca de su contenido, estas deberán ser visibles.</p> <p>En el caso del envase externo tendrá la siguiente información:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Nombre y dirección del remitente</li> <li>- Número de teléfono de la persona responsable e información acerca del envío</li> <li>- Nombre y dirección del destinatario</li> </ul>	N/A
Analista técnico	07	<p align="center"><b>Envío</b></p> <p>La responsabilidad del envío y recepción del ítem de ensayo de aptitud a evaluar serán monitorizadas por el CRN. Para lo cual se realizará un rastreo de la muestra desde su envío (Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los antimicrobianos) hasta la llegada del panel de cepas a los distintos laboratorios participantes.</p>	N/A
Analista técnico	08	<p align="center"><b>Evaluación de Estabilidad</b></p> <p>El Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos (CRN-RAM) una vez realizado el embalaje y etiquetado de los ítems de ensayo aptitud procederá a seleccionar estadísticamente de forma aleatoria de un número representativo de ítems de ensayo de aptitud del lote a enviar para evaluar la homogeneidad del material.</p>	

 <b>INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA</b> <small>Dr. Leopoldo Izquieta Pérez</small>	<b>Procesamiento de cepas enviadas (ítems de ensayo de aptitud) para la evaluación externa de calidad en bacteriología y resistencia a los antimicrobianos</b>		Código:	I-RAM-016
			Edición:	04
	Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	Proceso Interno: Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Fecha Aprobación:	14/08/2023

		<p>Para comprobar la estabilidad del ítem de ensayo de aptitud se lo realizará con pruebas confirmatorias de identificación y susceptibilidad bacteriana manuales y automatizadas junto con técnicas genotípicas (PCR) descritas en el paso número 3 de este instructivo (Procesamiento del ítem de ensayo de aptitud).</p> <p>Este proceso evidenciará el valor de propiedad la pureza, viabilidad, homogeneidad y estabilidad de los ítems de ensayo de aptitud tras comprobar que no existieron cambios significativos a lo largo de la realización del ensayo de aptitud.</p>	F-RAM-016
Analista técnico	09	<p><b>Ítems de ensayo de aptitud de rondas anteriores</b></p> <p>El CRN-RAM cuando considere necesario utilizar ítems de ensayo de aptitud de rondas anteriores confirmará el valor de propiedad de los mismos antes de la distribución en el PEEC siguiendo la directriz del paso 3 de este instructivo.</p>	F-RAM-016
<u>Especialista CRN-RAM</u>	<u>10</u>	<u>Supervisar el procesamiento de ítems de ensayo de aptitud.</u>	<u>F-RAM-016</u>

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- World Health Organization. Guía sobre la reglamentación relativa al transporte de sustancias infecciosas. (2009).
- Rojo, M., *et al.* Recomendaciones para la implantación de la normativa de calidad UNEEN-ISO 15189 en el laboratorio de microbiología clínica: bacteriología y serología. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Vol. 28. 2010.

Página 7 / 10

Esta prohibida la reproducción total o parcial de este documento. La información contenida es de propiedad del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPi- Dr. Leopoldo Izquieta Pérez.



**COPIA CONTROLADA  
SISTEMA DE GESTIÓN**

 <b>INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA</b> Dr. Leopoldo Izquieta Pérez	<b>Procesamiento de cepas enviadas (ítems de ensayo de aptitud) para la evaluación externa de calidad en bacteriología y resistencia a los antimicrobianos</b>		Código:	I-RAM-016
			Edición:	04
	Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	Proceso Interno: Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Fecha Aprobación:	14/08/2023

- Norma ISO/IEC 17043:2010, Evaluación de la conformidad-Requisitos generales para los ensayos de aptitud, 1° Edición. 2010.Ginebra.

## 7. REGISTROS

- F-RAM-027 Cepario de Control de Calidad
- F-RAM-016 Bitácora de Trabajo
- F-RAM-018 Control de Calidad de antibióticos

## 8. ANEXOS

### Anexo 1. Caldo BHI (Brain Heart Infusion)

- Caldo cerebro corazón: 3,7 gramos (o caldo soya tripticasa)
- Glicerol 20 ml
- Agua destilada 80 ml
- Disolver el caldo, una vez frío agregar el glicerol
- Distribuir 1 ml en criotubos y esterilizar a 121°C por 15 minutos. Conservar refrigerado a 4°C

### Anexo 2. Almacenamiento de cepas bacterianas en el Cepario del CRN

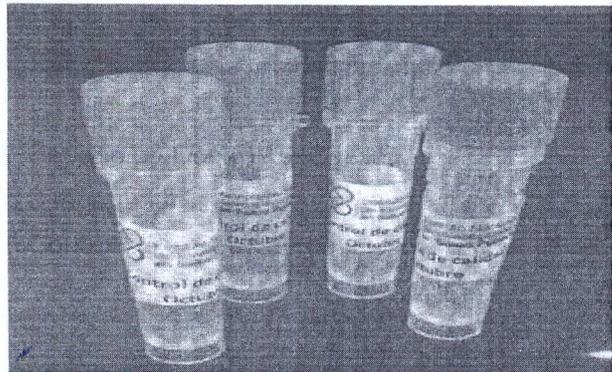
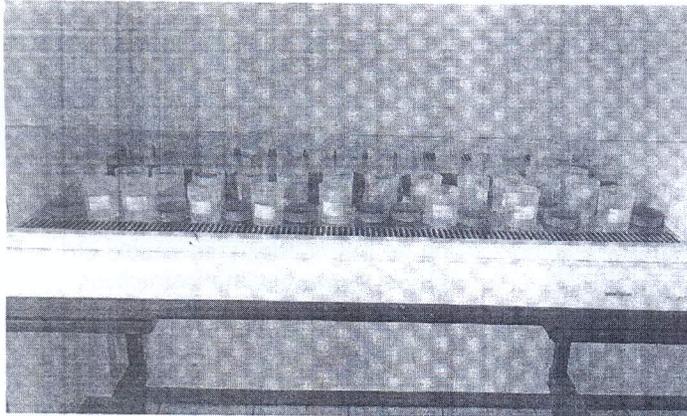


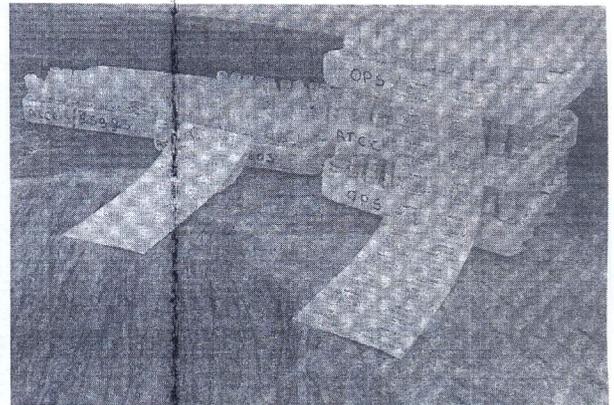
Figura 1. Material almacenado en el Cepario del Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos

 <b>INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA</b> Dr. Leopoldo Izquieta Pérez	<b>Procesamiento de cepas enviadas (ítems de ensayo de aptitud) para la evaluación externa de calidad en bacteriología y resistencia a los antimicrobianos</b>		Código:	I-RAM-016
			Edición:	04
Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	Proceso Interno: Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos		Fecha Aprobación:	14/08/2023

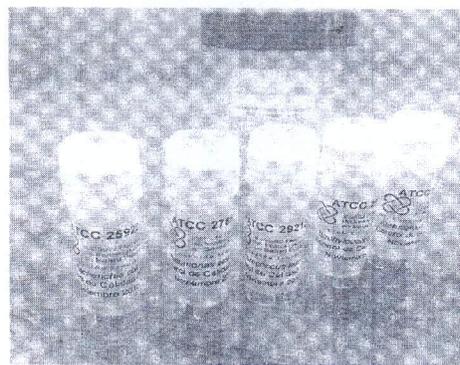
**Anexo 3. Procesamiento de ítems de ensayo de aptitud.**



**Figura 2.** Esterilización del material de almacenamiento de las cepas bacterianas



**Figura 3.** Etiquetado de las cepas bacterianas

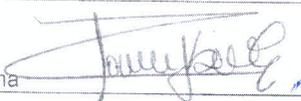
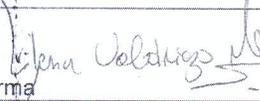


**Figura 4.** Almacenamiento de las cepas bacterianas en criotubos estériles con BHI

 <b>INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA</b> Dr. Leopoldo Izquieta Pérez	<b>Procesamiento de cepas enviadas (ítems de ensayo de aptitud) para la evaluación externa de calidad en bacteriología y resistencia a los antimicrobianos</b>		Código:	I-RAM-016
			Edición:	04
	Macro-Proceso: Laboratorios de Vigilancia Epidemiológica y Referencia Nacional	Proceso Interno: Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Fecha Aprobación:	14/08/2023

## 9. HISTORIAL DE MODIFICACIONES

EDICIÓN	FECHA	CAUSA DE LA MODIFICACION
00	30/08/2016	Versión Inicial
01	03/08/2017 En fecha de aprobación ponen 02/08/2017	Se actualizó el Alcance, Responsables, en el punto número 5. "Descripción" se agregó varios Instructivos y registros asociados, además de modificar las secciones 3, 4, 5 y 7 además de la adición de la sección 9 "Acreditación SAE" Esta escrita con letra calibri 11
02	31/05/2018	Modificación del logo de la institución, del objetivo y alcance del instructivo, se modificaron los pasos en la Descripción de Actividades y se añadió el registro F-RAM-027, F-RAM-016, y F-RAM-020 en la columna Instructivos y Registros Asociados. Se incluyó los registros antes mencionados en el apartado Registros y se añadió más Referencias Bibliográficas.
03	25/07/2022	Modificación de Responsables, también se realizó el cambio de responsables en la Descripción de las Actividades.
04	14/08/2023	Modificación de Responsables, también se actualizó las actividades 1,3 y 10 en la descripción de Actividades.

Elaborado	Revisado	Aprobado
Analista del Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Especialista del Centro de Referencia Nacional de Resistencia a los Antimicrobianos	Coordinadora Zonal 9
Firma 	Firma 	Firma 
Lcda. Karla Román, Mgs.	Bq. Cli. Carolina Satán, Mgs.	Econ. Milena Valdiviezo
Fecha: 03/08/2023	Fecha: 08/08/2023	Fecha: 14/08/2023