

***CULTIVOS MICROBIANOS DE
REFERENCIA
CEPAS CERTIFICADAS***

Graciela Davel

Departamento Micología

INEI- ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán"

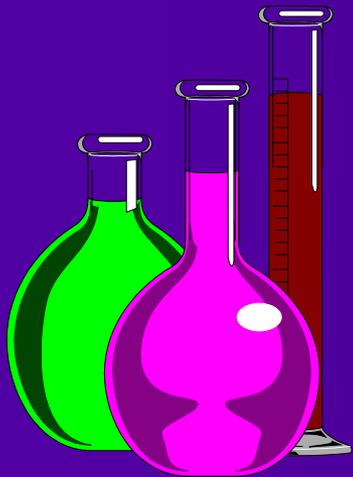
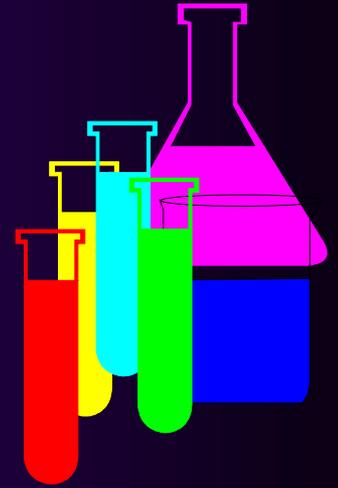
Subcomisión de Colecciones de Cultivos Microbianos-AAM

Presidente de la FELACC

e-mail: gdavel@anlis.gov.ar

Existe una tendencia mundial de los países a desarrollar **sistemas de aseguramiento de la calidad** en todos los ámbitos, incluyendo

- El diagnóstico de las enfermedades
- El contralor de alimentos y medicamentos
- La investigación



El objetivo de estos sistemas en los laboratorios es obtener y mantener diagnósticos e investigaciones de alta calidad

Sistemas de aseguramiento de la calidad



DEBEN ABARCAR

- Entrenamiento del personal
- Disponibilidad de material bibliográfico
- Disponibilidad de material de referencia certificado
- Control de calidad interno (CCI)
- Control de calidad externo (CCE)

**ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS
RESULTADOS/CONTROL DE CALIDAD
ISO 17025, apartado 5.9**



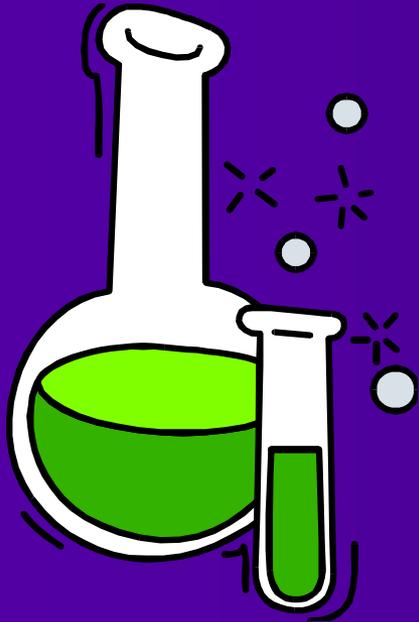
Materiales de referencia y Cepas de referencia certificado

ISO 17025, apartado 5.6.3

Los **materiales de referencia** y los **materiales de referencia certificados** proporcionan la trazabilidad esencial en las mediciones y son utilizados, por ejemplo, para:

- ❖ demostrar la exactitud de los resultados
- ❖ calibrar equipos
- ❖ controlar la calidad del laboratorio
- ❖ validar métodos y
- ❖ permitir la comparación de métodos.

¿POR QUÉ ES NECESARIO UTILIZAR CEPAS DE REFERENCIA EN EL LABORATORIO?



Para la

- ❖ validación de métodos
- ❖ asignación de valores a otros cultivos
- ❖ comparación de resultados obtenidos por distintos laboratorios
- ❖ contralor de reactivos, métodos y procedimientos

*Para alcanzar mayor confiabilidad
de los datos!!*



Cepas de Referencia

ISO 17025, apartado 5.6.3 -

El laboratorio debe utilizar cepas de referencia para demostrar la trazabilidad

La trazabilidad es necesaria, por ejemplo, al establecer las características de los medios utilizados, en kits de análisis y validaciones de métodos.

Las **cepas de referencia** son imprescindibles para demostrar que los medios de cultivo (incluidos los kits de análisis) poseen características aceptables, para validar métodos y para controlar que los reactivos y medios de cultivo mantienen sus características.

Los microorganismos de referencia pueden incluir

- Cepas positivas robustas con características típicas
- Cepas positivas con crecimiento débil
- Cepas bioquímicamente no reactivas (Ej.: aquellas que muestran diferentes reacciones de fermentación o fluorescencia)
- Cepas completamente inhibidas

MICROORGANISMOS DE REFERENCIA

microorganismos con características fenotípicas y genotípicas definidas que se utiliza en estudios comparativos. Por ejemplo: taxonómicos, serológicos o en ensayos químicos o microbiológicos.



MATERIALES DE REFERENCIA Y CEPAS DE REFERENCIA ISO 17025, apartado 5.6.3

Las cepas de referencia son microorganismos obtenidos directamente de una colección nacional o internacional reconocida, cuando exista alguna. Alternativamente también podrían utilizarse cepas comerciales siempre que el laboratorio pueda demostrar en el momento de su uso que todas las propiedades relevantes son equivalentes – EJ. ATCC

ATCC

¿QUÉ DEBE REQUERIR EL USUARIO DE UN CULTIVO DE REFERENCIA?

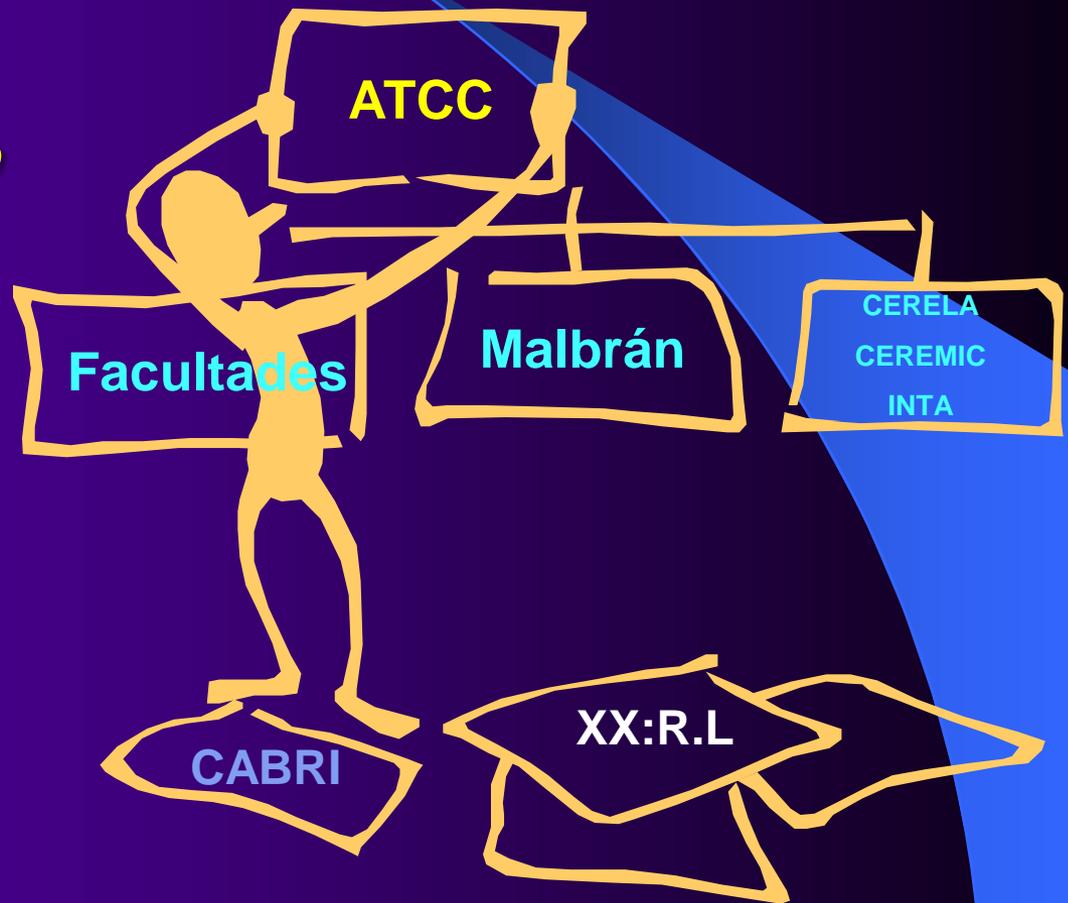
Que el productor o distribuidor pueda

- ❖ Definir correctamente las características del cultivo
- ❖ Su alcance en términos de la aplicación
- ❖ Su homogeneidad, estabilidad y pureza

Certificado con datos específicos

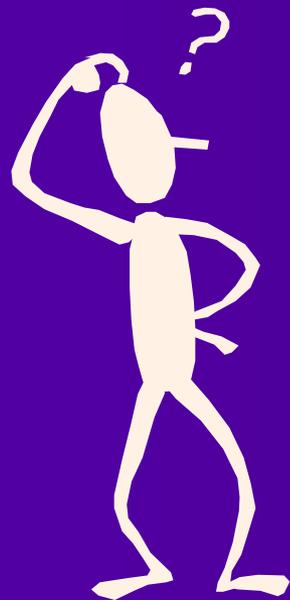


¿DÓNDE ADQUIRIR UN CULTIVO DE REFERENCIA?



**NO SON
CULTIVOS
CERTIFICADOS**

¿POR QUÉ NO HAY CULTIVOS DE REFERENCIA CERTIFICADOS?



por que **no hay una norma** que establezca los **requisitos de calidad** que deben cumplir las empresas u organizaciones para **producir cultivos de referencia certificados** !!!



HAY NORMAS PARA MATERIALES DE REFERENCIA

Guía ISO 34 – IRAM 455. “Guía para sistemas de calidad aplicados a la producción de materiales de referencia”

IRAM 452:1992 - Materiales de referencia. Contenido de sus certificados.
(Guía ISO 31)

¿POR QUÉ ES NECESARIO CONTAR EN LA ARGENTINA CON CEPAS DE REFERENCIA CERTIFICADAS CON LA DEBIDA CALIDAD Y TRAZABILIDAD?

- ❖ Necesidad creciente que tienen los laboratorios, los entes de control y la industria, de contar con cultivos de referencia certificados para los procesos de control de calidad interno y la validación de equipamiento y metodología
- ❖ Dificultades que ocasiona la importación de cepas de referencia, no solo por el costo sino por las complicaciones surgidas por el bioterrorismo
- ❖ Existen en el país proveedores de cepas que podrían ser utilizadas como referencia



El INTI, el CNCCB-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, el INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” **consideraron de interés establecer criterios de calidad para los productores de cultivos de referencia y por ello:**

- ❖ Realizaron un Taller en 2004, en colaboración con la SCCM-AAM
- ❖ Invitaron a curadores de Colecciones de Cultivos nacionales
- ❖ Constituyeron un **GRUPO DE TRABAJO** para estudiar los antecedentes y necesidades en el tema

INTEGRANTES DEL GRUPO DE TRABAJO

INTI

Celia Puglisi
Gladys Mastromónaco
Liliana Castro

CNCCB,-ANLIS "Dr. C. G. Malbrán"

Leonora Nusblat
Marta Mazza
Ma. Luisa Brero

INEI,- ANLIS "Dr. C. G. Malbrán"

Graciela Davel
Ma. Inés De Mitri

F.C.E.N., U.B.A
Mirtha E. Floccari
C.A.E.C.E., Bs. As.
Nélida Leardini

Análisis de situación
Definición de objetivos y metas



ACTIVIDADES

ASISTENCIA TÉCNICA

Silvana Levis
I.N.E.V.H., - ANLIS "Dr. C. G. Malbrán"
Raquel Terragno
INEI,-NLIS "Dr. C.G. Malbrán"

Asesoramiento

Gladys Martos
CERELA, U.N. Tucumán
Elizabeth Sfredo
F.C.A.-U. N. Cuyo, Mendoza

Revisión final del documento
generado por el grupo de
trabajo

Marcelo Galas y Raquel Callejo
INEI,ANLIS "Dr. C.G. Malbrán"

Análisis de situación

Como resultado de averiguaciones realizadas en el tema concluimos que



- ❖ **No existen criterios aceptados formalmente que garanticen la calidad de las cepas comercializadas como Cultivos de Referencia, ni en el control de los proveedores tanto a nivel nacional como internacional**
- ❖ **Algunas colecciones de cultivos microbianos en Europa han optado por implementar **sistemas de calidad tipo ISO 9000 que no es específico para esta actividad** (9° Congreso Internacional para Colecciones de Cultivos, WFCC, World Federation for Culture Colection, 2000)**

- ❖ **Un productor de cultivos microbianos en Australia ha implementado un **sistema de calidad para su producción y otorga certificados que cumplen con los requisitos de la Guía ISO 31****

Los cultivos de referencia deben considerarse materiales de referencia

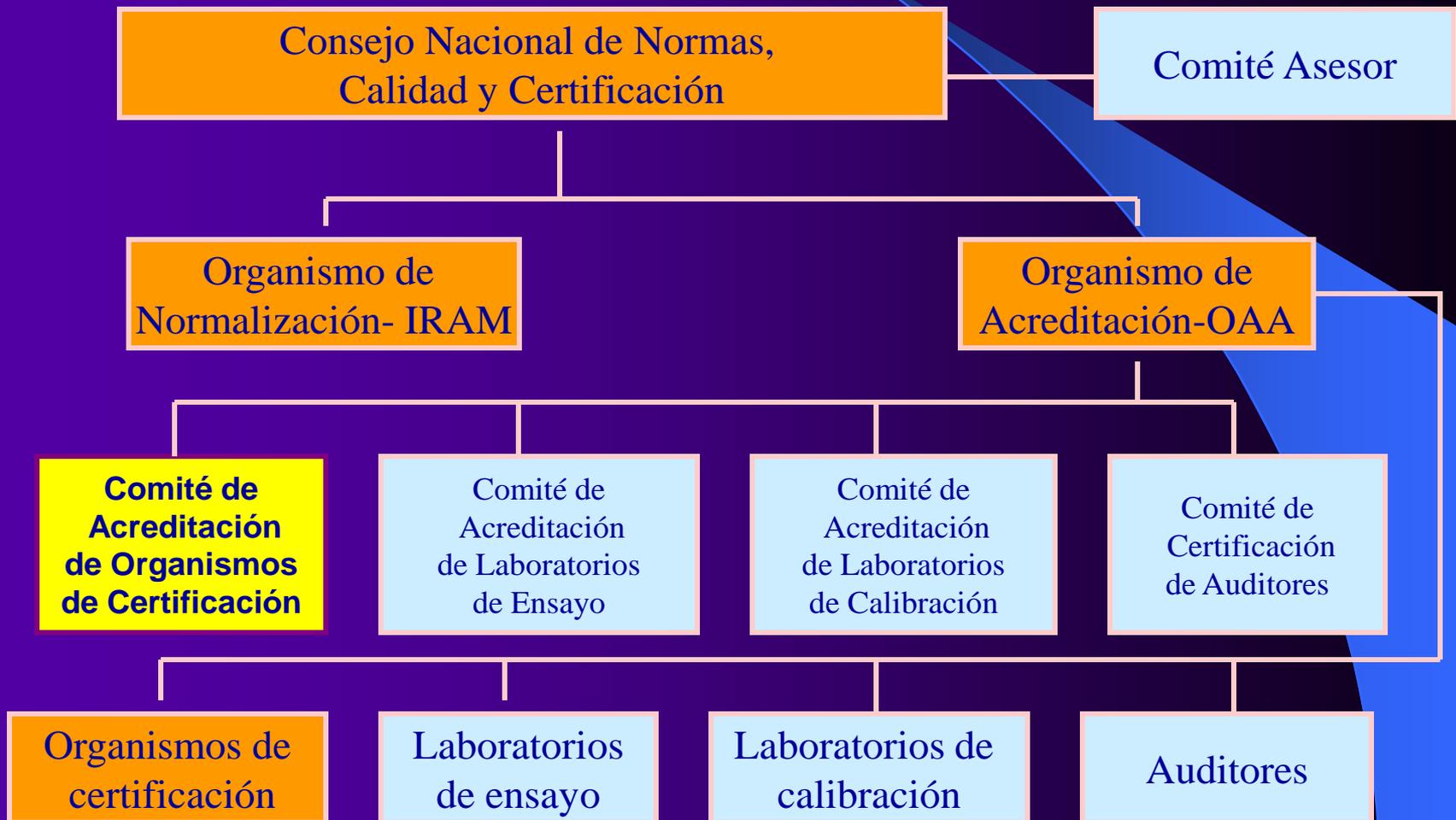
Nuestro propósito fue redactar una norma para proveedores de cultivos de referencia basada en la norma IRAM 455.

“Guía para sistemas de calidad aplicados a la producción de materiales de referencia”

Esto nos permitiría contar con cultivos de referencia con un certificado que cumplan con los requisitos de la Guía ISO 31 o su equivalente, la Norma IRAM 452. Materiales de referencia. Contenido de sus certificados

¿POR QUÉ NECESITAMOS UNA NORMA IRAM?

Sistema Nacional de Normas, Calidad y Certificación





❖ **Organismo de Normalización – IRAM:**

responsable a nivel nacional de la emisión y actualización de las Normas Argentinas

❖ **Organismo de Acreditación – OAA:**

responsable a nivel nacional de la acreditación de los Organismos de Certificación

❖ **Organismos de Certificación:**

responsables a nivel nacional de la certificación

**CULTIVOS DE
REFERENCIA
CERTIFICADOS**

EI GRUPO DE TRABAJO

**Decidió seguir los lineamientos de Norma IRAM
455**

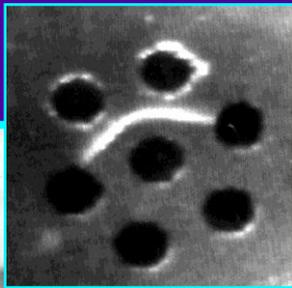
**Definió los requisitos de los Cultivos de
Microorganismos de Referencia Certificados**

**Estableció los criterios de trazabilidad,
homogeneidad, estabilidad, pureza y otros ,
para los microorganismos**

**Adaptó de Norma IRAM 455 al lenguaje
microbiológico**

Requisitos de los Cultivos de Referencia Certificados

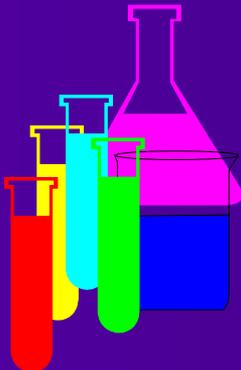
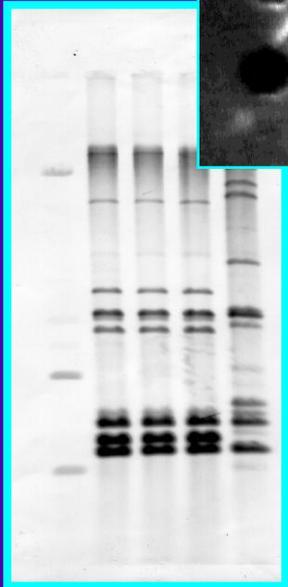
- ❖ **NECESITA** ser caracterizado principalmente por el nivel de certeza requerido para el propósito al cual está destinado.



- ❖ El valor de una o más de sus características fenotípicas y genotípicas **DEBE** estar correctamente establecido.

- ❖ **DEBE** ser homogéneo y estable

- ❖ Su autenticación implica su identificación y caracterización mediante el uso de métodos validados



Lo esencial para todos los cultivos de referencia certificados es que el certificado contenga una declaración de la trazabilidad, que indique los principios y procedimientos en los cuales están basados los valores de las propiedades y, cuando corresponda, sus incertidumbres de medición.

EI GRUPO DE TRABAJO

REDACTÓ UN DOCUMENTO DENOMINADO

**“Cultivos microbianos de referencia.
Requisitos generales para la competencia de
los productores de cultivos microbianos de
referencia”**

**PRESENTÓ EL DOCUMENTO A IRAM PARA SU
CONSIDERACIÓN**

IRAM acepto inmediatamente la propuesta e inició su análisis en comisiones donde invitó a participar a representantes del grupo de Trabajo que redactó el documento.

Actualmente el proyecto de norma esta en su última etapa de discusión en IRAM, y probablemente será aprobada antes de fin de año



Cultivos microbianos de referencia

Requisitos para la competencia de los productores de cultivos microbianos de referencia

¿Cuál es el contenido del documento?

INTRODUCCIÓN

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

2. NORMAS PARA CONSULTA

3. DEFINICIONES

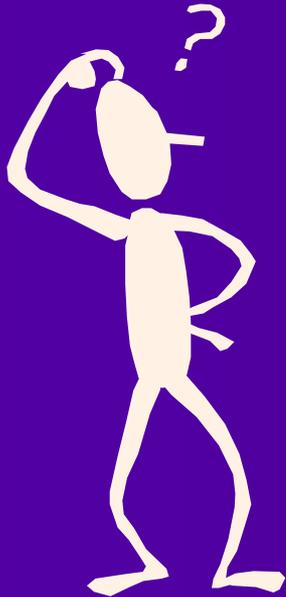
4. **REQUISITOS PARA LA ORGANIZACION Y EL GERENCIAMIENTO**

IRAM 301 (ISO 17025)

5. **REQUISITOS TECNICOS Y DE PRODUCCIÓN**

Anexo A (Informativo). **Certificación de los cultivos de referencia**

Anexo B (Informativo) **Bibliografía**



Los contenidos de los certificados deben cumplir con los requisitos de la IRAM 452.

El productor debe emitir un certificado que contenga información adecuada sobre el CR.

Esta información debe incluir la **fecha de vencimiento del cultivo**, las **características fenotípicas y genotípicas específicas** del cultivo y, cuando corresponda, la media y su incertidumbre, con un nivel de confianza definido.

Además, el certificado debe contener la información que el usuario necesita para el correcto uso del CR, y los problemas potenciales de su empleo

¿QUÉ PROPONEMOS?

PRODUCCIÓN Y UTILIZACIÓN DE CULTIVOS
LOCALES CERTIFICADOS

¿QUÉ NECESITAMOS?

Que el Documento se convierta en NORMA IRAM y
contemos con organismos de Certificación

¿QUÉ SUGERIMOS HACER?

Implementar LA NORMATIVA

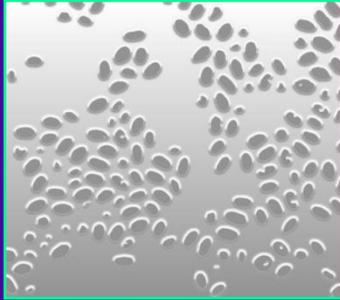
Evaluar cultivos locales en un grupo de laboratorios calificados (estudio interlaboratorio), mediante uno o más métodos de referencia, para elegir aquellos adecuados para reemplazar a los cultivos foráneos empleados actualmente en diferentes procesos





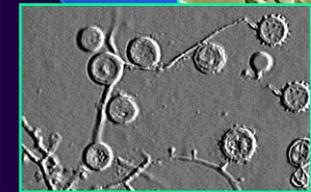
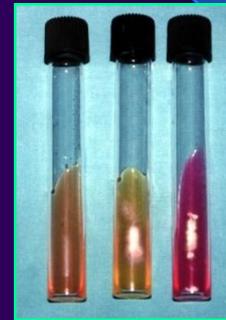
Muchas gracias

Pureza: Condición de ser libre y exento de toda mezcla



Homogeneidad: Condición de tener composición y estructura uniforme respecto de uno o más de sus caracteres dentro de los límites establecidos

Estabilidad de cultivos de referencia:
Características de un cultivo de mantener, por un período de tiempo establecido, un valor declarado de sus propiedades dentro de los límites especificados



Trazabilidad de cultivos de referencia: se considera que un cultivo de referencia es trazable si cumple con los requisitos taxonómicos definidos para esa especie microbiana y con aquellas características propias de esa cepa, de forma tal que los resultados de estas evaluaciones puedan ser reproducidos en otros laboratorios de referencia

Si no se cumplen esos requisitos
el cultivo no puede ser
considerado de referencia

NO permitirá asegurar la calidad del resultado
de experiencias que utilicen microorganismos

NI en el diagnóstico

NI en control de calidad

NI en el contralor

NI en la investigación científica

PROCESO DIAGNOSTICO MICOLOGICO



Personal

Equipamiento



MUESTRA

DATOS

RESULTADOS

INFORMACIÓN OBJETIVA

Método

Materiales

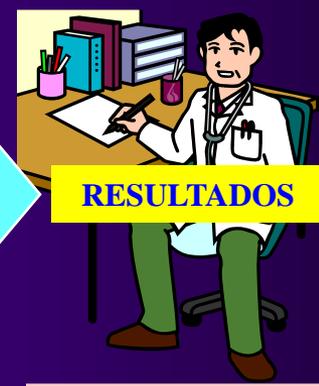
Ambiente

INTERPRETACIÓN

permite tomar decisiones



ANALISIS (ESTADISTICO)



4 - REQUISITOS PARA LA ORGANIZACION Y EL GERENCIAMIENTO

IRAM 301 (ISO 17025)

- 4.1 Requisitos del sistema de calidad
- 4.2 Organización y gerenciamiento
- 4.3 Control de los documentos y de la información
- 4.4 Revisión de pedido, de oferta y de contrato
- 4.5 Colaboradores o subcontratistas
- 4.6 Obtención de servicios y suministros
- 4.7 Información sobre reclamos del cliente
- 4.8 Control de los cultivos de referencia no conformes
- 4.9 Acciones correctivas
- 4.10 Acciones preventivas
- 4.11 Registros
- 4.12 Auditorias internas
- 4.13 Revisión por la dirección

5. REQUISITOS TECNICOS Y DE PRODUCCIÓN

5.1. Dirección, personal y capacitación

5.2. Colaboradores

5.3. Planificación de la producción

5.4. Control de la producción

5.5. Ambiente

5.6. Manejo y almacenamiento del CR

5.7. Servicio posventa

5.8. Preparación del CR

5.9. Aseguramiento de la homogeneidad y de la estabilidad

5.10. Métodos de ensayo

5.11. Equipamiento

5.12. Trazabilidad y validación

5.13. Evaluación de datos y resultados

5.14. Caracterización

5.15. Asignación de caracteres y valores a las propiedades

5.16. Certificados e información para usuarios