

| | | | |
|---|---|---------------------|-------------|
|  <p>República de Colombia Gobernación de Santander</p> | <p>MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER</p> | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 1 de 15 |

República de Colombia



Gobernación de Santander

MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO DE MICROBIOLOGÍA LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 2 de 15 |

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|----|
| 1. OBJETIVO..... | 3 |
| 2. ALCANCE..... | 3 |
| 3. RESPONSABILIDADES..... | 3 |
| 4. DEFINICIONES..... | 3 |
| 5. CONDICIONES GENERALES..... | 4 |
| 6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO..... | 5 |
| 7. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS..... | 5 |
| 8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA..... | 5 |
| 9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA..... | 6 |
| 10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA..... | 7 |
| 10.1 Equipos y materiales..... | 7 |
| 10.2 Reactivos..... | 7 |
| 10.3 Material de referencia..... | 8 |
| 11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO..... | 9 |
| 11.1 Reconstitución de las cepas de referencia (Figura1)..... | 9 |
| 11.2 Conservación de las cepas de referencia..... | 10 |
| 11.3 Uso de cepas conservadas..... | 11 |
| 12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO..... | 12 |
| 13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS..... | 12 |
| 14. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS..... | 13 |
| 15. DOCUMENTOS DE REFERENCIA..... | 13 |
| 16. ANEXOS..... | 14 |
| 17. CONTROL DE CAMBIOS..... | 15 |

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 3 de 15 |

1. OBJETIVO

Describir el procedimiento para la organización, reconstitución y conservación del cepario del área de microbiología clínica, microbiología de alimentos y microbiología de aguas del Laboratorio Departamental de Salud Pública.

2. ALCANCE

Este procedimiento se empleará para la organización, reconstitución y conservación de las cepas ATCC de las áreas de microbiología clínica, microbiología de alimentos y microbiología de aguas del Laboratorio Departamental de Salud Pública.

3. RESPONSABILIDADES

Será responsabilidad de los profesionales de las áreas de microbiología clínica, microbiología de alimentos y microbiología de aguas, organizar, reconstituir y conservar el cepario, además, las cepas de referencia, deben ser manipuladas única y exclusivamente por los profesionales de las áreas mencionadas.

4. DEFINICIONES

ATCC: American Type Culture Collection es una organización sin fines de lucro que recolecta, almacena y distribuye microorganismos de referencia estándar, líneas celulares y otros materiales para investigación y desarrollo.

CALDO BHI: Medio rico en nutrientes que proporciona un adecuado desarrollo microbiano, la infusión de cerebro- corazón son la fuente de carbono, nitrógeno y vitaminas.

CEPAS ATCC: Microorganismos certificados utilizados en control de calidad en microbiología, sus características genotípicas y fenotípicas garantizan la identidad del microorganismo

CEPAS DE TRABAJO: Cepas obtenidas a partir de un cultivo de una cepa de referencia preparada y conservada por el laboratorio.

CONSERVACION DE CEPAS: La conservación de cepas microbianas es el proceso que garantiza la viabilidad y preserva los niveles de productividad inicial, manteniendo la pureza del cultivo y las propiedades genéticas y bioquímicas.

CRIOVIALES: Tubos fabricados en propileno diseñados para almacenar material biológico a temperaturas de hasta -196°C , el tubo y el tapón mantienen el mismo

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 4 de 15 |

coeficiente de dilatación, lo que garantiza su hermeticidad ante cambios de temperatura.

CRIOCAJAS: Cajas de conservación para almacenamiento de corta o larga duración de tubos que contienen material biológico, son resistentes a condiciones de humedad y bajas temperaturas.

LIOFILIZACIÓN: Conservación a largo plazo de colecciones de cultivo, en este proceso las células se someten a un proceso de congelación y posteriormente a sublimación en condiciones de vacío, dando resultado a un material poroso de fácil rehidratación.

MICROORGANISMO: Los microorganismos son formas de vida muy pequeñas que sólo pueden ser observados a través del microscopio. En este grupo están incluidas las bacterias, los virus, los mohos y las levaduras.

PUREZA: Permite obtener colonias separadas con individuos que proceden de un solo tipo de microorganismos.

SKIM MILK: Medio utilizado para la diferenciación de microorganismos basado en la coagulación y proteólisis de la caseína, Las bacterias proteolíticas utilizan la enzima caseinasa para hidrolizar la caseína y formar compuestos nitrogenados solubles que se muestran como una zona clara alrededor de las colonias.

VIABILIDAD: habilidad de una población microbiana para multiplicarse y producir una colonia macroscópica en medio de cultivo sólido o producir turbidez en un medio líquido apropiado.

5. CONDICIONES GENERALES

- Las cepas se deben manipular en cabina de seguridad biológica (CSB).
- El personal debe realizar el lavado de las manos antes y después de la manipulación de las cepas.
- Utilizar los elementos de protección personal (EPPs) requeridos según el riesgo de exposición en el área, tales como: Bata de laboratorio desechable, Cubrebocas, Guantes de nitrilo, Gorro desechable, Gafas de bioseguridad.
- Los EPPs se pueden contaminar durante la actividad, por lo tanto, se debe restringir el uso al área de trabajo para evitar la propagación de microorganismos hacia áreas ajenas al laboratorio, la verificación de los EPPs podrá realizarse en cualquier instante y se registrará en el formato de verificación de uso de elementos de protección personal.
- Estos productos están destinados al uso diagnóstico in vitro.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 5 de 15 |

- El líquido hidratante puede causar irritaciones oculares graves, si entra en contacto con los ojos enjuague cuidadosamente con agua durante varios minutos
- Se deben emplear técnicas apropiadas para evitar la exposición y el contacto con cualquier cultivo de microorganismos.
- Solo el personal capacitado debe manipular las cepas.

6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO

Las cepas comerciales incluyen un granulo liofilizado del microorganismo, una ampolla de líquido rehidratante y un hisopo de inoculación, cada dispositivo está sellado dentro de una bolsa laminada que contiene material desecante para evitar la acumulación de humedad. Los microorganismos están a 3 pasos o menos del cultivo de referencia y su recuperación está garantizada cuando se procesan utilizando los requisitos para la incubación y los medios recomendados.

Los controles de calidad permiten mantener la trazabilidad y reproducibilidad de los métodos de análisis, asegurando la confiabilidad de los resultados.

7. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

Las cepas comerciales sin reconstituir pueden ser no adecuadas en caso de que se hayan almacenado a una temperatura diferente de 2°C a 8°C, expuestas de manera excesiva al calor o a la humedad y se haya pasado la fecha de vencimiento.

Además, al momento de la reconstitución se deben tener en cuenta todas las medidas necesarias para evitar contaminación cruzada, el no realizar controles ambientales y una adecuada limpieza y desinfección del área induce a que los microorganismos que se van a recuperar no queden puros.

8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

La identificación de las cepas al momento de reconstituirlas será de la siguiente manera: se pondrá el género, especie, número de referencia de cada cepa y la fecha en la que se realizó la reconstitución. La identificación debe ir en cada vial y en la criocaja con la siguiente información:

- Nombre de la cepa
- Número ATCC
- Fecha de reconstitución de la cepa o del pase.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 6 de 15 |

9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

El objetivo principal de preservar correctamente los microorganismos en el laboratorio, es mantener las cepas puras, viables, estables genéticamente y que se asemejen en lo posible a su aislamiento inicial, teniendo en cuenta que no todos los géneros se comportan de igual forma al ser sometidos al mismo proceso, inclusive si se trata de aislamientos de la misma especie. Es vital tener en cuenta la elección del medio de almacenamiento o de soporte, el crio protector y la edad del cultivo del microorganismo, como condiciones básicas para asegurar el éxito de la conservación de las cepas.

Existen diferentes métodos de conservación de cepas como la congelación, liofilización y el uso de crioperlas. En el laboratorio el método utilizado es la congelación el cual consiste en suspender las células en un medio líquido que contenga un agente crio protector y almacenarlas a temperaturas menores a 0°C, temperatura a la cual el agua se congela. De esta forma, al no disponer de agua en forma líquida, las células detienen su crecimiento y disminuyen su tasa metabólica.

Las temperaturas típicas varían entre -20°C y -70°C en refrigeradores mecánicos y en refrigeradores con nitrógeno líquido a -140°C (fase gaseosa) o -196°C (fase líquida). Las temperaturas más bajas proporcionan la mayor longevidad, estabilidad genética y un espectro de supervivencia alto por grandes periodos de tiempo.

Los crio protectores son sustancias que pasan a través de la membrana celular y producen una protección intra y extracelular contra la congelación, favoreciendo la viabilidad del microorganismo, sin producir cambio alguno sobre ellos, debido a que cuando la temperatura de la suspensión celular está por debajo de 0°C, el agua del líquido extracelular comienza a congelarse formando cristales de hielo que aumentan la concentración del soluto y el agua intracelular migra al exterior por diferencia en la presión osmótica. Los almacenamientos criogénicos a bajas temperaturas proporcionan una reducida pérdida de la viabilidad, una alta estabilidad genética y un espectro de supervivencia alto por un periodo prolongado de tiempo. Existen muchas sustancias que pueden ser utilizados como crioprotectores, entre estos encontramos el di metil sulfóxido (DMSO), la leche descremada al 20% y carbohidratos como glucosa, lactosa, sacarosa, manitol, sorbitol, inositol, etc. Sin embargo, el que se empela con mayor frecuencia es el glicerol a una concentración de 15 al 20%. En su elección influye el tipo de microorganismo que se quiere conservar.

Un método alternativo para la conservación de cepas en el laboratorio es mediante el uso de crioperlas que consiste en un crio vial estéril de 2 ml con faldón, conteniendo 25 crio perlas de vidrio tratadas con crioprotectores que actúan como conservante, gracias a este método de conservación, se puede disponer de un

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 7 de 15 |

perfecto de medio de crio conservación y obtener hasta 25 réplicas de una misma generación microbiana.

Cada área almacenará las cepas de referencia y garantizará su viabilidad.

10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA

10.1 Equipos y materiales

- Congelador
- Incubadora 25° C ± 1° C
- Incubadora 30°C ± 1° C
- Incubadora 35°C ± 1° C
- Incubadora 37° C ± 1° C
- Refrigerador
- Asas rectas
- Asas redondas
- Cajas de Petri 90mmx 15mm
- Crio cajas
- Crio viales de 2 mL
- Frascos schott
- Gradillas
- Láminas porta objetos
- Micropipetas de 100 a 1000 uL
- Pipetas Pasteur

10.2 Reactivos

- Agar Baird Parker
- Agar Hecktoen
- Agar Mossel
- Agar nutritivo
- Agar Sabouraud u Ogye
- Agar sangre
- Agar SPS
- Agar TBX
- Agar TCBS
- Caldo de Infusión de Cerebro Corazón BHI
- Colorantes de Gram.
- Glicerol
- Crioperlas

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 8 de 15 |

- Skim milk

10.3 Material de referencia

El laboratorio departamental de salud pública cuenta con las siguientes cepas de referencia:

| Microorganismo | ATCC | Área a la que pertenece |
|---------------------------------|------------|----------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 25922 | Microbiología de aguas |
| <i>Klebsiella variicola</i> | 31488 | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 27853 | |
| <i>Listeria ivanovii</i> | 19119 | Microbiología de alimentos |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 19115 | |
| <i>Listeria innocua</i> | 33090 | |
| <i>Bacillus cereus</i> | 11778 | |
| <i>Bacillus spizizenii</i> | 6633 | |
| <i>Escherichia coli</i> | 25922 | |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 27853 | |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 9763 | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 6538/25923 | |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | 14028 | |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 17802 | |
| <i>Clostridium perfringes</i> | 13124 | |
| <i>Escherichia coli</i> | 25922 | Microbiología clínica |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 27853 | |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 29212 | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 25923 | |
| <i>Sacharomyces cerevisiae</i> | 9763 | |

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 9 de 15 |

11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

11.1 Reconstitución de las cepas de referencia (Figura1)

1. Deje atemperar la cepa, rompa el sello de seguridad y retire el dispositivo en el que viene el microorganismo.
2. Retire la etiqueta que contiene información de la cepa y anexarla al formato de verificación control de cepas de referencia para el área de microbiología MI-GS-RG-158
3. Agriete la ampolla en la parte superior del dispositivo (justo debajo del menisco del líquido) para liberar el líquido hidratante. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
4. Manténgalo vertical y golpee suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad que contiene el gránulo.
5. Apriete la parte inferior de la unidad para que el gránulo se disuelva en el líquido hasta lograr una suspensión homogénea.
6. De inmediato, sature el hisopo abundantemente con el material hidratado y transféralo al frasco schott que contiene 100 mL de caldo BHI.
7. Incube el caldo BHI a la temperatura y el tiempo requerido por el microorganismo.
8. Pasado el tiempo de incubación, sembrar la cepa utilizando medios de cultivo específicos para cada microorganismo o agar nutritivo. Proceso crucial para el crecimiento óptimo.
9. Incubar las placas inoculadas a la temperatura y condiciones apropiadas para cada microorganismo.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 10 de 15 |

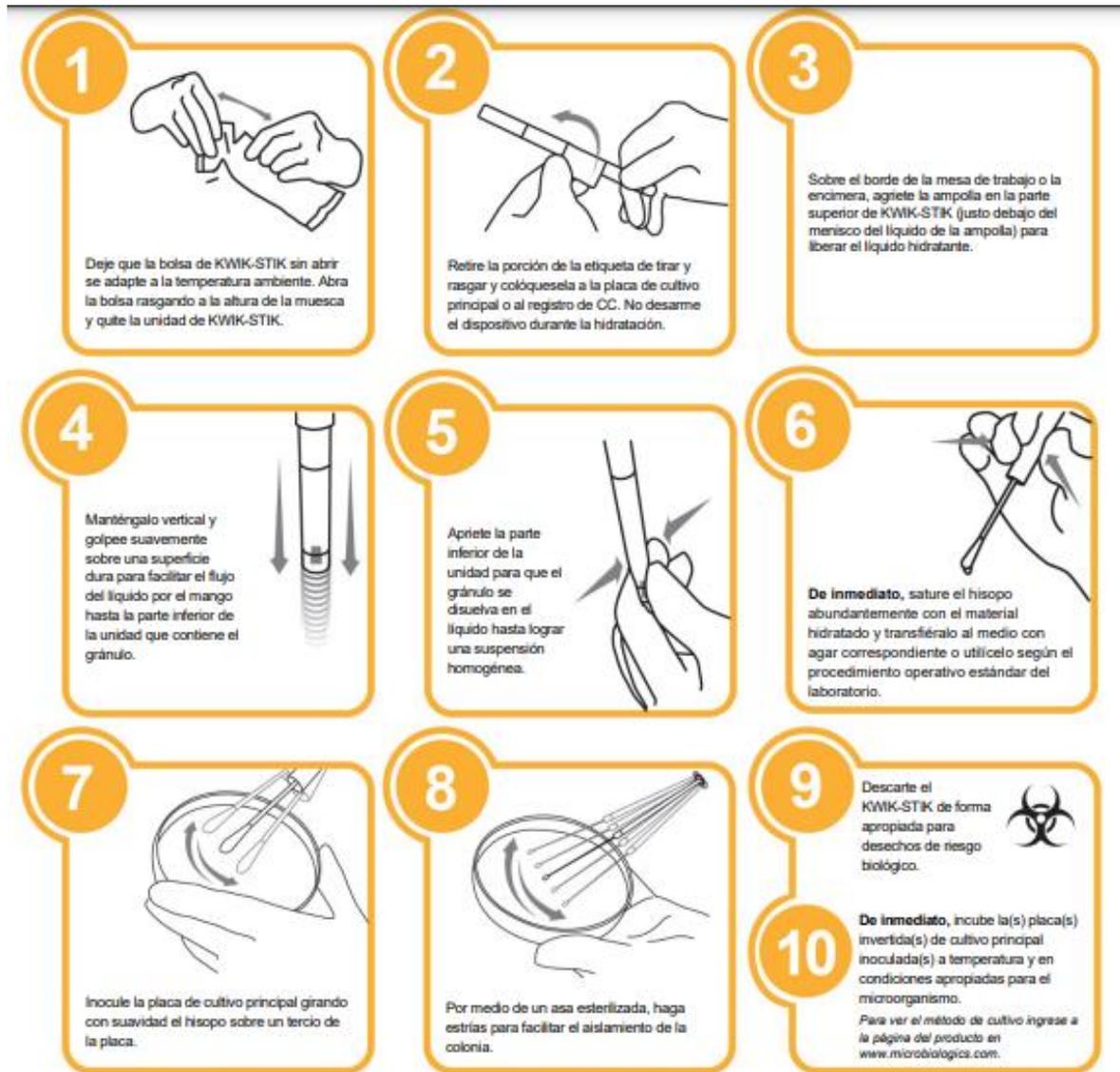


Figura 1. Reconstitución de cepas

11.2 Conservación de las cepas de referencia

10. Cada caja con el microorganismo recuperado en el procedimiento anterior se divide en 4 partes y cada cuadrante será la cantidad de microorganismo a adicionar por cada vial.
11. Recoger con un asa redonda el contenido de cada cuadrante y adicionarlo al vial que contiene crioperlas adquiridas comercialmente o a viales que previamente se han preparado con 1.5mL de leche descremada al 20%

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 11 de 15 |

12. Si el proceso se realizó en los viales que contienen crioperlas, cerrar el vial y homogenizar mediante agitación mecánica, de forma suave para que el microorganismo se impregne en las crioperlas y extraer el medio sobrante con una pipeta Pasteur. (Figura 2)
13. Si el proceso se hizo con el vial que contiene leche descremada, agregar 2 a 3 gotas de glicerol y cerrar el vial.
14. Etiquetar cada vial como se especifica en el numeral 9. Conservación de la muestra y guardar en crio cajas para posteriormente congelar a -70°C (conservación indefinida) y -20°C (conservación de 1 año).

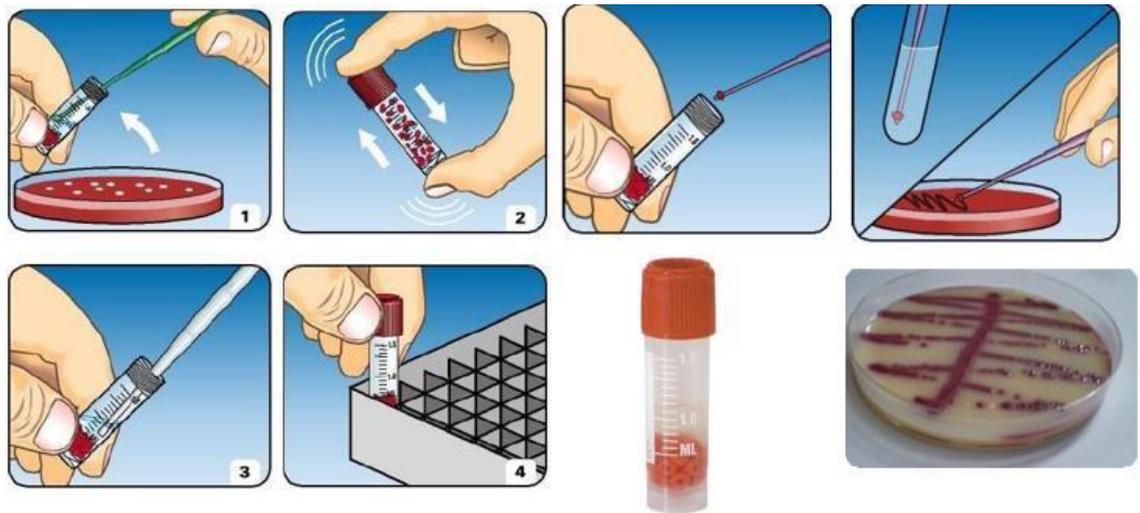


Figura 2. Conservación de cepas mediante crio perlas.

11.3 Uso de cepas conservadas

15. Saque el vial de congelación, tenga en cuenta que el proceso de descongelación debe ser rápido para evitar daño en las células y disminuir la viabilidad del microorganismo.
16. Para los microorganismos conservados en leche descremada tome con un asa recta una pequeña parte del material congelado
17. Siembre el microorganismo en el medio de cultivo necesario para su recuperación, congele inmediatamente el vial.
18. Para los microorganismos conservados en crioperlas tome con un asa recta una crio perla congelada y realice el paso descrito anteriormente.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 12 de 15 |

12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO

Como criterio de estabilidad de la conservación de las cepas se debe realizar controles de pureza y viabilidad de las cepas en los diferentes niveles del proceso o cuando se hagan repiques de las mismas.

La frecuencia de realización del control de pureza para las cepas de trabajo es al momento de obtener el cultivo inicial y se registra en el formato de verificación control de cepas de referencia para el área de microbiología MI-GS-RG-158 y cada 6 meses, se realiza por observación macroscópica de las colonias obtenidas en medios de cultivo selectivos para cada microorganismo y características microscópicas mediante la realización de tinción de Gram. El control de pureza se hace con el 10% de las cepas almacenadas de cada microorganismo.

La viabilidad se debe realizar una vez se reconstituye la cepa ATCC que se adquiere comercialmente y posteriormente en las cepas conservadas cada 6 meses de la siguiente manera:

- Se utiliza un medio selectivo para el microorganismo y uno productivo
- En cada medio se marcan 21 estrías como lo muestra la figura 3
- Se siembra en cada una de las estrías el microorganismo y se lleva a incubar a la temperatura correspondiente para cada microorganismo.
- Pasado el tiempo de incubación, realice la lectura de las cajas, teniendo en cuenta que cada estría tiene un valor de 0,2 y la central de 1.
- Si se observa crecimiento del microorganismo en las cinco estrías de cada cuadrante y en la estría central, la viabilidad es del 100%.

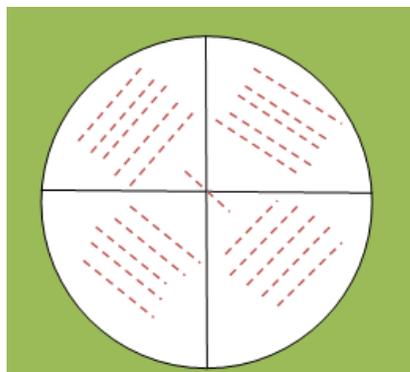


Figura 3. Modelo para el control de viabilidad de cepas de referencia

13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Los resultados de control de calidad de pureza se registran en el formato MI-GS-RG-158 Verificación control de cepas de referencia para el área de microbiología.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 13 de 15 |

y de viabilidad se registran en el formato MI-GS-RG- 119 Verificación de viabilidad de cepas.

Para determinar el porcentaje de viabilidad se tienen en cuenta las 21 estrías, si hay crecimiento en todas, la viabilidad es del 100% y corresponde a un valor de 5, si no hay crecimiento de todas las estrías en alguno de los cuadrantes se va restando al valor total (5). Y se realiza una regla de 3 para determinar el porcentaje de viabilidad.

Ejemplo: Si hubo crecimiento en 3 de los 5 cuadrantes donde se trazaron las estrías, entonces 3 se multiplica por 100% y se divide en 5, lo que equivale a un 60% de viabilidad de la cepa.

14. EXÁMENES COMPLEMENTARIOS

Identificación de las cepas reconstituidas por el equipo vitek

15. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

Documentación de un sistema para el manejo y conservación de cepas de referencia utilizadas en el laboratorio de microbiología de una empresa avícola en Santander, universidad de Pamplona 2020
http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/bitstream/20.500.12744/3274/1/Vega_2020_TG.pdf

Leber, A. L. (2016) Clinical Microbiology Procedures Handbook (4th ed.) ASM Press.

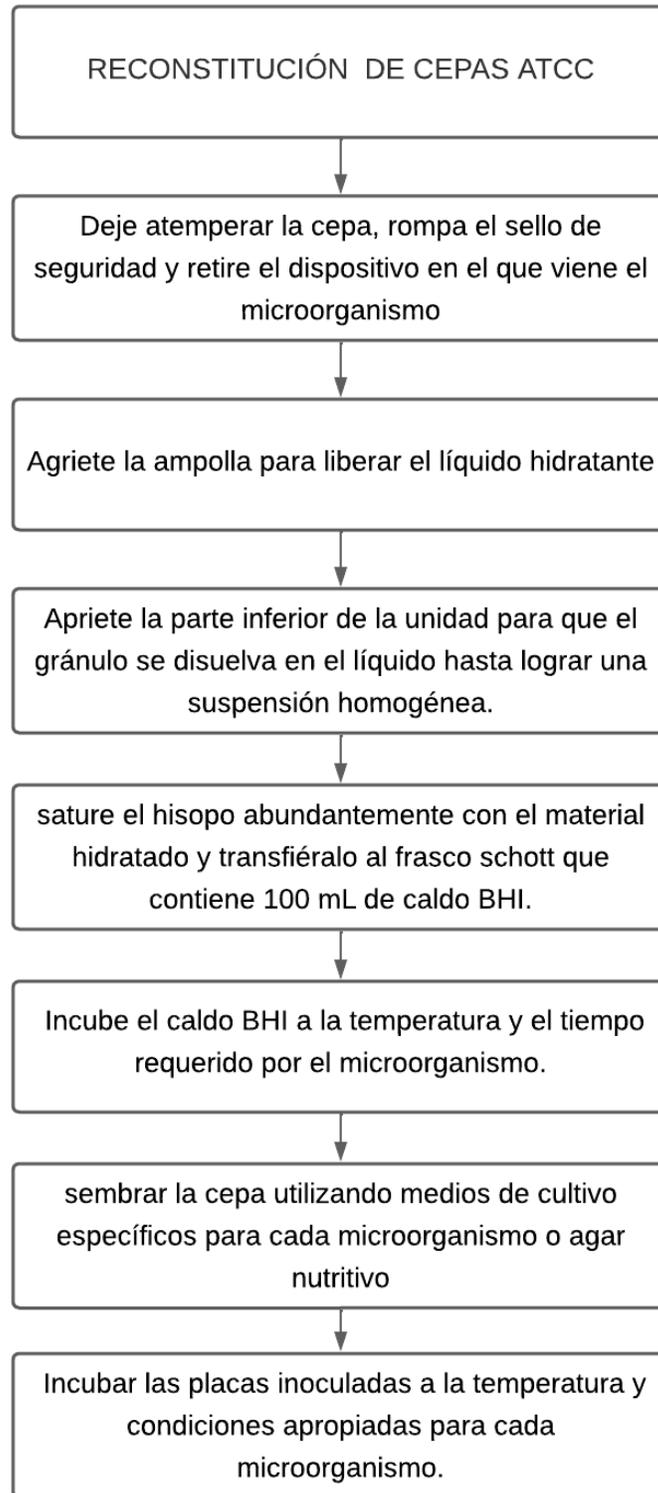
Microbiologics, KwikStik plus, instrucciones de uso 2021

Taller de Colecciones de Cultivos Microbianos y otros Materiales Biológicos. (pp.1-14)Edition: 1Chapter: Métodos generales de conservación de microorganismosPublisher: Finlay EdicionesEditors: Finlay Ediciones.

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

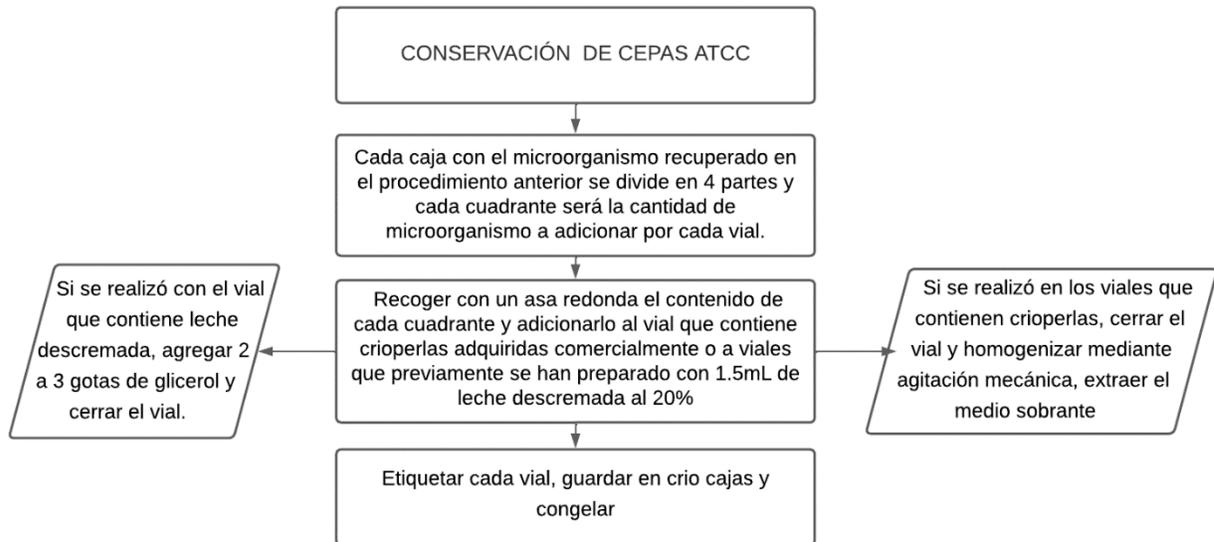
| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 14 de 15 |

16. ANEXOS



| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |

| | | | |
|--|--|---------------------|-------------|
|  | MANUAL DE ORGANIZACIÓN, RECONSTITUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL CEPARIO LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE SANTANDER | CÓDIGO | MI-GS-MA-07 |
| | | VERSIÓN | 1 |
| | | FECHA DE APROBACIÓN | 08/11/2023 |
| | | PÁGINA | 15 de 15 |



- MI-GS-RG-158 Verificación control de cepas de referencia para el área de microbiología.
- MI-GS-RG- 119 Verificación de viabilidad de cepas.

17. CONTROL DE CAMBIOS

| CONTROL DE CAMBIOS | | | | |
|--------------------|------------|--|--|--|
| VERSIÓN | FECHA | DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO | REVISÓ | APROBÓ |
| 0 | 18/09/2018 | Emisión inicial del documento | - | - |
| 1 | 08/11/2023 | Inclusión para las áreas de microbiología clínica y microbiología de aguas | Alba Rocío Orduz Amézquita Líder Grupo LDSP German Eduardo Marín Cárdenas Director de Salud Integral Diego Sánchez Báez Coordinador Grupo de Apoyo a la Gestión y Calidad César Ernesto Sánchez Aranda Director de Planeación y Mejoramiento en Salud | Javier Alonso Villamizar Suarez Secretario de Salud de Santander |

| Versión | Elaboración | Revisión Técnica | Revisión de Calidad |
|---------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| 0 | Sandra Isabel Bohórquez | Ayde López | Alejandra Galvis Vargas |