



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE PROTECCIÓN VEGETAL



Título de la pasantía de práctica profesional

Elaboración de un Procedimiento Operativo Estándar para la obtención y preservación de cepas de referencia en el Laboratorio de Bacteriología de la Red de Laboratorios Veterinarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería.

Grado académico al que opta: Licenciado en Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Egresado: Br. Enmanuel Alberto Ortiz Pavón

Docente asesora: Licda. Idalia Rosmery Erroa.

Asesor externo: MBA. MVZ. Ing. Cecilia del Carmen Vásquez Avalos

Ciudad Universitaria 20 de octubre de 2025

ÍNDICE

1	Resumen	3
2	Introducción	4
3	Información de la Unidad Productiva	5
3.1	Datos generales	5
3.1.1	Localización	5
3.1.2	Antecedentes.....	5
3.1.3	Recursos.....	6
3.2	Actividades actuales	8
4	Análisis de la Problemática en el Laboratorio	9
5	Metodología	10
5.1	Redacción de la estructura del POE.....	10
5.2	Redacción del procedimiento para la preparación del medio de cultivo para la criopreservación de cepas bacterianas	11
5.3	Redacción del Procedimiento Operativo Estándar para la Criopreservación de Cepas Bacterianas	20
5.4	Elaboración del flujograma <i>in situ</i> para la obtención y criopreservación de cepas bacterianas	21
5.5	Prueba piloto	21
6	Resultados y Discusión	29
7	Conclusiones	40
8	Recomendaciones	40
9	Bibliografía	41
10	Anexos	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ubicación geográfica del MAG El Matazano	5
Figura 2	Estructura organizativa de los laboratorios	8
Figura 3	Información e identificación de la cepa <i>Enterococcus faecalis</i> por VITEK compact	22
Figura 4	Elaboración e impresión de etiquetas y rotulados de viales	22
Figura 5	Selección de colonias de <i>Enterococcus faecalis</i>	23
Figura 6	Siembra en agar tripticasa soya	24
Figura 7	Siembra en agar sangre	24
Figura 8	Preparación de la suspensión en el caldo cerebro corazón más 20% de glicerol AR	25
Figura 9	Envasado de la suspensión	26
Figura 10	Congelado de la suspensión	26
Figura 11	Colonias de <i>Enterococcus faecalis</i> en TSA	27
Figura 12	Colonias de <i>Enterococcus faecalis</i> en agar sangre	27
Figura 13A y 13B	A.Vista 100X. Cocos grampositivos en pareja. B.Vista 100X. Cocos grampositivos en cadena	28
Figura 14	Flujograma in situ: Obtención y preservación de cepas bacterianas	39
Figura 15	Diagrama del proceso de criopreservación de la cepa bacteriana utilizado en la prueba piloto.	44

1. RESUMEN

La pasantía de práctica profesional tuvo una duración de seis meses (del 6 de mayo al 8 de noviembre de 2024) y se realizó en el Laboratorio de Bacteriología de la Red de Laboratorios Veterinarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería. El objetivo principal fue elaborar un Procedimiento Operativo Estándar (POE) para estandarizar la criopreservación de cepas bacterianas obtenidas de muestras clínicas veterinarias procesadas en el Laboratorio de Bacteriología. Como parte del proceso, se llevó a cabo una revisión bibliográfica sobre la manipulación, conservación y almacenamiento de cepas bacterianas, la cual fue esencial para comprender la técnica de la criopreservación y sus aplicaciones. El Procedimiento Operativo Estándar elaborado incluyó todos los pasos necesarios para llevar a cabo de manera adecuada la criopreservación de cepas bacterianas aisladas a partir de muestras clínicas veterinarias. Además, con la participación en el Laboratorio de Preparación de Reactivos y Medios de Cultivo, y el apoyo del personal técnico se logró la redacción del procedimiento para la preparación del medio de cultivo utilizado para la criopreservación de cepas bacterianas. Posteriormente, se realizó una prueba piloto para evaluar el diseño del POE desarrollado y su viabilidad en el entorno del laboratorio. Los resultados obtenidos indican que la implementación del POE desarrollado durante la pasantía de práctica profesional fue efectiva y contribuye significativamente al fortalecimiento técnico-científico del laboratorio. No obstante, se recomienda continuar con estudios complementarios para validar su aplicación en diferentes contextos clínicos y ampliar su alcance.

2. INTRODUCCIÓN

La criopreservación de cepas bacterianas destaca la importancia de contar con materiales de referencia adecuados, incluyendo cepas de referencia internas debidamente caracterizadas y conservadas. Éstas cepas no solo permiten verificar la confiabilidad y repetibilidad de los métodos utilizados, también son clave para la trazabilidad de los resultados y la mejora continua del sistema de gestión de calidad.

La implementación de un Procedimiento Operativo Estándar (POE) en entornos laborales, especialmente en el campo de la bacteriología, es fundamental para garantizar la uniformidad y precisión en la ejecución de los procedimientos. En un laboratorio, el Procedimiento Operativo Estándar consiste en un conjunto de instrucciones que detallan cómo realizar una tarea específica, siguiendo un formato estandarizado definido por la institución.

Actualmente, el laboratorio de Bacteriología de la Red de Laboratorios Veterinarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería cuenta con un Procedimiento Operativo Estándar (POE) para la preservación de cepas ATCC. En este contexto, a través de la pasantía de práctica profesional, se desarrollaron e implementaron instrucciones detalladas para la criopreservación de cepas bacterianas, basadas en estándares internacionales; tomándose de referencia la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS).

Esto permitió la elaboración de un Procedimiento Operativo Estándar (POE) específico para la obtención y criopreservación de cepas bacterianas en el Laboratorio de Bacteriología de la Red de Laboratorios Veterinarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería.

3. INFORMACIÓN DE LA UNIDAD PRODUCTIVA

3.1. Datos generales

3.1.1. Localización:

Ubicación geográfica de la institución: Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) El Matazano, Latitud 13.68844° o 13° 41' 18" N y longitud -89.13913° o 89° 8' 21" O (Figura N° 1). **Dirección:** Final Colonia Venecia, Calle Antigua al Matazano, cantón El Matazano, municipio de Soyapango, departamento de San Salvador.

Figura N°1. Ubicación geográfica del MAG El Matazano.



Fuente: Google Maps.

3.1.2. Antecedentes:

En 1899 el poder Ejecutivo creó una Junta central de Agricultura, llamada a promover el desarrollo agrícola del país. La Junta de Agricultura desempeñó un papel importante en el desarrollo de la Industria Agrícola; creó la Dirección General de Agricultura el 27 de abril de 1902, estableció un laboratorio de química; fundó una Escuela de Agronomía, la primera en Centroamérica (1910) (MAG, 2025).

En 1911, el presidente de la República, el Dr. Manuel Enrique Araujo, creó la Secretaría de Agricultura, posteriormente, la Asamblea Nacional Legislativa, por Decreto de fecha 30 de marzo de 1911, definió las atribuciones de la Secretaría de Agricultura, atribuyéndole el régimen y gobierno de la industria agrícola que consigna el Art. 1° De la Ley Agraria de entonces (MAG, 2025).

El Diario Oficial del 4 de abril de 1911 consigna a este respecto en su editorial los siguientes fragmentos:

“Publicase en su edición de hoy, el Decreto en el cual se regulan las atribuciones del IMPORTANTE MINISTERIO DE AGRICULTURA”.

“Y es que la agricultura es la fuente de toda riqueza y la base de la soberanía de un país; porque más que otro organismo, la felicidad de los pueblos se funda en la efectividad del cultivo de la tierra” (MAG, 2025).

Fue el 1° de julio de 1922, cuando entra en vigencia el presupuesto, que dio inicio operativamente LA SECRETARÍA DE AGRICULTURA, ubicados en El Palacio Nacional.

A pesar de que, posiblemente por la situación económica de la época, el ministerio no pudo operar independientemente, el prestigio, la constante de su labor modesta y las necesidades del mejoramiento agropecuario nacional, hicieron que, en octubre del 1946, ya con la denominación de MINISTERIO DE AGRICULTURA E INDUSTRIA, surgiera a la vida pública con su propia estructura orgánica, iniciando así, su presente época de desarrollo y progreso (MAG, 2025).

3.1.3. Recursos:

3.1.3.1. **Naturales:** Las actividades diarias del Laboratorio de Bacteriología implican un consumo directo de recursos naturales como la energía eléctrica y el agua potable. El uso de estos recursos esta controlado para asegurar su aprovechamiento eficiente y responsable, promoviendo prácticas que contribuyen a la sostenibilidad ambiental responsable.

3.1.3.2. **Instalaciones:** La Red de Laboratorios Veterinarios del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) cuenta con diversas áreas y laboratorios: especializados entre ellas la Jefatura de Red de Laboratorios Veterinarios, secretaria, Gestión de Calidad, Recepción de Muestras y área de materiales y reactivos.

Laboratorios de Diagnóstico Veterinario: Laboratorio de Bacteriología, Laboratorio de Brucelosis, Laboratorio de Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), Laboratorio de Hematología, Laboratorio de Parasitología, Laboratorio de Reacción de Cadena de la Polimeraza (PCR), Laboratorio de Producción de Antígeno, Laboratorio

de Rabia, Laboratorio de Control de Calidad de Fármacos Veterinarios, Laboratorio de Diagnóstico Avícola y Laboratorio de Preparación de Reactivos y Medios de Cultivo.

Laboratorios de Control de Calidad: Laboratorio de Absorción Atómica, Laboratorio Físicoquímico de Alimentos y Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Esta organización integral facilita un manejo especializado y eficiente de los recursos para investigación y diagnóstico veterinario (Figura 2).

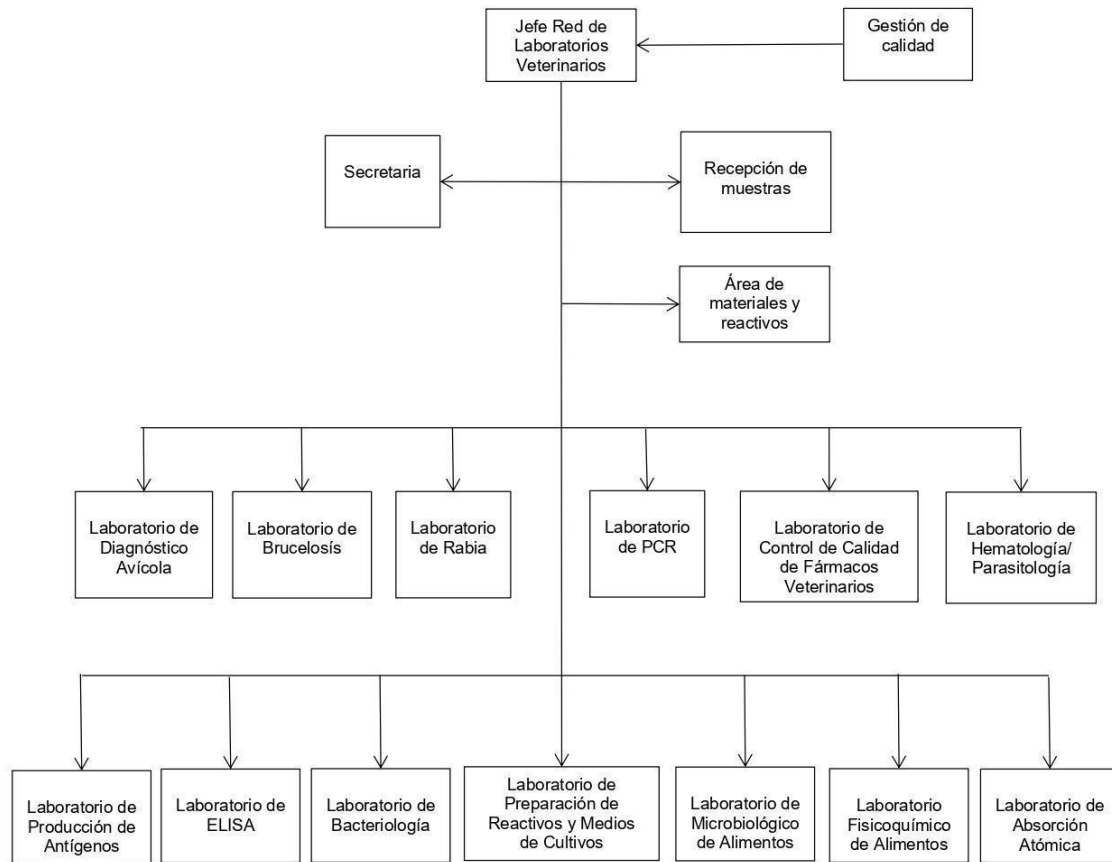
3.1.3.3. **Áreas del laboratorio de Bacteriología:** El Laboratorio de Bacteriología está conformado por tres áreas principales que permiten su adecuado funcionamiento. La primera área corresponde al espacio administrativo, donde se desarrollan las actividades de gestión propias de la sección. La segunda área corresponde a una esclusa sanitaria, en el cual el personal se equipa y desequipa con el equipo de protección personal antes y después de realizar procedimientos analíticos. Esta esclusa funciona como un área de transición que garantiza el control higiénico y la prevención de contaminación cruzada entre ambientes, asegurando la seguridad del personal y la integridad del proceso analítico.

La tercera área está destinada al procesamiento de muestras, y cuenta con mesas de trabajo y equipos específicos para la ejecución de los diferentes análisis solicitados. Esta área se subdivide en estaciones de trabajo, tales como: mesa de trabajo, mesa de análisis general, estación para pruebas de leptospira, área de uso de mechero, y los puestos especializados para el manejo de equipos.

Los equipos con los que cuenta el laboratorio son: refrigeradoras, incubadoras, cabina de bioseguridad, vitek, baño de maría, vortex, balanza, microscopios de campo claro y estereoscópico, micropipetas, incinerador de asa bacteriológica y mechero.

3.1.3.4. **Humanos:** El Laboratorio de Bacteriología dispone de dos técnicos especializados, responsables de la recepción, registro y análisis de las muestras biológicas recibidas. Asimismo, se encargan de la ejecución de actividades rutinarias como el monitoreo y registro de las condiciones ambientales (temperatura y humedad), así como el control de temperatura de los equipos utilizados durante los procesos analíticos.

Figura N° 2. Estructura organizativa de los laboratorios.



Fuente: Red de Laboratorios Veterinarios del MAG, 2024.

3.2. **Actividades actuales: Producción principal.**

El laboratorio de bacteriología analiza: muestras biológicas como órganos, sangre, hisopados cloacales, heces e identificación de bacterias patógenas y su antibiograma, lo que permite determinar la resistencia o grado de sensibilidad de los microorganismos frente a los diferentes antimicrobianos (Negroni, 2009). Además, analiza alimentos para animales para la investigación de hongos productores de micotoxinas en concentrados.

4. ANÁLISIS DE LA PROBLEMÁTICA EN EL LABORATORIO

El laboratorio de bacteriología cuenta con Procedimientos Operativos Estándar (POE) para el uso y conservación de cepas de referencia ATCC, lo cual garantiza el cumplimiento de estándares internacionales en las pruebas microbiológicas. Pero a su vez no cuenta con un POE que detalle los procedimientos para la preservación de cepas bacterianas obtenidas de diferentes muestras clínicas veterinarias que ingresan al laboratorio.

Para lograr solventar la problemática, el desarrollo de la pasantía de práctica profesional en el Laboratorio de Bacteriología pretendió el desarrollo e implementación de un POE destinado a la conservación y manejo cepas bacterianas de origen interno. Esto contribuirá a fortalecer el control interno del laboratorio, garantizar el cumplimiento de la normativa vigente y optimizar los procesos de validación y aseguramiento de la calidad.

Con la metodología planteada en el plan de trabajo se implementó la recopilación de información a través de la revisión bibliográfica, la práctica constante de laboratorio y la asesoría por parte de los tutores sobre las instrucciones o pasos que son necesarios para la preservación de cepas, luego se documentó en un procedimiento operativo estándar, el cual describe las instrucciones detalladas para la criopreservación de cepas bacterianas de origen interno.

En este sentido, la elaboración del POE contribuye significativamente al aseguramiento de la calidad de los resultados durante los procesos de diagnóstico veterinario obtenidos en el Laboratorio de Bacteriología.

5. METODOLOGÍA

5.1. Redacción de la estructura de Procedimientos Operativos Estándar.

Los Procedimientos Operativos Estándar (POE) son también documentos y contienen un conjunto de instrucciones escritas que el personal del laboratorio debe seguir de forma meticulosa cuando realice un procedimiento (OMS, 2011). Se tomó de referencia bibliográfica guías técnicas de organizaciones internacionales, el manual: Sistema de gestión de calidad en el laboratorio apartado 16-4: Procedimiento Operativo Estándar (POE) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la guía del Curso de Gestión de Calidad para Laboratorios y el Curso de Gestión de Calidad y Buenas Prácticas de Laboratorio de Arbovirus, ambas de la Organización Panamericana de la Salud (OPS).

A continuación, se presenta la estructura del procedimientos operativos estándar:

Encabezado:

Logo de la Institución	Nombre de la Institución	Nombre de la Institución		
		Nombre del proceso		
Revisado por:			Versión:	
			Revisión:	
Aprobado por:			Fecha de	Página
			aprobación	

1. **Propósito:** establece los fines que se pretenden alcanzar con el procedimiento.
2. **Alcance:** define el campo de aplicación indicando las funciones, áreas, instalaciones y equipos a los que puede afectar.
3. **Responsabilidades:**

Actividad	Responsable
•	• Técnico de laboratorio

4. Documentos o registros:

Relación con otros documentos:	Referencias Bibliográficas:
Registros generados:	

5. Equipos y materiales:

● Equipo	●
● Materiales	●
● Reactivos	●
● Equipo de protección	●

6. Procedimiento

- 6.1. Consideraciones generales:
- 6.2. Protocolo:
- 6.3. Disposición de material utilizado

7. Cálculos

8. Diagrama de flujo

Fin del procedimiento.

Fuente: Laboratorio de Bacteriología de la Red de Laboratorios Veterinarios, MAG.
Organización Panamericana de la Salud (OPS).

5.2. Redacción de procedimiento operativo estándar para la preparación del medio de cultivo utilizado en la criopreservación de cepas bacterianas.

Los medios de cultivo son fundamentales para la criopreservación de cepas bacterianas, ya que proporcionan los nutrientes necesarios que permiten a las bacterias sobrevivir durante el proceso de congelación y almacenamiento a bajas temperaturas. Además, la incorporación de un agente crioprotector protege del daño que se puede producir en las células microbianas durante la congelación (Arencibia *et al.* 2008).

El propósito del POE es describir y estandarizar el proceso operativo para la preparación del medio de cultivo utilizado en la conservación de cepas microbiológicas. Este procedimiento se aplicará cada vez que se requiera realizar la criopreservación de cepas de referencia interna y será desarrollado por el Laboratorio de Preparación de Reactivos y Medios de Cultivo.

En esta actividad, se contó con el acompañamiento del personal del Laboratorio de Preparación de Reactivos y Medios de Cultivo. El procedimiento fue revisado y asesorado para asegurar su corrección y coherencia. Asimismo, el medio de cultivo fue evaluado mediante una prueba piloto, la cual resultó crucial para determinar su capacidad de mantener la viabilidad bacteriana durante el almacenamiento previo al uso.

El procedimiento escrito es un documento complementario al procedimiento operativo estándar para la criopreservación de cepas bacterianas. A continuación, se presenta el procedimiento operativo estándar para la preparación del medio de cultivo utilizado en la criopreservación de cepas bacterianas:

Logo de la Institución	Ministerio de Agricultura y Ganadería	Preparación de Reactivos y Medios de Cultivo		
		PTL	preparación del medio de cultivo utilizado en la criopreservación de cepas bacterianas	
Revisado por:			Versión:	
			Revisión:	
Aprobado por:			Fecha de aprobación	Página

1. Propósito

Describir el procedimiento empleado para la preparación del medio de conservación para las cepas microbiológicas aisladas a partir de las muestras del laboratorio de bacteriología.

2. Alcance

Laboratorio de Bacteriología, se aplica el Caldo Cerebro Corazón (CC) o caldo tripticasa y soya (CASOY) con la adición de glicerol AR 20%, para la preservación de cepas obtenidas a partir de casos clínicos veterinarios.

Laboratorio de Preparación de Reactivos y Medios de Cultivo, se aplica el Caldo Cerebro Corazón (CC) o caldo tripticasa y soya (CASOY) con la adición de glicerol AR 20%, para la preservación de cepas de referencia o de interés, utilizadas para evaluar el rendimiento de los medios de cultivo.

3. Responsabilidades

Actividad	Responsable
<ul style="list-style-type: none">● Preparación del caldo CC o caldo CASOY más glicerol AR 20%	<ul style="list-style-type: none">● Técnico de laboratorio

4. Documentos o registros

<p>1. Relación con otros documentos:</p> <ul style="list-style-type: none">● PTL5.2 Preparación y control de calidad de medios de cultivo.● PTL 5.3 Esterilización de Materiales y Medios de Cultivo. <p>2. Registros generados:</p> <ul style="list-style-type: none">● FTL 5.1.1 Registro de preparación de reactivos y medios de cultivo● FTL 5.3.3 Registro de resultados de indicadores químicos y biológicos - medios de cultivo y soluciones.	<p>3. Referencias Bibliográficas:</p>
--	---------------------------------------

5. Equipos y materiales

<ul style="list-style-type: none">• Equipo	<ul style="list-style-type: none">• Balanza analítica;• Agitador;• Autoclave;• Medidor de pH.
<ul style="list-style-type: none">• Materiales	<ul style="list-style-type: none">• Cuchara medidora;• Papel aluminio o encerado;• Piseta 100 ml;• Erlenmeyer de 500 ml;• Beaker de 50 ml;• Probeta de 50 ml;• Probeta de 250 ml;• Frasco de borosilicato de 250 ml;• Cinta Testigo;• Tirro;• Lapicero.
<ul style="list-style-type: none">• Reactivos	<ul style="list-style-type: none">• Medio de cultivo caldo cerebro corazón (CC);• Medio de cultivo caldo tripticasa y soya (CASOY);• Glicerol grado reactivo (AR);• Agua desionizada;• Soluciones buffer de calibración de medidor de pH (pH 4, pH 7 y pH 10).
<ul style="list-style-type: none">• Equipo de protección	<ul style="list-style-type: none">• Gabacha de laboratorio;• Guantes de látex o nitrilo;• Mascarilla;• Cofia.

6. Procedimiento

6.1. Preparación del medio de cultivo

- Anote los datos requeridos (Número de lote, Nombre del medio, cálculo de cantidad a pesar, volumen a preparar, pH) en el registro interno del laboratorio.
- Con la ayuda de una probeta de 250 ml medir 200 ml de agua desionizada y decantar aproximadamente 130 o 150 ml en el Erlenmeyer de 500 ml. el restante de agua agregarla a una piseta limpia.
- Encender la Balanza y esperar a que se estabilice e indique que ya es posible su uso.
- Colocar el papel de aluminio o encerado, el tamaño debe ser acorde a la cantidad a pesar del medio.
- Tarar la Balanza.
- Pesar la cantidad respectiva de medio de cultivo (CASOY 6.00 g/200 ml o CC 7.40 g/200 ml).
- Transferir el medio deshidratado pesado en el Erlenmeyer de 500 ml.
- Con ayuda del agua contenida en la piseta, arrastrar el medio que pudo quedar pegado en el papel y las paredes del Erlenmeyer, utilizar todo el volumen de agua de la piseta.
- Agitar y mezclar bien con ayuda de un agitador magnético hasta que todo el medio se disuelva y homogenice por completo la solución.
- Retirar 30 ml en un beaker de 50 ml para medición de pH del medio.
- Medir el pH del medio, este debe de estar dentro del rango indicado por el fabricante.
- Retirar 40 ml de la solución preparada para evaluación de la productividad y pruebas de esterilidad (los cuales serán vertidos en 8 tubos de 13x100mm conteniendo aproximadamente 5 ml cada uno)
- A los 130 ml de medio restante retirar 10 ml antes de agregar el volumen de glicerol calculado.
- Con la ayuda de una probeta de 50 ml, agregar el volumen de glicerol calculado (30 ml de glicerol AR), a los 120 ml de medio de cultivo restante.

- Mezclar hasta obtener una completa homogeneización del medio de cultivo y el glicerol.
- Colocar la solución en un frasco de vidrio de 250 ml. y rotular colocando el nombre del medio preparado, número de lote y vencimiento.
- Colocar cinta testigo al frasco de vidrio, beaker de control de pH y los tubos para ensayos de productividad y esterilidad.
- Colocar en las cestas de la autoclave.
- Esterilizar en autoclave a 121 °C con una presión \geq 15 PSI, durante 15 minutos.
- Retire el medio preparado esterilizado cuando el autoclave lo indique.
- Enfriar a temperatura ambiente.
- Una vez atemperado, almacenar en el cuarto frío hasta su uso.

6.2. Disposición de material utilizado

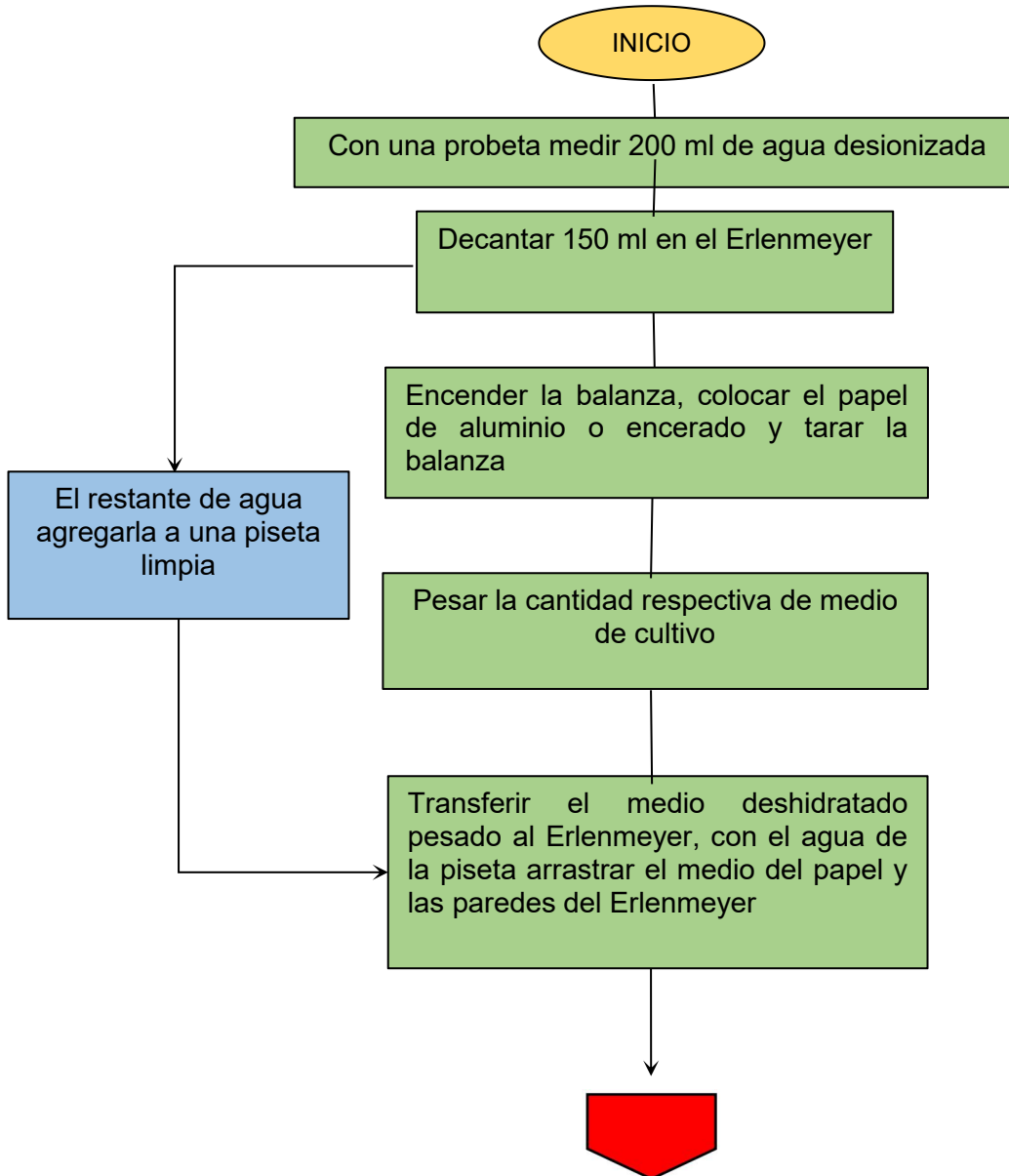
Material de vidrio deberá ser enviado a lavandería.

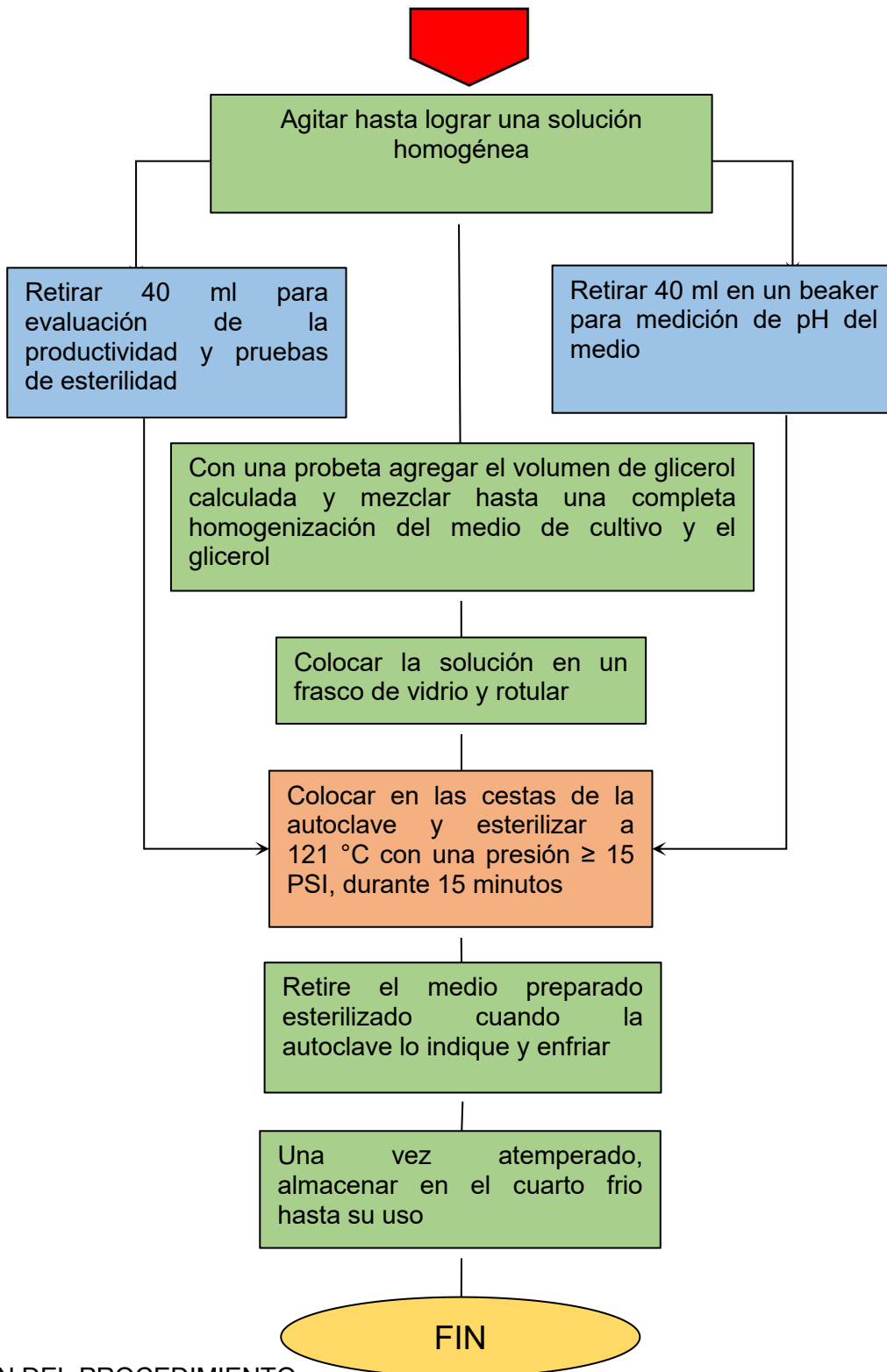
7. Cálculo de formula

- Para la preparación de una determinada cantidad de medio de cultivo:
- Aplicar regla de tres para poder conocer la cantidad de medio a preparar, si estas son inferiores o superiores a la base de trabajo de un litro.
- Ejemplo: según el fabricante del medio CC se deben pesar 37g para 1000 ml de agua, para preparar 200 ml, se debe realizar la siguiente regla de tres.
- Glicerol a utilizar al 20%.

Caldo CC	Caldo CASOY
<p>37 g (medio CC) ----- 1000 ml agua X g medio CC ----- 200 ml agua</p> <p>X= $\frac{37 \text{ g medio CC} \times 200 \text{ ml}}{1000 \text{ ml agua}}$</p> <p>X = 7.40 g de medio CC</p>	<p>30 g (medio CASOY) ----- 1000 ml agua X g medio CASOY ----- 200 ml agua</p> <p>X= $\frac{30 \text{ g medio CASOY} \times 200 \text{ ml}}{1000 \text{ ml agua}}$</p> <p>X = 6.00 g de medio CASOY</p>
Glicerol 20% AR	
<p style="text-align: center;">Fórmula a utilizar:</p> <p style="text-align: center;">% Volumen = $\frac{\text{V. soluto}}{\text{V. disolución}} \times 100$</p> <p>Donde:</p> <ul style="list-style-type: none"> ● % Volumen deseado = glicerol 20% ● V. soluto = ? volumen de glicerol 20% a agregar al medio preparado ● V. disolución = volumen total de medio preparado más glicerol 20% (150 mL) <p style="text-align: center;">$20\% = \frac{\text{V. soluto}}{150 \text{ mL}} \times 100$</p> <p style="text-align: center;">$\text{V. Soluto} = \frac{20\% \times 150 \text{ mL}}{100}$</p> <p style="text-align: center;">V. Soluto = 30 mL de glicerol 20% AR</p>	

8. **Diagrama de flujo:** Preparación del medio de cultivo.





5.3. Redacción de Procedimiento Operativo Estándar para la criopreservación de cepas bacterianas.

- Fase 1: Revisión bibliográfica.

Se llevó a cabo la revisión bibliográfica sobre la manipulación, conservación y almacenamiento de cepas bacterianas en manuales, libros, tesis y artículos científicos. La revisión bibliográfica fue fundamental para comprender la técnica de la congelación: conocida también como criopreservación (Bagatolli, 2017), sus aplicaciones, beneficios y limitaciones.

- Fase 2: Redacción del Procedimiento Operativo Estándar (POE).

Se inició la redacción del POE y sus elementos. Al redactar el procedimiento se incluyeron todos los pasos y detalles que explican cómo realizar el procedimiento adecuado para la criopreservación de las cepas bacterianas aisladas a partir de muestras clínicas veterinarias que ingresan al Laboratorio de Bacteriología.

- Fase 3: Diagrama de flujo.

La descripción de la criopreservación de una cepa bacteriana se llevó a cabo a través de un diagrama de flujo, en él se presenta de forma gráfica cada actividad del proceso. La referencia bibliográfica fue la simbología del Manual de Procesos de Laboratorio Clínico del Hospital Nacional de la Mujer de El Salvador (Anexo 1).

- Fase 4: Revisión y asesorías.

Se realizaron revisiones y asesorías del procedimiento operativo estándar para la criopreservación de cepas bacterianas con el objetivo de identificar errores e inconsistencias dentro del documento. La revisión aseguró que el procedimiento sea correcto y coherente, garantizando su calidad, validez y cumplimiento normativo.

La revisión bibliográfica y las asesorías permitieron obtener el Procedimiento Operativo Estándar para la criopreservación de cepas bacterianas. Este se describe en el apartado resultados y discusión.

5.4. Elaboración del flujograma *in situ* para la obtención y criopreservación de cepas bacterianas.

El flujograma *in situ* se elaboró con la finalidad de ilustrar de forma visual y estructurada la secuencia lógica de las actividades que conforman el procedimiento. Permitiendo identificar con claridad los pasos a seguir, los responsables de cada etapa, las decisiones clave dentro del proceso y los posibles puntos críticos. Además, el flujograma logra optimizar la eficiencia asegurando la calidad del proceso. Este se describe en el apartado resultados y discusión.

5.5. Prueba Piloto.

Una prueba piloto fue ejecutada para evaluar el diseño del POE desarrollado previo a su implementación completa y asegurar que los pasos descritos sean operativamente posibles. Además permitió identificar posibles fallas, ambigüedades, omisiones o contradicciones dentro del procedimiento.

Para su ejecución se estableció un periodo de congelación de 48 días a una temperatura de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se hizo uso de una cepa bacteriana aisladas en el laboratorio y los resultados demostraron que la cepa preservada mantenía su viabilidad y características fenotípicas (colonias ligeramente opacas de 2-3 mm en medio TSA y colonias no hemolíticas en agar sangre) durante el período de congelación establecido. Por tanto, el proceso descrito en el POE funciona como se espera, y que los resultados obtenidos son consistentes con el propósito establecido.

A continuación se describe la ejecución de la prueba piloto para verificar la viabilidad, confiabilidad y efectividad del procedimiento operativo estándar para la criopreservación de cepas bacterianas, antes de su implementación en el Laboratorio de Bacteriología.

Consideraciones generales: Para su ejecución, se proporcionó la cepa *Enterococcus faecalis*, una cepa salvaje aislada en el Laboratorio de Preparación de Reactivos y Medios de Cultivo, siendo de interés para dicho laboratorio. La cepa tiene una identificación por VITEK con un 99% de confianza (Figura N°3).

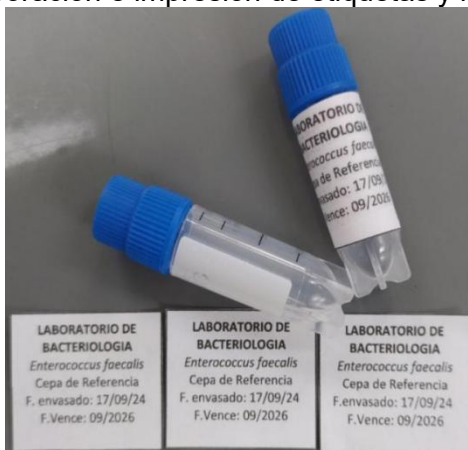
Figura N°3. Información de identificación de la cepa *Enterococcus faecalis* por VITEK 2 compact.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERIA																	
Cliente de bioMérieux:	Informe clínico Editado 12 de marzo de 2024 11:55:15 CDT																
Nombre del paciente: UES, FQF	N° paciente: Tesiscepa78																
Localización:	Médico:																
N° de examen: 780324	N° de aislamiento: 1																
Cantidad de organismo:																	
Organismo seleccionado: Enterococcus faecalis																	
Origen:	Recogida: 05-mar-2024																
Comentarios:																	
Información de identificación																	
Tiempo de análisis:	3,15 horas																
Estado:	Final																
Organismo seleccionado	99% Probabilidad Enterococcus faecalis																
Bionúmero:	114002745773671																
Mensajes de análisis de ID																	
Detalles bioquímicos																	
2	AMY	+	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	+	9	BGAL	-	11	AGLU	-
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	+	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-
20	LeuA	-	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	+	27	BGUR	-
28	AlaA	+	29	TyrA	+	30	dSOR	+	31	URE	-	32	POLYB	-	37	dGAL	+
38	dRIB	+	39	ILATk	-	42	LAC	+	44	NAG	+	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	+	50	NC6.5	+	52	dMAN	+	53	dMNE	+	54	MBdG	+	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	+	59	SAL	+	60	SAC	+	62	dTRE	+	63	ADH2s	+
64	OPTO	+															

Fuente: Laboratorio de Preparación de Reactivos y Medios de Cultivo del MAG, 2024.

Preparación de materiales: Se prepararon los materiales a utilizar durante el desarrollo del procedimiento (cristalería estéril, asas estériles, puntas estériles, viales estériles), se elaboró e imprimió las etiquetas para rotulado de los viales (Figura N°4).

Figura N°4. Elaboración e impresión de etiquetas y rotulado de viales.



Preparación del microorganismo: Se tomaron colonias de la placa con el aislado bacteriano (Figura N°5). Selección de colonias de *Enterococcus faecalis*. y se sembró en un medio nutritivo no selectivo, como son: agar tripticasa soya (TSA) y agar sangre, (Figura N°6-7). Se incubaron a 37 °C por 24 horas para obtener células del inicio de la fase estacionaria de la curva de crecimiento microbiológico.

Figura N°5. Selección de colonias de *Enterococcus faecalis*.



Figura N°6. Siembra en Agar tripticasa soya.

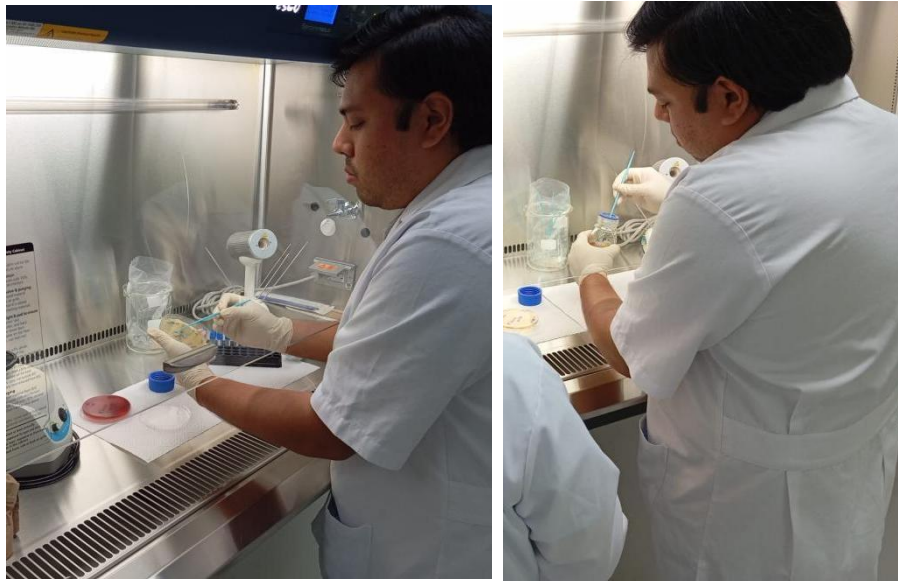


Figura N°7. Siembra en Agar sangre.



Preparación de la cepa a congelar: Pasado el periodo de incubación se inició con el Protocolo de criopreservación de cepas bacterianas; para ello se realizó en la cabina de bioseguridad. Se tomó del crecimiento bacteriano del inicio de la fase estacionaria y se preparó una suspensión en el caldo Infusión cerebro corazón (ICC) más 20% de glicerol AR (Figura N°8).

Figura N°8. Preparado de la suspensión en el caldo Cerebro corazón más 20% de glicerol AR.



- Se descartó y cambió el asa cada vez que se tomó y suspendió el microorganismo en el caldo.
- Se tapó y homogeneizó la suspensión bacteriana.
- La micropipeta se ajustó a un volumen de 750µl, se tomó de la suspensión y se dispensó dos veces en cada vial para hacer un volumen total de 1500µl, (Figura N°9). Periódicamente se reemplaza la punta que se empleaba para evitar contaminación.
- Se completaron todos los viales y se colocaron en Criobox.
- Para el congelamiento de las cepas se realizó un descenso gradual de la temperatura, pasando por una etapa de enfriamiento 2°C - 8°C por 1 hora, pasado el periodo de enfriamiento se llevaron a congelación -10°C - 20°C (Figura N°10).

Figura N°9. Envasado de la suspensión.

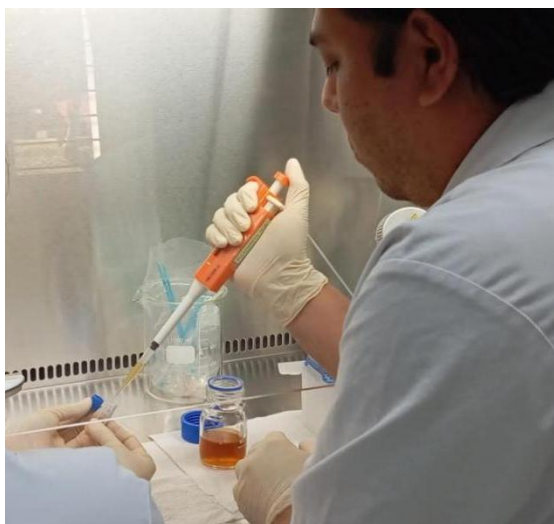


Figura N°10. Congelado de la suspensión.



El periodo de congelación de los viales fue de 48 días.

Resultados: 48 días post congelación se evaluó la viabilidad y características microscópicas de la bacteria criopreservada.

Descongelación y reactivación de la cepa.

- **Descongelación:** Se realizó una descongelación escalonada, retirando los crioviales mantenidos a -20°C , se llevaron a refrigeración de $2-4^{\circ}\text{C}$ y luego a temperatura ambiente.
- **Viabilidad:** En primera instancia se activó la cepa por el método de siembra por agotamiento en placa de Petri utilizando los medios de cultivo agar tripticasa soya (TSA) y agar sangre y de esta manera se logró evidenciar la viabilidad de la cepa pos periodo de congelación y mediante tinción de Gram se observó la morfología microscópica del microorganismo.

Los resultados pueden apreciarse en la Figura N°11 y Figura N°12.

Figura N°11. Colonias de *Enterococcus faecalis*, ligeramente opacas de 2-3 mm en medio TSA.

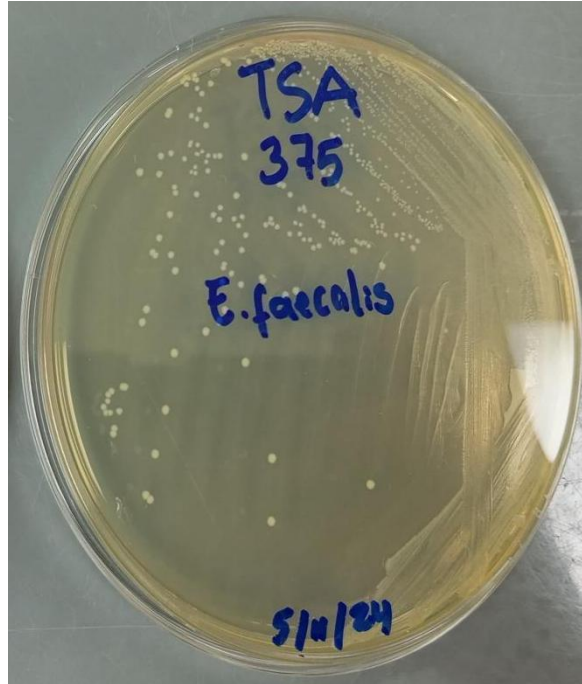
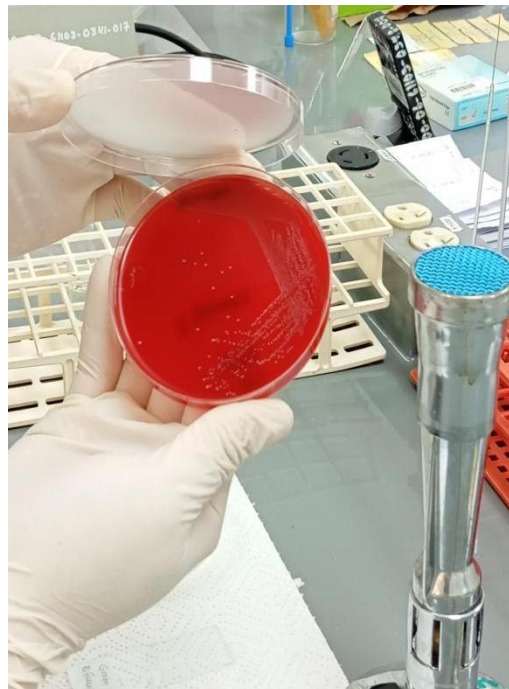


Figura N°12. Colonias de *Enterococcus faecalis* no hemolíticas en agar sangre.



En la figura N°11 se observa crecimiento positivo para *Enterococcus faecalis*, colonias ligeramente opacas de 2-3 mm en medio TSA y en la figura N°12 colonias de *Enterococcus faecalis* no hemolíticas en agar sangre.

Se realizó tinción de gram para la visualización de la morfología microscópica (Figura N°13 A y Figura N°13 B).

Figura N°13. A. Vista 100X, cocos grampositivos en pareja.

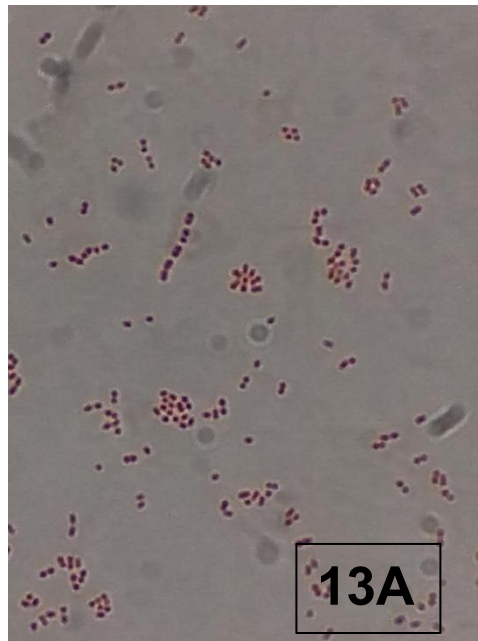
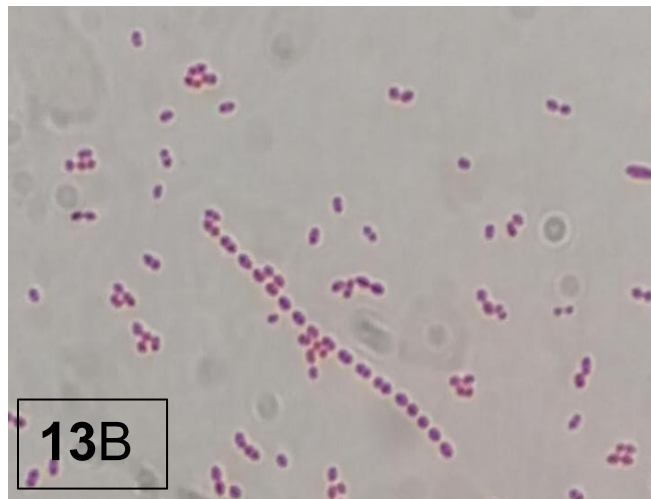


Figura N°13. B. Vista 100X cocos grampositivos en cadena.



Para la prueba piloto se elaboró un diagrama de flujo el cual facilitó la comprensión del proceso de conservación de la cepa (Anexo 2. Figura N°14).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los resultados obtenidos durante la pasantía de práctica profesional reflejan avances significativos en la estandarización de procedimientos dentro del Laboratorio de Bacteriología. A continuación, se presentan los principales logros y su impacto técnico en las actividades del laboratorio.

Se elaboró un Procedimiento Operativo Estándar para la obtención y criopreservación de cepas de referencia, basándose en guías técnicas de organizaciones internacionales; se tomó de referencia el manual: Sistema de gestión de calidad en el laboratorio apartado 16-4: Procedimiento Operativo Estándar (POE) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la guía del Curso de Gestión de Calidad para Laboratorios y el Curso de Gestión de Calidad y Buenas Prácticas de Laboratorio de Arbovirus, ambas de la Organización Panamericana de la Salud (OPS). La implementación de dicho POE representa una mejora sustancial en los procesos diagnósticos, al estandarizar los pasos necesarios para la criopreservación, garantizando así la calidad y reproducibilidad de los resultados. A continuación se presenta el Procedimiento Operativo Estándar para la Criopreservación de Cepas Bacterianas.

Logo de la Institución	MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA	LABORATORIOS DE BACTERIOLOGÍA		
		PTL	Criopreservación de cepas bacterianas.	
Revisado por:			Versión:	
			Revisión:	
Aprobado por:			Fecha de aprobación	Página

1. Propósito

Establecer los pasos a seguir para realizar la criopreservación de cepas bacterianas.

2. Alcance

Se aplica al proceso de criopreservación de cepas bacterianas obtenidas de muestras clínicas veterinarias procesadas en el laboratorio de Bacteriología.

3. Abreviaciones

- ICC: Infusión cerebro corazón.
- CASOY: Caldo tripticasa y soya.
- TSA: Tripticasa Soya Agar.
- AR: Grado reactivo.
- McF: MacFarland.

4. Responsabilidades

	Descripción	Responsable
Actividad	<ul style="list-style-type: none">● Identificación bioquímica de la cepa bacteriana (métodos tradicionales galería API, o automatizados como Viteck 2 compact).	<ul style="list-style-type: none">● Técnico de laboratorio
	<ul style="list-style-type: none">● Preparación de caldos: infusión cerebro corazón (ICC) o caldo tripticasa y soya (CASOY) más 20% de glicerol grado reactivo (AR).	<ul style="list-style-type: none">● Técnico de laboratorio
	<ul style="list-style-type: none">● Preparación de equipos y materiales.	<ul style="list-style-type: none">● Técnico de laboratorio
	<ul style="list-style-type: none">● Elaboración de etiquetas y rotulado de criviales.	<ul style="list-style-type: none">● Técnico de laboratorio
	<ul style="list-style-type: none">● Preparación de la suspensión y envasado.	<ul style="list-style-type: none">● Técnico de laboratorio
	<ul style="list-style-type: none">● Almacenamiento de la suspensión en ultracongelación.	<ul style="list-style-type: none">● Técnico de laboratorio

5. Documentos o registros

<p>Relación con otros documentos:</p> <ul style="list-style-type: none">● Preparación del medio de cultivo utilizado en la criopreservación de cepas bacterianas. <p>Registros generados: No aplica.</p>	<p>Referencias Bibliográficas:</p> <ul style="list-style-type: none">● Apartado 5.3.3. Conservación y mantenimiento de los microorganismos de ensayo. ISO 1133:14.● Bohórquez, S I. (2023). Manual de organización, reconstrucción y conservación del cepario de Microbiología, Laboratorio de Salud Pública de Santander.1-15.● Cuadrado Cano, B.; Vélez Castro, MT.; Infante Jiménez, C. (2015). <i>Biotecnología: de la teoría a la práctica</i>. (1 ed). Cartagena de Indias, Colombia. Editorial Universitaria.● García López, MD.; Uruburu Fernández, F. s.f. <i>La conservación de cepas microbianas</i>. Temas de actualidad. 30. 12-16.● Omar Flores, S. (2015). <i>Manual de ensayos: manipulación, almacenamiento, conservación, mantenimiento y uso del material de referencia</i>. Organización Nacional de Sanidad Pesquera. 1.11.● Dominick Flores, V. 2016. Protocolo criopreservación de cepas bacterianas. (1 ed). Instituto del mar de Perú. Perú.
--	--

6. Equipos y materiales

<ul style="list-style-type: none">● Equipos	<ul style="list-style-type: none">● Cabina de Bioseguridad;● Refrigeradora;● Ultra congelador;● Micropipeta de 200μL;● Micropipeta de 1000μL.
---	---

<ul style="list-style-type: none"> ● Materiales 	<ul style="list-style-type: none"> ● Asa descartable; ● Crioviales; ● Gradilla; ● Puntas estériles; ● Criobox; ● Cinta adhesiva; ● Etiqueta de información.
<ul style="list-style-type: none"> ● Reactivos 	<ul style="list-style-type: none"> ● Medio de cultivo Caldo Infusión Cerebro Corazón (ICC) más 20% de glicerol grado reactivo (AR); ● Medio de cultivo Caldo Tripticasa y Soya (CASOY) más 20% de glicerol grado reactivo (AR); ● Placas con aislado.
<ul style="list-style-type: none"> ● Equipo de protección 	<ul style="list-style-type: none"> ● Gabacha de laboratorio; ● Guantes de látex o nitrilo; ● Mascarilla; ● Cofia.

7. Procedimiento

7.1. Consideraciones generales

- Las cepas bacterianas a conservar deben tener una identificación por equipo VITEK (sistema automatizado de identificación bacteriana) con un mínimo de 95% de confianza u otro sistema comercial de identificación como galería API.
- Las cepas bacterianas a preservar deben ser de interés para la Red de Laboratorios Veterinarios. El laboratorio de bacteriología tiene interés por cepas de: *Salmonella sp*, *Vibrio sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Aeromona hydrophila*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomona aeruginosa*, *Enterococcus sp*. El laboratorio de preparación de reactivos y medios de cultivo tiene como interés las cepas de *Vibrio parahaemolyticus* y *Enterococcus faecalis*.

- Las cepas bacterianas identificadas que presentan características bioquímicas atípicas deben ser criopreservadas. Ejemplo de ello sería una *Escherichia coli* lactosa negativa, *Staphylococcus aureus* coagulasa negativo, *Salmonella spp* indol positivo o urea positiva.
- Preservar cepas bacterianas que se encuentren en el inicio de la fase estacionaria de la curva de crecimiento, por lo general es alrededor de las 24 horas de incubación.

7.2. Preparación de materiales

- Preparar los materiales que se utilizaran para el desarrollo del procedimiento.
- Seleccionar la cantidad de crioviales según la disponibilidad y el volumen de caldo preparado. Por ejemplo, con 150 ml de caldo infusión cerebro corazón (ICC) o caldo tripticasa y soya (CASOY) más 20% de glicerol grado reactivo (AR) y viales de 2 ml, se dispensará 1.5 ml (1500 µl) por vial, obteniendo un total de 100 crioviales.

7.3. Etiquetado de crioviales

- Elaborar e imprimir etiquetas para los crioviales.
- La fecha de preparación es el día en que se suspende el microorganismo en los caldos infusión cerebro corazón (ICC) o caldo tripticasa y soya (CASOY) más 20% de glicerol grado reactivo (AR).
- La fecha de vencimiento se tomará a los 2 años a partir del momento en que las cepas son llevadas a ultracongelación -70°C.
- Identificar cada criovial con etiquetas que contengan la siguiente información:

Nombre de Laboratorio
Cepa de REFERENCIA
Nombre de la cepa
Fecha de preparación:
Fecha de vencimiento:
Número de lote:
Nombre del técnico:

7.4. Preparación de suspensión de la cepa a congelar

Mantener asepsia utilizando un mechero o cabina de bioseguridad.

- A partir del medio de cultivo nutritivo no selectivo Tripticasa soya agar (TSA) con la bacteria aislada (células del inicio de la fase estacionaria de la curva de crecimiento), prepare la suspensión de la bacteria identificada en los frascos con ICC o CASOY más 20% de glicerol AR, correspondiente al tubo 4 de la escala McF (7.5×10^8 UFC/ml).
- Tapar y homogeneizar los frascos con caldo infusión cerebro corazón (ICC) o caldo tripticasa y soya (CASOY) más 20% de glicerol grado reactivo (AR).
- Ajustar la micropipeta al volumen que se desea dispensar en los crioviales.
- Tomar de la suspensión y dispensar en cada vial para hacer el volumen total deseado. Siempre se debe hacer con cuidado para evitar derrames.
- Descartar las puntas y colocar una nueva después de cada ciclo de aspiración/dispensar, cada 10 crioviales. En caso de accidentes como derrame, la punta haga contacto con otra superficie o fallo en el aspirado descartar la punta y colocar una nueva. En caso de derrame aplicar alcohol 70% y limpiar.
- Completar todos los crioviales.
- Colocar los crioviales en Criobox.

7.5. Proceso de congelamiento

- Para el congelamiento de las cepas se deberá realizar un descenso gradual de la temperatura, pasando por una etapa de refrigeración $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$, congelación $-10^{\circ}\text{C} - 20^{\circ}\text{C}$ y por último llevar a ultra congelación -70°C , en un lapso de tiempo de 8 horas.

7.6. Control de calidad

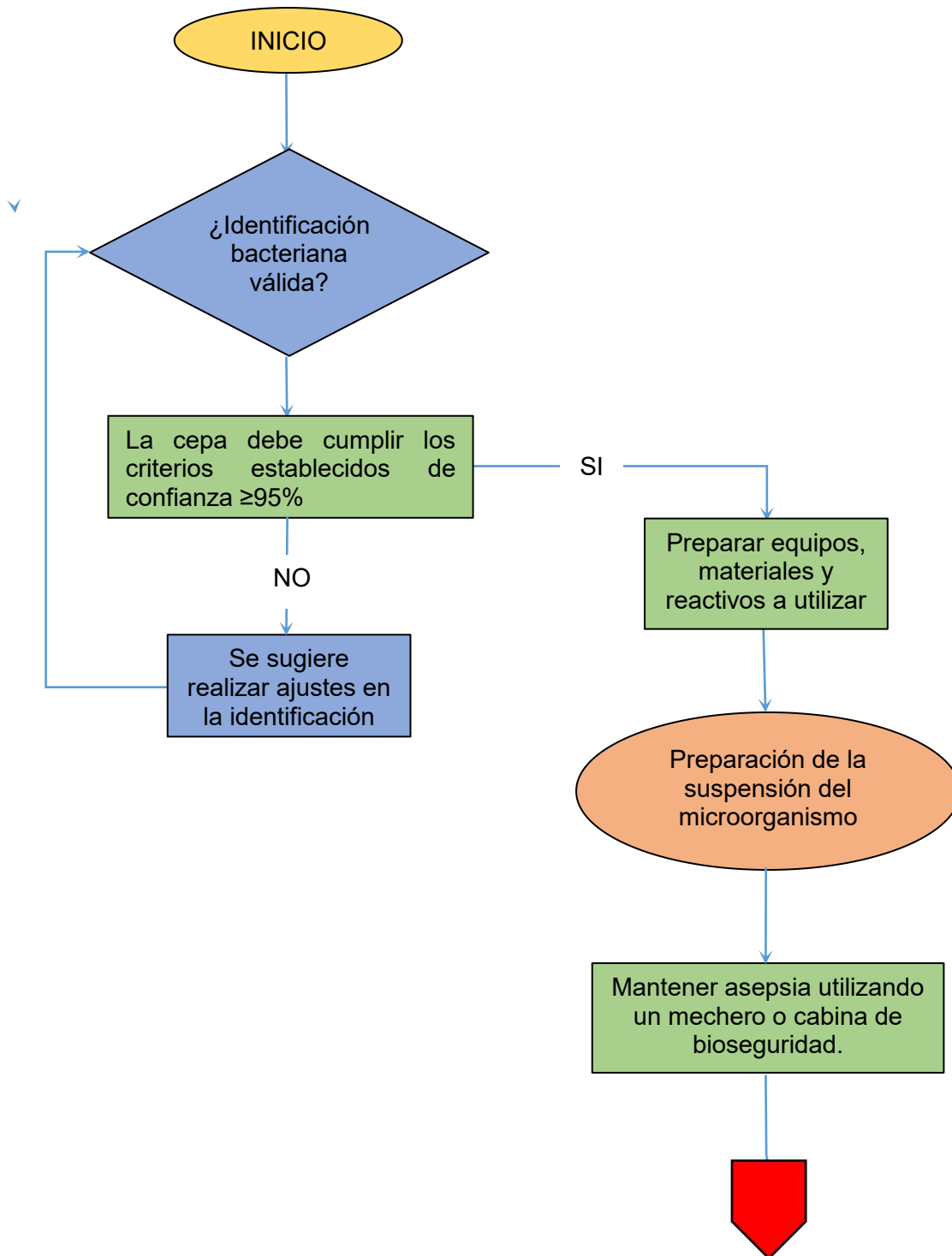
- Como criterio de estabilidad de la conservación de las cepas se debe realizar controles de viabilidad y pureza de las cepas cada 6 meses. Para determinar su habilidad de crecer, dividirse y formar colonias.
- Para bacterias que requieran un medio de cultivo específico para su crecimiento se deben evaluar dichos parámetros en el medio de cultivo que lo requiera. Para bacterias de fácil obtención se deben evaluar los parámetros en agar cuenta gérmenes (ACG) o Tripticasa soya agar (TSA). Observar crecimiento de la bacteria y la morfología esperada en el medio de cultivo a las 24 o 48 horas post incubación.

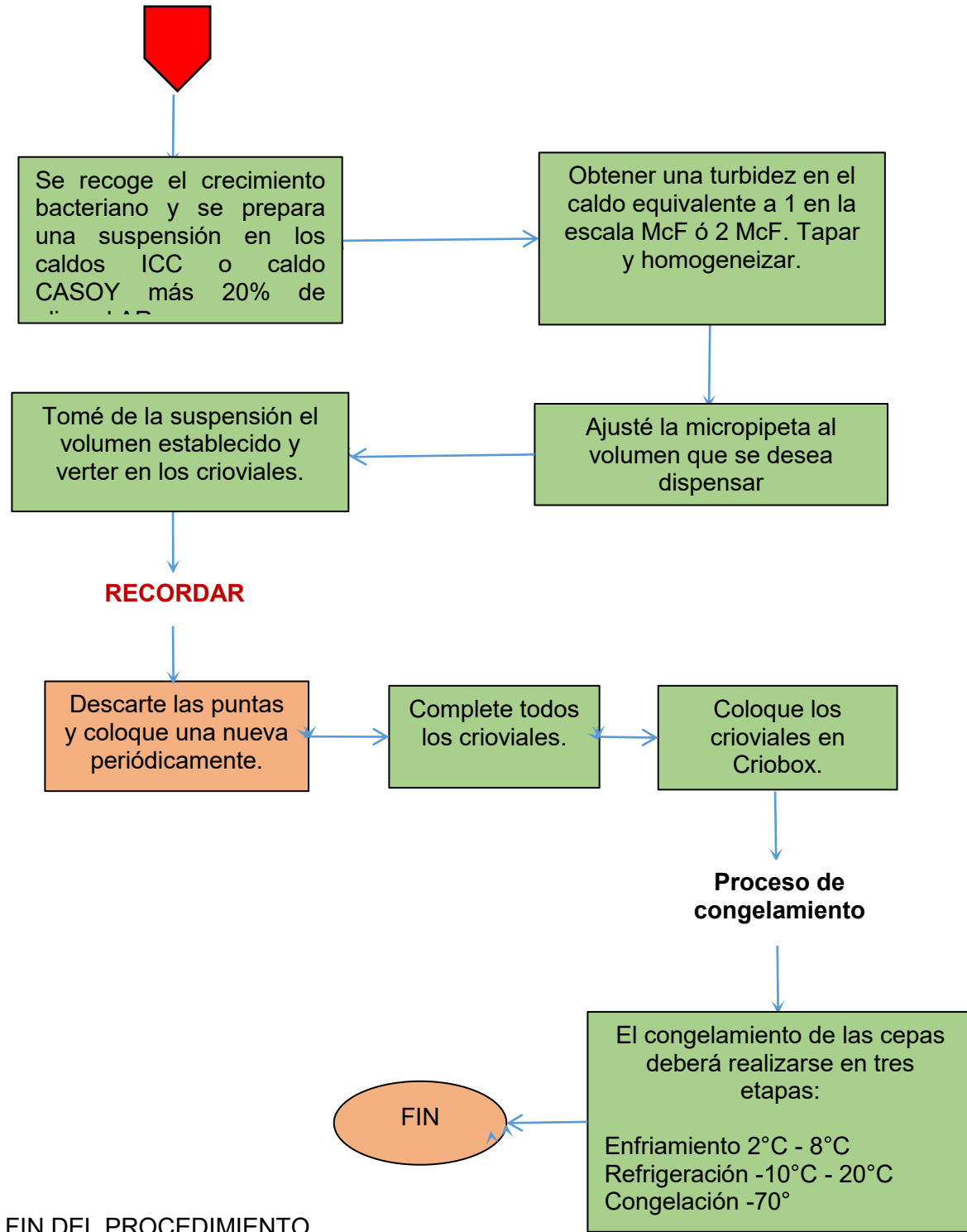
8. Buenas prácticas en la criopreservación

- Se debe comprobar la esterilidad de la cristalería, garantizar la existencia de asas estériles, puntas estériles, así como de crioviales estériles.
- Se deben utilizar, de preferencia crioviales de polipropileno graduado, estéril, con tapón de rosca y junta interna de silicona que aseguren una hermeticidad total y una base firme.
- Mantener asepsia utilizando un mechero o cabina de bioseguridad.
- Asegurarse que los aislados estén libres de contaminantes.
- El proceso de congelación de la suspensión del microorganismo debe ser gradual, para evitar la producción de cristales de hielo.

9. Diagrama de flujo

Esquema general del proceso de criopreservación de cepas bacterianas.



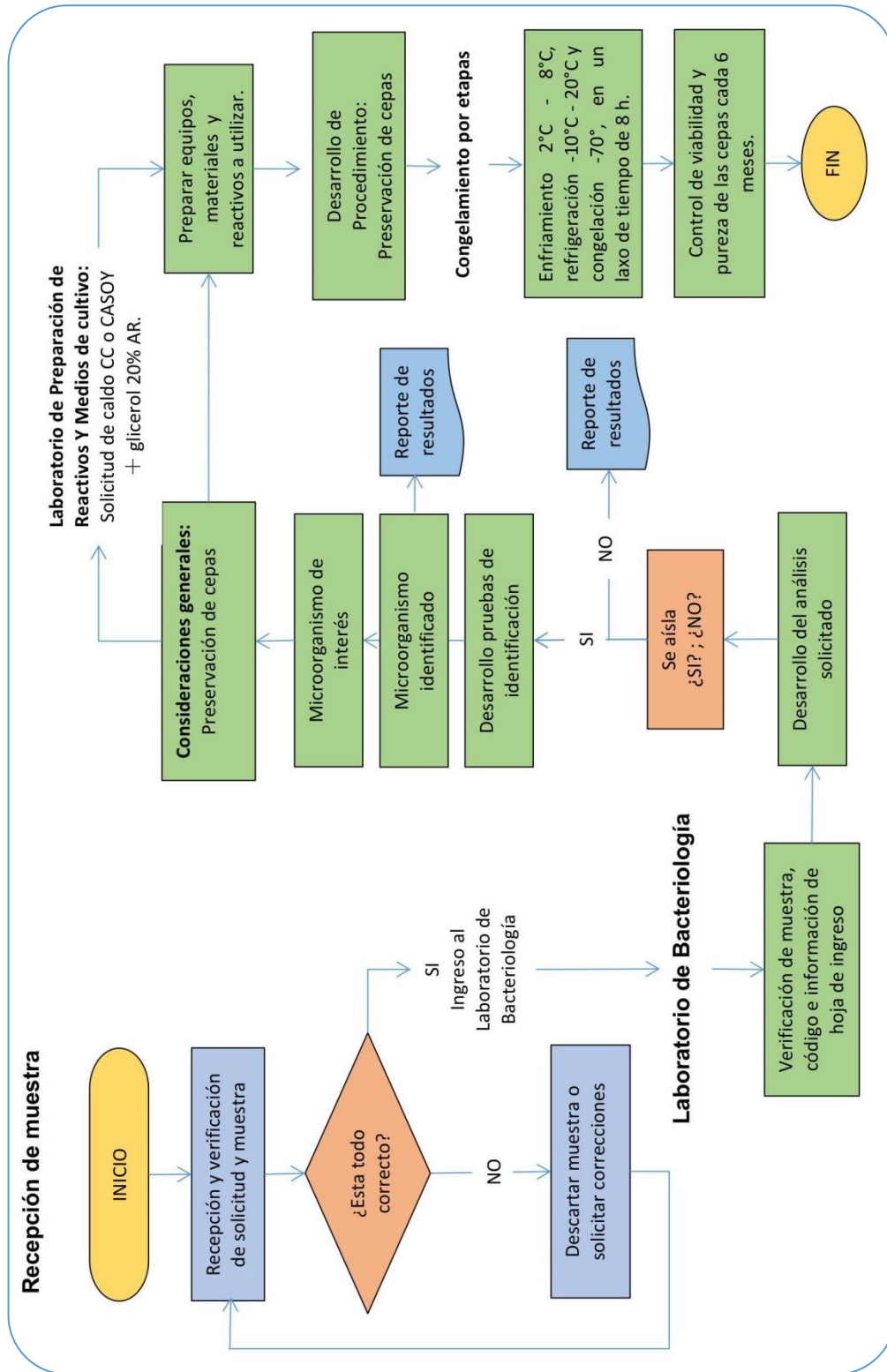


Se diseñó un flujograma que representa gráficamente los pasos para la obtención y criopreservación de cepas bacterianas, aplicando simbología del Manual de Procesos de Laboratorio Clínico del Hospital Nacional de la Mujer de El Salvador, facilitando su comprensión y aplicación dentro del laboratorio. En la figura N°14. se presenta la descripción gráfica de la obtención y criopreservación de cepas bacterianas aisladas de muestras clínicas veterinarias.

Una prueba piloto fue ejecutada para verificar la viabilidad, confiabilidad y efectividad del POE antes de su implementación definitiva. A través de esta, fue posible identificar posibles fallos y ajustes necesarios. Se observó que la cepa bacteriana criopreservada conservó su viabilidad y características fenotípicas después del periodo de 48 días a una temperatura de -10°C a -20°C , por lo que se validó la eficacia del procedimiento propuesto.

Finalmente, durante la validación del POE se aplicaron criterios técnicos esenciales, tales como la verificación de la viabilidad y pureza microbiológica de las cepas preservadas, estabilidad en almacenamiento, eficiencia del procedimiento y cumplimiento de normativas internacionales. Dichos elementos confirmaron la solidez técnica del POE y su aplicabilidad en entornos laborales especializados.

Figura N°14. Flujoograma obtención y criopreservación de cepas bacterianas.



7. CONCLUSIONES

1. La implementación del Procedimiento Operativo Estándar (POE) para la obtención y criopreservación de cepas de referencia fortalecerá considerablemente la estandarización y la calidad de los procesos diagnósticos en el Laboratorio de Bacteriología.
2. La validación del POE a través de pruebas piloto demostró su eficacia, confiabilidad y viabilidad, asegurando la preservación de las características esenciales de las cepas bacterianas durante el almacenamiento.
3. El desarrollo de herramientas como flujogramas y el uso de simbología internacional facilitó la comprensión y aplicación de los procedimientos contribuyendo a una mayor eficiencia operativa.
4. Se identificó la importancia de la capacitación continua y la actualización profesional, especialmente en la interpretación de resultados bacteriológicos y el cumplimiento de estándares internacionales.

8. RECOMENDACIONES

1. Continuar con la capacitación del personal en la aplicación y actualización de los Procedimientos Operativos Estándar, para mantener altos estándares de calidad y adaptarse a nuevas normativas internacionales.
2. Realizar revisiones y mejoras al POE, incorporando experiencias prácticas y avances científicos que optimicen la criopreservación y el manejo de las cepas bacterianas.
3. Promover la colaboración interdisciplinaria y el intercambio de experiencias con otros laboratorios especializados, con el objetivo de enriquecer las prácticas y fortalecer las capacidades técnicas del equipo.
4. Desarrollar y mantener programas de formación continua en microbiología veterinaria, enfocados en áreas críticas como el control de calidad, la interpretación de resultados y la incorporación de nuevas tecnologías.

9. BIBLIOGRAFÍA

Apartado 5.3.3. Conservación y mantenimiento de los microorganismos de ensayo. ISO 1133:14.

Arencibia, DF., Rosario, LA., Gamez, R. 2008. Métodos generales de conservación de microorganismos. Finlay Ediciones. 14 p. (en línea). Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/262724715_Metodos_generales_de_conservacion_de_microorganismos]. Consulta: 18 de febrero de 2025.

Bagatolli Garófoli, CD. 2017. Validación de un método alternativo para la conservación de bacterias. Tesis Licenciatura en Bromatología. Chacras de Coria Mendoza. Argentina. Universidad Nacional de Cuyo. 108 p. (en línea). Disponible en: [https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/8571/tesis-brom.-bagatolli-garfoli-2017.pdf]. Consulta: 10 de abril de 2024

Bohórquez, S I. (2023). Manual de organización, reconstrucción y conservación del cepario de Microbiología, Laboratorio de Salud Pública de Santander. 1-15.

Cea Henriquez, G A; Bernal Serrano, J D; Machuca de Castillo, B M. 2016. Manual de Procesos de Laboratorio Clínico. 1ed. San Salvador, El Salvador.

Cuadrado Cano, B.; Vélez Castro, MT.; Infante Jiménez, C. (2015). *Biotecnología: de la teoría a la práctica*. (1 ed). Cartagena de Indias, Colombia. Editorial Universitaria.

García López, MD.; Uruburu Fernández, F. s.f. *La conservación de cepas microbianas*. Temas de actualidad. 30. 12-16.

Google. 2025. [Ubicación geográfica del MAG El Matazano]. (en línea). Recuperado de https://www.google.com/maps/dir//Calle+Al+Matazano+2265,+San+Salvador/@13.6882568,89.2215493,12z/data=!4m8!4m7!1m0!1m5!1m1!1s0x8f633705602f06f5:0x1fa80522ae0628fa!2m2!1d89.1391428!2d13.6883119?entry=ttu&g_ep=EgoYMDI1MTAwOC4wIKXMDSOASAFQAw%3D%3D

MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). 2025. Marco Institucional. (en línea).
Disponibile en: [<https://www.mag.gob.sv/marco-institucional/>]

Negrón, Marta. 2009. Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. 2a ed.
Buenos Aires: Medicina Panamericana. ISBN 978-950-06-1584-6.

Red de Laboratorios Veterinarios. 2024. MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería).

Laboratorio de Preparación de Reactivos y Medios de Cultivo. 2024. MAG (Ministerio de
Agricultura y Ganadería).

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2011. Sistema de gestión de la calidad en el
laboratorio: manual. (en línea). 271 p. ISBN: 9789243548272. Disponible en:
[<https://www.who.int/es/publications/i/item/9789241548274>].

Omar Flores, S. (2015). Manual de ensayos: manipulación, almacenamiento,
conservación, mantenimiento y uso del material de referencia. Organización
Nacional de Sanidad Pesquera. 1.11.



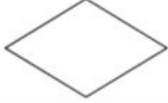







OPS (Organización Panamericana de la Salud). 2005. Curso de gestión de calidad para
laboratorios (en línea). Washington D.C. 31 p. Disponible en:
[<https://www3.paho.org/Spanish/AD/THS/EV/labs-CGC-MOD3.pdf>]

OPS (Organización Panamericana de la Salud). 2019. Curso de Gestión de la Calidad y
Buenas Prácticas de Laboratorio de Arbovirus. (en línea). Washington D.C. 448
p. Disponible en: [<https://www.paho.org/sites/default/files/2023-12/ops-curso-gestion-calidad-buenas-practicas-laboratorio-arbovirus.pdf>]

Red de Laboratorios Veterinarios del MAG. 2024. Estructura organizativa de los
laboratorios.

10. ANEXOS.

Anexo 1. Simbología estándar internacional para la elaboración de flujograma *in situ*.

	<p>TERMINAL. (INICIO / FIN)</p> <p>Indica el inicio o terminación de procedimientos.</p>
	<p>OPERACIÓN / ACTIVIDAD.</p> <p>Representa la realización de una actividad u operación relativa a un proceso</p>
	<p>DECISIÓN O ALTERNATIVA.</p> <p>Índica un punto dentro del flujo en que son posibles caminos alternativos.</p>
	<p>DOCUMENTO.</p> <p>Índica que un documento utilizado, es distribuido en una actividad determinada.</p>
	<p>DATOS</p> <p>Indica la salida y entrada de datos.</p>
	<p>CONECTOR DENTRO DE PAGINA,</p> <p>Representa la continuidad del diagrama dentro de la misma Página. Enlaza dos pasos no consecutivos en una misma página.</p>
	<p>CONECTOR DE PÁGINA</p> <p>Representa la continuidad del diagrama en otra página. Representa una conexión o enlace con otra hoja diferente en la que continua el diagrama de flujo.</p>
	<p>ARCHIVO DEFINITIVO.</p> <p>Representa un archivo común y corriente, donde se conserva un documento permanentemente.</p>
	<p>ARCHIVO TEMPORAL</p> <p>Representa un archivo provisional. El número indica en que actividad se volverá a utilizar el documento.</p>
	<p>DIRECCIÓN DE FLUJO O LINEA DE UNIÓN.</p> <p>Conecta los símbolos señalando el orden en que se deben realizar las distintas actividades.</p>

Fuente: Cea *et al.* 2016.

Anexo 2. Figura N°15. Diagrama del proceso de criopreservación de la cepa bacteriana utilizado en la prueba piloto.

