



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

Departamento de Exámenes Profesionales

MANUAL DE CALIDAD PARA UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA EN LA INDUSTRIA CARNICA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A :

JENNYFER KATHERINE ORTEGA SALAZAR

DIRECTORA DE TESIS: M. en C. ADRIANA LLORENTE BOUSQUETS.

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO. 2002.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACIÓN

DISCONTINUA



UNIVERSIDAD ESTADAL
DE HIDALGO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Manual de calidad para un laboratorio de microbiología en la industria
cárnica.

que presenta la pasante: Jennyfer Katherine Ortega Salazar
con número de cuenta: 9460200-1 para obtener el título de :
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de Noviembre de 2001

- PRESIDENTE M. en C. Clara Ines Alvarez Manrique *Clara Ines Alvarez M.*
- VOCAL M. en C. Adriana Llorente Bousquets *Adriana Llorente B.*
- SECRETARIO I.A. Rosalva Meléndez Pérez *Rosalva Meléndez Pérez*
- PRIMER SUPLENTE I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez *Saturnino Maya Ramírez*
- SEGUNDO SUPLENTE I.A. Ana María Soto Bautista *Ana María Soto Bautista*

Esta tesis es el resultado de la compilación, análisis y sistematización de la Metodología Oficial (nacional e internacional) de Análisis Microbiológicos, que ha servido de apoyo a los proyectos de la Cátedra de Investigación "Tecnología de Productos Cárnicos" de esta Facultad.

Gracias Dios:

Para llegar hasta aquí, me obsequiaste la gran fortuna de tener el apoyo y cariño de mis Papás y mis hermanos a quienes adoro, de contar con la guía de Adriana que me brindó el mejor ejemplo para disfrutar y conducir esta profesión con el compromiso de ser mejor cada día, de las mejores e invaluable muestras de amistad, y por supuesto de la extraordinaria oportunidad de aprender tantas y tantas cosas que no terminaría de nombrar. Por permitirme vivir todo esto, Gracias.

Jennyfer

Agradezco la orientación, así como, su disponibilidad y apoyo
a los profesionales en el área
que participaron en la revisión de esta tesis.

Un agradecimiento muy especial a **3M Microbiología**
por su asesoramiento y amable colaboración.

Gracias UNAM por la gran oportunidad y la experiencia

*"Reunir sus conocimientos y sus sentimientos es la mejor
ayuda que puede brindar un hombre a este mundo"*

INDICE

	Pág.
INDICE DE TABLAS	i
INDICE DE FIGURAS	iii
RESUMEN	iv
OBJETIVOS	v
CAPITULO 1	
EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA EN UNA INDUSTRIA CÁRNICA	1
1.1. UBICACIÓN DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA EN LA ESTRUCTURA ORGANIZATIVA DE UNA EMPRESA CÁRNICA	2
1.1.1. Interrelación del Laboratorio de Microbiología con las diferentes áreas de la empresa	5
1.2. POLÍTICAS DE CALIDAD DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA	5
1.3. DESCRIPCIÓN DE RESPONSABILIDADES	6
CAPITULO 2	
EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA	8
2.1. INSTALACIONES Y ÁREAS FÍSICAS	9
2.2. SERVICIOS	14
2.2.1. Instalaciones eléctricas.	14
2.2.2. Instalaciones hidráulicas	15
2.2.3. Drenaje	15
2.2.4. Instalaciones de gas	16
2.2.5. Instalaciones de aire comprimido	16
2.3. AMBIENTE	17
2.3.1. Iluminación	18
2.3.2. Ventilación	19
2.4. SEGURIDAD	21
2.4.1. Seguridad de las instalaciones	21
2.4.2. Equipo de seguridad	21
2.4.3. Señales de seguridad	24
2.5. MATERIALES Y EQUIPO	24
2.5.1. Equipo	24
2.5.2. Material de vidrio	26
2.5.3. Medios de cultivo	26
2.5.4. Reactivos	27
2.6. PERSONAL	28

2.7. SISTEMA DE REGISTRO	28
--------------------------	----

CAPITULO 3 FUNCIONES DE CONTROL DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA	30
---	-----------

3.1. INSTALACIONES	31
3.2. SALUD E HIGIENE DEL PERSONAL	33
3.3. CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE MATERIAS PRIMAS	35
3.4. LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN	36
3.5. CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA	37
3.6. AMBIENTE	37
3.7. AUDITORIAS	38

CAPITULO 4 BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO	39
---	-----------

4.1. PERSONAL	40
4.2. MANEJO DE MATERIALES Y EQUIPO	41
4.2.1. Equipo	41
4.2.2. Material de vidrio	44
4.2.3. Medios de cultivo	45
4.2.4. Reactivos	46
4.3. SISTEMA DE REGISTRO	46
4.4. MUESTREO	50
4.4.1. Planes de muestreo	52
Plan de <i>dos clases</i>	59
Plan de <i>tres clases</i>	61
4.4.2. Toma de muestra	66
Material para la toma de muestra	67
Consideraciones para la toma de muestra	69
Identificación de la muestra	70
Conservación y transporte de la muestra	71
Registro de la muestra	72
4.4.3. Métodos para el muestreo de carne y productos cárnicos	72
Muestreo de la canal de cerdo y bovino, carnes refrigeradas	72
Muestreo de carne fresca, refrigerada, congelada, curada, seca, salada, ahumada	74
Muestreo de carcasas de ganado bovino, ovino, carne deshuesada, refrigerada o no.	75
Muestreo de carne molida	75
Muestreo de canales de aves	75
4.5. BUENAS PRÁCTICAS DE ANÁLISIS	76
4.5.1. Preparación y manejo de la muestra	77
4.5.2. Preparación de diluciones decimales	80
4.5.3. Preparación de medios de cultivo	83

4.5.4. Técnicas Oficiales de Análisis Microbiológico (NOM)	85
4.5.5. Análisis e interpretación de resultados	94
4.5.6. Métodos Rápidos de Diagnóstico Microbiológico	97
4.6. MEDIDAS DE SEGURIDAD	105
4.6.1. Manejo de materiales peligrosos	105
4.6.2. Manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos	108
4.6.3. Control de emergencias	109
DISCUSIÓN	111
CONCLUSIONES	113
LITERATURA CITADA	114
Anexos	119

INDICE DE TABLAS

Tabla No.	Título	Pág.
1	Colores de seguridad para tuberías y su significado	16
2	Niveles mínimos de iluminación	18
3	Señales de seguridad	25
4	Medios de cultivo empleados para la determinación de diferentes microorganismos según Normas Oficiales Mexicanas	27
5	Registro de adquisición de equipo	47
6	Registro de mantenimiento de equipo	47
7	Registro de reparación de equipo	48
8	Registro de reactivos	48
9	Bitácora de medios de cultivo	49
10	Registro de muestra	49
11	Bitácora de control ambiental	50
12	Ejemplos de severidad de planes de muestreo de acuerdo con los valores de n y c.	60
13	Planes de muestreo recomendados para combinaciones de diferentes grados de peligrosidad para la salud en diversas condiciones de manipulación	64
14	Interrelación de categoría, pruebas microbiológicas y condiciones para diferentes productos cárnicos	65
15	Especificaciones sanitarias microbiológicas según Normas Oficiales Mexicanas para diferentes productos cárnicos	86

16	Normas Oficiales Mexicanas correspondientes a las determinaciones de microorganismos en productos cárnicos	87
17	Características de las colonias de <i>Salmonella</i> según el medio de cultivo empleado	95
18	Selección de colonias para realizar pruebas confirmativas de <i>Staphylococcus aureus</i>	96

INDICE DE FIGURAS

Figura No.	Título	Pág.
1	Estructura organizativa de una empresa de embutidos	3
2	Estructura organizativa de la Dirección de Aseguramiento de Calidad	4
3	Curva característica de operación.	54
4	Representación de un lote	55
5	Método de Reposición	56
6	Representación gráfica de un plan de muestreo de dos clases	59
7	Representación gráfica de un plan de muestreo de tres clases	61
8	Elección del plan de muestreo según la prueba a realizar	66
9	Preparación de diluciones decimales	82
10	Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa	88
11	Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos	89
12	Método para la determinación de bacterias coliformes.NMP.	90
13	Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa	91
14	Método para la determinación de <i>Salmonella</i> en alimentos	92
15	Método para la determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> en alimentos	93
16	Movimientos de caja Petri para el mezclado u homogeneizado de siembra en profundidad	94
17	Etapas para el recuento de microorganismos usando placas Petrifilm	98

RESUMEN

El Laboratorio de Análisis Microbiológicos en una Industria de Alimentos se considera parte del Laboratorio de Control de Calidad, el cual es una herramienta clave de todo programa que busque garantizar la inocuidad de los alimentos. Es el que brinda la certidumbre de que un producto cumple con las especificaciones o normas respectivas. Ayuda a identificar a un alimento como el responsable de una Enfermedad Transmitida por Alimentos (ETA), e identifica el origen de la contaminación de los mismos: superficies que entran en contacto con los alimentos, materias primas, personal, ambiente, etc., además desempeña un papel especial en la instrumentación de herramientas, procedimientos o sistemas para mejorar o garantizar la calidad e inocuidad de los alimentos, como el Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control o la normatividad ISO 9000.

Debido a su composición, pH y actividad de agua, la carne y los productos cárnicos son alimentos altamente perecederos y constituyen un medio favorable para la mayor parte de las contaminaciones microbianas, son responsables en segundo lugar de las intoxicaciones de origen alimentario. Los principales agentes microbianos patógenos en la carne y sus productos son *Salmonella*, *E coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, etc. y sus aminos tóxicas. Resulta de especial interés que el procesamiento y manipulación antes y después del sacrificio de los animales que se utilizan para abasto, así como la elaboración de productos cárnicos, se realicen bajo estricto control sanitario, de acuerdo con la legislación alimentaria de competencia.

Dada la importancia de los análisis microbiológicos el Laboratorio de Microbiología:

- Deberá operar eficientemente para ofrecer los criterios de aceptación o rechazo que permitan verificar que las materias primas, el producto en proceso o terminado, se encuentren dentro de las especificaciones microbiológicas establecidas por la empresa y se dé cumplimiento con las Normas Oficiales.
- Deberá aplicar las Buenas Prácticas de Laboratorio desde la selección del plan de muestreo para el análisis microbiológico hasta la generación del informe de resultados, que garanticen la eficiencia de su personal, de sus instalaciones, de los métodos analíticos, calidad de reactivos, medios de cultivo, equipo e instrumentos empleados.
- Ofrecerá el apoyo para el control sanitario de instalaciones, de las operaciones de limpieza y desinfección, de la calidad bacteriológica del agua y ambiental, así como de la salud e higiene del personal.
- Proporcionará el apoyo técnico para el desarrollo de especificaciones sanitarias en los aspectos antes mencionados.
- Generará la documentación de sus actividades, para la aplicación de acciones correctivas o establecimiento de especificaciones según se requiera.

Para lo cual se requiere del compromiso de la dirección, del personal administrativo, técnico y operativo.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Integrar un Manual para el Laboratorio de Microbiología de una industria cárnica definiendo su función dentro de la empresa, los requerimientos para su instalación, su participación en actividades de control de calidad y reafirmando los lineamientos para su operación de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar las políticas y responsabilidades del personal para la operación del laboratorio de microbiología y su interrelación con las demás áreas de una empresa cárnica.
2. Establecer los lineamientos y requerimientos para la instalación de un laboratorio de microbiología en una empresa cárnica.
3. Establecer las funciones de control en las que participa el laboratorio de microbiología en una empresa cárnica.
4. Reafirmar los procedimientos de operación e instrucciones de trabajo para el desarrollo de las actividades en el laboratorio de microbiología, de acuerdo con los elementos de Buenas Prácticas de Laboratorio establecidos en la normatividad nacional e internacional.

CAPITULO 1

EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA EN UNA INDUSTRIA CÁRNICA

1.1 UBICACIÓN DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA EN LA ESTRUCTURA ORGANIZATIVA DE UNA EMPRESA CÁRNICA

La organización interna de una empresa contribuye a ordenar los medios para que los recursos humanos, trabajen en forma unida y efectiva asignando responsabilidades para el logro de los objetivos generales y específicos de esta. Para ello es necesario formular la estructura organizacional adecuada, la cual representa la autoridad y las diversas combinaciones de la división de funciones, especifica las relaciones que deben existir entre las actividades y los órganos de decisión de una empresa, así como las líneas de autoridad formal que se fijan. ²⁶

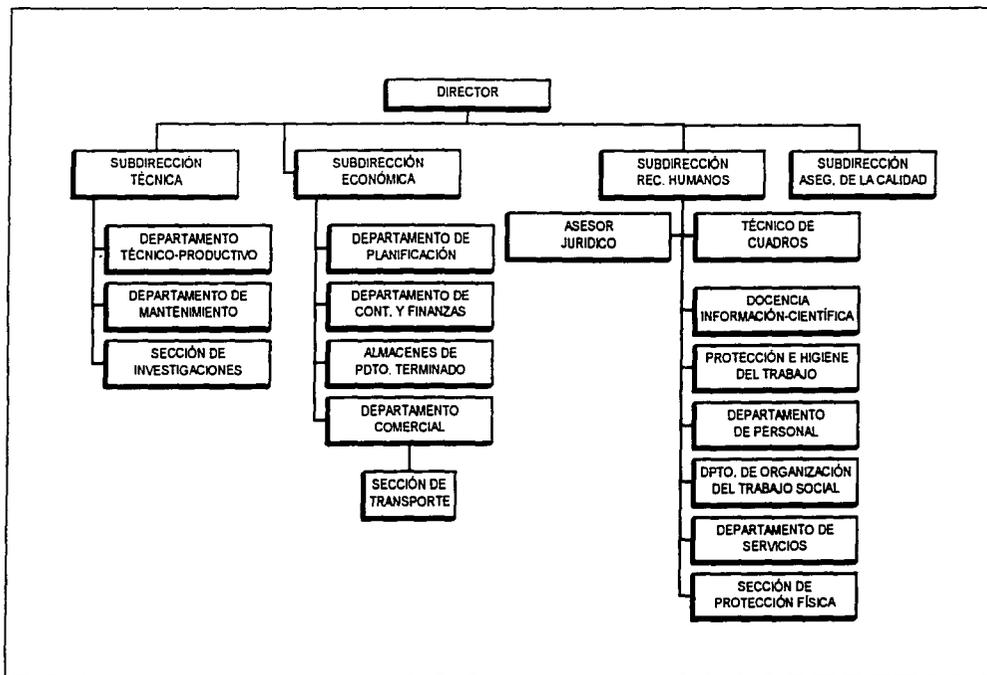
En la Figura No. 1 se muestra la estructura organizativa (organigrama) de una empresa de embutidos. Ubicando la *Dirección*, las *Subdirecciones de Recursos Humanos, Económica, Técnica y de Aseguramiento de Calidad*. Esta última (Figura No. 2) se divide en la *Sección de Ingeniería de la Calidad*, la *Sección de Auditoria e Inspección* y el *Departamento de Control de la Calidad* en el que se encuentra el *Laboratorio de Control Físicoquímicos y Bioquímico*, el *Laboratorio de Control Biológico* y el *Laboratorio de Control Microbiológico*. ⁷

El Departamento de Control de la Calidad funciona como centro de control y evaluación de la calidad de todas las operaciones de la planta, de este modo, el Laboratorio de Control Microbiológico se encuentra en la estructura de la Subdirección de Aseguramiento de Calidad, quien recibe la información reportada y generada por cada una de las Secciones y el Departamento relacionados con él. ^{9, 26}

El Laboratorio de Control Microbiológico dentro de una empresa de alimentos participa en las actividades que se citan a continuación:

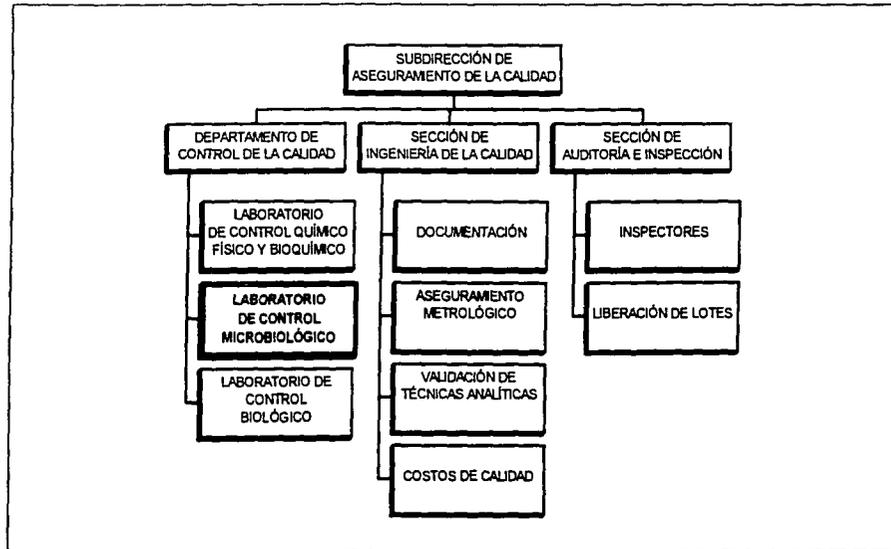
- Preparación del personal del Programa de Sanidad de la planta en procedimientos de limpieza y desinfección incluyendo la selección y uso de detergentes y desinfectantes.
- Elaboración de manuales de Buenas Prácticas de Higiene y Sanidad.

Figura No. 1 Estructura organizativa de una empresa de embutidos



Fuente: Ferrer S. T. 1999. Criterios generales para la elaboración de un manual de calidad para la industria farmacéutica, en un ambiente multimedia. Tesina de Especialidad en Procesos Farmacéuticos. FES-Zaragoza. UNAM.

Figura No. 2. Estructura organizativa de la Dirección de Aseguramiento de Calidad



Fuente: Ferrer S. T. 1999. Criterios generales para la elaboración de un manual de calidad para la industria farmacéutica, en un ambiente multimedia. Tesina de Especialidad en Procesos Farmacéuticos. FES-Zaragoza. UNAM.

- Participación técnica en el desarrollo de especificaciones internas y apoyo en la adecuación de los procesos de producción de alimentos inocuos.
- Control microbiológico de materias primas, del agua, del ambiente, de los equipos y superficies, etc.
- Control del proceso y del producto terminado.
- Establecimiento de instrucciones para el almacenamiento del producto a comerciantes y de almacenamiento y preparación al consumidor.
- Atención a reclamos y recuperación de lotes contaminados. ¹¹

1.1.1 Interrelación del laboratorio de microbiología con las diferentes áreas de la empresa

El Laboratorio de Control Microbiológico es responsable de la prevención y solución de problemas relacionados con contaminación biológica, a través de la identificación de fuentes de contaminación y puntos críticos de control durante el proceso de alimentos. Auxiliándose de un sistema de monitoreo y verificación microbiológica, así como, la intervención activa en el establecimiento y estricta observancia de las especificaciones sanitarias y Buenas Prácticas de Higiene y Sanidad a todo lo largo de la cadena de producción, conservación y distribución; de acuerdo con las establecidas en Normas Oficiales. ^{4, 16}

1.2 POLÍTICAS DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

Dentro del laboratorio deben respetarse las políticas establecidas para su funcionamiento y laborar de acuerdo a la responsabilidad delegada.

La política de laboratorio más exigente es:

“Controlar y asegurar la calidad de sus resultados”

Para conseguirlo se debe:

- Respetar los requisitos y obligaciones para conservar en condiciones de funcionamiento las instalaciones y áreas físicas del laboratorio.
- Cuidar que las condiciones ambientales en el laboratorio sean las adecuadas para laborar.

- Asegurar que los servicios suministrados sean suficientes, seguros y funcionales para laborar.
- Respetar las normas de higiene y orden personal.
- Respetar las normas de seguridad para prevenir accidentes que afecten la calidad de la operación del laboratorio.
- Dar especial atención al mantenimiento preventivo del equipo utilizado en el laboratorio.
- Hacer uso adecuado de los equipos y materiales.
- Realizar el procedimiento de muestreo con apego a las especificaciones establecidas.
- Realizar los análisis microbiológicos en base a especificaciones de normas oficiales.
- Trabajar de acuerdo con las Buenas Prácticas de Análisis.
- Emplear métodos rápidos de análisis validados y certificados por instituciones oficiales.

1.3 DESCRIPCIÓN DE RESPONSABILIDADES

Director del laboratorio.

El director del laboratorio tiene la suficiente autoridad para corregir las deficiencias operativas que se presenten, evitando que dependan de áreas cuyas funciones entren en conflicto con las que se le están adjudicando, tiene también la libertad de organización para identificar problemas de calidad, iniciar, recomendar o proporcionar soluciones y es quien debe verificar la aplicación de las soluciones y mantener controles extraordinarios cuando se tengan deficiencias o condiciones insatisfactorias en los procesos analíticos. Entre sus principales actividades se encuentran las siguientes:

- Descripción de los puestos de trabajo.
- Selección del personal adecuado.
- Evaluación del desempeño.
- Organización, manejo y motivación del personal.

- Supervisión del desempeño técnico.
- Coordinación de esfuerzos individuales y de grupo
- Preparación, vigilancia, ejecución y evaluación de procedimientos y programas para control de calidad.⁸

Supervisor.

El supervisor de laboratorio debe apoyar al director en el manejo del laboratorio, incluida la planificación y formulación de políticas. El supervisor vigila y dirige diariamente el flujo de trabajo de los analistas, ofrece guía en la selección de equipo, mantenimiento preventivo de éste, asegura el desarrollo adecuado de técnicas de análisis y revisa los resultados elaborando conclusiones finales. La evaluación directa y continua del desempeño del empleado y la iniciación de acciones diversas relacionadas con el personal son otras de las funciones importantes del puesto del supervisor haciéndolo responsable directo en administración y apoyo al aseguramiento de calidad.⁸

Analista.

Cada analista debe entender los principios de las técnicas y métodos utilizados y aplicarlas debidamente, documentando cualquier desviación, manteniendo registros precisos.

El analista debe contar con un entrenamiento apropiado y experiencia adecuada, para producir resultados confiables en el análisis de la muestra, operando con un mínimo de supervisión. El analista debe entender que sus resultados pueden verse distorsionados por interferencias provenientes tanto de la misma muestra como del procedimiento usado para analizarla y debe aplicar entonces sus conocimientos así como las buenas prácticas de laboratorio para minimizar los errores y fuentes de variación.^{8,9}

CAPITULO 2

EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

2.1

INSTALACIONES Y ÁREAS FÍSICAS

El Laboratorio de Microbiología debe ubicarse lejos de áreas o instalaciones que puedan inferir en el desarrollo o resultado de los análisis que en él se realicen, por ejemplo contaminaciones químicas o biológicas. Para el buen funcionamiento del Laboratorio debe tomarse en cuenta el sentido del flujo de las tareas o actividades y la simplificación de movimientos, agrupando las áreas de funciones y condiciones de operación afines.

El Laboratorio de Microbiología debe contar con las siguientes **áreas**:

- Preparación de medios de cultivo, diluyentes y reactivos.
- Lavado y preparación de material de vidrio y otros materiales.
- Esterilización.
- Área analítica que comprende:
 - Preparación de muestras.
 - Identificación y recuento de microorganismos.
- Almacén de materiales y reactivos.

Por razones de riesgo o de interferencia las áreas antes mencionadas deben localizarse adecuadamente. Las áreas de apoyo como lavado y preparación de material, preparación de medios de cultivo, etc., deben estar cerca del área analítica para facilitar el flujo del trabajo analítico, con la separación adecuada para evitar cualquier inferencia en el resultado de los análisis. El área de preparación de muestras debe estar aislada para evitar contaminaciones cruzadas que afecten la integridad de la muestra y por consiguiente el resultado de los análisis.

Las instalaciones del Laboratorio de Microbiología deben ofrecer condiciones ambientales, de funcionalidad y seguridad adecuadas para las personas que laboren en ellas, que conlleven a la realización de un trabajo

eficiente y confiable produciendo servicios de calidad conforme a las necesidades. Es recomendable que estas instalaciones sean suficientemente flexibles para permitir incorporar cualquier cambio en la organización y en sus sistemas de funcionamiento.^{8, 10}

La **NOM-001-STPS-1999** Edificios, locales, instalaciones y áreas en los centros de trabajo y condiciones de seguridad e higiene, de la Secretaría del Trabajo y Previsión Social, rige en todo el territorio nacional y aplica en todos los centros de trabajo. Tiene por objetivo el establecer las condiciones de seguridad e higiene de los edificios, locales, instalaciones y áreas en los centros de trabajo, para su funcionamiento y conservación, así como evitar riesgos a los trabajadores, señalando como obligaciones y requisitos los siguientes:

- Conservar en condiciones de funcionamiento seguro los edificios, locales, instalaciones y áreas del centro de trabajo.
- Cooperar en la conservación de las condiciones de funcionamiento seguro de los edificios, locales, instalaciones y áreas del centro de trabajo y no darles otro uso indistinto para el que fueron diseñados.
- Las áreas deben conservarse limpias y en orden, permitiendo el desarrollo de las actividades para las que fueron distintas; asimismo, se les debe dar mantenimiento preventivo y correctivo.⁴²

El laboratorio debe disponer de suficiente **espacio** y adecuada **distribución** para que las operaciones se realicen con facilidad y eficiencia y permitan la circulación del personal de acuerdo con el flujo de trabajo y las facilidades para movilizar y eventualmente reparar el equipo.

- Para definir las dimensiones del laboratorio deben tomarse en cuenta factores como la profundidad de las mesas de trabajo, tamaño de los equipos (algunos exigen que deje espacio libre a los lados y en la parte posterior), así como el espacio de circulación del personal y espacio entre y debajo de mesas de trabajo, armarios y otros muebles con el fin de facilitar la limpieza. El espacio

práctico para las funciones técnicas es de 3m x 6m (18m²) con un mínimo de 3m de altura.

- Para el laboratorio deben utilizarse materiales de construcción no flamables, resistentes a la corrosión y de superficies lisas que disminuyan la posibilidad de acumulación de mugre y a la vez faciliten su limpieza.
- Los **techos, paredes y pisos** del laboratorio deben ser de materiales no porosos y fácilmente lavables, resistentes a la acción de las sustancias químicas como solventes y productos desinfectantes que sean utilizados en el laboratorio.
- Las **paredes** del laboratorio deben ser de tonos claros mate que no distorsionen la luz y en áreas de bajo riesgo de contaminación pueden emplearse paredes de tabiques vidriados de tonos claros que son de fácil limpieza y conservación.
- Los **pisos** del laboratorio deben ser firmes, no resbalosos y resistentes al desgaste. las juntas entre la pared y piso deben ser impermeables y los zocalillos del tipo denominado sanitario. Los pisos no deben ser de madera.
- Las **puertas y ventanas** metálicas son las más utilizadas por su calidad y resistencia, por no requerir pintura y mantener su apariencia permanente las de aluminio son las más recomendables. Deben ser de fácil limpieza, por lo que no se debe exagerar en molduras que la dificulten.

Las **puertas** deben abrir hacia fuera y su estructura debe permitir un ajuste directo con las paredes evitando así la entrada de polvo y huecos que puedan albergar insectos o polvo. Así mismo las **ventanas** deben tener abertura al exterior y cuando se requiera estar provistas de mosquiteros. Si el laboratorio tiene aire

acondicionado las ventanas deberán ser fijas de cierre absoluto, permitiendo únicamente la entrada de la luz natural.^{8, 10}

El laboratorio debe contar con el **mobiliario** adecuado de diseño sencillo, funcional, de fácil limpieza y de preferencia de material resistente a la acción del calor, sustancias químicas, colorantes y reactivos.

Las mesas de trabajo deben distribuirse en el laboratorio de acuerdo a la orientación de éste con el fin de evitar que los rayos solares incidan sobre las superficies de las mismas, por ello se pueden clasificar como sigue:

- en forma aislada (isla)
- perpendicular a la pared (mesa de pared)
- adosados a la pared (mesa de pared)

Las mesas de trabajo pueden ser fijas o desmontables, éstas últimas son recomendables por la facilidad que tienen para modificarse según convenga. Deben estar provistas de los servicios necesarios (gas, conexiones eléctricas, aire comprimido, vacío, etc.). Su cubierta debe ser lisa, impermeable, resistente a la acción de los desinfectantes, ácidos, álcalis, solventes orgánicos y al calor moderado, pueden ser de materiales como acero inoxidable, formaica u otros similares.

Se recomienda que la profundidad de la mesa instalada sea de 0.75m y la altura de 0.78m para mesas donde se trabaja sentado y 0.90m para mesas donde el trabajo se realiza de pie. Para sentarse se utilizan en el laboratorio taburetes, sillas fijas, o desplazables con altura regulable.

Para mantener un suministro de material de vidrio, medios de cultivo, reactivos, etc. se debe contar acorde a las necesidades con mobiliario como gabinetes, gavetas, anaqueles, vitrinas y/o estantes, que deberán ser de materiales resistentes a las emanaciones de ácidos y reactivos que se coloquen

en su interior. No deben guardarse microscopios y aparatos de precisión junto con reactivos y sustancias corrosivas.

Se puede utilizar otro tipo de muebles de acuerdo con las necesidades del laboratorio como: mesas para el montaje de aparatos, incubadoras, estufas, mesas especiales con sistema de amortiguadores para proteger los aparatos e instrumentos sensibles a las vibraciones como balanzas, microscopios, galvanómetros, cámaras de seguridad biológica, etc. ^{8, 10, 17}

Las instalaciones del laboratorio deben ofrecer seguridad, las especificaciones correspondientes se establecen en la NOM-001-STPS-1999. (ver 2.4.1 Seguridad de las instalaciones).

Una cámara de seguridad biológica, una campana de flujo laminar o un cuarto estéril dentro del Laboratorio de Microbiología contribuirán a minimizar el riesgo de una contaminación cruzada entre muestras y pueden ser usadas también en técnicas o análisis que generen una gran cantidad de sustancias volátiles brindando la protección necesaria al analista. ¹⁰

La supervisión de la limpieza en el laboratorio debe ser estricta, poniendo especial atención al tránsito de personas y materiales, a la acumulación de desperdicios, al aire de ventilación, a las superficies de trabajo así como a los utensilios de limpieza. Debe establecerse para el laboratorio un programa de limpieza y desinfección, que comprenda la limpieza de paredes, suelos y techos, la descontaminación ambiental, la desinfección del equipo y local así como el agente químico a usar y/o detergente y su concentración.

Los desinfectantes recomendados para el trabajo general del laboratorio de Microbiología de Alimentos son el Hipoclorito Sódico y el Formol, estos se deben usar en una concentración efectiva y el tiempo de contacto es vital.

El hipoclorito sódico se utilizará a una concentración de 1 g/litro (1000 ppm) de cloro libre. El formol utilizado como desinfectante suele encontrarse en el comercio a una concentración de gas en el agua de unos 370 g/litro (37%). Aplicado a la concentración de 50g de ingrediente activo/litro (5%), constituye un eficaz desinfectante líquido. Cuando sólo se dispone de cloro como desinfectante, conviene utilizarlo según las instrucciones usuales, por lo general, a la dilución de 1:8.^{11,19}

2.2

SERVICIOS

Las instalaciones de servicios (electricidad, agua potable, gas, ventilación, drenaje, vacío, etc.) que el laboratorio requiera, deberán cubrir las necesidades de capacidad y calidad, tomando en cuenta la ubicación de sus tomas o fuentes.^{8,9}

2.2.1. Instalaciones eléctricas.

El laboratorio debe contar con un suministro de energía eléctrica suficiente, estable, libre de fluctuaciones y aislado convenientemente, teniendo en cuenta los aparatos eléctricos y electrónicos de que dispone, iluminación, equipo de ventilación, maquinaria instalada, etc.

La corriente eléctrica que generalmente se utiliza en el laboratorio es de 115 volts o de 220 volts, su distribución debe ser la adecuada para evitar sobrecarga en los equipos alimentados. Las tomas de corriente deben ser de 3 polos para asegurar una buena conexión a tierra, las que se encuentren instaladas en las mesas de trabajo deben estar perfectamente diferenciadas en razón al voltaje. Cuando es necesario el voltaje se estabiliza, por medio de un regulador de voltaje ya sea por áreas o por aparato.

Recomendaciones:

- Por seguridad debe prohibirse el uso de adaptadores múltiples conectados a una toma de corriente, así como cables de extensión.
- Se debe comprobar la disponibilidad de carga antes de cambiar o hacer nuevas instalaciones de aparatos.
- Es conveniente contar con una planta eléctrica de emergencia de capacidad tal que garantice la continuidad del funcionamiento de equipos y servicios esenciales.^{8, 17}

2.2.2. Instalaciones hidráulicas

El laboratorio requiere de instalaciones de agua para diferentes fines:

- Se recomienda disponer de una cisterna de volumen adecuado según la necesidad del laboratorio, que garantice al menos una semana de consumo sin reponer gasto.
- El abastecimiento a los laboratorios es recomendable hacerlo mediante sistema hidroneumático que permite ahorrar gastos y provee presión bastante estable (4 a 6 kg/cm²).
- El sistema de agua contra incendio debe ser independiente del agua de consumo de laboratorio, siendo muy importante respetar su señalamiento.
- Es recomendable construir la red de distribución de agua para el laboratorio con tuberías de cobre con el fin de evitar incrustaciones. Para el área microbiológica se recomienda usar P.V.C. o acero inoxidable.
- En lo que se refiere al agua de calidad especial se obtiene en unidades de fabricación expresa. Es importante vigilar la conservación de sus especificaciones en el almacenamiento.^{8, 10, 17}

2.2.3. Drenaje

Para drenaje se recomiendan sistemas simples ocultos y cerrados. En esta instalación deben utilizarse materiales de comprobada resistencia mecánica y a la acción de los compuestos químicos que por ellas descargan; el sistema debe

tener un mínimo de codos y vueltas para evitar la acumulación de desechos. Es conveniente separar las aguas de desecho del laboratorio de las aguas negras, instalando dos redes de drenaje, y dar el tratamiento adecuado a las aguas de desecho antes de que pasen al colector general.

2.2.4. Instalaciones de gas

Se puede utilizar en el laboratorio gas natural o gas licuado.

- La red de alimentación de gas se construye en tubería de cobre asegurando la total ausencia de fugas en las juntas. Además de alimentar las tomas para mecheros y ocasionalmente parrillas se utiliza como combustible en generadores de vapor de baja capacidad y en sistemas de agua caliente.
- El gas licuado se almacena en depósitos estacionarios, mientras que el gas natural se recibe entubado a alta presión en una estación reguladora que reduce la presión a la especificada en los equipos que alimenta.^{8, 10, 17}

2.2.5. Instalaciones de aire comprimido

Cuando es necesario disponer de aire comprimido como servicio común en los laboratorios se prefiere surtirlo a través de una red que puede ser construida en tubería de hierro o de cobre, operada a presión del orden de 5 kg/cm² alimentada por un compresor localizado en la sala de máquinas. Cuando sólo se requiere aire comprimido en laboratorios aislados se prefiere surtirlo en el lugar con cilindros de alta presión. Los colores de seguridad para tuberías se muestran en la Tabla No. 1.^{8, 17}

Tabla No. 1. Colores de seguridad para tuberías y su significado

Color de seguridad	Significado
Rojo	Identificación de tuberías contra incendio
Amarillo	Identificación de fluidos peligrosos*
Verde	Identificación de fluidos de bajo riesgo**

Fuente: NOM-026-STPS-1998. Colores y señales de seguridad e higiene, e identificación de riesgos por fluidos conducidos en tuberías

*Fluidos peligrosos: son aquellos líquidos y gases que pueden ocasionar un accidente o enfermedad de trabajo por sus características intrínsecas; entre éstos se encuentran los inflamables, combustibles, inestables que puedan causar explosión, irritantes, corrosivos, tóxicos, reactivos, radiactivos, los que impliquen riesgos por agentes biológicos, o que se encuentren sometidos a condiciones extremas de presión o temperatura en un proceso.

**Fluidos de bajo riesgo: son todos aquellos líquidos y gases cuyas características intrínsecas no sean peligrosas por naturaleza, y cuyas condiciones de presión y temperatura en el proceso no rebasen los límites establecidos en la presente Norma.

2.3

AMBIENTE

Es de suma importancia mantener un ambiente de trabajo cómodo para el bienestar de los trabajadores teniendo especial atención las condiciones de iluminación, ventilación, temperatura y humedad, así como al control de vibraciones y ruidos que puedan afectar la eficiencia de las operaciones realizadas en el laboratorio.

A fin de que los trabajadores desempeñen sus funciones correcta y adecuadamente sin detrimento en su salud y capacidad de concentración, el **ruido** generado en el laboratorio debe ser mínimo. Se recomienda según las necesidades operar con ventanas cerradas para el control de ruido exterior, utilizar ventiladores silenciosos, y poner especial atención al aislamiento de los pasos de tuberías de aire comprimido, vacío y agua a velocidad de más de 1m/seg.^{8, 11, 17}

2.3.1. Iluminación

Deberá ser apropiada en todos los lugares de trabajo y en particular en las áreas analíticas para asegurar eficiencia en las operaciones realizadas, tales como, facilitar la identificación de las muestras en incubadora y refrigerador, inspección de material, identificación de microorganismos, etc.^{8,17}

De tal forma que no sea un factor de riesgo para la salud de los trabajadores al realizar su tarea. Los niveles mínimos de iluminación que deben presentarse en el área de trabajo del laboratorio se presentan en la siguiente tabla:

Tabla No. 2. Niveles mínimos de Iluminación

Tarea visual del puesto de trabajo	Área de trabajo	Niveles mínimos de iluminación (lux)
Distinción fina de detalles: Maquinado de precisión, ensamble e inspección de trabajos delicados, manejo de instrumentos y equipo de precisión, manejo de piezas pequeñas.	Talleres de alta precisión: De pintura y acabado de superficies y <u>laboratorios de control de calidad</u>	750

Fuente: NOM-025-STPS-1999. Condiciones de iluminación en los centros de trabajo.

Además debe considerarse lo siguiente:

- Efectuar y registrar el reconocimiento, evaluación y control de los niveles de iluminación en todo el centro de trabajo, según lo establecido en los capítulos 8, 9 y 10 respectivamente de la NOM-025-STPS-1999.
- Informar a todos los trabajadores por escrito, sobre los riesgos que puede provocar el deslumbramiento o un deficiente nivel de iluminación.
- Elaborar el programa de mantenimiento de las luminarias, incluyendo los sistemas de iluminación de emergencia.
- Instalar sistemas de iluminación eléctrica de emergencia, en aquellas áreas del centro de trabajo donde la interrupción de la fuente de luz artificial represente un riesgo.

En el laboratorio la iluminación artificial debe estar uniformemente distribuida, se recomienda colocar líneas continuas de tubos fluorescentes en el sentido longitudinal y el uso de vidrios o rejillas de plástico que difundan la luz evitando las sombras. Para todas las superficies de trabajo se recomienda una intensidad luminosa de 500 a 1000 luxes. Para áreas de trabajo de máximo esfuerzo visual como lectura de cajas de Petri, inspección de material, etc. la intensidad luminosa debe ser mayor de 2000 luxes.

Cuando la iluminación es por luz natural se debe cuidar de no recibir directamente la luz solar para evitar reflejos que interfieran la observación o provoquen aumentos de temperatura que puedan alterar el resultado del trabajo, la orientación norte-sur permite la óptima iluminación natural.^{2, 17, 48}

2.3.2 Ventilación

La ventilación del laboratorio debe ser tal que el aire del laboratorio no pase por los sistemas de ventilación a otras áreas del edificio, debido a que puede contener gases de combustión, emanaciones de productos químicos, etc.

Debe realizarse una renovación periódica que puede llevarse a cabo en forma natural a través de puertas y ventanas o por medio de sistemas mecánicos de inyección y extracción de aire o por instalaciones de aire acondicionado, haciendo las siguientes consideraciones:

- El aire que se extrae no debe contaminar otras áreas en donde se encuentren laborando otros trabajadores.
- El sistema debe iniciar su operación por lo menos quince minutos antes de que ingresen los trabajadores al área correspondiente.
- Contar con un registro de mantenimiento preventivo del sistema de ventilación artificial; que incluya al menos: las fechas en que se realizó, las fechas en que se haya realizado el mantenimiento correctivo, y el tipo de reparación.⁴²

Se recomienda una renovación del aire de 6 a 10 veces por hora para mantener un ambiente inocuo y cómodo en el laboratorio dando oportunidad al personal de laborar aún fuera de horas de trabajo. Es aconsejable prever una instalación mecánica de ventilación que introduzca aire del exterior y expulse el aire viciado sin recirculación. La velocidad de entrada y salida se debe mantener baja y no debe provocar corrientes (aprox. 2 m/s).

La temperatura ambiente deberá mantenerse entre 20° y 23°C y la humedad relativa del aire debe ser aproximadamente de 50% con una tolerancia del 5%, los valores fuera de estos límites pueden deteriorar los medios de cultivo produciendo errores en las pruebas de laboratorio. ^{10, 17}

El sistema de aire acondicionado es ideal para los laboratorios que por su localización geográfica sufren variaciones extremas de temperatura, el sistema no debe apagarse al finalizar las horas de trabajo ni durante los fines de semana ya que las variaciones bruscas de temperatura ambiente pueden afectar seriamente la calidad de las operaciones de laboratorio. Cuando no se disponga de ventilación mecánica, la ventilación natural debe ser planeada cuidadosamente para evitar la formación de corrientes.

El aire del recinto debe estar libre de polvo y microorganismos. Se debe monitorear periódicamente la calidad microbiológica del aire. Un método rápido y fiable para la detección de contaminación microbiana ambiental es el uso de las **Placas 3M™ Petrifilm™** cuya metodología es explicada en el apartado **4.5.6 Métodos Rápidos de Diagnóstico Microbiológico**. La prueba se puede realizar cada semana o con más frecuencia si se detecta una contaminación fuera de límites. El estándar microbiológico recomendado es de menos de 15 colonias por placa expuesta al ambiente. ^{4, 10, 16, 17}

2.4

SEGURIDAD

2.4.1. Seguridad de las instalaciones

El Laboratorio de Microbiología debe estar diseñado de acuerdo a especificaciones de Normas Oficiales, en este caso la NOM-001 de la Secretaría del Trabajo y Previsión Social expedida en 1999 establece los siguientes requisitos de seguridad en las instalaciones de centros de trabajo:

Los techos del centro de trabajo deben:

- Ser de materiales que protejan de las condiciones ambientales externa e impermeables.
- Utilizarse para soportar cargas fijas o móviles, sólo si fueron diseñados para estos fines.
- Contar con un sistema que evite el estancamiento de líquidos.

Las paredes en los centros de trabajo deben cumplir con lo siguiente:

- Los parámetros de las paredes internas de los locales y edificios de los centros de trabajo, deben mantenerse con colores que, de producir reflexión, no afecten la visión del trabajador.

Los pisos del centro de trabajo deben:

- Mantenerse limpios.
- Contar con un sistema que evite el estancamiento de líquidos.
- Ser llanos, estar libres de agujeros, astillas, clavos, etc. o válvulas, tubos salientes u otras protuberancias que pueden causar riesgos.^{8, 42}

2.4.2. Equipo de seguridad

En el laboratorio se deberá proporcionar al personal equipo de seguridad ya sea ropa de protección (batas blancas, guantes, cubrebocas, etc.) u otros artículos

protectores ya que el no proporcionarlo causará daños innecesarios. El equipo debe ser de fácil acceso y su uso debe hacerse cumplir estrictamente, instruyendo a los trabajadores sobre su uso en condiciones apropiadas ya sea en operaciones normales o en casos especiales según se requiera.

El equipo de seguridad básico con el que debe contar el laboratorio de microbiología incluye un botiquín de primeros auxilios y un extintor y/o manta contra el fuego, las señales correspondientes deben colocarse en el mismo sitio (ver tema 2.4.3. *Señales de Seguridad*). Se debe verificar regularmente que el equipo de seguridad se encuentre en lugares apropiados y funcione convenientemente.^{8, 10, 11}

El equipo de protección personal para los trabajadores en los centros de trabajo, se emplea como medida de control personal en aquellas actividades laborales que por su naturaleza, los trabajadores estén expuestos a riesgos específicos. Las exigencias de la **NOM-017-STPS-1993** son las siguientes:

- Elaborar por escrito y conservar los estudios y análisis del riesgo para determinar el uso del equipo de protección personal. Tal información deberá proporcionarse a la autoridad laboral (Secretaría del Trabajo y Previsión Social) cuando ésta lo solicite.

Para la selección del equipo de protección personal se debe:

- Establecer las características de acuerdo con los requerimientos del equipo de protección personal.
- Proporcionar a los trabajadores la capacitación y el adiestramiento necesario para el uso, limpieza, mantenimiento, limitaciones y almacenamiento del equipo de protección personal.
- Dotar a los trabajadores con el equipo de protección personal de acuerdo con el riesgo específico.

El personal tiene la obligación de:

- Usar el equipo de protección personal que se le proporcione.
- Participar y poner en práctica la capacitación específica recibida.
- Cumplir con los programas de limpieza y mantenimiento establecidos.

El equipo de protección personal que se ponga a disposición de los trabajadores debe cumplir con:

- Proteger del riesgo específico.
- Ser de uso personal.
- Método de mantenimiento.
- Establecer tiempo de uso y vida útil.
- Estar acorde a las características y dimensiones físicas de los trabajadores.
- La protección personal proporcionada a los trabajadores deberá atenuar o proteger a los trabajadores. Para cumplir con los niveles máximos permisibles y los criterios de exposición establecidos en el Reglamento Federal de Seguridad, Higiene y medio ambiente de Trabajo y sus NOM-STPS, de acuerdo con la región anatómica del trabajador que está expuesta.

La **NOM-002-STPS-2000** establece las condiciones de seguridad, prevención, protección y combate de incendios en los centros de trabajo, en cumplimiento a ésta, se debe:

- Instalar equipos contra incendio, de acuerdo al grado de riesgo de incendio, a la clase de fuego que se pueda presentar en el centro de trabajo y a las cantidades de materiales en almacén y en proceso.
- Establecer por escrito y aplicar un programa específico de seguridad para la prevención, protección y combate de incendios
- Proporcionar a todos los trabajadores capacitación y adiestramiento para la prevención y protección de incendios, y combate de conatos de incendio.
- Realizar simulacros de incendio cuando menos una vez al año.

2.4.3. Señales de seguridad

Las Señales de seguridad e higiene en los centros de trabajo, se requieren para dar a los trabajadores un mensaje específico empleándose como técnica de prevención contra accidentes y enfermedades de trabajo. Se debe evitar el uso indiscriminado que disminuya su eficacia por la concurrencia de otras señales o circunstancias que dificulten su percepción.

En La Tabla No. 3 se indican los diferentes casos para los que deben emplearse las señales así como las formas y colores reglamentarios.⁴⁹

2.5

MATERIALES Y EQUIPO

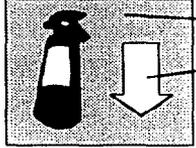
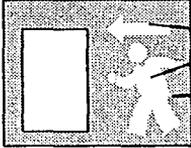
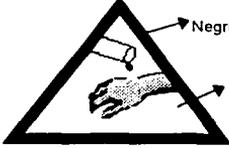
2.5.1. Equipo

El laboratorio de microbiología requiere para el desarrollo de sus actividades equipo como el que se enlista a continuación:

- Autoclave
- Balanza analítica
- Centrifuga
- Contador de Colonias
- Incubadora
- Microscopio
- Potenciómetro
- Refrigerador
- Stomacher
- Termómetro

Cada uno de estos equipos deberá mantenerse bajo inspección para su mantenimiento, reparación y calibración de ser necesario.²

Tabla No. 3. Señales de seguridad

<p style="text-align: center;">PROHIBICIÓN</p>  <p style="text-align: center;">NO FUMAR</p> <p style="text-align: right;"> → Rojo → Negro → Blanco </p>	<p style="text-align: center;">PRECAUCIÓN</p>  <p style="text-align: center;">SUSTANCIA TÓXICA</p> <p style="text-align: right;"> → Negro → Amarillo </p>
<p style="text-align: center;">EQUIPO A UTILIZAR EN CASO DE INCENDIO</p>  <p style="text-align: center;">UBICACIÓN DE UN EXTINTOR</p> <p style="text-align: right;"> → Rojo → Blanco </p>	<p style="text-align: center;">UBICACIÓN</p>  <p style="text-align: center;">SALIDA DE EMERGENCIA</p> <p style="text-align: right;"> → Blanco → Verde </p>
<p style="text-align: center;">PRECAUCIÓN</p>  <p style="text-align: center;">SUSTANCIA CORROSIVA</p> <p style="text-align: right;"> → Negro → Amarillo </p>	<p style="text-align: center;">PRECAUCIÓN</p>  <p style="text-align: center;">MATERIALES FLAMABLES</p> <p style="text-align: right;"> → Negro → Amarillo </p>

Fuente: NOM-026-STPS-1998. Colores y señales de seguridad e higiene, e identificación de riesgos por fluidos conducidos en tuberías

Adquisición de equipo

Debe adquirirse un equipo, después de haber tomado en cuenta los siguientes factores: Costo, volumen de trabajo, facilidades de operación, exactitud, duración, condiciones de garantía, mantenimiento, costo de reparación, existencia de repuestos, prestación de servicios de asesoría técnica, así como la entrega de los manuales de operación y servicio.

El registro de adquisición de equipo debe ser incluido en el expediente del equipo (ver 4.3. SISTEMA DE REGISTRO).

Ubicación del equipo

Para elegir el lugar apropiado en el que será instalado cada aparato deberá tomarse en cuenta lo siguiente:

- No es aconsejable moverlos a menos que sea absolutamente necesario por lo que debe pensarse en que el espacio que este ocupará será relativamente permanente.
- Necesitan servicios de agua, electricidad, etc.
- Se necesita protección contra variaciones del suministro eléctrico.
- Deben instalarse conforme a las especificaciones del fabricante.

2.5.2. Material de vidrio

Dentro del material que se necesita en el laboratorio de microbiología se encuentra el material de vidrio incluyendo, pipetas, matraces, tubos de ensayo, cajas Petri, probetas, entre otros, los cuales deben mantenerse en buen estado libres de cuarteaduras, astillas u otros defectos. Las graduaciones de material como pipetas, probetas, etc. deberán ser claras, con tinta indeleble en un color contrastante.²

2.5.3. Medios de cultivo

El laboratorio debe tener las especificaciones de compra para los medios de cultivo que utilice, así como las instrucciones para su almacenamiento además establecer un programa definido para la inactivación y eliminación de los medios

de cultivo ya usados. La Tabla No. 4 enlista los medios de cultivo necesarios para la realización de análisis microbiológicos por los métodos de Normas Oficiales.

2.5.4. Reactivos

Para los análisis microbiológicos se necesita adquirir reactivos de grado analítico, con proveedores confiables y de marcas de reconocido prestigio.

En el momento en que se reciben los reactivos en el laboratorio, deben verificarse: tipo de envase, banda de garantía, sello de garantía, etc. además es necesario llevar un expediente específico para éstos. (ver 4.3. SISTEMA DE REGISTRO)

Tabla No. 4. Medios de cultivo empleados para la determinación de diferentes microorganismos según Normas Oficiales Mexicanas

Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar triptona-extracto de levadura
Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar rojo-violeta-bilis-lactosa (RVBA)
Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Agar papa-dextrosa
Método para la determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> en alimentos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Medio de cultivo de Baird-Parker ▪ Medio de cultivo caldo de infusión cerebro-corazón (BHI) ▪ Medio de cultivo de ADN helicoidal de timo de ternera
Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable (NMP)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Medio de cultivo caldo lauril sulfato triptosa ▪ Medio de cultivo caldo lactosa bilis verde brillante
Método para la determinación de <i>Salmonella</i> en alimentos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Caldo selenito cistina ▪ Caldo tetracionato ▪ Vassiliadis-Rappaport ▪ Caldo de soya de tripticasa ▪ Agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) ▪ Agar para <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i>

Fuente: NOM-111-SSA1-1994, NOM-112-SSA1-194, NOM-113-SSA1-1994, NOM-114-SSA1-1994, NOM-115-SSA1-1994.

2.6

PERSONAL

Para lograr los objetivos de la empresa y garantizar la confiabilidad en los resultados que emite el laboratorio, se requiere disponer de personal calificado que cuente con los conocimientos y la experiencia necesarios, sin descartar la continua orientación y capacitación que le permita entre otras actividades, la rectificación de deficiencias descubiertas en la ejecución, el entendimiento de un nuevo método de análisis, el uso de un nuevo instrumento, etc., siempre con estrecha vigilancia de un supervisor o profesional calificado.⁸

2.7

SISTEMA DE REGISTRO

Todas las actividades, análisis y trabajos realizados dentro del laboratorio de microbiología deberán ser registrados al momento y en su totalidad en una bitácora de laboratorio. Esta información será de gran utilidad cuando se presenten casos fuera de las especificaciones establecidas así como en la implantación de acciones correctivas, ya sea dentro del laboratorio o de las funciones de control que este realice.

Deben considerarse los registros de actividades involucradas en la operación del laboratorio, como la custodia de una muestra, registros del personal, registros de resultados de investigación, registro de inventarios de materiales y equipos, de mantenimiento de equipos, limpieza del laboratorio, etc. todos contenidos en expedientes por separado.

Para asegurar la correcta elaboración y manejo de los registros debe mantenerse atención continua por parte del director del laboratorio y supervisores.

De acuerdo a las necesidades y experiencias debe fijarse el periodo de almacenamiento de las bitácoras, registros e informes de laboratorio previniendo la destrucción de información importante así como la acumulación de material innecesario. Las computadoras pueden ser usadas provechosamente para aceptar datos, procesarlos y producir un informe que contenga la información resultante, para ello puede diseñarse un sistema o programa a la medida de las necesidades. ^{8, 11}

CAPITULO 3

FUNCIONES DE CONTROL DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA

El sistema de monitoreo y verificación microbiológica se basa en el control y vigilancia de toda la línea de producción con el fin de localizar el origen de los trastornos por causas microbianas en intervalos de tiempo lo más próximos posibles, extrayendo muestras que se analizarán para comprobar si se han cumplido los objetivos establecidos en las Buenas Prácticas de Higiene y Sanidad.

Entre las medidas generales para prevenir o reducir la contaminación por microorganismos en una planta procesadora de alimentos, se encuentran las siguientes:

- Control sanitario de las instalaciones (edificios, áreas de proceso, equipo, áreas de almacenamiento).
- Salud e higiene del personal.
- Control de calidad microbiológica de materias primas.
- Control de calidad bacteriológica del agua.
- Control de limpieza y desinfección.
- Verificación ambiental. ^{4, 28}

3.1

INSTALACIONES

Deben verificarse todas aquellas superficies que estén en contacto directo o indirecto con el proceso de alimentos, de acuerdo con las especificaciones sanitarias de Normas Oficiales. Para verificación debe realizarse un monitoreo del estado microbiológico, obteniendo mediante frotis de las superficies muestras que serán analizadas en el laboratorio. La frecuencia y lugar del monitoreo dependerá de la etapa de proceso así como de las necesidades y características de cada planta. ^{4, 16, 28}

Edificios

Los *edificios*, deben tener características que no permitan la contaminación del producto.

Los *pisos* deben ser impermeables, homogéneos y con pendiente hacia el drenaje, suficiente para evitar encharcamiento y de características que permitan su fácil limpieza y desinfección.

Si las *paredes* están pintadas, la pintura debe ser lavable e impermeable, las uniones entre éstas y el piso deben facilitar la limpieza. En el área de proceso no se permiten las paredes de madera

Los *techos* deben ser de fácil acceso para su limpieza, y debe evitarse la acumulación de suciedad y de igual manera la condensación que ésta facilita la formación de mohos y bacterias.

En *patios* se deben evitar condiciones que puedan ocasionar contaminación del producto y proliferación de plagas, tales como equipo mal almacenado, basura, desperdicios y chatarra, formación de maleza o hierbas, drenaje insuficiente o inadecuado que permita la entrada de plagas provenientes del alcantarillado o áreas externas.⁴¹

Áreas de proceso

- La localización de los lugares de aseo personal (lavabos, trampas de cloro, etc.) a las entradas de las áreas de proceso de tal forma que sea fácil comprobar que se utilizan de manera adecuada por todos los empleados al entrar en ellas.
- La identificación de todos los insumos que se encuentren dentro del área de proceso.
- La contaminación con materiales extraños (polvo, agua, grasas, etc.), que vengan adheridos a los empaques de los insumos que entran a las áreas de producción.
- El riesgo de transferir contaminantes entre una operación y la siguiente por el empleo de líneas de producción o equipo y utensilios en más de un proceso.

- El asegurar que los equipos que tienen partes lubricadas no contaminen el producto en las diferentes etapas de elaboración. ^{12, 41}

Áreas de almacenamiento.

- Las zonas de almacenamiento deberán marcarse claramente con líneas de tráfico separadas suficientemente a intervalos regulares.
- Los locales de almacenamiento de los alimentos deben proporcionar ambiente limpio, espacio adecuado para la inspección y limpieza, buena circulación de aire y la temperatura y humedad requeridas.
- Los alimentos no deben colocarse directamente en el suelo.
- Las pilas deben disponerse de forma que se facilite la inspección de las capas superiores.
- Los alimentos no deben apilarse contra las paredes y en las grandes zonas de almacenamiento habrá un vacío entre la pared y las pilas suficiente para pasear por él con fines de inspección. ^{12, 41}

3.2

SALUD E HIGIENE DEL PERSONAL

El éxito final de los programas de higiene depende del factor humano:

- Contratación de personal calificado a todos los niveles del proceso de industrialización.
- Estímulos a los procedimientos de inspección propia.
- Educación profesional y capacitación continua.

Todo el personal que entre en contacto con materias primas, ingredientes, material de empaque, producto en proceso y terminado, equipos y utensilios debe ser entrenado en Buenas Prácticas de Higiene y Sanidad. Además debe pasar periódicamente por una serie de exámenes médicos, para determinar su grado de salud (análisis general de orina, de sangre y de excremento). El examen torácico

es fundamental en los análisis médicos. Personal con enfermedades contagiosas no deben trabajar en este tipo de empresas.

El personal debe cumplir con las siguientes reglas:

- No depositar ropa ni objetos personales en las áreas de producción.
- Presentarse aseados a trabajar.
- Mantener las uñas cortas, limpias y libres de barniz de uñas.
- Usar protección que cubra totalmente el cabello, la barba y el bigote.
- No se deben usar joyas ni adornos.
- Las mujeres deberán presentarse sin maquillaje.
- Las cortadas y heridas deben cubrirse apropiadamente con un material impermeable, y no entrar al área de proceso cuando éstas se encuentren en partes del cuerpo que estén en contacto directo con los productos.
- Cubrebocas, cofias, guantes, batas, delantales, deber ser simples y sin adornos.
- Lavarse las manos y desinfectarlas antes de iniciar el trabajo, después de cada ausencia del mismo y en cualquier momento cuando las manos puedan estar sucias o contaminadas, o cuando exista el riesgo de contaminación cruzada en las diversas operaciones del proceso de elaboración.
- Prescindir de plumas, lapiceros, termómetros, sujetadores u otros objetos desprendibles en los bolsillos superiores de la vestimenta en las áreas de producción y manejo de productos.
- Evitar estornudar y toser sobre el producto

Los visitantes:

- Internos y externos deben usar ropa y calzado adecuados antes de entrar a las áreas de proceso que así lo requieran y cubrir su cabello, barba y bigote. ^{14, 16, 41}

3.3

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE MATERIAS PRIMAS

El principal riesgo de la introducción a una planta de alimentos de materias primas de mala calidad microbiológica es la *contaminación cruzada* a las líneas de elaboración y envasado así como a productos finales.

Es necesario hacer una selección adecuada de proveedores para controlar las adquisiciones y que éstas no representen un riesgo en el proceso. Deben cumplirse las siguientes consideraciones:

- Todas las materias primas deben cumplir con las especificaciones de la empresa y de normas oficiales, para ello se muestrean y se analiza su estado microbiológico.
- El establecimiento no debe aceptar ninguna materia prima en estado de descomposición o con sustancias extrañas evidentes que no puedan ser reducidas a niveles aceptables por los procedimientos normales de inspección, clasificación, preparación o elaboración.
- Durante la producción las materias primas deben estar identificadas permanentemente.
- Deben inspeccionarse y clasificarse antes de llevarlas a la línea de producción y en caso necesario, deben efectuarse pruebas de laboratorio.
- Las materias primas almacenadas en el establecimiento deben mantenerse en condiciones específicas para cada caso.
- Las materias primas deben estar separadas de aquellas ya procesadas o semiprocesadas, para evitar su contaminación.
- Las materias primas que evidentemente no sean aptas, deben separarse y eliminarse del lugar, a fin de evitar mal uso, contaminaciones y adulteraciones.
- Los materiales de empaque y envases de materias primas no deben utilizarse par fines diferentes a los que fueron destinados originalmente. A

menos que se eliminen las etiquetas, las leyendas y se habiliten para el nuevo uso de forma correcta.

- Todo el material de envase y empaque debe almacenarse en condiciones de limpieza.
- Todos los productos envasados deben contar con etiquetas de identificación.^{12, 16, 41}

3.4

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

Las operaciones de limpieza y desinfección eliminan suciedad y reducen la cantidad de gérmenes presentes en todas las superficies de instalaciones y recipientes que entran en contacto con los alimentos. El objetivo de estas operaciones es evitar la recontaminación, por lo que debe adoptarse un estricto control de vigilancia en sus procedimientos.

Los estándares y niveles de contaminación aceptables variarán según el tipo de actividad que se efectúe en cada área, por ello es necesario establecer la frecuencia y nivel de limpieza requeridos, así como los detergentes y desinfectantes a emplear.

El estado microbiológico de una instalación en situación de iniciar la producción depende de:

- La carga de microorganismos al final de la etapa de producción precedente.
- La eliminación de gérmenes con medidas simples de lavado y limpieza, no siendo necesaria la destrucción de estos microorganismos.
- La destrucción de gérmenes mediante desinfección o en el curso de las medidas de limpieza.

Para la verificación de la limpieza y la desinfección se debe:

- Vigilar las condiciones de trabajo en la limpieza y desinfección.

- Comprobar el estado microbiológico de las instalaciones ya limpias o dispuestas para el funcionamiento
- Cuidar que la limpieza no genere polvo ni salpicaduras de agua que puedan contaminar los productos.
- Vigilar rutinariamente puntos del proceso de producción sensibles a la contaminación.
- Documentar los procedimientos.
- Verificar la concentración y tiempo de contacto de detergentes y/o desinfectantes para cada caso en particular. ^{4, 16, 28, 41}

3.5

CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL AGUA

Debe verificarse que las instalaciones destinadas al almacenamiento y distribución de agua sean apropiadas para evitar su contaminación.

Se debe verificar que el agua que esté en contacto con el producto o con superficies que a su vez puedan estar en contacto con el producto sea potable.

Se debe realizar la cuantificación de cloro residual en el agua de abastecimiento, llevando el registro correspondiente. Se recomienda realizar los análisis microbiológicos de mesófilos totales y coliformes totales y fecales. ^{16, 41}

3.6

AMBIENTE

Se debe verificar la calidad del aire de lugares donde este esté en contacto con el alimentos directa o indirectamente. Idealmente deberían verificarse desde áreas de recepción de materia prima, almacén , bodegas, área de proceso, ductos de aire e incluso ambiente externo a la planta. ^{4,16}

3.7

AUDITORÍAS

El Laboratorio de Microbiología como parte del Departamento de Control y Aseguramiento de Calidad, participa en la realización de auditorías de calidad tanto internas como externas a la empresa.

Auditorías Internas

Auditorías de desempeño en el laboratorio. Estas auditorías, consisten en una inspección para obtener evidencia del nivel de competencia del laboratorio, utilizando los resultados para mejorar su operación. Deben llevarse a cabo con cierta regularidad, tomando en cuenta el estudio de informes analíticos escritos, el examen oral de los informes analíticos, análisis del trabajo in situ, así como, el examen de muestras de verificación.

Auditorías al sistema de calidad de la empresa. Ya que el Laboratorio de Microbiología tiene un papel importante en la difusión de los conceptos de Buenas Prácticas de Manufactura participa activamente en estas para la verificación de especificaciones.

Auditorías externas

Las auditorías externas se realizan principalmente para evaluar a proveedores de materias primas y material de empaque, con el fin de incrementar la confianza y garantizar la seguridad del producto.

El Laboratorio de Microbiología participa primeramente en el desarrollo de especificaciones sanitarias microbiológicas, así como, en el catálogo de proveedores, para posteriormente participar en la inspección y vigilancia de que el proveedor aceptado labore bajo las normas y especificaciones que se han establecido, y que no disminuya en su nivel de aprobación. ^{5, 27, 8, 56, 57}

CAPÍTULO 4

BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO

4.1

PERSONAL

El personal del laboratorio de microbiología esta expuesto a muchos peligros que pueden ser químicos, tóxicos, corrosivos, flamables, etc. además debe asumir que los microorganismos con los que trabaja con capaces de causar daños a la salud, por todo lo anterior el personal del laboratorio debe respetar las siguientes normas o prácticas precautorias de higiene y orden personal, que permitirán mantener un ambiente favorable y organizado en el laboratorio:

- Usar siempre ropa protectora especial en el laboratorio
- No introducir al laboratorio abrigos, portafolios, libros, etc. y no colocar objetos personales sobre la mesa de trabajo
- No sacar del área de trabajo la bata de uso habitual en el laboratorio ni otras prendas de protección hacia un área pública o lugar en donde se consuman alimentos.
- No hacer uso de la bata o pañuelos para limpiar objetos o instrumentos de trabajo.
- No fumar y menos en un área que ponga en riesgo la seguridad o salud de alguna persona.
- No comer ni beber y no aplicarse ningún cosmético dentro del laboratorio. Alimentos, dulces, chicles etc. deberán almacenarse fuera del laboratorio igualmente el agua para beber debe estar localizada fuera del laboratorio o se deben proporcionar fuentes que se operen con el pie.
- No usar ni los refrigeradores, ni las estufas para conservar o calentar alimentos.
- Todo el personal deberá lavarse siempre las manos al llegar de los baños, o de otras áreas fuera del laboratorio y antes de abandonarlo. Desinfectarlas después de haber manipulado material contaminado y cuando sea necesario. Para secarlas deberán usar toallas desechables o aire caliente seco.

- Quien tenga heridas en las manos deberá asegurarse de que se le han prestado convenientemente los primeros auxilios y no deberá participar en los trabajos del laboratorio. Se debe comunicar inmediatamente cualquier sospecha de haber contraído una enfermedad como consecuencia de una infección en el laboratorio.
- Deben usarse pañuelos desechables en lugar de pañuelos de tela cuando se necesiten para uso personal.
- El personal debe mantener las uñas cortas y usar el cabello recogido o protegido con una cofia limpia.
- Los hombres deben evitar la barba o bien cubrirla perfectamente.
- El personal debe adquirir el hábito de mantener las manos alejadas de la boca, de la nariz, de los ojos y de la cara.
- Debe prohibirse probar muestras o sustancias químicas con la boca y los olores solamente deben ser verificados con cuidado.
- Para el uso de pipetas, se requiere usar bulbos para llenarlas.
- Los juegos están absolutamente prohibidos en el laboratorio.
- Los escritorios deben mantenerse en orden y libres de papel, sustancias químicas y equipo innecesario.
- No debe ningún empleado trabajar solo fuera de las horas normales de trabajo.
- Deben limitarse las visitas al laboratorio, o deberán ser guiadas por un miembro del personal y con la protección necesaria. ^{8, 10, 11, 13, 14, 19}

4.2

MANEJO DE MATERIALES Y EQUIPO

4.2.1. Equipo

El buen uso y funcionamiento del equipo y aparatos que se utilizan en el Laboratorio de Microbiología tienen una influencia directa en la calidad final del análisis microbiológico.

Cuidado del equipo

Deberán hacerse las siguientes consideraciones para el manejo del equipo:

- Seguir estrictamente las instrucciones de operación de los aparatos.
- Contar con los manuales escritos para cada equipo tanto de operación como servicio.
- Registrar en bitácora cada vez que se use el equipo, el nombre de quien lo utilice, cuanto tiempo y en que condiciones se encuentra.
- El **mantenimiento preventivo** reducirá defectos de funcionamiento, aumentando la confiabilidad del uso del equipo. Este puede incluir, limpieza, ajuste y/o calibración.
- Realizar una revisión periódica programada para asegurarse que se han realizado los diferentes trabajos de mantenimiento preventivo, revisión que a su vez debe registrarse.
- La información de cada servicio y/o calibración debe registrarse, incluyendo el nombre de la persona que hizo las pruebas y la fecha. Sólo debe permitirse la calibración de equipo por laboratorios externos que estén acreditados para ello. Los valores encontrados en las verificaciones de los aparatos, permitirán identificar de inmediato cualquier desviación respecto de los límites establecidos y aplicar las medidas correctivas antes de que se generen errores serios.
- Efectuar la calibración de los instrumentos de medición de acuerdo con las indicaciones del manual de operación, y establecer la frecuencia con la que deba ser realizada.
- No usar un aparato que no funcione convenientemente colocando una etiqueta sobre el aparato que indique que se encuentra "fuera de servicio".^{8, 11, 17}

Revisar y analizar los registros periódicamente facilitará:

- La identificación de fallas repetitivas.
- Conocer la vida media de las piezas de recambio para solicitarlas oportunamente.
- Efectuar cambios o ajustes a la frecuencia de verificación del aparato.

- Deslindar responsabilidades en casos de descompostura.
- Determinar en bases reales la velocidad del deterioro.

La eficiencia en la ejecución de las pruebas durante periodos de ruido excesivo y/o vibraciones puede afectar considerablemente la confiabilidad de los resultados.

El funcionamiento de ciertos instrumentos del laboratorio como balanzas analíticas, microbalanzas, microscopios y otros instrumentos sensibles puede verse afectado por **vibraciones** que hacen necesaria la ejecución de medidas de protección. Se recomienda entonces elegir cuidadosamente la ubicación y colocación de máquinas y aparatos, usar mesas provistas de sistemas antivibratorios especiales para balanzas analíticas o cimientos especiales para ciertos aparatos, usar centrifugas y agitadores mecánicos exclusivamente en las áreas donde los efectos de la vibración no afecten a otros equipos y aparatos.

Control del Equipo

Es importante mantener en las condiciones necesarias al equipo para las operaciones que se requieran dentro del laboratorio, por esta razón, se recomienda seguir las siguientes acciones:

- Deben registrarse al empezar cada día de trabajo, en el momento de usarlas y al finalizar la jornada de labor la temperatura de incubadoras, refrigeradoras, congeladoras, baños de agua y planchas de calentamiento,
- Debe mantenerse siempre un termómetro sumergido en glicerol o en volumen de agua adecuado dentro de las incubadoras y refrigeradores para efectuar las lecturas.
- Las instrucciones para el funcionamiento de los equipos deben ser colocadas a su lado para que el personal pueda hacer uso de ellas cada vez que las necesite además se debe poner un indicador común o cinta de calor, para el caso de la autoclave.

- En las campanas de flujo laminar, se verificará a intervalos mensuales la velocidad del flujo de aire requerido midiendo la presión a ambos lados de los filtros. Reemplazar los filtros periódicamente (de preferencia cada 6 meses).
- Los potenciómetros y otros instrumentos de medición como los termómetros, pipetas automáticas, etc. deberán calibrarse periódicamente con un Laboratorio de Calibración Acreditado para realizarlo. Requieren también la inspección o reemplazo las asas de inoculación estándares (de 0.01 y 0.001 ml).
- La balanza analítica debe verificarse por lo menos una vez por semana con pesas certificadas y debe limpiarse a fondo una vez por semana con pesas certificadas y debe limpiarse a fondo una vez por mes. Entre tanto los platillos y la cámara deben mantenerse limpios de los materiales derramados después de cada uso.^{8, 11}

4.2.2. Material de vidrio

El material de laboratorio se debe tener debidamente clasificado y almacenado en un lugar conveniente. Al finalizar la tarea se deben guardar los frascos de reactivos, colorantes, medios de cultivo, etc., perfectamente tapados y limpios.

Las mediciones volumétricas, conservación, transferencia de sustancias o soluciones, son funciones esenciales en el Laboratorio de Microbiología y para cumplir con ellas se debe hacer una adecuada selección poniendo especial atención en la adquisición material de vidrio volumétrico como matraces aforados, buretas, probetas y pipetas graduadas rectificando los volúmenes indicados.

Limpieza del material de vidrio

Se considera que el material de vidrio está limpio cuando mantiene un película continua de agua destilada en toda su superficie interna, esto es, escurrirá

de forma uniforme. La limpieza debe hacerse a la brevedad posible después de haberse usado el aparato o recipiente.

Deben usarse los detergentes adecuados que puedan ser enjuagados de manera satisfactoria sin contribuir como contaminantes. La solución detergente para lavar el material de vidrio más usada es el extrán.

El material de vidrio contaminado se deberá inactivar en autoclave durante 20 minutos antes del proceso de lavado. El material de vidrio se esteriliza por exposición al calor seco por lo menos 1 hora a una temperatura no menor de 170° C. El material de vidrio esterilizado debe ser guardado adecuadamente para evitar su contaminación posterior. Los artículos con superficies grabadas, rotas o dañadas, deben ser desechados.

Para la toma de una lectura correcta se debe tomar en consideración la parte inferior del menisco del líquido, de tal manera que sea tangente a la línea de graduación. El ojo del analista debe estar al nivel del líquido para evitar error en leer volúmenes mayores o menores que los reales. ^{2, 8, 11, 19}

4.2.3. Medios de cultivo

Para la correcta conservación de los medios de cultivo se debe considerar lo siguiente:

- Guardar los medios preparados entre 2-8°C. Deben conservarse en recipientes de rosca con cierre hermético. Cuando se usa tapón de algodón, se debe colocar por encima una envoltura de plástico, papel de aluminio o papel parafinado.
- Los medios que contienen colorantes deben protegerse de la luz, almacenándolos en un lugar oscuro y en recipientes de vidrio oscuro o envolviéndolos en papel que impida el paso de la luz. ^{11, 16, 17, 21}

Es de suma importancia mantener un registro en bitácora de la recepción de medios de cultivo, en un expediente específico para ello. (ver 4.3. SISTEMA DE REGISTRO)

4.2.4. Reactivos

Todos los reactivos, soluciones, etc., deberán mantenerse debidamente etiquetados para evitar confusiones que puedan ser graves, indicando si se trata de soluciones acuosas, alcohólicas o de otro tipo, y llevar un listado para control de existencias. (ver 4.3 SISTEMA DE REGISTRO)

Se deberá establecer un sistema de "primeras entradas-primeras salidas" para dar salida a los reactivos con mayor tiempo en anaquel y no a los de última adquisición.^{8, 17}

4.3

SISTEMA DE REGISTRO

Los reportes de análisis y actividades deben presentarse siempre de la misma forma, conteniendo lo siguiente:

- Título del análisis o actividad desarrollada y la fecha en que se realizó.
- Objetivo del análisis o actividad.
- Resumen de resultados y conclusiones.
- Descripción del método usado.
- Descripción de los resultados obtenidos.
- Informe de las conclusiones que pueden deducirse de los resultados obtenidos.¹¹

Las anotaciones en bitácoras y registros correspondientes deben ser hechas con tinta, fechadas y cada página firmada por el analista. Debe realizarse periódicamente una revisión de las bitácoras por el supervisor que deberá firmar y

anotar la fecha de revisión para indicar que se ha mantenido el control de supervisión. Cuanto menos gente tenga acceso a los archivos para quitar o poner carpetas o informes, mayores probabilidades habrá de evitar que el material sea mal ubicado o perdido.

Expediente del equipo de Laboratorio:

Este debe incluir información acerca de la *adquisición, mantenimiento* y la *reparación o reparaciones* del equipo, las tablas 5, 6 y 7 respectivamente contienen los datos que deben registrarse en cada caso.

Tabla No. 5. Registro de adquisición de equipo

REGISTRO DE ADQUISICIÓN DE EQUIPO		
DESCRIPCIÓN	MARCA	MODELO
	NO. INVENTARIO	NO. SERIE
PROVEEDOR		
EMPRESA:		TEL.:
RESPONSABLE:		
FECHA DE COMPRA	UBICACIÓN DEL EQUIPO	
COSTO	FECHA DE PUESTA EN SERVICIO	
	FECHA DE GARANTÍA	
OBSERVACIONES:		

Fuente: Garfield F. M. 1993. Principios de Garantía de Calidad para Laboratorios Analíticos. AOAC

Tabla No. 6. Registro de mantenimiento de equipo

REGISTRO DE MANTENIMIENTO DE EQUIPO		
EQUIPO	MARCA	MODELO
		NO. INVENTARIO
DESCRIPCIÓN DEL MANTENIMIENTO		FECHA
MANTENIMIENTO REALIZADO POR:		FIRMA
NOMBRE		
OBSERVACIONES:		

Fuente: Garfield F. M. 1993. Principios de Garantía de Calidad para Laboratorios Analíticos. AOAC.

Tabla No. 7. Registro de reparación de equipo

REGISTRO DE REPARACIÓN DE EQUIPO		
EQUIPO		NO. INVENTARIO
MARCA	MODELO	
DESPERFECTO	FECHA DE DESPERFECTO	TIEMPO FUERA DE SERVICIO
FECHA DE DESCOMPOSTURA	FECHA DE REPARACION	
REPARACION	PARTES REEMPLAZADAS	
SERVICIO REALIZADO POR:		
NOMBRE		FIRMA
HORAS DE SERVICIO	OBSERVACIONES:	
COSTO		

Fuente: Garfield F. M. 1993. Principios de Garantía de Calidad para Laboratorios Analíticos. AOAC.

Expediente de reactivos:

Este debe contener información relacionada con la recepción y características que presente a su llegada al laboratorio, esto puede realizarse en una bitácora o en un formato como el que se presenta en la siguiente tabla:

Tabla No. 8. Registro de reactivos

REGISTRO DE REACTIVOS				
NOMBRE DEL REACTIVO			MARCA Y/O FABRICANTE	
GRADO	UNIDADES	CAPACIDAD	FECHA DE RECEPCIÓN	FECHA DE APERTURA
APARIENCIA	COLOR	SOLUBILIDAD	ABSORBENCIA	
OBSERVACIONES:				

Fuente: Garfield F. M. 1993. Principios de Garantía de Calidad para Laboratorios Analíticos. AOAC.

Expediente de medios de cultivo:

Este debe contener el control de la recepción, apertura y caducidad de los medios de cultivo a emplear, esto puede realizarse en una bitácora como lo muestra el ejemplo de la Tabla No. 9.

Tabla No. 9. Bitácora de medios de cultivo.

NO. REG.	TIPO DE MEDIO	CONTENIDO	NO. LOTE	FECHA DE RECEPCIÓN	FECHA DE APERTURA	FECHA DE CADUCIDAD	RESPONSABLE	OBSERV

Fuente: Harrigan W. F. 1998. Laboratory Methods in food Microbiology. 3rd ed. Academic Press.
Ortega D. Y. Garantía de calidad de los laboratorios de Microbiología Alimentaria.

Expediente de muestras para análisis:

Para establecer las condiciones en las que se entrega una muestra al laboratorio, se propone el uso de bitácora o formato en la que se registren los datos que señala el ejemplo de la Tabla No. 10 de acuerdo al Proyecto NOM-109-SSA1-1994.

Tabla No. 10. Registro de muestra

REGISTRO DE MUESTRA			
NO. REGISTRO	CANTIDAD	FECHA	HORA
NO. DE LOTE	TEMPERATURA	LUGAR	
NOMBRE DE QUIEN REALIZÓ EL MUESTREO			
NOMBRE GENÉRICO Y ESPECÍFICO DEL PRODUCTO			
MARCA DEL PRODUCTO			
OBSERVACIONES (CONDICIONES SANITARIAS)			

Fuente: NOM-109-SSA1-1994. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Expediente de control ambiental:

Deben registrarse los resultados en una bitácora, ejemplo:

Tabla No. 11. Bitácora de control ambiental

PRUEBA MICROBIOLÓGICA	MONITOREO EN:	OBSERVACIONES	RESULTADOS	FECHA Y HORA	RESPONSABLE
RECuento AEROBIOS	LABORATORIO MICROBIOLOGÍA	NINGUNA	7 UFC	13/06/01 1:00 P.M.	J.K.O.S.

Fuente: Buenas prácticas de higiene en el manejo higiénico de alimentos. Seminario 3M Microbiología. 3M de México. Junio, 2001.

4.4

MUESTREO

El **muestreo** de alimentos destinados al análisis microbiológico es la operación que consiste en obtener una **muestra**¹ ó porción **representativa** que indique la calidad sanitaria del **lote**², remesa, partida, etc. del que ha sido tomada, con resultados fiables, el procedimiento se realiza de acuerdo con lo establecido en las especificaciones microbiológicas de la Norma Oficial Mexicana referente a los procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.^{6, 21, 33}

¹ Una **muestra** es el material que se sustrae para estimar el carácter de un lote y está compuesta por muestras unitarias, comúnmente llamadas **unidades de muestra**, que constituyen la cantidad de materia que se utilizará para el análisis. (6, 15, 21)

² Un **lote**, es una cantidad de alimento producida y manipulada bajo condiciones uniformes en un periodo de tiempo y que puede incluir un gran número de pequeños envases, cajas, sacos, barriles, etc. todos ellos marcados con un código conocido como **número de lote** que permite la identificación del alimento, cada empresa debe realizar la identificación como un procedimiento estándar. El **número de lote** permite identificar la relación de éste con algunos aspectos de su producción o en el caso de que se necesite tomar una muestra adicional y éste haya sido trasladado del lugar original en donde se realizó el muestreo, o si es necesario embargarlo o confiscarlo según indique al análisis realizado a la muestra e indique violación de los estándares microbiológicos de las Normas Oficiales. (6, 15)

Para estar seguros de la calidad del lote al aceptarlo o rechazarlo tendría que analizarse todo o aumentar el número de muestras analizadas, lo que aumentará la confianza en el resultado, pero el análisis microbiológico es una prueba destructiva lo que aumenta el coste del análisis sin quedar producto que vender, por esta razón, se debe encontrar un término medio entre lo que es factible y lo que proporciona la mejor valoración de la calidad del lote, por lo que es de vital importancia establecer un muestreo adecuado. ^{1, 15}

La muestra deberá ser **representativa** es decir, deberá tener características lo más similares como sea posible a las del lote del que procede y reflejar las mismas condiciones que existan en el momento del muestreo siguiendo para ello una serie de medidas que se explican más adelante. ^{6, 15, 21}

Puede usarse una *aproximación estratificada*, esto es, con la finalidad de dar la misma oportunidad a cada pequeña parte del material de cada *estrato* (por ejemplo: de cada sublote(s) o caja(s)) de estar en la muestra total, se obtiene una muestra al azar de un número dado de alícuotas a partir de cada uno de éstos. ¹⁵

Las buenas prácticas en el muestreo incluyen las siguientes consideraciones:

- Elección del programa de muestreo
- Obtención de una muestra representativa
- Empleo de técnicas correctas para la toma de muestra
- Empleo de equipo y envases adecuados a la naturaleza y estado físico del producto
- Identificación correcta de la muestra
- Conservación y transporte adecuado de la muestra
- Adecuada documentación del muestreo ⁸

La toma de muestra puede realizarse a intervalos regulares en cualquier punto de la cadena de producción, para obtener una imagen más exacta del estado microbiológico del lote y conjuntamente determinar las condiciones

operativas normales del proceso de fabricación así como la frecuencia requerida para efectuar un muestreo.^{6, 15}

Tomando en cuenta lo anterior, la toma de muestra debe realizarse:

- antes y después de operaciones de las que se sospeche que pueden causar contaminación en los productos
- del material que haya quedado en el equipo como consecuencia de una limpieza inadecuada durante o tras las operaciones del día anterior
- de todas las materias primas propensas a contaminación bacteriana (cabe mencionar que cuando hay continuos informes de la correcta actuación de un proveedor, sus lotes pueden analizarse con menor frecuencia)

- antes y después de cualquier tratamiento térmico u operación de llenado.
- Antes y después de la manipulación por operarios.⁶

Es necesario mencionar que la toma de muestras también se realiza cuando en la empresa se lleve a cabo una auditoria o revisión por parte de la SSA o algún organismo certificador, en estos casos el inspector puede tomar una muestra de donde el crea necesario.

4.4.1. Planes de muestreo

Un **plan de muestreo** implica la elección del procedimiento de muestreo así como el criterio de la decisión para la aceptación o rechazo de un lote de producto y se describe por los siguientes valores:

n = número de unidades de muestra a analizar

c = número máximo de unidades de muestra defectuosa permisibles

Es necesario saber que tan discriminante será el plan de muestreo a emplear, para ello se maneja una curva llamada **curva característica de operación**, en la que se muestran las relaciones entre la calidad y el porcentaje de lotes que se espera sean aceptables para la característica de calidad inspeccionada, es decir,

es una gráfica de los defectos del lote contra la posibilidad de que el plan de muestreo acepte el lote. La Figura No. 3 representa una curva característica de operación en la que:

$P_{\text{aceptación}}$ = Probabilidad de aceptación de un lote

P_{rechazo} = Probabilidad de rechazo de un lote

p = Porcentaje de unidades de muestra rechazables comprendidas en el lote, esta curva muestra que a mayor probabilidad p de que un análisis de un lote dé un resultado positivo. Le corresponde una menor *probabilidad de aceptación* ($P_{\text{aceptación}}$) de ese lote. Si por ejemplo se fija un límite de un 20% de rechazables ($p = 20\%$), entonces $P_{\text{aceptación}} = 0.68$. Esto significa que en 68 de cada 100 ocasiones, cuando se obtengan muestras de un lote con un 20% de ellas rechazables, se puede esperar que, dos o menos, de los análisis muestre la presencia de microorganismos, y de este modo calificarlo como aceptable, mientras que en 32 de cada 100 ocasiones habrá tres o más, positivos, que indicarán que no es aceptable.

Un plan de muestreo es más estricto mientras mayor sea el número de unidades analizadas (n) y menor el número máximo de unidades defectuosas a aceptar (c).

Los siguientes conceptos son elementales:

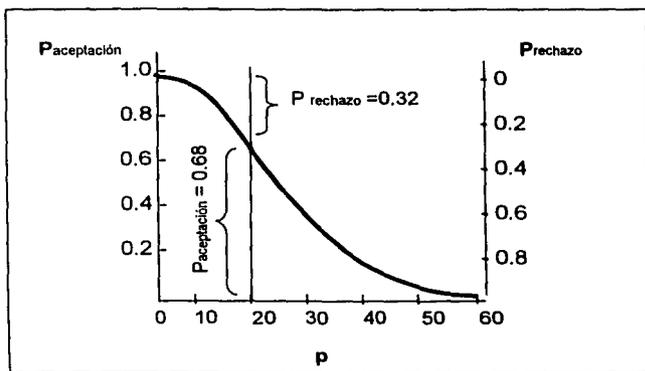
riesgo del productor: probabilidad de que un lote aceptable sea rechazado falsamente ($1 - P_{\text{aceptación}}$) **riesgo del consumidor:** probabilidad de que un lote rechazable sea aceptado falsamente ($P_{\text{aceptación}}$)

Un **lote rechazado** deberá regresarse al productor, ser reprocesado, destruido o prohibido para el consumo humano.

La toma de una muestra de forma que cada parte del lote tenga idénticas posibilidades de estar representada se conoce como **muestreo al azar**. Para ello una regla general que puede seguirse es recoger un número de muestras

equivalente a la raíz cuadrada del número de unidades del lote para muestreo. El muestreo aleatorio es el método más seguro que intentar obtener conscientemente las unidades de muestra a partir de las distintas partes del lote. ^{6, 15}

Figura No. 3 Curva característica de operación para $n=10$, $c=2$. Probabilidad de aceptación de lotes, en relación a la proporción de unidades de muestra rechazables comprendidas en los mismos



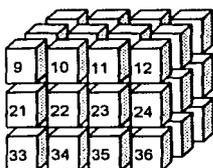
Fuente: ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos. Técnicas de Análisis Microbiológico. Ed. Acribia. 2ª. Edición. España.

Ejemplo: Supongamos que la Figura No. 4 representa un lote de 36 cajas, cada una de las cuales contiene 36 paquetes de 1 kg de un producto alimenticio. Aplicando el principio de la raíz cuadrada, en primer lugar la raíz cuadrada de 36 es 6. Esto quiere decir que debe recoger 6 muestras de las 36 cajas.

Para seleccionar al azar las cajas puede seguirse un método que consiste en numerar individualmente tiras de papel del 1 al 36, echarlas a un recipiente y agitar, extraer una tira, anotar el número y devolver la tira al recipiente. Repetir la

operación hasta que se hayan elegido 6 números distintos. Cada tira de papel debe tener las mismas posibilidades de salir elegida, por esto después de cada extracción debe regresarse la tira de papel al recipiente, de lo contrario las probabilidades cambiarían. ⁶

Figura No. 4. Representación de un lote



Fuente: FAO. 1989. Manuales para el control de calidad de los alimentos. 9. Introducción a la toma de muestras de alimentos. Roma, Italia.

El método de muestreo aleatorio más imparcial y contrastado es el uso de la tabla de números aleatorios (Anexo 1), que consiste en columnas de dígitos al azar. El azar hace el trabajo y aunque no hay garantía de que la muestra elegida por los números aleatorios tenga idénticas características a las del lote, pero se puede estar seguro de que la muestra fue elegida de una forma acreditada y objetiva.

Para usar una tabla de números aleatorios es necesario lo siguiente:

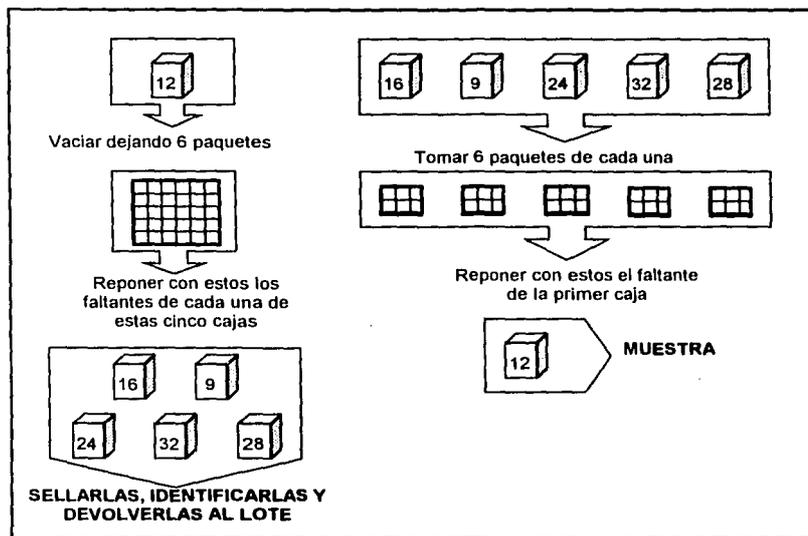
1. Numerar consecutivamente cada uno de los paquetes, contenedores u otra unidad.
2. Elegir una página de la tabla de números aleatorios, puede hacerse por medio de un sorteo.
3. Al azar, se marca con un lápiz algún punto de la página elegida, el número más próximo al punto marcado es el de que se parte. Se usan tantas columnas como se necesiten de acuerdo con el número de paquetes que comprenden el lote.

Observe:

El número de la columna está indicado en la parte superior de la tabla y cada columna está formada por una línea vertical de números dígitos. Las columnas están dispuestas en grupos de 5 para facilitar su identificación.¹⁵

Del ejemplo anterior obtuvimos 6 cajas y de cada una tomaremos 6 paquetes individuales, pero no es conveniente dejar 6 cajas parcialmente llenas para ello se recurre al **método de reposición** y así obtener una caja de producto compuesta de todos los productos individuales que tomamos de las 6 cajas, la Figura No. 5 indica como se realiza:

Figura No. 5. Método de reposición



Fuente: FAO. 1989. Manuales para el control de calidad de los alimentos. 9. Introducción a la toma de muestras de alimentos. Roma, Italia.

Los principios fundamentales para la obtención de la muestra son:

- **n** (número de unidades de muestra) hace referencia al número de unidades que se eligen separada e independientemente.
- Si se extrae un número mayor de unidades de muestra pequeñas se obtiene una mayor seguridad que extrayendo el mismo peso total de muestra en menos unidades de muestra.
- La muestra efectiva de la población sólo consta de aquellas unidades de muestra que realmente se analizan. Así, si se extraen 10 unidades pero sólo tres se analizan, el plan de muestreo es aquel en el que $n = 3$, y no $n = 10$.
- El factor principal no es el tamaño del lote que se toma como muestra, sino más bien el tamaño conjunto de la muestra aleatoria de la población (número y tamaño de las unidades de muestra) y los criterios de aceptación y rechazo.
- Cuando no es posible tomar una muestra al azar de un lote completo, sino sólo de alguna parte accesible, se le llama a esta parte "marco", los resultados y conclusiones aplicarán sólo a éste.¹⁵

La ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) ha establecido que los siguientes factores son de gran importancia para tomar la decisión correcta:

Peligrosidad.

¿Hasta que punto es peligroso el tipo o tipos de microorganismos y la tasa o tasas en que están presentes?. Al umentar la peligrosidad se necesitan más o mayores unidades de muestra para minimizar la probabilidad de aceptar un lote que debería ser rechazado.

Uniformidad.

Si como resultado del proceso de fabricación hay una mezcla perfecta de alimento se puede usar un número o tamaño de unidades de muestra relativamente menor. Si se tiene sospecha de una contaminación elevada

en algunos pocos puntos del alimento, se necesita un número de unidades de muestra mayor.

Estratificación.

Si se sabe que hay estratificación en los lotes del producto, se puede usar la estratificación correspondiente en la selección de unidades de muestra.

Historial.

Cuando el historial de un alimento aumenta indicando que el tratamiento a que es sometido está bien realizado, éste será digno de confianza y podrá reducirse el muestreo.

Limitaciones Prácticas.

Ya que la mayoría de los análisis microbiológicos son laboriosos y lentos y los alimentos altamente perecederos existen presiones políticas o administrativas para reducir el muestreo lo que aumenta la probabilidad de cometer un error.

Existen diferentes tipos de datos de atributos y determinaciones. En el caso de los de **atributos**, las decisiones de aceptación o rechazo se basan en la presencia o ausencia de algún microorganismo dentro de los límites especificados, por ejemplo, cuando de un número de unidades de muestra, algunas de ellas son positivas, la decisión de aceptación o rechazo en éstas últimas y el resultado se expresa como un nivel superior o inferior al especificado.

Otro tipo son los de **determinaciones** de variable continua, como una concentración o un número, estos datos se pueden convertir en los del tipo de atributo estableciendo un valor límite, cuestión recomendable ya que los datos de determinaciones requieren el conocimiento del tipo de la distribución de frecuencia de la determinación y dado que la distribución de microorganismos es, en la mayoría de los lotes casi totalmente desconocida, normalmente en los planes de muestreo se manipula siempre con datos de atributos. ¹⁵

PLAN DE MUESTREO DE *dos clases*.

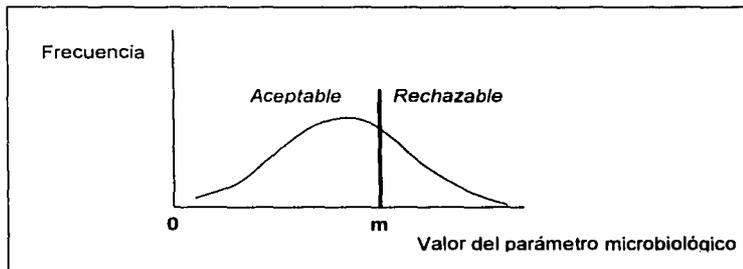
Este plan de muestreo se aplica cuando un análisis microbiológico es realizado para comprobar la ausencia o presencia de un microorganismo (positivo o negativo) o para determinar si la tasa microbiana es inferior o superior a un nivel crítico m .

El valor de m se define como el nivel de microorganismos aceptable y obtenible con buenas prácticas de manufactura. Puede tener un valor de cero o de ausencia de cierto microorganismo, nivel de detectabilidad de una prueba o un valor numérico, por lo tanto m es un valor crítico arriba del cual la unidad analizada se considera defectuosa.

Después de analizar las unidades de muestra, los recuentos se dividen en **dos categorías**:

1. Las unidades con valores entre 0 y m que se consideran aceptables
2. Las unidades con valores mayores de m que se consideran rechazables.

Figura No 6. Representación gráfica de un plan de *dos clases*



Fuente: ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos. Técnicas de Análisis Microbiológico. Ed. Acribia. 2ª. Edición. España,

Por ejemplo, si en un análisis se pretende comprobar la presencia o ausencia de un microorganismo en un lote de alimentos el plan de muestreo en el que se especifique $n = 15$, $c = 2$, significa lo siguiente: tomar una muestra de 15 unidades de muestra y realizar el análisis de cada una de ellas; si en 2 unidades de muestra o menos se detecta la presencia del microorganismo, el lote se acepta, pero si en 3 o más se detecta la presencia del microorganismo, el lote se rechaza.

A partir de los números n y c se establece la probabilidad de aceptación, P_a . Para un valor definido de c , mientras mayor sea n , mejor ha de ser la calidad del alimentos para poder superar la prueba. Por el contrario, para un determinado tamaño de muestra n , a medida que aumenta el valor c el plan será menos severo y el alimento superará la prueba más fácilmente (mayor probabilidad de aceptación, P_a) respecto a una determinada calidad. La Tabla No. 12 ejemplifica, planes más severos y más suaves tomando como punto de partida un plan $n = 10$, $c = 2$.¹⁵

Tabla No. 12. Ejemplos de severidad de planes de muestreo de acuerdo con los valores de n y c .

n	c	severidad del plan
15	2	Más severo
10	1	
10	2	Ejemplo
5	2	Más suave
10	3	

Fuente: ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos. Técnicas de Análisis Microbiológico. Ed. Acribia. 2ª. Edición. España,

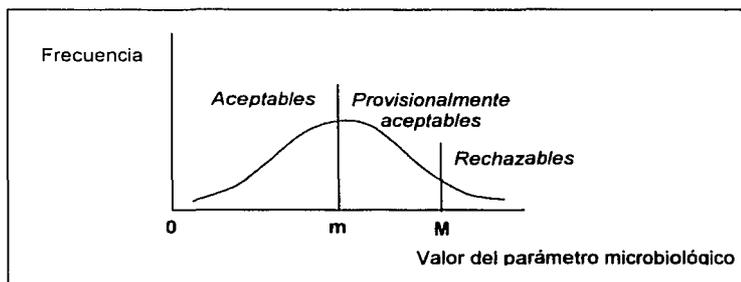
PLAN DE MUESTREO DE *tres clases*.

En este plan como su nombre lo indica, después de analizar las unidades de muestra de acuerdo con los criterios microbiológicos, los recuentos se dividen en *tres clases*, es decir además de m se establece M que constituye un nivel de contaminación peligroso debido al uso de procedimientos sanitarios deficientes. M separa las unidades de muestra de calidad marginalmente aceptables de las rechazables y todos los lotes que presenten valores que excedan a M **deben rechazarse**. Los recuentos entre m y M no son deseables pero algunos pueden aceptarse.

Las *tres clases* de este plan dividen:

1. Las unidades con valores entre 0 y m que se consideran *aceptables*.
2. Las unidades con valores entre m y M que se consideran *provisionalmente aceptables*.
3. Las unidades con valores mayores de M que se consideran *rechazables*.

Figura No. 7. Representación gráfica de un plan de muestreo de *tres clases*



Fuente: ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos . Técnicas de análisis Microbiológico. Ed. Acribia. 2ª. Edición. España.

Para determinar el valor de **M** se toma en cuenta lo siguiente:

- **Microorganismos de descomposición:**
 - Serán los niveles de microorganismo que producen una descomposición detectable (olor y sabor) o una vida de anaquel inaceptablemente corta.
- **Indicadores de sanidad:**
 - Niveles que indican una condición de sanidad inaceptable.
- **Microorganismos que presentan un riesgo a la salud:**
 - Los niveles de microorganismos (o concentración de toxinas) que producen enfermedades.

La probabilidad de aceptación $P_{\text{aceptación}}$, se establece a partir de los números **n** y **c**, al igual que el plan de *dos clases*.

Las ventajas del uso de un plan de *tres clases* son:

- Algunas unidades pueden resultar en el intervalo marginalmente aceptable, sin causar problemas, y se pueden aceptar.
- Se afectan menos por cambios en la distribución de microorganismos dentro de un lote, debidos a causas desconocidas.
- Permiten advertir aumentos en los riesgos, si existe una tendencia de aumento en el número de unidades marginalmente aceptables.

La decisión de usar un plan de *dos clases* o *tres clases* reside en si se puede permitir la presencia de una unidad de muestra positiva dentro de la muestra tomada, si no se permite se usa un plan de *dos clases*, con un $c=0$ (número máximo de muestras defectuosas permisibles igual a cero). Si la respuesta es positiva, puede aplicarse un plan de *dos o tres clases*, pero se recomienda el de *tres clases*. La ICMSF recomienda seguir el diagrama que se muestra en la Figura No. 8 para tomar la decisión entre un plan y otro.

La ICMSF propone 15 categorías que surgen de la combinación del grado de peligro que puede representar determinado microorganismo al estar presente en un alimento frente a las condiciones en la que se espera sea manipulado y consumido el alimento después del muestreo, dando como resultado condiciones que:

- *aumentan el peligro*: por ejemplo, recontaminación después del procesamiento, manipulación de tal manera que se permita la multiplicación de microorganismos y cuando la cocción no ocurre inmediatamente antes del consumo
- *no modifican el peligro*.
- *reducen el peligro*: por ejemplo, cuando se sabe que se aplicará al alimento un procesamiento térmico.

Lo anterior se agrupa en la Tabla No. 13 incluyendo en cada categoría el plan de muestreo a emplear.

La Tabla No. 14 muestra ejemplos que indican condiciones de tratamiento a las que someterán diferentes productos cárnicos definiendo si son condiciones que aumenten o modifiquen el peligro y señalando la categoría a la que pertenece cada caso según la tabla anterior. Usando conjuntamente ambas tablas se puede saber el programa de muestreo a emplear.

La Secretaría de Salubridad y Asistencia expide la Norma Oficial Mexicana **NOM-109-SSA-1994** referente a los procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico, que es de observancia obligatoria para personas físicas o morales que requieren efectuar un muestreo para análisis microbiológicos de alimentos nacionales o importados.

Tabla No. 13. Planes de muestreo recomendados para combinaciones de diferentes grados de peligrosidad para la salud en diversas condiciones de manipulación

Grado de peligro	Condiciones en las que se espera sea manipulado y consumido el alimento después del muestreo		
	Condiciones que reducen el peligro	Condiciones que no modifican el peligro	Condiciones que aumentan el peligro
Sin peligro directo para la salud, vida de anaquel, alteración	Aumento de vida de anaquel CATEGORÍA 1 3 clases n = 5, c = 3	Sin modificación CATEGORÍA 2 3 clases n = 5, c = 2	Disminución de vida de anaquel CATEGORÍA 3 3 clases n = 5, c = 1
Peligro para la salud bajo, indirecto (indicadores)	Disminución de peligro CATEGORÍA 4 3 clases n = 5, c = 3	Sin modificación CATEGORÍA 5 3 clases n = 5, c = 2	Aumento de peligro CATEGORÍA 6 3 clases n = 5, c = 1
Peligro moderado directo, difusión limitada	CATEGORÍA 7 3 clases n = 5, c = 2	CATEGORÍA 8 3 clases n = 5, c = 1	CATEGORÍA 9 3 clases n = 10, c = 1
Peligro moderado directo, difusión extensa	CATEGORÍA 10 2 clases n = 5, c = 0	CATEGORÍA 11 2 clases n = 10, c = 0	CATEGORÍA 12 2 clases n = 20, c = 0
Peligro grave directo	CATEGORÍA 13 2 clases n = 15, c = 0	CATEGORÍA 14 2 clases n = 30, c = 0	CATEGORÍA 15 2 clases n = 60, c = 0

Fuente: ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos. Técnicas de Análisis Microbiológico. Ed. Acribia. 2ª. Edición. España.

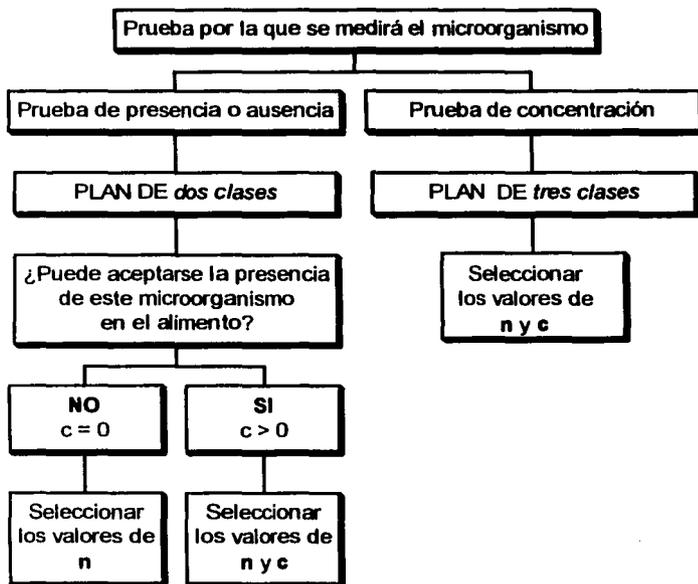
Tabla No. 14. Interrelación de categoría, pruebas microbiológicas y condiciones para diferentes productos cárnicos

Tipo de problema	Influencia de las condiciones	Categoría	Producto	Análisis microbiológico	Condiciones a las que se someterá al alimento
Alteración y vida útil	Aumentan el peligro	3	Carnes frescas	SPC*	Almacenamiento excesivo, refrigeración discontinua o inadecuada
		3	Conservas de carnes curadas	"Abombamientos"	Almacenamiento a temperatura ambiente normal
Peligro moderado directo, difusión limitada	Reducen el peligro	7	Carne o productos cárnicos desecados	Estafilococos	Se someterán a tratamiento térmico tras la reconstitución
	Aumentan el peligro	9	Carne cocida	<i>C. perfringens</i>	No se refrigerará inmediatamente
Peligro moderado directo, difusión extensa	Reducen el peligro	10	Carne cruda	<i>Salmonella</i>	Se someterá a cocción
	Aumentan el peligro	12	Carne cruda	<i>Salmonella</i>	Refrigeración inadecuada y contaminaciones cruzadas
Peligro grave directo	Reducen el peligro	13	Carnes perecederas	<i>C. botulinum</i>	Refrigeración
		13	carne de ave	<i>Salmonella</i>	Se someterán a cocción antes del consumo
	Aumentan el peligro	15	Semiconservas de carne como jamón enlatado	<i>C. botulinum B</i>	Almacenamiento a temperaturas templadas, insuficiente cantidad de sal o nitritos

* Cuenta total en placa

Fuente: ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos. Técnicas de Análisis Microbiológico. Ed. Acricbia. 2ª. Edición. España.

Figura No. 8. Elección del plan de muestreo según la prueba a realizar



Fuente: ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos . Técnicas de Análisis Microbiológico. Ed. Acribia. 2ª. Edición. España.

4.4.2. Toma de muestra

Debe tenerse especial cuidado en el procedimiento de toma, manejo y transporte con el propósito de asegurar que una vez tomada la muestra, los posibles microorganismos incorporados en la muestra son viables y estables hasta la ejecución del análisis ^{18, 33}

Material para la Toma de Muestra

Todo el material y utensilios de muestreo que van a estar en contacto directo con el alimento, deben estar limpios, estériles y libres de sustancias que pudieran influir en la microflora del producto.³³

El material que comúnmente se emplea en el muestreo es el siguiente:

Envases.

- Frascos de boca ancha con tapa de rosca o tapón esmerilado de material esterilizable, no tóxico y de tamaño acorde con la cantidad de muestra deseada.
- Envases de plástico esterilizable
- Bolsas de polietileno estériles.

Utensilios.

- Pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, cuchillos afilados, estériles.
- Hisopos (Quick Swab 3M)

Material para esterilización.

- Papel estroza.
- Algodón.
- Cinta testigo.
- Etiquetas autoadheribles.
- Marcadores indelebles.

Control de temperatura.

- Termómetro metálico con rango de temperatura de -20° C a 100° C

Equipo para transportar.

- Hieleras de poliestireno o de otro material aislante.

Equipo para esterilización.

- Autoclave.
- Horno.^{21, 33, 55}

Los envases, deberán estar perfectamente limpios, secos y estériles y no deberán impartir ningún sabor u olor al producto. Su tamaño deberá guardar relación con la muestra que se vaya a tomar. Deberán ser herméticos e inaccesibles a cualquier contaminación posterior a su esterilización.²¹

Hisopos. Comúnmente para muestreo con hisopos se prepara algodón sobre algún soporte, se envuelve, esteriliza y se transfiere a bolsas de plástico. Para evitar complicaciones y sobre todo para realizar un *muestreo superficial consistente*, el hisopo **3M Quick Swab** es fácil y rápido de usar, eficiente y económico. Es un dispositivo de muestreo superficial listo para usarse, que consiste en una punta de rayón de 5 pulgadas conteniendo buffer neutralizante de Letheen para facilitar la recuperación bacteriana. Puede usarse húmedo o seco para muestrear superficies y dispersar rápidamente 1ml de muestra sobre una Placa 3M Petrifilm (véase 4.5.6. *Métodos Rápidos de Diagnóstico Microbiológico*), la forma de usar el **3M Quick Swab** se explica en los *Métodos de Muestreo*.²²

Esterilización del material.

- El material se envolverá en forma individual con papel de estraza,
- Deberá ser identificado y deberá colocársele cinta testigo,
- Deberá ser esterilizado en autoclave (calor húmedo) a 121°C durante 15 minutos o en horno (calor seco) a 170° C por 2 horas.
- Una vez esterilizado el material debe ser protegido para evitar contaminación posterior.^{21,33}

De ser necesario, si se requiere mayor número de utensilios, limpiar los que hayan sido usados y empaparlos con etanol o isopropanol al 70%, posteriormente flamearlos y colocarlos en recipientes estériles para evitar su contaminación o inmediatamente utilizarlos.³³

Consideraciones para la Toma de Muestra

Es necesario que el personal que lleve a cabo el muestreo esté bien entrenado y conozca perfectamente su finalidad e importancia. Al ejercer su labor, debe:

- Lavarse las manos y usar guantes estériles si entra en contacto directo con el alimento.
- Utilizar bata, cofia y cubreboca.
- La toma de muestra debe hacerse con rapidez, pero cuidadosamente.
- Los recipientes para la toma de muestra deben abrirse únicamente al momento de introducir ésta y cerrarlos de inmediato. No debe tocarse el interior de los envases y evitar que la tapa se contamine.
- Cuando sea necesario tomar la temperatura, la muestra que se utilice para tal fin deberá ser diferente de la que se envía para su análisis.
- En productos a granel, tomar la muestra de varios puntos del contenedor para obtener una muestra representativa.
- Las unidades de muestra se tomarán y en sus envases originales se enviarán al laboratorio.
- El muestreo sobre lotes, se puede hacer siguiendo el método aleatorio y si se trata de cajas grandes que contienen paquetes pequeños, seguir el método aleatorio seguido del método de reposición ambos explicados anteriormente.
- Cuando los productos están envasados en recipientes grandes es preciso abrir éstos, se toma la muestra(s) representativa en condiciones asépticas para evitar la contaminación microbiana, y se pasa(n) a envases estériles más pequeños.
- Los alimentos a granel se muestrean tomando porciones de distintas zonas con material estéril y pasándolas, asépticamente a envases esterilizados.
- Los alimentos expuestos al aire libre y a otras contaminaciones, no requieren precauciones estrictamente asépticas.
- La toma de productos envasados con presentación comercial para venta al menudeo se llevará a cabo en forma aleatoria y no aséptica, tomándose del mismo lote y en cantidad suficiente para sus análisis, enviándose al laboratorio tal como se presentan al consumidor.

- Si el producto por muestrear tiene salida por un conducto, se desechan las primeras porciones antes de tomar la muestra. ^{21, 33, 54, 55}

Identificación de la Muestra

- La muestra y unidades de muestra deberán identificarse de forma que se puedan relacionar con el lote del que se tomaron ya que si se encuentra algo anormal en el producto, el seguimiento para determinar la causa y el alcance del problema es más fácil, por ejemplo para tomar muestras adicionales o cuando los resultados del análisis son desfavorables y no debe permitirse que el producto restante llegue a los canales de consumo.
- Es importante que cada recipiente individual del que se toma la muestra sea identificado de algún modo que el inspector pueda reconocer más adelante. es importante que la fecha en que se recogió cada unidad de muestra se consigne en la caja de donde se tomó.
- Debe rotularse cuidando que la tinta no penetre hasta el producto, ya que no sólo lo contaminaría, sino que podría interferir también en el análisis la identificación, debe cubrirse con cinta adhesiva transparente para evitar que se corra.
- Deben registrarse la hora de recogida de las unidades muestras y la temperatura existente en tal momento.
- Es conveniente anotar la temperatura de almacenamiento del producto e incluso su propia temperatura. Estos datos serán remitidos al laboratorio. ⁶

En la toma de muestra es indispensable identificar el recipiente claramente, inmediatamente antes o después de colocar en él la muestra, mediante rótulo o etiqueta (indelebles) colocada entre la tapa y el cuerpo del frasco, la caja, en el nudo o cierre de la bolsa en forma tal que se evite que la muestra sea alterada o violada, con los siguientes datos:

- Fecha,
- Lugar y Ejemplo:
- Hora del muestreo,
 - Número de lote y
 - Temperatura si es que procede. 33, 54

<i>CARNE MOLIDA</i>	<i>13/06/01</i>
<i>MOLINO</i>	<i>8:30 a.m.</i>
<i>Lote No. 003</i>	<i>4° C</i>

Conservación y Transporte de la Muestra

- Las muestras deben entregarse al laboratorio a la mayor brevedad posible y los análisis deben iniciarse dentro de las 24 horas siguientes a su recolección, para que en los resultados de los quede reflejada, con la mayor fidelidad, la flora que cualitativa y cuantitativamente, que estaba en el alimento en el momento del muestreo.
- El manejo y transporte de muestras deberá efectuarse de tal manera que se impida su ruptura, alteración o contaminación evitando su exposición a la luz solar directa.
- Deberán mantenerse a temperaturas de refrigeración durante el traslado. La temperatura del aire en la sala de almacenamiento, el vehículo de transporte o cualquier otro tipo de ambiente debe registrarse en el momento de la toma y también debe determinarse la temperatura de la muestra una vez que se haya tomado.
- Los alimentos que se muestrean en caliente se deben conservar y trasladar a la temperatura en que se muestrearon, esto únicamente si el traslado es menor a una hora, de lo contrario deben enfriarse a temperatura ambiente y trasladarse en condiciones de refrigeración.
- En el caso de muestras individuales blandas, evitar que la presión que puedan ejercer otros recipientes o una cantidad excesiva de las mismas deformen u originen derrames y provoquen que el contenido se ponga en contacto con el exterior de la envoltura.
- Para la conservación, durante el transporte de las muestras no está permitido el empleo de sustancias químicas. 6, 21, 33, 54

Registro de la Muestra

La documentación es muy importante para establecer las condiciones en la que se entrega una muestra al laboratorio, esta información debe estar contenida en un expediente específico para ello. (Ver 4.3 SISTEMA DE REGISTRO)

4.4.3. Métodos para el muestreo de carne y productos cárnicos

Muestreo de la canal de cerdo y bovino, carnes refrigeradas

La técnica más exacta para la toma de muestras se usa un **sacabocados estéril** o un **cilindro cortante estéril**.

1. Con la ayuda de un sacabocados o cilindro cortante estéril se desprende de distintas regiones de la superficie de la carne una delgada muestra (5-10 muestras de 1-2 cm²).
2. Las muestras se depositan sobre matraces de volumen conocido.
3. Por cada cm² de muestra se añaden 10 ml de agua estéril o agua peptonada al 0.1%.
4. Durante 3 minutos, líquido y muestra se agitan vigorosamente, con lo cual los microorganismos pasan al líquido de dilución.
5. A partir de éste último se siembran en los medios de cultivo correspondientes.

Cuando la muestra se toma de carne recién sacrificada o de carne congelada la hoja del cilindro deberá estar bien afilada.

Otra técnica, consiste en **separar directamente los microorganismos de la superficie de la carne mediante un raspado**.

1. Con un cilindro hueco estéril aplicado sobre la superficie de la carne se marca una superficie determinada, generalmente un área de 10 cm²

2. Con una espátula estéril se desprenden los posibles microorganismos de la superficie enmarcada por el cilindro mediante un raspado.
3. La sustancia desprendida al raspar se mezcla con 90 ml del diluyente a emplear (agua estéril o agua peptonada al 0.1%), se agita vigorosamente durante 3 minutos y a un ritmo uniforme
4. Por último se hacen las diluciones necesarias y el análisis microbiológico correspondiente.^{21, 24}

Para muestrear la canal sin destruirla, se usan **hisopos con algodón ó 3M Quick Swab para desprender los microorganismos de la superficie de la carne**. Se explicarán tanto la técnica tradicional de hisopos de algodón como la del 3M Quick Swab para resaltar la gran ventaja de usar éste último:

Hisopos con algodón

1. Se preparan las torundas de algodón sobre algún soporte, se envuelven, se esterilizan y se transfieren a bolsas de plástico.
2. Al momento de muestrear, se humedece una torunda con agua estéril o con agua peptonada al 0.1% y se frota con ella la canal, usando la bolsa de plástico como guante.
3. Se toma una torunda seca y se frota con ella la misma superficie de nuevo.
4. Se ponen ambas torundas en la misma bolsa, se cierra herméticamente y se rotula.
5. Se añaden a las torundas 250 ml de diluyente (agua estéril o agua peptonada al 0.1%) y se presionan fuertemente para extraer los microorganismos.
5. Se preparan las diluciones necesarias y el análisis microbiológico correspondiente.

Es importante aclarar que uno de los principales inconvenientes con este método, es que no siempre se pueden recuperar todos los microorganismos de la torunda de algodón.

3M Quick Swab

1. Doblar la válvula roja en ángulo de 45°, hasta escuchar un tronido, apretar el bulbo para transferir todo el caldo al tubo.
2. Remover el hisopo del tubo y muestrear el área seleccionada, regresar el hisopo al tubo y llevar al laboratorio.
3. Agitar vigorosamente por 10 segundos para liberar las bacterias del hisopo.
4. Vaciar el contenido total del tubo en una Placa 3M Petrifilm correspondiente al microorganismo que se vaya a evaluar (véase 4.5.6. *Métodos Rápidos de Diagnóstico Microbiológico*)
5. Desechar el tubo e hisopo.

Este dispositivo puede usarse en seco sólo invirtiendo los pasos 1 y 2. El uso de

3M Quick Swab ofrece las siguientes ventajas:

- Evita la preparación de diluyentes neutralizantes y usar una pipeta para adicionar la muestra a la placa, ahorrando tiempo y mano de obra.
- Optimiza la precisión, consistencia y reproducibilidad, que en el método tradicional pueden variar significativamente por la cantidad de pasos a seguir.
- Es un dispositivo de muestreo superficial que por su tamaño facilita el muestreo en puntos de difícil acceso, por ejemplo al realizar una inspección en equipo después de la limpieza y sanitización (véase 4.5.6. *Métodos Rápidos de Diagnóstico Microbiológico*).²²

Muestreo de carne fresca, refrigerada, congelada, curada, seca, salada y ahumada

1. Tomar una porción de muestra de la superficie y otra de la parte interna. La porción será de aproximadamente 200 g.
2. Colocar en un recipiente estéril o en bolsas de polietileno de primer uso.
3. Mantener la muestra en refrigeración a 3°C ± 1°C y analizarla de preferencia dentro de las 6 horas de tomada.

Si se trata de carnes congeladas, descongelar completamente manteniendo en refrigeración a temperatura de $3^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y extraer:

- Parte muscular 200 g
- Porción líquida 10 ml. ²⁴

Muestreo de carcasas de ganado bovino, ovino, carnes deshuesadas, refrigeradas o no

1. Tomar 5 carcasas o paquetes grandes por separado de zonas de mayor contaminación que son región pectoral, área renal, área del cuello.
2. Tomar aproximadamente 200 g de cada porción seleccionada y colocarlos en bolsas de polietileno de primer uso (colocar una bolsa dentro de otra).
3. Transportar al laboratorio. ²⁴

Muestreo de carne molida

Como carne picada se considera a la carne fresca, finamente cortada o molida a la que no se le haya adicionado ningún conservador. Dado que los microorganismos superficiales están distribuidos desigualmente por toda la masa debe tomarse una muestra representativa al azar de aproximadamente 200 g. ^{21, 24}

Muestreo en canales de aves

Para el muestreo de la canal se toman muestras de debajo de las alas y de alrededor de la cloaca, para un muestreo más exigente se divide la canal en partes.

- Para examinar un gran número de aves se utilizan hisopos enrollados en soportes adecuados de 25 cm^2 .
- Se esterilizan en tubos grandes.
- Se usa un hisopo para frotar el exterior del ave y otro para la cavidad corporal.

- Se lavan los hisopos y se realizan recuentos totales y de coliformes

Se propone examinar una zona de 16 cm² de la piel de la pechuga para recuentos totales y de coliformes fecales.

Para la investigación de *Salmonella* se analiza toda la canal:

- Se hacen frotis con hisopos o lavados en una bolsa de plástico adecuada.
- Se recogen los lavados y se les añade un medio de enriquecimiento adecuado.

Del líquido descongelado depositado en los ventiladores de enfriamiento o en el líquido interior de las bolsas de plástico en las que se envasan las aves se pueden realizar recuentos totales o de microorganismos patógenos.²¹

Son muy útiles los resultados obtenidos de un análisis microbiológico, si para ello se cumple con tres actividades básicas:

1. La recolección de una muestra representativa y de manera correcta.
2. La correcta preparación y conservación de la muestra para el análisis.
3. Método de análisis apropiado apegado a normas o estándares de calidad.⁸

4.5

BUENAS PRÁCTICAS DE ANÁLISIS

Las técnicas o métodos de análisis microbiológico deben realizarse con apego a la metodología establecida en Normas Oficiales, evitando y controlando factores de variación para proporcionar resultados confiables, empleando para ello las Buenas Prácticas de Análisis.

Los laboratorios de industria pueden elegir para el control rutinario de uso interno, métodos más simples, económicos y rápidos, diferentes de los oficiales, siempre y cuando se haya comprobado su equivalencia. (véase 4.5.6. *Métodos Rápidos de Diagnóstico Microbiológico*).

En casos legales o de peritaje en relación con sanidad o aplicación de Leyes comerciales sobre alimentos, deberán emplearse únicamente **Métodos Oficiales**. Para fines de comercio internacional se debe responder a las especificaciones que indiquen las normas de calidad de cada país y/o de la norma internacional según sea el caso. ^{16, 17}

La **preparación y manejo de muestra**, la **preparación de diluciones decimales** así como la **preparación de medios de cultivo**, son etapas iniciales de un análisis microbiológico determinantes para asegurar la confiabilidad de los resultados. (véase apartados 4.5.1., 4.5.2. y 4.5.3. *respectivamente*).

4.5.1. Preparación y manejo de la muestra

La **preparación de la muestra** para su análisis microbiológico, debe realizarse bajo condiciones muy estrictas de manipulación aséptica, con material y diluyentes estériles y evitando su contaminación exterior, esta operación incluye el pesado, dilución y macerado de la muestra. ²¹

El **pesado de la muestra** debe realizarse asépticamente y para evitar una manipulación excesiva se recomienda seguir la técnica que se describe en este apartado.

La **dilución de la muestra** tiene por objeto obtener una distribución lo más uniforme posible de los microorganismos contenidos en ella. La dilución debe realizarse con una solución que no produzca modificaciones cualitativas, ni cuantitativas en la flora microbiana, es decir, no debe suprimirla ni favorecer su

desarrollo, una solución que cumple con estas características es el agua peptonada. El diluyente utilizado para la preparación de la dilución inicial se suele emplear, posteriormente, para efectuar las diluciones decimales.

La Norma Oficial Mexicana **NOM-SSA1-110-1994**. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico, indica la metodología a seguir, además deberán hacerse las consideraciones establecidas en las NOM para cada análisis microbiológico en particular.

Además de una perfecta **maceración de la muestra** es necesario obtener una mezcla homogénea para lograr la distribución equilibrada de los gérmenes y sus toxinas. Debe evitarse la destrucción de los gérmenes por rotura de su membrana o por un calentamiento excesivo, el *tritador peristáltico o de paletas* (Stomacher) actúa golpeando rítmicamente la mezcla del alimento y diluyente que ha sido introducida previamente en una bolsa de plástico estéril, los choques producidos por las paletas dislaceran el alimento y ponen a las bacterias en suspensión, éste es utilizado con éxito en los laboratorios de microbiología alimentaria por su sencillez de uso, considerando que sus resultados son equiparables o superiores a los de otros métodos.

El diluyente comúnmente utilizado es el agua de peptona y su composición es la siguiente:

Peptona	1	g
Cloruro sódico	8,5	g
Agua destilada	1	l

Preparación. Mezclar y disolver los ingredientes en el agua. Ajustar el pH a 7 ± 0.1 con hidróxido de sodio 1.0 N.

Material:

- Frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca

- Utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillas, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc.

Todo el material e instrumentos que tengan contacto con las muestra bajo estudio deberán esterilizarse mediante:

- Horno, durante 2 h a 170 a 175° C o 1 h a 180° C o en
- Autoclave, durante 15 minutos como mínimo a $121 \pm 1^\circ \text{C}$.

El material de vidrio puede sustituirse por el material desechable que cumpla con las especificaciones deseadas. No debe usarse el material de vidrio dañado por esterilización repetida y éste debe ser químicamente inerte.

Equipo

- Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170° C
- Autoclave con termómetro y manómetro, calibrada con termómetro de máximas y mínimas.0
- Licuadora de una o dos velocidades controladas por un reóstato o bien un homogeneizador peristáltico (Stomacher)
- Vasos esterilizables para licuadora con tapa o bolsas estériles para homogeneizador peristáltico.
- Balanza granataria con sensibilidad de 0.1 g.

Procedimiento

1. Homogeneizar las unidades de muestra o diferentes partes si son muestras de mayor volumen.
2. Tarar el recipiente estéril que se vaya a utilizar para la maceración de la muestra
3. Introducir asépticamente al recipiente estéril un peso neto de 10 g de muestra con una aproximación de 0.1 g
4. Con probeta graduada estéril, añadir 90ml de diluyente estéril con temperatura similar a la muestra para obtener la *dilución primaria* 1:10, esto es, la cifra de

pesada obtenida del alimento se multiplica por 9 y el resultado de la multiplicación será el número de mililitros de diluyente que hay que incorporar a la muestra para obtener dicha dilución.

5. Triturar en el homogeneizador peristáltico o licuadora de 1 a 2 min. no más de 2.5 min. aproximadamente a 8000 rpm
6. Para diluciones adicionales permitir que las partes grandes sedimenten y transferir la cantidad deseada tomando capas superiores.

4.5.2. Preparación de diluciones decimales

A partir de la *dilución inicial* 1:10 de la muestra, se realiza la preparación de *diluciones decimales* la cual tiene por objetivo reducir el número de microorganismos por unidad de volumen, para poder realizar el análisis microbiológico, permitiendo la observación y cuenta de colonias en el caso de placas y la observación de la prueba en el caso de tubos o matraces.

Material:

- Tubos de ensayo de 16 x 150 mm con tapón de rosca.
- Agitador Pipetas estériles de vidrio de 10 y 1 ml
- excéntrico

Diluyente:

- Agua peptonada (*ver preparación de la muestra para su análisis*)

Procedimiento:

1. Distribuir el diluyente en tubos de ensayo de 16 x 160 mm, a razón de 9 ml y esterilizarlos en autoclave a $121 \pm 1^\circ \text{C}$ durante 15 min.
2. Transferir con una pipeta estéril 1 ml de la dilución inicial 1:10 a un tubo de ensayo que contenga 9 ml de diluyente.
3. Mezclar 30 segundos en agitador excéntrico, agitar 25 veces en 7 segundos, haciendo un arco de 30 cm de arriba hacia abajo o con una

agitación que dé resultados equivalentes. Lo importante es efectuar la agitación siempre de la misma manera para obtener resultados comparables.

4. La dilución obtenida es 1:100. La pipeta usada debe desecharse
5. De la mezcla anterior, y con otra pipeta estéril, se incorpora 1ml a otro tubo que contenga 9 ml de diluyente.
6. Mezclar de la misma manera que la mezcla anterior.
7. La dilución resultante es 1:1000. Igualmente desechar la pipeta.
8. Repetir los pasos 5 y 6.
9. La dilución obtenida es 1:10 000, generalmente estas 3 diluciones son las empleadas para el análisis microbiológico de carne y productos cárnicos. Si algún estudio lo requiere pueden realizarse más diluciones.
10. Desechar 1 ml de la última dilución.

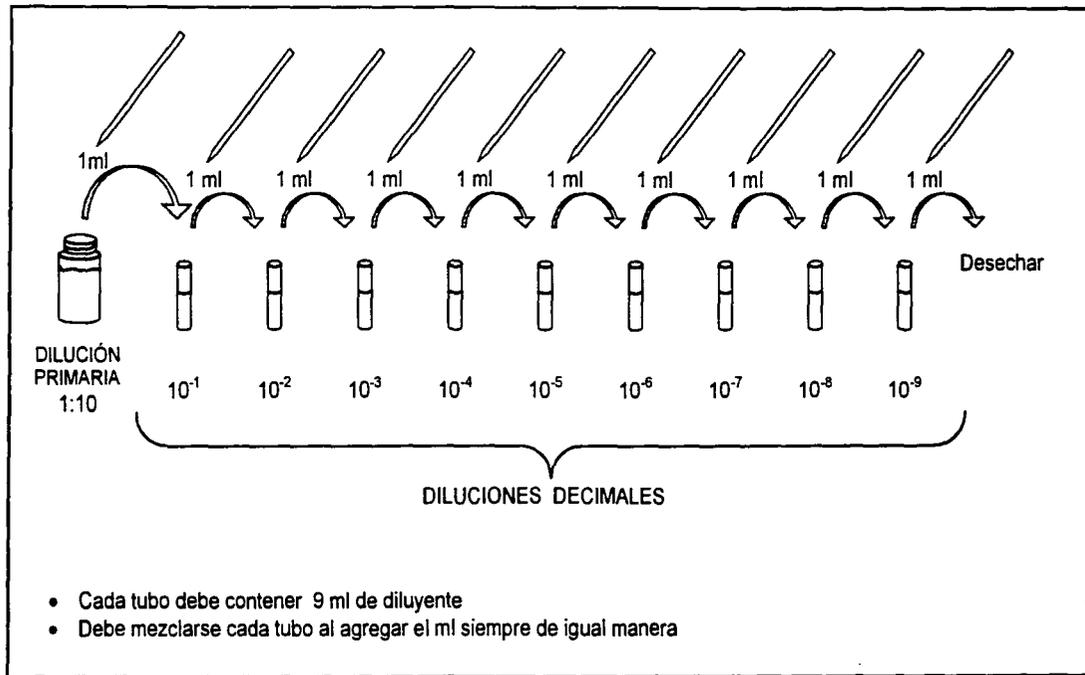
La Figura No. 9 muestra gráficamente el procedimiento para la preparación de diluciones decimales adicionales.

Buenas prácticas:

- Evitar el contacto entre la pipeta y el diluyente contenido en el tubo de ensayo.
- Mientras se afora el líquido de la pipeta, la punta de ésta debe apoyarse en el interior del cuello del frasco y mantenerla en posición vertical, para lo cual este último debe inclinarse lo necesario.
- Mezclar cuidadosamente siempre de la misma manera.
- Utilizar pipetas diferentes para cada dilución.

Las diluciones de la muestra deben ser preparadas inmediatamente antes del análisis y éstas deben ser usadas para inocular el medio de cultivo dentro de los 20 minutos posteriores a su preparación.

Figura No. 9. Preparación de diluciones decimales



Fuente: NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

4.5.3. Preparación de medios de cultivo

Para la preparación de los medios de cultivo, es muy importante emplear equipo, materiales reactivos, etc., que cumplan con los requisitos de calidad necesarios y seguir las buenas prácticas que se enlistan a continuación :

- Seguir fielmente los procedimientos señalados por el fabricante .
- Verificar la fecha de recepción.
- Pesar cuidadosamente la cantidad exacta del medio base deshidratado o las porciones correctas de los ingredientes. Usar una balanza y pesas, cuya exactitud se verifique frecuentemente.
- Pesar rápidamente pero con precisión los medios deshidratados que sean muy higroscópicos y cuidando que queden bien cerrados volver a guardar el frasco en su lugar.
- El medio ya pesado debe ponerse en solución rápidamente. Utilizar agua destilada o purificada en la preparación de los medios de cultivo según las indicaciones del fabricante.
- Disolver la mezcla homogéneamente antes de la esterilización o distribución del medio de cultivo. No agitar en exceso para evitar la formación de espuma.
- No sobrecalentar.
- Como fuente de calor para disolver el medio, se puede usar una fuente de gas, un microondas o un baño de vapor.
- Usar únicamente materiales de vidrio con las características que se mencionaron anteriormente.

La esterilización de los medios de cultivo debe realizarse cuidadosamente para ello es importante:

- Seguir las instrucciones del fabricante para la esterilización de cada tipo de medio de cultivo.

- No exceder el tiempo ni la temperatura recomendada al esterilizar, ya que pueden alterarse las características, propiedades, y calidad del medio de cultivo.
- Cada recipiente de medio esterilizado debe ser etiquetado correctamente.
- Inspeccionar visualmente cada lote de medio esterilizado antes de su empleo, verificando volumen, claridad, color, consistencia y alguna característica necesaria que indique el fabricante.

Para el vaciado o servido aséptico de los medios de cultivo deben tomarse en cuenta lo siguiente:

- Durante todo el tiempo de servido, mantener condiciones estrictas de asepsia en la manipulación mecánica de material y del equipo.
- No debe permitirse la entrada a la sala a personal de otras áreas.
- El operador debe llevar la ropa de protección de laboratorio limpia. Debe llevar cofia mientras está sirviendo el medio en las placas de Petri o procedimientos semejantes.
- Las manos deben lavarse muy cuidadosamente antes de iniciar la distribución de un lote de material.
- Las manos no deben tocar ninguna parte de los tubos de distribución que estarán colocados en un recipiente estéril.
- El área donde se lleve a cabo el servido debe mantenerse limpia y estéril, lo cual puede hacerse mediante mecheros encendidos rodeando a ésta, deben ser suficientes dependiendo del tamaño del área.
- Los recipientes con medio de cultivo estéril deben estar cubiertos durante el procedimiento de servido.
- No debe interrumpirse un ciclo de distribución excepto en caso de emergencia.

4.5.4. Técnicas oficiales de análisis microbiológico (NOM)

La **DGCSB y S** (Dirección General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios) de la **Secretaría de Salud** expide las Normas Oficiales relacionadas con diferentes productos cárnicos, en las que se establecen las especificaciones microbiológicas correspondientes (Tabla No. 15).

A partir de estas especificaciones se enlistan en la Tabla No. 16, los microorganismos a determinar y la **NOM** perteneciente al método que debe seguirse para ello.

De cada uno de estos métodos de análisis microbiológico se presentan los diagramas que incluyen las etapas a desarrollar conforme a lo establecido en las NOMs (Figuras No. 10, 11, 12, 13, 14 y 15), además de seguir el orden y las condiciones señaladas en estos diagramas, se debe trabajar conforme a los siguientes puntos Buenas Prácticas de Análisis:

- Identificar las muestras antes de comenzar el análisis y no desecharlas hasta obtener el resultado.
- Limpiar y desinfectar la superficie de las mesas antes y después de trabajar.
- Cerciorarse que el material que tenga contacto con las muestras sea estéril y que se cuenta con todo lo necesario.
- No exceder de 20 minutos desde el momento en que la muestra se incorpora al diluyente hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas.
- Identificar las cajas Petri en sus tapas con los datos pertinentes previamente a su inoculación y correr por duplicado.
- Después de su uso desechar las pipetas en un recipiente con desinfectante.
- No salpicar la mesa de trabajo y pisos con agua o sustancias con las que se esté trabajando .
- Cuidar que el medio no moje la cubierta de las cajas.
- Para siembra en profundidad mezclar u homogeneizar como se indica en la Figura No. 16.
- Incubar las cajas en posición invertida.

Tabla No. 15. Especificaciones sanitarias microbiológicas según Normas Oficiales Mexicanas para diferentes productos cárnicos

Carne o producto cárnico	Microorganismo					
	Mesofilicos aerobios (UFC/g)	Salmonella sp.	Staphylococcus aureus (UFC/g)	Escherichia Coli	Hongos y Levaduras (UFC/g)	Coliformes fecales (NMP/g)
Carne molida y moldeada	5 000 000	Ausente en 30g de muestra	1 000	---	---	---
Aves frescas refrigeradas y congeladas enteras y troceadas envasadas	10 000 000	Ausente en 30g de muestra	---	---	---	---
Curados y cocidos, y curados emulsionados y cocidos	100 000	Ausente en 25g de muestra	100	Negativo	<10	---
Troceados, curados y madurados:						
▪ Curados y madurados	---	Ausente en 25 g de muestra	<100	---	<10	<3
▪ Troceados y curados cocidos	100 000	Ausente en 25 g de muestra	<100	---	<10	<3
▪ Troceados y curados crudos y madurados	---	Ausente en 25 g de muestra	<100	---	<10	<3

Fuente: NOM-034-SSA1-1993, PROYECTO NOM-087-SSA1-1994, NOM-122-SSA1-1994, PROYECTO NOM-145-SSA1-1995.

Tabla No. 16. Normas Oficiales Mexicanas correspondientes a las determinaciones de microorganismos en productos cárnicos

Microorganismo	Norma Oficial Mexicana correspondiente	
	Número	Título
Bacterias aerobias	NOM-092-SSA1-1994.	Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
Mohos y levaduras	NOM-111-SSA1-1994.	Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
Bacterias coliformes	NOM-112-SSA1-1994.	Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
Coliformes Totales	NOM-113-SSA1-1994.	Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
<i>Salmonella</i>	NOM-114-SSA1-1994.	Método para la determinación de <i>Salmonella</i> en alimentos.
<i>Staphylococcus aureus.</i>	NOM-115-SSA1-1994.	Método para la determinación de <i>Staphylococcus aureus</i> en alimentos.

Fuente: NOM-092-SSA1-1994, NOM-111-SSA1-1994, NOM-112-SSA1-1994, NOM-113-SSA1-1994, NOM-114-SSA1-1994, NOM-115-SSA1-1994.

Figura No.10. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa



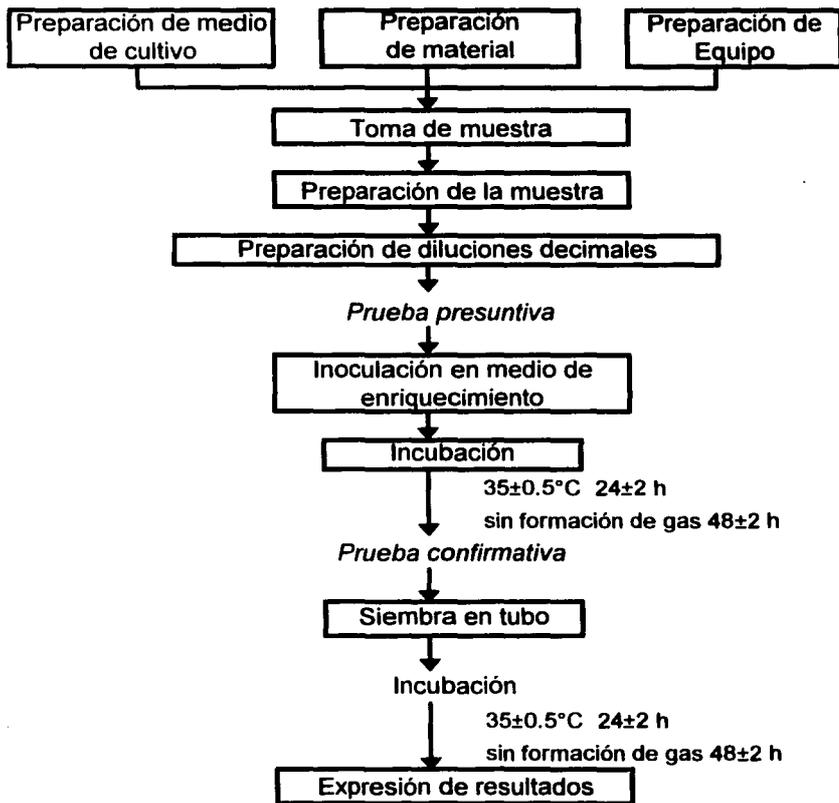
Fuente: NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

Figura No. 11. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos



Fuente: NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

**Figura No.12. Método para la determinación de bacterias coliformes.
Técnica del número más probable**



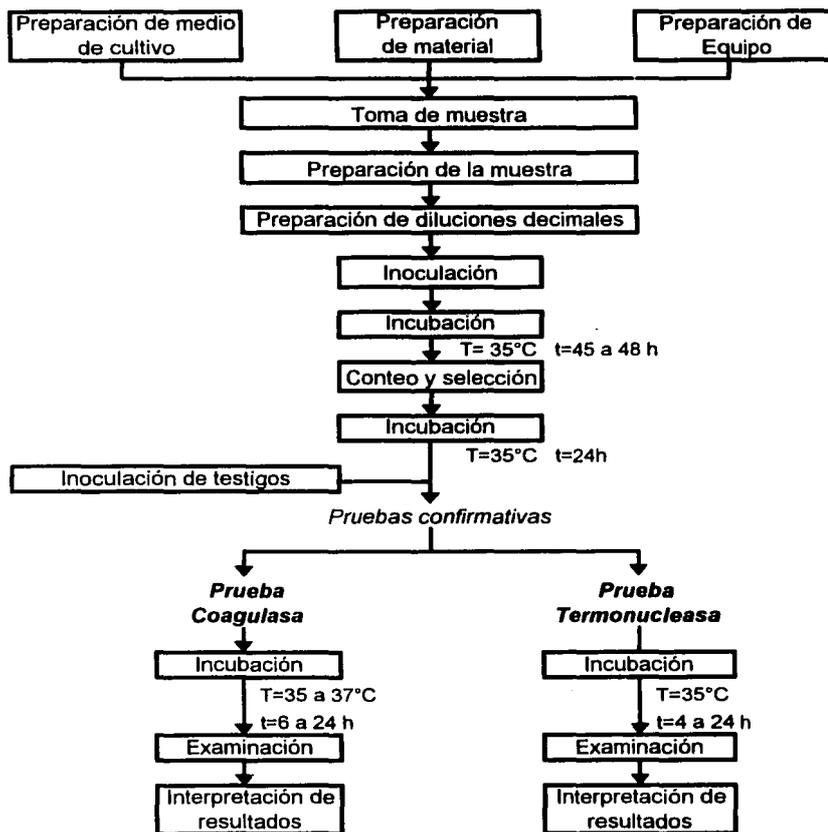
Fuente: NOM-112-SSA1-1994. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.

Figura No. 13. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa



Fuente: NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

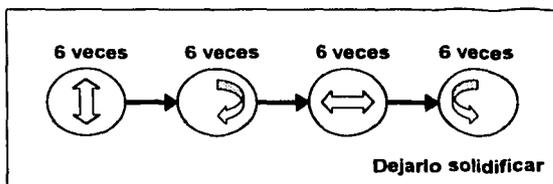
Figura No. 15. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos



Fuente: NOM-115-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.

- Incluir una caja sin inóculo por cada lote de medio o diluyente preparado como testigo de esterilidad.

Figura No. 16. Movimientos de caja Petri para el mezclado u homogeneizado de siembra en profundidad



Fuente: NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

4.5.5. Análisis e interpretación de resultados

La identificación de las colonias de microorganismos es un paso primordial para el conteo y expresión de resultados del análisis realizado, por lo que a continuación se presenta para cada uno de los métodos las características más importantes para identificar los microorganismos según sea el caso.

Cuenta de bacterias aerobias en placa

- Seleccionar aquellas placas donde aparezcan entre 25 a 250 UFC, para disminuir el error en la cuenta
- Contar todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas (excepto las de mohos y levaduras), incluyendo las colonias puntiformes. Hacer uso del microscopio para resolver los casos en los que no se pueden distinguir las colonias de las pequeñas partículas de alimento.
- Expresar los resultados de acuerdo con el apartado de la NOM-092-SSA1-1994.³⁵

Cuenta de mohos y levaduras

- Contar las colonias de cada placa después de 3, 4 y 5 días de incubación. Después de 5 días, seleccionar aquellas placas que contengan entre 10 y 15 colonias. Si alguna parte de la caja muestra crecimiento extendido de mohos o si es difícil contar colonias bien aisladas, considerar los conteos de 4 días de incubación y aún de 3 días. En este caso, informar el periodo de incubación de 3 o 4 días en los resultados del análisis.
- Si es necesario, cuando la morfología colonial no sea suficiente, examinar microscópicamente para distinguir las colonias de levaduras y mohos de las bacterias.
- Expresar los resultados de acuerdo con el apartado de la NOM-111-SSA1-1994.³⁶

Cuenta de microorganismos coliformes totales en placa

- Seleccionar las placas que contengan entre 15 y 150 colonias.
- Las colonias típicas son de color rojo oscuro, generalmente se encuentran rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares, el cual es de color rojo claro o rosa, la morfología colonial es semejante a lentes biconvexas con un diámetro de 0.5 a 2.0 mm.
- Expresar los resultados de acuerdo con el apartado de la NOM-113-SSA1-1994.³⁸

Determinación de *Salmonella*

- Examinar las placas para investigar la presencia de colonias típicas de *Salmonella*, de acuerdo con las características señaladas en la Tabla No. 17.
- Informar los resultados de acuerdo con el apartado de la NOM-114-SSA1-1994.³⁹

Determinación de *Staphylococcus aureus*

- Deben inocularse cepas conocidas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermis* como testigos positivo y negativo
- Expresar los resultados de acuerdo con la NOM-115-SSA1-1994.

- Seleccionar las placas que tengan entre 15 y 150 col. típicas de *S. aureus* de acuerdo a la Tabla No. 19.⁴⁰

Tabla No. 17. Características de las colonias de *Salmonella* según el medio de cultivo empleado

Agar	Colonias típicas
Agar XLD	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Colonias rosas o rojas que pueden ser transparentes con o sin centro negro. ▪ En algunos casos las colonias pueden aparecer completamente negras.
Agar VB	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Colonias rojas o rosas que pueden ser transparentes rodeadas por medio enrojecido ▪ Las bacterias fermentadoras de la lactosa dan colonias amarillas
Agar entérico Hektoen	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Colonias verdes o azulverdes con o sin centro negro. ▪ En algunos casos las colonias pueden aparecer completamente negras.
Agar Sulfito de Bismuto	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Colonias cafés, grises o negras ▪ Con o sin brillo metálico ▪ Generalmente el medio circundante (halo) es café, tornándose posteriormente negro. ▪ Algunas cepas producen colonias verdes son la formación del halo oscuro. ▪ Si las placas no muestra colonias típicas o no se observa crecimiento, incubar 24 h adicionales.
Agar SS	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Colonias traslúcidas ocasionalmente opacas. ▪ Algunas colonias dan centro negro ▪ La colonias fermentadoras de la lactosa son rojas

Fuente: NOM-114-SSA1-1994 Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos

Tabla 19. Selección de colonias para realizar pruebas confirmativas de *Staphylococcus aureus*

No. de colonias sospechosas en placa	No. De colonias por probar
Menos de 50	3
51 a 100	5
101 a 150 o más	7

Fuente: NOM-115-SSA1-1994. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.

4.5.6. Métodos rápidos de diagnóstico microbiológico

3M Microbiología cuenta con una línea completa de **Placas 3M™ Petrifilm™** para monitorear las condiciones de calidad. Estas se fabrican utilizando operaciones certificadas ISO 9000 y estrictos procedimientos de control de calidad, para reducir las variaciones del medio. Debido a que las placas **Petrifilm** son consistentes y fáciles de usar hay menos posibilidades de error en comparación con otros métodos. Conveniente y confiable para realizar pruebas del equipo, materias prima, producto en proceso, producto terminado y ambiente. Los métodos de las placas **Petrifilm** se han sometido a pruebas en colaboración con otras instituciones y están incluidas en los **Métodos Oficiales de Análisis** publicados por la Asociación Internacional de Químicos Analistas Oficiales (Oficial Methods of Análisis, AOAC International)

Las placas a emplear como control rutinario de uso interno en cumplimiento con especificaciones sanitarias de Normas Oficiales son:

- Recuento de Aerobios
- Recuento rápido de coliformes
- Recuento de *E. Còli*
- Recuento de Mohos y Levaduras
- Recuento rápido de *S. aureus*

Las placas **Petrifilm** tiene un exclusivo diseño, que acelera y facilita el proceso de análisis, generando resultados consistentes, rápidos y precisos. Presentan una película recubierta con nutrientes y agentes gelificantes, listos para recibir la muestra. La cuadrícula interconstruida permite el recuento de las colonias, ya sea con contadores estándar tipo Quebec, o bien con una lente de aumento con luz .

Técnica para el uso de placas Petrifilm

El recuento de microorganismos con placas **Petrifilm**, es muy sencillo, las etapas que para su desarrollo se indican en la Figura No. 17 y en seguida se explica cada una de ellas.

Figura No. 17. Etapas para el recuento de microorganismos usando placas **Petrifilm**



Fuente: Buenas prácticas de Higiene en el manejo de alimentos.
Seminario. 3M Microbiología. 3M de México. Junio, 2001.

Preparación de la muestra

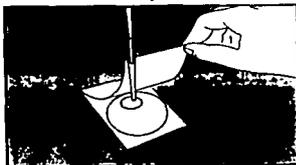
1. Preparar una dilución de la muestra a 1:10 o superior.
2. Pesar la muestra.



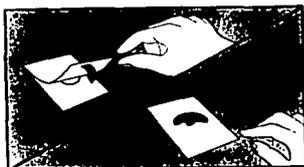
3. Añadir una cantidad adecuada de diluyente. Mezclar u homogeneizar la muestra. No deben usarse tampones que contengan citrato de sodio o tiosulfato.

Inoculación

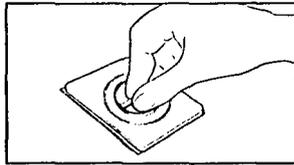
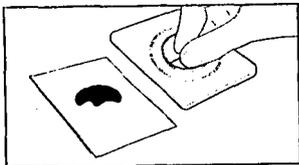
4. Colocar la placa **Petrifilm** en una superficie plana. Levantar la película superior. Con una pipeta en posición perpendicular a la placa **Petrifilm** colocar 1 ml de muestra en el centro del film inferior.

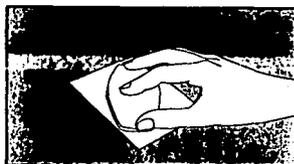


5. Cuidadosamente *deslizar* la película hacia abajo evitando atrapar burbujas de aire. No dejar caer la película superior.



6. Suavemente aplicar presión en el esparcidor para distribuir el inóculo en un área circular antes de que se forme el gel. No girar ni deslizar el esparcidor. Levantar el esparcidor y esperar por lo menos un minuto a que el gel se solidifique.





Incubación

7. Incubar a las condiciones señaladas en la Tabla No. 18 según corresponda.

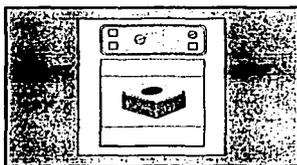


Tabla No. 18. Condiciones para la incubación de placas **Petrifilm**

Placa	Temperatura	Tiempo
Recuento de Aerobios	30 ± 1° C	72 ± 3 h
Recuento rápido de coliformes	35 ± 1° C	24 ± 2 h
Recuento de <i>E. Coli</i>	35 ± 1° C	24 ± 2 h
Recuento de Mohos y Levaduras	25 ± 1° C	3-5 días

Fuente: Guías de interpretación para placas **Petrifilm** de Recuento de Aerobios, Recuento rápido de coliformes, Recuento de *E.coli* y Recuento de Mohos y levaduras.

Para la placa de **Recuento de *Staphylococcus aureus***, la preparación de la muestra y la inoculación se realizan de la forma antes descrita, después se realiza lo siguiente :

1. Incubar las placas con el lado transparente hacia arriba, en pilas de hasta 10 placas a 37 ± 1° por 24 ± 2 h.
2. Transferir a un incubador 62 ± 2° C por 1-4 h.

3. Si después de la incubación, aún no son visibles las colonias, se usa un disco reactivo **Petrifilm**. Los discos deben pasarse de su empaque original con fórceps estériles, a la cavidad de la Placa **Petrifilm**.



4. Para asegurarse de que haya un contacto uniforme del disco reactivo **Petrifilm** con el gel y para eliminar las burbujas de aire, aplique presión suavemente en toda el área del disco reactivo. Este se puede llevar a cabo deslizando una varilla de vidrio para sembrar doblada a través de la placa



5. Incubar las placas con los discos reactivos **Petrifilm** a $35 \pm 1^\circ \text{C}$ ó $37 \pm 1^\circ \text{C}$ por 1-3 h
6. Para la interpretación de resultados debe consultarse la *guía de interpretación* para esta placa.

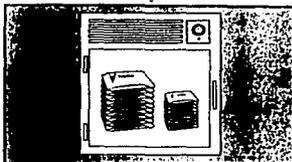
Interpretación de resultados

Esta debe realizarse consultando la *guía de interpretación* de las placas **Petrifilm** de **3M Microbiología** para cada caso en particular. (*consultar www.3m.com*)

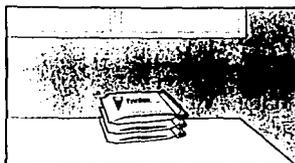
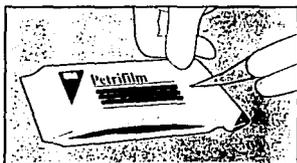
Almacenamiento de las placas Petrifilm

Las condiciones de almacenamiento de las placas **Petrifilm** deben tener especial atención para conservar sus propiedades:

1. Refrigerar las bolsas cerradas. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.



2. Para cerrar las bolsas, doblar los extremos y cerrarlos con celo.

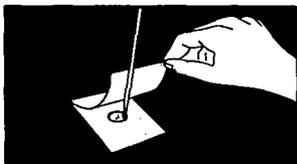


3. Mantener las bolsas cerradas de nuevo a:
 - a. $\leq 21^{\circ}\text{C}$, a $\leq 50\%$ HR.
 - b. Usar las placas **Petrifilm** durante un mes después de su apertura.

Método Rápido de Control Ambiental con placas Petrifilm

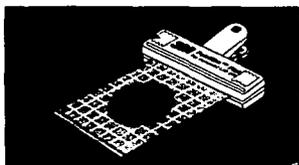
Para la detección de contaminación microbiana ambiental usando placa **Petrifilm** la metodología es la siguiente:

1. Hidratar las placa con 1ml de diluyente

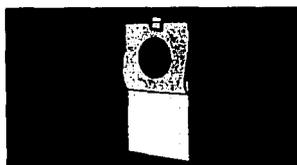
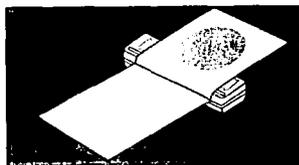


2. Dejar reposar las placas :

- Para Recuentos aerobios se deben esperar 30 min. a temperatura ambiente para que solidifique el gel.
- Para Recuento de coliformes y *E. coli* se deben esperar 2 horas.



3. Exponer la placa o placas **Petrifilm** al ambiente por un máximo de 15 min, pueden colocarse vertical u horizontalmente como lo indican las siguientes figuras.



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

4. Quitar el **Petrifilm** de la pinza e incubar a las condiciones de crecimiento correspondientes para la placa del microorganismo a determinar señaladas en la Tabla No. 18.

5. Contar las colonias en base a lo siguiente:

- Para placas de Recuento de Aerobios, Recuento de Coliformes y Recuento de *E. coli*, el resultado se lee sobre 40cm²
- Para placas de Recuento de Levaduras y Mohos, el resultado se lee sobre 60cm²

Recomendaciones:

- El diluyente a utilizar puede ser: Peptona sal tamponada, tampón de Butterfield, agua de peptona al 0.1% o caldo letheen. Debe controlarse que el pH esté entre 6.6 y 7.2. No deben usarse diluyentes que contengan tiosulfato o citrato sódico.
- Las placas ya hidratadas pueden conservarse como sigue:
 - En bolsas de plástico cerradas con cinta
 - Proteger las placas de la luz, pueden usarse bolsas de aluminio.
 - Mantenerlas en temperatura de 2-8°C.
 - Las placas de Recuento de Aerobios hidratadas pueden conservarse hasta 14 días en estas condiciones. El resto de las placas **Petrifilm** se pueden refrigerar hasta 7 días.

4.6

MEDIDAS DE SEGURIDAD

La aplicación de buenas prácticas de seguridad en el laboratorio favorecerá la eficiencia de éste y mantendrá en él un ambiente de trabajo seguro y ordenado. En el laboratorio se pueden presentar accidentes que afecten el bienestar del personal o dañen equipo e instalaciones, alterando la calidad de trabajo, para ello es necesario contar con instalaciones seguras y equipo de seguridad personal que cumplan con las especificaciones de las Buenas Prácticas de Laboratorio y de las Normas Oficiales Mexicanas.

Se debe tomar en cuenta también, que el laboratorio puede generar contaminación y producir infecciones tanto al personal que labore dentro o fuera de él, así como al medio ambiente, por estas razones es primordial la capacitación al personal en cuanto al manejo adecuado de materiales peligrosos, resguardos y desechos.

Es necesario prevenir cualquier tipo de accidente, ya que la ausencia repentina de un empleado debida a una lesión, puede alterar el flujo de trabajo lo suficiente como para complicar la obtención de resultados de las pruebas del día, como por ejemplo cerrar los servicios ocupados al término del trabajo y desconectar los equipos después de usarlos según sea necesario. Todos los accidentes del laboratorio deben evaluarse inmediatamente.^{8,17}

4.6.1 Manejo de materiales peligrosos

El manejo de productos químicos es común en el laboratorio, una sustancia química puede producir efectos agudos o crónicos en la salud del trabajador, no obstante con frecuencia se pasan por alto los problemas de seguridad asociados con su uso y se tienden a ignorar los requisitos legales para su manejo y almacenamiento, por todo lo anterior es elemental la capacitación de los

empleados para informarlos de los peligros que pueden presentarse ante un mal manejo de las sustancias químicas en su área de trabajo, asimismo todas las sustancias químicas que se encuentren en el laboratorio deberán contar con su correspondiente *Hoja de Datos de Seguridad* (HDS) que deberán estar disponibles para ser inspeccionadas por cualquier empleado que requiera trabajar con alguna de ellas. ^{6, 48}

Para el manejo de sustancias peligrosas debe practicarse lo siguiente:

- Se deben almacenar en sus envases originales, los materiales volátiles, flamables y tóxicos en un lugar frío y bien ventilado. Se debe evitar almacenar juntos reactivos incompatibles. Si se necesita transferir los materiales tóxicos y los flamables deberá hacerse en un lugar bien ventilado.
- Se deben etiquetar todos los frascos con reactivos, indicando en los casos que sean productos tóxicos con la señal de la calavera (*ver tema 2.4.3. Señales de Seguridad*).
- Deben pipetearse las sustancias líquidas con un bulbo.
- Se debe disponer de sustancias neutralizantes para cualquier emergencia.

El Sistema para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo, rige en todo el territorio nacional y aplica en todos los centros de trabajo en los que se manejen, transporten o almacenen sustancias químicas peligrosas, el laboratorio deberá atender a la **NOM-018-STPS-2000** en los siguientes puntos:

- Mostrar a la autoridad del trabajo cuando así lo solicite, la información y documentos que la presente Norma le obligue a elaborar o poseer.
- Identificar los depósitos, recipientes y áreas que contengan sustancias químicas peligrosas o sus residuos, con el señalamiento que se establece en el Capítulo 7 de esta Norma.
- Comunicar los peligros y riesgos a todos los trabajadores del centro de trabajo y al personal de los contratistas que estén expuestos a sustancias químicas

peligrosas, de acuerdo con el sistema de identificación establecido en el capítulo 7 de esta Norma, y mantener un registro de los trabajadores que hayan sido informados.

- Conocer el grado de peligrosidad y los riesgos de las sustancias químicas peligrosas que se utilizan en el centro de trabajo, por lo que se debe cumplir con lo siguiente:
 - contar con las HDS para todas las sustancias químicas peligrosas que utilicen en el centro de trabajo.
 - Capacitar y adiestrar en el sistema de identificación y comunicación de peligros y riesgos cumpliendo con:
 - proporcionar por lo menos una vez al año capacitación a todos los trabajadores que manejen sustancias químicas peligrosas y cada vez que se emplee una nueva sustancia química peligrosa en el centro de trabajo, o se modifique el proceso.
 - Mantener el registro de la última capacitación dada a cada trabajador entregando las respectivas constancias de capacitación a los trabajadores que así lo soliciten.

Los trabajadores deberán:

- Participar en la comunicación y en la capacitación proporcionada por el patrón y seguir las instrucciones del sistema de identificación y comunicación de peligros y riesgos de las sustancias químicas peligrosas.
- Informar al patrón de cualquier condición de riesgo que detecten y que no puedan corregir por sí mismos siguiendo los procedimientos correspondientes.

Todos los centros de trabajo deben tener la HDS de cada una de las sustancias químicas peligrosas que en él se manejen, y estar disponibles permanentemente para los trabajadores involucrados en su uso, para que puedan contar con información inmediata para instrumentar medidas preventivas o correctivas en el centro de trabajo, la cual debe contener lo siguiente:

- Datos generales de las HDS:
 - Fecha de elaboración.

- Fecha de actualización.
- Nombre o razón social de quien elabora la HDS.
- A dónde comunicarse en caso de emergencia.
- Datos de la sustancia química peligrosa.
- Identificación de la sustancia química peligrosa.
- Propiedades físicas y químicas.
- Riesgos de fuego o explosión.
- Datos de reactividad.
- Riesgos a la salud y primeros auxilios.
- Protección especial específica para situaciones de emergencia.
- Información sobre transportación.
- Información sobre ecología.^{10, 11, 48}

4.6.2. Manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos

De acuerdo con la NOM-087-ECOL-1995, los microorganismos provenientes de cultivos de investigación y de laboratorios industriales son considerados Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos ya que estos desechos pudieran favorecer la transmisión de enfermedades. Las buenas prácticas en el manejo de residuos biológicos indican lo siguiente:

- Antes de ser desechado o reutilizado el material en el que se llevó a cabo el cultivo de microorganismos (cajas Petri, tubos de ensayo, matraces etc.), debe esterilizarse (inactivarse) de preferencia en autoclave, para poder eliminarlo como residuo no peligroso.
- Los instrumentos y aparatos para transferir, inocular y mezclar cultivos deben también ser esterilizados antes de reutilizarlos.
- Los residuos deben separarse y envasarse en bolsas de plástico, llenándose al 80% de su capacidad, cerrándose antes de ser transportadas

al sitio de almacenamiento, una vez llenas las bolsas no deberán ser abiertas o vaciadas.^{3, 50}

4.6.3. Control de emergencias

Las buenas prácticas de laboratorio en las labores cotidianas son importantes para reducir riesgos y peligros, no obstante el personal debe recibir instrucciones para el adecuado control de una emergencia, informándole qué es lo que debe hacer y con qué equipo cuenta, es necesario que por lo menos algunos trabajadores sean entrenados en primeros auxilios por la Cruz Roja u otra organización reconocida y muy importante es mantener actualizados y cerca de cada teléfono los números telefónicos de emergencia.

Como se mencionó anteriormente el equipo de seguridad requiere de su verificación regular para asegurarse que se encuentre en los lugares apropiados y funcionando adecuadamente además de estar debidamente señalados tanto equipo de seguridad como salidas de emergencia (*ver temas 2.4.2. Equipo de Seguridad y 2.4.3. Señales de Seguridad*). Debe preverse la movilización del personal en caso necesario, realizando simulacros de incendio por lo menos 2 veces al año, que incluyan una evacuación total del edificio, evaluándolo por escrito para correcciones precisas.

Los pequeños incendios se presentan como las emergencias más comunes en el laboratorio, en la mayoría de los casos la acción inmediata contra el fuego puede consistir en el uso del extintor o una manta contra fuego sin tener que llamar al Departamento de Bomberos ni evacuar el edificio, pero es clave que la persona que enfrenta un incendio antes de intentar extinguirlo el sólo se asegure que otra persona sepa de la existencia del fuego y que se está pidiendo ayuda, entonces, la persona a cargo, un supervisor o el oficial de seguridad, debe analizar la situación y tomando en cuenta que cualquier incendio puede diseminarse con rapidez inesperada no importando qué tan pequeño parezca

decidirá si continuar combatiendo el fuego o evacuar el edificio y llamar a los bomberos.

El personal del laboratorio debe cumplir con las medidas de prevención, protección y combate de incendios, así como, con las instrucciones de uso y mantenimiento del equipo de protección personal. Deberá además participar en actividades de capacitación y adiestramiento y, en caso de emergencias deberá formar parte de la brigada para la evacuación de personal y atención de primeros auxilios. ^{8, 10, 11, 43}

DISCUSIÓN

- 1) La integración de las diferentes herramientas de calidad por parte de los Ingenieros en Alimentos, en la elaboración de un manual de calidad, para el Laboratorio de Microbiología, resulta de gran importancia, dado que esto les permite acceder al desarrollo de actividades de responsabilidad y participar en la toma de decisiones en su desempeño profesional.
- 2) El conocimiento suficiente que le permita al Ingeniero en Alimentos la determinación de los lineamientos de operación y documentación de las actividades en un Laboratorio de Microbiología permite contar con un sistema eficaz que facilite la participación de todos los sectores involucrados que apoyen su cumplimiento.
- 3) Los niveles de competencia del Laboratorio de Microbiología obedecen al contexto de calidad que se ha desarrollado en el comercio tanto nacional como con otros países, principalmente los Tratados Internacionales de Libre Comercio, por lo que en virtud de éstos y los compromisos contraídos por México, surge la necesidad de sustentar el desarrollo de especificaciones y las actividades requeridas para su control.
- 4) Es importante conocer el Marco Legal, bajo el cual se sustenta la normatividad alimentaria, pues con ella se reduce la posibilidad de recibir sanciones administrativas y sobre todo realizar una adecuada aplicación de las medidas necesarias para realizar un control sanitario de los alimentos; logrando con ello reducir la contaminación microbiana en los diferentes niveles y etapas de elaboración de alimentos, aumentando su calidad y reduciendo la posibilidad de generar un daño a la salud de los consumidores.

- 5) El esquema del control sanitario aplica con base en la corresponsabilidad de las autoridades sanitarias, los empresarios y las diversas áreas de la empresa, ofrece productos seguros e inocuos, vía el desarrollo de especificaciones que dan a los procesadores mayor libertad de acción y reservando para la autoridad la atribución de verificar los productos, establecimientos y actividades.
- 6) Debido al avance tecnológico, las normas oficiales adecúan su contenido técnico y especificaciones sanitarias, manteniendo su difusión a todos los sectores.
- 7) Las Buenas Prácticas de Laboratorio establecen criterios objetivos que deben tenerse en cuenta para los procedimientos de operación e instrucciones de trabajo para el desarrollo adecuado de las actividades del Laboratorio de Microbiología por lo que es relevante su consideración en el marco de la normatividad correspondiente.
- 8) La selección de los criterios de evaluación y validación del desempeño de los factores que afectan la calidad sanitaria en la empresa cárnica cumple igualmente una importante función para prevenir los fraudes comerciales y la adulteración, protegiendo de esta forma al consumidor contra pérdidas económicas. En consecuencia, las normas se convierten en un medio eficaz para facilitar la transparencia en el mercado, incrementando al mismo tiempo, los niveles de competitividad de los productos y servicios.

CONCLUSIONES

- Se integró un Manual de Calidad con las políticas, sistemas de calidad y las Buenas Prácticas de Laboratorio para el funcionamiento adecuado de un Laboratorio de Microbiología.
- Se determinaron los lineamientos para la operación y documentación de las actividades del Laboratorio de Microbiología.
- Fueron propuestos los procedimientos de operación e instrucciones de trabajo para el desarrollo de las actividades en el laboratorio de microbiología, de acuerdo con los elementos de Buenas Prácticas de Laboratorio establecidos en la normatividad nacional e internacional.
- Se fundamentó la necesidad de contar con un Laboratorio de Microbiología debidamente instalado, ambientado y seguro de acuerdo con la normatividad correspondiente que permita el desarrollo de sus actividades.
- Se estimó la importancia de la documentación de cada una de las actividades del Laboratorio de Microbiología y se fundamenta su importancia dentro de una empresa de alimentos.
- Se fundamentó las características que deben guardar las técnicas de muestreo para la obtención de muestras representativas en el control de calidad microbiológico de alimentos.
- Se integraron los procedimientos que aseguran la toma de muestra, su manejo, transporte, y preparación para su análisis microbiológico con apoyo a la normatividad.
- Se identificaron los Métodos Rápidos de determinación e identificación de microorganismos como alternativa de control con respecto de los métodos tradicionales.

LITERATURA CITADA

1. Adams M.R. y Moss M.O. 1997. **Microbiología de los alimentos**. 1ª ed. Ed. Acribia. España
2. American Public Health Association. 1992. **Standard methods for the examination of dairy products**. 16th Edition.
3. Bravo A. F, Del Muro D.R. 2001. **Buenas prácticas en el manejo de residuos biológicos**. *Informacéutico*. 8 (1): 42-43.
4. **Buenas Prácticas de Higiene en el manejo de alimentos**. Seminario. 3M Microbiología. 3M de México. Junio, 2001.
5. Cruz de León, S., Llorente, B.A. 2000. **Guía general para el Desarrollo de proveedores. Lácteos y Cárnicos Mexicanos**. 15 (5): 37-45.
6. FAO. 1989. **Manuales para el control de calidad de los alimentos**. 9. **Introducción a la toma de muestras de alimentos**. Roma, Italia.
7. Ferrer S. T. 1999. **Criterios generales para la elaboración de un manual de calidad para la industria farmacéutica, en un ambiente multimedia**. Tesina de Especialidad en Procesos Farmacéuticos. FES-Zaragoza. UNAM.
8. Garfield F. M. 1993. **Principios de Garantía de Calidad para Laboratorios Analíticos**. AOAC.
9. Gould W. A. and Gould R. W. 1993. **Total Quality Assurance for the food industries**. 2nd ed. CTI Publications, Inc. USA.
10. Harrigan W. F., Park R.W.A. 1991. **Making safe foods: a management guide for microbiological quality**. Academic Press, Inc. Great Britain.
11. Harrigan W. F. 1998. **Laboratory Methods in food Microbiology**. 3rd ed. Academic Press.
12. Hayes. P.R. 1993. **Microbiología e higiene de los alimentos**. Ed. Acribia. España.
13. ICMSF. **Ecología Microbiana de los alimentos 2. Productos alimenticios**. Ed. Acribia. España.

14. **ICMSF. HACCP in microbiological safety and quality. Blackwell Scientific Publications.**
15. **ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. Ed. Acribia. 2ª. Edición. España.**
16. **Mossel, D.A.A., Moreno, G. B. 1982. Microbiología de los alimentos. Ed. Acribia, S.A. España.**
17. **Ortega D. Y. Garantía de calidad de los laboratorios de Microbiología Alimentaria.**
18. **Ortega O. R. 2001. Control Microbiológico de la limpieza. Informacéutico. (8) 1: 18-21.**
19. **Ott, D. B. 1992. Manual de laboratorio de ciencia de los alimentos. Ed. Acribia. España.**
20. **Pardo G. J. E. 1998. La industrias cárnica. El sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos. Ed. de la Universidad de Castilla- La Mancha. España.**
21. **Pascual A. M. del R. 1992. Microbiología Alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas. Ed. Díaz de Santos, S. A. España.**
22. **Quick Swab, 3M, Información técnica.**
23. **Ranken, M.D. 1993. Manual de industrias de los alimentos. 2ª. ed. Ed. Acribia. España.**
24. **Ratto, M.A. Examen microbiológico de carnes y productos cárnicos.**
25. **Secretaría de Salud. 1993. Técnicas y procedimientos para el análisis microbiológico de productos cárnicos. México, D.F.**
26. **Secretaría de Comercio y Fomento Industrial 1999. Embutidos, Guía Empresarial. Ed. Limusa. México, D.F.**
27. **Valle V. P., Marfil R. R. y Díez A. G. Auditorias de calidad como parte del desarrollo de proveedores en la industria de alimentos. Tecnología de Alimentos.(26) 1: 5-13**
28. **Wildbrett, G.2000. Limpieza y desinfección en la industria alimentaria. Ed. Acribia. España.**

NORMAS OFICIALES MEXICANAS

SECRETARÍA DE SALUD

29. NOM-034-SSA1-1993. Bienes y servicios. Productos de la carne. Carne molida y carne molida moldeada. Envasadas. Especificaciones sanitarias.
30. PROYECTO NOM-145-SSA1-1995. Bienes y servicios. Productos de la carne. Productos cárnicos troceados y curados. Productos cárnicos curados y madurados. Especificaciones sanitarias
31. NOM-122-SSA1-1994. Bienes y servicios. Productos de la carne. Productos cárnicos curados y cocidos, y curados emulsionados y cocidos. Especificaciones sanitarias.
32. PROYECTO-NOM-087-SSA-1994. Bienes y servicios. Aves frescas refrigeradas y congeladas enteras y troceadas envasadas. Especificaciones sanitarias.
33. PROYECTO NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
34. NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
35. NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
36. NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
37. NOM-112-SSA1-1994. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
38. NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
39. NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos.
40. NOM-115-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.
41. NOM-120-SSA1-1994. Prácticas de higiene y sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas.

SECRETARÍA DEL TRABAJO Y PREVISIÓN SOCIAL

42. **NOM-001-STPS-1993.** Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los edificios, locales, instalaciones y áreas de los centros de trabajo.
43. **NOM-002-STPS-2000.** Condiciones de seguridad, prevención, protección y combate de incendios en los centros de trabajo.
44. **NOM-011-STPS-1993.** Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se genere ruido.
45. **NOM-016-STPS-1993.** Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo referente a ventilación.
46. **NOM-017-STPS-1994.** Relativa a los sistemas de protección y dispositivos de seguridad en la maquinaria, equipos y accesorios en los centros de trabajo.
47. **NOM-018-STPS-2000.** Sistema para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo.
48. **NOM-025-STPS-1993.** Condiciones de iluminación en los centros de trabajo.
49. **NOM-026-STPS-1998.** Colores y señales de seguridad e higiene, e identificación de riesgos por fluidos conducidos en tuberías.

SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y PESCA.

50. **NOM-087-ECOL-1995.** Requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que presten atención médica

NORMAS DE CALIDAD

51. **NMX-CC-018:1996 IMNC.** Directrices para desarrollar manuales de calidad.
52. **NMX-EC-025-IMNC-2000.** Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de calibración y pruebas

53. **NMX-CC-001:1995 IMNC. Administración de la calidad y aseguramiento de la calidad**

NORMAS ISO

54. **3100-1: 1991. Meat and meat products - Sampling and preparation of test samples- Part 1: Sampling.**
55. **ISO 3100-2: 1991. Meat and meat products -Sampling and preparation of test samples- Part 2: Preparation of test for microbiological examination.**

CONFERENCIAS Y CURSOS

56. **Conferencia: "Desarrollo de proveedores"; Álvarez R. J. C, (1995); ATAM Asociación de Tecnólogos en Alimentos de México; México, D.F.**
57. **Seminario de Calidad. Asociación Farmacéutica Mexicana. Marzo-Abril 2001.**

SITIOS WEB CONSULTADOS

- <http://www.dgcsbys.ssa.gob.mx>
- <http://www.se.gob.mx>
- <http://www.ssa.gob.mx>
- <http://www.sagarpa.gob.mx>
- <http://www.stps.gob.mx>
- <http://www.3m.com>

Tablas de números aleatorios

(Diez mil números aleatorios)

	50-54	55-59	60-64	65-69	70-74	75-79	80-84	85-89	90-94	95-99
00	70896	44520	64720	49898	78088	76740	47460	83150	78905	59870
01	56809	42909	23853	47624	29486	14196	73841	00393	42390	24847
02	66109	84775	07519	49949	61482	91836	48126	80778	21302	24975
03	18071	36263	14053	52526	44347	04923	68100	57805	19521	15345
04	98732	15120	91754	12657	74675	78500	01247	49719	47635	55314
05	36075	83967	22268	77971	31169	68584	21336	72541	66959	39708
06	04110	43061	78052	18911	27855	09419	56459	00695	70323	04538
07	75658	58509	24479	10202	13150	95946	55087	38398	18718	95561
08	87403	19142	27208	35149	34889	27003	14181	44813	17784	41036
09	00005	52142	65021	64438	69610	12154	98422	65320	79996	01933
10	43674	47103	48614	70823	78252	82403	93424	05236	54588	27757
11	68597	68874	35567	98463	99671	05634	81533	47406	17228	44455
12	91874	70208	06308	40719	02772	69589	79936	07514	44930	35190
13	73854	19470	53014	29375	62256	77488	74388	55949	49607	19816
14	65926	34117	55344	68155	38099	56009	03513	05926	35584	43228
15	40005	35246	49440	40295	44390	83043	26090	80201	02934	49260
16	46686	29890	14821	69783	34733	11803	64845	32065	14327	38702
17	02717	61518	39583	72865	50707	96115	07416	05041	36756	61065
18	17048	22281	35573	28544	96889	81823	27268	01866	27658	91950
19	75304	53248	42151	93928	17343	88322	28683	11252	10355	65175
20	97844	62947	62230	30900	92816	85232	27222	91701	11057	83257
21	07611	71165	82212	20653	21499	51496	40715	78952	33029	64207
22	47744	04603	44522	02783	39347	72310	41460	31052	40814	94297
23	54293	43576	88116	67416	34908	15238	40561	73940	56830	31078
24	67556	93979	73363	00300	11217	74405	18937	79000	68834	48307
25	86581	73041	95809	73986	49408	53316	90841	73808	53421	82315
26	28020	86282	83365	76600	11261	74354	20968	60770	12141	09539
27	42578	32471	37840	30872	75074	79027	57813	62831	54715	26693
28	47290	15997	86163	10571	81911	92124	92971	80860	41012	58666
29	24856	65911	13221	77028	06573	33667	30732	47280	12926	67276
30	16352	24836	60799	76281	83402	44709	78930	82969	84468	36910
31	89060	79852	97854	28324	39638	86936	06702	74304	39873	19496
32	07637	30412	04921	26471	09605	07355	20466	49793	40539	21077
33	37711	47786	37468	31963	16908	50283	80884	08252	72655	58926
34	82994	53232	58202	73318	62471	48650	15888	73370	96748	69181
35	31722	67288	12110	04776	15168	68862	92347	90789	66961	04162
36	93819	78050	19364	38037	25706	90879	05215	00260	14426	88207
37	65557	24496	04713	23688	26623	41356	47049	60676	72236	01214
38	88001	91382	05129	36041	10757	53558	89979	58061	28957	10701
39	96648	70303	18191	62404	26558	92804	15415	02865	52449	78509
40	04118	51573	59356	02426	35010	37104	98316	44602	96478	08433
41	19317	27753	39431	26996	04465	69695	61374	06317	42225	62025
42	37182	91221	17307	68507	85725	81898	22588	22241	80337	89033
43	82990	03607	29560	60413	59743	75000	03806	13741	79671	25416
44	97294	21991	11217	98087	79124	52275	31088	32085	23089	21498
45	86371	69504	13345	42544	59616	07867	78717	82840	74669	21515
46	26046	55559	12200	95106	56496	76462	44880	89457	84209	01332
47	39689	05999	92290	79024	70271	93352	90272	94495	26842	54477
48	83265	89573	01437	43786	52986	49041	17952	35035	88985	84671
49	15128	35791	11296	45319	06330	82027	90808	54351	43091	30387

Fuente: ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. Ed. Acribia, 2ª. Edición. España.

Tablas de números aleatorios (continuación)

	00-04	05-09	10-14	15-19	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49
00	88738	66603	33843	43623	62774	25517	09560	41880	85126	60753
01	35661	42832	16240	77410	20686	24656	59698	86241	13152	49187
02	26335	03771	46115	88153	40721	08787	95962	60841	91788	86386
03	60826	74718	56527	29508	91975	34685	25155	72357	08337	73439
04	95044	99896	13763	31764	93970	60987	14692	71039	34165	21297
05	83746	47694	06143	42741	38338	97694	69300	99864	19641	15083
06	27998	42562	63402	10056	81668	48744	08400	83124	19096	18805
07	82685	32323	74625	14510	85927	28017	80588	14756	54937	76379
08	18386	13862	10988	04197	18770	72757	71418	81133	69503	44037
09	21717	13141	22707	68165	58440	19187	08421	23872	03036	34208
10	18446	83052	31842	08634	11887	86070	08464	20565	74390	36541
11	66027	75177	47398	66423	70160	16232	67343	36203	30036	59411
12	51420	96779	54309	87456	78967	79638	48869	49062	02196	55109
13	27045	63626	73159	91149	94509	44204	92237	29969	49315	11804
14	13094	17723	14103	00067	68843	63565	93578	24756	10814	15185
15	92382	62318	17752	53163	63852	44840	02592	88572	03107	90169
16	16215	50809	49326	77232	50155	69955	93892	70445	00906	57022
17	09342	14528	64727	71403	84156	34083	35613	35670	10549	07468
18	38148	79001	03509	79424	39625	73315	18811	86230	99682	82896
19	23689	19997	72382	15247	80205	58090	43804	94548	82693	22799
20	25407	37726	73099	51057	68733	75768	77991	72641	95386	70138
21	25349	69456	19693	85568	93876	18461	69018	10332	83137	88257
22	02322	77491	56095	03055	37738	18216	81781	32245	84081	18436
23	15072	35261	99219	43307	39239	79712	94753	41430	30944	53912
24	27002	31036	85278	74547	84809	36252	09373	69471	15606	77209
25	66181	83316	40386	34316	29505	86032	34563	93204	72973	90760
26	09779	01822	45337	13128	31128	82703	79350	25179	86104	40638
27	10791	07706	87481	26107	24857	27805	42710	63471	08804	23455
28	74833	55767	31312	76611	67389	04691	39687	13596	88730	86850
29	17583	24038	83701	28370	63561	00098	60784	76098	84217	34997
30	45601	46977	39325	09286	41133	34031	94867	11849	75171	57682
31	60683	33112	65995	64203	18070	65437	13624	90896	80945	71987
32	29956	81169	18877	15296	94368	16317	34239	03643	66081	12242
33	91713	84235	75296	69875	62414	05197	66596	13083	46278	73498
34	83704	86588	82837	67822	95963	83021	90732	32661	64751	83903
35	17921	26111	35373	86494	48266	01888	65735	05315	79328	13367
36	13929	71341	80488	89827	48277	07229	71953	16128	65074	28782
37	05248	18880	21657	03111	61806	80291	47819	83052	31029	06023
38	50583	17972	12690	00452	93766	16414	01212	27964	02766	28786
39	10636	46975	09449	45986	34672	46916	63881	83117	53947	95218
40	43896	41278	42205	10425	66560	59967	90139	73563	29875	79033
41	76714	80663	74907	16890	15492	27489	06067	22287	19760	13056
42	22393	46719	02083	62428	45177	57562	49243	31748	64278	05731
43	70942	92042	22776	47761	13503	16037	30875	80754	47491	96012
44	92011	60326	86346	26738	01983	04186	41388	03848	78354	14964
45	66456	00126	45685	67607	70796	04889	98128	13599	93710	23974
46	96292	44348	20898	02227	76512	53185	03057	61375	10760	26889
47	19680	07146	53951	10935	23333	78233	13706	20502	60405	09745
48	67447	51442	24536	60151	05498	84608	82569	65066	17700	55413
49	95888	59255	06898	99137	50871	81625	42223	83303	48594	81953

Fuente: ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. Ed. Acribia. 2ª. Edición. España.

Tablas de números aleatorios (continuación)

	00-04	05-09	10-14	15-19	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	45-49
50	54441	64681	93190	00993	62130	44484	46293	60717	50239	76319
51	08573	52937	84274	95106	89117	65849	41356	65549	78787	50442
52	81067	68052	14270	19718	88499	65303	13533	91882	51136	60828
53	39737	58891	75278	98046	52284	40164	72442	77824	72900	14886
54	34958	76090	08827	61623	31114	86952	83645	91786	29633	78294
55	61417	72424	93266	71952	69709	81239	58472	43409	84454	88648
56	99187	14149	57474	32268	85424	90378	34682	47606	89205	02420
57	31330	13064	36485	48133	35319	05720	76317	70953	50823	08793
58	63563	11831	82402	46929	91446	72037	17205	89600	59084	55718
59	28737	49502	06600	52100	43704	50839	23538	56768	83467	19313
60	30353	74022	59767	49927	45882	74099	18758	57510	58560	07050
61	65208	96466	29917	22862	69972	35178	32911	08172	06277	62795
62	26123	22741	76411	25131	20087	67452	19670	34898	50657	62522
63	67875	29831	59330	46570	69768	36671	01031	95955	68417	68665
64	82631	26260	86554	31881	70512	37899	38851	40568	54284	24056
65	91989	39633	59039	12526	37730	68848	71399	28513	69018	10289
66	12950	31418	93425	69756	34036	55097	97241	92480	49745	42461
67	00328	27427	93474	97217	05034	26676	49629	13594	50525	13485
68	63986	16698	82804	04524	39919	32381	67488	05223	89537	59490
69	55775	75005	57912	20977	35722	51931	89565	75759	93085	06467
70	24761	56877	56357	78809	40748	69727	56652	12462	40528	75269
71	43820	80926	26795	57553	28139	25376	51795	26123	51102	89853
72	66669	02880	02087	31613	54206	20013	75872	88678	17726	60640
73	49944	66725	19779	50416	42800	71733	82052	28504	15593	91799
74	71003	87598	61296	95019	21568	86134	66096	65403	47166	78638
75	52715	04593	64884	93411	38046	13000	04293	60830	03914	75357
76	21998	11729	89963	11573	49442	69467	40265	36066	36024	23705
77	58970	96827	18377	31564	23555	86338	79250	43168	96929	97732
78	67592	59149	42554	42719	13553	48560	81167	10747	92532	19867
79	18298	18429	09357	96436	11237	88039	81020	00428	75731	37779
80	88420	28841	42628	84647	59024	52032	31251	72017	43875	48320
81	07627	84424	23381	29680	14027	75905	27037	22113	77873	78711
82	37917	93581	04979	21041	95252	62450	03937	81670	44894	47262
83	14783	95119	68464	08726	74818	91700	05961	23554	74649	50540
84	05378	32640	64562	15303	13168	23189	88198	63617	58566	56047
85	19640	96709	32047	07825	40581	99500	39989	96591	32254	37138
86	20514	11081	51131	56469	33947	77703	35679	45774	06776	67062
87	96763	56249	81243	62416	84451	14696	38195	70433	45948	67690
88	49439	61075	31558	59740	52759	55323	95226	01385	20158	54054
89	16294	50548	71317	32168	86071	47314	65393	56367	46910	51269
90	31381	94301	79273	32843	05862	36211	93960	00671	67631	23952
91	98032	87203	03227	66021	99646	98368	39222	36056	81992	20121
92	40709	31826	94774	11366	81391	33602	69608	84119	93204	26825
93	86692	68849	29366	73540	14978	06509	10824	65416	23629	63029
94	19047	10784	19607	20296	31804	72984	60060	50353	23260	58909
95	42867	69266	50733	62630	00956	61500	89913	30049	82321	62367
96	36538	28928	52660	73997	80941	04084	84662	94025	14360	64867
97	51166	00607	49962	10724	81707	14548	25844	47336	57492	02207
98	97245	15440	55182	15368	85136	98869	33712	95152	50973	96658
99	54998	88830	95639	45104	72676	28220	82576	57381	34438	24565

Fuente: ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. Ed. Acribia, 2ª. Edición. España.

Tablas de números aleatorios (continuación)

	50-54	55-59	60-64	65-69	70-74	75-79	80-84	85-89	90-94	95-99
50	58649	85086	16502	97541	76611	94229	34987	86718	87208	05426
51	97306	52449	35596	66739	36525	97563	29469	31235	79276	10831
52	09942	79344	78160	11015	55777	22047	57615	13717	86239	36578
53	83842	28631	74893	47911	92170	38181	30416	54860	44120	73031
54	73778	30395	20163	76111	13712	33449	99224	18206	51418	70006
55	88381	56550	47467	59663	61117	39716	32927	06168	06217	45477
56	31044	21404	15968	21357	30772	81482	38807	67231	84283	63552
57	00909	63837	91328	81106	11740	50193	86806	21931	18054	49601
58	69882	37028	41732	37425	80832	03320	20690	32653	90145	03029
59	26059	78324	22501	73825	16927	31545	15695	74216	98372	28547
60	38573	98078	38982	33078	93524	45606	53463	20391	81637	37269
61	70624	00063	81455	16924	12848	23801	35481	78978	26795	10553
62	49806	23976	05440	29804	38868	25074	76951	02341	63219	75864
63	05461	67523	48316	14613	08541	35231	38312	14969	67279	50502
64	76582	62153	33801	51219	30424	32599	49099	83959	68408	20147
65	16640	80470	75062	75588	24384	27874	20018	11428	32265	07692
66	60166	42424	97470	88451	81270	80070	72959	26220	59939	31127
67	28953	03272	31460	41691	57736	72052	22762	96323	27616	53123
68	47536	86439	95210	96386	38704	15484	07426	70675	06888	81203
69	73457	26657	36983	72410	30244	97711	25652	09373	66218	64077
70	11190	66193	66287	09116	48140	37669	02932	50799	17255	06181
71	57062	78964	44455	14036	36098	40773	11688	33130	07459	36127
72	99624	67254	67302	18991	97687	54099	94884	42283	63258	30651
73	97521	83669	85968	16135	30133	51312	17831	75016	80218	68953
74	40273	04838	13661	64757	17461	78085	60094	27010	80945	66439
75	57260	06176	49963	29760	69546	61336	39429	41985	18572	98128
76	03451	47098	63495	71227	79304	29353	99131	18419	71791	81315
77	62331	20492	15193	84270	24396	32962	21632	92965	38670	44923
78	32290	51079	06512	38806	93327	80086	19088	59887	98416	24918
79	28014	80428	92853	31333	32648	16734	43418	90124	15086	48444
80	18950	16091	29343	65817	07002	73115	94115	20271	50290	25061
81	17403	69503	01866	13049	07263	13039	83844	80143	39048	62654
82	27999	50489	66613	21843	71746	65866	16208	46781	93402	12323
83	87076	53174	12165	84495	47947	60706	64034	31635	65169	93070
84	89044	45974	14524	46906	26052	51851	84197	61694	57429	63395
85	98048	64400	24705	75711	36232	57624	41424	77366	52790	84705
86	09345	12956	49770	80311	32319	48238	16952	92088	51222	82865
87	07086	77628	76195	47584	62411	40397	71857	54823	26536	56792
88	93128	25657	46872	11206	06831	87944	97914	64670	45760	34353
89	85137	70964	29947	27795	25547	37682	96105	26848	09389	64326
90	32798	39024	13814	98546	46585	84108	74603	94812	73968	68766
91	62496	26371	89880	52078	47781	95260	83466	65942	91761	53727
92	62707	81825	40987	97556	89714	51771	33778	67482	61678	60128
93	05500	28982	86124	19554	80618	94935	61924	31828	79369	23507
94	79476	31445	59498	85132	24582	26024	24002	63718	79164	43556
95	10653	29954	97568	91541	33139	84525	72271	02546	64818	14381
96	30574	06495	00886	40666	68574	49574	19705	16429	90981	08103
97	69050	22019	74066	14500	14506	06423	38332	34191	82663	85323
98	27908	78802	63446	07674	98871	61831	72449	42705	26513	19883
99	64520	16618	47409	19574	78136	46047	01277	79146	93759	36781

Fuente: ICMSF. 1983. Microorganismos de los Alimentos 2. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. Ed. Acribia. 2ª. Edición. España.