

# Análisis microbiológico de los alimentos.

## Guía de aplicación de normas ISO

David Tomás Fornés, Nuria López-Molina Cantera, Natalia Prado Marrón



# AENOR

# Análisis microbiológico de los alimentos. Guía de aplicación de normas ISO

David Tomás Fornés, Nuria López-Molina Cantera, Natalia Prado Marrón



**AENOR**

# Análisis microbiológico de los alimentos. Guía de aplicación de normas ISO

David Tomás Fornés  
Nuria López-Molina Cantera  
Natalia Prado Marrón

**AENOR**

## Créditos

Título: *Análisis microbiológico de los alimentos. Guía de aplicación de normas ISO*

Autores: David Tomás Fornés, Nuria López-Molina Cantera, Natalia Prado Marrón

©AENOR Internacional, S.A.U., 2022

Todos los derechos reservados. Queda prohibida la reproducción total o parcial en cualquier soporte, sin la previa autorización escrita de AENOR Internacional, S.A.U.

ISBN: 978-84-17891-90-9

Impreso en España – *Printed in Spain*

Edita: AENOR Internacional, S.A.U.

Maqueta: BLOCK Comunicaciones

Diseño de cubierta: AENOR Internacional, S.A.U.

**Nota:** AENOR Internacional, S.A.U. no se hace responsable de las opiniones expresadas por los autores en esta obra.

**AENOR**

Génova, 6. 28004 Madrid

Tel.: 914 326 036 • [normas@aenor.com](mailto:normas@aenor.com) • [www.aenor.com](http://www.aenor.com)

# Prólogo

Los métodos normalizados de análisis microbiológicos de alimentos permiten a los laboratorios disponer de métodos de ensayo reconocidos internacionalmente que aseguren que los resultados obtenidos sean comparables y fiables, con el objetivo último de garantizar el comercio, la calidad y, sobre todo, la seguridad de los alimentos sometidos a control. Juegan, por tanto, un importante papel en los sectores económico, social y sanitario.

Con el presente libro, hemos intentado realizar una tarea de síntesis y simplificación de las normas aplicables, sin obviar los aspectos fundamentales para la implantación de las guías generales y la ejecución de los métodos de ensayo, aportando nuestra experiencia en el uso de estos últimos.

Nuestro enfoque pretende alcanzar varios objetivos y abarcar un público diverso.

Por un lado, se incluyen conceptos e información relevantes para las personas que se acercan por primera vez a las técnicas de análisis microbiológicos, así como referencias que permiten profundizar en los métodos y que sirven de guía tanto en el ámbito académico como en el profesional.

Por otra parte, en el caso de la aplicación de los métodos de ensayo microbiológicos en un laboratorio de análisis, el objetivo es facilitar la implantación de las normas.

Creemos que los diagramas que acompañan a cada método de análisis serán bienvenidos para facilitar su entendimiento y consulta. No obstante, los resúmenes y gráficos aportados no reemplazan las normas de referencia en toda su extensión y detalle, por lo que, para determinados usos, consideramos que puede ser imprescindible consultar la fuente original en la que nos hemos basado.

Respecto a las normas recogidas en este libro, debemos indicar que son todas las que están, pero no están todas las que son. Hemos querido limitar el alcance del libro a las guías generales que deben ser de uso

común para todos los laboratorios de microbiología, a los métodos de ensayo que tienen su fundamento en técnicas de cultivo y a aquellos microorganismos de mayor relevancia para la industria alimentaria. Así pues, no hemos contemplado aquellos métodos relacionados con el empleo de técnicas como la PCR ni algunas normas que, si bien están relacionadas con la microbiología alimentaria, no aplican técnicas convencionales (p. ej.: virus entéricos, parásitos, toxinas).

Creemos que también es importante destacar el arduo trabajo asociado al desarrollo, la publicación y la revisión de las normas. Cada método lleva consigo un proceso preliminar de investigación y desarrollo, seguido del proceso de normalización, basado en el consenso y la armonización entre múltiples partes, como agencias de seguridad alimentaria, laboratorios de referencia, tanto públicos como privados, universidades, centros tecnológicos, compañías de diagnóstico, de equipamiento, etc. Este trabajo pretende buscar un equilibrio entre la validez científica y su aplicación práctica por parte de los laboratorios, para que se puedan implementar de forma simple y evitando tecnologías o medios cuya propiedad intelectual esté protegida. Además, su publicación requiere la aprobación por parte de una amplia mayoría de organismos oficiales de normalización de los países miembros. Todo este proceso garantiza la transparencia, el reconocimiento internacional y, sobre todo, su adecuación al uso.

Por último, queremos agradecer a AENOR que nos haya brindado la oportunidad de materializar este libro, así como a la [Sociedad Española de Microbiología](#) (SEM) por tomar la iniciativa de involucrar a los autores y servir de vínculo entre ellos.

Los autores

# 1. Generalidades en Microbiología

## 1.1. [UNE-EN ISO 7218:2008/A1:2013](#)

### Microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal. Requisitos generales y guía para el examen microbiológico

#### 1.1.1. Introducción

La realización de análisis microbiológicos de alimentos tiene como objetivo detectar y cuantificar los microorganismos presentes en la muestra objeto de ensayo. Para ello, la presente norma aporta requisitos y recomendaciones para la correcta ejecución de los métodos de análisis contemplados tanto en norma de referencia como de aplicación a muchos de los aspectos relacionados con métodos rápidos y alternativos.

La norma incluye un amplio número de ejemplos e instrucciones que no pueden desarrollarse por completo en este documento, pues su objeto no es servir de guía exhaustiva (para ello se debe acudir a la propia norma) sino de resumen y aplicación práctica de los aspectos más relevantes de aquella en un laboratorio de investigación o control de calidad.

En este sentido, los puntos que se abordan de forma resumida se pueden agrupar en las siguientes áreas:

- Instalaciones y condiciones ambientales.
- Personal.
- Aparatos, equipos y material de laboratorio.
- Ejecución de los análisis.
- Informe de resultados.

- Validación.
- Control de calidad en el laboratorio.

## 1.1.2. Alcance

El objetivo de esta norma es la implementación y ejecución de métodos de ensayo y el empleo de buenas prácticas de laboratorio aplicables de forma horizontal para el análisis de microbiología de muestras de la cadena alimentaria. También puede emplearse como guía para la acreditación de laboratorio acorde a la Norma [ISO/IEC 17025](#), aunque en este caso, es importante considerar de forma adicional las guías y los criterios publicados por los respectivos organismos de acreditación.

Es importante destacar que los requisitos de esta norma anulan y sustituyen a los de las normas específicas ya existentes.

La norma se ha desarrollado básicamente para la realización de todo tipo de ensayos de bacterias, mohos y levaduras basados en medios de cultivo (recuento en placa, NMP, detección) aunque muchas de sus prácticas, como las relacionadas con la manipulación de microorganismos, equipos, etc., son de aplicación para un amplio rango de técnicas (p. ej.: inmunocaptura, impedancia, biología molecular). Algunas de las prácticas incluidas pueden emplearse para análisis de priones, virus y parásitos, pero quedan excluidas las toxinas y otros metabolitos de microorganismos.

## 1.1.3. Instalaciones y condiciones ambientales

### 1.1.3.1. Áreas del laboratorio

Se recomienda disponer de localizaciones separadas o áreas claramente destinadas a la realización de las siguientes actividades:

- Actividades generales, entre las que se encuentran los accesos, almacenes, salas administrativas, vestuarios y salas de descanso.
- Actividades de análisis, incluyendo una clara separación entre:
  - Actividades que pueden generar un mayor riesgo de contaminación, como la limpieza y descontaminación de residuos y



la recepción y preparación de muestras (en particular, muestras altamente contaminadas, como ciertas materias primas o muestras procedentes de producción primaria, etc.).

– Actividades que requieren un ambiente aséptico o estéril, como el análisis de muestras, o la preparación y manipulación de medios de cultivo y reactivos y su almacenamiento.

Es importante adecuar estas recomendaciones al tipo de muestras y análisis que realice el laboratorio, siendo en algunos casos necesario disponer de salas específicas para limpieza y esterilización cuando el laboratorio realiza toda la limpieza de material de vidrio como pipetas, matraces, frascos, etc., así como la esterilización de residuos como caldos de enriquecimiento y placas Petri, lo cual no es tan relevante si el laboratorio utiliza material de un solo uso y los residuos contaminados son gestionados de forma externa sin manipulación por parte del laboratorio.

Del mismo modo, el tipo de muestras que analice el laboratorio puede implicar la necesidad de salas o de condiciones especiales de extracción y manejo del aire para las zonas de preparación de muestras. Así pues, si se analizan muestras procedentes de producción primaria como heces, calzas, cáscaras de huevos o estiércol, o bien muestras altamente contaminadas en polvo o pulverizadas, se debe disponer de una sala o área perfectamente separada del resto de las actividades, incluyendo la preparación de otras muestras como muestras estériles o con bajos niveles de microorganismos.

También pueden emplearse las mismas áreas para operaciones diferentes si se garantiza una adecuada separación temporal o espacial, con limpieza y desinfección entre ellas. Las diferentes actividades deberían distribuirse con el principio de “no retorno” y de forma secuencial.

El empleo de una cabina de flujo laminar puede considerarse un área claramente separada dentro de una sala común, y, del mismo modo, una campana de extracción puede ser un equipo necesario para la manipulación de ciertas muestras que generan polvo contaminado.

### **1.1.3.2. Características de las salas**

Generalmente, el grupo de responsables y analistas de laboratorio no forman parte de los equipos de diseño y materiales con los que se construye el laboratorio, por lo que aquí se citan tan solo los aspectos de mayor relevancia para el grupo usuario.

En el caso de realizar ensayos de baja contaminación, estos se deberían realizar en cabinas de flujo laminar o de bioseguridad. Estos equipos no se situarán en zona de paso.

Se debería disponer de lavamanos en las salas de análisis, preferiblemente cerca de los accesos, así como sistemas de seguridad y de primeros auxilios fácilmente accesibles y de un autoclave para la eliminación de residuos excepto si se dispone de un gestor externo para todos los residuos contaminados.

### **1.1.3.3. Limpieza y condiciones ambientales**

El laboratorio debería implantar y disponer de un sistema de limpieza y desinfección periódicas, incluyendo sistemas de ventilación y filtros, que garantice las condiciones adecuadas para la realización de los análisis. Las superficies contaminadas deberían descontaminarse utilizando desinfectantes con actividad bactericida o fungicida reconocida. Es recomendable disponer de material para la recogida de vertidos accidentales, principalmente de los relacionados con medios de cultivo (p. ej.: polvo higroscópico, paños absorbentes).

La temperatura de ambiente del laboratorio (entre 18 °C-27 °C) y la calidad microbiológica deben ser compatibles con las necesidades analíticas. Debería comprobarse de forma periódica la calidad higiénica de las superficies de trabajo y del aire. La frecuencia se debe establecer en función del riesgo de contaminación y de los resultados obtenidos. A modo de ejemplo, los puntos de control podrían analizarse al menos una vez al mes, y también podrían muestrearse semanalmente diferentes zonas. Los controles de superficie pueden contemplar análisis de recuento de colonias a 30 °C con placas de contacto o hisopos (incluyendo neutralizantes si se sospecha la presencia de residuos de desinfectantes). Si existe riesgo o se sospecha de contaminación cruzada,

es conveniente implantar también un control de superficies (con gasas o esponjas) para la detección de patógenos en zonas críticas.

El control de aire puede contemplar también recuento de colonias a 30 °C y mohos y levaduras y puede realizarse mediante exposición de placas Petri (p. ej.: 15 min en general y al menos 30 min en zonas estériles, como las cabinas de flujo) o bien mediante sistemas de captación de aire.

No existen criterios definidos en la norma, pero a modo de ejemplo pueden considerarse aceptables bajos niveles de recuentos en puntos donde no se requiera esterilidad (p. ej.: 5 ufc/placa RODAC o 15 ufc/placa Petri de 90 mm, tras 15 min de exposición).

## **1.1.4. Personal**

### **1.1.4.1. Cualificación**

La norma no indica un nivel de formación académica necesario para la cualificación del personal, pero sí que deben definirse criterios objetivos con los que valorar el nivel de competencia, tanto inicial como a lo largo del tiempo.

La norma no establece criterios objetivos, pero la cualificación puede basarse en los parámetros de rendimiento del método que se va a ejecutar, como son los valores de precisión y exactitud obtenidos inicialmente en la validación o a través del control de calidad interno para ensayos cuantitativos o la obtención de resultados positivos, incluyendo las pruebas de confirmación, en las muestras inoculadas con el microorganismo diana a niveles próximos al límite de detección en los ensayos de detección. La participación satisfactoria en intercomparativos es también una forma de garantizar la cualificación inicial y continua.

### **1.1.4.2. Higiene**

Las precauciones de higiene personal que deben adoptarse para evitar contaminación en las etapas analíticas e infección del personal son las siguientes:

- Utilizar vestuario limpio y específico para la zona de trabajo.
- Llevar protección para el pelo y la barba y mantener cortas y limpias las uñas.
- Lavarse las manos exhaustivamente en agua templada, preferiblemente en un grifo que no se accione directamente con las manos.
- Evitar hablar y toser cuando se trabaja con muestras y cultivos expuestos.
- No comer, ni beber, ni introducir comida destinada a consumo personal en el laboratorio.
- Está prohibido pipetear con la boca.

### 1.1.5. Aparatos, equipos y material de laboratorio

Todos los aparatos y el equipamiento deberían mantenerse limpios y en buenas condiciones de funcionamiento. Antes de su utilización, debería verificarse que el equipamiento es adecuado para el uso previsto, así como comprobarse periódicamente para asegurar su utilidad y su seguridad e indicar claramente su estado de uso y sus limitaciones con etiquetas visibles.

La norma no especifica la frecuencia de calibración y de las verificaciones de cada equipo, ya que deben determinarse en función del tipo de equipamiento y del nivel de actividad de cada laboratorio, y conforme a las indicaciones del fabricante. En aquellos casos en los que se indica una frecuencia, es debido a que se considera esencial para garantizar el buen uso del equipo. Por tanto, los criterios aportados se basan en la experiencia de los autores, salvo que se indique lo contrario. Se indican a continuación los equipos más relevantes con sus operaciones de control respectivas:

Cabinas de flujo laminar		
Controles	Frecuencia	Criterios

Control de la contaminación microbiana ambiental	De acuerdo con el plan de control ambiental	Contacto superficie de trabajo y paredes: ausencia de colonias Aire: exposición de placas Petri 30 min (ausencia de colonias o alguna colonia puntualmente)
Comprobar funcionamiento y eficacia de los filtros	Inicialmente, después de mantenimiento y reparación y, periódicamente, acorde con las instrucciones del fabricante	Acorde a la norma, el número máximo tolerable de partículas de un tamaño $\geq 0,5 \mu\text{m}$ : $\leq 4.000$ por metro cúbico

<b>Balanzas y diluidores gravimétricos</b>		
<b>Controles</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Criterios</b>
Verificación del peso	Cada día de uso y cuando se limpie o cambie de ubicación	Uso masa patrón cercana al peso habitual. La norma fija una tolerancia recomendada del 1% y máxima del 5% (p. ej.: para una masa de 20 g, el peso debe estar entre 19,8 g y 20,2 g)
Calibración en el rango de trabajo	Depende de su utilización, pero generalmente se realiza anualmente	Tolerancia máxima del 5% de la masa. Resolución de la balanza de al menos el 1% de la pesada (p. ej.: para pesar 10 g, la resolución debe ser de 0,1 g)

<b>pHmetro</b>		
<b>Controles</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Criterios</b>

Calibración con dos (o tres) disoluciones patrón (p. ej.: pH 7,00 y pH 4,00 o pH 9,00)	Cada día antes de su uso	La norma indica que debe ser capaz de hacer una lectura de pH de hasta 0,01 unidades de pH
Verificación con una tercera disolución patrón tamponada, con el equipo en modo "lectura"	Tras la calibración del pH-metro	Acorde a la norma tolerancia de $\pm 0,1$ unidades de pH

<b>Autoclave, preparador de medios y horno de esterilización</b>		
<b>Controles</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Criterios</b>
Comprobación de temperatura con registro trazable o, como mínimo, indicador de proceso	Con cada ciclo	Autoclaves y autopreparadores: tolerancia de temperatura $\pm 3$ °C Horno esterilización: tolerancia de temperatura $\pm 10$ °C
Verificación de cada ciclo programado y configuración de carga empleando diferentes sensores en zonas del autoclave (p. ej.: dos puntos para un autoclave de 75 L)	Inicialmente y con cada reparación o modificación importante	Autoclaves y autopreparadores: tolerancia de temperatura $\pm 3$ °C Horno de esterilización: tolerancia de temperatura $\pm 10$ °C

<b>Incubadores (incluyendo baños de incubación)</b>		
<b>Controles</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Criterios</b>
Comprobación de la temperatura de funcionamiento con sonda en continuo o termómetro de máxima y mínima	Diaria, con cada uso	Temperaturas dentro de tolerancias requeridas para el método de análisis (generalmente $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
Verificación de la estabilidad y la homogeneidad de la distribución de temperaturas a la(s) temperatura(s) de trabajo	Inicialmente y con cada reparación o modificación importante	Temperaturas dentro de tolerancias requeridas para el método de análisis (generalmente $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $\pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ )

<b>Refrigeradores y congeladores</b>		
<b>Controles</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Criterios</b>
Comprobación de la temperatura de funcionamiento con sonda en continuo o termómetro de máxima y mínima	Diaria, con cada uso	Temperaturas dentro de tolerancias requeridas por la norma, generalmente: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>3\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}</math> para muestras inestables</li> <li>• <math>5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}</math> para medios y reactivos</li> <li>• Inferior a <math>-15\text{ }^{\circ}\text{C}</math> o idealmente <math>-18\text{ }^{\circ}\text{C}</math> para congeladores</li> </ul>

		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inferior a <math>-70\text{ }^{\circ}\text{C}</math> para ultracongeladores</li> </ul>
--	--	--

<b>Contador de colonias</b>		
<b>Controles</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Criterios</b>
Comprobación de número de colonias	No se indica (se puede realizar anualmente) En los contadores automáticos, cada día de trabajo con placa calibrada	No existe criterio. Generalmente las diferencias entre diferentes analistas o frente a un valor de referencia son inferiores al 5%

<b>Destiladores, desionizadores y unidades de ósmosis inversa</b>		
<b>Controles</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Criterios</b>
Control de la conductividad del agua	La norma indica periódicamente. Generalmente se realiza en continuo por el propio sistema o en cada lote de preparación para destiladores clásicos	La conductividad no debe ser superior a $50\text{ }\mu\text{S/cm}$ para la preparación de medios y reactivos
Control de contaminación microbiológica en agua almacenada o producida por intercambiador de iones	No se indica en la norma. Generalmente con frecuencia mensual	Máximo 1.000 ufc/mL de recuento de colonias a $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ y preferiblemente inferior a 100 ufc/mL



<b>Temporizadores y dispositivos de control del tiempo</b>		
<b>Controles</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Criterios</b>
Verificación con señales horarias solo en aplicaciones críticas (p. ej.: si el método incluye una tolerancia definida en segundos o minutos)	Después de reparación y de forma periódica (p. ej.: anualmente)	No se incluyen en la norma. Generalmente se aceptan desviaciones de máximo 3 s/h

<b>Termómetros y termopares</b>		
<b>Controles</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Criterios</b>
Calibración en el rango de trabajo frente a patrones	Termómetros de rutina: no se indica en la norma, pero es recomendable cada año Termómetros patrón: al menos cada cinco años	Acorde a la tolerancia del método. La resolución deber ser al menos 4 veces inferior a la tolerancia máxima (p. ej.: para tolerancias $\pm 1$ °C, la resolución debe ser al menos 0,2 °C)

### 1.1.5.1. Material de laboratorio

Se debe garantizar la limpieza o esterilidad del material de vidrio y del resto del material de laboratorio utilizado en microbiología, asegurando su limpieza o esterilidad hasta el momento de su uso.

El material que se va a esterilizar debería tener acceso libre al vapor y colocarse en recipientes especiales o envolverse con un material apropiado (papel especial, papel de aluminio, etc.) incluyendo una fecha de caducidad en cada paquete. La temperatura de esterilización de material limpio en autoclave debe ser de  $121$  °C  $\pm 3$  °C durante un

tiempo de 15 min como mínimo, y durante al menos 30 min para material contaminado después de su uso. En horno de esterilización, como mínimo 1 h a  $170\text{ °C} \pm 10\text{ °C}$  o equivalente.

Si se emplea desinfección química, el material debe enjuagarse para garantizar la ausencia de residuos.

## 1.1.6. Ejecución de los análisis

### 1.1.6.1. Toma, transporte y recepción de muestras

La toma de muestra de alimentos y muestras ambientales no es parte de la presente norma, ya que existen normas dirigidas a ese objetivo, como la Norma [ISO/TS 17728](#), la Norma [ISO 17604](#) y la Norma [ISO 18593](#), respectivamente.

No obstante, la norma aporta algunas recomendaciones generales a seguir relacionadas con la toma y el transporte de la muestra, que se describen a continuación.

La muestra debería protegerse de contaminaciones externas ocasionadas por el aire, el recipiente de la muestra, los equipos de toma de muestras o por una incorrecta manipulación. El recipiente de la muestra no debería llenarse en más de tres cuartas partes de su capacidad para evitar posibles vertidos.

La forma de transporte de las muestras al laboratorio debe asegurar que se mantienen en condiciones que minimicen cualquier tipo de alteración en el número de microorganismos presentes. Las temperaturas recomendadas para el transporte son las siguientes:

- Productos estables: temperatura ambiente (por debajo de  $40\text{ °C}$ ).
- Productos congelados o ultracongelados: menos de  $-15\text{ °C}$ , preferiblemente menos de  $-18\text{ °C}$ .
- Otros productos inestables a temperatura ambiente: entre  $1\text{ °C}$ - $8\text{ °C}$ .

En el momento de la recepción de la muestra en el laboratorio, se debe comprobar su estado. Si sus condiciones no son satisfactorias, o si las muestras son insuficientes, el laboratorio debería rechazar las muestras.

En caso necesario, las superficies externas de los recipientes deberían desinfectarse.

Se debe asegurar la trazabilidad de las muestras a lo largo de todas las etapas de su paso por el laboratorio. En su recepción, se debe registrar al menos:

- Fecha (y hora, cuando sea relevante) de la recepción.
- Detalles sobre la toma de muestras (día y hora de toma de muestras, y, cuando sea relevante y se conozca, estado de las muestras).
- Nombre y dirección del cliente.
- Temperatura de recepción (en el caso de muestras perecederas).

Las muestras se analizan lo antes posible tras su recepción, preferiblemente en un plazo de 24 h. Para los productos altamente perecederos (como el marisco), los análisis deberían iniciarse en un plazo de 24 h desde la toma de muestras. Para los productos perecederos (como el pescado o la leche cruda), los análisis deberían iniciarse en un plazo de 36 h.

Se recomiendan las siguientes temperaturas de almacenamiento en el laboratorio a la espera del inicio de los análisis:

- Productos estables: temperatura ambiente (entre 18 °C-27 °C).
- Productos congelados o ultracongelados: menos de -15 °C, preferiblemente menos de -18 °C.
- Otros productos inestables a temperatura ambiente, incluidos los alimentos alterados: 3 °C ± 2 °C.

### **1.1.6.2. Preparación de la muestra y precauciones durante el análisis**

Existen normas específicas para la preparación de muestras como la serie de Normas [ISO 6887](#) contempladas en el presente libro.

Las muestras de laboratorio se conservan en su temperatura de almacenamiento original en un recipiente estéril hasta que se hayan obtenido todos los resultados. Los productos perecederos deberían

congelarse. No obstante, la repetición de los análisis no es una práctica aceptada habitualmente, debido a los posibles cambios en su situación microbiológica.

En este apartado se incluyen las consideraciones de carácter higiénico que se deben seguir durante todas las etapas, que contemplan:

- Los productos en polvo se deben manipular en una zona específica separada del laboratorio (área, habitación o cabina).
- Antes de abrir las muestras normales, esterilizar la zona prevista de apertura con alcohol al 70% y dejar evaporar. En el caso de los productos estériles, dicha zona se sumerge en una solución de 100 ppm y 200 ppm de cloro libre (o algún otro esterilizante adecuado) durante un tiempo mínimo de 10 min.
- Todos los instrumentos en contacto con los envases, muestras, medios de cultivo y reactivos deben ser estériles, y las áreas de trabajo y las manos deben desinfectarse antes de comenzar los análisis, al finalizarlos y si se produce algún vertido.
- Cuando se retira una pipeta estéril, no se deja que la punta toque las superficies externas de las otras pipetas, ni el borde o el cuello de las botellas de dilución. Si no se utiliza todo el contenido de un paquete de placas de Petri, pipetas, etc., durante el desarrollo de un análisis, se asegura que el paquete queda bien cerrado después de su uso.
- Se debe reducir al máximo la formación de aerosoles, en particular al manipular placas de Petri, tubos y botellas; cuando se utilizan agitadores, jeringas, centrífugas; cuando se vacían las pipetas; cuando se flamean agujas o asas de siembra o cuando se abren ampollas que contienen cultivos liofilizados.

El tiempo transcurrido desde el final de la preparación de la suspensión inicial y el momento en el que el inóculo entra en contacto con el medio de cultivo no debe ser superior a 45 min, salvo que se mencione específicamente algo distinto en la norma internacional correspondiente.

### **1.1.6.3. Método de recuento**