



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**

## **Facultad Ciencias de la Vida**

Propuesta de diseño de un laboratorio microbiológico  
para el control de calidad del agua y productos del Banco de  
Alimentos Diakonía

### **PROYECTO INTEGRADOR**

Previo la obtención del Título de:

### **BIÓLOGO**

Presentado por:

Carla Gabriela Zamora Mora

Ronny Leonardo Miranda Macías

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2018

## DEDICATORIA

A Dios, por abrir y cerrar las puertas necesarias para permitirme ser mejor persona cada día. A mis padres Margarita y Carlos, a mi hermano Alvaro a quienes amo con mi vida y han estado presentes siempre brindándome su valioso apoyo durante todos mis años de estudio, sus deseos y buenos ánimos me ayudaron a continuar y no decaer, les dedico con mucho amor el producto de mi esfuerzo.

Carla.

Quiero dedicar este trabajo primeramente a Dios por su fortaleza y también a mis padres Victoria Macías y David Miranda por su apoyo incondicional.

Ronny.

## **AGRADECIMIENTOS**

Nuestra más sincera gratitud a nuestra tutora, la doctora Marynes Montiel, por su inmensa paciencia y orientación, por entendernos y brindarnos su constante apoyo y seguimiento en el desarrollo de nuestro trabajo. De igual modo nuestro agradecimiento a las autoridades de la institución Diakonía por permitirnos realizar el proceso de investigación en su establecimiento y lograr desarrollar esta propuesta de proyecto.

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; Carla Gabriela Zamora Mora y Ronny Leonardo Miranda Macías y damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”

---

Carla Gabriela  
Zamora Mora

---

Ronny Leonardo  
Miranda Macías

## **EVALUADORES**

.....  
**Diego Gallardo Polit, MSc.**

.....  
**Marynes Montiel Romero, MSc. PhD.**

## RESUMEN

El presente documento propone el diseño de un laboratorio de microbiología para el Banco de Alimentos Diakonía, ubicado en la ciudad Guayaquil, que actualmente elabora productos alimenticios en base a frutas que recolectan a modo de donaciones, con el objetivo de redistribuirlos a la población vulnerable de la ciudad. Por ello para asegurar la inocuidad de estos productos, se requiere contar con un laboratorio básico de nivel de seguridad 1, donde se puedan realizar ensayos microbiológicos que respalden la calidad de los alimentos y el agua que se utiliza. Se inició con el análisis de información disponible relacionada a normas de seguridad de un laboratorio y manuales de diseño de laboratorios de bioseguridad, para reconocer las necesidades de infraestructura, condiciones ambientales adecuadas y de seguridad de un laboratorio desde un enfoque microbiológico, con los requerimientos de equipos, materiales y reactivos principales para el desarrollo de las prácticas microbiológicas a realizarse en el mismo. Se generó el plano de ubicación y distribución de las salas del laboratorio de microbiología en las instalaciones de Diakonía con su respectiva selección de componentes para la implementación del mismo, en el cual se puedan realizar los análisis microbiológicos aplicables al agua y los productos que elaboran definidos por la normativa técnica ecuatoriana para asegurar su calidad.

**Palabras Clave:** Laboratorio, microbiología, diseño, agua, alimentos.

## **ABSTRACT**

*This document proposes the design of a microbiology laboratory for the Diakonía Food Bank located in the Guayaquil city, which currently produces foodstuff based on fruits that collect as donations, with the purpose of redistribute them to the vulnerable population of the city. Therefore, to ensure the innocuousness of these foodstuff, is necessary to have a basic safety level 1 laboratory, where microbiological tests can be carried out to ensure the quality of the food and water used. This project began with the analysis of available information related to safety standards of a laboratory and biosafety laboratory design manuals, to recognize the requirements of infrastructure, appropriate environmental conditions and safety of a laboratory from a microbiological approach, also the type of equipment, materials and main reagents required for the development of the microbiological practices to be carried out inside it. The layout for location and distribution of the microbiology laboratory rooms at the Diakonía facilities was generated with its respective selection of components for its implementation, in which the microbiological analyzes applicable to water and the foodstuff they produce can be carried out, defined according to the Ecuadorian technical regulations to ensure their quality.*

*Keywords: Laboratory, microbiology, design, water, foods.*

# ÍNDICE GENERAL

RESUMEN .....	I
<i>ABSTRACT</i> .....	II
ÍNDICE GENERAL .....	III
ABREVIATURAS.....	V
SIMBOLOGÍA.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS .....	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
CAPÍTULO 1 .....	9
1.    Introducción .....	9
1.1    Descripción del problema .....	10
1.2    Justificación del problema .....	11
1.3    Objetivos .....	13
1.3.1    Objetivo General .....	13
1.3.2    Objetivos Específicos.....	13
1.4    Marco Teórico.....	13
1.4.1    El laboratorio de Microbiología .....	13
1.4.2    Bioseguridad y Riesgos en el Laboratorio .....	14
1.4.3    Riesgo Microbiológico .....	18
1.4.4    Barreras de protección en el laboratorio de microbiología.....	18
1.4.5    Buenas Prácticas de Laboratorio .....	20
1.4.6    Buenas Prácticas de Manufactura.....	20
1.4.7    Control de calidad .....	20
1.4.8    Criterios de diseño del laboratorio de microbiología .....	21
1.4.9    Análisis microbiológicos en alimentos .....	28
CAPÍTULO 2 .....	30



2.	Metodología .....	30
2.1	Procedimientos.....	30
2.1.1	Verificación y reconocimiento del área en instalaciones Diakonía: .....	30
2.1.2	Diseño y presentación del laboratorio .....	33
2.1.3	Condiciones de equipamiento del laboratorio .....	34
2.1.4	Señalización.....	38
2.1.5	Determinación de los análisis microbiológicos aplicables.....	38
CAPÍTULO 3 .....		40
3.	Resultados Y Análisis .....	40
3.1	Propuesta de diseño del laboratorio de microbiología .....	40
3.1.1	Distribución interna del laboratorio .....	41
3.1.2	Área de recepción y almacenamiento de muestras .....	45
3.2	Determinación de los ensayos aplicables al control microbiológico de la calidad del agua y alimentos.....	46
CAPÍTULO 4 .....		48
4.	Conclusiones Y Recomendaciones.....	48
4.1	Conclusiones.....	48
4.2	Recomendaciones.....	49
BIBLIOGRAFÍA .....		50
ANEXOS .....		53

## ABREVIATURAS

ARCSA	Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria.
BDA	Banco de Alimentos.
BPL	Buenas Prácticas de Laboratorio.
BPM	Buenas Prácticas de Manufactura.
EPI	Equipos de Protección Individual.
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación.
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización.
ISO	Organización Internacional de Normalización.
MSP	Ministerio de Salud Pública.
NTE	Normativa Técnica Ecuatoriana.
NMP	Número más probable.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
UFC	Unidad Formadora de Colonias.
UP	Unidad Propagadora.
UV	Ultra Violeta.

## SIMBOLOGÍA

m	metro
m <sup>2</sup>	metros cuadrados
mm	milímetro
ml	mililitro
cm	centímetro
cm <sup>3</sup>	centímetro cúbico
pH	potencial de hidrógeno
°C	grados Celsius
mV	milivoltios
µm	micra
µL	microlitro

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1.1 Localización del Banco de Alimentos Diakonía .....	12
Fig. 1.2 Tipos de riesgo en el laboratorio .....	15
Fig. 1.3 Prácticas Microbiológicas Estándar en el laboratorio. ....	17
Fig. 2.1 Despulpadora de frutas.....	31
Fig. 2.2 Puerta de salida hacia el huerto.....	31
Fig. 2.3 Ubicación de hornillas y campana de extracción de vapores .....	31
Fig. 2.4 Estación de lavado .....	31
Fig. 2.5 Método de medición directa (FAO) .....	32
Fig. 2.6 Vista posterior de la sala de procesamiento de frutas en Diakonía .....	32
Fig. 3.1 Área disponible en Diakonía para establecer el laboratorio de microbiología .....	40
Fig. 3.2 Diagrama de ubicación propuesta del laboratorio en BDA Diakonía. ....	43
Fig. 3.3 Sala de limpieza y esterilización. ....	44
Fig. 3.4 Sala de trabajo.....	45
Fig. 3.5 Sala de recepción de muestras.....	45

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Relación de los niveles de bioseguridad con los grupos de riesgo.....	16
Tabla 1.2 Barreras de protección en el laboratorio de nivel básico 1 de bioseguridad. .....	19
Tabla 1.3 Distribución y descripción de las áreas del laboratorio.....	22
Tabla 1.4 Consideraciones técnicas en la planeación del diseño de laboratorio.....	24
Tabla 1.5 Características generales respecto a la arquitectura básica en el diseño del laboratorio. ....	25
Tabla 1.6 Microorganismos indicadores de alteración y de calidad higiénica en alimentos.....	29
Tabla 2.1 Equipos necesarios para la implementación del laboratorio.....	34
Tabla 2.2 Materiales de cristalería para el laboratorio .....	35
Tabla 2.3 Mobiliario requerido para el laboratorio .....	36
Tabla 2.4 Otros materiales de plástico y metal .....	37
Tabla 3.1 Medidas del terreno seleccionado.....	41
Tabla 3.2 Propuesta de distribución del laboratorio en tres secciones con sus respectivos equipos y mobiliario .....	42
Tabla 3.3 Ensayos microbiológicos aplicables para el control de calidad de agua....	46
Tabla 3.4 Ensayos microbiológicos aplicables a los productos que elabora Diakonía. .....	47

# CAPÍTULO 1

## 1. INTRODUCCIÓN

El Banco de Alimentos (BDA) Diakonía es una entidad sin fines de lucro fundada el 13 de octubre del 2010 mediante el Acuerdo Ministerial #0229 del Ministerio de Justicia, Derechos Humanos y Cultos; iniciando sus actividades en el año 2011, con el objetivo de ayudar a reducir el hambre de la población vulnerable de Guayaquil, por medio de la recolección de alimentos idóneos y su posterior redistribución a través de instituciones beneficiarias asociadas.

Diakonía se encuentra ubicado en el sector de La Prosperina al norte de la ciudad (Fig. 1.1), sus instalaciones están divididas en diferentes áreas para el almacenaje de los productos que receiptan, las cuales incluyen: almacenamiento de productos no perecibles, refrigeración, congelamiento y procesamiento de frutas, donde se elaboran compotas y pulpas, siendo el aprovechamiento de las frutas su propósito para incentivar su consumo por parte de grupos vulnerables a la desnutrición (niños en etapa de crecimiento y adultos mayores).

La organización Diakonía actualmente distribuye, de forma gratuita, compotas y pulpas a diferentes fundaciones sociales, sin embargo, su proyección es comercializar estos productos a precios accesibles para los sectores más necesitados de la ciudad de Guayaquil e incluso otras localidades de Ecuador. La implementación de un laboratorio de microbiología en sus instalaciones le permitirá generar resultados fiables que garanticen la calidad de los productos que elaboran, siendo importante que los datos analíticos sean precisos y suficientemente confiables, en periodos establecidos y a un costo sostenible.

Este documento es el resultado de la recolección y análisis de información disponible en revistas científicas, manuales, libros y normativas nacionales e internacionales que han permitido generar el diseño de un laboratorio de microbiología en las instalaciones del Banco de Alimentos Diakonía, siendo de relevante importancia el diseño del mismo dado que una adecuada organización y distribución de sus áreas permitirá una optimización

de las diferentes actividades a realizar dirigidas al monitoreo de la calidad de los instrumentos, del medio ambiente en el área trabajo y de los productos que elaboran.

## **1.1 Descripción del problema**

El BDA Diakonía es una organización que trabaja receptando donaciones de alimentos por parte de empresas privadas y mercados de abastos locales de la ciudad de Guayaquil, para su posterior distribución a un conjunto de comedores e instituciones sociales beneficiarias.

Diakonía actualmente recepta productos perecederos (frutas y hortalizas) que son aprovechados para la producción de pulpas y compotas. Estos productos necesitan mantener condiciones de asepsia, buenas prácticas de manufactura, y controles de calidad mediante análisis microbiológicos que garanticen la inocuidad de los mismos, desde la materia prima hasta la obtención del producto, para evitar que se conviertan en vectores de enfermedades para las personas que los consumen.

Diakonía no cuenta con un laboratorio destinado al análisis microbiológico de agua y alimentos para monitorear el proceso de manufactura y mantener un control higiénico que le permita detectar y evitar una posible contaminación por microorganismos. Tomando en consideración que para la elaboración de los productos se emplea agua proporcionada por Interagua y luego almacenada en cisternas, sin el uso de filtros o purificadores de agua, y se desconoce la calidad de la misma.

Por lo tanto, surge la necesidad de proponer un diseño de laboratorio de microbiología que se adapte a las necesidades de Diakonía, y especificar los ensayos microbiológicos que permita monitorear la calidad del agua y de sus productos de forma eficaz.

## 1.2 Justificación del problema

Diakonía manufactura productos de forma semi-artesanal en base a frutas locales para facilitar su consumo a grupos vulnerables de la población de Guayaquil, con el objetivo de mejorar la calidad de su dieta.

Los productos que elabora la organización, requieren mantener un control sanitario de la materia prima, de sus instalaciones y de los productos, para asegurar su calidad. Además según la norma técnica de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) para alimentos procesados, el registro oficial n° 555 de control de calidad expedida por la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA, 2015); indica que todas las entidades que procesen, elaboren o envasen alimentos, deben disponer de un laboratorio de pruebas y ensayos de control de calidad, así como mantener un registro individual de limpieza, calibración y mantenimiento preventivo de cada equipo o instrumento del laboratorio, basado en normas de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).

Por otra parte, Diakonía necesita precisar los tipos de análisis microbiológicos oportunos para monitorear la calidad del agua, aire y de los productos, de modo que pueda prevenir, detectar y tratar los focos de contaminación por microorganismos que puedan afectar el producto elaborado y por ende la salud de los consumidores.

Con la implementación del laboratorio de microbiología, la organización podrá llevar a cabo sus propios controles higiénicos y la correcta realización de análisis microbiológicos le podrá asegurar la calidad de los productos.





**Fig. 1.1 Localización del Banco de Alimentos Diakonía**  
La Prosperina - Guayaquil

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo General**

Elaborar una propuesta de diseño de un laboratorio de microbiología en las instalaciones del Banco de Alimentos Diakonía para el control de la calidad microbiológica del agua y productos que elaboran.

### **1.3.2 Objetivos Específicos**

1. Verificar la disposición del espacio físico necesario para la creación y distribución de las áreas de un laboratorio de microbiología, según las normas de seguridad y control de calidad para las prácticas microbiológicas.
2. Establecer las condiciones necesarias en un laboratorio para realizar estudios microbiológicos que aporte las bases para el diseño estructural del mismo en el BDA Diakonía.
3. Definir los análisis microbiológicos aplicables a la evaluación microbiológica del agua y alimentos en el BDA Diakonía considerando los requerimientos y las normas de legislación ecuatoriana actual.

## **1.4 Marco Teórico**

### **1.4.1 El laboratorio de Microbiología**

Un laboratorio de microbiología es el lugar habilitado para realizar las estimaciones cualitativas y cuantitativas mediante la detección, aislamiento o recuento de microorganismos (protozoos, bacterias, hongos y levaduras) (Kalenic, 2013) Así mismo, el laboratorio tiene la finalidad de producir resultados fiables de los análisis microbiológicos de diferentes tipos de muestras, ya sean de aguas, aire o alimentos (FAO, 1992).

#### **1.4.1.1 Importancia del laboratorio de microbiología**

El laboratorio de microbiología desempeña un importante rol en la protección contra riesgos sanitarios, ya que, en la producción y conservación de alimentos destinados al consumo humano, es

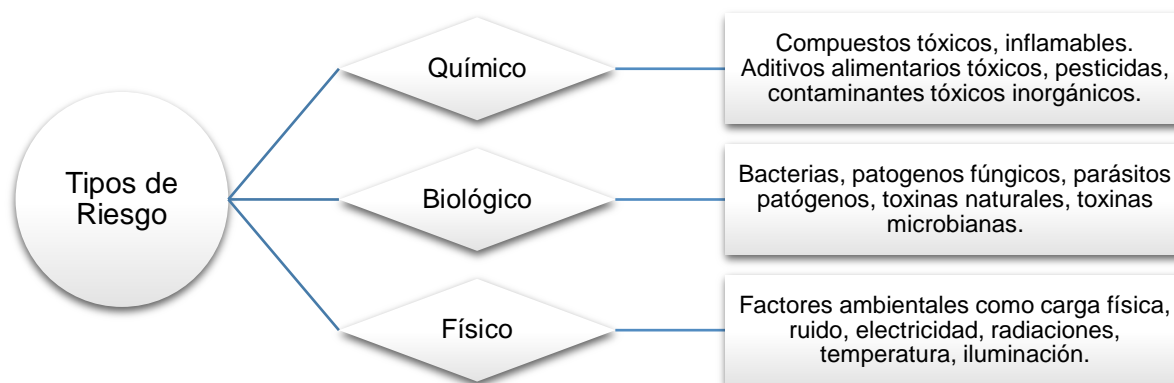
necesario realizar análisis microbiológicos de agua y del producto para detectar microorganismos indicadores y patógenos, que permitan evaluar la seguridad de los productos, como lo exige el CODEX Alimentarius (Zúñiga, Tejeda, Concha, Heredia, 2006).

Los controles sanitarios ayudan a evitar una posible contaminación por microorganismos patógenos o no patógenos que puedan ocasionar enfermedades en los consumidores o en menor grado, alterar las condiciones físicas y químicas del producto (FAO, 1992). Estos controles se aplican a las instalaciones y a todos los equipos utilizados en la manufactura de los alimentos, desde las materias primas hasta los productos finales (Alados, Aller, Miranda, Pérez y Romero, 2010).

#### **1.4.2 Bioseguridad y Riesgos en el Laboratorio**

Los agentes biológicos son microorganismos que representan un factor de riesgo laboral por su capacidad de causar enfermedades. Siendo la seguridad biológica o bioseguridad un conjunto de medidas preventivas, que constituye la aplicación de las técnicas y de los equipos necesarios para evitar la exposición involuntaria del personal, del área de laboratorio y del medio ambiente a material biológico infeccioso (OMS, 2005), y reducir el riesgo biológico. No obstante, los trabajadores dentro del laboratorio de microbiología se encuentran expuestos a riesgos no biológicos (físicos y químicos), comunes a otros laboratorios (Rojo, Alados, Gómez, Leiva y Pérez, 2014).

La figura 1.2 indica los tipos de riesgos potenciales propios de las acciones que se realizan dentro del laboratorio.



**Fig. 1.2 Tipos de riesgo en el laboratorio**

Los principales riesgos físicos se relacionan a aquellos factores ambientales con los que el trabajador interactúa en el laboratorio y que dependiendo de la intensidad, tiempo de exposición y concentración de los mismos, pueden ocasionar un efecto nocivo en su salud (Chiriboga, Sáenz, Sánchez y Montalvo, 2010). Mientras que el riesgo químico se establece por la probabilidad de que un contaminante químico pueda entrar en contacto con el personal de laboratorio o con el medio ambiente y ocasionar efectos adversos transitorios o permanentes (Rojo et al., 2014).

A pesar de que existe la percepción de que el riesgo biológico es el más importante, la mayoría de accidentes en el laboratorio resultan de peligros químicos y físicos. Siendo los accidentes biológicos menos frecuentes precisamente por la percepción del riesgo y mayor conocimiento del mismo (Rojo et al., 2014).

#### **1.4.2.1 Niveles de Bioseguridad**

Los niveles de bioseguridad se basan en las características del diseño, construcción, equipos de laboratorio, medidas de contención, actividades y procedimientos de ejecución de ensayos para trabajar con microorganismos patógenos de los diferentes grupos de riesgo (OMS, 2005).

En los laboratorios de microbiología de alimentos y aguas, se trabaja con muestras obtenidas de alimentos y cepas de microorganismos de riesgo como *Bacillus cereus*, *Campylobacter* sp, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* (enteropatógenas) como *E. coli*. O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, entre otros patógenos (RILAA, 2014).

#### 1.4.2.2 Tipos de Laboratorios de Microbiología según los grupos de riesgo

Los microorganismos infecciosos se clasifican según el riesgo que representan al realizar los análisis en el laboratorio. Por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) los clasificó por grupos de riesgo biológico: 1, 2, 3 y 4 (OMS, 2005). La tabla 1.1 indica las designaciones del tipo de laboratorio (nivel de bioseguridad) relacionado con el grupo de riesgo.

**Tabla 1.1 Relación de los niveles de bioseguridad con los grupos de riesgo. (OMS, 2005)**

Tipo de Laboratorio	Riesgo Biológico	Descripción	Equipo de Seguridad
Básico I	Nivel I	Escaso riesgo individual y comunitario	Ninguno; trabajo en mesa de laboratorio al descubierto
Básico II	Nivel II	Riesgo individual moderado y riesgo comunitario limitado	Trabajo en mesa al descubierto y CSB para posibles aerosoles
De Contención	Nivel III	Riesgo Individual elevado y riesgo comunitario escaso	CSB, y medios de contención primaria para todas las actividades
De Contención Máxima	Nivel IV	Elevado riesgo individual y comunitario	CSB de clase III o trajes presurizados junto con CSB de clase II, autoclave de doble puerta (a través de la pared), aire filtrado.

CSB: cámara de seguridad biológica.

El nivel 1 de seguridad biológica es adecuado para trabajos que involucran microorganismos bien caracterizados, como por ejemplo *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, de los que se conoce no causan enfermedades en humanos adultos inmunocompetentes, y solo representan un potencial de riesgo mínimo para el personal de

laboratorio y el medio ambiente (Chosewood y Wilson, 2009). En este tipo de laboratorios, el trabajo se puede realizar en bancos abiertos, utilizando las practicas microbiológicas estándar resumidas en la figura 1.3, y no es necesario un diseño especial de equipos de contención, sin embargo, se pueden habilitar en función de los resultados de la evaluación de riesgos (OMS, 2005).



**Fig. 1.3 Prácticas Microbiológicas Estándar en el Laboratorio. (OMS, 2005)**

En cuanto a un laboratorio de bioseguridad nivel 2, cumple con las características de los laboratorios de nivel 1 pero requiere otras medidas adicionales debido a que en estos, se manipulan microorganismos que pueden generar enfermedades en seres humanos sanos, aunque las vías de infección pueden ser controladas, representando un riesgo moderado para el personal de laboratorio y limitado para la comunidad. Ejemplos de estos microorganismos patógenos: *Salmonella typhi*, y virus Hepatitis B (Lozano, 2017).

### **1.4.3 Riesgo Microbiológico**

El riesgo microbiológico está presente cada vez que se desarrollan actividades en el laboratorio, ya sea en la manipulación de placas de microorganismos cultivados, que de no manipularse adecuadamente pueden provocar una liberación innecesaria al medio y contaminarlo o afectar al manipulador (OMS, 2005).

#### **1.4.3.1 Evaluación de riesgo microbiológico**

Las evaluaciones de riesgo deben efectuarse por el personal que conozca las peculiaridades de los microorganismos con los que se trabajará, así como el equipo y las técnicas de análisis a emplear. Por ello el director encargado del laboratorio tiene la labor de asegurar que se apliquen las normas de bioseguridad y se lleven a cabo las evaluaciones de riesgo apropiadas en períodos definidos (OMS, 2005).

En el campo de la seguridad alimentaria, la principal preocupación se centra en la inocuidad de los alimentos y la propagación de peligros microbiológicos, por ende la evaluación de riesgos microbiológicos (ERM) es una herramienta para el análisis de los suministros de alimentos y agua (WHO, 2003)

### **1.4.4 Barreras de protección en el laboratorio de microbiología**

Las barreras de protección tienen la finalidad de reducir al mínimo la exposición del personal del laboratorio y del medio a agentes potencialmente peligrosos o cualquier sustancia química que pueda afectar la piel o mucosas (Chiriboga et al., 2010). Por lo que el riguroso cumplimiento de las prácticas y técnicas microbiológicas (Fig. 1.3), así como el personal deben complementarse con el diseño del laboratorio, y los equipos de seguridad (Rosales y Valles, 2006).

En la tabla 1.2 se resumen los requerimientos según las barreras de protección para un laboratorio básico de nivel 1 de bioseguridad.

#### 1.4.4.1 Barreras de protección primaria

Las barreras de protección primaria, están relacionadas a la protección del personal medio ambiente inmediato del laboratorio. Siendo las buenas técnicas microbiológicas y el empleo de equipos de seguridad adecuados las que lo proveen (OMS, 2005). Los equipos de protección individual (EPI), deben ser los adecuados para cada tarea a realizar de forma específica.

#### 1.4.4.2 Barreras de contención secundaria

Las barreras de contención secundaria, son aquellas que dan una protección al medio ambiente externo del laboratorio ante la exposición de materiales tóxicos o infecciosos (OMS, 2005). Estas barreras son resultados de una combinación del diseño de las instalaciones del laboratorio y de las prácticas operativas que se realicen en su interior.

**Tabla 1.2 Barreras de protección en el laboratorio de nivel básico 1 de bioseguridad (OMS, 2005).**

Barreras Primarias	Barreras Secundarias
<ul style="list-style-type: none"><li>○ Aplicación de técnicas microbiológicas estándar.</li><li>○ EPI: mascarillas/cubre-bocas, gafas de protección de ojos, guantes, vestuario de protección: mandil de laboratorio. El uso de mascarillas respiradoras para evitar la inhalación de aerosoles.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>○ Disponer de puertas para el control de acceso.</li><li>○ El diseño del laboratorio debe facilitar la limpieza.</li><li>○ Superficies y mesas de trabajo impermeables al agua, resistentes al calor, solventes orgánicos, ácidos y productos químicos empleados para descontaminar.</li><li>○ Mobiliario durable con capacidad para soportar cargas y dispuestos con espacio suficiente para facilitar una limpieza eficaz.</li><li>○ Ventanas para asegurar la iluminación, deben abrirse hacia el exterior y estar provistas con mallas de protección para evitar el ingreso de insectos.</li><li>○ Disponer de una estación de lavado de ojos y extintores de incendio.</li></ul>



#### **1.4.5 Buenas Prácticas de Laboratorio**

Las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL), representan un conjunto de reglas, métodos operacionales y actividades orientadas a la realización de un trabajo consistente con la finalidad de asegurar la calidad e integridad de los resultados generados por el laboratorio (ASSAL, 2009).

Las BPL son de gran relevancia al permitir a las organizaciones ejercer un control de gestión necesaria para el cumplimiento de sus objetivos planteados. Entre los principios que abarcan las BPL son: requisitos de personal cualificado, requisitos de instalaciones y ambientes adecuados, equipos y materiales necesarios, procedimientos operacionales estandarizados (POE), control de documentación y bioseguridad (Pozo, 2011).

#### **1.4.6 Buenas Prácticas de Manufactura**

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), son un conjunto de procedimientos de manipulación e higiene, que incluyen costumbres, hábitos y actitudes esenciales para mantener la higiene en los procesos de obtención de productos alimenticios, minimizando los riesgos de contaminación (Aleaga, 2017).

#### **1.4.7 Control de calidad**

El área de control de calidad en una planta de producción de alimentos generalmente cuenta con un laboratorio para los análisis físico-químicos y microbiológicos para mantener una vigilancia continua de todos los insumos y materia prima empleadas en la elaboración de los productos (Aleaga, 2017).

Considerando lo anterior expuesto, el laboratorio de microbiología debe mantener métodos de control de calidad para realizar el monitoreo de la validez de los ensayos realizados (ASSAL, 2009), Por otra parte tener una sección de control de calidad de forma opcional, minimiza los reportes de resultados erróneos, evitando la repetición de ensayos (FSSAI, 2017).

#### **1.4.8 Criterios de diseño del laboratorio de microbiología**

El diseño de un laboratorio de microbiología debe realizarse bajo criterios de eficiencia operativa; con una adecuada distribución de áreas para el desarrollo de ciertas actividades y el almacenamiento de instrumentos, reactivos, medios de cultivo, entre otros insumos (Alados, et al., 2010). Siendo un laboratorio de control de calidad interno de la empresa, su ubicación tendrá en cuenta la distancia a los puntos de control existentes en los procesos de producción (Rodríguez y Cárcel, 2013).

Un laboratorio reglamentario consta de zonas separadas para el almacenamiento de muestras que aún no se analizan y muestras ya analizadas que se reservan (FAO, 1992). Además, se debe considerar las áreas de circulación de personas y materiales, por lo tanto la zona de tránsito debe tener una anchura de al menos 1,50 metros (Rodríguez y Cárcel, 2013).

La separación del laboratorio en varias salas se requiere principalmente para evitar la contaminación cruzada con sustancias indeseables y maximizar el uso del espacio para realizar las diversas actividades se requieren (FAO, 1992). Otros requerimientos generales en cuanto al diseño del laboratorio se presentan en el ANEXO B.

La instalación de un laboratorio implica establecer una estructura organizacional con la respectiva asignación de responsabilidades. Por otro lado se necesita seleccionar los análisis a realizar, el tipo de equipos y productos químicos necesarios (Alados et al., 2010).

##### **1.4.8.1 Aspectos generales del diseño y distribución espacial del laboratorio**

No existe un criterio definido sobre las medidas que deben tener los laboratorios, lo que sí se especifica es que el espacio corresponde al

volumen de los análisis que se realizan y el personal que labora en el mismo (FAO, 1992), sin embargo, el laboratorio de microbiología debería disponer por lo menos de cuatro áreas diferenciadas, independientes como se resume en la tabla 1.3.

**Tabla 1.3 Distribución y descripción de las áreas del laboratorio. (SISS, 1997)**

Zona	Descripción	Dimensión
Sala de trabajo principal	Para el desempeño de diferentes actividades, por ejemplo la preparación de muestras para el análisis microbiológico. En esta sala se instalarán la mayoría de equipos y materiales.	Depende del número de personas que laboran en el área, el volumen de trabajo y los tipos de análisis.
Sala de recepción y almacenamiento de muestras e insumos	Predestina al almacenamiento de muestras de los productos en proceso o terminado para realizar los análisis de control de calidad.	Es respecto al tamaño de los equipos y anaqueles de almacenamiento. Así como el tipo de mesones.
Sala de esterilización	Para realizar la esterilización de los materiales a utilizarse, cuenta con mesones destinados a la colocación de dichos materiales y anaqueles para el almacenamiento.	Se debe considerar el tamaño y correcta manipulación de los equipos principales (autoclave, estufa).
Sala de lavado y preparación	Sala destinada a la limpieza de los materiales en general utilizados en el laboratorio. Esta área consta de lavaderos, mesones, el sistema de preparación de agua destilada y una zona para el almacenamiento de insumos.	Depende del tamaño del sistema de preparación de agua destilada, así como el tipo de los mesones a elegir.

Las necesidades del laboratorio suelen aumentar de modo considerable en periodos de 5 a 10 años, por lo que al diseñar el laboratorio se debe considerar la flexibilidad de los espacios, por lo que se recomienda un área entre 14 y 18 m<sup>2</sup> (Alados et al., 2010).

Según normas técnicas de prevención de riesgo en el laboratorio, las zonas de trabajo en mesas, deben tener una superficie de 0,5 x 1,6 m y

una altura de mesa entre 0,75 y 0.90 m, mientras que los equipos se deben ubicar en espacios que permitan su manipulación y con la suficiente amplitud entre mobiliarios para permitir la limpieza, mantenimiento y reparación adecuada (Lozano, 2017).

Por otro lado, la señalización adecuada es parte fundamental en la prevención de riesgos en el laboratorio, los anaqueles o equipos destinados al almacenamiento de reactivos deben señalizarse con las respectivas etiquetas de peligro y/o medidas de prevención obligatorias para su manipulación (Alados et al., 2010).

En la tabla 1.4 se presentan los principales aspectos técnicos a considerar en el planteamiento de diseño del laboratorio.

#### **1.4.8.2 Personal para el trabajo en el laboratorio**

El número adecuado de personal (analistas) que labora en el laboratorio, depende del volumen de trabajo que se prevé realizar, los mismos quienes deben contar con el conocimiento y capacitación para completar los análisis microbiológicos. Además el laboratorio debe contar con el personal de soporte administrativo, un almacenamiento adecuado de registros y documentos de resultados de análisis generados por el laboratorio (FAO, 1992).

**Tabla 1.4 Consideraciones técnicas en la planeación del diseño de laboratorio. Adaptado de (Lozano, 2017)**

Atributo	Descripción
<b>Luz natural</b>	La zona de trabajo debe disponer de luz natural y vista al exterior, teniendo en cuenta el reflejo de la luz y los efectos de calor que puedan afectar la temperatura interna de la sala. No se requieren ventanas en cuartos de equipos comunes o refrigeradores
<b>Iluminación artificial</b>	Se requiere buena iluminación en zonas cerradas, la ubicación de las luminarias debe aportar un buen grado de intensidad y uniformidad.
<b>Ruido</b>	Los niveles de ruido en el laboratorio pueden ser difíciles de controlar, ya que varios de los equipos contribuyen a altos niveles de ruido., por lo que equipos como balanzas o centrífugas pueden verse afectadas por las vibraciones.
<b>Vibración</b>	Dado que algunos equipos pueden causar vibración y afectar la comodidad del trabajador, o a ciertos equipos sensibles a la vibración, estos últimos deberán colocarse en mesas con amortiguación, cerca de las zonas más estables del edificio.
<b>Corredores de circulación</b>	Es importante considerar la circulación eficiente del personal, suministros y desechos para tener un uso adecuado del espacio.
<b>Señalización</b>	Provee a los trabajadores y visitantes del laboratorio la información rápida para identificar las salas de trabajo, ubicación de insumos y medidas de seguridad y elementos indispensables de protección personal para lograr el funcionamiento adecuado del laboratorio.
<b>Espacio modular</b>	Los módulos deben organizarse de modo que permitan que el espacio sea fácilmente reconfigurado, estos pueden ser combinados o divididos dependiendo de las necesidades de espacio para mobiliario, techos, sistemas de ventilación e iluminación.

### 1.4.8.3 Arquitectura del laboratorio

Adicional a las recomendaciones técnicas para maximizar la seguridad, eficacia y funcionalidad del laboratorio y mencionadas en la sección anterior, el aspecto estético a nivel arquitectónico requiere de algunas precisiones resumidas en la tabla 1.5

El diseño del interior del laboratorio debe considerar varios aspectos en cuanto a las condiciones básicas del suelo y las paredes, su presión y

resistencia al fuego y a productos químicos tóxicos o corrosivos, así como biológicos; los cuales deben ser impermeables para evitar que absorban líquidos y gases, además deben ser de fácil limpieza y no resbaladizos según las normas de seguridad de laboratorios (Alados et al., 2010).

**Tabla 1.5 Características generales respecto a la arquitectura básica en el diseño del laboratorio. Adaptado de (FAO, 1992) (OMS, 2005) y (Lozano, 2017)**

<b>Elemento</b>	<b>Características</b>
<b>Puertas</b>	Procurar que sean de metal o fibra de vidrio de poliéster reforzado. Respecto al tamaño, debe ser ancho de 1 m y 2,1 m de altura. Siendo puertas de uso continuo deben equiparse con barandillas y zócalos. Los marcos de las puertas deben sellarse con resina. Además es recomendable incluir ventanas de inspección para permitir la visibilidad del interior al exterior y viceversa.
<b>Divisiones de concreto</b>	Deben construirse previniendo el agrietamiento, con la superficie lisa, El muro deberá sellarse con mínimo dos capas de resina epóxica, antes de la aplicación de sistemas de recubrimiento.
<b>ACABADOS INTERIORES</b>	
<b>Elemento</b>	<b>Características</b>
<b>Techos</b>	Recomendable que la altura del techo sea de al menos 2,8 m. Si se colocan cielorraso de yeso deben pintarse con pintura epóxica.
<b>Paredes</b>	Las superficies deben ser lisas, libres de grietas con perforaciones selladas, libre de uniones imperfectas entre techos y suelos. Debe ser de material de fácil lavado con detergentes y desinfectantes
<b>Pisos</b>	Deben diseñarse para soportar el transporte de equipos y el tránsito normal del personal. El material de construcción debe ser durable, funcional e impermeable.
<b>Ventanas</b>	Permitirá que el laboratorio aproveche la luz natural, y provistas de red o rejilla para impedir el ingreso de insectos. No existen medidas específicas, esto responde a criterio de los diseñadores.
<b>Equipamiento</b>	El diseño del laboratorio debe tener en cuenta la ubicación y características de los equipos como cabina de flujo laminar, autoclave, refrigerador y anaqueles de almacenamiento.

#### **1.4.8.4 Consideraciones del sistema hidrosanitario**

El agua empleada para la manufacturación de los productos puede comprometer la calidad de los mismos, alterando los parámetros microbiológicos, por ello las instalaciones deben cubrir las exigencias mediante la disposición de sistemas de purificación de agua, elaboración de un diagrama del sistema de tratamiento, planos de la red de distribución y puntos de muestreo que garanticen que el agua utilizada en el procesamiento de la materia prima y el enjuague final de los utensilios empleados en la elaboración del producto no influyan de forma negativa en su calidad (FAO, 1992).

El laboratorio debe disponer de un programa de limpieza, desinfección y mantenimiento de tanques o cisternas de agua potable y del sistema de purificación de agua, que incluyan la frecuencia de realización, puntos de muestreo y sus registros, además de mantener un registro de los controles de calidad fisicoquímicos y microbiológicos del agua potable y purificada (ARCSA, 2015).

Según Lozano (2017), la red de servicio y ductos se deben dimensionar para soportar el exceso de carga mínima de un 20% para permitir el aumento de la demanda en el futuro. También estas instalaciones deben evitar la transferencia de ruido y vibración.

El suministro de agua tratada para análisis y funcionamiento de ciertos equipos se puede conseguir mediante equipos de laboratorio cuando la demanda de volumen es menor a 10L/h (SISS, 1997).

Según la norma NTE-INEN-ISO 3696, el agua tipo reactivo de grado 3 o destilada es apropiada para la mayoría de trabajos en el laboratorio (2013). Algunas tecnologías para preparar este tipo de agua son por una sola destilación, por deionización o por osmosis inversa.

El agua purificada por destilación es aquella a la que se eliminan las sales disueltas y otros componentes. En la destilación el agua se calienta hasta el punto de ebullición y el vapor se separa, se condensa y se

recolecta. El agua destilada en equilibrio con el dióxido de carbono del aire posee una conductividad de unos  $0,8 \cdot 10^{-6}$  siemens  $\text{cm}^{-1}$ , característica que define el grado de pureza del agua (Caicedo y Esquivel, 2016).

#### **1.4.8.5 Consideraciones del sistema eléctrico**

Los circuitos de alimentación normales solo están conectados al suministro de la red pública, sin ningún respaldo. Las cargas que normalmente tienen una potencia normal incluyen algunos equipos HVAC, iluminación general y la mayoría de los equipos de laboratorio (SISS, 1997).

Las instalaciones eléctricas deben prevenir situaciones, mediante normas de seguridad previstas para áreas peligrosas, por ello el tablero de comandos debe estar situado fuera del área de trabajo del laboratorio, en una zona de fácil acceso para el personal encargado. Estos tableros deben contar con un interruptor principal para todo el circuito eléctrico e interruptores individuales para cada circuito del laboratorio, todos debidamente identificados (Rodríguez y Cárcel, 2013).

Durante el diseño de la red eléctrica, se debe tener en cuenta la ubicación de los equipos y la disposición de las terminales eléctricas deben ser las suficientes para la conexión de los equipos. Estas terminales deben estar alejadas de fuentes de agua o gas. Todos los tomacorrientes deben contar con su conexión a tierra; y no se debe emplear la misma terminal para equipos que funcionan en forma continua (incubadora) y discontinua (refrigerador) (SISS, 1997).

El laboratorio debe contar con generadores de energía de emergencia, que permitan respaldar equipos tales como refrigeradores, congeladores, campanas extractoras, iluminación de emergencia, ventiladores de extracción. También es recomendable contar con estabilizadores de energía para evitar daños en el funcionamiento de los equipos e instrumentos específicos para los análisis microbiológicos, ya



sea por variaciones de voltaje o alteraciones de la red eléctrica (Lozano, 2017).

#### **1.4.8.6 Sistema de red de gases**

Considerando la normativa de seguridad en laboratorios, recomienda instalar las líneas de gases mediante canaletas cerradas, con mangueras específicas para el transporte de gases con la debida identificación (FAO, 1992).

Los cilindros de gas licuado deben instalarse en el exterior del área de trabajo del laboratorio. Además dentro del laboratorio de existir una llave central de paso y llaves de paso sectorizadas, ubicadas en área de fácil acceso y visibles para que puedan utilizarse en situaciones de emergencia (SISS, 1997).

El laboratorio cuenta con otros instrumentos como los mecheros que necesitan ser conectados a sistema de gases con una manguera específica de una longitud menor a 70 cm, y serán adosados al mesón de trabajo, lejos de fuentes de flujos de aire y de reactivos inflamables (Lozano, 2017).

#### **1.4.9 Análisis microbiológicos en alimentos**

Los análisis microbiológicos son aquellas pruebas de laboratorio que se efectúan a una muestra para determinar la presencia o ausencia, tipo y cantidad de microorganismos.

En la producción y manufactura de alimentos, los análisis microbiológicos son la herramienta básica para el control de materias primas, procesos, productos, manipuladores y áreas de trabajo, ya que permite determinar el grado de contaminación biológica de los mismos (Camacho et al., 2009).

Los métodos y técnicas de análisis microbiológicos para realizar controles de calidad del producto son muy variados y dependen del tipo de alimento al que se realizan (Alonso y Poveda, 2008).

Además se debe recordar que existen diversos tipos de microorganismos en la naturaleza (aire, agua, suelo, superficie de frutas y vegetales o superficies inertes) que tienen la capacidad de descomponer los alimentos; estos microorganismos indicadores no siempre son perjudiciales para la salud humana, pero su presencia en productos alimenticios indica una mala calidad de la materia prima o deficiente sanitación de equipos, superficies de contacto o de los manipuladores (Pierson, Zink y Smoot, 2007).

Los indicadores microbiológicos que se cuantifican para determinar la calidad de los alimentos se presentan en la tabla 1.6.

**Tabla 1.6 Microorganismos indicadores de alteración y de calidad higiénica en alimentos.**  
(Adaptado de Campuzano et al., 2015)

Indicadores	Descripción
Mesófilos aerobios	Bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 35°C +/- 2°C en las condiciones establecidas. Se estima la microflora total sin especificar microorganismos, indica la calidad sanitaria del alimento, las condiciones higiénicas de la materia prima y su manipulación.
Coliformes totales	Bacilos Gram (-), no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos. Son de gran importancia para detectar contaminación en agua y alimentos. Habitan en el tracto gastrointestinal de humanos y animales, además de suelo, agua y plantas.
Coliformes fecales	<i>E. coli</i> (90%) y algunas bacterias de los géneros <i>Klebsiella</i> y <i>Citobacter</i> . <i>E. coli</i> se usa como indicador de contaminación fecal en alimentos, determina si el alimento se ha manipulado en buenas condiciones de higiene.
Mohos y levaduras	Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, forman parte de la flora normal de un alimento o como agentes contaminantes. Un porcentaje de aprox. 25% de levaduras puede alterar los alimentos, deteriorando su olor, color y sabor, además permiten el crecimiento de bacterias patógenas. Los mohos son un grupo de hongos microscópicos que se propagan por esporas flageladas o no, y forman colonias en medios selectivos a 25°C.

# CAPÍTULO 2

## 2. METODOLOGÍA

Con base al art. 134 de laboratorios de control de calidad (ARCOSA, 2015) los establecimientos que procesen, elaboren o envasen alimentos, deben disponer de un laboratorio propio para realizar ensayos de control de calidad de sus procedimientos (SAE, 2016)

La investigación llevada a cabo para el desarrollo de este proyecto integrador es de carácter bibliográfico, cualitativo y evaluativo, orientada a analizar la problemática de Diakonía frente al proceso de control de calidad del agua y productos que elaboran.

Mediante una planificación semanal se realizaron de las siguientes acciones para cumplir los objetivos planteados:

1. Se realizó una primera revisión bibliográfica para tener conocimiento de las normativas técnicas vigentes de Ecuador relacionado a los requerimientos para la creación de un laboratorio de microbiología básico de nivel 1.
2. Reconocimiento por observación del área disponible en las instalaciones de Diakonía para el posible levantamiento del laboratorio. Mediante estas visitas de campo se realizó la medición directa del área.
3. Diseño y presentación del laboratorio de microbiología mediante planos/gráficos descriptivos y un recorrido virtual de las áreas del laboratorio planificada.
4. Finalmente se precisó los análisis microbiológicos necesarios para monitorear la calidad del agua, y productos elaborados en Diakonía.

### 2.1 Procedimientos

#### 2.1.1 Verificación y reconocimiento del área en instalaciones Diakonía:

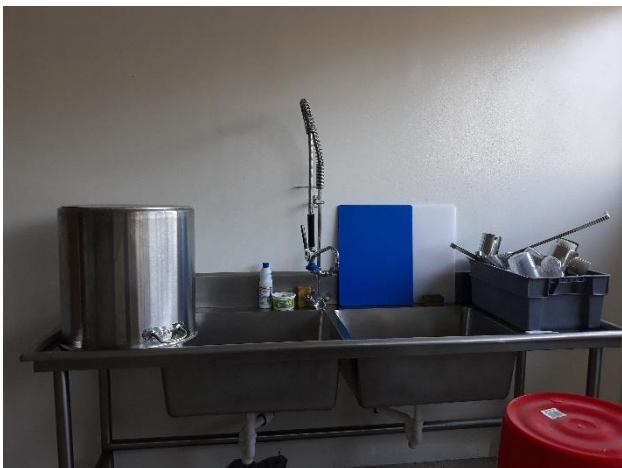
Mediante visitas a las instalaciones de Diakonía se observó la sala de procesamiento de frutas y los equipos y materiales que utilizan (Figuras: 2.1; 2.2; 2.3; 2.4).



**Fig. 2.2 Puerta de salida hacia el huerto**  
Junto se localiza la perilla de aviso de incendios



**Fig. 2.1 Despulpadora de frutas**  
Ubicado sobre una mesa en el centro de la sala



**Fig. 2.4 Estación de lavabo**  
Para limpieza de materiales



**Fig. 2.3 Ubicación de hornillas y campana de extracción de vapores**  
Junto se localiza estación de lavado de manos

Se realizó entrevistas al encargado del área de producción, relacionadas al tipo de funciones y manejo de máquinas, el número de personal con el que cuenta y las funciones que desempeñan.

Se identificó los diferentes departamentos y zonas de trabajo con las que cuenta la organización, debido a que adjunto a la sala de procesamiento de frutas existe un área sin construir, se realizó la medición directa mediante una cuerda segmentada (Fig. 2.5) para calcular la superficie total

disponible, se registró imágenes de área con la finalidad de generar el primer layout de ubicación del laboratorio.



**Fig. 2.5 Método de medición directa (FAO)**  
Mediante cuerda segmentada se midió el perímetro del espacio disponible en Diakonía



**Fig. 2.6 Vista posterior de la sala de procesamiento de frutas en Diakonía**  
Adjunto se visualiza espacio disponible, considerado para establecer el laboratorio

### **2.1.2 Diseño y presentación del laboratorio**

El diseño del laboratorio de microbiología de nivel básico 1 se llevó a cabo siguiendo tres aspectos importantes: ubicación, dimensionado y distribución interior de las áreas del laboratorio (Rodríguez y Cárcel, 2013). Y se consideró una distribución por procesos, teniendo en cuenta las dimensiones de los equipos y mobiliario.

#### **a) Área de recepción y almacenamiento**

Esta sala estará destinada a la recepción y verificación de las muestras, se realizará el pesaje y rotulación para su identificación. En esta sección también se podrá almacenar muestras que hayan sido analizadas. Las muestras se pueden rotular por códigos para evitar confusión en su almacenamiento. La ubicación ideal de esta sala es en la entrada del laboratorio.

#### **b) Área de análisis microbiológicos**

En esta sala el analista prepara los medios de cultivo y buffers para los respectivos ensayos microbiológicos. En esta área se pueden realizar actividades de reconstitución de medios deshidratados, medición de pH, disolución de medios. El área contará con los instrumentos de medición volumétrica y de masa empleados para la elaboración de medios de cultivos y preparación de placas petri con medio sólido.

#### **c) Área de limpieza y esterilización de materiales**

Sala destinada al lavado de materiales por lo que dispondrá de lavabos, mesones, y equipos de esterilización por calor húmedo (autoclave) y estufa de secado. Se dispondrá extractores de aire y anaqueles de almacenamiento para materiales. También se instalará el sistema de producción de agua destilada/deionizada.

### 2.1.3 Condiciones de equipamiento del laboratorio

Se entregará al diseñador del modelo en 3D, todas las especificaciones técnicas de los equipos a instalar en el laboratorio.

La tabla 2.1 contiene los equipos necesarios para implementar el laboratorio; La tabla 2.2 indica los materiales de cristalería a emplearse para la realización de ensayos y la tabla 2.3 contiene la descripción del mobiliario requerido para la zona de trabajo y almacenamiento de materiales.

**Tabla 2.1 Equipos necesarios para la implementación del laboratorio**

No.	Equipos	Cant.	Especificaciones
1	Agitador eléctrico/vortéx	1	330 x 330 mm con capacidad de carga de hasta 6 kg.
2	Autoclave	1	Autoclave esterilizador vertical. De acero inoxidable. Capacidad: 50 litros. Dimensiones externas: 580 x 960 x 415 mm. Internas: 310 x 700 mm.
3	Contador de colonias	1	Equipo empleado para contar colonias de microorganismos sembradas en placas petri.
4	Balanza analítica digital	1	Precisión de lectura de 0,0001 a 260 g.
5	Baño María	1	Dimensiones: (L x W x H). Exterior 246 x 355 x 232 mm. Con capacidad de 5 litros. Cámara interior de acero inoxidable. Temperatura ambiente 100 °C
6	Cámara de flujo laminar	1	Dimensiones: 1,6 m x 0,9 m x 0,6 m
7	Estufa de recirculación de aire	1	Dimensiones: (50 x 70 x 50) cm, con un rango de temperatura desde ambiente hasta 200°C
8	Deionizador de agua	1	Medidas aprox. 47 cm x 42 cm x 20 cm
9	Incubadora	1	Medidas aprox. 0,6 m x 0,7 m x 0,6 m
10	Frigorífico	1	Medidas aprox. 1,8 m x 0,7 m x 0,6 m
11	Set de Micropipetas	1	0,5-2µm; de 2-20 µm; de 20-200 µm y de 200-1000 µm.
12	Microscopio óptico	1	Equipo empleado para observar objetos de tamaño diminuto a través de sus lentes objetivos de 4x, 10x, 40x, 100x.
13	Medidor de pH	1	Dimensiones: 290 x 210 x 95 mm. Escala pH: 0~14.00 pH Escala de mV: 0~±1999 mV Peso aprox.: 1 Kg
14	Plancha de calentamiento y agitación magnética	1	Dimensión: 33 x 21 x 10 cm Superficie de agitación aprox.: 18 cm <sup>2</sup> Rango de T°C: 5 a 540.

**Tabla 2.2 Materiales de cristalería para el laboratorio**

<b>No.</b>	<b>Materiales de cristal</b>	<b>Cant.</b>	<b>Especificaciones</b>
1	Probetas de varias medidas	8	Medidas de 25, 50, 100, 250 y 500 ml.
2	Embudo decantador	3	Instrumento de vidrio con un volumen de 500 ml, diámetro de 100 mm y peso de 350 g
3	Vaso de precipitación varias medidas 2 o 3 de cada una.	15	Resistente a altas temperaturas, apto para esterilización en autoclave. Medidas de 10, 50, 250, 500 y 1000 ml.
4	Embudo de filtración	2	De forma cónica, tallo corto 50 – 75 mm de diámetro.
5	Matraz Erlenmeyer varias medidas (2 de cada uno)	12	Debe ser resistente a altas temperaturas. Medidas 10, 50, 100 y 400 ml.
6	Agitador de vidrio	2	Varilla de vidrio de 5-7 mm de diámetro y 20-50 cm de longitud utilizada para mezclar sustancias por medio de agitación.
7	Caja de porta objetos	1	Medidas de 25 x 75 mm.
8	Caja de cubreobjetos	1	Medidas de 20 x 20 mm.
9	Cajas petri	12	Cajas circulares provistas con tapa, de diámetro aproximado de 90 mm.
10	Mortero de porcelana con pistilo	4	Recipiente cóncavo y un pistilo o maceta para aplastar objetos blandos.
11	Termómetro	1	Instrumento de vidrio de 40 cm de longitud aproximadamente que mide la temperatura y contiene mercurio en su interior.
12	Pipeta volumétrica	1	Instrumento de vidrio que mide aproximadamente 30 cm y que sirve para extraer líquidos o fluidos.
13	Frasco gotero	1	Objeto de vidrio o plástico que sirve para colocar líquidos siguiendo una secuencia de gotas.
14	Tubos de ensayo	24	Material de vidrio de 16 x100 mm.



**Tabla 2.3 Mobiliario requerido para el laboratorio**

<b>No.</b>	<b>Mobiliario</b>	<b>Cant.</b>	<b>Especificaciones</b>
1	Mesa de trabajo de acero inoxidable	1	Dimensión 0.7 m x 1,20 m. Superficie en resina epóxica. Bordes redondeados. FSI<25
2	Sillas tipo taburete	3	Altura de 0.7 a 0.8 m. Asiento de espuma de poliuretano recubierto de tejido sintético.
3	Estantería para manuales y documentos.	1	Tipo abierta.
4	Armario de reactivos	1	Medidas: 1.8 m x 0.9 m x 0.4 m
5	Armario de seguridad bajos o tipo cajones	2	Medidas: 0.9 m x 0.9 m x 37 m
6	Anaqueles de almacenamiento de medios de cultivo	1	Medidas: 0.9 m x 0.9 m x 37 m
7	Lavabo doble	1	Medidas: 0,85 m x 0,6 m
8	Lavabo simple	2	Medidas: 0,6 m x 0,5 m
9	Mesa o mesón para instrumentos	2	Medidas: 0,6 m x 1,2 m.
10	Anaqueles superiores de almacenamiento de materiales	4	Medidas de 1,6 m x 0,60 m x 0.30 m Altura al techo: 0,5 m. Acabado epoxi-poliéster.
11	Armarios inferiores con sobremesa para almacenamiento de materiales	6	Medidas: 0.9 m x 0.9 m x 37 m
12	Puertas de aluminio y vidrio Son de ingreso y salida de cada sala.	4	Medidas de 0.9 x 2.1 m. Recubierta con lámina de acero inoxidable, hermética para minimizar fugas de aire, de apertura abatible con brazo hidráulico. Sentido de apertura: hacia el corredor.
13	Puerta de salida de emergencia	1	Sentido de apertura hacia el exterior. Resistente al fuego (FR):60', lisa y lavable.
14	Ventanas al exterior	3	
15	Ventana visor de comunicación a corredor.	1	

**Tabla 2.4 Otros materiales de plástico y metal**

No.	Materiales	Cant.	Especificaciones
1	Pipetas pasteur	6	Desechables, con pera de pipeteado integrada, resistente a esterilización.
2	Tubos de plástico para centrífuga		Tubos cónicos de plásticos von tapa. volumen de 15 -50 mL
3	Cucharas y espátulas de plástico	4	Material de plástico de aprox. 5 cm de longitud
4	Asas acodadas	6	Asas para siembra fabricadas con poliestireno blanco y con una longitud total de 149 mm
5	Asas de siembra metálicas	4	Asas de metal con volumen de 10 $\mu$ L
6	Paquetes de puntas desechables para micropipetas	4	0,5-2 $\mu$ m; de 2-20 $\mu$ m; de 20-200 $\mu$ m y de 200-1000 $\mu$ m. 1 de cada uno.
7	Pipeteador manual	2	Para manipulación de líquidos mediante pipetas de 0.1 a 100 mL.
8	Placas petri de plástico		Cajas circulares de plástico con un diámetro aproximadamente de 90 mm
9	Gradilla para tubos de ensayo	2	Temperatura de uso: -20 a 90°C. Esterilizables en autoclave (121°C). Dimensiones: 265 x 126 x 75 mm.
10	Pinzas de metal para tubos de ensayo	2	Pinza provista de dos agarraderas en su extremo superior. Medida aprox. de 100 mm
11	Mecheros de alcohol	3	Instrumento de vidrio con un diámetro aprox. de 60 mm y que contiene una rosca metálica y una mecha de algodón en su parte superior.
12	Mechero bunsen	1	Consta de una base, una fuente de gas (por lo general metano y butano), una válvula que regula el paso de este y un cuello con un orificio en la parte superior.
13	Probeta de plástico 250 ml	1	Cilindro graduado de vidrio borosilicatado con una capacidad de volumen de 250 mL
14	Vaso de precipitación de plástico varias medidas	3	Capacidad volumétrica: 10, 500 y 1000 ml.
15	Embudo de plástico	1	Para trasvase, Plástico HDPE con borde. Diámetro: 50 - 75 mm
16	Frascos lavadores	3	Capacidad: 200 y 500 mL.
17	Rollo de papel de aluminio	1	Medidas: 20 x 0,30 m.
18	Encendedor o cerillos	1	De uso manual para encender los mecheros.
19	Fundas con cierre hermético para almacenamiento de muestras	50	Material de plástico de diferentes medidas: 18 x 20 cm, 7 x 9 cm, 10 x 13 cm y 5 x 9cm.
18	Frascos para muestras	20	Instrumento de vidrio polarizado de aprox. 100 mm de longitud y 50 mm de ancho

#### **2.1.4 Señalización**

De accesos al laboratorio tipo adhesivo, Las salas deben contar con identificación. Así como los anaqueles de almacenamiento, que presente en el exterior la identificación de los materiales que se almacenan dentro. Los utensilios y otros materiales deben rotularse.

Es necesario la señalización de salida de emergencia, botiquín de primeros auxilios, alarma de incendios y extintores.

#### **2.1.5 Determinación de los análisis microbiológicos aplicables**

Los análisis generales a realizar en el laboratorio para mantener un control de calidad y que se deberían realizar de forma periódica de acuerdo al cronograma de producción de las pulpas y compotas.

- análisis de manos y superficies
- análisis de aguas
- análisis de coliformes
- análisis de *Escherichia coli*
- análisis de *Salmonella* spp.

##### **2.1.5.1 Requerimientos de calidad para pulpas de frutas**

La norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2337:2008 indica que la pulpa de las frutas debe ser extraída bajo condiciones sanitarias apropiadas, a partir de frutas maduras, debidamente lavadas y saneadas, aplicando los principios de Buenas Prácticas de Manufactura, para reducir al mínimo la presencia de fragmentos de cáscaras, semillas y partículas gruesas propias de la fruta. Y estar libres de microorganismos perjudiciales para la salud humana.

En cuanto a la conservación del producto por medios físicos como los procesos térmicos de pasteurización, esterilización, congelación, o

medios químicos como la adición de sustancias siempre que estas se encuentren en la normativa NTE INEN 2074.

Según la Legislación ecuatoriana para las pulpas de frutas, estas deben tener las características sensoriales propias de la fruta de la cual procede, y libre de olores o sabores extraños.

#### **2.1.5.2 Requerimientos de calidad para compotas en conserva**

La norma técnica ecuatoriana NTE INEN 2009:2013 de alimentos colados y picados dispone que la elaboración de compotas a base de frutas o verduras se realizará bajo condiciones de BPM nacional y en concordancia con el código internacional de prácticas de higiene de alimentos para lactantes y niños (CAC/GL 21-1979).

Además el producto necesita cumplir con las condiciones de esterilidad comercial durante su tiempo de vida útil según la AOAC 972.44, para mantener estables las características del alimento.

#### **2.1.5.3 Condiciones del medio ambiente del laboratorio**

Se empleará la guía técnica para “análisis microbiológicos de superficies en contacto con alimentos y bebidas según resolución ministerial # 461-MINSA para la toma y preparación de muestras para análisis microbiológico” según la normativa NTE INEN 1529-2:1999.

Los métodos a realizar serán de hisopo y enjuague.

# CAPÍTULO 3

## 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 3.1 Propuesta de diseño del laboratorio de microbiología

Esta propuesta de diseño se basó en los requisitos considerados para las instalaciones en Diakonía para la implementación del laboratorio de microbiología remitiéndose a las exigencias de las medidas de seguridad de laboratorios de la FAO y la OMS.

El sitio seleccionado para establecer el laboratorio de microbiología, es el terreno adyacente a la sala de procesamiento de frutas (Fig. 3.1). El perímetro medido corresponde a 12,9 m. de largo x 4,9 m. de ancho, resultando un área de 62,72 m<sup>2</sup> (Tabla 3.1), medida suficiente para la instalación del laboratorio (Fig. 3.2).



**Fig. 3.1** Área disponible en Diakonía para establecer el laboratorio de microbiología

**Tabla 3.1 Medidas del terreno seleccionado para establecer el laboratorio**

	Longitud (m)
Largo	12,8
Ancho	4,9
Altura	3,9
Perímetro	35,4
<b>Área total estimada = 62,72 m<sup>2</sup></b>	

Entre los elementos de construcción básicos, las paredes exteriores serán de mampostería con acabado interior liso como lo establecen las BPL, mientras que las paredes interiores serán de paneles lavables con perfiles de aluminio, la unión de piso, techo y esquinas serán redondeados.

Las paredes, pisos y techos serán de color claro (blanco), empleando pintura epóxica poliamida. Las uniones piso-pared y pared-techo serán redondeadas, empleando zócalos, sanitarios y selladas con silicona.

### **3.1.1 Distribución interna del laboratorio**

Para la distribución del laboratorio se consideraron los equipos y mobiliarios descritos en la sección de metodología (anexo c).

Las dimensiones de la sala de trabajo corresponden al área suficiente para la realización de actividades de dos personas. El corredor para la circulación del personal es de 1,8 m de ancho x 12,8 de largo.

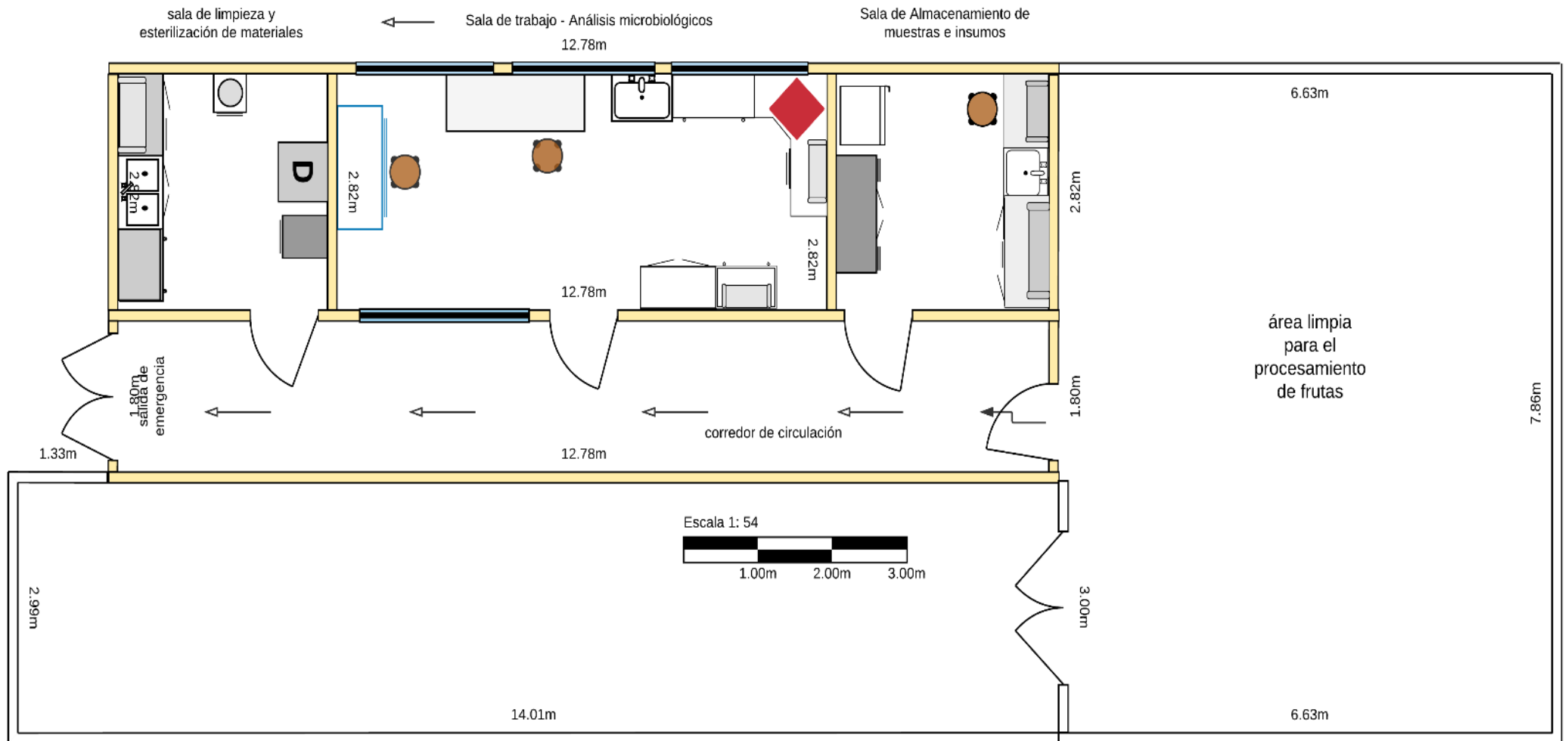
La tabla 3.2 resume la distribución interna del laboratorio propuesto, con sus respectivos componentes.

**Tabla 3.2 Propuesta de distribución del laboratorio en tres secciones con sus respectivos equipos y mobiliario**

Sala	Área (m <sup>2</sup> )	Equipos	Mobiliario
De recepción y almacenamiento de muestras e insumos	8,4	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Frigorífico</li> <li>▪ Botiquín de primeros auxilios.</li> <li>▪ pHmetro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ silla.</li> <li>▪ Anaquel de almacenamiento de reactivos.</li> <li>▪ Lavabo simple.</li> <li>▪ Mesa con cajoneras y anaqueles inferiores y superiores.</li> </ul>
De análisis microbiológicos	21,6	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Cámara de flujo laminar.</li> <li>▪ Incubadora.</li> <li>▪ Microscopio óptico.</li> <li>▪ Balanza analítica.</li> <li>▪ Micropipetas</li> <li>▪ Contador de colonias.</li> <li>▪ Agitador vórtex.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ silla de trabajo.</li> <li>▪ Ventanas vista al exterior.</li> <li>▪ Ventana vista al corredor.</li> <li>▪ Mesa de trabajo de acero inoxidable.</li> <li>▪ Anaquel para almacenamiento de muestras.</li> <li>▪ Mesones con cajones inferiores y anaqueles superiores para almacenamiento de utensilios.</li> </ul>
De lavado y esterilización de materiales	8,4	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Autoclave.</li> <li>▪ Estufa para secado.</li> <li>▪ Deionizador de agua</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Lavabo doble con anaquel inferior.</li> <li>▪ Mesón para instrumentos</li> <li>▪ Anaqueles de almacenamiento superiores e inferiores.</li> </ul>

El diagrama del laboratorio se realizó empleando plataforma online “Lucidchart Pro” ya que solo se necesitaba representar un diagrama básico del lugar, en cuanto a la escala esta sufre variaciones propias de la plataforma. Sin embargo se representan las dimensiones aproximadas requeridas para el diseño (anexo c).

El agua destilada se generará en el propio laboratorio mediante un destilador adquirido a tal efecto para su uso inmediato en el proceso.



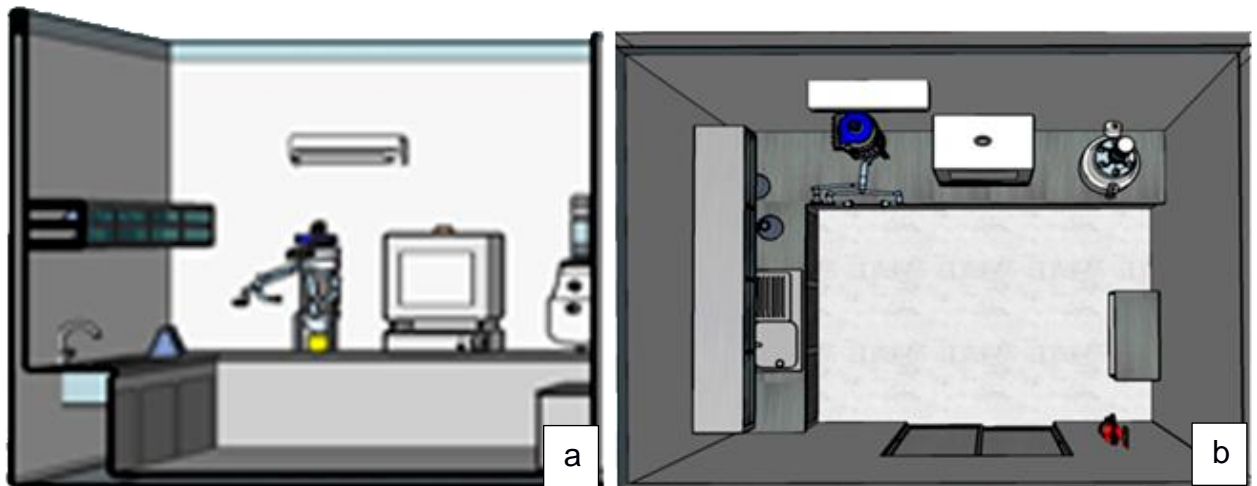
**Fig. 3.2 Diagrama de ubicación propuesta del laboratorio en BDA Diakonía.**  
 Se aprecia la distribución de las salas dotado con los equipos y mobiliario necesario.



A continuación se presentan partes de las imágenes del video de recorrido virtual elaborado.

### 3.1.1.1 Área de limpieza y esterilización

Área superficial de 8,4 m<sup>2</sup>. Destinada para el lavado, secado y esterilización de los instrumentos del laboratorio; mediante el uso de lavabos, estufa y autoclave respectivamente. Los componentes que se seleccionaron para el acondicionamiento de la sala (Fig. 3.3) se pueden apreciar mediante vista frontal (a) y vista superior (b).



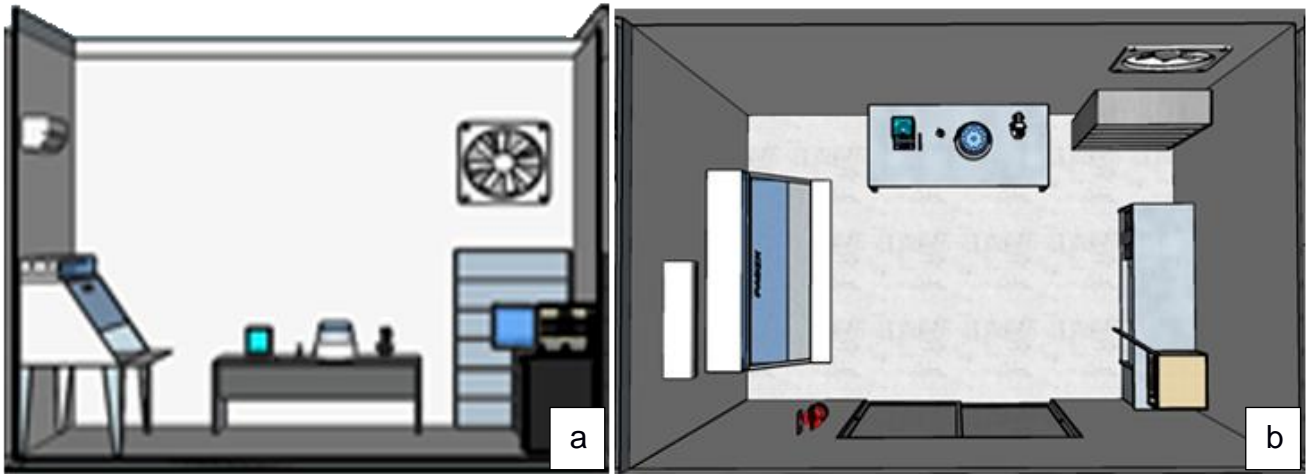
**Fig. 3.3 Sala de limpieza y esterilización.**

Se aprecia el interior de la sala con sus componentes; (a) vista frontal, (b) vista superior.

### 3.1.1.2 Área de trabajo

Área superficial de 21 m<sup>2</sup>. En esta sala se ubican la mayoría de equipos e instrumentos para realizar los análisis microbiológicos (Fig. 3.4).

A continuación se enumera los componentes seleccionados para el implementar la sala de análisis microbiológicos.

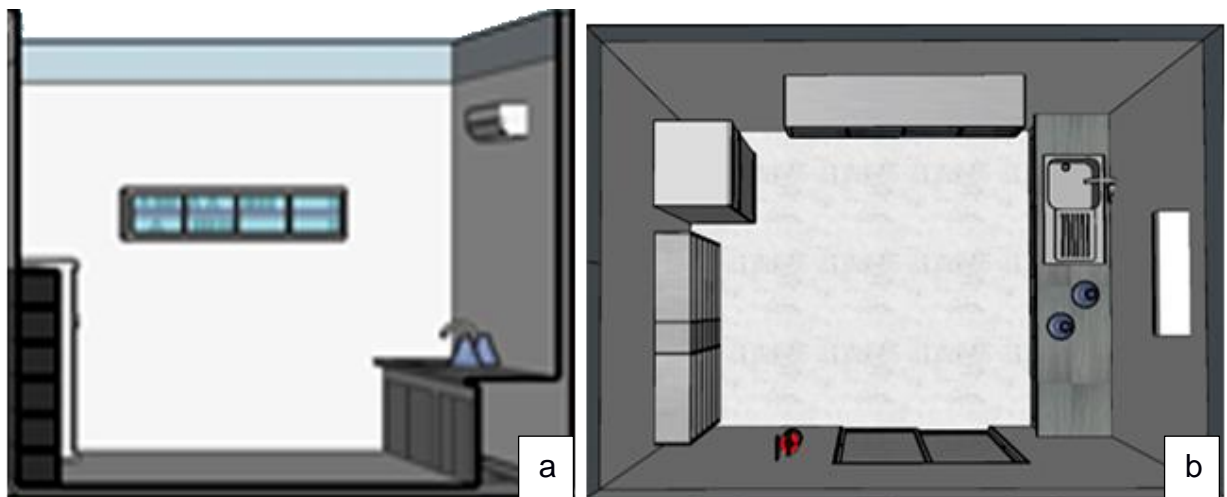


**Fig. 3.4 Sala de trabajo**

Se presentan en la vista frontal (a) y vista superior (b) del interior de la sala de análisis microbiológicos con sus respectivos componentes

### 3.1.2 Área de recepción y almacenamiento de muestras

Área superficial de 8,4 m<sup>2</sup>. Esta sala se destina al almacenamiento de muestras y medios de cultivos en refrigeración para garantizar la conservación de los mismos. En la figura 3.5 se observa el interior de la sala con los respectivos componentes mobiliarios.



**Fig. 3.5 Sala de recepción de muestras**

Se presenta la vista frontal (A), y una vista superior (B) de la sala de recepción y almacenamiento de muestras e insumos.

### 3.2 Determinación de los ensayos aplicables al control microbiológico de la calidad del agua y alimentos

Los ensayos microbiológicos para el control de calidad del agua se muestran en la tabla 3.3. El ensayo de los requisitos para el agua potable según la NTE INEN 1108:2014 establece que la detección de coliformes fecales mediante el método del NMP debe ser  $< 1,1$  lo que significa que en el ensayo del NMP utilizando 5 tubos de 20 cm<sup>3</sup> o 10 tubos de 10 cm<sup>3</sup> ninguno es positivo, mientras que por el método de filtración por membrana establece que el número de unidades formadoras de colonias de coliformes fecales debe ser  $< 1$ . Por otra parte, los métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales indican las técnicas para la detección de bacterias del grupo coliformes a través del NMP y la técnica del filtro de membrana para el grupo coliformes.

**Tabla 3.3 Ensayos microbiológicos aplicables para el control de calidad de agua.**

Nombre	Título del ensayo	Fuente
NTE INEN 1108:2014	Agua potable. Requisitos	Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2014
Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales	Técnica de fermentación en tubos múltiples para miembros del grupo de coliformes	Rice, 2017
	Técnica del filtro de membrana para miembros del grupo de coliformes	Rice, 2017

Los ensayos microbiológicos para el control de calidad de los alimentos se muestran en la tabla 3.4. Los requisitos microbiológicos para jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales según la norma técnica ecuatoriana INEN 2237:2008 establece que el nivel de aceptación para coliformes totales y fecales a través del método del NMP debe ser  $< 3$ , mientras que el nivel de aceptación para mohos y levaduras a través de recuento en placa por siembra en profundidad debe de ser  $< 10$ .

Los controles microbiológicos para la determinación de coliformes totales, coliformes fecales con pruebas confirmatorias para la presencia de *E.coli*, organismos mesófilos, mohos y levaduras son descritos en la norma técnica ecuatoriana INEN 1529-60:90, INEN 1529-8:90, INEN 1529-5:2006 e INEN 1529-10:98 respectivamente, en donde se describe el tipo de materiales, equipos, medios de cultivo, reactivos y los procedimientos que abarca desde la preparación de muestras hasta la obtención de resultados a partir de cálculos estandarizados.

**Tabla 3.4 Ensayos microbiológicos aplicables a los productos que elabora Diakonía.**

Norma Técnica Ecuatoriana		
Código	Título del ensayo	Fuente
NTE INEN 2337:2008	Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos	Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2008
NTE INEN 2825:2013	Norma para las confituras, jaleas y mermeladas	Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2013
NTE INEN 1529-6:90	Control microbiológico de alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del número más probable	Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1990
NTE INEN 1529-8:90	Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y <i>E.coli</i>	Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1990
NTE INEN 1529-5:2006	Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos mesófilos .REP	Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2006
NTE INEN 1529-10:98	Control microbiológico de alimentos. Mohos y levaduras viables. Recuento en placa por siembra en profundidad	Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1998

# CAPÍTULO 4

## 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La fortaleza del proyecto consiste en que el BDA Diakonía mediante la implementación del diseño de laboratorio de microbiología propuesto para sus instalaciones, podrá realizar el monitoreo de control de calidad del agua y de los alimentos que recolectan y de los productos que elaboran.

En el futuro, Diakonía podría crear más líneas de producción y aumentar el volumen de los análisis microbiológicos, por lo que teniendo un laboratorio con los insumos necesarios podrá verificar la calidad de los lotes de producción.

### 4.1 Conclusiones

- Diakonía cuenta con un área disponible en sus instalaciones para establecer un laboratorio microbiológico a través del análisis de esta propuesta de diseño, que permitió establecer los requerimientos mínimos para su implementación.
- La propuesta de diseño del laboratorio se basó en directrices y recomendaciones en cuanto a niveles de bioseguridad existentes en diferentes documentos de referencia. Sin embargo, el diseño de un laboratorio involucra varias disciplinas como la ingeniería, arquitectura, investigadores y/o analistas de laboratorio, así como los administrados de la organización, generando una participación dinámica en cada etapa del proyecto.
- La distribución del laboratorio propuesta en tres áreas separadas se realizó en basado en las condiciones necesarias de seguridad de laboratorios, así como las dimensiones de los equipos y materiales para implementar el laboratorio de microbiología de nivel básico para un funcionamiento óptimo.
- Considerando el tipo de productos que actualmente elabora Diakonía, se definió el tipo de ensayos microbiológicos necesarios para evaluar la calidad del agua y la inocuidad de los productos, basado en la normativa técnica ecuatoriana del año 2015.

- Una vez determinados los ensayos microbiológicos a ejecutar, se podrá elaborar un manual de operaciones estandarizadas de fácil aplicación que le permitirá a Diakonía cumplir las normas de seguridad e higiene de los alimentos.

## **4.2 Recomendaciones**

Es recomendable designar a un encargado del laboratorio, quien debe estar debidamente preparada y capacitada para llevar a cabo los análisis microbiológicos.

Una vez aprobado el diseño del laboratorio es necesario elaborar un manual de procedimientos estandarizados de análisis microbiológicos de alimentos, y del medio ambiente del laboratorio, este manual permitirá que los trabajadores manipulen equipos e instrumentos de forma correcta y eficiente.

Es indispensable que el laboratorio una vez implementado, elabore un manual de seguridad para el laboratorio bien estructurado, con un buen formato visual que detalle los tipos de riesgos y procedimientos a llevar a cabo en situaciones de emergencia.

Del mismo modo, el laboratorio de microbiología deberá contar con un plan de emergencia, que puede o no estar incluido dentro en el plan general de emergencia del Banco de alimentos Diakonía.

# BIBLIOGRAFÍA

1. Alados, J. C., Alcaraz, M. J., Aller, A. I., Miranda, C., Pérez, J. L., y Romero, P. A. (2010). Diseño de un laboratorio de microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(7), 453-460. doi: 10.1016/j.eimc.2009.04.016
2. Aleaga, N. (2017). *Optimización de las Buenas Prácticas de la Organización Mundial de la salud para Laboratorio de microbiología en Betapharma S. A.* (tesis de maestría). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
3. Alonso, N. y Poveda, J. (2008). *Estudio comparativo en técnicas de recuento rápido en el mercado y placas petrifilm™ 3M™ para el análisis de alimentos.* (tesis de grado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
4. Agencia Santafesina de Seguridad Alimentaria (2009). *Buenas Prácticas de Laboratorio. Red de Laboratorios de Alimentos de la Provincia de Santa Fe (ReLA)* Recuperado de <http://www.etpcba.com.ar/DocumentosDconsulta/ALIMENTOS-PROCESOS%20Y%20QU%20C3%8DMICA/buenaspracticaslaboratorio%20Santafe.pdf>
5. Caicedo, C. y Esquivel, E. (2016). *Reconstrucción y automatización del equipo bidestilador del laboratorio de ingeniería de aguas y medio ambiente.* (tesis de grado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador.
6. Camacho, A., Giles, M., Ortigón, A., Palao, M., Serrano, B. y Velázquez, O. (2009) *Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos. Segunda Edición.* Facultad de Química, UNAM. México. Recuperado de [http://amyd.quimica.unam.mx/pluginfile.php/3403/mod\\_resource/content/5/Manual%20de%20t%C3%A9cnicas%20para%20an%C3%A1lisis%20microbiol%C3%B3gico%20de%20alimentos-version%20final%202009.pdf](http://amyd.quimica.unam.mx/pluginfile.php/3403/mod_resource/content/5/Manual%20de%20t%C3%A9cnicas%20para%20an%C3%A1lisis%20microbiol%C3%B3gico%20de%20alimentos-version%20final%202009.pdf)
7. Chiriboga, M., Sáenz, K., Sánchez, M. y Montalvo, G. (2010). Guía básica de bioseguridad para laboratorios de atención primaria, Primera Edición. 11-12.
8. FAO (1992). Manuales para el control de calidad de los alimentos. 12: La garantía de la calidad en el laboratorio microbiológico de control de los alimentos. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-t0451s.pdf>
9. FAO (2009). Caracterización de Riesgos de Peligros Microbiológicos en los Alimentos. Serie de Evaluación de Riesgos Microbiológicos. Recuperado de <http://www.fao.org/3/a-at660s.pdf>

10. Food Safety and Standard Authority of India (2018). Guidance Document for Setting up a Food Analysis Laboratory. Recuperado de <https://fssai.gov.in/home/food-testing/food-testing-manual.html>
11. INEN (1990). *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y E. coli.* Recuperado de <https://archive.org/stream/ec.nte.1529.8.1990#page/n1/mode/2up>
12. INEN (1990). *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del número más probable.* Recuperado de <https://archive.org/details/ec.nte.1529.6.1990>
13. INEN (1998). *Control microbiológico de alimentos. Mohos y levaduras viables. Recuento en placa por siembra en profundidad.* Recuperado de <https://archive.org/details/ec.nte.1529.10.1998>
14. INEN (2013). *Norma para las confituras, jaleas y mermeladas.* Recuperado de <https://es.scribd.com/document/319034643/CONFITURAS-JALEAS-Y-MERMELADAS-pdf>
15. INEN (2013). *Norma para el puré de manzanas en conserva (CODEX STAN 17-1981.MOD).* Recuperado de <http://docplayer.es/29143264-Nte-inen.html>
16. INEN (2014). *Agua potable. Requisitos.* Recuperado de <http://www.pudeleco.com/files/a16057d.pdf>
17. Kalenic, S. (Ed.). (2011) El rol del laboratorio de microbiología. Recuperado de <http://theific.org/basic-concepts-spanish-version/>
18. Lozano, E. (2017). *Diseño e implementación de un laboratorio de Bioseguridad 2 (BSL2) para cultivo de células animales en el laboratorio de ingeniería química.* (tesis de maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
19. OMS (2005). Manual de bioseguridad en el laboratorio. Organización Mundial de La Salud, Tercera Edición. 167–181.
20. Páez, C. (2013). *Diseño de un laboratorio fisicoquímico y microbiológico para el control de calidad, dirigido a los productores de queso paipa, en Paipa Boyaca* (tesis de pregrado). Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia.
21. Pierson, M., Zink, D. y Smoot, L. (2007). Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria, p 69-85. In Doyle M, Beuchat L (ed), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Third Edition.* ASM Press, Washington, DC. doi: 10.1128/9781555815912.ch4



22. Pozo, E. (2011). *Manual básico de Buenas Prácticas de Laboratorio aplicado al Área de calidad de la empresa CUENCA BOTTLING CO. C.A* (tesis de posgrado). Universidad del Azuay, Cuenca, Ecuador.
23. Red Internacional de Laboratorios de Análisis de Alimentos. (2014). *Informe del grupo técnico de microbiología sobre la meta 3 tarea 9: Bioseguridad en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos*. Recuperado de <http://7a.rilaa.net/docs/rilaa7Mic4Esp.pdf>
24. Rice, B. E. (2017). *Membrane filter technique for members of the coliform group*. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (págs. 9-81). *American Water Works Association*.
25. Rice, B. E. (2017). *Multiple-tube fermentation technique for members of the coliform group*. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (págs. 9-68). *American Water Works Association*
26. Rojo, E., Alados, J. C., Gómez, E., Leiva, J., y Pérez, J. L. (2014) Seguridad en el laboratorio de microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(6), 404-410. doi: 10.1016/j.eimc.2014.06.014
27. Rodríguez, M. y Cárcel, F. (2013) Considerations for the design of Laboratories in the chemical industry.
28. Rosales, S. y Valles, J. (2006) Anteproyecto de remodelación del laboratorio central "Dr. Max Bloch" del ministerio de salud pública y asistencia social (tesis de pregrado). Universidad de El Salvador, San Salvador.
29. WHO (2003). Hazard characterization for pathogens in food and water: guidelines. Microbiological Risk Assessment Series, No. 3. WHO/FAO, Geneva, 76.
30. Zúñiga, A., Tejeda, F., Concha, F., y Heredia, N. (2006) Microbiología Sanitaria. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(2), 226-230.

# ANEXOS

## ANEXO A: Glosario

<b>Término</b>	<b>Definición</b>
Aerobio	Organismos que requiere oxígeno para su crecimiento
Aerobio estricto	Organismo que sólo puede crecer en presencia de oxígeno.
Agar	Agente gelificante en los medios de cultivo microbiológicos constituidos por polisacáridos de algas.
Aislado	Microorganismo separado de la población natural.
Alimento perecedero	Alimento que tiene una vida útil limitada ya que bajo condiciones de humedad propia del alimento propicia el crecimiento microbiano.
Anaerobio o anaeróbico	Organismo caracterizado por crecer en ausencia de oxígeno, no lleva a cabo un metabolismo respiratorio.
Anaerobio facultativo	Organismo que puede crecer en condiciones de ausencia y presencia de oxígeno.
Anaerobiosis	Se define como la ausencia de aire.
Asepsia	Ausencia de microorganismos dañinos.
Autoclave	Aparato diseñado para utilizar vapor a presión para esterilizar.
Bacteria	Dominio filogenético de organismos procariotas que no son miembros del dominio Archaea.
Bactericida	Agente capaz de destruir bacterias.
Biomasa	Masa total de organismos vivos en un ambiente.
Biofilm / Biopelícula	Comunidad microbiana adherida a una superficie, insertada en un material adhesivo por lo general un polisacárido excretado por las células.
Biota	Conjunto de organismos que habitan un área determinada.
Célula	Unidad estructural fundamental de los seres vivos.
Cepa	Población de una especie que desciende de una sola célula
Coliformes	Bacterias Gram negativas facultativas que fermentan lactosa con producción de gas.
Colonia	Masa de microorganismos visible sobre un medio sólido, proveniente de una sola célula en la mayoría de casos. Conjunto de hifas , en general con esporas, que puede ser un solo individuo si provienen de una sola espora o célula,
Consorcio	Asociación de dos o más tipos de bacterias en la cual cada organismo se beneficia de los otros.
Contaminación	Entrada de microbios no deseables que deterioran un material u objeto.
Control biológico	Uso deliberado de una especie para controlar o eliminar poblaciones de otras especies.

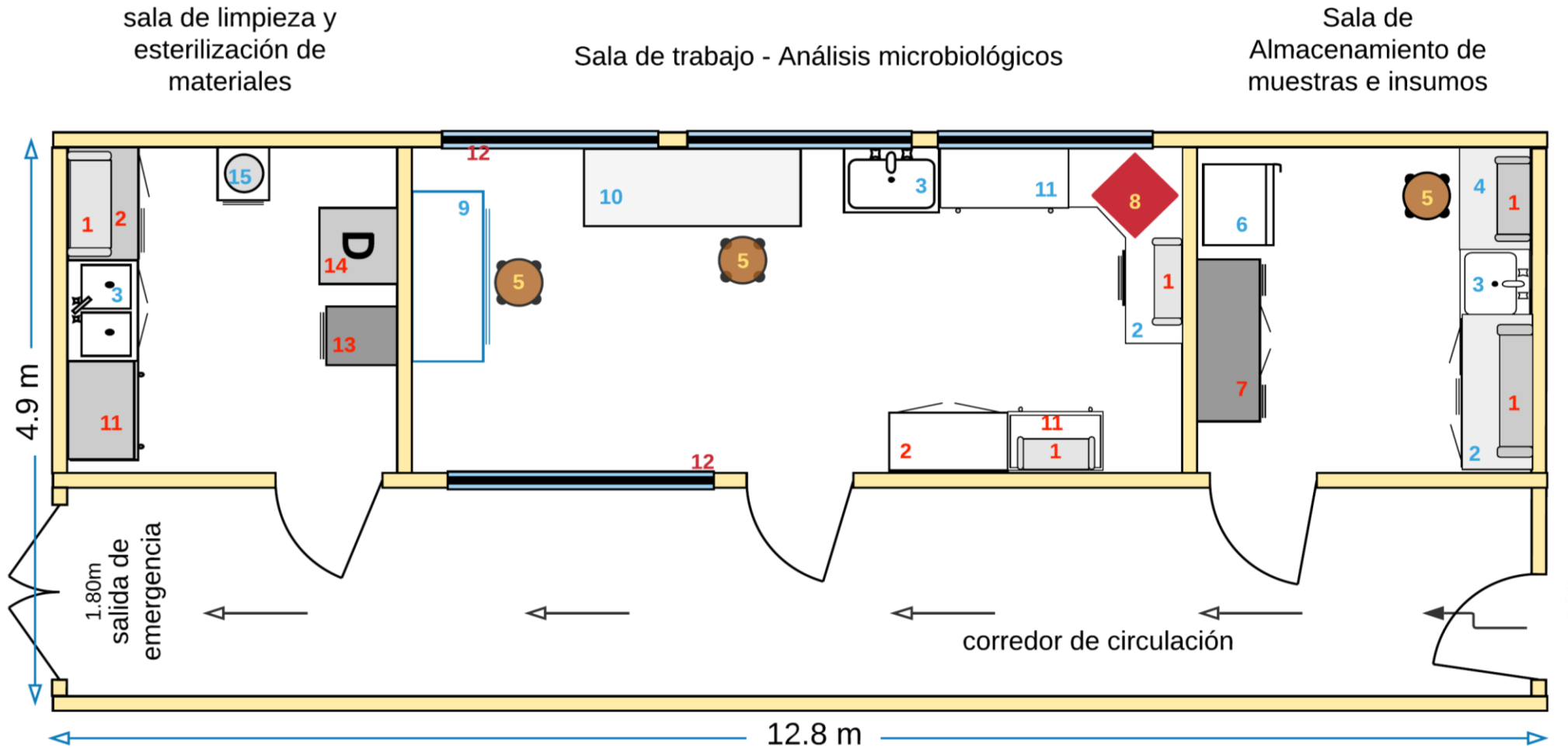
Crecimiento	Aumento de la biomasa o el número de células de un microorganismo.
Cultivo	Población de microorganismos que crece en un medio enriquecido.
Endógeno	Originado dentro de un organismo.
Espora	Estructura de disseminación formada por los hongos.
Esterilización	Muerte o remoción de todos los microorganismos vivos.
Flagelo	Apéndice filamentosos, largo y delgado, que permite la locomoción de las células.
Flujo de aire laminar	Desplazamiento del aire a lo largo de líneas de flujo paralelas.
Frotis	Capa fina de cultivo microbiano extendido sobre un portaobjetos, con el fin de observar bajo el microscopio.
Gram negativa	Célula procariota cuya pared celular contiene relativamente poco péptidoglucano y tiene una membrana externa de lipopolisacáridos y otras macromoléculas complejas. Las células se tiñen de rojo luego de la tinción Gram.
Gram positiva	Célula procariótica cuya pared celular se constituye de péptidoglucano y no posee membrana externa. Se tiñe de azul o violeta luego de la tinción Gram.
Hongo	Organismos eucariótico osmotrófico, unicelular, filamentosos o macroscópico.
inóculo	Material introducido en el medio de cultivo que contiene microorganismos.
Inoculación	Introducción de un microorganismo.
Luz ultravioleta	Radiación electro-magnética de longitud de onda entre 200 y 390 nm.
Luz visible	Radiación electromagnética de longitud de onda entre 400 y 800 nm.
Medio selectivo	Medio que favorece el crecimiento de unos microorganismos mientras que inhibe el de otros.
Mesófilo	Organismo que crece mejor a temperaturas moderadas entre 25 y 40 °C.
Microbiología	Rama de la biología enfocada en el estudio de organismos microscópicos.
Ósmosis	Paso del agua a través de una membrana, desde una solución de baja concentración de soluto a otra con alta concentración.
pH	(-Log [H <sup>+</sup> ]) Indica el grado de acidez o alcalinidad de una solución.
Saprobio	Organismos que habitan sobre materia orgánica descompuesta.
Sepsis	Infección microbiana
Sustrato	Sustancia sobre la que actúa una enzima, o crece un microorganismo.
Tinción de Gram	Coloración diferencial mediante la cual se clasifican las bacterias en Gram-positivas o Gram-negativas según retengan o no el cristal violeta, cuando se decolora con alcohol.

## ANEXO B: Requerimientos generales de diseño del laboratorio

CARACTERÍSTICAS DE DISEÑO DEL LABORATORIO	
1	Disponer de espacio suficiente para realizar el trabajo de laboratorio en condiciones de seguridad adecuadas y su facilidad de limpieza y mantenimiento.
2	El suelo será antideslizante, capaz de soportar cargas pesadas y ser resistentes a productos químicos, así como la caída de objetos que puedan ocasionar grietas.
3	El suelo debe contar con un punto de drenaje para la recogida de vertidos, hasta un punto de recogida de desechos líquidos que impida se viertan al medio ambiente.
4	Las paredes y techos serán lisos, impermeables a líquidos de fácil limpieza y resistentes a productos químicos tóxicos o corrosivos y desinfectantes empleados de forma rutinaria en el laboratorio.
5	Las paredes interiores tendrán terminaciones lisas, sin juntas y serán pintadas con pintura de tipo epóxica.
6	Las superficies de trabajo serán impermeables y resistentes al calor moderado, los desinfectantes, ácidos, álcalis, y disolventes orgánicos.
7	La iluminación será adecuada para todas las áreas de trabajo, aprovechando la luz natural. Se evitarán los reflejos y brillos molestos.
8	El mobiliario será robusto y con espacio suficiente entre y debajo de las mesas, armarios y otros muebles, con el fin de facilitar la limpieza.
9	Prever de un espacio para el almacenamiento de artículos o utensilios a largo plazo y los que se usan de forma frecuente, para evitar el desorden y la acumulación en la zona de trabajo.
10	Se dispondrá de espacios e instalación para la manipulación y almacenamiento seguro de disolventes, o material químico peligroso.
11	Los armarios para guardar la ropa de calle y los objetos personales se encontrarán fuera de las zonas de trabajo del laboratorio.
12	La zona para comer, beber y descansar será fuera del área del laboratorio.
13	En cada sala habrá lavabos, a ser posible con agua corriente, instalados de preferencia cerca de la salida.

14	Para evitar accidentes, las puertas de acceso a los pasillos no deben ser de vaivén, mientras que las que comunican los laboratorios entre sí pueden serlo.
15	Los sistemas de seguridad deben comprender medios de protección contra incendios y emergencias eléctricas, así como duchas para casos de urgencia y medios para el lavado de los ojos.
16	Es indispensable contar con un suministro regular de agua de buena calidad. No debe haber ninguna conexión entre las conducciones de agua destinada al laboratorio y las del agua para beber.
17	Las instalaciones de gas deben contar con una llave central de paso y llaves de paso sectorizadas, localizadas en área de fácil acceso, visibles y de fácil mantenimiento.
18	Se debe contar con un suministro de electricidad seguro y de suficiente capacidad y adicional un generador de energía de emergencia, que permitan respaldar equipos tales como refrigeradores, congeladores, campanas extractoras, ventiladores de extracción, iluminación de emergencia para la evacuación del laboratorio

## ANEXO C: Propuesta de distribución del laboratorio de microbiología en Banco de alimentos Diakonía



### COMPONENTES

1. Armarios superiores.
2. Mesa de trabajo provista con cajones inferiores/repisas de almacenamiento de materiales.
3. Lavabos.
4. mesón.
5. bancos de trabajo.
6. refrigerador.
7. armario de almacenamiento de sustancias químicas.

8. Incubadora
9. cámara de
10. mesa de trabajo (para ensayos y preparación de medios de cultivo.
11. armario para almacenamiento de insumos.
12. ventanas.
13. armario de almacenamiento de instrumentos.

14. Estufa
15. autoclave

Escala 1: 54

