DETERMINACION DE LOS PROCESOS MICROBIOLÓGICOS UTILIZADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DE LÁCTEOS Y DERIVADOS EN LA EMPRESA COLANTA, SEDE FUNZA.

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER 2024

DETERMINACION DE LOS PROCESOS MICROBIOLÓGICOS UTILIZADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DE LÁCTEOS Y DERIVADOS EN LA EMPRESA COLANTA, SEDE FUNZA.

INFORME PRACTICA PROFESIONAL MICROBIOLOGIA

AUTOR. ADRIAN DAVID BERMUDEZ

WILLIAN HERNANDO SUAREZ QUINTANA
TUTOR ACADEMICO

JOSE FELIX ORTIZ LEMUX
DIRECTOR TRABAJO DE GRADO

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER 2024

NOTA DE ACEPTACIÓN:

_____

_____

_____

_____

Firma Del Jurado

_____

Firma Del Jurado

Índice

Introducción 7

1. Objetivos 9

1.1. General 9

1.2. Específicos 9

2. Justificación 10

3. Marco referencial 13

3.1. Generalidades de la leche 13

3.2. Microorganismos presentes en la leche cruda 13

3.3. Epidemiologia 15

3.4. Procesos industriales de la leche 19

3.5. Control de calidad en la cadena láctea 20

3.6. Indicadores de contaminación y métodos de recuento 21

4. Área de estudio 25

5. Marco legal 26

5.1. Ministerio de la Protección Social 26

5.2. Norma Técnica Colombiana NTC 26

5.3. Norma Técnica NTC-ISO/IEC colombiana 27

6. Metodología 28

6.1. Análisis crema de leche 28

6.2. Análisis de termófilos 29

6.3. Controles 29

6.4. Análisis de casino 29

6.5. Silos de almacenamiento 30

6.6. Análisis de aguas 31

6.7. Esterilidad comercial 31

6.8. Manipuladores 32

6.9. Análisis de jugos 32

6.10. Análisis al vencimiento de queso 32

7. Cronograma 33

8. Conclusión 35

9. Glosario 36
10. Referencias 37
11. Anexos 45
11.1. Recuento de Aerobios Mesófilos 45
11.2. Recuento de Enterobacterias 45
11.3. Recuento de Coliformes Totales y E. coli 46
11.4. Recuento de Agar Chromocult 46
11.5. Recuento de coliformes totales y E. coli por Colilert 47
11.6. Esterilidad comercial al microscopio 47
11.7. Recuento Mohos-Levaduras 48
11.8. Recuento S aureus 48
11.9. Cronograma de actividades durante la pasantía empresarial 49

Lista de figuras

Figura 1. Vista previa instalaciones Colanta, sede Funza 24
Figura 2. Crecimiento de aerobios mesofilos en petrifilm AC.....45
Figura 3. Crecimiento de Enterobacterias en petrifilm EB.....45
Figura 4. Crecimiento de Coliformes totales en petrifilm EC.....46
Figura 5. Crecimiento de Coliformes totales y *E. coli* en agar Chromocult.....46
Figura 6. Prueba positiva para y E. coli en Colilert..... 47
Figura 7. B. sporothermodurans al microscopio..... 47
Figura 8. Crecimiento de Mohos-Levaduras en petrifilm YM.....48
Figura 9. Crecimiento de S. aureus en petrifilm STX.....48

Lista de tablas

Tabla 1. Microorganismos presentes en la leche cruda..... 14

Introducción

La leche es el producto de la secreción normal de la glándula mamaria de bovinos sanos, esta se obtiene de la realización de uno o más ordeños diarios, higiénicos, completos y continuos. Es de vital importancia en la nutrición humana, debido a su gran aporte alimenticio. La composición de la leche es inestable durante toda la lactancia y puede verse influenciada por factores internos y externos del animal, que influyen mucho en la calidad del producto (Agudelo y Bedoya, 2005).

El mercado colombiano ha sido abierto para la competencia internacional, mediante varios tratados de libre comercio. El sector lácteo ha visto un aumento de la presión y de la exigencia sobre su producto, con el fin de poder participar en el mercado mundial. En 2014, Colombia produjo 6,717 millones de litros de consumo de leche y con un promedio de consumo de143 litros por residente. Se estima que hay 99.000 productores en sistemas lácteos especiales y 250.000 productores en sistemas de doble propósito. Aunque Colombia es declarada libre de fiebre por sus controles con respecto a la vacunación, el mercado internacional aún mantiene cierta rigurosidad, debido al peligro latente de otras enfermedades como la brucelosis (prevalencia> 4%) o tuberculosis. Para competir en los mercados internacionales, los sistemas de producción deben consolidarse, controlar la calidad de la leche (sólidos, limpieza), aumentar las exportaciones por proveedor y lograr una excelencia sanitaria (Carulla y Ortega, 2016).

Cuando nos referimos a calidad de la leche, se deben tener en cuenta las propiedades nutricionales y microbiológicas. Las características nutricionales se definen como el porcentaje de varios componentes químicos, como proteínas, grasas, lactosa, minerales, vitaminas, sólidos y sólidos totales. La calidad microbiológica se refiere a la concentración de bacterias lácticas, la presencia de microorganismos patógenos, antibióticos y residuos de fármacos (inhibidores); Estas variables podrían afectar la calidad de la leche o causar al ser humano graves patologías. Las propiedades organolépticas de la leche pueden resultar alteradas debido a un alto contenido de bacterias y células somáticas, conduciendo a una reducción de la vida útil de los productos lácteos (Calderón, 2002).

La carga microbiana suele disminuir mediante la pasteurización, pero en países como el nuestro, las bacterias patógenas suponen un grave problema de salud pública debido al consumo habitual de leche cruda y al procesamiento de algunos productos lácteos a partir de leche cruda. Brucelosis, leptospirosis, listeriosis, salmonelosis y tuberculosis son algunas de las zoonosis bacterianas que pueden transmitirse a través del consumo de leche cruda (Gil y Samartino, 2001).

Calderón et al. (2006) argumenta que, analizando la cadena láctea, desde el productor hasta el consumidor. Se pueden tener presente todos los factores

que afectan a la calidad de la leche y sus derivados. Así se puede formular procesos sencillos y rápidos, que comienzan por mejorar las prácticas de ordeño con el fin de evitar la contaminación de la leche, hasta la correcta desinfección de los tanques de almacenamiento del producto.

Un adecuado tratamiento térmico, combina la temperatura y el tiempo para obtener un proceso satisfactorio. Las bacterias Coliformes mueren si la leche se calienta a 70°C y se mantiene a esta temperatura durante aproximadamente un segundo. A 65°C, se requiere un tiempo de permanencia de 10 segundos para matar las bacterias Coliformes. Estas dos combinaciones, 70°C/1s y 65°C/10s, tienen el mismo efecto letal. Los bacilos tuberculosos son más resistentes al tratamiento térmico que las bacterias Coliformes. Se requiere un tiempo de retención de 20 segundos a 70 °C o aproximadamente 2 minutos a 65 °C para garantizar que se destruyan todos (Ricoy, 2017).

Desde el punto de vista microbiológico es deseable un tratamiento térmico intenso de la leche. Sin embargo, dicho tratamiento también conlleva el riesgo de efectos adversos sobre la apariencia, el sabor y el valor nutricional de la leche. Las proteínas de la leche se desnaturalizan a altas temperaturas. Esto significa que las propiedades necesarias para obtención de algunos derivados de la leche se ven muy influenciadas por un tratamiento térmico intenso. El calentamiento intenso produce cambios organolépticos no deseados en los productos finales (Jemio y Chaves, 2012).

1. Objetivos

1.1. General

Analizar y comprender los procesos microbiológicos empleados en el control de calidad de productos lácteos y sus derivados en la empresa Colanta, sede Funza

1.2. Específicos

- Comprender en detalle las técnicas microbiológicas utilizadas para garantizar la calidad de los productos lácteos y sus derivados, así como la implementación de medidas de control correspondientes.

- Aplicar de manera correcta y eficiente las técnicas de muestreo durante las actividades de laboratorio realizadas en el estudio de productos lácteos y derivados.

- Familiarizarse con los diversos controles microbiológicos necesarios en la industria de alimentos, especialmente en lo que respecta a los productos comercializados por la empresa Colanta, sede Funza.

2. Justificación

Los productos lácteos como la leche, el yogur y el queso, son alimentos de elevada densidad nutricional que aportan proteínas de alto valor biológico, hidratos de carbono, fundamentalmente en forma de lactosa, además de grasa, vitaminas, incluidas las del complejo B, y minerales como calcio, magnesio, fósforo y zinc. La grasa de los productos lácteos es compleja en su composición y tiene importantes funciones biológicas como, por ejemplo, vehicular las vitaminas liposolubles (A, D, E y K) (Fontecha y Juárez, 2017).

El calcio desempeña importantes y variadas funciones en el organismo, es un elemento esencial, siendo imprescindible un aporte suficiente para la salud y el bienestar de los seres humanos. Durante la infancia y la adolescencia se requiere un aporte adecuado para alcanzar el pico óptimo de masa ósea, y más adelante para enlentecer su pérdida durante el envejecimiento (EFSA, 2012). También dentro de su composición, existen algunas enzimas que facilitan procesos biológicos en el ser humano.

En la etapa del desarrollo humano siempre se ha considerado un alimento esencial, no obstante, su importancia se mantiene durante toda la vida. Su composición nos permite afirmar que es un alimento imprescindible en la dieta de un infante que no se debe menospreciar con respecto a otros más atractivos, pero menos útiles.

Aunque, el consumo de derivados lácteos es frecuente en Colombia, se consumen con menor frecuencia que la leche. Entre los alimentos de mayor consumo a nivel nacional, según la ENSIN 2005 y 2015, se encuentran entre los primeros 20 alimentos. El consumo de derivados lácteos disminuye al avanzar la edad, siendo que los niños y niñas menores 5 años, son los que más los consumen, y los adultos los que menos. Se ha observado que, a mayor nivel de riqueza, el consumo de derivados lácteos aumenta. Según las regiones, en Bogotá el consumo es mayor y en la región de Amazonía-Orinoquía es menor. El derivado lácteo más comúnmente consumido es el queso (Gobierno de Colombia, 2015).

En los niños menores de 5 años, el consumo de queso fue similar entre una encuesta y la otra, para el 2005 los niños de 2 a 3 años consumían 32,3g y para el 2015 los niños de 1 a 4 años consumían 30,2g. De acuerdo a las GABA los niños de 2 a 5 años deberían consumir dos intercambios de leche y derivados, siendo la porción del queso aproximadamente 20g, al observar lo que consumen en estas edades de acuerdo con la ENSIN, este consumo lo

estarían cumpliendo, teniendo en cuenta el consumo de leche (Gobierno de Colombia, 2015). Cabe recalcar la importancia del consumo de lácteos en niños, por su alto contenido de calcio que favorece el crecimiento adecuado de huesos y dientes.

Las estimaciones oficiales del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural con cifras del DANE indican un consumo de leche en Colombia de 156 L/ persona/año (CONPES, 2010), este consumo lácteo comparado con el recomendado por la OMS, en un informe de la necesidad del calcio en el ser humano en 1962, cuyo valor fue de 180 L de leche/persona/año, nos puede significar una preocupación por el bajo consumo de este alimento en el país.

Turrell et al. (2002) reporta que estudios realizados en otros países señalan que la elección de alimentos depende de múltiples factores, entre los que se cuentan: nivel socioeconómico, conveniencia, salud y nutrición, los hábitos alimentarios y la influencia de los padres.

Rodríguez et al. (2014) nos propone que, para entender el contexto colombiano, se debe tener en cuenta los factores relacionados con el consumo de alimentos lácteos es esencial para desarrollar intervenciones tendientes a incrementar su consumo. En los niños se ha encontrado una menor resistencia al cambio, por lo que es oportuno realizar en este grupo etario intervenciones orientadas a modificar los comportamientos inadecuados y promover prácticas favorables para la salud. Entre estas se debe recomendar un aumento del consumo de lácteos a nivel nacional, teniendo en cuenta desde los gobiernos las problemáticas que lo impiden, entre otros factores, que limitan cumplir los valores recomendados sobre el consumo de estos productos.

Los requisitos sanitarios que deben cumplir los derivados lácteos en Colombia, se encuentran definidos en la Resolución 2310 de 19862 , tiene como único antecedente en Colombia, la creación y la expedición del Código Sanitario Nacional, Ley 9 de 19793 , en un contexto de Sistema Nacional de Salud-SNS (Decretos 0564 y 350 de 19755), que adoptó un enfoque amplio de los aspectos que intervienen en la salud humana incluyendo elementos específicos en relación con la protección del medio ambiente, posteriormente, el 3 de febrero de 1989 se emite la Resolución 18046 que modifica algunos parámetros de los quesos frescos y los helados, el 30 de agosto del mismo año se emite la Resolución 119617 que modifica algunos parámetros para las leches fermentadas y el 16 de agosto de 1996 se emite Resolución 28268 , que define los parámetros de utilización de aditivos como emulsificantes, estabilizantes y gelificantés en quesos frescos y fundidos con bajo contenido

de grasa (Rubio y Sánchez, 2020).

Rodríguez et al. (2017) afirma que la inocuidad es la garantía que el consumidor desea recibir en el placer de degustar un alimento con la tranquilidad de que es seguro y se constituyen en la carta de presentación de una compañía. El decreto 3075 y la resolución 2674 de 2013, los cuales son fundamentales para el respectivo funcionamiento de este tipo de industrias que comercializan productos de riesgo microbiológico alto según lo define la resolución 0719 de 2015 como lo son los derivados lácteos y que llegan a todo tipo de estratos sociales y pueden generar brotes de ETA's con resultados desfavorables sino se tiene control de los procesos, instalaciones y productos.

Rodríguez et al. (2017). También nos afirma que las empresas lácteas tienen requerimientos legales pertenecientes a la legislación nacional (El decreto 3075 de 1997, DECRETO 616 DE 2006, NTC 750 DE 2000, RESOLUCION 2310 operarios de 1986, e internacional (CODEX STAN A-6-1978. REV. 1-1999. ENM. 2006. QUESOS).

La industria láctea colombiana de tener mucho cuidado en el cumplimiento de las normas, estas establecen los requisitos para la correcta comercialización de los productos lácteos, con el fin de elaborar productos seguros y de alta calidad. Es por ello que el control desde la producción hasta el consumo final del producto se realiza de forma estricta y cuidadosa.

3. Marco referencial

3.1. Generalidades de la leche

La denominación de “leche”, sin indicación de la especie animal de que procede, se reserva a la leche de vaca. Toda leche que proceda de una hembra lechera, que no sea la vaca debe designarse por la denominación “leche” seguida de la especie animal de la que procede: “leche de cabra”, “leche de Oveja” (Flores, 2001). Existen varias definiciones de leche entre las que podemos destacar:

Desde el punto de vista legal “la leche es el producto de la secreción normal de la glándula mamaria de animales bovinos sanos, obtenida por uno o varios ordeños diarios, higiénicos, completos e ininterrumpidos” (Pantoja, 2019).

Por otro lado, desde el punto de vista dietético la leche es el alimento puro más próximo a la perfección. Su principal proteína, la caseína, contiene los aminoácidos esenciales y como fuente de calcio, fósforo y riboflavina (vitamina B12), contribuye significativamente a los requerimientos de vitamina A y B1 (tiamina). Por otra parte, los lípidos y la lactosa constituyen un importante aporte energético (Martínez, 2011).

Químicamente, la leche es uno de los fluidos más completos que existen. El término “sólidos totales” se usa ampliamente para indicar todos los componentes con exclusión del agua y el de “sólidos no grasos” cuando se excluye el agua y la grasa. El agua representa aproximadamente entre un 82% y un 82.5% de la leche, los sólidos totales alcanzan habitualmente la cifra de 12% hasta un 13% y los sólidos no grasos casi siempre están muy próximos al 9 % (Estrada y Gutiérrez, 2011).

La definición física, señala que la leche es un líquido de color blanco opalescente característico. Este color se debe a la refracción que sufren los rayos luminosos que inciden en ella al chocar con los coloidales en suspensión (Maza y Legorreta, 2011).

3.2. Microorganismos presentes en la leche cruda

Oliver et al. (2009) nos manifiesta que la leche, por sus características físico-químicas y nutricionales, es un medio favorable para el crecimiento y la multiplicación de microorganismos patógenos, y puede llegar a convertirse en un vehículo para la transmisión de enfermedades a las personas. Los microorganismos patógenos causantes de zoonosis pueden llegar a la leche a través de la glándula mamaria, independiente de si la vaca muestra signos de enfermedad durante el ordeño. La leche es un producto con alta susceptibilidad a la contaminación en cualquiera de sus etapas, los microorganismos patógenos son de especial cuidado en cualquiera de sus etapas, ya sea durante su obtención, almacenamiento y comercialización (ver tabla 1).

Tabla 1. Microorganismos presentes en la leche cruda.

MICROORGANISMOS PATÓGENOS GENERADORES DE ALERTAS ALIMENTARIAS	MICROORGANISMOS FACILITADORES DE FERMENTACIÓN LÁCTICA	MICROORGANISMOS QUE CAUSAN DETERIORO EN EL ALIMENTO
Escherichia coli	*Lactococcus* sp.	*Pseudomonas* sp.
Listeria monocytogenes	*Lactobacillus* sp.	*Clostridium* sp
Staphylococus aureus	*Streptococcus* sp.	*Bacillus* sp.
Salmonella spp.	*Propionibacterium* sp.	*Proteus* sp.
Campylobacter jejuni	*Microbacterium* sp.	*Leuconosto* sp.
Bacillus cereus	*Micrococos* sp.	*Achromobacter lipolyticum*
Yersinia enterocolitica		*Candida lipolytica*
Brucella abortus		*Penicillium* sp.
Streptococus agalactiae		*Enterobacter aerogenes*

Fuente: Murinda et al. (2002)

Ramírez et al. (2014) afirma que las bacterias patógenas presentes en leche pueden provenir de fuentes exógenas y endógenas, y desarrollan actividades tales como facilitar las fermentaciones lácteas, que actúan como potencializadoras de dichos procesos fermentativos, o deteriorar el alimento, por ejemplo, los lactobacilos y las bifidobacterias, causantes de enfermedad y generadores de alertas alimentarias en salud pública La lactosa se forma durante la sacarólisis (actividad bioquímica del azúcar de la leche), se transforma en glucosa y galactosa para luego producir ácido láctico mediante la fermentación. Esto también produce coagulación, pero a diferencia de la proteolítica, es de naturaleza acida, el olor que provoca es agradable debido a la formación de gases como el diacetilo.

Vázquez et al. (2001) presenta como una de las principales bacterias patógenas encontradas en leche cruda, iniciando por el género Listeria sp., que presenta dos especies bacterianas consideradas patógenos comunes de alimentos: *Listeria monocytogenes* y *Listeria ivanovii*. Barmpalia et al. (2004) Manifiesta que *Listeria monocytogenes* es una bacteria cuya presencia en los alimentos se ha convertido en un problema de salud pública, debido a la gravedad de su sintomatología en diferentes grupos de riesgos y a sus grandes habilidades de crecer en condiciones extremas; este microorganismo es capaz de contaminar una amplia gama de alimentos, entre los que se encuentran la leche cruda y sus derivados listos para el consumo; es un bacilo Gram positivo, asporógeno, aerobio y anaerobio facultativo. Bell et al. Informa que *L. monocytogenes* está subdividida en serotipos basados en los antígenos somático (O) y flagelar (H); se han identificado 13 serotipos de *L.*

monocytogenes (1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4d, 5, 6a, y 6b); a pesar de su amplia distribución en la naturaleza, solo 3 serotipos (1/2a, 1/2b y 4b) se han reportado en infecciones humanas.

Bacillus cereus, otra bacteria patógena presente en leche, puede producir dos enterotoxinas: la toxina diarreica y la toxina emética, que dan lugar a dos formas clínicas distintas de intoxicación alimentaria. El síndrome emético es producido por una toxina preformada y termoestable, al igual que la de *S. aureus*, y el síndrome diarreico, por el contrario, es producido por la ingestión de alimentos inadecuadamente refrigerados. Para la detección de *B. cereus* en leche se recomienda el procedimiento estándar en placa, de la FDA (Centro de regulación de alimentos y bebidas de los Estados Unidos) (FDA, 2003).

Finalmente, *Yersinia enterocolitica* es otro microorganismo presente en la leche cruda, tiene más de 57 serogrupos. Sin embargo, las cepas patógenas humanas más frecuentemente aisladas en todo el mundo pertenecen a los serogrupos O: 3, O: 5,27, O: 8 y O: 9. La principal vía de infección por Y. enterocolitica es a través de alimentos contaminados. La patogenicidad primaria es la colonización del tracto intestinal. Una de las principales características de las cepas patógenas de esta especie consiste en la presencia de un plásmido de 70 a 75 Kpb (miles de pares de bases), denominado pYV (de Yersinia virulence plasmid), cuyos productos incluyen a las proteínas YadA y Yops, esenciales en su virulencia (Fábrega y Vila, 2012).

3.3. Epidemiologia

Para proteger la salud humana, hoy en día las autoridades de inocuidad de alimentos se enfrentan a muchos desafíos, que hace años eran en gran parte poco probable. En el año 2011, *Escherichia coli* O104: H4 ha sido aislado de muestras de leche cruda en Alemania, España y Egipto, especialmente, obteniendo cepas que se caracterizan por presentar resistencia a la mayoría de los antibióticos. En Polonia, solo tres casos se han reportado de enfermedad transmitida por alimentos y causada por *Escherichia coli* O104: H4. Otro patógeno de aparición en Estados Unidos es *Yersinia enterocolitica*. La presencia en los alimentos de estos microorganismos patógenos no es nueva, pero sigue siendo un problema importante de salud pública debido a su alta toxicidad para los humanos (Judicial Commission of the International Committee on Systematics of Prokaryotes, 2005).

Van Kessel et al. (2011) nos reporta que en los Estados Unidos se realizaron estudios de fincas lecheras que fueron monitoreadas por el Sistema Nacional de Salud Animal, en las cuales se determinó la presencia de bacterias patógenas tales como *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* y *E. coli*, que causan enfermedades e infectan las vacas lecheras; estos patógenos se encuentran presentes ocasionalmente en la leche cruda, y los brotes de enfermedades humanas debidas a estos microorganismos se han asociado

con el consumo de leche cruda. Se han realizado análisis en Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real para determinar la presencia de *S. enterica* y formas patógenas de E. coli, y por técnicas de cultivo para la presencia de *L. monocytogenes*. Así mismo, estudios realizados por Pereira et al. (2014) en este país confirma que el consumo de alimentos representa un riesgo sanitario poblacional.

Garedew L et al. (2012) Realizaron un estudio de corte transversal para determinar la presencia de bacterias Gram-negativas en la leche cruda destinada a la alimentación humana; dicha investigación se desarrolló durante los meses de octubre de 2010 y mayo de 2011 en la ciudad de Gondar (Etiopía); las muestras de leche fueron recolectadas en las fincas y monitoreadas en el transporte desde la producción hasta el consumo, donde se presume se encuentra una fuente de contaminación potencial. El muestreo de la leche se realizó en fincas de pequeños productores, las cooperativas lecheras y una planta procesadora de leche. Los procedimientos de higiene aplicados durante el ordeño se evaluaron desde la recogida de la leche, el transporte, la pasteurización y el almacenamiento. Los resultados del estudio mostraron que la contaminación de la leche cruda almacenada en contenedores primarios de las fincas productoras se debió a las malas prácticas de higiene en la preparación previa al ordeño, a la higiene deficiente de los manipuladores de la leche y a las prácticas sanitarias deficientes asociadas al uso de los equipos de ordeño y almacenamientos transitorios. En este estudio se identificaron 54 especies bacterianas diferentes, pero las bacterias patógenas Gram-negativas más importantes identificadas fueron *Escherichia coli* (29,6%), *Pseudomonas aeruginosa* (18,5%) y *Klebsiella pneumoniae* (16,7%).

Estudios realizados por Hill et al. (2012) En Nueva Zelanda, demostraron la aparición de los agentes patógenos no formadores de esporas, tales como *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Liseria* sp., *Campylobacter* sp. y *Salmonella* spp. Los resultados indicaron que la leche cruda contiene, inevitablemente, patógenos reconocidos y, por tanto, el control de la pasteurización o un tratamiento equivalente de la leche cruda sigue siendo primordial. Aun así, la prevalencia de la mayoría de estos patógenos fue menor que la reportada en estudios realizados en otros países.

En países como Italia, estudios realizados por Giacometti et al. (2012) a la seguridad de la leche cruda que se vende, en relación con los parámetros de calidad, higiene y presencia de bacterias patógenas tales como *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter termotolerantes* y *Escherichia coli* O157:H7. Todos los patógenos investigados fueron detectados en las máquinas expendedoras, donde el 5% tenían al menos un patógeno. Le Loir

et al. (2003) han determinado que la presencia de *E. coli* en leche cruda, y evidenciado que su consumo genera un impacto en la salud humana, puesto que, dependiendo de los serotipos encontrados, estas cepas podrían causar enfermedades tales como colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (EHEC). Estudios realizados por Bonilauri et al. (2013) En este mismo país revelaron hábitos de los consumidores relacionados con el consumo de leche cruda que aumentan el riesgo de infección: 37% de los consumidores no hierven la leche antes de su consumo, el 93% nunca usaron una bolsa térmica para el transporte de la leche cruda y la leche cruda fue consumida por menores de 5 años de edad. Los resultados de prevalencia de microorganismos patógenos transmitidos por consumo de leche curda fueron: *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Campylobacter jejuni*. Estos resultados ponen de manifiesto que los controles de los productos finales por sí solos no son suficientes para garantizar un nivel adecuado de protección de los consumidores.

Una gran preocupación existe en México, puesto que el consumo de quesos frescos artesanales es muy popular en la población, y la materia prima para su realización es precisamente la leche cruda, situación que genera riesgo potencial para la salud pública de este país, puesto que no existen políticas que garanticen practicas seguras en fabricación y preservación de productos derivados de la leche cruda (Castro, 2012).

La microbiota bacteriana presente en la leche cruda y sus derivados lácteos en Dinamarca fueron analizadas por Masoud et al. (2012) mediante secuenciaciones de amplificación etiquetadas en las regiones V3 y V4 del 16S rDNA y cDNA; detectaron una alta diversidad de especies de bacterias en leche cruda tales como *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus rhamnosus*. Las bacterias pertenecientes a los géneros *Staphylococcus* sp., *Escherichia* sp, fueron también detectadas.

Investigaciones de Addis et al. (2011) respecto a la presencia de bacterias patógenas en leche cruda, quesos y productos cárnicos en Etiopia reportan como principal microorganismo a *Salmonella* sp., señalando un peligro importante en su población. Por otra parte, Al-Holy et al. (2005) y Wallace et al. (2003) han encontrado que en Portugal el 15% de los alimentos, tales como leche cruda y sus derivados listos para el consumo presentan contaminación con *L. monocytogenes*.

En Minnesota, Robinson et al. (2014) nos informan que la leche cruda ha sido identificada como fuente de brotes de ETA. Los análisis de datos de vigilancia obligatoria que implican las enfermedades causadas por patógenos entéricos durante los años 2001-2010 revelaron que el 3,7 % de los pacientes con infecciones entéricas esporádicas adquiridas en el país habían notificado un

consumo de leche cruda durante su período de exposición.

Ruusunen et al. (2013) Notifica que a calidad de la leche cruda de vaca en Finlandia es conocida por su alto nivel de higiene; el recuento total de bacterias allí está dentro de lo aprobado por la normatividad legal vigente. Existen prevalencias de bacterias tales como *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* sp.y *Staphylococcus* coagulasa positivos.

En Tanzania cerca del 95% de la oferta nacional de leche no se encuentra bajo una regulación y la comercialización de esta se da gracias a pequeños agricultores urbanos. Schoder D. et al. Reportan la presencia de *Salmonella*, *E. coli* enterohemorrágica O157:H7 y *Listeria monocytogenes* en leche cruda; además, detectaron Coliformes en el 41% (17 de 41) de las muestras de leche procesada, indicando así una alta tasa de recontaminación. Una disminución progresiva de la calidad microbiana a lo largo de la cadena de producción de leche se atribuyó a las desviaciones de los métodos tradicionales, los envases de leche inadecuados, largas distancias de transporte, la falta de refrigeración, y la falta de un entendimiento básico de higiene.

Dentro del panorama nacional encontramos varios estudios que nos representan el problema que tenemos con la leche cruda en Colombia. Desde 1994 hasta el 2014 *Listeria* spp. y *L. monocytogenes* han sido aislados de muestras de leche cruda o sus derivados (quesos frescos, semimaduros, maduros, doble crema, blancos y cuajada, así como su materia prima), en el departamento de Antioquia, en el altiplano Cundiboyacense y en los municipios de Cali, Madrid y Mosquera. Esto ha permitido comprobar la capacidad de supervivencia de *L. monocytogenes* en superficies inertes, y se reportaron incidencias de ella del 37%. Así mismo, Schobitz et al. (2003) reportó una incidencia de 29,2% del patógeno en quesos campesinos comercializados en Bogotá.

En el departamento de Antioquia, Rodríguez et al. (2012) han analizado varios factores implicados en la contaminación por agentes externos de la leche cruda y que pueden ser controlados en el momento del ordeño, tales como el agua que se utiliza para lavar las ubres de las vacas y los utensilios del ordeño; se ha evidenciado que el lavado con agua de alta calidad es esencial para reducir la contaminación microbiana de la leche. En este mismo departamento, Ramírez et al. (2014) determinaron que los microorganismos predominantes aislados productores de mastitis subclínica fueron *Streptococcus agalactiae* (34,4%), *Corynebacterium* spp. (13,2%) y *Staphylococcus aureus* (8,0%). Henao et al. (2011) habían reportado presencia de bacterias patógenas de 648 cultivos de muestras de leche, de las cuales el 23,9% fueron negativas, el 34% positivas a *Streptococcus agalactiae*, y 10,2% a *Staphylococcus* coagulasa negativo.

Torres et al. (2005) argumenta que aunque algunas de las enfermedades transmitidas por alimentos no son consideradas de interés en salud pública, no existen reportes epidemiológicos debido al subregistro clínico e industrial; la mayoría de casos clínicos no se diagnostican. La ausencia de reportes podría estar relacionada con una frecuencia baja de la enfermedad, como sucede en otros países, o con el hecho de que la patología ha sido poco investigada y que puede confundirse fácilmente con una gastroenteritis por otros agentes

Vásquez et al. (2007) y Vergara et al. (2006) tuvieron resultados similares, para estudios sobre *Brucella* spp. en lácteos, mostrando una prevalencia entre 13,23% y 15,8% en leche cruda. En cuanto a *L. monocytogenes*, encontraron los serotipos 4b/4d y 4e en leche sin pasteurizar, lo cual podría indicar que en el país circula el serotipo 4b, responsable del 98% de los casos de listeriosis humana en el mundo (Vanegas y Martínez, 2008).

Boyacá es un departamento lechero, pero aún no ha establecido una Norma Técnica Colombiana (NTC) que estipule el protocolo de manejo de leches crudas; se reporta allí una incidencia del 16% de presencia de bacterias patógenas, tales como *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococus aureus* y *Salmonella* spp., aproximadamente (Rueda, 2005); se hace necesario establecer prevalencia dentro del país, esto nos da evidencias sobre la presencia del microorganismo y los riesgos potenciales a los que se expone la población consumidora de este alimento.

3.4. Procesos industriales de la leche

Según Acevedo et al. (2010) el proceso de pasteurización es el proceso utilizado para eliminar dichos microorganismos, y consiste en calentar la leche a altas temperaturas por un determinado tiempo con el fin de eliminar microorganismos patógenos para la salud humana y la inactivación de enzimas. Estos mismos proponen que existen diferentes métodos para pasteurizar la leche, los cuales se pueden dividir en general con base en la temperatura y el tiempo de exposición al cual es sometida la leche cruda. Los procesos de pasteurización comunes son la pasteurización lenta o baja, pasteurización relámpago o pasteurización flash (HTST) y UHT (ultrapasteurización). Acevedo et al. (2013) afirman que la pasteurización baja, la leche es depositada en tanques para derivados lácteos y se calienta a una temperatura de entre 62 °C y 65 °C durante 30 min. En la pasteurización HTST, la leche pasa por un intercambiador de calor donde se calienta entre 71 °C y 74 °C durante 15 s. Finalmente, en la pasteurización UHT, la leche se calienta entre 135 °C y 150 °C durante 6 s. Para Chams et al. (2012) es importante resaltar que, si las condiciones de tiempo y temperatura no se cumplen,

algunos microorganismos patógenos pueden sobrevivir. Por otro lado, el calentamiento excesivo de la leche puede disminuir o destruir las propiedades nutritivas presentes en ella.

Yacub et al. (2016) concluye que controlar automáticamente un proceso como el de la pasteurización permite una mejor optimización de la producción. Sin embargo, muchos de estos procesos se ven afectados debido a diferentes parámetros, los cuales representan un reto para controlar. Para Peng et al. (2014) la automatización de un sistema de pasteurización juega un importante papel en el mejoramiento de la productividad en las operaciones de procesamiento de alimentos y es un tema muy activo en el campo de ingeniería. Es posible encontrar trabajos que emplean técnicas como el control predictivo, redes neuronales, lógica difusa y combinaciones de estas técnicas para la implementación de un sistema de control óptimo para la pasteurización

3.5. Control de calidad en la cadena láctea

Según Álvarez et al. (2022) garantizar buenas prácticas de fabricación en toda la cadena de suministro se hace indispensable. Se necesita una producción láctea adecuada y una excelente calidad del producto final. Para esto se debe tener en cuenta todos los aspectos que puedan desencadenar una producción inadecuada. La contaminación puede tener inicialmente su origen en leche cruda o puede administrarse a través de materias primas, agua, personal colaborador, fuentes ambientales o equipos involucrados.

La leche cruda nos permite inferir la fuente de la contaminación y la magnitud, en base a la investigación de los microorganismos presentes en esta. Entre estos tenemos lo mesofilos directos que nos señalan una contaminación total de la leche y es un indicador universal de la calidad de la leche. Siempre se promueve un menor recuento (Gaviria, 2007).

El recuento de Coliformes totales nos señala una contaminación con materia fecal, posiblemente por malas prácticas de ordeño, estos recuentos deben ser menores a 100 UFC/ml, los recuentos altos pueden significar también fuentes de aguas para el lavado inapropiadas, equipos sucios o presencia de fango en corrales (Ortiz, 2014).

En el recuento de bacterias termodúricas algunas especies de los géneros *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Lactobacillus* y *Clostridium* tienen la propiedad de resistir temperaturas entre 65 y 90°C, y muestran una mayor resistencia a los desinfectantes; por esto, se consideran como los indicadores del proceso de limpieza y desinfección de los equipos de ordeño y recipientes. Provienen del agua de lavado, del suelo, o contenido intestinal; su número se ve incrementado por colonización en la piel erosionada de los pezones y en las superficies de caucho rugosas (Gaviria, 2007).

Algunas especies de Mesofilos de los géneros *Pseudomonas*, *Flavobacterium* y *Alcaligenes* tienen la capacidad de comportarse como

Psicrótrofos al multiplicarse entre 7 y 15°C. Por su metabolismo proteolítico ocasionan cambios en el sabor y consistencia de la leche, esto nos permite un aproximado de la durabilidad del producto (Gaviria, 2007).

Los sedimentos y residuos no deben estar presentes en una leche de buena calidad; no debe tener características organolépticas inapropiadas, un recuento bajo de microorganismos, la contaminación química debe ser nula (fármacos y detergentes), un porcentaje de acidez adecuado. La calidad de la leche cruda es el principal factor de un adecuado producto a comercializar. Es imposible obtener productos lácteos de buena calidad sin materias primas excelentes (Guadalupe, 2006).

El agua potable que abastece toda la planta (filtros, tuberías, mangueras entre otras) principalmente el agua destinada al consumo humano debe cumplir con las características microbiológicas estipuladas en la Resolución 2115 de 2007. Valdiviezo et al. (2006) afirma que aparte del control microbiológico realizado a las aguas, los riesgos de contaminación transmitidos a los alimentos tienen como responsables el personal que está en constante contacto con estos, ya que, se convierte en el medio de conexión entre el microorganismo y el alimento.

3.6. Indicadores de contaminación y métodos de recuento

Los Indicadores de contaminación, son microorganismos que actúan como índice de deficiencias en las practicas sanitarias, revelando los problemas en la producción que conllevan un riesgo potencial para la salud del consumidor. Actualmente en la industria alimentaria se determina a ciertos microorganismos como marcadores, siendo los principales: Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Enterobacterias, Mohos y Levaduras. Su presencia en alimentos procesados indica elaboración poco higiénica y/o contaminación posterior a su fabricación (Palpa, 2015).

Los Aerobios Mesófilos son descritos por Figueroa et al. (2015) como bacterias cuya temperatura óptima varía de 30º a 37ºC y utilizan oxígeno para su metabolismo. En el recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos se estima la flora total, pero sin especificar tipos de microorganismos. Esta determinación refleja la calidad sanitaria de los productos analizados y las condiciones higiénicas de la materia prima. Excepto en productos que se elaboran por fermentación, altos recuentos microbianos se consideran poco aconsejables para la mayor parte de los alimentos. En general, el recuento de la microbiota Aerobia Mesófila es una prueba para conocer las condiciones de salubridad de algunos alimentos.

Los Coliformes Totales son bacilos cortos Gram negativos, aerobios o anaerobios facultativos no esporulados, que fermentan glucosa y lactosa con formación de ácido y gas. Los Coliformes son buenos indicadores de un

proceso o de un estado sanitario inadecuado. La presencia de estos microorganismos en cantidades mayores al permitido indica mala manipulación o procesamiento del alimento y mayor probabilidad de existencia de bacterias entéricas patógenas. *Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo, puede estar aislado o en parejas y tener flagelos, se desarrolla fácilmente sobre medios con nutrientes simples. Casi todas las cepas fermentan la lactosa. *E. Coli* se utiliza como microorganismo indicador de la contaminación de origen fecal. Su hábitat natural es el hombre y los animales de sangre caliente, debido a esto se la utiliza como indicador dentro del grupo Coliformes, llegando a ser el microorganismo de mayor significado sanitario (Coronel, 2011).

Ortega et al. (2010) asegura que existen diversas técnicas para el recuento de microorganismos en alimentos, pero mundialmente el método más utilizado y reconocido se lleva a cabo con medios de cultivo (Método Tradicional); cuya técnica consiste en cultivar una muestra representativa del alimento en un medio rico en nutrientes, a fin de favorecer el crecimiento de presuntas bacterias que podrían llegar a provocar el deterioro del alimento en cuestión. Para la preparación de este medio rico en nutrientes se utilizan "Agares o Medios de Cultivo", compuestos principalmente por extractos de Proteína, Carbohidratos y sustancias gelificantes. Los medios de cultivo se reconstituyen con agua destilada, ya que su presentación es en forma de polvo

Para el recuento de Mesófilos y Coliformes existe variedad e métodos los más comunes son el recuento en placa y el conteo de Coliformes, para facilitar este recuento en placa se desarrollaron placas Petrifilm que permiten de forma rápida y fácil la cuantificación y detección de microorganismos.

Las Placas Petrifilm de 3M son una familia de placas listas para usarse que están diseñadas para ofrecer ahorros en tiempo, incrementar productividad, confiabilidad y sobre todo, mejorar la eficiencia de las operaciones. Proporcionan resultados en tres pasos: Inoculación, incubación y recuento. Su diseño tiene una película rehidratable cubierta con nutrientes y agentes gelificantes. En la parte superior, tiene un film de plástico con un adhesivo, un indicador y un gel soluble en agua. En la parte inferior, tienen un papel cuadriculado cubierto con plástico, adhesivo, nutrientes de métodos estándar y gel soluble en agua fría. Las Placas Petrifilm están disponibles para la mayoría de las necesidades de pruebas microbiológicas, incluyendo recuento de bacterias Aerobias Mesófilas, Coliformes Totales, *E. coli*. Enterobacterias, *S. aureus*. *Listeria* sp., Mohos y Levaduras (Sánchez y Vélez, 2019).

Figueroa et al. (2015) afirma que la mayoría de las industrias alimentarias necesitan obtener resultados rápidos, que permitan tomar decisiones lo más pronto posible para liberar líneas de producción. Esto muchas veces no es posible, ya que gran parte de los microorganismos requieren un enriquecimiento previo en medios selectivos. Además, ciertos inconvenientes como la microbiota acompañante, bacterias que son de crecimiento lento o de requerimientos especiales, pueden dificultar y retardar su identificación. Las

Placas Petrifilm simplifican los pasos para la determinación correcta de las bacterias ya que ofrecen una técnica sencilla y confiable.

El método petrifilm se basa en utilizar una película seca rehidratable o Placa Petrifilm para el recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas o Coliformes totales y *E. Coli*. Estas placas vienen ya listas para su uso. Simplemente se inocula la Placa Petrifilm con 1 ml de la muestra a dilución que se desea investigar, utilizando como diluyente agua peptonada al 0.1 %. Luego se incuba por 24 a 48 horas a 37° ±1 ºC y finalmente se realiza el recuento en UFC/ml. Para el recuento de bacterias Aerobias Mesófilas se cuentan las colonias rojas. El tinte indicador rojo (tetrafenil tetrasolium clorado TIC) que se encuentra en la placa petrifilm colorea las colonias para su mejor identificación. Se cuentan todas las colonias rojas sin importar su tamaño o la intensidad del tono rojo (Stuard y Regina, 2006).

En el caso de bacterias coliformes, las colonias formadas en Placas Petrifilm producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel indicador de pH facilitando su recuento. Las placas contienen nutrientes de bilis rojo violeta (VRB) deshidratado, un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la Glucoronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. Las bacterias *E. Coli* producen Beta-Glucoronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia. La película superior atrapa el gas producido por E. Coli y Coliformes fermentadoras de lactosa. Las *E. Coli* producen gas, representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la película que cubre la placa petrifilm. Las colonias azules con gas son *E. Coli* y las colonias rojas más las azules con gas son Coliformes Totales (Perez y Vargas, 2019)

Existen métodos alternativos al recuento en placa tales como el recuento por impedancia/conductancia es una de ellas y se fundamenta en los cambios de conductividad que genera la actividad metabólica de los microorganismos durante su multiplicación. Requiere de equipos específicos, como el bactometer microbiological monitoring system (biomerieux ®) (Gaviria, 2007).

Otra alternativa seria el recuento con células teñidas con bromuro de etidio. Las bacterias se cuantifican bajo luz fluorescente de manera automatizada. Este recuento cuenta células vivas y muertas. Solo puede ser aplicado en leche cruda (Gutiérrez,2017).

Para el recuento de Coliformes también encontramos alternativas tales como recuento en Agar VRB más MUG con la incorporación del sustrato fluorógeno metil-umbeliferil-D-glucurónido, que permite la detección de la enzima glucuronidasa producida en forma específica por la mayoría de cepas de *E. coli*, se originan colonias que muestran fluorescencia cuando se exponen a la luz ultravioleta (366 nm). En este medio, las colonias rojas a la luz visible se interpretan como recuento de Coliformes Totales, y las fluorescentes como recuento de *E. coli* (Gaviria, 2007).

La liberación adecuada y rápida del producto a comercializar, son algunos requisitos para para preferir un método de recuento, por esto los métodos alternativos han tomado ventaja sobre los tradicionales, aunque por costo estos siguen siendo preferidos en pequeños laboratorios. Al final de cuentas sin importar el método, siempre se busca poder evaluar correctamente la calidad del producto.

4. Área de estudio

La práctica profesional se realizó en el área de control de calidad de la empresa colanta, sede Funza. Siendo el laboratorio de microbiología el principal espacio de trabajo. Compañía dedicada a ofrecer productos lácteos y alimentos procesados, que garantiza la inocuidad y calidad de sus productos, la protección del medio ambiente, la seguridad y salud de todos los colaboradores, contratistas y visitantes. Además, de la completa confianza del cliente.



Figura 1. Vista previa instalaciones colanta, sede Funza. Fuente: (Arconza, 2021).

5. Marco legal

5.1. Ministerio de la Protección Social

Decreto 3075 de 1997: Por el cual se reglamenta parcialmente la ley 9ª de 1979, regulándose todas las actividades que puedan generar factores de riesgo por el consumo de alimentos. Producto higienizado preparado a partir de leche y crema de leche cuya única fuente de grasa es la láctea con un contenido mínimo de 8% (Decreto 3075, 1997).

Decreto 616 de 2006: Por el cual se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercializa, expenda, importe o exporte en el país (Decreto 616, 2006).

Resolución 2115 de 2007: Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano (Resolución 2115, 2007).

Resolución 1619 del 2017: Por la cual se establece el Sistema de Gestión de la Red Nacional de Laboratorios en los ejes estratégicos de Vigilancia en Salud Pública y de Gestión de Calidad (Resolución 1619, 2017).

5.2. Norma Técnica Colombiana NTC

NTC 1419 de 2004: Productos lácteos. Leche líquida saborizada. Esta norma establece los requisitos y ensayos que debe cumplir la leche líquida saborizada obtenida por cualquiera de los medios de higienización que se incluyen en la presente norma (Norma Técnica Colombiana 1419, 2004).

NTC 3856 de 2004: Productos Lácteos, Leche UAT – UHT Ultra Alta Temperatura Larga Vida y Leche Ultrapasteurizada. Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las leches UAT (UHT) ultra alta temperatura larga vida y leche Ultrapasteurizada (Norma Técnica Colombiana 3856, 2004).

NTC 930 de 2008: Productos lácteos. Crema de leche. Esta norma establece los requisitos que debe cumplir la crema de leche, la crema de leche para batir o montar, la crema de leche batida o montada, la crema de leche en polvo, que se destinan para el consumo directo y que han sido sometidas a pasteurización, esterilización o ultra alta temperatura UHT (UAT) (Norma Técnica Colombiana 930, 2008).

NTC 4433 de 2015: Método para evaluar esterilidad comercial en alimentos. Esta norma describe métodos empleados y estandarizados para evaluar esterilidad comercial en alimentos, los métodos son usados para determinar si los alimentos envasados herméticamente, cumplen con los requisitos de la esterilización comercial, donde son catalogados como estériles. La esterilidad comercial de un alimento tratado térmicamente es una condición que adquiere aplicando el calor suficiente, sólo o combinado con otros tratamientos, para liberar el alimento de patógenos y de otros microorganismos capaces de reproducirse en él según las condiciones ambientales en las que se mantenga durante su distribución y almacenamiento (Norma Técnica Colombiana 4433, 2015).

NTC 6257 de 2018: Método horizontal para la detección de *Bacillus sporothermodurans* en leche UHT. Esta norma proporciona requisitos generales sobre los métodos para la detección e identificación de *Bacillus sporothermodurans* y de espora termorresistente en leche UHT (Norma Técnica Colombiana 6257, 2018)

5.3. Norma Técnica NTC-ISO/IEC colombiana

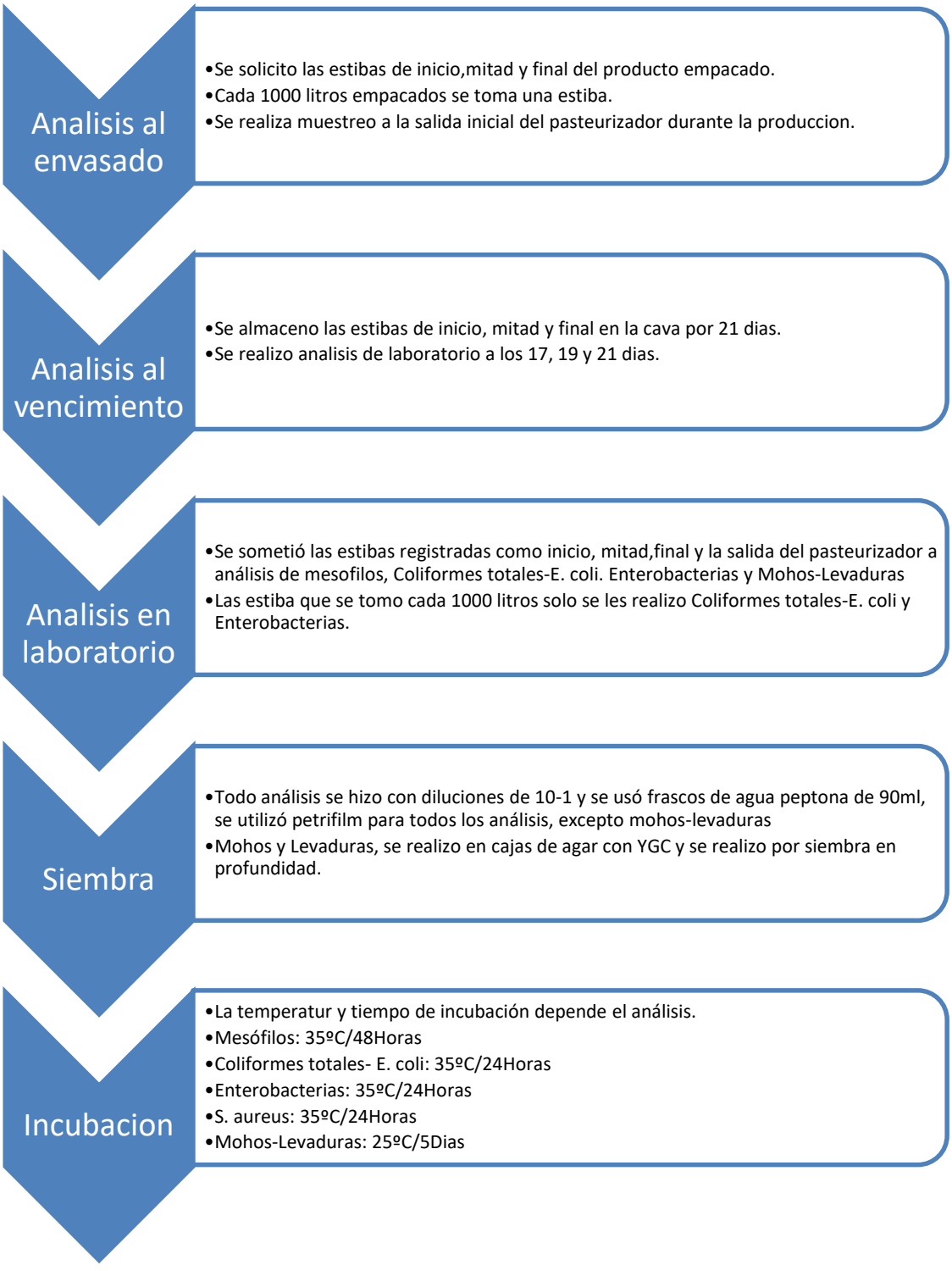
NTC 17025 de 2017: Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Este documento se ha desarrollado con el objetivo de promover la confianza en la operación de los laboratorios. Este documento contiene requisitos que permiten a los laboratorios demostrar que operan de forma competente y que tienen la capacidad de generar resultados válidos. Los laboratorios que cumplen con este documento también operarán en general de acuerdo con los principios de la Norma ISO 9001.

Este documento requiere que el laboratorio planifique e implemente acciones para abordar los riesgos y las oportunidades. Al abordar los riesgos y las oportunidades se establece una base para incrementar la eficacia del sistema de gestión, lograr mejores resultados y prevenir efectos negativos. El laboratorio es responsable de decidir qué riesgos y oportunidades es necesario abordar. (Norma Técnica Colombiana 17025, 2017).

6. Metodología

Los análisis presentados en el siguiente documento, son procedimientos internos de la empresa.

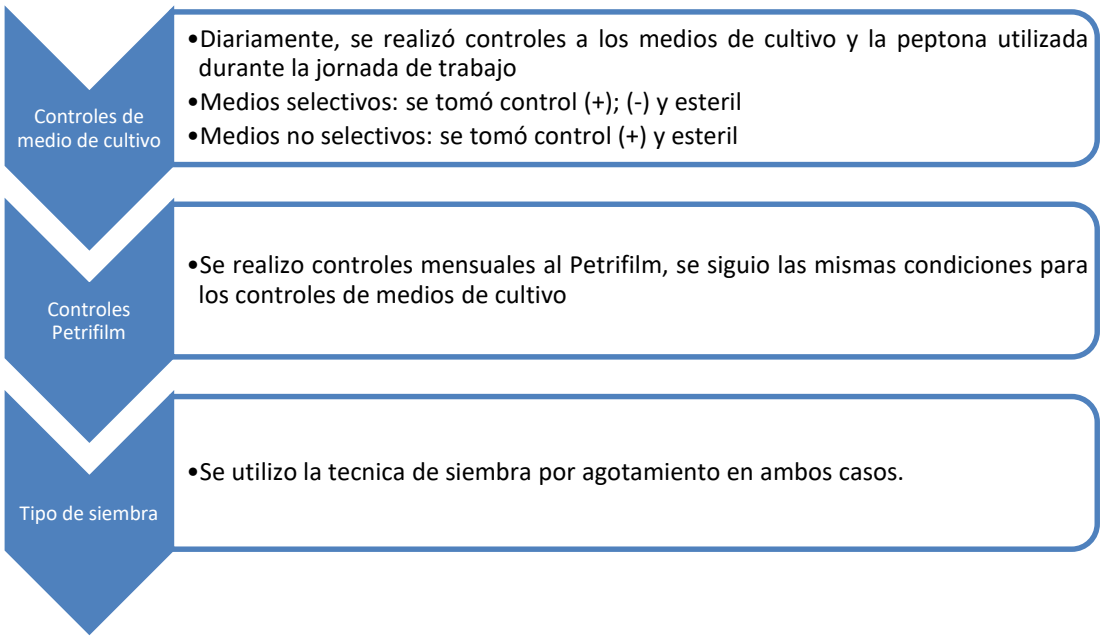
6.1. Análisis crema de leche



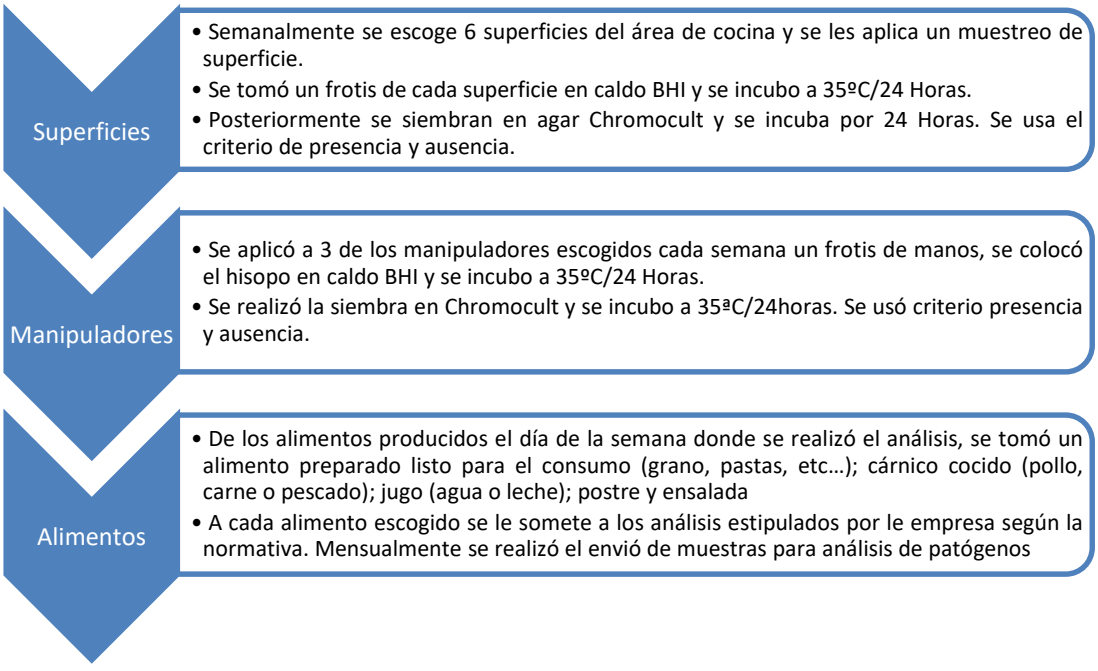
6.2. Análisis de termófilos

Todos los días se tomó la producción del día anterior, siguiendo protocolos de la empresa se escogió las muestras por cada producto producido. En el laboratorio se tomó 1ml de la muestra de cada producto y se les realizo siembra directa por profundidad en agar PCA y se incubo a 55ºC/48Horas.

6.3. Controles



6.4. Análisis de casino



6.5. Silos de almacenamiento

Muestreo

- Semanalmente se muestreo y analizo los silos ocupados.
- El muestreo vario dependiendo del producto almacenado.

Diluciones

- Leche cruda: Esporas (10^{-1}), Mesofilos (10^{-3} Y 10^{-4}), Psicrótrofos (10^{-3}), Shock térmico (directo).
- Leche termizada: Esporas (10^{-1}), Mesofilos (10^{-2} Y 10^{-3}), Psicrótrofos (10^{-2}), Shock térmico (directo), Coliformes totales-E.coli (10^{-2} y 10^{-3}).
- Crema de leche cruda: Esporas (10-1), Mesofilos (10^{-3} Y 10^{-4}), Psicrótrofos (10^{-3}), Shock térmico (directo), Mohos-Levaduras (10^{-1}).

Analisis de esporas aerobias

- Se utilizó 1ml del contenido del silo, se diluyo en 9ml de agua peptona, posteriormente el tubo se sometió a 10 minutos en agua hirviendo y 5 minutos en agua fría. Se finalizó sembrando por profundidad en agar PCA. Se incubo a 35ºC/48HoraS.

Analisis de coliformes fecales y *E.coli*

- Se utilizó 1ml del contenido del silo, se diluyo en 9ml de agua peptona, posteriormente, se realizan diluciones y se siembra por profundidad en agar Chromocult. Se incubo a 35ºC/48Horas

Analisis de Mesófilos

- Se utilizó 1ml del contenido del silo, se diluyo en 9ml de agua peptona, posteriormente se realizan diluciones dependiendo del tipo de producto y se colocó 1ml en cada Petrifilm AC. Se incubo a 35ºC/48Horas

Analisis de Psicrótrofos

- Se utilizó 1ml del contenido del silo, se diluyo en 9ml de agua peptona, posteriormente se realizan diluciones y se siembra por profundidad en agar Skim Milk. Se incubo a 25ºC/3Dias

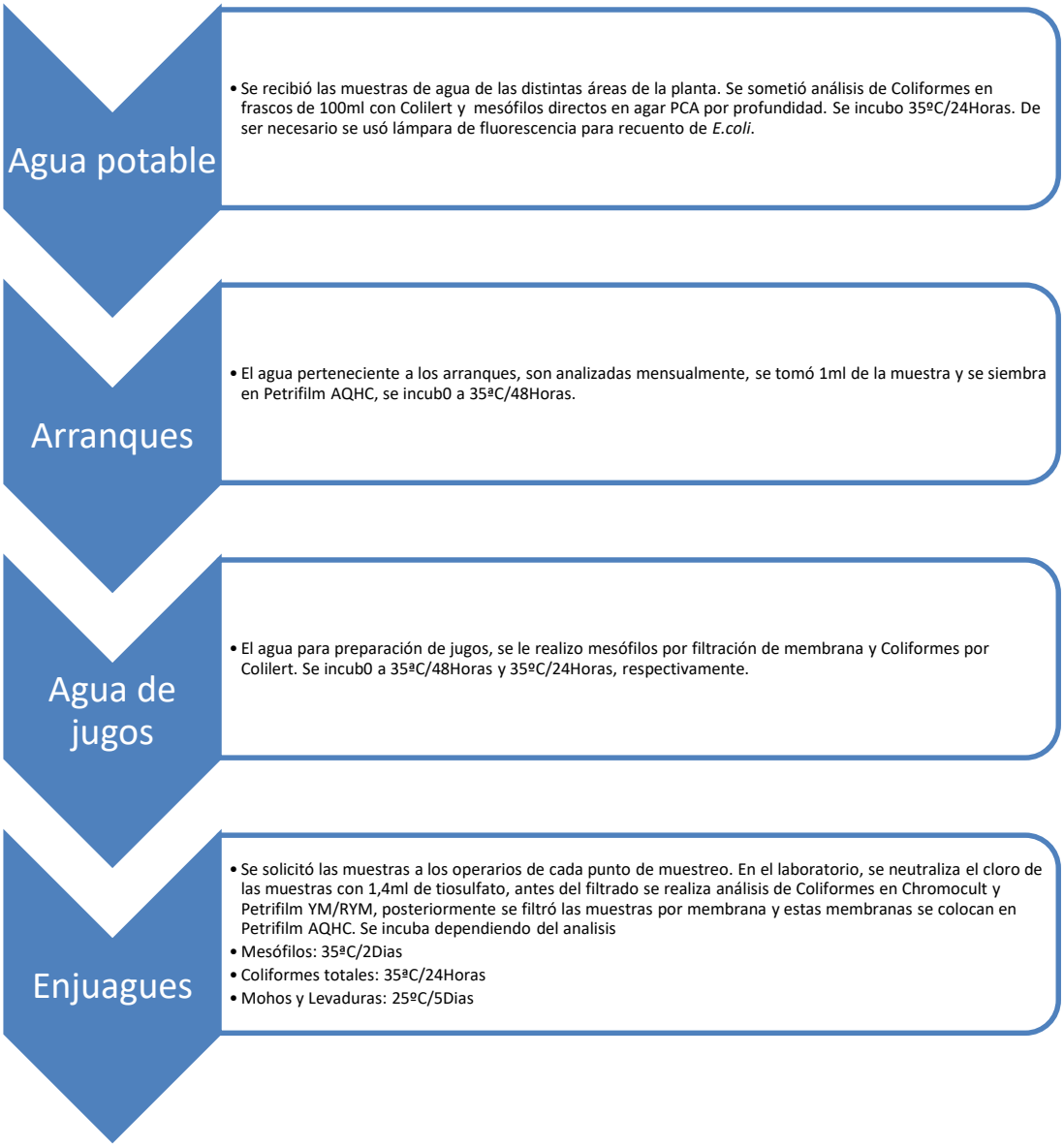
Shock térmico

- Se utilizó la muestra del contenido del silo, esta se sometió a la autoclave y se incubo a 35ºC/5Dias, posteriormente se repico en agar TSA (leches blancas y saborizada) o agar BHI (avena y crema de leche). Se incuban 35ºC/48Horas.

Mohos y Levaduras

- Se utilizó 1ml del contenido del silo, se diluyo en 9ml de agua peptona, posteriormente se realizan diluciones y se siembra por profundidad en agar YGC. Se incubo 25ºC/5Dias.

6.6. Análisis de aguas



6.7. Esterilidad comercial

Se toman 2 bolsas del producto lácteo de cada presentación y se incuban a 35 y 55°C/10Dias respectivamente. Pasado este tiempo, se toma cada muestra y se siembra 1ml en 12 tubos de Caldo BHI con almidón. 3 tubos 35ºC aerobio, 3 tubos 35ºC anaerobio, 3 tubos 55ºC aerobio y 3 tubos 55ºC anaerobio estos se incuban por 3 días. Transcurrido las 72 horas, se realiza frotis y tinción de Gram de cada tubo para observar su morfología y se interpretan los resultados por satisfactorio o no satisfactorio.

6.8. Manipuladores

Siguiendo protocolos de la empresa y teniendo presente que mensualmente se debe muestrear el 90% de los trabajadores de la planta. Semanalmente se tomó por turnos un número determinado de frotis, esto se incubo en caldo BHI 35ºC/24 horas y se sembró por estría en agar Chromocult por el mismo tiempo y temperatura. Al final responde a criterio de presencia o ausencia.

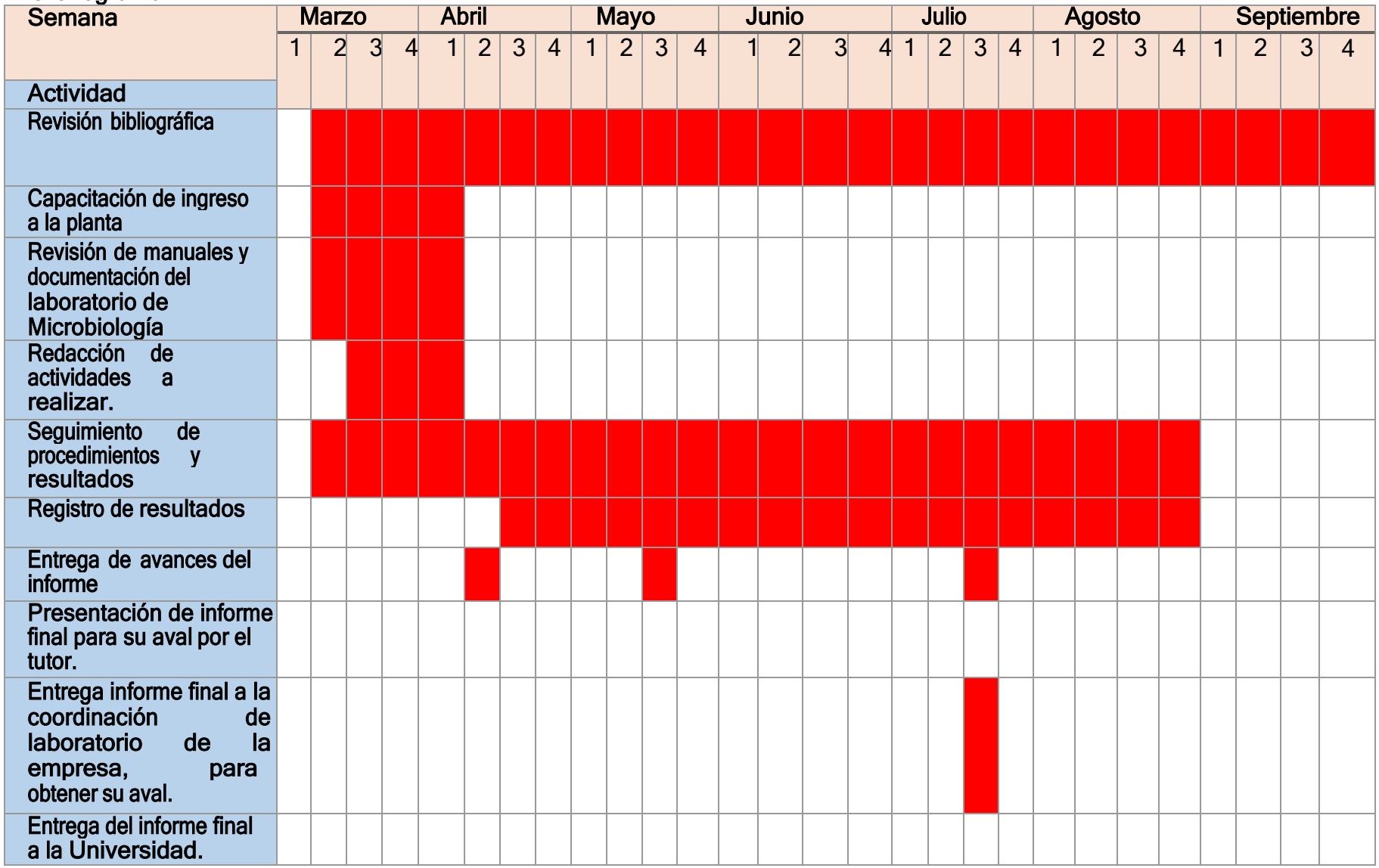
6.9. Análisis de jugos

Dentro los jugos comercializados por la empresa se analizaron pulpy maracuyá, mango, mora; jugo de naranja UHT y Tampico. A los pulpys y al jugo de naranja se les hizo análisis al envasado y al vencimiento, al Tampico además de estos dos análisis se le realizo un seguimiento a los 7 días de la fecha de fabricación. En todos los análisis se evaluó Mesofilos, CT/EC y Mohos-Levaduras en petrifilm. Según una matriz dada por los protocolos internos, se debe neutralizar la muestra con cierta cantidad de NaOH, al 0,1 o 1N. Según corresponda.

6.10. Análisis al vencimiento de queso

Para el análisis al vencimiento de quesos se tomó un pool (inicio, mitad y final) de cada lote producido. 10 gramos de la muestra en 90 ml de peptona, se sembró en Petrifilm RYM, CT/EC y STX. Se incuba respectivamente las condiciones de cada medio anteriormente explicadas.

7. Cronograma



Semana	Octubre				Noviembre				Diciembre				Enero				Febrero				Marzo				Abril			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2		4
Actividad																												
Revisión bibliográfica																												
Capacitación de ingreso a la planta																												
Revisión de manuales y documentación del laboratorio de Microbiología																												
Redacción de actividades a realizar.																												
Seguimiento de procedimientos y resultados																												
Registro de resultados																												
Entrega de avances del informe																												
Presentación de informe final para su aval por el tutor.																												
Entrega informe final a la coordinación de laboratorio de la empresa, para obtener su aval.																												
Entrega del informe final a la Universidad.																												

8. Conclusión

Se logró analizar y comprender los procesos microbiológicos utilizados en el control de calidad de los productos lácteos y sus derivados en la empresa Colanta, ubicada en Funza. Permitiendo reconocer la importancia de comprender las técnicas microbiológicas empleadas para asegurar la calidad de estos productos, así como la implementación de medidas de control correspondientes. Además, se adquiere conciencia sobre la necesidad de aplicar correctamente las técnicas de muestreo durante las actividades de laboratorio, se logra una familiarización con los controles microbiológicos necesarios en la industria de alimentos, especialmente en relación con los productos comercializados por Colanta en Funza. Todo esto con el fin de destacar la importancia de los procesos microbiológicos en el control de calidad de los productos lácteos y la necesidad de implementar medidas de control adecuadas.

9. Glosario

Arranque: Muestra de agua expulsada por las máquinas de envasado al inicio de la actividad.

Colilert: Prueba comercial para la determinación de Coliformes y *E. coli* en Agua

Enjuague: Muestra de agua resultante de la limpieza y desinfección de la maquinaria.

Estiba: Muestra del producto tomada para análisis cada cierto volumen de producción.

Filtración por membrana: Es una tecnología que utiliza una membrana porosa o filtro como barrera selectiva para filtrar partículas líquidas o retener moléculas de tamaño y peso molecular mayores que el diámetro de los poros.

Frotis: Es un método utilizado para identificar la presencia de microorganismos en las manos de un operario

Petrifilm: Son un medio de cultivo listo para ser empleado

Shock térmico: Análisis al que es sometido un microrganismo para comprobar esporulación.

Siembra en profundidad: Consiste en añadir medio de cultivo fundido y enfriado a 50ºC sobre placa de Petri que contiene una cantidad determinada de la muestra diluida.

Silo: Contenedores de distintas formas que pueden tener una capacidad de unos pocos metros cúbicos o de unos centenares, y que pueden ser abiertos o herméticamente cerrados

10. Referencias

Acevedo, D., Rodríguez, A., & Fernández, A. (2010). Efecto de las variables de proceso sobre la cinética de acidificación, la viabilidad y la sinéresis del suero costeño colombiano. *Información tecnológica*, *21*(2), 29-36.

Acevedo, D., Rodríguez, A., & Fernández, A. (2013). Efectos simultáneos de las variables de proceso sobre las propiedades de flujo del suero costeño. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 11(SPE), 112-117.

Addis, Z., Kebede, N., Sisay, Z., Alemayehu, H., Wubetie, A., & Kassa, T. (2011). Prevalence and antimicrobial resistance of Salmonella isolated from lactating cows and in contact humans in dairy farms of Addis Ababa: a cross sectional study. BMC infectious diseases, 11(1), 1-7.

Agudelo Gómez, D. A., & Bedoya Mejía, O. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno.

Al-Holy, M., Lin, M., & Rasco, B. (2005). Destruction of Listeria monocytogenes in sturgeon (Acipenser transmontanus) caviar by a combination of nisin with chemical antimicrobials or moderate heat. Journal of food protection, 68(3), 512-520.

Alvarez, Á. E. M., Andrade, J. E. O., & Ortega, Y. C. (2022). Buenas prácticas en emprendimientos lácteos, desde la economía social y solidaria en Biblián-Ecuador. Telos: revista de Estudios Interdisciplinarios en Ciencias Sociales, 24(1), 40-61.

Arconza (2021); Vista previa instalaciones colanta, sede Funza.

Barmpalia, I. M., Geornaras, I., Belk, K. E., Scanga, J. A., Kendall, P. A., Smith, G. C., & Sofos, J. N. (2004). Control of Listeria monocytogenes on frankfurters with antimicrobials in the formulation and by dipping in organic acid solutions. Journal of Food Protection, 67(11), 2456-2464.

Barros, V., Calero, J. J., Muñoz, L., Parra, J. A., & Sinisterra, L. M. (2017). PLAN DE MEJORAMIENTO Y TRAZABILIDAD A LÁCTEOS "LA ESTHER" [UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA - UNAD]. https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/19291/76325773.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Bell, C., Kyriakides, A., & Vercet Tormo, A. (2000). Listeria: Una aproximación práctica al microorganismo y su control en los alimentos.

Bonilauri P, Giacometti, F, Serraino A, Peli A, Amatiste S, Arrigoni N et al. Four-year monitoring of foodborne pathogens in raw milk sold by vending machines in Italy. Journal of Food Protection. 2013; 76(11): 1902-7

Calderón, A., García, F., & Martínez, G. (2006). Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. Revista MVZ Córdoba, 11(1), 725-737.

Carulla, J. E., & Ortega, E. (2016). Sistemas de producción lechera en Colombia: retos y oportunidades. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 24(2), 83-87.

Castro Rosas, J. (2012). Incidence of Salmonella, Listeria monocytogenes, Escherichia coli O157: H7 and staphylococcal toxin in two types of Mexican fresh cheeses.

Chams, L., Cury, K., & Aguas, Y. (2018). Evaluación microbiológica de suero costeño y valoración higiénica en puntos de venta en Montería, Córdoba.

CONPES (Consejo Nacional de Política Económica y Social). (2010). Política nacional para mejorar la competitividad del sector lácteo colombiano. Documento 3675.

Coronel Quispe, J. L. (2011). Diseño de las directrices para las normativas de organización y funcionamiento de la planta de transformación de productos lácteos en la Estación Experimental de Choquenaira facultad de Agronomía de la UMSA (Doctoral dissertation).

Decreto 616 [Ministerio de la Protección Social]. (2006). Por el cual se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercializa, expenda, importe o exporte en el país. 28 de febrero de 2006.

Decreto 3075 [Ministerio de Salud Pública]. (1997). Por el cual se reglamenta parcialmente la Ley 09 de 1979 y se dictan otras disposiciones. 23 de diciembre de 1997. D.O. No. 43205.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2012). Scientific opinion on the tolerable upper intake level of calcium. EFSA Journal, 10(7), 2814.

Estrada, M., & Gutiérrez, J. (2011). El libro blanco de la leche y los productos lácteos. Canilec. Revista Trimestral 2011, 58(4).

Fàbrega, A., & Vila, J. (2012). Yersinia enterocolitica: pathogenesis, virulence and antimicrobial resistance. Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica, 30(1), 24-32.

FDA (2003). BAM chapter 14: Bacillus cereus. Bacteriological analytical manual (BAM), 8th edition, revision A.

Figueroa, A. G., Maldonado, W. L., Rivera, N. F., & Muñoz, J. G. (2015). Implementación del método alternativo petrifilm para determinar coliformes y bacterias aerobias mesófilas en la industria de lácteos" Pairumani" y el laboratorio" Lidiveco" de SENASAG. Journal Boliviano de Ciencias, 11(35), 58-65.

Flores, W. (2001). Taller de Capacitación para Microempresarios Rurales “Tecnologías Básicas de Aprovechamiento de la Leche en el Área Rural” Jinotepe.

Fontecha, J., & Juárez, M. (2017). Recent advances in dairy ingredients and cardiovascular diseases with special reference to milk fat components. Dairy in Human Health and Disease across the Lifespan, 251-261.

Furst, T., Connors, M., Bisogni, C. A., Sobal, J., & Falk, L. W. (1996). Food choice: a conceptual model of the process. Appetite, 26(3), 247-266.

Garedew, L., Berhanu, A., Mengesha, D., & Tsegay, G. (2012). Identification of gram-negative bacteria from critical control points of raw and pasteurized cow milk consumed at Gondar town and its suburbs, Ethiopia. BMC public health, 12, 1-7.

Gaviria, B. C. (2007). Calidad higiénica y sanitaria de la leche cruda. Fondo Editorial Biogénesis, 115-122.

Giacometti, F., Serraino, A., Finazzi, G., Daminelli, P., Losio, M. N., Arrigoni, N.,... & Zanoni, R. G. (2012). Sale of raw milk in northern Italy: food safety implications and comparison of different analytical methodologies for detection of foodborne pathogens. Foodborne pathogens and disease, 9(4), 293-297.

Gobierno de Colombia (2015). Encuesta Nacional de Situación Nutricional ENSIN 2015. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, Instituto Nacional de Salud, Universidad Nacional de Colombia.

Guadalupe, L. S. A. (2006). Estudio retrospectivo de la frecuencia de residuos de antibióticos en leche en la zona de los altos de Jalisco durante el periodo del 2001-2005.

Gutierrez Crisostomo, L. H. (2017). Comparación de dos técnicas para la cuantificación de la viabilidad en células Mononucleares de sangre periférica evaluadas en el Hospital Augusto Hernández Mendoza del distrito de Ica.

Henao OA, Muñoz MFC, Jaramillo MG, Cerón J, Baena LGP. Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia. Revista de Medicina Veterinaria. 2011(22): 31-42.

Hill, B., Smythe, B., Lindsay, D., & Shepherd, J. (2012). Microbiology of raw milk in New Zealand. International Journal of Food Microbiology, 157(2), 305-308.

Jemio Mena, Á. H., & Chaves Ríos, L. (2012). Optimización del proceso de ultra pasteurización de la compañía de alimentos Ltda., Delizia (Doctoral dissertation).

Judicial Commission of the International Committee on Systematics of Prokaryotes. (2005). The type species of the genus Salmonella Lignieres 1900 is Salmonella enterica (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987, with the type strain LT2T, and conservation of the epithet enterica in Salmonella enterica over all earlier epithets that may be applied to this species. Opinion 80. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 55(1), 519-520.

Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). [i] Staphylococcus aureus [/i] and food poisoning. Genetics and molecular research: GMR, 2(1), 63-76.

Los peligros de la leche cruda. (2020). U.S. Food and Drug Administration. https://www.fda.gov/media/84522/download

Martínez, F. (2011). El libro blanco de la leche y los productos lácteos. México DF: Litho Offset Imprenta.

Masoud, W., Vogensen, F. K., Lillevang, S., Al-Soud, W. A., Sørensen, S. J., & Jakobsen, M. (2012). The fate of indigenous microbiota, starter cultures, Escherichia coli, Listeria innocua and Staphylococcus aureus in Danish raw milk and cheeses determined by pyrosequencing and quantitative real time (qRT)-PCR. International Journal of Food Microbiology, 153(1-2), 192-202.

Maza, M., & Legorreta, P. (2011). El libro blanco de la leche y los productos lácteos. México DF: Litho Offset Imprenta

Murinda, S. E., Nguyen, L. T., Ivey, S. J., Gillespie, B. E., Almeida, R. A., Draughon, F. A., & Oliver, S. P. (2002). Molecular characterization of Salmonella spp. isolated from bulk tank milk and cull dairy cow fecal samples. Journal of food protection, 65(7), 1100-1105.

Norma Técnica Colombiana 1419. (2004). Productos lácteos. leche líquida saborizada. 30 de marzo de 2004.

Norma Técnica Colombiana 3856. (2004). Productos lácteos. leche uat (uht) ultra alta temperatura larga vida y leche ultrapasteurizada. 25 de febrero de 2004.

Norma Técnica Colombiana 930. (2008). Productos lácteos. Crema de leche. 24 de septiembre de 2008.

Norma Técnica Colombiana 4433. (2015). Establece el procedimiento para determinar si los alimentos en latas o bolsas herméticamente cerradas (termoselladas), cumplen con los requisitos de esterilización comercial a los que se sometieron. 18 de febrero de 2015.

Norma Técnica Colombiana 17025. (2017). Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. 06 de diciembre de 2017.

Norma Técnica Colombiana 6257. (2018). Requisitos generales para la competencia, la imparcialidad y la operación coherente de los laboratorios. 21 de febrero de 2018.

Oliver, S. P., Boor, K. J., Murphy, S. C., & Murinda, S. E. (2009). Food safety hazards associated with consumption of raw milk. Foodborne pathogens and disease, 6(7), 793-806.

Ortega González, M., Rodríguez Martínez, C., & Zhurbenko, R. (2010). Validación de métodos alternativos para análisis microbiológico de alimentos y aguas. cualitativos. *Revista cubana de Higiene y Epidemiología*, *48*(2), 162-176.

Ortiz Ramírez, T. A. (2014). Evaluación de la calidad higiénica, sanitaria e inocua, de la leche de tanque en hatos lecheros del Oriente y Norte de Antioquia.

Palpa Chávez, I. A. (2015). Evaluación de la presencia de Escherichia coli como indicador de contaminación fecal reciente en el queso fresco artesanal expendido en los mercadillos de Huánuco.

Pantoja Cortés, J. J. (2019). Factores que intervienen en el manejo de la calidad de la leche cruda.

Peng, W., Zhong, J., Yang, J., Ren, Y., Xu, T., Xiao, S., ... & Tan, H. (2014). The artificial neural network approach based on uniform design to optimize the fed-batch fermentation condition: application to the production of iturin A. Microbial Cell Factories, 13(1), 1-10.

Pereira, R. V., Bicalho, M. L., Machado, V. S., Lima, S., Teixeira, A. G., Warnick, L. D., & Bicalho, R. C. (2014). Evaluation of the effects of ultraviolet light on bacterial contaminants inoculated into whole milk and colostrum, and on colostrum immunoglobulin G. Journal of dairy science, 97(5), 2866-2875.

Perez, Y., & Vargas, C. (2019). Recuentos totales de bacterias, hongos, levaduras, coliformes totales, fecales y staphylococcus aureus en queso fresco y queso crema utilizando la técnica de petrifilm (Doctoral dissertation, Universidad de Panamá).

Perfil sanitario nacional de leche cruda para consumo humano directo. (2014, 15 de mayo). Ministerio de salud. https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SNA /Perfilsanitario-nacional-leche-cruda.pdf

Ramírez, N. F., Keefe, G., Dohoo, I., Sánchez, J., Arroyave, O., Cerón, J., ... & Palacio, L. G. (2014). Herd-and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. Journal of Dairy Science, 97(7), 4141-4150.

Resolución 1619 [Ministerio de la Protección Social]. (2005). Estándares de calidad. 15 de octubre de 2005.

Resolución 2115 [Ministerio de la Protección Social]. (2007). características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. 22 de junio de 2007.

Ricoy, J. (2017). Planta de extracción y purificación de proteínas del lacto suero. [Universidad de Cádiz]. http://file:///C:/Users/User/Downloads/927566.pdf

Robinson, T. J., Scheftel, J. M., & Smith, K. E. (2014). Raw milk consumption among patients with non-outbreak-related enteric infections, Minnesota, USA, 2001-2010. Emerging infectious diseases, 20(1), 38.

Rodríguez, H., Restrepo, L. F., & Martínez, L. I. (2014). Conocimientos, gustos y prácticas sobre el consumo de lácteos en una población escolar de la ciudad de Medellín-Colombia. Perspectivas en Nutrición Humana, 16(1), 83-96.

Rubio, D. A., & Sánchez, L. A. (2020). Análisis de Impacto Normativo Productos Lácteos. https://www.minsalud.gov.co/Normativa/PublishingImages/Paginas/analisis-de-impacto-normativo/AIN%20-%20Productos%20l%C3%A1cteos_%C3%A1rbolproblemas.pdf

Rueda Ulloa, A. M. (2004). Utilización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para determinar la incidencia de Listeria monocytogenes en leches crudas en el departamento de Boyacá.

Ruusunen, M., Salonen, M., Pulkkinen, H., Huuskonen, M., Hellström, S., Revez, J.,... & Lindström, M. (2013). Pathogenic bacteria in Finnish bulk tank milk. Foodborne pathogens and disease, 10(2), 99-106.

Sánchez Vera, B. D., & Vélez Zambrano, J. J. (2019). Evaluación de la variabilidad biológica de coliformes y fitoplancton del agua en el humedal La Segua Chone-Manabí (Bachelor's thesis, Calceta: ESPAM MFL).

Schöbitz, R., Marín, M., Horzella, M., & Carrasco, E. (2001). Presencia de Listeria monocytogenes en leche cruda y quesos frescos artesanales. Agro sur, 29(2), 114-119.

Schoder, D., Maichin, A., Lema, B., & Laffa, J. (2013). Microbiological quality of milk in Tanzania: from Maasai stable to African consumer table. Journal of Food Protection, 76(11), 1908-1915.

Stuard, E., & Regina, L. (2006). Recuento de bacterias aerobias mesofilas totales en canales bovinas mediante el método de hisopado en un camal de Lima Metropolitana.

Torres, K., Sierra, S., Poutou, R., Carrascal, A., & Mercado, M. (2005). Patogénesis de Listeria monocytogenes, microorganismo zoonótico emergente. Revista MVZ Córdoba, 10(1), 511-543.

Turrell, G., Hewitt, B., Patterson, C., Oldenburg, B., & Gould, T. (2002). Socioeconomic differences in food purchasing behaviour and suggested implications for diet-related health promotion. Journal of Human Nutrition and Dietetics, 15(5), 355-364.

Valdiviezo, N., Villalobos, L., y Martínez, R. (2006). Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores públicos en Cumana – Venezuela. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 26 (2).

Van Kessel, J. A. S., Karns, J. S., Lombard, J. E., & Kopral, C. A. (2011). Prevalence of Salmonella enterica, Listeria monocytogenes, and Escherichia coli virulence factors in bulk tank milk and in-line filters from US dairies. Journal of Food Protection, 74(5), 759-768

Vásquez, F. C. M., Martínez, G. R., Mancera, V. M. M., Ávila, L. E. O., & Vargas, M. R. (2007). Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (departamento de Boyacá). Revista de Medicina Veterinaria, (14), 61-83.

Vázquez-Boland, J. A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Domínguez-Bernal, G., Goebel, W., ... & Kreft, J. (2001). Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants. Clinical microbiology reviews, 14(3), 584-640.

Vergara Collazos D, Torres MF, González FE, Lasso Sambony N, Ortega Muñoz C. Prevalencia de brucelosis en la leche cruda de bovinos expendida en el municipio de Popayán, Cauca, septiembre-diciembre 2006. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 2008; 6.

Wallace, F. M., Call, J. E., Porto, A. C., Cocoma, G. J., TEAM, T. E. S. P., & Luchansky, J. B. (2003). Recovery rate of Listeria monocytogenes from commercially prepared frankfurters during extended refrigerated storage. Journal of food protection, 66(4), 584-591.

Yacub, B., Cajal, J., Acevedo, D., Murillo, L., Leal, R., & Tirado, D. F. (2016). Diseño de un prototipo fermentador de leche semiautomático para la elaboración de suero costeño. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 14(1), 95-102.

11. Anexos

11.1. Recuento de Aerobios Mesófilos

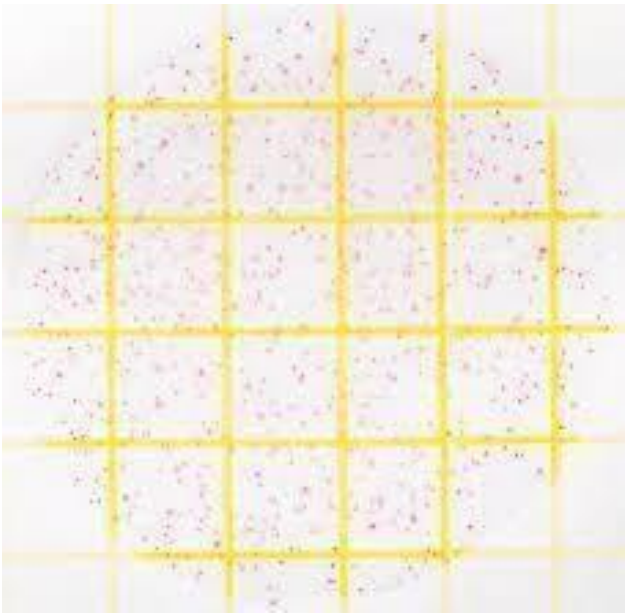


Figura 2. Crecimiento de aerobios mesofilos en petrifilm AC. Colonias pequeñas color rojo

11.2. Recuento de Enterobacterias



Figura 3. Crecimiento de Enterobacterias en petrifilm EB. Colonias pequeñas, gel amarillento.

11.3. Recuento de Coliformes Totales y *E. coli*

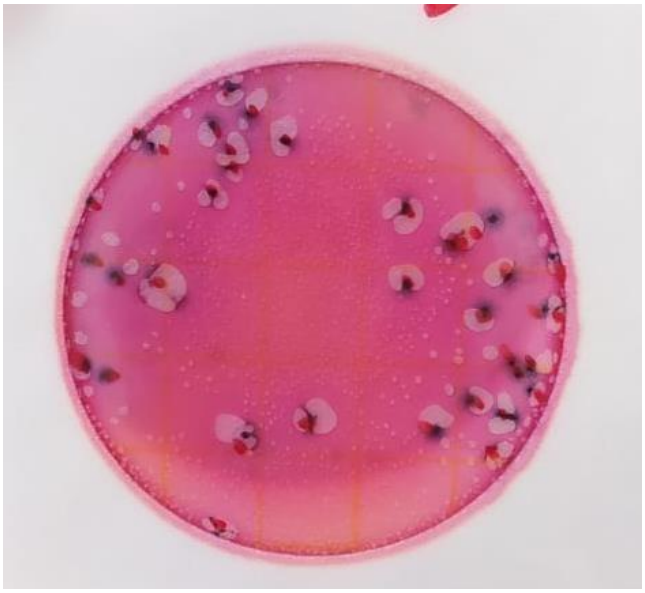


Figura 4. Crecimiento de coliformes totales en petrifilm EC. Colonias rojas con burbujas que demuestran la producción de gas.

11.4. Recuento de Agar Chromocult

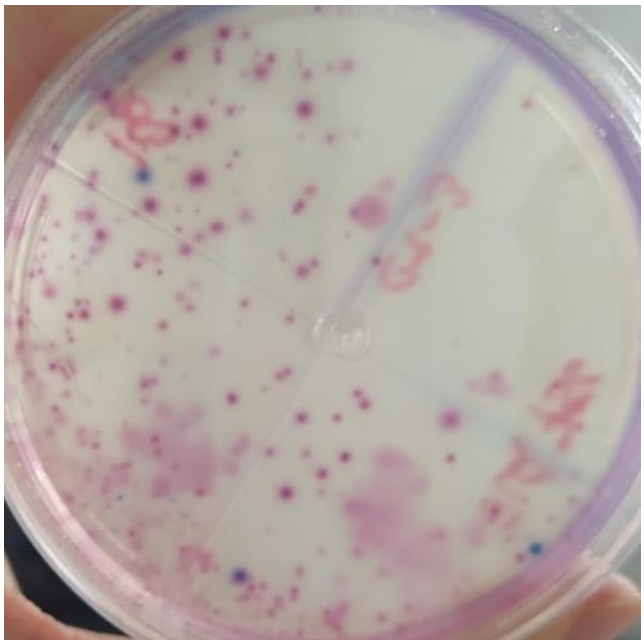


Figura 5. Crecimiento de coliformes totales (violetas) y *E. coli* (azul) en agar Chromocult.

11.5. Recuento de coliformes totales y *E. coli* por Colilert



Figura 6. Prueba positiva para coliformes (la muestra se torna amarilla) y *E. coli* (la muestra emite fluorescencia en luz UV)

11.6. Esterilidad comercial al microscopio

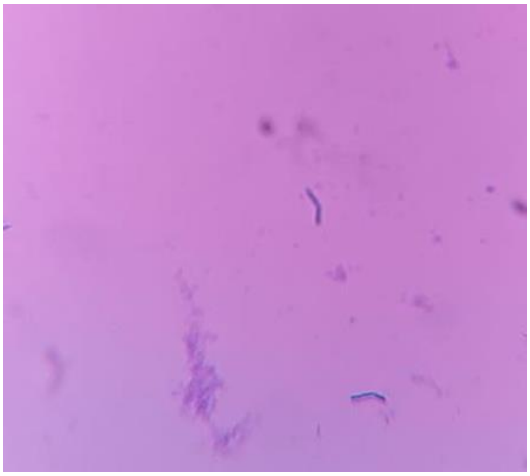


Figura 7. *B. sporothermodurans* al microscopio, morfología microscópica a tener en cuenta para una prueba de esterilidad comercial.

11.7. Recuento Mohos-Levaduras.

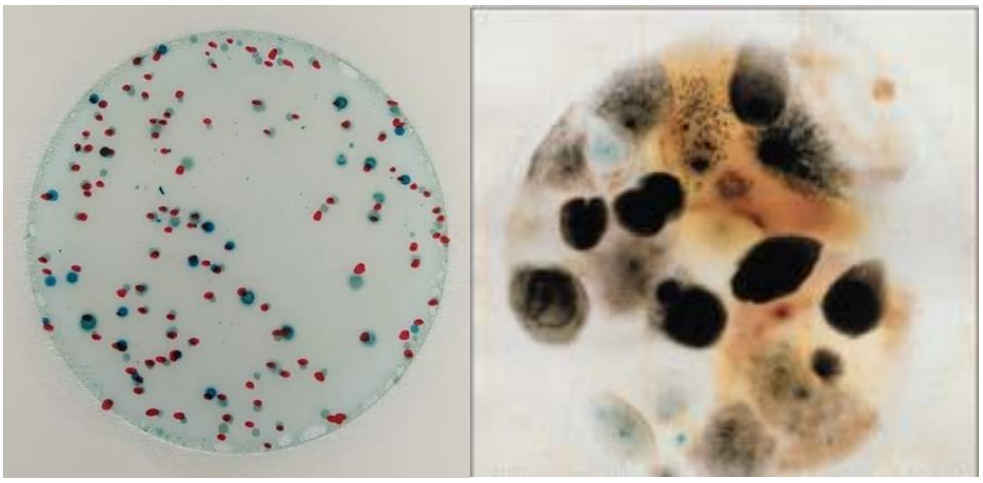


Figura 8. Crecimiento de Mohos-Levaduras en petrifilm YM. Las colonias de mohos son grandes y difusas. Las colonias de levaduras son pequeñas y presentan una tonalidad azul-verdosa.

11.8. Recuento *S aureus*

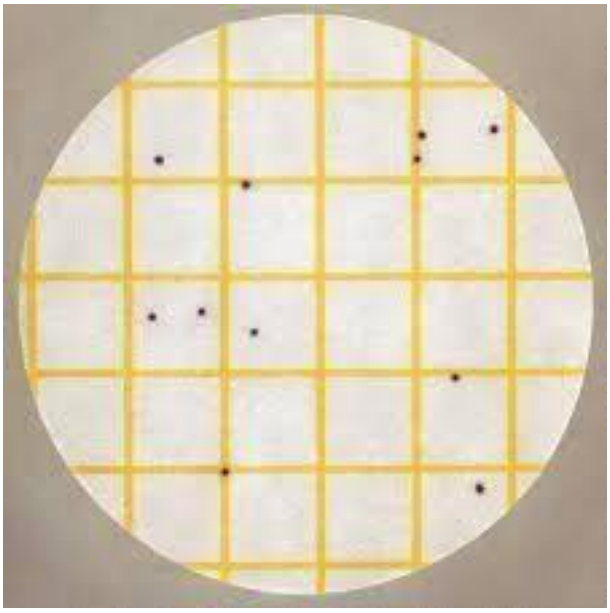


Figura 9. Crecimiento de S. aureus en petrifilm STX. Colonias rojo-violeta.

11.9. Cronograma de actividades durante la pasantía empresarial

HORA	ACTIVIDAD	
	TURNO DE ACTIVIDADES PASANTE	
8AM	Verificación de vencimiento, registro ysiembra	Registro de crema de leche al envasado (opcional)
10AM		Muestreo, registro y siembra de casinos (martes) Muestreo, registro y siembra de silos (miércoles)
12AM		Enjuagues y muestras de agua potable (opcionales)
1PM	ALMUERZO	ALMUERZO
2PM	Termófilos	Vencimiento jugos (opcional) Seguimiento Tampico (opcional) Vencimiento quesos (opcional)
3PM	Controles medios usados en la jornada laboral.	Esterilidad comercial siembra o lectura (opcional) Repiques (opcional)