

Control de la calidad microbiológica en los productos fabricados en comestibles La Rosa

Luis Alfonso Becerra Gauta

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Departamento de Microbiología

Pamplona, Norte de Santander

2024

Control de la calidad microbiológica en los productos fabricados en comestibles La Rosa

Luis Alfonso Becerra Gauta

Trabajo de grado para optar al título de Microbiología

Tutor académico

PhD. Ramon Ovidio García

Tutor empresarial

Sandra Marcela Zapata

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Básicas

Departamento de Microbiología

Pamplona, Norte de Santander

2024

NOTA DE ACEPTACIÓN:

.....

.....

.....

.....

.....

FIRMA DEL JURADO

.....

FIRMA DEL JURADO

Pamplona, Enero de
2024.

Resumen

Nestlé es una de las compañías de alimentos y bebidas más grandes del mundo, cuenta con más de 2000 marcas. Al tener una alta presencia en el mercado se hace necesario adoptar diferentes sistemas de gestión de inocuidad en los alimentos con el objetivo de otorgar al consumidor alimentos aptos para el consumo humano. El informe a continuación muestra los protocolos estandarizados por Nestlé mediante la NQAC que son aplicados en el laboratorio de Comestibles La Rosa, ubicado en el municipio de Dosquebradas. Se evaluó las condiciones y capacidades del laboratorio para la realización de los análisis que Nestlé requiere, también se realizó el monitoreo de patógenos de las líneas de fabricación y el monitoreo de los servicios industriales. Adicionalmente se realizó el monitoreo de *Salmonella* para los demás productos elaborados por las demás fábricas de Nestlé a lo largo del país. Se obtuvieron resultados conformes que permiten la liberación de los productos y que garantizan el buen funcionamiento de las líneas de producción, asegurando así, que los productos fabricados y distribuidos por Nestlé en su fábrica de Comestibles La Rosa sean aptos para el consumo humano.

Palabras clave: Monitoreo de patógenos, perfil microbiológico, galletas, cobertura, Wafer, *Salmonella*.

Abstract

Nestlé is one of the largest food and beverage companies in the world, with more than 2,000 brands. Having a high presence in the market, it is necessary to adopt different food safety management systems with the aim of providing the consumer with food suitable for human consumption. The report below shows the protocols standardized by Nestlé through the NQAC that are applied in the Comestibles La Rosa laboratory, located in the municipality of Dosquebradas. The conditions and capabilities of the laboratory were evaluated to carry out the analyzes that Nestlé requires, pathogen monitoring of the manufacturing lines and monitoring of industrial services was also carried out. Additionally, Salmonella monitoring was carried out for the other products manufactured by the other Nestlé factories throughout the country. Compliant results were obtained that allow the release of the products and guarantee the proper functioning of the production lines, thus ensuring that the products manufactured and distributed by Nestlé in its Comestibles La Rosa factory are suitable for human consumption.

Keywords: Pathogen monitoring, microbiological profile, cookies, coating, Wafer, *Salmonella*.

Índice General.

La Rosa, Nestlé	12
Objetivos	14
Justificación	15
Marco Teórico	17
Comestibles La Rosa	17
Laboratorio de Patógenos	18
Monitoreo De Patógenos En Comestibles La Rosa	18
Monitoreo De Servicios Industriales	20
Análisis De Aguas	20
Análisis De Aires Y Ambientes	22
Análisis De <i>Salmonella</i>	22
Marco Legal	26
Metodología	29
Medios de Cultivo	29
Determinación de las condiciones de Higiene del laboratorio de patógenos mediante un	
Plan de Autocontrol Interno (PAC)	38
Plan de Monitoreo de Patógenos	43
Plan de Monitoreo de Servicios Industriales	48

	7
Aguas de Fabricación	49
Aguas de Circuitos	51
Aguas de Bebederos y Dispensadores	53
Aguas de Torres de Enfriamiento	55
Unidades Manejadoras de Aire	56
Puntos de Salida de Aire Comprimido	57
Muestreo de Manipuladores y Uniformes	59
Muestreo de Herramientas y Repuestos	61
Determinación de <i>Salmonella</i> , de muestras de Bugalagrande y Valledupar (DPA).	62
Cronograma de Actividades	66
Resultados y Discusión	68
Determinación de las condiciones de Higiene de Laboratorio de patógenos mediante un Plan de Autocontrol Interno.	68
Plan de monitoreo de Patógenos	72
Plan de monitoreo de Servicios Industriales	78
Aguas de Fabricación	78
Aguas de Circuitos	79
Aguas de Bebederos y Dispensadores	80
Aguas de Torres de Enfriamiento	81

Unidades Manejadoras de Aire y Puntos de Salida de Aire Comprimido	82
Uniformes y Manipuladores	83
Herramientas y Repuestos	85
Determinación de <i>Salmonella</i> , de muestras de Bugalagrande y Valledupar	86
Conclusiones	89
Recomendaciones o Sugerencias	90
Referencias	91
Anexos	93

Índice de Tablas

Tabla No.1 <i>Medios de cultivo utilizados en el laboratorio de Patógenos</i>	30
Tabla No.2 <i>Plan de Autocontrol Interno del Laboratorio de Patógenos</i>	38
Tabla No.3 <i>Parámetros microbiológicos para plan de autocontrol interno</i>	42
Tabla No.4 <i>Perfil de monitoreo microbiológico de Comestibles La Rosa</i>	44
Tabla No.5 <i>Estándar para aceptación y planes de acción según la 3620.QA.PRO.016-11</i>	47
Tabla No.6 <i>Puntos de muestreo para AF</i>	49
Tabla No.7 <i>Puntos de muestreo para Aguas de Circuito</i>	51
Tabla No.8 <i>Criterio microbiológico para aguas de Circuito</i>	53
Tabla No.9 <i>Puntos de muestreo para Aguas de Bebederos y Dispensadores</i>	54
Tabla No.10 <i>Puntos de muestreo para las Aguas de Torres de enfriamiento</i>	55
Tabla No.11 <i>Criterio microbiológico para aguas de Torres de enfriamiento</i>	56
Tabla No.12 <i>Puntos de muestro para UMAs</i>	57
Tabla No.13 <i>Puntos de muestro para Aires Comprimidos</i>	58
Tabla No.14 <i>Criterio microbiológico para UMA y Aires Comprimidos</i>	58
Tabla No.15 <i>Criterio microbiológico para Manipuladores y Uniformes</i>	59
Tabla No.16 <i>Criterio microbiológico para Herramientas y Repuestos</i>	61
Tabla No.17 <i>Diluciones por matriz alimentaria</i>	63

Tabla No.18 <i>Registro Monitoreo Bimestral de ambientes operativos del laboratorio de patógenos</i>	68
Tabla No.19 <i>Registro Monitoreo de superficies, ambientes y equipos del laboratorio de patógenos</i>	70
Tabla No. 20 <i>Monitoreo productos terminados</i>	72
Tabla No. 21 <i>Monitoreo líneas de Producción</i>	73
Tabla No. 22 <i>Monitoreos ambientes</i>	73
Tabla No. 23 <i>Identificación microbiológica mediante el uso de API 20E</i>	76
Tabla No. 24 <i>Resultados generales de aguas de Fabricación</i>	79
Tabla No. 25 <i>Resultados generales de aguas de circuitos</i>	79
Tabla No. 26 <i>Resultados generales de Bebederos y Dispensadores</i>	80
Tabla No. 27 <i>Resultados generales de las aguas de Torres</i>	81
Tabla No. 28 <i>Resultados generales para unidades manejadoras de aire</i>	82
Tabla No. 29 <i>Resultados generales para puntos de salida de aires comprimidos</i>	83
Tabla No. 30 <i>Resultados generales para Manipuladores y Uniformes</i>	83
Tabla No. 31 <i>Resultados generales para Herramientas y Repuestos</i>	85
Tabla No. 32 <i>Resultados generales para muestras provenientes de DPA y Bugalagrande</i>	86

Índice de Figuras

Figura No. 1 <i>Incidencia relacionada a la contaminación de un ambiente o línea sobre el producto terminado</i>	75
Figura No. 2 <i>Comportamiento del porcentaje de desviaciones en muestras de manipuladores y uniformes</i>	84
Figura No. 3 <i>Representación de número de muestras analizadas de DPA y Bugalagrande</i>	87

La Rosa, Nestlé

Nestlé es la compañía de alimentos y bebidas más grande del mundo, que cuenta con aproximadamente 2000 marcas, que van desde íconos globales hasta favoritas locales. Con el objetivo de ir mejorando la calidad de vida y contribuir a un futuro más saludable. (Nestlé, s.f.)

Nestlé cuenta con diferentes fabricas a lo largo de todo el país de Colombia, desde el año 1944 Nestlé llega a Colombia y constituye la compañía Ciccolac en Valledupar, Cesar. A su vez, constituye la Industria Nacional de Productos Alimenticios (INPA S.A) en Bugalagrande, Valle del Cauca, hasta 1982 que disuelven la sociedad. Dos años después, en 1946, Bugalagrande da sus primeros frutos de producción de leches en polvo en Colombia, con NIDO y KLIM. No fue hasta 1971 que la marca La Rosa en Dosquebradas, Risaralda, comienza a ser parte del portafolio Nestlé con un 51% de participación, con la producción de galletas y chocolates, y adquiere el 100% de Comestibles La Rosa en el año 1984. Actualmente, Valledupar se encarga de la producción de leches de Nestlé, Bugalagrande las demás bebidas y los productos culinarios y La Rosa Dosquebradas la producción de galletas y chocolates. (Nestlé, s.f.)

La NQAC es el centro de Garantía de Calidad de Nestlé que brindan servicios al consumidor en el área de seguridad alimentaria y gestión de calidad. Se encargan de validar cada metodología utilizada por los laboratorios de sus fábricas, independientemente del producto o matriz alimentaria, trabajan para alimentos para bebé, panadería, cereales y granos, chocolates, café, té, agua, helados, cuidado de mascotas, entre otros. (NQAC, 2019).

En la industria alimentaria, el control de la calidad abarca principalmente la inocuidad de los alimentos y la defensa de los mismos, garantizando que el producto final destinado al consumidor no sea un alimento adulterado, contaminado y/o que represente un riesgo para la

salud pública, controlando las condiciones básicas de higiene en la fabricación de los alimentos (Res.00002674, 2013).

Nestlé adopta varios sistemas de gestión de inocuidad de los alimentos, lo que es una decisión estratégica para la organización que puede ayudar a mejorar su desempeño general en materia de inocuidad de los alimentos, tales como HACCP y FSSC 22000, lo que les otorga la capacidad de proporcionar constantemente alimentos inocuos. En la fábrica de Comestibles La Rosa, Dosquebradas, cada alimento es analizado desde tres parámetros fundamentales para asegurar la calidad, siendo estos el fisicoquímico, el sensorial y el microbiológico.

Dicho análisis microbiológico abarca las diferentes líneas de producción, superficies y ambientes, manipuladores, herramientas, utensilios y repuestos, aguas destinadas para la fabricación y de los circuitos de calentamiento y enfriamiento. Permitiendo determinar la presencia, ausencia o contar los microorganismos que puedan estar en dichos puntos de muestreo. Al utilizar estos indicadores de higiene, nos otorga un dictamen sobre la efectividad y eficacia de los procesos de limpieza y desinfección, de las buenas prácticas del manipulador y sobre la calidad de cada ingrediente e inclusive el agua utilizada. En el presente trabajo, se lleva un seguimiento sobre cada análisis microbiológico necesario para garantizar la calidad de los alimentos, determinando su aceptabilidad según los lineamientos establecidos por la NQAC y la normativa colombiana, llevando a cabo planes de acción y corrección cada que sea necesario.

Objetivos

Objetivo General:

Asegurar la calidad microbiológica de los alimentos fabricados y empacados en Comestibles La Rosa destinados al consumo humano.

Objetivos Específicos:

- Determinar las condiciones de higiene y sanidad dentro del laboratorio de patógenos de Comestibles La Rosa.
- Verificar la inocuidad del producto terminado y el estado actual de higiene de cada proceso de producción de la fábrica a través de un Plan de Monitoreo de Patógenos (PMP) y de Servicios Industriales.
- Analizar la calidad microbiológica mediante la detección de *Salmonella* en los productos de Nestlé fabricados o distribuidos por sus fábricas en Bugalagrande y Valledupar (DPA).

Justificación

El plan de autocontrol interno, es llevado a la práctica en el laboratorio como necesidad de otorgar resultados confiables, que garantizan la implementación de las buenas prácticas y demuestra las aptitudes del personal del laboratorio, evitando así falsos positivos que acarreen mayores controles de higiene innecesarios en las fábricas, generando mayores costos y pérdidas.

Comestibles La Rosa, cuenta con distintas líneas de fabricación, en donde cada una produce un grupo de alimentos específicos. Se evalúan diferentes puntos de muestreo de cada línea y ambientes cercanos a las líneas, esto, debido a que es mejor la detección de una contaminación antes del producto terminado, que una acción correctiva cuando el producto terminado está contaminado, dichos puntos están estipulados en el PMP (Procedimiento de Monitoreo de Patógenos), el cual sirve como guía o directriz para establecer un sistema de monitoreo preventivo, lo que va permitir la detección y la identificación de posibles fuentes de *Salmonella* y enterobacterias. Los microorganismos patógenos e indicadores de las condiciones de higiene en la que se están produciendo los alimentos y en el producto final, son enterobacterias, *Escherichia coli*, aerobios mesófilos y mohos y levaduras, quienes indican si se están teniendo o no buenas prácticas durante la producción.

El microorganismo de interés de la fábrica, y la razón de ser del laboratorio de Patógenos de Comestibles La Rosa, es *Salmonella*, esto, debido a que este patógeno no solo puede multiplicarse entre un a_w de 0.94-0.995 sino que también persistir en alimentos con a_w inferiores a 0.94 como en chocolate, nueces y mantequilla de maní. La cinética de muerte de *Salmonella*, es decir, la fase donde las condiciones no favorecen el crecimiento de nuevas células, superando el número de células muertas a las nuevas, en los alimentos dependerá de diversos factores, por ejemplo, su composición química, debido a que la grasa genera un proceso protector, también el

método de cocción a utilizar (aire húmedo, aire seco, microondas) y el serovar de *Salmonella* también influyen. (INS, 2011).

Nestlé tiene como principio ser un pilar en la nutrición y bienestar en Colombia, enfocándose en campañas hacia la juventud y niñez promoviendo hábitos saludables, para lograr esto en primer lugar se requieren alimentos inocuos aptos para el consumo humano. De esta manera, el laboratorio de patógenos de Comestibles La Rosa, cumple el rol primordial de liberar aquellos productos inocuos, que no causen daño al consumidor, analizando y detectando de manera temprana cualquier contaminación en los más de 15 productos que se fabrican y/o se empacan en Comestibles La Rosa y por supuestos de los ensayos o innovaciones. Del mismo modo, el laboratorio de patógenos presta sus servicios para la detección de *Salmonella* a la fábrica de Valledupar y Bugalagrande, analizando todas las referencias de leche en polvo, bebidas (Milo, Nesquik, Nescafé, entre otros), culinarios (Crema, sopas instantáneas, condimentos, sazónadores), las distintas materias primas que utilizan y los frotis de ambientes o superficies de sus fábricas, ayudando a cumplir con los requerimientos de calidad e inocuidad de todos los productos Nestlé.

Marco Teórico

Comestibles La Rosa

La fábrica La Rosa fue fundada en 1948 y actualmente genera alrededor de 590 empleos directos. Cuando nació esta empresa, el terreno en el que está era parte del corregimiento de Dosquebradas, adscrito al municipio de Santa Rosa de Cabal; de ahí nace su nombre. (Pereira Gobierno de la ciudad, capital del eje (2022)). Ubicada en el Eje cafetero, Comestibles La Rosa, perteneciente a la multinacional Nestlé, fue construida en el año de 1948 e inaugurada en 1950 por la compañía estadounidense Grace Line Company, dio inicio con la producción de galletería, chocolatería y confitería dura y blanda (Bustamante, 2012). Actualmente, la fábrica produce al mercado, Cocosette Wafer, Cocosette Sandwich, Cocosette Chocosandwich, Milo Anillos, Milo Chocointense, Milo Choco&Leche, Milo Sandwich, Saltinas Doré, Saltinas Integrales, Saltinas Mantequilla, Saltinas Original, Saltinas Tris y Galletas Macarenas Dulces, estas referencias en el ámbito de galletería, y en chocolates recubiertos, se fabrican y distribuyen Deditos, Milo Nuggets, Beso de Amor y Morenitas, a su vez, de Cobertura de Chocolate con Leche y Semiamarga. (Nestlé, s.f).

Comestibles La Rosa, es la cara de la región a nivel de producción de galletas, siendo una marca principal dentro de la fábrica la frase Galleteros de Corazón, siendo las galletas un producto secundario de la panadería específicamente categorizándose en productos dulces, y estos, están sujetos a deterioro físico, químico que limita la vida útil de los productos con humedad baja e intermedia, y el deterioro microbiológico causado por bacterias, levaduras y mohos, es una preocupación a la salud pública, debido a que estos productos han sido implicados en enfermedades transmitidas por alimentos que involucran especies de *Salmonella* (Smith, 2004).

Laboratorio de Patógenos

Ante la necesidad del conocimiento sobre las condiciones microbiológicas de la fábrica, durante todo el proceso de producción de los productos, se constituye el laboratorio de patógenos, en donde se realizan los análisis microbiológicos (uno de los tres pilares de la calidad, junto a fisicoquímica y sensorial), el cual se rige bajo los instructivos y/o lineamientos de la NQAC para cada uno de sus métodos. Para garantizar que los resultados otorgados por el laboratorio sean confiables, las condiciones de higiene del trabajo dentro del laboratorio deben ser óptimas, y para esto se realiza un Plan de Autocontrol Interno (PAC), en donde se evidencia las buenas prácticas del laboratorio.

Monitoreo de Patógenos en Comestibles La Rosa

Conociendo la importancia del patógeno *Salmonella* en la industria y su capacidad de sobrevivir en alimentos con baja actividad acuosa, en el laboratorio de patógenos de Comestibles La Rosa rigen distintos análisis con el objetivo de cubrir completamente cada parámetro dentro y fuera de la producción que pueda afectar la calidad de los alimentos producidos y empaquetados en la fábrica. El Procedimiento de Monitoreo de Patógenos (PMP) provee una guía para establecer un sistema de monitoreo con base en la prevención, lo que va permitir la detección y las posibles fuentes de contaminación por *Salmonella* spp antes de una contaminación del producto final. Esto, en productos terminados, líneas de producción/fabricación, materias primas y superficies o muestras ambientales. Del mismo modo, la detección y enumeración de enterobacterias y como interpretar sus resultados para determinar de manera su acción correctiva, que generalmente constan de un aseo húmedo controlado, es decir, con un uso limitado de agua, sin embargo, existen áreas en que el aseo es en seco.

A nivel de prioridad en recepción y análisis, encontramos en primer lugar el producto terminado, el cual se va a ordenar por susceptibilidad del alimento a contaminación, esto debido a sus componentes, priorizando coberturas, recubiertos y galletas en productos de Comestibles La Rosa y, bebidas y culinarios de la fábrica Bugalagrande, y desde la fábrica de Valledupar, leches como prioridad. La categoría de alimentos referencia un grupo de tipos de alimentos del mismo origen y características similares, tipo de alimento para aquellos procesados de manera similar y alimento, a una matriz específica. (LI-00.765-05)

Seguidos por las materias primas, específicamente aquellas sometidas a liberación por análisis de *Salmonella*, siendo aquellas que se incluyen a los productos sin pasar por un tratamiento de inactivación. Para las muestras ambientales se debe determinar su prioridad, esto mediante su ubicación o proximidad hacia el producto. Las superficies que entran en contacto con el producto se consideran líneas, e irían después del producto terminado. Las muestras ambientales de primera prioridad están ubicadas en proximidad inmediata, que, en caso de una contaminación, está podría transferirse al alimento y se denominan E1. Las muestras ambientales de segunda prioridad, denominadas E2 se ubican alrededor de las E1 y un poco alejadas de las líneas y al producto no expuesto, no son causa directa de contaminación hacia el producto, pero cabe la mínima posibilidad de que contamine un E1 y escale. Por último, las muestras ambientales de tercera prioridad, son áreas alejadas de la línea y del producto expuesto que sirven como prevención de una ruta de ingreso del contaminante, y reciben el nombre de E3. Este sistema de monitoreo nos permite localizar focos potenciales de contaminación, puntos potenciales de entrada de contaminaciones y la trazabilidad de aquellos puntos que se han contaminado. (3620.QA.PRO.016-10). El PMP establece que puntos son analizados para el patógeno *Salmonella*, para EB o para ambos análisis. En el caso de análisis para enterobacterias, se utilizan

petrifilm 3M para coliformes y para *E. coli*, ambos contienen nutrientes VRBL con un indicador de tetrazolio, con la diferencia que las placas petrifilm para *E. Coli* contienen adicionalmente un indicador de actividad β -glucuronidasa. (LI-00.738-3).

Utilizado para la liberación de líneas y superficies que se encuentran en contacto con el producto final, también, para el muestreo de manipuladores, herramientas y repuestos. Se aplica un método cuantitativo para el recuento de coliformes, utilizando placas de recuento Petrifilm 3M EB para Enterobacteriaceae y Petrifilm 3M EC para *E. coli*. La placa de recuento de enterobacterias consta de una lámina de medio VRBG (violeta rojo y bilis glucosa agar) seco, y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de las colonias, esta sal, inicialmente soluble amarillo pálido se convierte en un precipitado insoluble de color purpura, denominado formazán (Constante, 2020).

Las enterobacterias son bacilos gramnegativos, oxidasa negativos que fermentan la glucosa produciendo ácido y/o gas. En las placas de Petrifilm 3M EB, las colonias crecen de color rojo con zonas amarillas y/o colonias de color rojo con burbujas de gas. Su incubación es a 37°C +/- 1°C durante 24h +/- 2h. A diferencia de estas placas, las utilizadas para *E. coli* contienen un indicador de actividad para la enzima β -glucuronidasa dando a las colonias el color azul característico. Su incubación es a 37°C +/-1°C durante 24h +/- 2h. (LI-00.758-01).

Monitoreo de Servicios Industriales

Análisis de aguas

Para evitar una contaminación, es indispensable el análisis de todo lo que precede al producto terminado, para esto, en Comestibles La Rosa, rige un procedimiento que incluye muestreos de las aguas de fabricación, circuito y las aguas de torre de enfriamiento, y por el bienestar y salud

de los fabricantes, mensualmente también se analizan las aguas de los dispensadores y bebederos ubicados en cada área que conforma la fábrica, unidades manejadoras de aire, uniforme y manipuladores de alimentos, herramientas y repuestos.

Las aguas de fabricación son las utilizadas para preparar las masas. Esta muestra, se toma en bolsas estériles con tiosulfato de sodio, específicamente, 7.1 mg de tiosulfato de sodio pentahidratado para inactivar 1mg de cloro, aproximadamente 100 ml de la muestra de agua. Para la toma de la muestra, es indispensable realizar la desinfección de la boquilla con alcohol al 70%, isopropanol 70% o solución de hipoclorito 1g/L, seguido de una purga que debe ser alrededor de 10 segundos, para los puntos de muestreo de baja frecuencia de uso, como lo es la pre-mezcladora 2, esta purga deberá ser de 30 segundos, de esta manera, nos aseguramos que al momento de determinar la calidad del agua no se va ver afectada por contaminaciones superficiales. Los análisis a realizar son coliformes totales y *Escherichia coli* mediante el uso del sustrato definido Colilert (LI-10.118). Para las aguas de bebederos y fabricación también se analiza coliformes totales y *E. coli* mediante el uso de un sustrato definido Colilert, el cual contiene dos indicadores de nutrientes usadas como fuentes de carbono, ONPG metabolizado por la enzima β -Galactosidasa y MUG por β -glucuronidasa. Los coliformes usan la β -Galactosidasa para metabolizar el ONPG, cambiando el agua incolora a color amarillo, *E. coli* usa β -glucuronidasa y metaboliza el MUG y crea fluorescencia (IDEXX. (s.f.)).

Para las aguas usadas en los circuitos cerrados, aquellos que mantienen una temperatura ideal sea de enfriamiento o de calentamiento, la toma de muestra es igual a las de agua de fabricación, estas aguas no deben entrar en contacto directo con el producto, sin embargo, se analizan como acción preventiva del estado higiénico de los circuitos para evitar una contaminación por fugas o fallas de los sistemas. Para el monitoreo de los circuitos se utiliza la filtración por membrana

para analizar Coliformes totales (ISO-9308-1:2014). Para microorganismos cultivables (aerobios mesófilos) se realiza vertido en placa o siempre por profundidad, las aguas de circuitos usadas en camisas de enfriamiento se incuban a $22^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ durante 68 ± 4 horas y las usadas en el calentamiento de tanques se incuban a $36^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ durante 44 ± 4 horas. En casos de resultados desviados se realizará análisis para *Salmonella*, ausencia en 100ml (ISO 19250:2010). Las aguas de torres de enfriamiento se analizan cada tres meses (trimestral), estas, no tienen contacto directo ni indirecto con el producto terminado, contribuyen a la refrigeración de los motores y de los compresores de amoniaco.

Análisis de aires/ambientes

Las unidades manejadoras de aire (UMA's) son los sistemas encargados de otorgar las condiciones de humedad en las líneas de fabricación, también recirculan el aire frío a los túneles de enfriamiento con el objetivo de garantizar la temperatura ideal para el producto. Se realiza de manera trimestral, mediante una exposición de placa, en agar OGY durante 15 minutos en las áreas correspondientes. Las cajas de Petri se incuban a 25°C durante 5-7 días.

Los puntos de salida de aire comprimido son aquellos que tienen contacto directo con el producto previo al empaque, el muestreo es mensual con la metodología exposición en placa, para análisis de mohos y levaduras con agar OGY a 25°C durante 5 días y para análisis de aerobios mesófilos con agar PCA a 30°C durante 2 días.

Análisis para *Salmonella*

Aunque hablamos de la incidencia de *Salmonella* en alimentos con a_w bajo o intermedio, encontrar una caracterización del riesgo de contaminación por patógenos transmitidos por alimentos con múltiples ingredientes es complejo. El nivel de riesgo puede variar en el producto

final dependiendo de las posibles contaminaciones de cada uno de sus ingredientes, grasa, mantequilla de maní y/o chocolate, lo que va a afectar su eficacia de inactivación. Porque cada matriz alimentaria puede formar diferentes microambientes locales por las propiedades fisicoquímicas de cada ingrediente, es decir, la distribución microscópica del agua genera microambientes locales distintos en una misma matriz alimentaria, lo que permite que patógenos como *Salmonella* prevalezcan en alimentos de muy baja humedad, y que dependiendo del ingrediente que inicie la contaminación va afectar críticamente la inactivación térmica. Permitiendo resaltar la importancia de un diseño útil y la validación de procesos donde se reflejen los ingredientes de mayor riesgo en la formulación de alimentos con ingredientes múltiples (Haiping, 2014). En este estudio, publicado en el 2014, mencionan que a una temperatura específica la galleta que se realizó con leche descremada contaminada mostró mayor reducción logarítmica que la galleta fabricada con la inoculación de la cepa en la mantequilla de maní.

El hecho de que ocurran brotes de enfermedades en alimentos de a_w bajos genera un gran impacto en la inocuidad alimentaria, debido a que la reducción de esta actividad hídrica en los alimentos funcionaba como medida de control en la cinética microbiana de los microorganismos patógenos. Alimentos como la leche en polvo, las nueces, los chocolates, los frutos secos y las harinas se consideraban alimentos seguros debido a su supresión del crecimiento microbiano ya sea por su baja actividad acuosa, que sufren procesos de cristalización, deshidratación, desecación y oxidación lipídica, que no son favorables para los microorganismos, sin embargo muchos patógenos son capaces de sobrevivir en estas condiciones no favorables durante meses o incluso años, lo que representa un motivo de gran preocupación para la industria alimentaria. La presencia de *Salmonella* en estos brotes, resalta las fallas en las buenas prácticas de fabricación y

manipulación de los alimentos, gracias a su alta capacidad de persistir en el medio ambiente se convierte en uno de los principales retos de la industria alimentaria. (Martins, 2022).

Utilizado para la liberación de lotes o productos, materias primas, ambientes y en caso de trabajo de contratistas en la fábrica, a todo lo que se vaya a ingresar, desde plataformas, extractores, hasta herramientas y utensilios. Para el análisis de *Salmonella* el laboratorio de patógenos de La Rosa, necesita de un método acorde a la cantidad de muestras que se reciben y se generan día tras día, puesto que el volumen de trabajo para este patógeno es alto, procesándose día a día un promedio de más de 100 muestras, llegando haber días con más de 200 muestras para *Salmonella*, para esto, se cuenta con un instrumento denominado VIDAS el cual es un ensayo cualitativo, que utiliza un sistema automatizado con antígenos y fluorescencia ligado a enzimas, antes del ensayo, las muestras se enriquecen en un caldo específico para permitir la recuperación y el crecimiento de *Salmonella*. El pre-enriquecimiento no varía al método tradicional, con una incubación a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 16h-22h, para el enriquecimiento secundario o selectivo, requiere de un caldo específico denominado SX2, que se incubara a $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 22h-26h. (ISO16140:2003) (LI-00.742-02). A nivel general la ISO 6579-1 del 2017, nos describe el método horizontal para la detección, enumeración de *Salmonella*, el cual consta de un pre-enriquecimiento selectivo en donde se inocula la porción de prueba con agua de peptona, incubándose entre $34-38^{\circ}\text{C}$ durante 18 horas. El siguiente paso es el enriquecimiento en medios selectivos, se puede utilizar caldo RVS (Rappaport Vassiliadis) o el agar MRSV, y se incuba a $41,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Posterior a esta incubación, se inoculan en dos medios sólidos selectivos, agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y cualquier otro medio selectivo sólido complementario al agar XLD, como lo pueden ser el agar MLCB, DCLS, CHROM agar *Salmonella*, entre otros, incubándose a 37°C durante 24 horas. Para la confirmación, se utilizan

pruebas bioquímicas y serológicas, las primeras, incluyen TSI el cual generalmente es K/A, por la degradación de la glucosa y no de la lactosa y sacarosa con producción de gas y sulfuro de hidrogeno. El agar UREA en donde *Salmonella* no hidroliza la urea. Medio de descarboxilación de L-lisina en donde la mayoría de los serotipos de positiva a excepción de *S. paratyphi* A. Y el medio para la reacción de Indol, utilizado para discriminar a *Salmonella* quien es Indol negativa de *E. coli* y *Citrobacter* ambos, indol positivo. (ISO-6579-1: 2017). También se respalda el resultado presuntivo mediante pruebas serológicas mediante la auto aglutinación con los antígenos O y H en portaobjetos utilizando antisueros polivalentes.

Marco Legal

Resolución 2674 de 2013: Dicta los requisitos sanitarios que deben cumplir las personas naturales y/o jurídicas que ejercen actividades de fabricación, procesamiento, preparación, envase, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización de alimentos y materias primas de alimentos, con el objetivo de proteger la vida y salud de las personas.

Decreto 3075 de 1997: Regulan todas las actividades que puedan generar factores de riesgo por el consumo de alimentos, estableciendo las condiciones básicas de higiene en la fabricación de alimentos, los equipos y utensilios a usar, el estado de salud y capacitación de los manipuladores de alimentos y los requisitos higiénicos de fabricación.

Resolución 2115 de 2007: Señala las características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. En sus características microbiológicas establece las técnicas aceptadas para realizar los análisis microbiológicos de agua para consumo humano, siendo para *E. coli* y coliformes totales, filtración por membrana, sustrato definido, enzima sustrato y presencia/ausencia.

ISO 9308-1:2014: Especifica un método para el recuento de *E. coli* y bacterias coliformes, basado en la filtración por membrana, el cultivo posterior en un medio de agar coliforme cromogénico y el cálculo del número de organismos diana en la muestra.

ISO 6579-1: 2017: Esta norma internacional proporciona directrices generales para la detección de especies de *Salmonella* aplicable a productos destinados al consumo humano y a la alimentación de animales, así como para muestras ambientales en el área de producción y manipulación de alimentos.

LI-00.742-02: Establece un método basado en uno alternativo validado por AFNOR, está validación por AFNOR es según el protocolo de la ISO 16140:2003, para la detección cualitativa de *Salmonella* mediante el VIDAS, un sistema de inmunoensayos automatizado, basado en la tecnología ELFA (Combinación del método ELISA junto a una lectura final por fluorescencia).

ISO 6222:1999: Método para la enumeración de microorganismos cultivables sobre la calidad de agua.

LI-00.738-3: Describe el método cuantitativo para el recuento de coliformes utilizando los petrifilm de 3M para coliformes y *E. coli*.

LI-10.118: Describe el método para la detección cualitativa de coliformes totales y *E. coli* en agua mediante el uso de un sustrato definido Colilert.

LI-00.762-01: Describe un método cuantitativo para recuento de microorganismos mesófilos aerobios.

ISO 19458:2006-11: Norma internacional que proporciona directrices generales respecto a la planificación de programas de muestreo de agua para el análisis microbiológico determinando la calidad del agua.

3620. QA.PRO.017-11: Establece los puntos de muestreo, criterios y frecuencias para el monitoreo de la Fábrica Comestibles la Rosa S.A.

ISO 22000: Establece las medidas de control y combinaciones de las medidas de control del Plan de Control de Peligros (HACCP), el cual determina los límites críticos y el criterio de acción.

FSSC 22000: Norma que fomenta la implementación precisa de sistemas de gestión de calidad y la inocuidad de los alimentos mediante el cumplimiento continuo de los requisitos internacionales de la industria alimentaria.

Metodología

El análisis microbiológico con énfasis en la calidad y en la fabricación de productos aptos para el consumo humano se lleva a cabo en el laboratorio, ubicado en La Rosa Nestlé, del municipio de Dosquebradas. Cada metodología expresada a continuación se rige bajo los instructivos y validaciones hechas por la NQAC, Nestlé Quality Assurance Center, es una unidad operativa global que está diseñada para proporcionar pruebas de seguridad alimentaria de la más alta calidad. El grupo de calidad e higiene establece los puntos de muestreo en el transcurso de las líneas de producción, monitoreo a las materias primas y el producto terminado, dando énfasis en la preproducción y el transcurso de la misma, para garantizar que el producto final sea apto para el consumo y liberarse lo más pronto posible, manteniendo productos frescos para la venta al público.

Medios de Cultivo

En las instrucciones del laboratorio, la LI-00.765-05 nos menciona la preparación de las muestras y por ende los medios a utilizar. Cada uno cuenta con ciclos de esterilización específicos, para la elaboración de NFDM (leche en polvo descremada) se utiliza 100ml de en donde se colocará el sensor de la temperatura, para los demás medios de cultivo, BPW y Tween80. se utiliza 200 ml de agua para colocar el sensor de temperatura del autoclave. El BPW, agua de peptona tamponada o buferada, es el medio de pre-enriquecimiento o enriquecimiento previo no selectivo más utilizado, para una variedad amplia de microorganismos en alimentos, incluida *Salmonella* spp y *Cronobacter* spp (Neogen, 2023). El Tween 80, es un emulsionante no iónico ampliamente utilizado en la industria farmacéutica, de cosméticos y alimentos, que permite obtener una mayor recuperación de los microorganismos presentes en una muestra (Nielsen, 2016).

El laboratorio maneja diferentes ciclos en el autoclave para la esterilización de cada medio, para los medios usados como pre enriquecimiento o enriquecimiento previo, los cuales son BPW, Tween80 y NFDM, al producirse en grandes cantidades requieren mayor tiempo de esterilización siendo este de 50 min, que sumado al pretratamiento y al postratamiento da un total aproximado de 3 horas por ciclo, en este ciclo por recomendaciones del proveedor se permite un máximo de 12 tarros plásticos, cada uno de 3600ml para que el calor sea homogéneo en cada uno de ellos , en cuanto a los agares y caldos el tiempo de esterilización en el autoclave es de 15min, con un tiempo total aproximado de 2 ½ h, para el ciclo de agares y caldos, el sensor de temperatura va posicionado en un recipiente con 100ml de agua (igual al ciclo de NFDM).

La temperatura y presión como parámetro es estándar para todos los ciclos, la cual es de 121,2°C a 20psi. La variedad de medios utilizados, su fundamento y el análisis para el cual será utilizado, así como las condiciones de incubación se mencionan en la Tabla No.1.

Tabla No.1

Medios de cultivo utilizados en el laboratorio de Patógenos.

Medio de cultivo	Análisis	Fundamento	Normativa
BPW	Pre-enriquecimiento no selectivo para detección cualitativa de <i>Salmonella</i> spp. Microbiología general	Caldo rico en nutrientes que produce una alta recuperación microbiana y crecimiento eficiente. El sistema tampón fosfato previene el daño bacteriano debido a cambios de pH en	LI-00.765-05 ISO-6579-1:2017

	(Enterobacterias, coliformes/ <i>E. coli</i> , aerobios mesófilos, mohos y levaduras.	el medio. La incubación es durante 16h – 22h a 37°C +/- 1°C.	
Tween 80	Pre-enriquecimiento no selectivo para detección cualitativa de <i>Salmonella</i> spp, y microbiología general, para aceite puro, grasa y productos que contengan más del 20% de grasa.	Tensoactivo no iónico, mayor recuperación de microorganismos en alimentos con grasa, afecta la concentración de ácidos grasos celulares proporcionando las condiciones óptimas para el crecimiento microbiano. Una vez inoculada la muestra con Tween 80 se procederá a incubar durante 16h – 22h a 37°C +/- 1°C	LI-00.765-05
Agar DG-18	Mohos y levaduras, productos terminados, materias primas. Adicionar glicerol según instrucciones del fabricante.	Medio selectivo para hongos xerofílicos en alimentos secos y semisecos. El glicerol reduce la actividad de agua al mismo tiempo que es su fuente de carbono, y el cloranfenicol inhibe bacterias contaminantes. Resultados positivos, crecimientos de colonias características conforme a cada especie. Tiene un pH ligeramente ácido (pH	3620. QA.PRO.017-11

		5.6). Su incubación es a 25° C durante 3-5 días.	
Agar OGY	Unidades manejadoras de aires (UMA) y puntos de salida de aire comprimido. Se adiciona la oxitetraciclina después de la esterilización en autoclave.	Medio selectivo para el aislamiento y enumeración de mohos y levaduras en productos alimenticios. La oxitetraciclina inhibe el crecimiento bacteriano. Este medio inhibe los organismos acidófilos al poseer pH neutro. El extracto de levadura es la fuente de micronutrientes, y la glucosa la fuente de carbono. Crecimiento característico a cada especie. Su incubación es a 25°C durante 3-5 Días.	3620. QA.PRO.017-11
Agar PCA	Aerobios mesófilos de ambientes y cabinas de bioseguridad, monitoreo de puntos de salida de aire comprimido, siembra por profundidad para	Alto contenido nutricional, lo que permite un crecimiento óptimo de las mayorías de poblaciones microbianas, contiene dos fuentes de carbono, el extracto de levadura y la glucosa, y tripteína como fuente de nitrógeno. Su incubación es a 30°C durante 44 +/-4 h (2 días).	ISO 6222:1999

	muestreo de aguas de circuitos.		
Agar Chromocult	Bacterias coliformes y <i>E. coli</i> , filtración por membrana, aguas de fabricación y de circuito.	Agar selectivo y diferencias para coliformes y <i>E. coli</i> . Está ultima cuenta con dos enzimas, β -D-glucuronidasa y β -D-galactosidasa, que escinden los sustratos X-glucurónido y Salmon-Gal respectivamente, produciendo colonias color azul morado. Mientras que los demás coliformes solo cuentan con la enzima β -D-galactosidasa, que al escindir el sustrato Salmon-Gal producen colonias rojas o rosadas. Su incubación es a $36\pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 21 ± 3 h.	ISO 9308-1:2014 3620. QA.PRO.017-11
Agar VRBG	Muestreo de uniformes.	Agar selectivo y diferencial para enterobacterias, sus fuentes de nutrientes son la peptona de gelatina, glucosa y el extracto de levadura, contiene sales biliares y cristal violeta que inhiben el crecimiento de gram positivas. Las colonias típicas son de color rojo con un halo de color amarillo	3620. QA.PRO.017-11

		alrededor de la misma. Su incubación es a 37°C +/- 1°C durante 18-24 h.	
Agar XLD	Presuntivos para <i>Salmonella</i>	Contiene tres carbohidratos fermentables, la xilosa, lactosa y sacarosa responsables de la formación de ácido y el cambio de color rojo a amarillo del medio. Permite la formación de sulfuro de hidrogeno en pH alcalino mediante la reacción de tiosulfato de sodio con el citrato de amonio férrico. Para <i>Salmonella</i> una vez consumida la Xilosa, la lisina es atacada revertiendo a un pH alcalino. Sus colonias típicas son de color rojo con centro negro. La incubación es a 37°C +/- 1°C durante 24h +/- 3h.	LI-00.713 ISO-6579-1: 2017
Agar MLCB	Presuntivo para <i>Salmonella</i> .	Medio selectivo y diferencial para <i>Salmonella</i>, contiene peptona, carne y extracto de levadura como fuente de nutrientes, se fermenta el manitol y se descarboxila la lisina. Las colonias típicas son de color purpura o negro debido a la producción de sulfuro de	MBD-BT-SPEC0203

		hidrogeno. Se incuba a 37°C +/- 1°C durante 18h +/- 3h.	
Agar nutritivo	Aislamiento de bacterias para realización de pruebas bioquímicas y/o API 20E.	Medio de cultivo no selectivo, contiene nutrientes necesarios para el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos, contiene peptona y extracto de carne como fuente de nutrientes. Su incubación es a 36°C +/- 2°C durante 24h +/-3h.	ISO-6579-1:2017
Caldo SX2	Enriquecimiento secundario para <i>Salmonella</i> .	Caldo selectivo para el enriquecimiento selectivo durante el análisis de <i>Salmonella</i> , proveedor bioMérieux. La incubación de este paso, es a 41,5°C +/- 1°C durante 22-26 h.	LI-00.742-02
Agar ASAP	Medio cromogénico selectivo para <i>Salmonella</i> spp	Medio utilizado para la confirmación del VIDAS, también producto de bioMérieux. Contiene X-Gal y magenta-caprilato como agentes cromogénicos. Al degradar este último, se producen colonias colore magenta características de <i>Salmonella</i> . Su incubación es a 37°C durante 24h.	LI-00.742-02

Caldo Tryptona salada	Reacción de indol	Diluyente, la Tryptona asegura una recuperación de microorganismos y el cloruro de sodio proporciona una solución isotónica. Es utilizado en el laboratorio para realizar la prueba de indol, para <i>E. coli</i> .	ISO-6579-1: 2017 LI-00.765
NFDM	Leche seca sin grasa, pre enriquecimiento para <i>Salmonella</i> , para productos que contienen cacao y bebidas de chocolate.	Leche descremada deshidratada para usar en la preparación de medios de cultivo microbiológicos en el laboratorio, usada en el enriquecimiento previo para <i>Salmonella</i> . Su incubación es a 37°C +/- 1°C durante 16h-22h.	LI-00.765-05
COMPACT DRY	Aplicable a materias primas, líneas, productos terminados y muestras ambientales.	Contiene un medio nutritivo estándar para la detección del recuento total en placa. Contiene cloruro de trifeniltetrazolio, un indicador redox que hace que ciertas colonias se coloreen de rojo después de los dos días de incubación. Su incubación es a 30°C durante 48h.	LI-00.762-01
EB PETRIFILM	Enumeración de enterobacterias en	Lámina de medio seco listo para usar, consta de agar VRBG y un indicador	LI-00.758-01

	materias primas, muestras ambientales, muestras de líneas y productos terminados	tetrazolio que facilita la numeración de las colonias. Su incubación es a 37°C durante 24h.	
<i>E. coli</i> PETRIFILM	Recuento de coliformes y <i>E. coli</i> , aplicable a todos los alimentos.	Lámina de medio seco listo para usar, consta de agar VRBG y un indicador tetrazolio que facilita la numeración de las colonias adicionalmente contiene un indicador de actividad β -glucuronidasa, lo que permite observar colonias de <i>E.</i> <i>coli</i> color azul o moradas. Su incubación es a 37°C durante 24-48h	LI-00.738-3

A su vez, para la identificación de los microorganismos aislados de interés, sean presuntivos o por algún foco de infección en el que se quiere profundizar más, es decir, conocer de mejor manera el posible microorganismo causante de la desviación por enterobacterias, de un producto, una línea o un ambiente, se maneja un sistema estandarizado para la identificación de enterobacterias, denominado API 20E, el cual incluye 21 test bioquímicos miniaturizados, así como una base de datos. Una vez aislado en agar nutritivo la cepa de interés preferiblemente un cultivo joven entre 18-24h, se toma una colonia y se deposita dentro de una ampolla de API NaCl 0,85% y se homogeniza, ayudándose de una pipeta Pasteur inocular la galería, gota a gota

evitando la formación de burbujas, las pruebas de citrato, VP y gel se inoculan hasta la cúpula, las pruebas ADH, LDC, ODC, H₂S, URE se llenan el tubo y, con aceite de parafina se llena la cúpula creando una atmósfera anaerobia. A la base de la cámara de incubación se añaden gotas de agua destilada, encima se coloca la galería ya inoculada y por último la tapa, cerrando la cámara de incubación. Se inocula a 36°C +/- 2°C durante 18-24 horas. Después de la incubación la galería se lee según la Tabla de lectura (otorgada por el proveedor), existen tres pruebas que requieren adición de un reactivo, como lo es la prueba TDA donde un color marrón rojizo nos indica el resultado positivo a triptófano desaminasa, la prueba VP, que se le adiciona VPA y VPB, y por último la prueba indol IND se le adiciona el reactivo de JAMES, esta se recomienda realizarse hasta el final debido a la liberación de gases que pueden alterar la interpretación de las demás pruebas. Una vez interpretado los resultados, estos se introducen en la base de datos en donde se otorgará uno o varios taxones significativos.

Determinación de las condiciones de Higiene dentro del laboratorio de patógenos mediante un Plan de Autocontrol Interno (PAC)

Es un sistema de monitoreo aplicado para evaluar el nivel de higiene dentro de las distintas áreas que conforman el laboratorio de patógenos, las que incluye, el área de recepción, área de pre-enriquecimiento y el área de siembra, tomando muestras con una frecuencia de monitoreo y un análisis específico. La ubicación de los puntos de muestreo, así como su frecuencia y el tipo de análisis a realizar, se pueden ver en la tabla No.2. A nivel general, se da prioridad a los ambientes E1 cuyos análisis son semanales, mientras que a los E2 se realiza de manera mensual.

Tabla No.2

Plan de Autocontrol Interno del Laboratorio de Patógenos.

Superficie / Ambiente	Frecuencia	Análisis
Ambiente cabina de flujo laminar 1 (Pre-enriquecimiento).	Semanal	Aerobios mesófilos.
Ambiente cabina de flujo laminar 2 (Pre-enriquecimiento).	Semanal	Aerobios mesófilos.
Ambiente cabina de bioseguridad C4 (Siembra).	Semanal	Aerobios mesófilos.
Ambiente cabina de bioseguridad Telstar BIO IIA (Siembra).	Semanal	Aerobios mesófilos.
Ambiente cabina de flujo laminar Labconco.	Semanal	Aerobios mesófilos.
Boquillas estériles de mangueras del Equipo Dilumat.	Semanal	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Purga de probetas estériles.	Semanal	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Manos / guantes manipuladores (rotar entre	Semanal	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .

siembra y pre enriquecimiento).		
Balanza analítica área siembra.	Semanal	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Micropipeta 1 – Microbiología no patógenos.	Semanal	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Micropipeta 2 – Enriquecimiento selectivo.	Semanal	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Micropipeta 3 – Microbiología patógenos.	Semanal	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Frotis a los bordes caneca roja Pre-enriquecimiento.	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Control de eficiencia de cabinas de seguridad biológica (CSB).	Bimestral	Aerobios mesófilos.
Ambiente área siembra.	Mensual	Aerobios mesófilos.
Agua Desionizada (Hélix).	Mensual	Aerobios mesófilos.
Mesón recepción.	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Mesón Pre-enriquecimiento 1	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Mesón Pre-enriquecimiento 2	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .

Equipo Dilumat y Superficie Cabina 1 Pre- enriquecimiento	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Equipo Dilumat y Superficie Cabina 2 Pre- enriquecimiento	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Incubadora enriquecimiento selectivo 41,5°C	Mensual	<i>Salmonella</i> .
Incubadora Microbiología 30°C	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Incubadora Microbiología 37°C	Mensual	Aerobios mesófilos, <i>Salmonella</i> y enterobacterias.
Nevera material contaminado	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Piso del área de siembra y termostato (rotar).	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Superficie cabina de bioseguridad C4.	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Superficie cabina de bioseguridad Telstar.	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .
Superficie cabina de flujo laminar Labconco.	Mensual	Aerobios mesófilos y <i>Salmonella</i> .

Para los ambientes se lleva a cabo mediante exposición pasiva durante 15 min, utilizando una caja de agar PCA para cada punto de muestreo. A excepción del muestreo bimestral, en el cual se utilizan tres cajas de agar PCA distribuidas para cada una de las cabinas y durante un tiempo de exposición de 60 min. Para las superficies se realiza a través de un frotis, por la cual se dispone de una bolsa estéril y gasas estériles.

En la tabla No.3 se establecen los criterios o parámetros microbiológicos para los puntos de muestreo dentro del laboratorio según su prioridad de ambiente.

Tabla No.3

Parámetros microbiológicos para plan de autocontrol interno.

Superficie/ambiente	Aerobios Mesófilos	<i>Salmonella</i>	EB
E1 Frotis	≤ 70 UFC	Ausencia	No aplica.
E2 Frotis	≤ 150 UFC	Ausencia	≤ 10 UFC/frotis
E1 Exposición en placa (15 min)	≤ 2 UFC	Ausencia	No aplica.
E1 Exposición en placa (60 min)	≤ 1 UFC	Ausencia	No aplica.
E1 agua desionizada.	≤ 100 UFC	Ausencia	No aplica.

Una vez se obtienen todos los puntos muestreados en sus respectivas bolsas se colocan en soportes, las muestras se procesan en el área de siembra, donde se van a hidratar con 90 ml de BPW cada una, posteriormente, se toma 1ml con la micropipeta 1 (Microbiología no patógenos) y se inoculan las placas de COMPACT DRY, se incuban a 30°C x 48h para el análisis de

aerobios mesófilos para quienes lo requieran, para el caso de la muestra incubadora de 37°C también se inocula 1ml en un petrifilm para EB y se incuba a 37°C x 24h. Posterior a esto, se realiza el proceso para identificación de *Salmonella* mediante el equipo denominado VIDAS. En donde la muestra pasa por un enriquecimiento previo con BPW (condiciones de incubación en la tabla No.1), se sigue con el enriquecimiento selectivo haciendo uso de los caldos SX2, en donde se inocula 100 µL del pre enriquecimiento anterior, y se procede a incubar. Pasado el tiempo de incubación de los caldos SX2 se procederá a realizar el VIDAS.

El uso del VIDAS, consta de diferentes instrumentos, el primero es el Heat and Go, que consiste en unas planchas de calentamiento las cuales deben encenderse como primer paso. En lo que alcanza la temperatura correcta se procederá a inocular los cartuchos del VIDAS con la muestra de los caldos SX2, tomando 500 µL y depositándolo en cada uno de los pocillos de los cartuchos, a continuación, cada cartucho se colocará de manera individual en las planchas de calentamiento durante 15min, una vez pasado el tiempo, se retiran y se dejan enfriar máximo 10 min, para proceder a introducir los cartuchos dentro del instrumento denominado VIDAS Easy SLM de bioMérieux.

Plan de monitoreo de patógenos

Consiste en un sistema de prevención, permitiendo la detección y la identificación de posibles fuentes de *Salmonella* spp, antes de que ocurra una posible contaminación en el producto. A su vez, es un sistema de control basado en la detección y enumeración de enterobacterias en las líneas de producción y en ambientes de la fábrica. Con el fin de proporcionar planes de frecuencia de monitoreo, tanto en productos terminados, como líneas, materias primas y muestras ambientales. Los analistas fisicoquímicos son los encargados de muestrear las materias primas y de llevarlos al Laboratorio de Patógenos. Y el muestreo de producto terminado, líneas,

ambientes y muestras investigativas corresponden al personal del Laboratorio de Patógenos de Comestibles La Rosa S.A. La frecuencia para la muestra del producto terminado es mensual por línea, y se realiza EB y *Salmonella*. Para el denominado producto del mes, los análisis realizados son Aerobios mesófilos, enterobacterias y *Salmonella*. La frecuencia para el monitoreo de líneas y ambientes que es semanal, va incluida en el PMP. Para el análisis de producto terminado, en control mínimo de higiene, se analiza una muestra por línea para EB y *Salmonella*, en control medio de higiene, el muestreo aumenta considerablemente, siendo de diez muestras para *Salmonella* por lote por día durante cinco días, y de cinco muestras para EB por lote por día durante cinco días.

Todo esto necesario para la liberación del producto terminado. A continuación, se puede observar en la tabla No.4 un fragmento sobre el PMP (en total consta de 80 puntos de muestreo):

Tabla No.4

Perfil de monitoreo microbiológico de Comestibles La Rosa

Frecuencia según el control	Código	Lugar de muestreo	Análisis	Cantidad de muestra
Control mínimo: Semanal. Control medio: Semanal	ENV LCH-2	Residuos adheridos tanque pulmón EMA 40 y residuos del tamiz.	EB	10g
Control mínimo: Semanal.	ENV LCB-1	Residuos adheridos en el	EB, <i>Salmonella</i> .	25g

Control medio: Semanal		temperador o frotis del interior.		
Control mínimo: Semanal. Control medio: 4 Semanal	ENV LCB-2	Chocolate adherido en la salida de la cortina del cubridor, la malla y en los bordes del cubridor.	EB, <i>Salmonella.</i>	25g
Control mínimo: Cada fabricación. Control medio: Semanal	ENV LCB-4	Residuos salidas tubería retorno y/o masa en Oakes de Beso de Amor.	EB	10g
Control mínimo: Semanal. Control medio: Semanal	ENV LCB-5	Primer producto empacado cubridor 1	EB, <i>Salmonella.</i>	25g
Control mínimo: Semanal.	ENV LCB-8	Masa boquillas máquina Beso de Amor	Frotis	No aplica.

Control medio: Semanal				
Control mínimo: Semanal. Control medio: Semanal	ENV LCB-12	Implementos de limpieza en contacto con el producto (blancos).	Frotis.	No aplica.
Control mínimo: Semanal. Control medio: Semanal	ENV LCB-13	Producto salida túnel de enfriamiento y residuos salida.	EB	10g
Control mínimo: Mensual. Control medio: Semanal	ENV LCB-19	Tanques de chocolatería.	EB, <i>Salmonella</i>	25g

Se muestrean los productos terminados, las líneas de fabricación/producción, las materias primas y los ambientes, en este orden se reciben las muestras y se siembra, siendo el punto de partida las matrices más sensibles o susceptibles a contaminación, y por último las matrices de las cuales se espera tengan una alta carga microbiana.

Para las muestras de **EB**, estas deben pesar 10g, exceptuando los frotis, dependiendo de la matriz alimentaria se emplea un diluyente específico, si el producto contiene o no grasa, se adicionan 90 ml de BPW o de Tween80, la muestra en la bolsa estéril se coloca dentro del baño maría durante

1-2 min aproximadamente. Con una micropipeta, se toma 1ml y se deposita sobre un Petrifilm de Enterobacterias, se incuban durante 24h a 37°C. Pasado el tiempo de incubación se cuentan las colonias y se informa el número total multiplicado por el inverso de la dilución, siendo el Petrifilm la dilución 10^{-1} .

Aquellos puntos de muestreo en donde el número de EB es insignificante de acuerdo al riesgo asociado para el producto es considerado un resultado ideal, y el objetivo siempre será alcanzar un recuento de EB igual o menor al del indicador de higiene, siendo considerado categoría 1 y en el sistema, es señalado con el color verde. Cuando hay un incremento en el número de EB presentes, estos resultados advierten un riesgo potencial que atenta contra las condiciones ideales de higiene, y es aceptable en determinadas zonas de higiene medio, se considera categoría 2 y conlleva el color amarillo en sus resultados al momento de ingresarlos al sistema. La categoría número 3, indica una alarma en donde conlleva a una desviación que afectará toda la producción, se caracteriza por el color rojo, una desviación en esta categoría se deben tomar acciones inmediatas reestableciendo las condiciones ideales de higiene. Esto se encuentra representado en los parámetros microbiológicos estandarizados por la NQAC de Nestlé tal como se puede observar en la tabla No.5.

Tabla No.5

Estándar para aceptación y planes de acción según la 3620.QA.PRO.016-11.

Tipo de muestra	Enterobacterias (UFC/g o frotis)	Acción correctiva
Producto terminado	≤ 10	No aplica
	> 20	Re-muestreo de acuerdo a la St-33.001 o St-29.022, según corresponda
Línea (en contacto directo con producto)	≤ 10	No aplica
	> 20	Desinfección del punto de muestreo relacionado con la desviación con verificación de su eficacia mediante re-muestreo inmediato o en próximo monitoreo programado
Ambiente de primera prioridad (E1)	$10 > X < 100$	No aplica
	$100 > X < 1000$	Desinfección de puntos relacionados
	> 1000	Desinfección de puntos relacionados con verificación de su eficacia mediante re-muestreo inmediato o en próximo monitoreo programado
Ambiente de segunda prioridad (E2)	$10 > X < 300$	No aplica
	$300 > X < 1000$	Desinfección de puntos relacionados
	> 1000	Desinfección de puntos desviados, con verificación de su eficacia mediante re-muestreo en el próximo monitoreo programado. En casos de muestras de E2 relacionadas con implementos de limpieza, se verifica su estado y se solicita limpieza y desinfección o, cambio de los mismos.
Ambiente de segunda prioridad (E2)	<i>Salmonella</i> spp Positiva	En caso de presentarse una <i>Salmonella</i> spp, positiva en implementos de limpieza o utensilios relacionados con el proceso, el plan de acción para esto será descartar los implementos implicados en la muestra positiva. Además se debe seguir el estándar St33.714 Versión actual para el cambio de nivel de Higiene.

Para las muestras de *Salmonella* del PMP, se pesan 25g a excepción de los frotis, se adicionan 225ml de diluyente BPW o Tween80 para el **pre-enriquecimiento** a 37°C +/- 1°C durante 16h – 22h, una vez pasado el tiempo mínimo de incubación se realiza el **enriquecimiento secundario** en caldos SX2 tomando 0,1ml de las muestras pre enriquecidas y se incuban a 41,5°C durante 22h-26h para finalizar realizando la detección mediante el equipo VIDAS (procedimiento explicado en el punto anterior).

Plan de Monitoreo microbiológico de Servicios Industriales

Procedimiento que se realiza con el objetivo de conocer la calidad del agua usada en la fabricación, en los circuitos de enfriamiento o calentamiento, de los bebederos y dispensadores

de agua, a su vez, se analizan las unidades manejadoras de aire (UMA), uniformes y manipuladores de alimentos de las diferentes líneas de fabricación, y por último el muestreo de herramientas y repuestos.

Todas las muestras de aguas se realizan en bolsas estériles con tiosulfato de sodio el cual sirve para inactivar el cloro, y se llenan hasta los 100 ml. Antes de tomar la muestra, se debe desinfectar la llave o boquilla por donde sale el agua garantizando la ausencia de contaminación por manipulación superficial, y con ayuda de un balde, pocillo o bolsa estéril (en caso de los dispensadores de agua) purgar el agua que se encuentra estancada.

Aguas de Fabricación (Mensual)

Para la toma de las muestras de aguas de fabricación (aquellas que entran en contacto con el producto) se disponen de distintos puntos de muestreo, repartidos a lo largo de toda la fábrica descritos en la tabla No.6.

Tabla No. 6

Puntos de muestreo para AF.

Código de la muestra	Sitio de muestreo	Análisis
AF-1	Entrada agua de mezclas línea 1	Coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>
AF-2	Entrada agua de mezclas línea 2	
AF-3	Entrada agua de mezclas línea 4	

AF-4	Entrada agua de mezclas línea 5	
AF-5	Agua mezclas línea 5 (llave al lado de la miel)	
AF-6	Agua marmita cuarto Beso de Amor	
AF-9	Entrada agua Wafer	
AF-10	Preparación de miel invertida	
AF-12	Agua para lavado de manos en Aduanas (Rotar)	
AP-1	Agua potable del tanque principal.	

Las muestras recolectadas se depositan en frascos de vidrio estériles y se le adiciona a cada una un sustrato definido denominado Colilert, que permite cuantificar o detectar de manera simultánea tanto coliformes totales como a *Escherichia coli* con resultados en 24h, sin embargo, la LI-10.118 recomienda un tiempo de 26h $\pm$ 2h a 36°C $\pm$ 2°C.

Aguas de Circuitos

Este tipo de agua no debe entrar en contacto directo con los alimentos, es utilizada para alimentar las camisas de enfriamiento y de calentamiento de tanques o demás equipos. Se realiza su debido análisis debido a que una posible fuga o falla en los sistemas que ocurra puede contaminar toda la producción lo que hace necesario el monitoreo microbiológico. Estos puntos de monitoreo, descritos en la tabla No.7, no disponen de llave, por lo que deben tomarse sumergiendo las bolsas para tomar el volumen de agua a analizar.

Tabla No.7

Puntos de muestreo para Aguas de Circuito.

Código de la muestra	Sitio de muestreo	Análisis
AC-1 (Trimestral)	Agua enfriamiento EMA 40	Aerobios mesófilos y coliformes totales.
AC-3 (Trimestral)	Agua circuito de calentamiento camisas de tanques, tuberías y equipos de chocolatería	
AC-4 (Trimestral)	Agua calentamiento EMA 40	
AC-5 (Mensual)	Agua circuito temperador cubridor Sollich	

AC-6 (Mensual)	Agua circuito de calentamiento camisa turbo mezcladora Wafer	
AC-12 (Mensual)	Agua de circuito de enfriamiento camisas L1, L2 y L4	
AC-15 (Mensual)	Tanque de Recuperación Planta Amoniaco (se toma abajo)	
AC-19 (Mensual)	Agua circuito de calentamiento de las tuberías cocina de Beso de negra	

Para el análisis de aerobios mesófilos las muestras se incuban de acuerdo a su temperatura, siendo las de calentamiento (incluyendo temperador) a 37°C durante 44h+/-4h y las de enfriamiento (incluyendo la planta de amoniaco) a 25°C durante 68h+/-4h, la siembra se realiza mediante el método vertido en placa o por profundidad en agar YEA. ISO-6222:1999.

Para el análisis de coliformes totales se realiza filtración por membrana en agar Chromocult, a 36°C+/-2°C durante 21h+/-3h. ISO-9308-1:2014

En caso de presentar alguna desviación en las aguas de circuitos se realizará análisis para *Salmonella* ausencia en 100ml, es decir, se realiza únicamente en caso de resultados por fuera de la especificación para los parámetros coliformes totales y microorganismos cultivables. El criterio microbiológico para el análisis de agua de circuitos se presenta en la tabla No.8.

Tabla No.8

Criterio microbiológico para aguas de Circuito.

Especificaciones UFC / 100ml	Método
<1000 UFC/ml	Siembra por profundidad para AM.
<10 UFC/ml	Siembra por filtración por membrana en agar Chromocult.

Agua de Bebederos y Dispensadores

Aguas disponibles para el consumo del personal que labora en la Fábrica Comestibles la Rosa S.A. Realizar una purga de 10 segundos, con el fin de determinar la calidad del agua tal como es consumida. La desinfección de la boquilla con alcohol al 70% garantiza la ausencia de contaminación por manipulación superficial. La fábrica cuenta con tres puntos de bebederos, los cuales se toman mensualmente, sin embargo, para los dispensadores de agua se cuenta con más puntos de muestreo, aun así, se toman de manera aleatoria tres puntos de muestreo para los dispensadores de agua que tienen que ir variando mes a mes para poder tomar todos, estos puntos se señalan en la tabla No.9.

Tabla No.9

Puntos de muestreo para Aguas de Bebederos y Dispensadores.

Código de la muestra	Sitio de muestreo	Análisis
AB-1	Bebedero frente al fluit lift	Coliformes totales y <i>E. coli</i>
AB-2	Bebedero Vestier	
AB-5	Bebedero de producción, al lado de Sala de Autodesarrollo	
AD-1	Agua dispensador casino	
AD-2	Agua dispensador RRHH	
AD-3	Agua Botellón Oficinas Producción	
AD-4	Agua dispensador Técnico	
AD-5	Agua dispensador Laboratorio “S”	
AD-6	Agua dispensador aplicaciones tecnológicas	

AD-7	Agua dispensador oficina Aseguramiento de la calidad	
AD-8	Agua dispensador área SHE	
AD-9	Agua dispensador portería	
AD-10	Agua dispensador taller mecánico	

Las muestras recolectadas se depositan en frascos de vidrio estériles y se le adiciona a cada una un sustrato definido denominado Colilert, y se incuban durante 26h+/-2h a 36°C+/-2°C.

Aguas de Torres de Enfriamiento

Contacto nulo tanto de manera directa como indirecta con el producto terminado. El objetivo del análisis es el control de monitoreo para prevención de *Legionella* spp, establecido en el Plan de Gestión de *Legionella* (LMP) realizado por proveedor externo. Este análisis se realiza de manera Trimestral, la ubicación de los tanques y el tipo de análisis a realizar se presenta a continuación en la tabla No.10.

Tabla No. 10

Puntos de muestreo para las Aguas de Torres de enfriamiento.

Código del muestreo	Sitio de muestreo	Análisis
AT-2	Agua Torre Generadores de energía Subestación	Aerobios mesófilos.
AT-3	Agua Condensadores evaporativos para los compresores de amoníaco	

Los aerobios mesófilos se realizan mediante vertimiento de placa o siembra por profundidad y se incuban a 36°C+/-2°C durante 44h+/-4h en agar YEA.

Al no estar en contacto con el producto ni las líneas de fabricación de ninguna manera (directa o indirecta) el criterio microbiológico para este análisis es muy amplio y justifica su frecuencia de muestreo, a continuación, en la tabla No. 11 se determinan los criterios microbiológicos.

Tabla No.11

Criterio microbiológico para aguas de Torres de enfriamiento.

Especificaciones UFC / 100ml	Método
<10000 UFC/ml	Siembra por profundidad para AM.

Unidades Manejadoras de Aire

Son sistemas que proporcionan las condiciones de humedad a las áreas de fabricación y son los sistemas que recirculan aire frío a los túneles de enfriamiento, para garantizar una temperatura adecuada al producto. La ubicación de los sitios de muestreo es descrita en la tabla No.12.

Tabla No.12

Puntos de muestro para UMAs.

Código de la muestra	Sitio de muestreo	Análisis
UMA-1	Área Producción Chocolatería	Mohos y levaduras.
UMA-3	Área Empaque Simionato	
UMA-5	Área Empaque Chocolatería	
UMA-6	Área Túnel de enfriamiento de la Línea Wafer	
UMA-7	Área Cuarto de fermentación L5	
UMA-8	Área Túnel de enfriamiento del cubridor	

Este análisis se realiza mediante exposición en placa durante 15 min. El agar OGY se incuba durante 5 días a 25°C.

Monitoreo Puntos de Salida de Aire Comprimido

Estos puntos de salida de aire son aquellos que tienen contacto directo con el producto en línea o terminado previo al empaque. Para la toma de la muestra se deposita el aire de manera directa en

el agar de agar OGY y PCA, incubándose durante 5 días a 25°C y a 30°C durante 2 días respectivamente. Estos puntos de salida tienen dos ubicaciones, siendo para SA-1 y SA-2 la maquina Waffer Hebben y para SA-3 en el área de cubridor de chocolatería, descritos en la tabla No.13.

Tabla No.13

Puntos de muestro para Aires Comprimidos

Código de la muestra	Sitio de muestreo	Análisis
SA-1	Punto salida Horno Wafer	Aerobios mesófilos, mohos y levaduras.
SA-2	Punto unificado al lado del transportador de oblea de la Wafer	
SA-6	Aireador máquina OAKES Beso de Negra	

En la tabla No.14 se establecen los criterios microbiológicos para las unidades manejadoras de aire y los puntos de salida de aires comprimidos.

Tabla No.14

Criterio microbiológico para UMA y Aires Comprimidos.

Especificaciones UFC / 100ml	Método
≤ 300 UFC/ 1min	Exposición en placa AM.

≤ 100 UFC / 1 min	Exposición en placa MyL.
------------------------	--------------------------

Muestreo de Manipuladores y Uniformes

Realizado a todas las personas que intervienen directamente en actividades de fabricación en todas las etapas del proceso, especialmente en áreas donde se presenta mayor contacto con el producto y al personal de mantenimiento. La muestra para manipuladores se toma mediante la técnica de hisopado usando Quick Swab de 3M, frotando entre los dedos, plantas de las manos y uñas. Una vez dentro del laboratorio en el área de siembra, se transfiere el líquido de la válvula roja hacia la punta del isopo usado para muestrear, se agita vigorosamente y se vierte el líquido sobre una placa Petrifilm para EB, incubándose a 37°C durante 24h.

Para la toma de muestras de uniformes, se realiza utilizando cajas Rodac con agar VRBG, la cual mediante una leve presión se frota en diversas partes de las mangas y puños del uniforme. Estas cajas Rodac se incuban a 37°C +/- 1°C durante 24h. En la tabla No.15 se muestran los criterios microbiológicos para manipuladores y uniformes.

Tabla No. 15

Criterio microbiológico para Manipuladores y Uniformes.

Análisis	Ubicación	Especificación	Acción
		UFC	correctiva
MANIPULADORES:		10	N/A
Técnica del Hisopado	Todos los manipuladores	10 – 100	Realizar retroalimentación
Siembra Petrifilm			

		>100	Realizar seguimiento a la persona.
UNIFORMES:		10	N/A
Impresión en placa	Contacto directo con el producto	10 – 100	Realizar retroalimentación
		>100	Realizar seguimiento a la persona.
	Empaque externo del producto	20	N/A
		20 – 200	Realizar retroalimentación
		>200	Realizar seguimiento a la persona.
	Personal técnico	20	N/A
		20 – 200	Realizar retroalimentación
		>200	Realizar seguimiento a la persona.
		20	N/A

Trabajos auxiliares dentro de instalaciones fábrica	20 – 200	Realizar retroalimentación
	>200	Realizar seguimiento a la persona.
Personal en exteriores fábrica	50	N/A
	50 – 300	Realizar retroalimentación
	>300	Realizar seguimiento a la persona.

Muestreo de Herramientas y Repuestos

Utensilios empleados por el personal técnico para realizar los diferentes trabajos mecánicos que requieren la aplicación de la fuerza física durante las actividades de mantenimiento y reparación a las máquinas y diferentes partes de las líneas de fabricación. Se realiza mediante frotis y se toman 10 herramientas y 10 repuestos, para el análisis de enterobacterias mediante el uso de Petrifilm. A continuación, en la tabla No.16 se presentan los criterios microbiológicos para las herramientas y repuestos.

Tabla No.16

Criterio microbiológico para Herramientas y Repuestos

Especificación UFC/Frotis	Acción correctiva
10	No aplica
>10-100	Retroalimentación proceso de limpieza y desinfección
>100	Repetir procedimiento de limpieza y desinfección y tomar muestras nuevamente.

Determinación de *Salmonella*, de muestras de Bugalagrande y Valledupar (DPA)

Para los productos de Comestibles La Rosa, el plan de monitoreo de patógenos comprende los análisis para *Salmonella* spp y enterobacterias, incluyendo el monitoreo de líneas y el monitoreo de ambientes. Para las materias primas, cuando es un proveedor nuevo se realiza análisis detallado, lo que quiere decir, que se realiza, AM, EB, Mohos y Levaduras, y *Salmonella* spp, y cuando es un proveedor conocido, es decir, es un monitoreo, se analiza para *Salmonella* spp.

Algunas muestras se pueden analizar en los denominados “pools”, estos pueden ser de manera horizontal y vertical. Los de manera horizontal hacen referencia a la toma de muestras de un mismo punto de muestreo, producto o línea combinando diferentes días de producción, y los de manera vertical se toman muestras de diferentes puntos de muestreo y se combina durante un día. Las muestras utilizadas para realizar los pools, van a depender del nivel de control de higiene en el que se encuentre. Los pools aplican solamente para análisis cualitativos y para productos que su dilución sea 1/10. Para el análisis de *Salmonella* se requieren 25g y se realiza una dilución 1/10, lo que significa que se necesita 225 ml del medio para el pre-enriquecimiento, cuando se realiza un pool de un producto terminado, se toman 5 muestras al mismo tiempo de 25g, del

mismo lote o que sea el mismo ítem alimentario fabricados en la misma línea, dando una suma total de 125g de muestra en 1125ml del medio usado en el pre-enriquecimiento.

El orden de recepción es el mismo, tanto para las muestras de la Fabrica La Rosa S.A. como para las demás fábricas. En primer lugar, se reciben los productos terminados, seguidos de las líneas y las materias primas, y por ultimo los ambientes. Dentro de cada una de estas categorías a excepción de las materias primas, existe otro orden para la recepción de las muestras, el parámetro usado para este suborden es la categoría de alimento, siendo estos, leches, chocolates, bebidas, Simionato, galletas y culinarios. En los ambientes, el orden se basa en la prioridad el ambiente.

Dependiendo de la categoría del alimento la dilución va a variar, para productos que contienen más de un 10% de sal se debe elegir la relación de dilución que permita superar el efecto inhibidor del alto contenido de sal, para tener una concentración máxima de sal del 1% en la suspensión inicial, generalmente los productos culinarios son quienes se pre-enriquecen a una dilución 1/50 lo que equivaldría a 25g del producto en 1225ml de medio de pre-enriquecimiento usado que en este caso es BPW. Lo mismo aplica para productos con propiedades espesantes, a quienes se les aplica una dilución 1/50. Hay matrices alimentarias específicas las cuales se les realiza una dilución 1/20. Todas estas diluciones para determinadas categorías de alimentos se han conseguido tras las validaciones realizadas por la NQAC.

En la tabla No.17 se especifican algunos alimentos y sus respectivas diluciones. En total se tienen 141 muestras con sus respectivas diluciones según la LI-00.742 y la LI-00.765.

Tabla No.17

Diluciones por matriz alimentaria.

Muestra	Dilución
Ajo blanco deshidratado en polvo	1/50
Almidón	1/20
Carragenina	1/100
Cebolla blanca hojuelas secas	1/50
Cúrcuma polvo deshidratado	1/50
Extracto de malta	1/10
Jengibre Raíz molido en polvo	1/50
Leche entera polvo	1/10
Maíz Sabroso	1/10
Manteca palma	1/10
Milo Actigen Oscuro	1/10
Sabor pollo	1/20

Dependiendo del alimento se usará su respectivo medio de pre-enriquecimiento, BPW, Tween80 o NFDM, el volumen dependerá de la dilución a emplear. Las muestras se incuban a 37°C±1°C durante 16-22h tal como se menciona en la tabla No.1. Posterior al pre-enriquecimiento, se realiza el enriquecimiento selectivo, tomando 0.1ml de cada muestra y depositándolo en un tubo de caldo SX2, el cual se va a incubar según lo descrito en la tabla No.1., para finalizar realizando el análisis en el equipo VIDAS.

Un resultado presuntivo positivo del equipo VIDAS, se debe aislar en agar XLD y realizar pruebas bioquímicas confirmatorias para las colonias características de *Salmonella*.

Un resultado positivo para EB en petrifilm que esté por fuera de los límites permitidos, se re-muestra y se vuelve a analizar como acción correctiva, en caso de persistir se informará al área de higiene, quien llevará a cabo los protocolos necesarios, como, por ejemplo, limpieza y desinfección de la línea y retención del lote fabricado. Posterior a esto el equipo del Laboratorio de Patógenos deberá tomar muestras investigativas tanto de la línea como del producto terminado evitando así que se entre a un Control Medio de Higiene.

Resultados y Discusión

Durante el seguimiento a nivel general, sobre la calidad e higiene en Comestibles La Rosa, las muestras analizadas y sus respectivos resultados son ingresados en libros de Excel para control interno del laboratorio, y así mismo son ingresadas a SAP (Systemanalyse Programmentwicklung), que se traduce del alemán al español como un Desarrollo de Programas de Sistemas de Análisis para que dichos resultados queden en la base global de Nestlé, lo que permite a las otras fábricas de Nestlé en Colombia observar los resultados para *Salmonella* de las muestras enviadas. Se estiman por semana aproximadamente 400 muestras para *Salmonella* y por lo menos de 200 para enterobacterias, entre productos terminados, líneas, ambientes, entre otros análisis y muestreos. Los resultados expuestos a continuación se presentan de manera hipotética debido a la política de confidencialidad sobre los resultados de comestibles La Rosa. Adicionalmente, se realiza un muestreo investigativo, en donde se analizan posibles fuentes de contaminación que no están planteadas en el perfil o monitoreo de patógenos con el objetivo de siempre buscar y descubrir microorganismos y focos de infección, el cual aplica para muestras investigativas de líneas, ambientes e inclusive dentro del mismo laboratorio.

Determinación de las condiciones de Higiene del laboratorio de patógenos mediante un Plan de Autocontrol Interno (PAC)

A continuación, la tabla No.18 presenta los resultados del análisis bimestral realizado a las cabinas de bioseguridad con el objetivo de evaluar el funcionamiento y mantenimiento de las mismas.

Tabla No.18

Registro Monitoreo Bimestral de ambientes operativos del laboratorio de patógenos.

MES								
Ambientes operativos	Prioridad	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero
Cabina de Flujo	E1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
laminar Pre-enriquecimiento		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
1		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Cabina de flujo	E1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
laminar Pre-enriquecimiento		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
2		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Cabina de Bioseguridad C4	E1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Cabina de Bioseguridad Telstar BioII A	E1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Cabina de Flujo laminar	E1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Labconco		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1

Nota: La ausencia de crecimiento o resultado negativo, en las cajas de Petri con agar PCA empleadas en este análisis, se describe como <1 UFC (unidad formadora de colonia).

Las cabinas de bioseguridad y flujo laminar cumplen con su función, permitiendo tener un ambiente inocuo mediante el flujo de aire estéril para el procesamiento de muestras y que el proceso de limpieza y desinfección de la cabina es operante y efectivo. Adicional a esto, de manera semestral reciben una calificación operacional a cargo de una empresa de Purificación y

Análisis de Fluidos (PAF) quienes evalúan las cabinas de extracción y flujo laminar. En caso de desviación, el plan de acción recae en la verificación de funcionamiento, evaluando si se está llevando a cabo una correcta limpieza y desinfección de las cabinas, o en el mantenimiento programado de las cabinas. Los resultados generales del PAC del laboratorio se presentan a continuación en la tabla No. 19.

Tabla No.19

Registro Monitoreo de superficies, ambientes y equipos del laboratorio de patógenos.

Muestras			Análisis Microbiológico			Muestras	Muestras	Porcentaje de cumplimiento
Mes	Semana	Número de muestras	Aerobios de Mesófilos	Salmonella	Enterobacterias	aceptables	desviadas	
Julio	3	29	28	29	1	29	0	100
	4	12	12	12	0	12	0	
Agosto	1	12	12	12	0	11	1	96,9
	2	12	12	12	0	12	0	
	3	29	28	29	1	28	1	
	4	12	12	12	0	12	0	
Septiembre	1	12	12	12	0	12	0	100
	2	12	12	12	0	12	0	
	3	29	28	29	1	29	0	
	4	12	12	12	0	12	0	
Octubre	1	12	12	12	0	10	2	93,8

	2	12	12	12	0	10	2	
	3	29	28	29	1	29	0	
	4	12	12	12	0	12	0	
Noviembre	1	12	12	12	0	12	0	93,8
	2	17	17	17	0	15	2	
	3	29	28	29	1	29	0	
	4	17	17	17	0	15	2	
Diciembre	1	17	17	17	0	17	0	98,4
	2	17	17	17	0	17	0	
	3	29	28	29	1	29	0	
	4	17	17	17	0	16	1	
Enero	1	29	28	29	1	29	0	100
	2	12	12	12	0	12	0	

Los resultados del PAC del laboratorio, indican las condiciones de higiene durante el trabajo en el laboratorio. Las muestras son tomadas después de la correcta limpieza y desinfección del área, antes de procesar cada muestra, o después del procesamiento de muestra y su respectiva limpieza y desinfección. Las desviaciones microbiológicas conllevan a planes de acción, los cuales consisten en realizar nuevamente la limpieza del punto de muestreo afectado, sea un piso, un mesón o una micropipeta y volver a tomar la muestra para su reanálisis. Mantener un 100% de conformidad denota no solo la eficacia de los protocolos y productos usados para la limpieza y desinfección del laboratorio, sino también las buenas prácticas del analista al momento de procesar las muestras, manteniendo las manos y el área de trabajo limpias, secas y sin residuos o salpicaduras de la muestra a procesar. Una muestra es considerada desviada o no conforme cuando

su conteo de UFC pase del límite permisible, el cual, está determinado según su prioridad, los parámetros microbiológicos se encuentran en la tabla No.3 del inciso de la metodología.

Plan de monitoreo de patógenos

Dependiendo del nivel de higiene, la frecuencia de muestreo en algunos puntos de monitoreo va a variar. Dichos puntos, y especificaciones de cada nivel de higiene hacen parte de la validación de monitoreo de patógenos de Comestibles La Rosa en su instrucción St-33.714-04. Los resultados presentados a continuación de manera resumida, no representan de manera significativa a los resultados reales de la fábrica ni sus niveles de higiene a lo largo del tiempo de las prácticas profesionales. En la tabla No.20 se observan de manera resumida el análisis total de las muestras por mes para producto terminado, la tabla No.21 presenta los resultados de monitoreo de las líneas de producción y la tabla No.22 los resultados generales del monitoreo de ambientes.

Tabla No.20

Monitoreo productos terminados.

Muestras		Análisis Microbiológico			Muestras	Muestras	Porcentaje de
Mes	Número de muestras	Enterobacterias	<i>Salmonella</i>	Aerobios mesófilos	aceptables	desviadas	cumplimiento
Julio	6	3	3	1	3	3	50
Agosto	14	7	7	1	12	2	85.7
Septiembre	14	7	7	1	14	0	100

Octubre	10	5	5	1	7	3	70
Noviembre	78	25	53	1	70	8	89.7
(Medio)							
Diciembre	17	7	7	1	15	2	88.2
Enero	4	2	2	1	4	0	100
Promedio:							83.37

Tabla No. 21

Monitoreo líneas de Producción.

Muestras		Análisis Microbiológico		Muestras	Muestras	Porcentaje de
Mes	Número de muestras	Enterobacterias	<i>Salmonella</i>	aceptables	desviadas	cumplimiento
Julio	4	2	2	3	1	75
Agosto	8	4	4	5	3	62.5
Septiembre	8	4	4	8	0	100
Octubre	8	4	4	6	2	75
Noviembre	32 (Medio)	16	16	25	7	78.1
Diciembre	8	4	4	6	2	75
Enero	4	2	2	2	0	100
Promedio:						80.8

Tabla No.22

Monitoreos ambientes.

Muestras		Análisis Microbiológico		Muestras aceptables	Muestras desviadas	Porcentaje de cumplimiento
Mes	Número de muestras	Enterobacterias	<i>Salmonella</i>			
Julio	4	2	2	4	0	100
Agosto	8	4	4	7	1	87.5
Septiembre	8	4	4	4	4	50
Octubre	8	4	4	6	2	75
Noviembre	16	8	8	9	7	56.2
	(Medio)					
Diciembre	8	4	4	5	3	62.5
Enero	4	2	2	2	0	100
					Promedio:	75.8

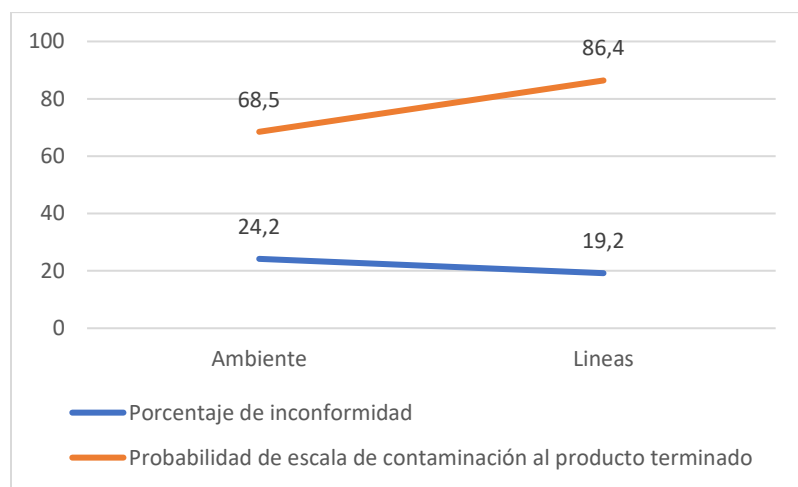
Los resultados presentados en las anteriores tablas, nos da un claro ejemplo del ámbito de la prevención, puesto que condiciones de higiene adecuadas desde los ambientes, y luego las líneas daría como resultado un producto terminado inocuo sin desviaciones microbiológicas.

En la figura No.1 observamos que a nivel de monitoreo de ambientes la media del porcentaje de inconformidad fue de 24.2%, una desviación microbiológica en los ambientes E1 y E2 no afectan de manera directa el producto terminado, sin embargo, la contaminación puede escalar a una línea, y está, terminar contaminando al producto final, posteriormente el porcentaje de muestras inconformes sobre las líneas de producción fue de 19.2% y del producto terminado

16.6%, lo que nos da a entender, que del 100% de las contaminaciones ocurridas en los ambientes, se vio reflejado que un 68.5% fue capaz de escalar al producto terminado, y respecto a la contaminación de la línea, se vio reflejada un 86.4% en el producto final, dada la cercanía y la prioridad que comparten estas dos. De ahí la importancia de mantener las mejores condiciones de higiene desde los ambientes y en especial sobre las líneas de producción, una desviación en un ambiente conlleva un manejo menos complejo, a diferencia de una desviación en una línea, puesto que su presencia representa un peligro significativo al producto terminado, aun así es mucho más fácil y económica corregir estas desviaciones, a diferencia de una contaminación mayor en el producto terminado, en donde se deberá bloquear el producto para reanálisis y dependiendo del resultado final, a la destrucción del lote.

Figura No.1

Incidencia relacionada a la contaminación de un ambiente o línea sobre el producto terminado.



El laboratorio de patógenos analiza las muestras positivas de EB mediante el sistema API 20E, los días de mayores desviaciones en los productos terminados para verificar la posible causa de la contaminación conociendo al posible microorganismo causante, sabiendo su origen y su

habitat, buscando una manera más específica para la realización de las acciones correctivas por parte del grupo de Higiene de la fábrica, la compilación de estos análisis se presenta en la tabla No.23.

Tabla No.23

Identificación microbiológica mediante el uso de API 20E: De muestras positivas para coliformes, con el objetivo de conocer y llevar una trazabilidad de aquellos microorganismos que reinciden en los resultados no conformes en líneas y productos terminados:

FECHA	No.	Nombre	API 20 E	Perfil
27/07/2023	1	Beso de amor Berlín 448g H: 07:10	<i>Enterobacter asburiae</i>	3305523
			67,4%	
	2	Beso de amor Berlín 448g H: 07:06	<i>Enterobacter cloacae</i> 32,3%	3205773
			<i>Enterobacter cloacae</i> 72%	
	3	Beso de amor Berlín 448g H: 08:06	<i>Pantoea spp</i> 10,9%	3305773
			<i>Enterobacter cloacae</i> 91,4%	
	3(a)	Beso de amor Berlín 448g H: 08:06	<i>Cronobacter spp</i> 8,4%	3305523
			<i>Enterobacter asburiae</i>	
	4	Beso de amor Berlín 448g H: 10:00	67,4%	3305523
			<i>Enterobacter cloacae</i> 32,3%	

31/07/2023	8	Beso de amor Berlín 448g H: 18:00	<i>Enterobacter cloacae</i> 91,4% <i>Cronobacter spp</i> 8,4%	3305773
	9	Beso de amor Berlín 448g H: 16.30	<i>Enterobacter asburiae</i> 67,4%	3305523
	31	Cobertura semiamarga L 32483620 H 22:02	<i>Escherichia vulneris</i> 73,4% <i>Klebsiella pneumoniae</i> 9,2%	3004173
	33	Cobertura semiamarga L 32483620 H 02:00	<i>Escherichia vulneris</i> 73,4% <i>Klebsiella pneumoniae</i> 9,2%	3004173
	2	LCB-4	<i>Pantoea spp3</i> 99,9% <i>Pantoea spp3</i> 98,2%	1005332
	3	LCB-8	<i>Klebsiella pneumoniae spp</i> ozaenae 0,9%	1004332
	4	LCB-13	<i>Pantoea spp3</i> 79,2% <i>Klebsiella pneumoniae</i> 9,4%	1004372
	5	LCB-20	<i>Pantoea spp3</i> 99,9% <i>Pantoea spp1</i> 91,8%	1005332
	2	LCB-2	<i>Klebsiella pneumoniae spp</i> ozaenae 5,7%	2004123
	20	Deditos Plegadiza L 32693620 H: 05:59	<i>Enterobacter amnigenus</i> 1 51,3% <i>Cronobacter spp</i> 23,7%	3005173

27	Deditos Plegadiza L 3269360 H 12:00	<i>Enterobacter amnigenus</i> 1	3005173
		51,3%	
35	Deditos Plegadiza L 3270360 H 10:00	<i>Cronobacter spp</i> 23,7%	3005173
		<i>Enterobacter amnigenus</i> 1	
51	Cuba de fundición	51,3%	3005173
		<i>Cronobacter spp</i> 23,7%	
51 ^a	Cuba de fundición	<i>Pantoea spp</i> 54,7%	4322
		<i>Klebsiella pneumoniae spp</i>	
		rhinoscleromatis 37,8%	

Al identificar de manera correcta los microorganismos causantes de las desviaciones microbiológicas para enterobacterias, se pueden conocer los focos de contaminación más acordes a estas especies, la causa de su presencia, y aquellas falencias en los planes estipulados en las buenas prácticas de manipulador que pueden mejorar o ser cambiadas. Así, como la evaluación de los químicos utilizados para la limpieza y desinfección, parámetro evaluado por el área de fisicoquímica de mano al grupo de Higiene de la fábrica, con el objetivo de encontrar y usar sustancias químicas seguras que no afecten al producto ni al consumidor final.

Plan de Monitoreo de Servicios Industriales

Aguas de Fabricación

Los resultados para las aguas de fabricación se muestran en la tabla No.24.

Tabla No.24

Resultados generales de aguas de Fabricación.

Mes	Coliformes	<i>Escherichia coli</i>
Julio	AUSENCIA	AUSENCIA
Agosto	AUSENCIA	AUSENCIA
Septiembre	AUSENCIA	AUSENCIA
Octubre	AUSENCIA	AUSENCIA
Noviembre	PRESENCIA	AUSENCIA
Diciembre	PRESENCIA	AUSENCIA
Enero	AUSENCIA	AUSENCIA

Para las aguas de fabricación, el procedimiento ante un resultado positivo, establece un reanálisis, en donde el tiempo de purga se aumenta para eliminar cualquier tipo de agua estancada. De volver a salir un resultado no conforme, se procede a dar aviso al área de Higiene quienes tomarán las medidas implantadas según el lineamiento interno, resultando en un vaciado completo del tanque para su posterior limpieza.

Aguas de Circuitos

Los resultados de los análisis para las aguas de circuito, son presentados en la tabla No.25.

Tabla No.25

Resultados generales de aguas de circuitos.

Mes	Muestras	Aerobios mesófilos	Coliformes	Muestras Conformes
Julio	8	30	<10	8
Agosto	5	60	<10	8
Septiembre	5	60	<10	8
Octubre	8	20	<10	8
Noviembre	5	1100	10	3
Diciembre	5	1200	30	2
Enero	8	80	<10	8

Nota: Los resultados presentados como <10 representan un resultado negativo o ausencia de crecimiento en el análisis.

Las muestras que estuvieron por encima del límite microbiológico se vuelven a analizar, sin embargo, no es muy probable que su resultado varíe, puesto que las aguas de circuito no son tomadas tras algún flujo del agua, sino que son tomadas directamente de los tanques, debido a que, como su nombre lo dice, pertenecen a circuitos cerrados que se encargan de manejar una temperatura idónea para el proceso de producción, y dependiendo de su resultado, se determinará si es necesario o no el vaciado total del agua para la limpieza de los tanques implicados.

Aguas de Bebederos y Dispensadores

En la tabla No.26 se muestran los resultados generales para el análisis de las aguas de los bebederos y dispensadores.

Tabla No.26

Resultados generales de Bebederos y Dispensadores.

Mes	Coliformes	<i>Escherichia coli</i>
Julio	PRESENCIA	AUSENCIA
Agosto	AUSENCIA	AUSENCIA
Septiembre	AUSENCIA	AUSENCIA
Octubre	AUSENCIA	AUSENCIA
Noviembre	AUSENCIA	AUSENCIA
Diciembre	AUSENCIA	AUSENCIA
Enero	PRESENCIA	AUSENCIA

La ausencia total de microorganismos coliformes en las aguas de bebederos y dispensadores garantiza al personal de la fábrica no enfermarse por el consumo del agua, sin embargo, al presentarse un resultado no conforme de está, se procederá a hacer el re análisis, limpiando de manera exhaustiva la boquilla o llave por donde sale el agua, de esta forma evitaremos un falso positivo por alguna contaminación en la superficie y un tiempo de purga mayor. De reincidir el resultado positivo para presencia de coliformes, se procederá a informar al área de Higiene para se realice el respectivo mantenimiento y cambios de filtros de agua, y se deshabilita en lo que recibe el cambio de filtros.

Torres de Enfriamiento

Los resultados de los análisis para las torres de enfriamiento se presentan en la tabla No.27

Tabla No. 27

Resultados generales de las aguas de Torres:

Mes	Aerobios mesófilos
Julio	<10000
Octubre	70000
Enero	<10000

Se reporta la desviación ocurrida en el mes de octubre con el área encargada de Higiene y calidad de la fábrica con el fin de establecer un plan de acción, para estas aguas, se pide la visita al técnico para limpieza y revisión de los tanques de aguas de torres de enfriamiento.

Unidades manejadoras de aire UMA y Puntos de Salida de aire comprimido

El resultado de cada análisis mensual para las unidades manejadoras de aire y puntos de salida comprimidos se presentan a continuación en las tablas No. 28 y tabla No.29 respectivamente.

Tabla No.28

Resultados generales para unidades manejadoras de aire:

Mes	Mohos y Levaduras
Julio	DNPC
Agosto	<10
Septiembre	<10
Octubre	<10
Noviembre	<10
Diciembre	10
Enero	<10

Tabla No.29

Resultados generales para puntos de salida de aires comprimidos:

Mes	Mohos y Levaduras	Aerobios Mesófilos
Julio	100	150
Agosto	<10	<10
Septiembre	200	210
Octubre	80	100
Noviembre	10	<10
Diciembre	190	20
Enero	<10	<10

Cuando el resultado es demasiado numeroso para contar o está por encima del límite permitido se informa a las áreas a cargo, como higiene y producción, con el fin de realizar un correcto aseo y desinfección, para su posterior re análisis, de reincidir la contaminación, se deberá instalar una manguera nueva en el caso de los puntos de salida de aire comprimido y volver analizar.

Manipuladores y Uniformes

Los resultados para el análisis de manipuladores y uniformes están descritos en la tabla No.30.

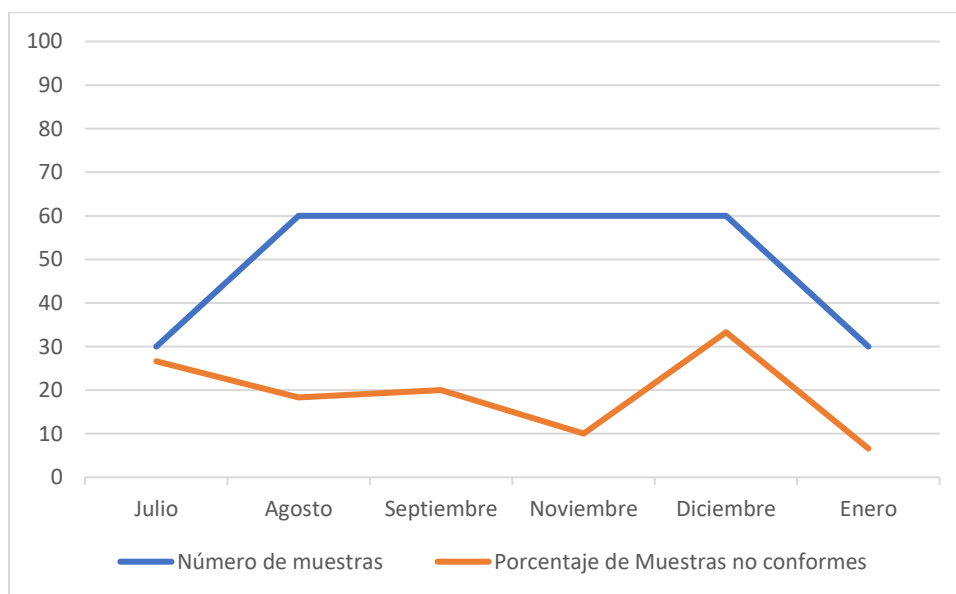
Tabla No. 30

Resultados generales para Manipuladores y Uniformes.

Mes	Número de muestras	Uniformes	Manipuladores	Muestras no conformes
Julio	30	15	15	8
Agosto	60	30	30	11
Septiembre	60	30	30	12
Noviembre	60	30	30	6
Diciembre	60	30	30	20
Enero	30	15	15	2

Figura No. 2

Comportamiento del porcentaje de desviaciones en muestras de manipuladores y uniformes.



Como se puede observar en la figura No.2, en el mes de diciembre se presentó mayor desviación microbiológica, esto pudo deberse al tipo de labores que realizaban los operarios de la fábrica, puesto que, a pesar de que la fábrica estuvo detenida, los monitoreos se tenían que seguir

tomando, y los operarios presentes en fábrica realizaban labores de limpieza, por lo que el polvo y las condiciones generales del ambiente se verían reflejados en sus uniformes. Al ser un muestro que se realiza cada 15 días, los datos de Julio y Enero presentan ese comportamiento, en Julio el porcentaje de muestras no conformes se eleva, al tener solamente las muestras de una quincena. Para aquellas personas que tuvieron muestras no conformes, se les hace una retroalimentación con explicación de buenas prácticas de higiene y de manipulador, la ubicación del manipulador y su función dentro de la fábrica va determinar el límite permisible de enterobacterias. Los límites establecidos para determinar si una muestra está desviada o no se presentan en la Tabla No.29.

Herramientas y Repuestos

Los resultados de los análisis de herramientas y repuestos a lo largo del semestre se plantean a continuación en la tabla No.31.

Tabla No.31

Resultados generales para Herramientas y Repuestos

Mes	Número de muestras	Uniformes	Manipuladores	Muestras no conformes
Julio	20	10	10	1
Agosto	20	10	10	0
Septiembre	20	10	10	0
Noviembre	20	10	10	0
Diciembre	20	10	10	2
Enero	20	10	10	0

A diferencia del muestreo de manipuladores y uniformes, son muy pocas las muestras no conformes en herramientas y repuestos, esto, debido al tipo de superficie muestreado para realizar el análisis de enterobacterias, que son completamente secas sin actividad de agua o actividad acuosa, lo que va limitar el crecimiento de estas, las enterobacterias requieren de nutrientes simples de carbono como fuente de energía, la presencia de grasa en las herramientas no permite un ambiente óptimo para su desarrollo al no ser lipolíticas. Los parámetros microbiológicos se pueden observar en la tabla No.1231231 en el inciso de metodología.

Determinación de *Salmonella*, de muestras de Bugalagrande y Valledupar (DPA)

El laboratorio de patógenos de Comestibles La Rosa, presta sus servicios para todas las fábricas de Nestlé a nivel de Colombia para el análisis de detección de *Salmonella*, llegando a procesar más de 200 muestras por día, entre las muestras que se analizan se incluyen productos terminados, productos de línea, frotis de líneas, materias primas, ambientes y muestras investigativas, lo que cada fabrica requiera o necesite para su funcionamiento. Estos análisis son de suma importancia realizarlos de la manera más aséptica y correcta posible, no solo por las distancias que hay entre las fábricas y el tiempo de llegada de las muestras en caso tal de que se requiera repetir una muestra por mala manipulación del analista, sino, que un resultado falso positivo daría lugar a un control medio de higiene innecesario, como hemos visto puntos anteriores en un control medio de higiene el número de muestras aumenta de manera considerable lo que significa mayor número de envíos de muestra. Los resultados de las muestras provenientes de las fábricas de DPA y Bugalagrande se muestran en la tabla No.32.

Tabla No.32

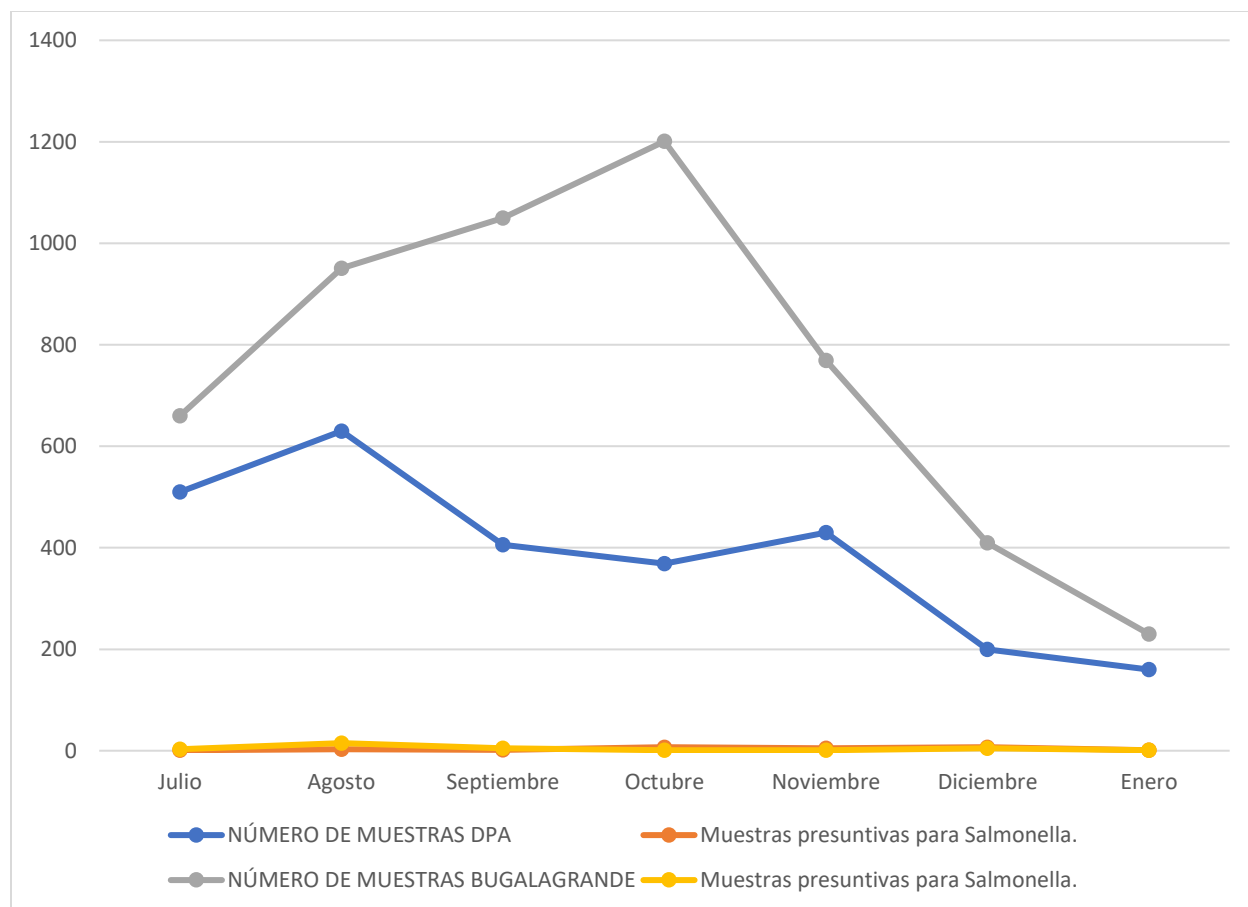
Resultados generales para muestras provenientes de DPA y Bugalagrande.

MES	NÚMERO DE MUESTRAS DPA	Muestras presuntivas para <i>Salmonella</i> .	NÚMERO DE MUESTRAS BUGALAGRANDE	Muestras presuntivas para <i>Salmonella</i> .
Julio	510	1	660	3
Agosto	630	3	951	15
Septiembre	406	2	1050	5
Octubre	369	7	1201	1
Noviembre	430	5	769	1
Diciembre	200	7	410	5
Enero	160	1	230	1

Para estos resultados, la decisión de entrar en un control medio o máximo de higiene, no va depender exclusivamente de la cantidad de muestras presuntivas para *Salmonella*, sino que también dependerá el área donde se detectó el presuntivo, es decir, si es de una línea, o de un ambiente E1, E2 o E3. Los resultados positivos otorgados por el VIDAS son subidos al sistema, con la anotación de que se está llevando a cabo su confirmación y a la espera del resultado final, estas muestras presuntivas son sembradas en medios selectivos y diferenciales para *Salmonella*, una vez se obtienen colonias características se procede a confirmar mediante pruebas bioquímicas y serológicas, para finalmente poder dar el resultado confirmatorio a la fábrica.

Figura No.3

Representación de número de muestras analizadas de DPA y Bugalagrande.



Como nos presenta los datos en la figura No.3, las muestras de Bugalagrande, los meses de septiembre y octubre se recibieron la mayor cantidad de muestras debido a dos controles medios que se presentaron, por la presencia presuntiva de *Salmonella* en una de sus líneas, la cual reincidió el mes siguiente. Para DPA, el mes de agosto, se recibieron muestras por control medio, debido a la ruptura en la estructura de un tanque de almacenamiento de su materia prima, por ende, el muestreo se aumentó y entraron de manera directa a un control medio de higiene sin haber tenido anteriormente un presuntivo para *Salmonella*.

Conclusiones

El laboratorio de Patógenos de Comestibles La Rosa, está a la altura de los estándares de Nestlé, para la realización de muestreos significativos y análisis confiables, que permiten la liberación continua de los productos fabricados por Nestlé, gracias a su plan de autocontrol interno el cual funciona como una evaluación semanal sobre las buenas prácticas de laboratorio.

Los productos terminados, los productos de líneas y frotis de líneas cumplen con los criterios microbiológicos planteados por la NQAC y algunos de los lineamientos planteados por la normativa colombiana.

En los servicios industriales se mantiene un control de higiene que permite un buen funcionamiento de las líneas de producción, sin temor a una contaminación.

Las desviaciones microbiológicas presentes en las líneas, y las aguas correspondientes al monitoreo de servicios industriales son corregidas de manera inmediata y se les realiza un seguimiento constante con el objetivo de prevenir una futura contaminación al producto terminado.

Los productos fabricados y distribuidos por Nestlé a nivel nacional son aptos para el consumo humano, con ausencia total para *Salmonella*, esto, gracias a cada lineamiento aplicado para cada paso de la producción, desde el control preventivo en las condiciones de higiene de cada área hasta las acciones correctivas que el grupo de calidad decide.

Recomendaciones O Sugerencias

Continuar con el seguimiento de análisis y muestreo para asegurar el control de calidad, determinando los focos de contaminación más comunes y que reinciden en los monitoreos con el fin de evaluar los planes de acción que se llevan a cabo. Las realizaciones de capacitaciones continuas al personal respecto a la limpieza y desinfección, enfatizando en el tiempo de acción del desinfectante sobre la superficie. Capacitación constante para los manipuladores del producto, aquellos que están en contacto con el producto final.

Referencias

- Nestlé Good Food, Good Life (s.f.) *Conócenos*. <https://www.nestle.com.co/conocenos>
- Lineamientos generales para preparación y manejo de reactivos y medios de cultivo. POE-R01.0000-019. Instituto Nacional de Salud. 22-09-2017.
- Nestlé Quality Assurance Center, 2019. <https://www.nqaclabs.com/>
- Resolución 00002674. Ministerio de Salud y Protección Social. 2013.
- FSMA — Norma sobre la adulteración intencional, 2016.
- Perfil de Riesgo *Salmonella* spp (no tifoideas) en pollo entero y piezas. Ministerio de Protección Social. Instituto Nacional de Salud. 2011.
- La Rosa proyecta el apoyo a los emprendedores de la región S.f.
<https://www.pereira.gov.co/publicaciones/5897/la-rosa-proyecta-el-apoyo-a-los-emprendedores-de-la-region/>
- Bustamante Vargas N.; J. *Video institucional Comestibles La Rosa*. Universidad Católica de Pereira. 2012.
- Nestlé Good Food, Good Life (s.f.) <https://chocolatesygalletasnestle.com.co>
- Smith, J. P., Daifas, D. P., El-Khoury, W., Koukoutsis, J., & El-Khoury, A. (2004). Shelf life and safety concerns of bakery products—a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(1), 19–55. <https://doi.org/10.1080/10408690490263774>
- Li, H., Fu, X., Bima, Y., Koontz, J., Megalis, C., Yang, F., Fleischman, G., & Tortorello, M. L. (2014). Effect of the local microenvironment on survival and thermal inactivation of

Salmonella in low- and intermediate-moisture multi-ingredient foods. *Journal of food protection*, 77(1), 67–74. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-277>

Martins Morasi R., Mores Rall V. L., Alves Dantas S. T., Pérez Alonso V. P., Cirona Silva N. C. (2022). *Salmonella* spp. En alimentos con baja actividad hídrica: aparición, mecanismos de supervivencia y termorresistencia. *Journal of Food Science*.
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.16152>

IDEXX Latinoamérica. *Colilert*. <https://al.idexx.com/es-xl/water/water-products-services/colilert/>)

Constante Catuto, C. K. (2020) *Estandarización de un método in vitro para medir la viabilidad de bacterias patógenas de Penaeus vannamei adaptando el ensayo de reducción del MTT*. Escuela Superior Politécnica del Litoral.

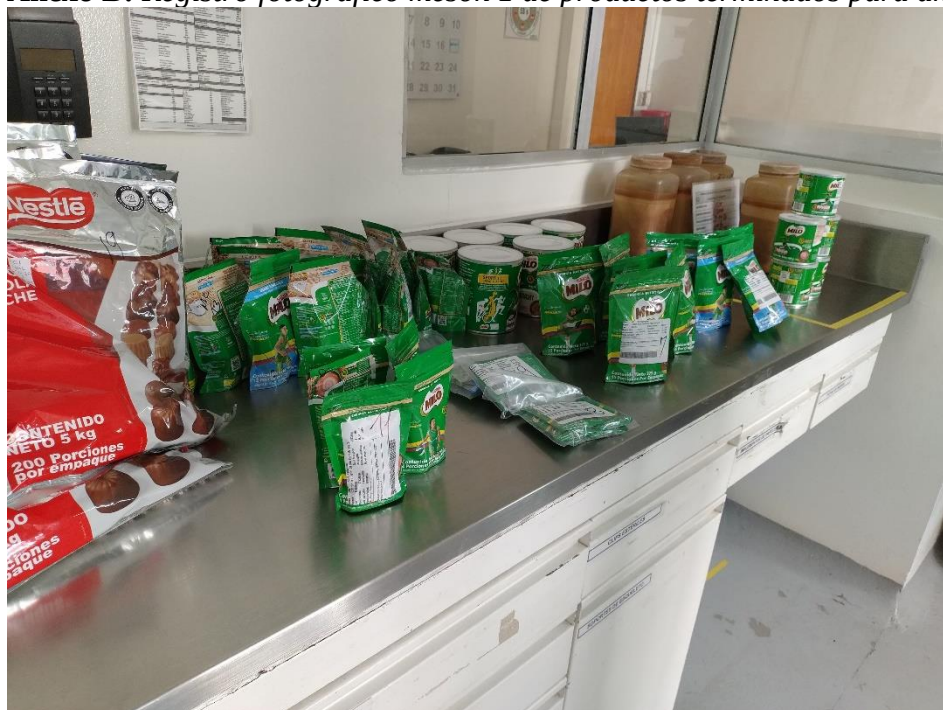
Nielsen C. K., Kjems J., Mygind T., Snabe T., Meyer R. L. (2016). *Effects of Tween 80 on Growth and Biofilm Formation in Laboratory Media*. *Frontiers in microbiology*.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01878>

Anexos

Anexo A: Registro fotográfico recepción en mesón No.2, de muestras de Bugalagrande:



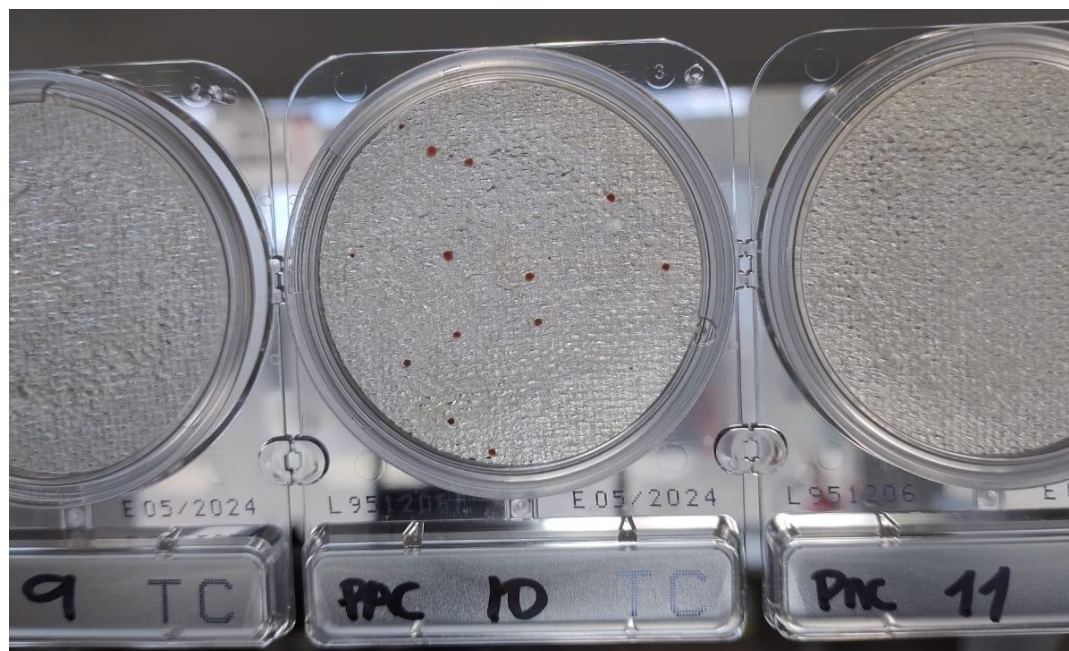
Anexo B: Registro fotográfico mesón 1 de productos terminados para análisis de Salmonella



Anexo C: Registro fotográfico petrifilms de EB negativos con sus respectivos blancos.



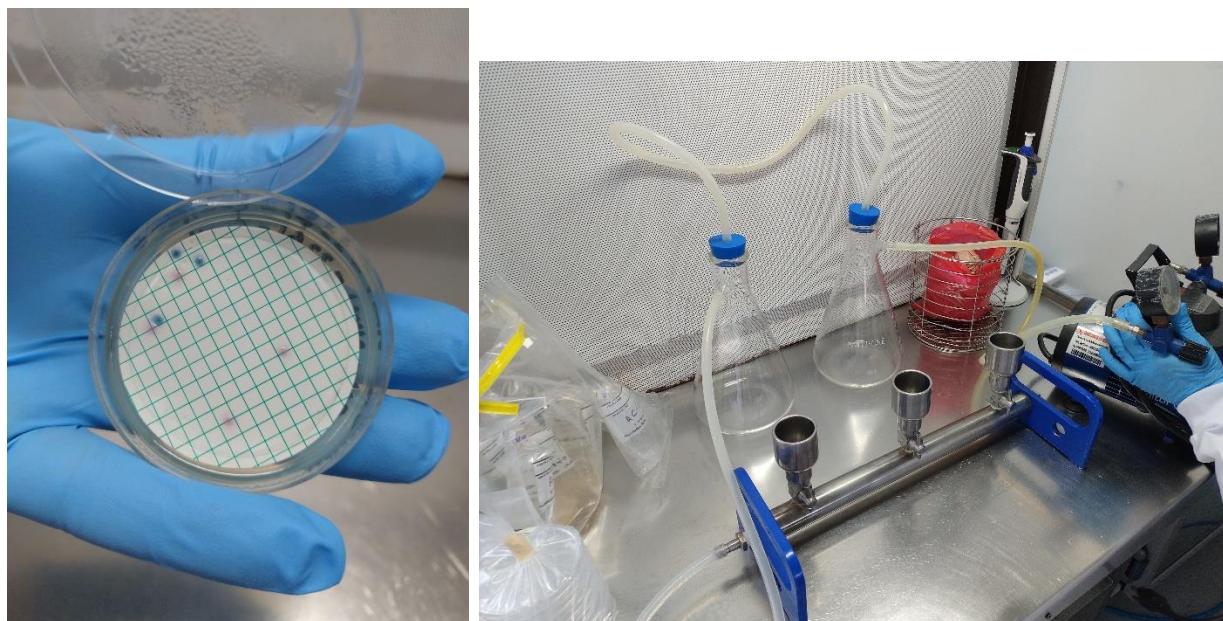
Anexo D: Registro fotográfico PAC en compact DRY para aerobios mesófilos



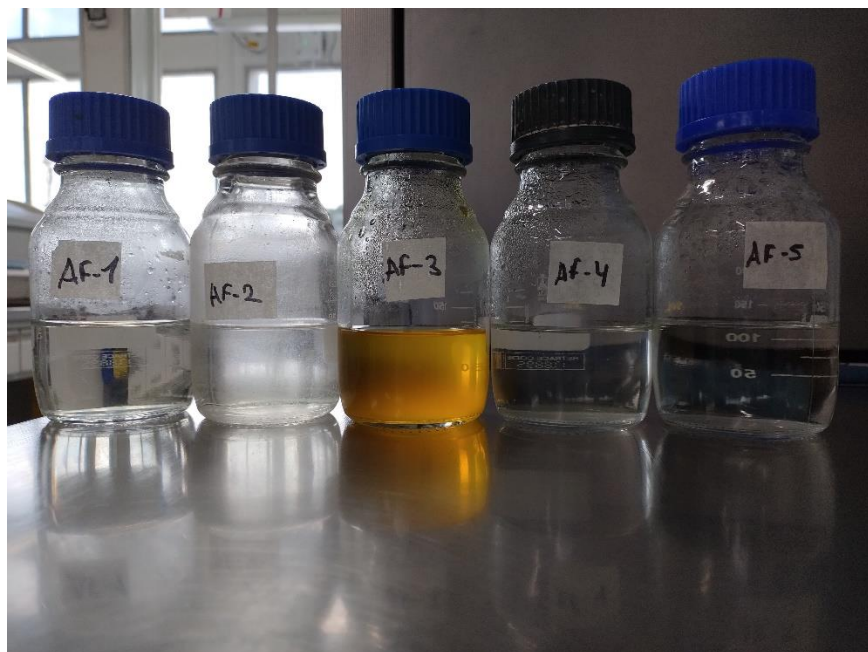
Anexo E: Registro fotográfico elaboración de medios en autoclave Sterilof de 400 L y 250 L



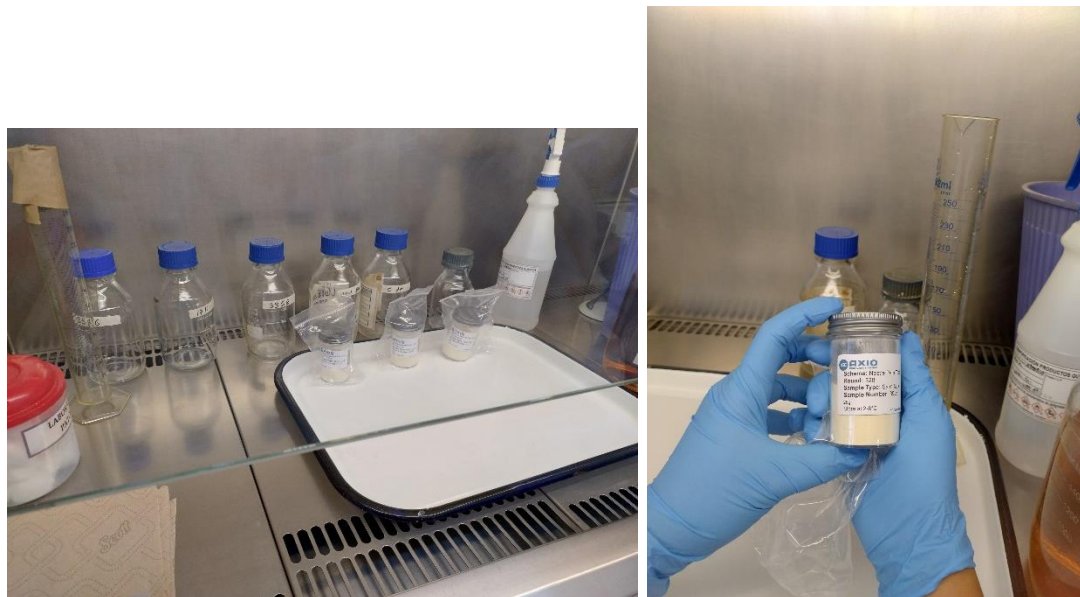
Anexo F: Registro fotográfico agar Chromocult método filtración por membrana para análisis aguas de circuitos.



Anexo G: Registro fotográfico análisis de aguas mediante sustrato definido Colilert



Anexo H: Registro fotográfico elaboración del TEST-P de Nestlé



Anexo J: Registro fotográfico galleta de exportación



Anexo K: Registro fotográfico entrenamiento sobre el Kit Anti-derrames

