



**UNIVERSIDAD
DE ANTIOQUIA**

**PROTOCOLO PARA LA VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LOS
PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTANDARIZADOS DE SANITIZACIÓN EN LA
LÍNEA DE QUESOS BLANCOS DE LA PLANTA DE DERIVADOS LÁCTEOS DE LA
COOPERATIVA COLANTA®**

Daniela Santa Zapata

**Trabajo de monografía presentado como requisito para optar al título de:
Especialista en Sistemas de Gestión de Calidad e Inocuidad Agroalimentaria**

Asesores:

Dra. Carla María Blanco Lizarazo

MSc. Sergio Ceballos Rivera

Universidad de Antioquia

Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias

Departamento De Alimentos

Medellín, Colombia 2021



AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a Dios quien permite, guía y proporciona día a día los medios para mi crecimiento personal; a mis padres y hermanos quienes han sido mi motor, mi inspiración y quienes me incentivaron a continuar estudiando, me acompañaron emocional y anímicamente durante el curso de la especialización, a mi novio por su paciencia, compañía y apoyo.

A los docentes que hacen parte del programa de la especialización, que desde su experiencia y conocimiento aportaron a mi vida personal y profesional; a la Universidad de Antioquia por permitir este espacio académico, para el crecimiento educativo de los profesionales.

A la Cooperativa Colanta®, empresa que me ha visto crecer como profesional aportando todo el conocimiento a mi carrera como Bacterióloga y me permitió dar ejecución operativa a la investigación monográfica para obtener el título de Especialista.

Tabla de contenido

Resumen	7
1. Introducción.....	8
2. Planteamiento del Problema	111
3. Justificación.....	133
4. Objetivos	15
Objetivo general	15
Objetivos específicos	15
5. Antecedentes.....	16
5.1 Descripción del proceso de fabricación de quesos blancos	21
6. Marco normativo aplicado a los lácteos.....	29
7. Materiales y métodos.....	31
7.1. Diseño metodológico	31
7.2. Verificación microbiológica.....	31
7.3. Verificación estadística.....	37
7.4. Especificaciones de muestreo.....	38
7.4.1. <i>Frotis a equipos y superficies para análisis de Listeria spp. como indicador de inocuidad</i>	39
7.4.2. <i>Frotis a equipos y superficies para análisis de E.coli como indicador de calidad</i> ...	410
8. Resultados.....	4544
9. Conclusiones.....	48
Referencias	50

Lista de tablas

Tabla 1.	Descripción del proceso de fabricación de Quesos blancos.....	21
Tabla 2.	Materiales para muestreo de <i>Listeria</i> spp.....	39
Tabla 3.	Materiales para muestreo de <i>E.coli</i>	41

Lista de figuras

Figura 1.	Descripción de los equipos o líneas que se lavan por CIP en la Cooperativa Colanta.....	19
Figura 2.	Tomado de presentación programas pre-requisitos INVIMA.....	20
Figura 3.	Diagrama de flujo fabricación en la línea quesos frescos.....	28
Figura 4.	Microorganismos implicados en los brotes de ETA en América Latina.....	33
Figura 5.	Estadísticas de CDC del comportamiento de los brotes causados en quesos frescos clasificados por alimentos, condiciones ambientales y microorganismo.....	34
Figura 6.	Estadísticas de CDC de los brotes, enfermedades, hospitalizaciones y fallecimientos causados por quesos frescos por <i>E.coli</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> en Estados Unidos.....	35
Figura 7.	Brotes causados en quesos frescos por año y por mes.....	35
Figura 8.	Estadísticas de CDC de los brotes causados en quesos frescos y Leche, clasificados por alimentos, condiciones ambientales y microorganismos.....	35
Figura 9.	Estadísticas de CDC del comportamiento de los brotes causados en quesos frescos y leche por año y mes.....	36
Figura 10.	Estadísticas del CDC de los brotes, enfermedades, hospitalizaciones y fallecimientos causados por quesos frescos por <i>E.coli</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> en Estados Unidos.....	36
Figura 11-12.	Frotis a superficie para <i>Listeria</i> spp.....	40
Figura 13-14.	Frotis a superficie para <i>E.coli</i>	42
Figura 15.	Presencia de Coliformes totales.....	43
Figura 16.	Presencia de <i>E.coli</i>	43
Figura 17.	Presencia de Coliformes totales y <i>E.coli</i>	43
Figura 18.	Ejercicio de <i>forest plot</i> con las variables de microorganismos (<i>E.coli</i> y <i>Listeria</i> spp).....	44
Figura 19.	Debilidades (matriz DOFA).....	46
Figura 20.	Oportunidades (matriz DOFA).....	46
Figura 21.	Fortalezas (matriz DOFA).....	47
Figura 22.	Amenazas (matriz DOFA).....	47

GLOSARIO

BHI: Es un medio muy rico en nutrientes, que proporciona un adecuado desarrollo microbiano. (Infusión de cerebro corazón).

BPM: Las buenas prácticas de fabricación o normas de correcta fabricación.

CIP: Cleaning in Place (Limpieza in situ), se podría definir como la limpieza realizada en el interior de los circuitos de las plantas de producción, sin desmontar o cambiar el estado de funcionamiento para asegurar la consistencia y sostenibilidad.

COP: Quieren decir Cleaning Out of Place, se trata de un proceso de limpieza que se lleva a cabo normalmente de forma manual y el cual no forma parte del CIP de limpieza.

E.coli: Es una bacteria miembro de la familia de las enterobacterias y forma parte de la microbiota del tracto gastrointestinal.

ETA: Enfermedades transmitidas por alimentos y se definen como "el conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos o no biológicos.

Listeria monocytogenes: Es una bacteria que se desarrolla intracelularmente y es causante de la listeriosis. Es uno del patógeno causante de infecciones alimentarias más violentas.

LPT: Caldo para el enriquecimiento selectivo de Listeria.

POES: Procedimientos Operativos Estandarizados de saneamiento.

Resumen

La inocuidad y calidad de los alimentos se ve afectada por la contaminación y la carga microbiana presente en los productos alimenticios, esto constituye uno de los principales problemas de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), donde los derivados lácteos se incluyen entre los alimentos que más pueden transmitir agentes etiológicos, productores de enfermedades o intoxicaciones alimentarias; por tal motivo, el diseño, la aplicación, la ejecución y la verificación microbiológica de los POES es de gran importancia en la industria de alimentos, debido a que estas actividades son significativas para la fabricación de productos alimenticios con alta calidad e inocuidad, evitando pérdidas económicas y que el reconocimiento de la marca se vea afectada; en este trabajo fue utilizada la herramienta estadística de muestreo aleatorio simple, con resultados de frotis a equipos obtenidos entre enero y agosto del 2021, para *Listeria* spp 2.422 muestras, 84 no conformes y para *E.coli* 1.987 muestras, 97 muestras no conformes; datos que ayudarán dentro de la Cooperativa para la toma de decisiones, fortalecer los planes de monitoreo ambiental y los planes de saneamiento a partir de un protocolo de verificación microbiológica aplicando herramientas estadísticas.

Abstract

The safety and quality of food seems affected because of the pollution and the microbial load which is found in the food products, this compose one of the main problems of foodborne diseases, where dairy products are included among the foods that are able to transmit etiological agents, producers of diseases or food poisoning, for that reason, the design, application, enforcement, and microbiological verification of POES is so important in the food industry, due to these activities are relevant when it comes to food products manufacture with a high level of safety. Avoiding financial losses and the recognition of the brand could be affected, at this work, we used the statistical tool of simple random sampling method, with results of smears to teams obtained between January and August of 2021, for *Listeria* spp 2,422 samples, 84 not in conformity and for *E. coli* 1,987 samples, 97 non-compliant samples, these data which will help within the Cooperative to take decisions, to enhance environmental monitoring and sanitation plans based on a microbiological verification applying these statistical tools.

1. Introducción

La inocuidad y calidad de los alimentos se ve afectada por la contaminación y la carga microbiana presente en los productos alimenticios, esto constituye uno de los principales problemas de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) y el riesgo en la salud pública de los consumidores. Durante el año 2020 disminuyeron los casos de ETA hasta en un 56% frente al mismo periodo en 2019, según lo determinan los registros del Instituto Nacional de Salud (INS, 2018).

En las últimas décadas, las ETA constituyen un problema creciente para la salud pública mundial, donde los derivados lácteos se incluyen entre los alimentos que más pueden transmitir agentes etiológicos, productores de enfermedades o intoxicaciones alimentarias; de esta manera, la epidemiología de los brotes de enfermedades relacionadas con el consumo de quesos frescos representa uno de los mayores riesgos en la transmisión de agentes patógenos comparados con otros (Martínez Vasallo, 2016).

Las investigaciones epidemiológicas realizadas para identificar las causas de brotes por ETA, muestran que uno de los alimentos causantes de estas son los quesos por la preferencia del consumidor, entre ellos el queso fresco, que es cada vez mayor debido a sus características de sabor y textura. Este producto es manufacturado en su mayoría por pequeños agricultores y en menor escala por grandes industrias lácteas. El sabor se debe principalmente a la presencia de las bacterias ácido lácticas (*Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., y *Enterococcus* spp), las cuales también pueden contribuir a la inhibición del crecimiento de microorganismos patógenos como *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* (Castellanos, 2007-2016).

Es de importancia mencionar los datos reportados en cuanto a las ETAs en Colombia al primero de agosto de 2020 se habían presentado 3.079 casos, siendo los hogares el lugar en el que más brotes ocurrieron (139), seguido de los restaurantes (34). El mismo informe reveló que el 65% de los brotes se dio a partir de alimentos, agua, superficies vivas o inertes, según tomas de muestras realizadas; así como el agente etiológico más identificado fue *Staphylococcus aureus*, causante de 10 brotes, seguido de los *Coliformes totales*, *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. (MinSalud, 2020). Por otro lado, acorde con datos recientes de la FAO, a nivel global se pierden y desperdician 1300 millones de toneladas de alimentos por año, es decir, un tercio de los alimentos producidos para

consumo humano. En América Latina y el Caribe, estas cifras llegan al 34% de los alimentos producidos, lo que se representa en 127 millones de toneladas. (FAO, 2019).

Datos bibliográficos revelan una investigación realizada por expertos de la Universidad de Edimburgo (Escocia), unos 116 millones de toneladas de productos lácteos se desperdician cada año en el mundo, de este volumen (16% de toda la producción), unos 60 millones de toneladas son desperdiciadas por minoristas, distribuidores y consumidores, es decir, algo más de la mitad de lo que se desecha. El resto, alrededor de 55 millones de toneladas, se desperdician antes de que los productos lleguen a manos de los minoristas durante su producción y distribución; otros analistas consideran que el desperdicio es mucho mayor y llega al 30% de toda la producción, si se tiene en cuenta el uso de la leche como alimento para animales, la saturación de los mercados internacionales o el consumo excesivo. Pero si se realiza un análisis por países, el desperdicio de lácteos generado en el trayecto de la granja a las tiendas es mucho mayor en los países en vía de desarrollo que en los países desarrollados, la razón es que los países con economías deprimidas tienen más problemas para almacenar, conservar y transportar los productos lácteos (Cía, 2018).

Es por esto que el diseño, aplicación, ejecución y verificación microbiológica de los POES es de gran importancia en la industria de alimentos, debido a que estas actividades son significativas para la fabricación de productos alimenticios con alta calidad e inocuidad, evitando pérdidas económicas y que el reconocimiento de la marca se vea afectada; también se busca mantener los equipos en condiciones sanitarias adecuadas, y evitar el deterioro físico de los mismos. En consecuencia, se debe evaluar e identificar las actividades de limpieza críticas sobre las que se ha identificado potencial peligro de contaminación cruzada; así se evalúe de manera objetiva y medible (cuantitativa o cualitativamente) los aspectos que permitan la implementación de un protocolo de verificación microbiológica de la ejecución de los POES. Por tanto, es necesario incluir en los planes de trabajo, capacitar a las personas encargadas de estas actividades, no solo para dar cumplimiento a los requisitos legales, sino para hacerlos parte del proceso y para que ellos visualicen la importancia y el impacto económico o de reputación para la empresa; además, es fundamental considerar los riesgos en salud de los consumidores que implica las deficiencias en los procesos.

Para darle peso a este proyecto de investigación, se plantea su ejecución y realización en la planta de derivados Lácteos, la cual es la más grande de las plantas que conforman la Cooperativa; cuentan con varias líneas de transformación de materia prima láctea, entre ellas la línea de quesos frescos, donde se procesan diferentes referencias de quesos como: queso blanco nacional, queso blanco tipo exportación, queso blanco campesino y queso blanco *slight*. Por ello, esta línea de producción determina en gran parte el éxito como empresa productora de alimentos que trabaja con altos estándares de calidad y eficiencia en cada uno de estos procesos, tanto para dar cumplimiento a la normatividad vigente en Colombia y por el compromiso desde la alta dirección en la calidad y el reconocimiento en el mercado nacional e internacional.

Este proyecto busca que los productos de la línea de quesos frescos de la empresa continúen con el cumplimiento de los estándares de calidad y las normas vigentes en materia alimenticia en el mercado colombiano. Es por esto que la línea de quesos blancos será la piloto para realizar el protocolo de verificación microbiológica de los POES y revisar los procedimientos que están implementados actualmente. Bajo este contexto, el objetivo general fue establecer el protocolo para la verificación microbiológica de los POES en la línea de quesos blancos de la planta de derivados lácteos de la Cooperativa Colanta® ubicada en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia, donde se desarrollan procesos de producción y comercialización de productos lácteos con una trascendencia en el mercado alimenticio colombiano de más de 50 años de experiencia y tradición.

2. Planteamiento del Problema

Los indicadores fisicoquímicos utilizados para evaluar la calidad de los quesos son pH, humedad, acidez, cloruros, grasa y proteína. Y dentro de los parámetros microbiológicos para cuantificar e identificar la presencia de patógenos son *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* y *Brucella* spp. y algunos microorganismos alterantes como: mohos y levaduras, bacterias ácido lácticas, algunos *Aerobios Mesófilos* (Perdomo, 2015). De esta manera, es evidente la necesidad de continuar e intensificar acciones de control y verificación en los procesos de fabricación de los quesos, dado que estos productos son considerados altamente perecederos, particularmente por su composición y susceptibilidad a sufrir alteraciones que conllevan a su deterioro principalmente por microorganismos patógenos, (Castro, 2016).

Los quesos frescos y blandos de tipo hispano fabricados con leche pasteurizada han causado brotes de *L. monocytogenes* aun considerando que la pasteurización es conocida como procesos de tratamiento térmico para lograr la reducción de microorganismos patógenos en la materia prima. No obstante, la contaminación con este y otros patógenos o microorganismos indicadores de calidad en quesos blandos elaborados con leche pasteurizada está fuertemente relacionada con la contaminación cruzada durante los procesos de fabricación, dado que las instalaciones no cuentan con las condiciones higiénicas adecuadas, aportando así carga microbiana (CDC, 2021). *Listeria monocytogenes* es el agente causal de la enfermedad de origen alimenticio conocida como listeriosis cuya forma invasiva puede causar meningoencefalitis, septicemia y abortos espontáneos; los alimentos contaminados con esta bacteria son la principal vía de infección, en este sentido los quesos frescos artesanales son los alimentos que mayor preocupación generan en la salud pública (Ocampo Ibáñez, 2019).

Otro de los microorganismos que puede ser causante de ETAs y con alta prevalencia en los aislamientos en los quesos frescos es *Escherichia coli*, implicando un riesgo potencial de enfermedades transmitidas por alimentos si los productos se consumen frescos. El recuento de *coliformes totales* y *E. coli* es un importante indicador de contaminación fecal que advierte de la posible presencia de otros patógenos en las muestras de queso comercializados. Si bien no se identifican serológicamente las especies de *E. coli* aisladas es significativa la variedad de serotipos

toxigénicos conocidos y el riesgo de sintomatología clínica, considerando que el producto se comercializa generalmente con poca o ninguna maduración, lo cual es considerado un riesgo para la salud de los consumidores (Rodríguez Pacheco, 2015).

En consecuencia, es fundamental garantizar el cumplimiento de las exigencias de la calidad microbiológica en quesos frescos acorde con las normas colombianas en las que se dispone la necesidad e importancia de la aplicación de los POES los cuales se definen como “Todos aquellos procedimientos que un establecimiento se llevan a cabo diariamente, antes y durante las operaciones para prevenir la contaminación directa del alimento” (García, 2016). De esta manera, para dar cumplimiento a los muestreos microbiológicos es fundamental aplicar métodos y herramientas para los análisis microbiológicos donde se cuantifiquen y cualifiquen aquellos microorganismos que están presentes en el producto (queso fresco), en el ambiente, equipos y superficies favorecidos por las deficiencias en los procesos de sanitización, mala rotación de los sustancias de limpieza, tiempos prolongados en la producción y la contaminación cruzada en los procesos de fabricación.

Es por esto que se buscan herramientas como variables estadísticas, las cuales permiten revisar y seleccionar de forma aleatoria y homogénea como: el número de muestras a tomar, equipos, frecuencia de muestreo, y microorganismos a evaluar. Bajo ese contexto se plantea la pregunta de investigación ¿Los protocolos de verificación microbiológica a los planes operativos estandarizados de sanitización actuales, se deberán ajustar con base en un análisis de validación estadística?

3. Justificación

Esta investigación comprende aspectos generales y específicos sobre la vigilancia, prevención, promoción y control de los POES, en los cuales se muestran las instrucciones escritas para diversas operaciones particulares o generales y aplicables a diferentes productos que describen de forma detallada la serie de procedimientos y actividades que se deben realizar en un lugar determinado (Dvivo, 2010), lo cual permite identificar que estas prácticas son una responsabilidad ampliamente compartida entre los entes normativos, las organizaciones y las empresas que componen la cadena de producción y comercialización del sector alimentario como es el caso de la Cooperativa Colanta®, por su producción de quesos frescos.

De esta manera la implementación parte de la revisión bibliográfica donde se describan los POES y los controles que se deben realizar después de su aplicación, seguido de la revisión de los datos obtenidos en los muestreos realizados a los equipos y superficies en el periodo del 1 de enero a 30 de agosto de 2021 en la línea de quesos blancos, para validar las actividades de limpieza y desinfección donde se evalúa *E.coli* como indicador de calidad (técnica tradicional en agar Chromocoult) y *Listeria spp* como indicador de inocuidad (técnica semi automatizada equipo vidas).

Al evaluar los resultados obtenidos durante un periodo de tiempo se utilizarán herramientas estadísticas con un muestreo aleatorio simple articulándolos desde la necesidad de los planes de mejoramiento, cualificación y excelencia Cooperativa y la eficiencia de los muestreos en tiempo y costos. Y por otro lado las de tipo cuantitativa para analizar las frecuencias de variables aleatorias y la distribución de probabilidad en el muestreo microbiológico, utilizando herramientas estadísticas, como el modelo Beta generalizado donde “La teoría de probabilidad y estadística, la distribución beta representa una familia de distribuciones de probabilidad continuas con soporte en el intervalo (0,1). La densidad beta es caracterizada por dos parámetros positivos, indicados generalmente por α y β o u y v , que son parámetros de localización y de escala. La distribución beta ha sido aplicada para modelar el comportamiento de variables aleatorias limitadas a intervalos de amplitud finita, en una gran variedad de áreas” (González, 2014). Y otra de tipo mixta, “es aquella que aúna en los métodos cuantitativos y cualitativos, con el fin de disponer de las ventajas de ambos y minimizar sus inconvenientes”. La investigación mixta, por tanto, lo que hace es

utilizar los dos métodos pudiendo así conseguir un estudio más completo y detallado sobre un fenómeno determinado (Arias, 2020). Comprendiendo esto como la unión de dos enfoques: cuantitativo y cualitativo haciendo que la investigación monográfica tenga impacto económico y la objetividad en los muestreos y sus resultados.

Se debe dar cumplimiento a la norma legal vigente como la resolución 2374 del año 2013, la cual establece los requisitos sanitarios que se deben cumplir para las actividades de fabricación, procesamiento, preparación, envase, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización de alimentos y materias primas de alimentos, así como los requisitos para la notificación, permiso o registro sanitario de los alimentos, según el riesgo en salud pública con el fin de proteger la vida y la salud de las personas (MinSalud, 2013). Y a la resolución 2310 de 1986, la cual especifica los requisitos que se deben cumplir durante el procesamiento, composición, transporte y comercialización de los derivados lácteos y se reconoce taxativamente que en la elaboración de estos productos se requieren controles y análisis apuntando a la búsqueda especialmente de *Listeria monocytogenes*, Coliformes fecales y Coliformes totales, debido a que los análisis microbiológicos del producto terminado se pueden ver afectados por la contaminación cruzada con los equipos y manipuladores. (Minsalud, Resolución 1804, 1989)

4. Objetivos

Objetivo general

Desarrollar estrategias de verificación microbiológica con validez estadística para el mejoramiento de los planes operativos estandarizados de sanitización (POES) en la línea de quesos blancos de la Cooperativa Colanta® del Municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia, Colombia.

Objetivos específicos

1. Analizar cómo se desarrolla y ejecuta el POES en la línea de proceso de producción de quesos blancos en la Cooperativa Colanta®, del Municipio de San Pedro, Antioquia.
2. Verificar los planes operativos estandarizados de sanitización a partir de los análisis microbiológicos, utilizando herramientas estadísticas que impacten en los indicadores de calidad dentro de la Cooperativa Colanta®.
3. Diseñar un protocolo que permita definir los procesos de verificación de los POES en los puntos de mayor riesgo de contaminación microbiológica en equipos y superficies de contacto directo con el producto terminado.

5. Antecedentes

Las Buenas Prácticas de Manufactura son los requerimientos generales de higiene en la manipulación, preparación, elaboración, envasado, almacenamiento, transporte y distribución de alimentos para consumo humano, con el fin de garantizar que los productos en cada una de las etapas mencionadas cumplan con las condiciones sanitarias adecuadas disminuyendo los riesgos inherentes a la producción. Es importante verificar que los establecimientos donde se procesan alimentos, se manejan equipos, utensilios y donde interviene el personal en la manipulación de alimentos, deben contar con un plan de saneamiento y procedimientos claramente documentados que permitan disminuir los riesgos de contaminación de los productos (INVIMA, 2020). Estos requisitos contribuyen al aseguramiento de la producción de alimentos seguros, saludables e inocuos para el consumo humano, siendo también indispensables para la implementación y aplicación del Sistema HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control).

Se deben ejecutar las herramientas dadas en las buenas prácticas de manufactura en todos los procesos de elaboración y manipulación de alimentos y es así que al dar el debido cumplimiento se pueden obtener productos inocuos; asimismo constituyen un conjunto de principios básicos con el objetivo de garantizar que los productos se fabriquen en condiciones sanitarias adecuadas y se disminuyan los riesgos inherentes a la producción y distribución (BPM, s.f.).

La aplicación de las Buenas Prácticas de Higiene (BPH) permite el desarrollo, la aplicación y el mantenimiento de BPH que proporciona las condiciones y las actividades necesarias para apoyar la producción de alimentos inocuos y aptos para el consumo en todas las etapas de la cadena alimentaria, desde la producción primaria hasta la manipulación del producto final. Cuando se aplican de forma generalizada, contribuyen al control de los peligros en los productos alimentarios; el conocimiento del alimento y de su proceso de producción es fundamental para la aplicación eficaz de BPH.

Estas gestionan muchas fuentes de peligros alimentarios que podrían contaminar los productos alimenticios, por ejemplo, las personas que manipulan los alimentos durante la cosecha, la fabricación y la preparación, las materias primas y otros ingredientes adquiridos a través de proveedores, la limpieza y el mantenimiento del entorno de trabajo, el almacenamiento y la exposición.

Como ya se ha señalado, todas las organizaciones deberían conocer y entender los peligros asociados a su actividad, así como las medidas de control necesarias para gestionar estos peligros según corresponda; además, deberían considerar si la aplicación de BPH por sí solas es suficiente para hacer frente a algunos o todos los peligros asociados con las actividades a través del control de sus fuentes, por ejemplo:

- El control de la calidad del agua, que reduce al mínimo la presencia de muchos peligros potenciales (por ejemplo, biológicos, químicos, físicos)
- El control de la contaminación fecal, que reduce al mínimo la posibilidad de contaminación con patógenos de transmisión alimentaria como *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, cepas patógenas de *E. coli*
- El control de las prácticas y la higiene de los manipuladores de alimentos que previene muchas posibles enfermedades contagiosas que podrían ser transmitidas a través de los alimentos
- El control de las superficies que entran en contacto con los alimentos mediante la limpieza, que elimina los contaminantes bacterianos, entre ellos los patógenos de transmisión alimentaria y los alérgenos (CODEX, 2020).

Es así como dando cumplimiento a lo anterior y el análisis de estos resultados permitirá al comité o equipo interdisciplinario encargado mantener, emitir o implementar medidas correctivas oportunas cuya finalidad es obtener productos alimenticios dentro de estándares de calidad y seguridad alimentaria.

Dando respuesta al objetivo que busca revisar la ejecución y realización de los POES se encuentra que dentro de las etapas de sanitización se emplean dos sistemas muy importantes, los cuales son:

Los COP por sus siglas en inglés (Cleaning out of place- limpieza fuera de sitio), se trata de un proceso de limpieza que se lleva a cabo normalmente de forma manual y el cual no forma parte del CIP de limpieza; se trata de aquellos elementos que forman parte de la instalación (banda transportadora, guarniciones, mangueras, liras, palas, tanques, cuchillas) que no serían tocadas por un sistema CIP, y los CIP por sus siglas en inglés (Cleaning in place), que nacen de la necesidad

del sector alimentario –concretamente en las centrales lecheras– de introducir en sus procesos productivos un sistema de lavado eficaz, para asegurar la correcta higiene así como la optimización de recursos. Éstas lo integran como parte fundamental de sus procesos para evitar los problemas de contaminación cruzada entre productos, los equipos pueden ser unidades centralizadas, con diferentes grados de automatización o unidades portátiles, para una operación de forma manual y se encargan de la limpieza y desinfección interior de: tanques de almacenamiento, tuberías, tanques de proceso, llenadoras, entre otros, para la correcta limpieza de dichos elementos se hace circular una solución de productos químicos, con una cierta concentración, temperatura, régimen de turbulencia y durante un tiempo determinado.

La tecnología actual permite que dichos procesos se realicen de forma totalmente automatizada y cada uno de los sistemas garantiza la repetitividad de las operaciones, con el mantenimiento adecuado de los diferentes parámetros que intervienen en dicha limpieza. En el caso de procesos de producción en los que la higiene es crítica, puede ser conveniente realizar una esterilización adicional al final del proceso de limpieza. En este sentido, se suele hablar de Sterilisation in Place (SIP). (BURKERT IBÉRICA, S.A.U.)

Es así como en el sistema de CIP usado en la planta de derivados lácteos se incluyen unas líneas para el lavado *in sitio*:

Líneas para la ejecución del CIP (5)

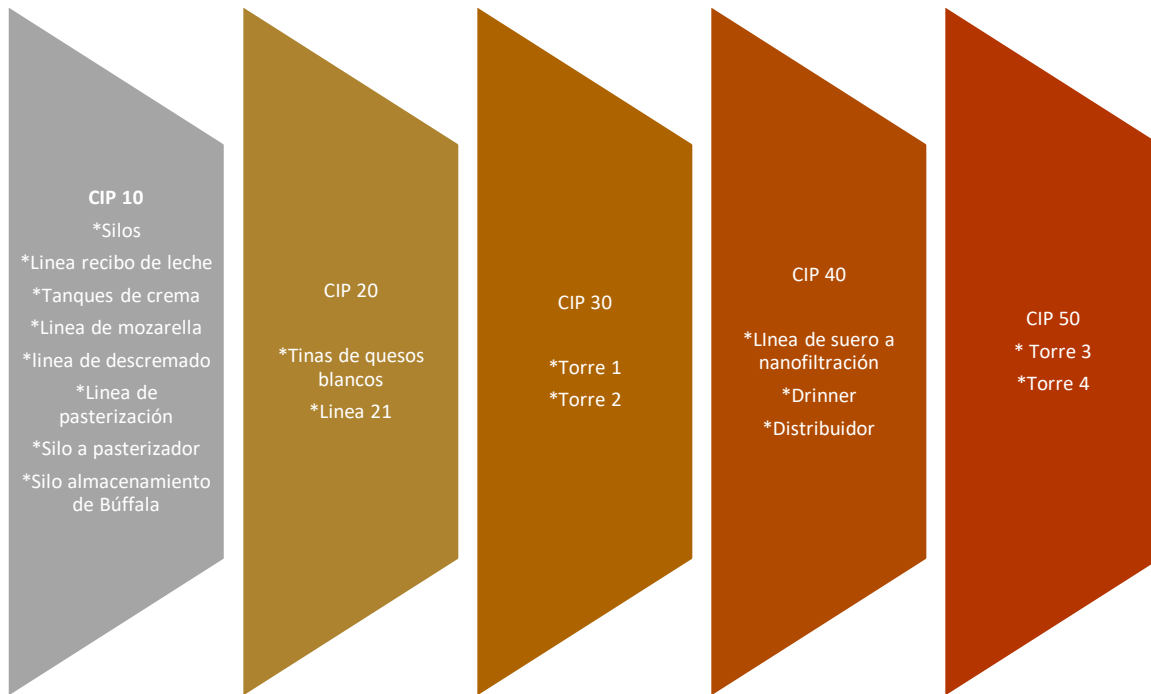


Figura 1. Descripción de los equipos o líneas que se lavan por CIP en la Cooperativa Colanta®, planta derivados Lácteos San Pedro.

Teniendo en cuenta la importancia de las BPM y las etapas de lavado, es importante identificar los puntos, áreas y equipos destinados a la manipulación y fabricación de alimentos que sean considerados de contacto directo con el producto o la materia prima; asimismo se deben tener identificados los equipos con más incidencia por contaminación microbiológica y los microorganismos presentes, además priorizar el uso de las herramientas de soporte técnico donde se plantean ampliamente las bases del control de riesgos en los alimentos y se describe el manejo de los microorganismos alterantes y de indicadores de buenas prácticas de higiene en los cuales se establecen los POES (García, 2017).

Se puede decir que los POES son instrucciones escritas para diversas operaciones particulares o generales y aplicables a diferentes equipos o superficies que describen en forma detallada la serie de procedimientos y actividades que se deben realizar en ese lugar determinado. Esto ayuda a que cada persona dentro de la organización pueda saber con exactitud qué le corresponderá hacer cuando se efectúe la aplicación del contenido del POES en la misma. Se debe

garantizar la realización de las tareas respetando el procedimiento definido, de este modo sirven también para evaluar al personal y conocer su desempeño. Al realizar la revisión periódica, se puede verificar su actualidad y si es necesario continuar capacitando al personal; otra ventaja identificada es que promueven la comunicación entre los distintos sectores de la empresa y son útiles para el desarrollo de auto inspecciones y auditorías (ANMAT, 2015).

Se deben tener en cuenta unos parámetros para su viabilización como lo muestra la figura 2



Figura 2. Tomado de presentación programas pre-requisitos, INVIMA

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) con gran influencia en temas de sanidad y limpieza, define claramente que los procedimientos operativos estandarizados son aquellos procedimientos escritos que “definen y explican cómo realizar una tarea para lograr un fin específico llevado a cabo en un establecimiento elaborador de alimentos que se requieren para estandarizar procesos y documentar para evitar errores que puedan atentar contra la inocuidad del producto final” (ANMAT, 2015). Específica a su vez que “la aplicación del POES es requerido para dar cumplimiento a las BPM”; dado esto es necesario buscar estrategias para la implementación y aplicación de procesos metodológicos y operativos que permitan la eliminación de factores ambientales o contaminación cruzada que favorezcan el riesgo microbiológico en el almacenamiento, elaboración y distribución de alimentos, en este caso los quesos frescos.

De acuerdo a la revisión bibliográfica realizada es poca la información encontrada con relación a las verificaciones microbiológicas que se realizan después de la aplicación de los POES en plantas de derivados lácteos; por lo tanto es importante dar cumplimiento a la normativa legal vigente nacional ISO, resolución 2674 de 2013, decreto 3075 de 1997 y la normativa internacional Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), comisión

internacional de normas microbiológicas de alimentos (ICMSF), miembros de la organización mundial del comercio (OMC), entre ellos se encuentra Colombia, y otros organismos académicos o entes regulatorios y normativos de los países.

5.1 Descripción del proceso de fabricación de quesos blancos

La fabricación de quesos blancos en la planta de derivados lácteos tiene diferentes etapas las cuales se describen a continuación paso a paso, desde la recepción de la leche hasta la entrega del producto terminado en el CEDI (centro de distribución) como se muestra en la (Tabla 1), y luego en la (figura 3) se describe de forma general las etapas en el flujograma.

Tabla 1. Descripción del proceso de fabricación de Quesos blancos	
ETAPA	DESCRIPCION
<u>RECEPCIÓN</u>	Recibe y analiza las muestras de leche cruda proveniente del carro tanques que ingresan a la planta.
	Realiza análisis sensorial, fisicoquímico de adulterantes, neutralizantes, conservantes y residuos de medicamentos veterinarios, para verificar su conformidad de acuerdo a los requisitos establecidos y los registra en el sistema CBR y en el control estadístico.
	Espera la liberación de la leche de cada carro tanque y realiza el descargue.

<p>FILTRACIÓN RECIBO DE LECHE</p>	<p>Se realizan las conexiones y bombeo que permitan el paso de leche cruda desde el carro tanque al silo.</p> <p>Realiza filtración a la leche cruda con el fin de eliminar posibles elementos sólidos.</p>
<p>CLARIFICACIÓN RECIBO DE LECHE</p>	<p>CENTRIFUGA 1 Y 2 Separa mediante centrifugación las impurezas de la leche cruda destinada para los diferentes procesos productivos las cuales no hayan sido retenidas en la etapa de filtración.</p>
<p>ENFRIAMIENTO RECIBO DE LECHE</p>	<p>ENFRIADOR DE PLACAS LÍNEA 1 Y 2 enfría la leche cruda a través del intercambiador de placas garantizando la cadena de frío.</p>
<p>ALMACENAMIENTO DE RECIBO DE LECHE</p>	<p>Realiza los análisis sensoriales, fisicoquímicos y de residuos de medicamentos veterinarios a la leche almacenada en silos para su liberación a los diferentes procesos productivos</p>

ALMACENAMIENTO DERIVADOS	<p>De acuerdo a las necesidades de producción se transporta la leche que es liberada de los silos de recibo y se almacena en los silos de derivados.</p> <p>El sistema enciende automáticamente el agitador y el sistema de enfriamiento para conservar la temperatura de la leche.</p> <p>Realiza control del proceso a las variables sensoriales y fisicoquímicas de la leche durante su permanencia en los silos cada 2 horas.</p>
CLARIFICACIÓN	<p>Establece las actividades de la clarificadora la cual separa continuamente por centrifugación las partículas sólidas que no fueron retenidas en la etapa de filtración.</p> <p>La crema y la leche que salen de la centrífuga pasan por el equipo de forma automática.</p>
ESTANDARIZACIÓN	<p>Establece las actividades de estandarización ajustando el contenido de grasa de la leche y la crema hasta el valor deseado.</p>
HOMOGENIZACIÓN	<p>Establece las actividades para el homogenizado el cual disminuye el tamaño de los glóbulos de grasa presentes en la leche evitando la separación de la grasa.</p>

PASTEURIZACIÓN	Establece las actividades del pasteurizador el cual luego de calentar la leche a una temperatura definida por un tiempo de retención establecido baja rápidamente la temperatura para garantizar eliminación de carga microbiana.
LLENADO EN TINAS	Verifica que la tina se encuentre vacía e inicia la transferencia de leche pasteurizada.
	Realiza liberación de la leche en tina a partir de los resultados del análisis sensorial, fisicoquímico y enzimático.
	Realiza control microbiológico a la leche en tina
	Una vez llena la tina muestreada y liberada procede con la adición de insumos teniendo en cuenta el tipo de queso a elaborar.
	Adiciona el cuajo cuando la leche está a la temperatura adecuada y según el queso a elaborar, agita y deja reposar con el fin de que la enzima actúe y forme el coágulo.

CUAJADO	Agita la cuajada con aumento de temperatura e inicia el desuerado parcial en tina, realiza una agitación final e inicia la transferencia del queso al equipo de drenado y salado.
SALADO EN TINA	Adiciona la sal directamente a la tina para la producción de Queso Slight, o si el dosificador de sal no se encuentra funcionando correctamente.
DREANADO	<p>Establece las actividades de transporte del queso y separación del suero.</p> <p>Inicia el transporte de la cuajada de la tina hacia el Drenador donde se separa el suero del queso.</p> <p>Al terminar el vaciado de la tina se realiza el barrido de la tubería de transporte de cuajada hacia el Drenador con agua.</p>
SALADO	Habilita el salador de forma tal que el sistema automático adicione la sal al queso, la cual es impulsada por una corriente de aire filtrado; lo realiza de acuerdo al peso de cuajada en la báscula.
FORMADO	Establece las actividades para la puesta en marcha y operación de las torres. El queso es enviado al distribuidor mediante una corriente

	de aire filtrado y éste se lleva uniformemente a las cuatro torres para formar bloques compactos mediante vacío y fuerza de gravedad.
CORTE	Establece las actividades para la puesta en marcha y operación de las cortadoras las cuales fraccionan el bloque compacto de queso según la presentación requerida y lo depositan en las bandas transportadoras.
	En la banda de salida de cada torre se realiza un muestreo para verifica el % de cloruros en el queso con el fin de reportar ajustes en la etapa de salado, así mismo se realiza control de peso a producto en proceso para cada una de las torres.
PREENFRIAMIENTO	El producto ingresa desde la banda principal al túnel de pre enfriamiento, donde es rociado a presión por nitrógeno líquido en contracorriente; la permanencia del producto en el túnel depende del tipo de presentación y la temperatura especificada.
EMPAQUE	Pasa el Queso por el equipo detector de metales.

	<p>Opera la máquina empacadora garantizando las condiciones de vacío y el cumplimiento de los requerimientos del empaque.</p>
	<p>Los auxiliares de producción toman el queso de la banda y alimentan las maquinas empacadoras.</p>
EMBALAJE	<p>Dispone las presentaciones de queso en las canastillas y envía a la zona de almacenamiento en Cava.</p> <p>El queso de exportación se empaca en cajas de cartón se identifica con la etiqueta respectiva y se envía a CEDI (centro de distribución).</p>
ENFRIAMIENTO	<p>Transporta las canastillas a la cava de enfriamiento donde el producto permanece el tiempo necesario hasta alcanzar la temperatura establecida.</p>
ALMACENAMIENTO Y DESPACHO	<p>Realiza los análisis fisicoquímicos respectivos para su liberación.</p>
	<p>Realiza los análisis microbiológicos respectivos para su liberación.</p>

	<p>Se carga el producto en los vehículos autorizados para ser enviados al proceso de distribución.</p>
--	--

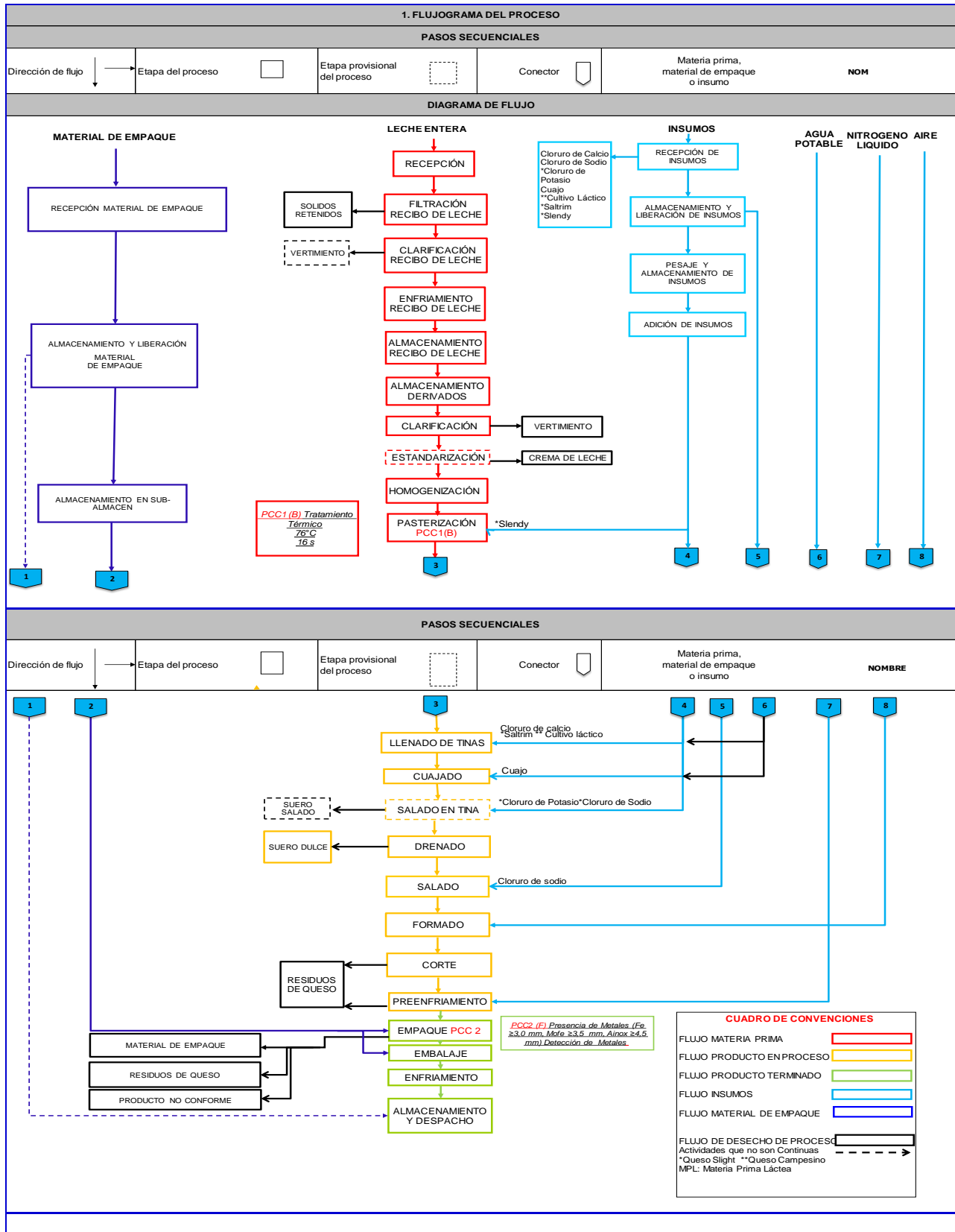


Figura 3. Diagrama de flujo fabricación en la línea de quesos frescos

6. Marco normativo aplicado a los lácteos

Acorde con la norma de Codex (CXS 283-1978) se entiende por queso el producto blando, semiduro, duro y extra duro, madurado o no madurado y que puede estar recubierto en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante la coagulación total o parcial de la proteína de la leche, por acción del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial del suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación, respetando el principio de que la elaboración del queso resulta en una concentración de proteína láctea (especialmente la porción de caseína) y que por consiguiente, el contenido de proteína del queso deberá ser evidentemente más alto que el de la mezcla de los materiales lácteos (Codex, 2018).

Los quesos frescos son considerados perecederos particularmente por su composición y susceptibilidad a sufrir alteraciones que conllevan a su deterioro, especialmente por microorganismos patógenos. Estos patógenos pueden contaminar el producto de forma natural en materias primas o por el ambiente durante la transformación de las mismas (Revista Cubana de Higiene y epidemiología, 2007-2016). Los principales patógenos y microorganismos indicadores que pueden afectar y convertirse en un problema de inocuidad y seguridad alimentaria son *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica* y *Brucella* spp. La elaboración del queso generalmente se realiza a partir de la leche cruda, por lo cual la cantidad y variedad de microorganismos presentes en esta materia prima dependen de factores como la alimentación de los animales, el saneamiento general en la planta de fabricación, la calidad del agua para lavar los utensilios, las condiciones de manipulación, la temperatura y el tiempo de almacenamiento del queso (Revista Cubana de Higiene y epidemiología, 2007-2016).

En Colombia, el queso se regula bajo la resolución 2310 de 1986 y la 1804 de 1989, la cual describe que un queso es el producto obtenido por coagulación de leche, de la crema de leche, de la crema de suero, del suero de la mantequilla o de la mezcla de algunos o todos estos productos, por la acción del cuajo u otros coagulantes aprobados y estipulado bajo normatividades en las que se establecen los requisitos para la producción, transporte, procesamiento, envase, comercialización, importación o exportación. (MinSalud, 1986)

Así mismo la resolución 2674 de 2013 define que los alimentos de mayor riesgo en salud pública son los que pueden contener microorganismos patógenos y favorecer la formación de toxinas o el crecimiento de microorganismos patógenos y alimentos que pueden contener productos químicos nocivos y los alimentos de menor riesgo en salud pública son los que tienen poca probabilidad de contener microorganismos patógenos y normalmente no favorecen su crecimiento debido a las características de los alimentos y los alimentos que probablemente no contienen productos químicos nocivos (Minsalud, Resolución 2674, 2013).

Un aspecto relevante dentro de la investigación es que la relación entre indicadores y patógenos no es universal y está influenciada por el producto y el proceso que se desarrolle para su obtención, por esta razón se debe ser muy cuidadoso en la selección del microorganismo o microorganismos a muestrear (García, 2017).

Es así como se puede sacar gran provecho del análisis de los indicadores cuando se usan para evaluar la eficacia de los procesos de limpieza y desinfección. Los microorganismos como tal no suponen necesariamente un peligro, pero nos podrían indicar la presencia de un patógeno y se emplean como indicadores indirectos de un peligro sanitario. En general se han utilizado los Coliformes fecales como indicadores universales de higiene en los alimentos y los recuentos elevados podrían significar un fallo higiénico y un incremento de riesgo para el consumidor (García, 2016). La resolución 1804 de 1989, dice que las características microbiológicas del queso fresco deben ser para Coliformes fecales, $n: 3; m < 100; m: -; c: 0$, ($n =$ Número de muestras a examinar, $m =$ Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad, $M =$ Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad, $c =$ Número máximo de muestras permisibles con resultados entre m y M , $< =$ Léase menor de). (Minsalud, Resolución 1804, 1989)

También la Organización Mundial del Comercio de 1995 hace referencia a la aplicación de las reglamentaciones en materia de inocuidad de los alimentos y el control sanitario de los animales y los vegetales mediante la Ley 170 de 1994 y establece la Política Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad de Alimentos para el Sistema de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (MinSalud, 1995).

7. Materiales y métodos

7.1. Diseño metodológico

Para el desarrollo del primer objetivo que busca revisar cómo se desarrolla y ejecuta el POES en la línea de producción de quesos blancos en la Cooperativa Colanta® del Municipio de San Pedro de los Milagros, primero se debe realizar revisiones documentales existentes y ya protocolizadas dentro de la Cooperativa sobre los POES en cuanto a aplicación, ejecución, revisión y verificación.

Asimismo, es importante incluir en el proceso de revisión, a las personas encargadas de las BPM y la ejecución de los procesos de sanitización, a través de entrevistas y acompañamientos a la línea de proceso durante la ejecución de estas actividades; esto con el fin de evidenciar las debilidades o fortalezas que hay frente al desarrollo y aplicación de las actividades de sanitización y así lograr la contribución al buen desempeño en miras del mejoramiento continuo.

Después de realizar las revisiones documentales y las visitas de campo a la línea de proceso, se proyecta comenzar con la implementación de un protocolo para la verificación microbiológica de los POES, el cual busca incluir herramientas estadísticas, donde se dará aplicación basada en tiempos y frecuencias de limpieza; partiendo de la selección de los microorganismos de interés basados en la norma que aplique para el producto terminado, conjuntamente incluir materiales, métodos y costos del muestreo que se llevara a cabo.

7.2. Verificación microbiológica

El autor Morán (2016) en el artículo de “análisis microbiológico” dice que los alimentos siempre contienen microorganismos en su superficie y en su interior, convirtiéndose en uno de los problemas más importantes en la industria alimentaria.; además, los clasifica según su origen como endógeno (pertenecientes al propio alimento, se encuentran en él antes de la elaboración) y exógeno (los microorganismos llegan a los alimentos durante su obtención, elaboración, transporte, conservación, industrialización, manipulación).

Por otro lado, la verificación es definida como la “prueba inicial de desempeño”, “comprobación del método del proceso”, también es denominado como la confirmación mediante el aporte de pruebas objetivas de que se cumplen los requisitos establecidos en las condiciones del proceso, método o prueba a evaluar (Camaró-Sala, 2013).

Partiendo de la revisión bibliográfica y lo documentado en la normatividad se deben considerar las condiciones adecuadas de transformación de la materia prima y la fabricación de quesos, en la cual además de esto, regula y describe los análisis microbiológicos que se deben realizar y cumplir los quesos frescos; es así como se han seleccionado los microorganismos que deben ser analizados por su comportamiento, incidencia y prevalencia en esta matriz; encontrando que *E. coli* y *Listeria monocytogenes* son unos de los microorganismos que más se han identificado, esto según estudios epidemiológicos y reportes en los informes de ETA. Además, estos hacen parte de los principales parámetros microbiológicos que define la norma colombiana que se deben analizar y cumplir dentro de los rangos estipulados en el producto terminado debido a que su presencia afecta la calidad e inocuidad de los quesos.

Otro autor, Castellanos (2007 - 2016) indica que los lácteos y sus derivados tales como el queso, que se comercialicen o consuman tanto en América Latina como los EE.UU., deben cumplir con una serie de parámetros microbiológicos establecidos en las normas de cada país. El análisis de estos parámetros permite identificar si estos alimentos son aptos o no para el consumo humano.

Es evidente que los derivados lácteos representan un importante sector alimenticio que aumentan las estadísticas de las ETAs reportadas en algunos informes epidemiológicos de Colombia, Brasil, Estados Unidos y Chile. Durante el periodo 2007-2016 en estos países, el microorganismo implicado con mayor frecuencia en brotes de ETA fue *Salmonella* spp., los Estados Unidos es el país que presenta la mayor prevalencia de este microorganismo (67,3 %), seguido por Chile (53 %) y Brasil (32,8 %), mientras que *Listeria monocytogenes* se presentó en menores proporciones. Sin embargo, en Brasil se desconoce el número de brotes asociados a *Listeria monocytogenes* debido a la falta de notificación de este microorganismo en los boletines (Figura 4,).

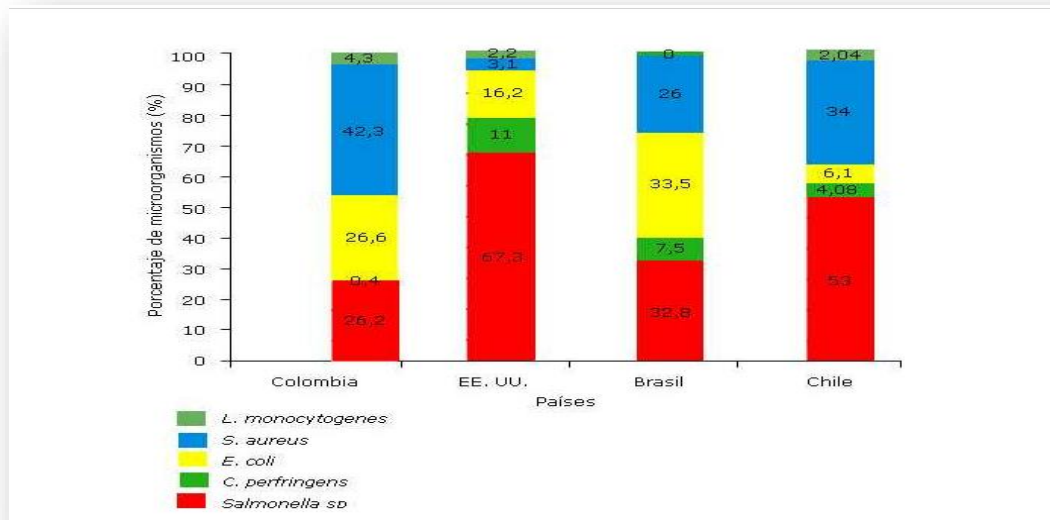


Figura 4. Microorganismos implicados en los brotes de ETA en America latina.

Se estima que las infecciones por queso fresco con *Escherichia coli* O157:H7 son responsables de por lo menos 20 000 casos de enfermedad y 250 muertes por año. Contrario a lo que ocurre en los EE.UU. en países como Perú, se reporta la presencia de *Escherichia coli* con prevalencias entre 2,1 % y 28,1 % en los quesos frescos.

Es importante mencionar que la contaminación por *Listeria monocytogenes* en la leche cruda y en el queso fresco pueden ocurrir de dos maneras, en primer lugar, por las heces del ganado y en segundo lugar por la contaminación inmediata de animales con enfermedades como listeriosis y mastitis. En 2013, Colombia identificó *Listeria* spp en muestras de queso fresco artesanal para una frecuencia del 16,7 %, y el 13,3 % correspondió a *Listeria monocytogenes*, mientras que en el queso de hoja fue 16,8 %. Reportes en Ecuador y Venezuela demuestran prevalencias de 52,94 % y 15 % de *Listeria* spp en el queso fresco y el queso amarillo. Brasil identificó en el queso fresco una prevalencia de 6,7 % de *Listeria monocytogenes*. En los EE.UU. (2017) se analizaron 27 389 muestras de las cuales 116 fueron positivas para *Listeria monocytogenes*, mientras que para los quesos madurados blandos y semi secos correspondió apenas el 1,07 %. (Castellanos, 2007-2016).

Además de la revisión bibliográfica, se realizan búsquedas en la página de CDC por sus siglas en inglés (*Centers for disease Control and prevention*- centro para el control y prevención de enfermedades), el cual es uno de los componentes operativos más importantes del Departamento de Salud y Servicios Humanos en Estados Unidos (CDC, s.f.) Esta herramienta se utilizó como insumo para demostrar la importancia y la incidencia de los microorganismos ya mencionados, los cuales se evaluarán en la verificación microbiológica de los POES. Lo cual se puede identificar a partir de las siguientes figuras estadísticas. Figuras 5-6-7-8-9-10.

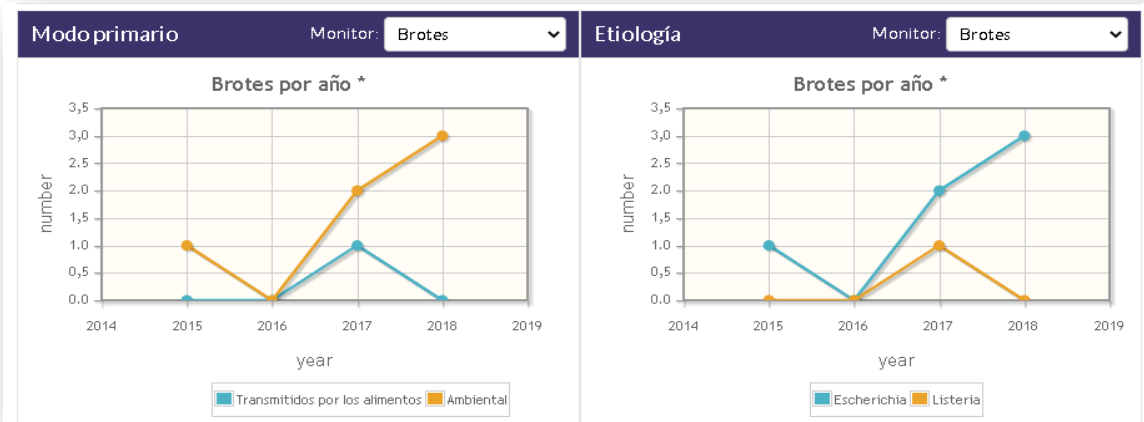


Figura 5. Estadísticas de CDC del comportamiento de los brotes causados en quesos frescos, clasificado por alimentos, condiciones ambientales y microorganismos

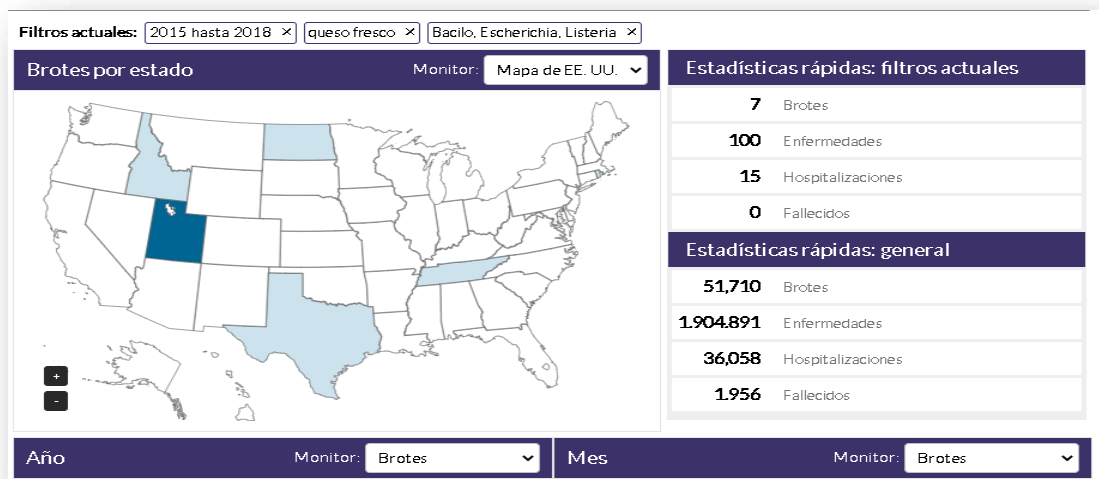


Figura 6. Estadísticas de CDC de los brotes, enfermedades, hospitalizaciones y fallecimientos causados por quesos frescos por *E.coli* y *Listeria monocytogenes*, en Estados Unidos.

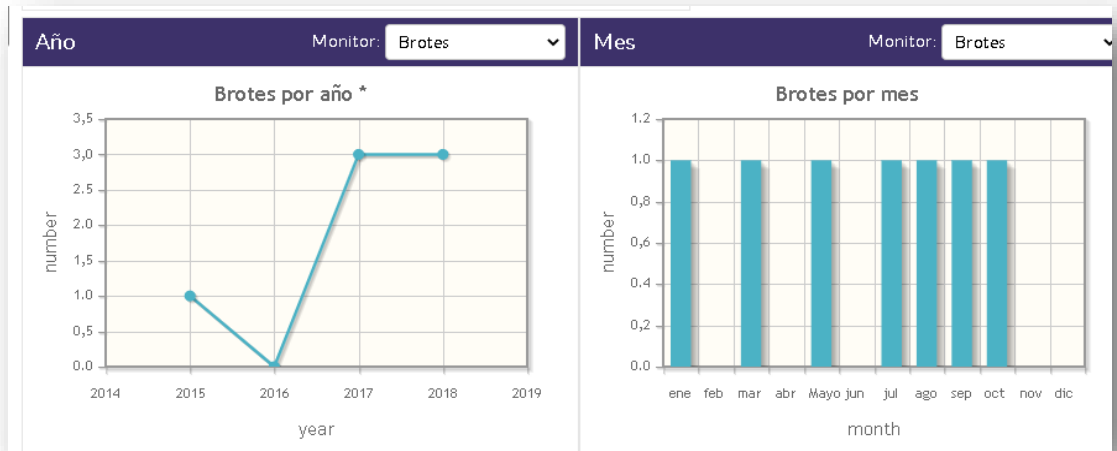


Figura 7. Brotos causados en quesos frescos por año y por mes

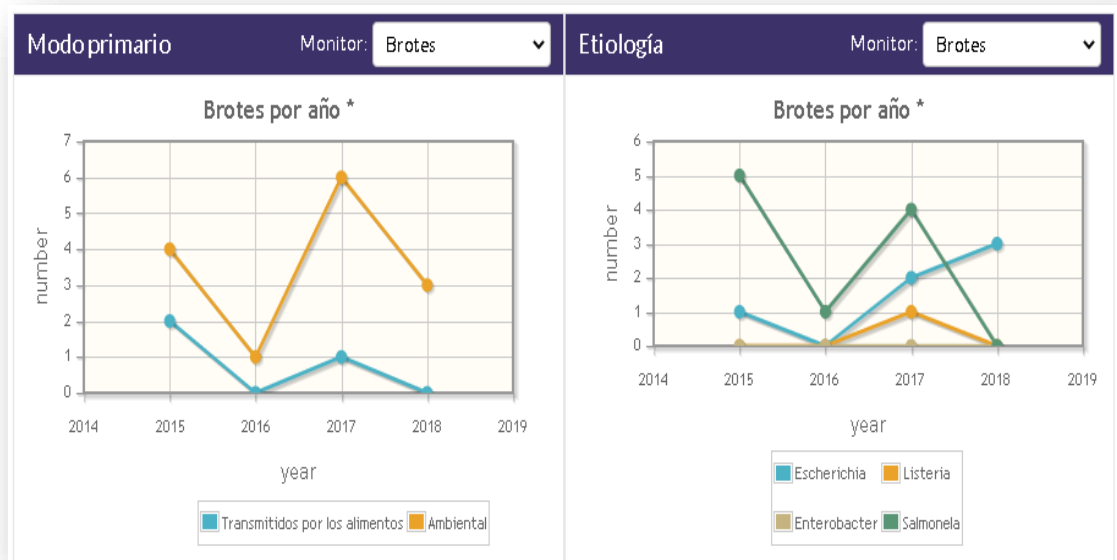


Figura 8. Estadísticas de CDC de los brotes causados en quesos frescos y leche, clasificado por alimentos, condiciones ambientales y microorganismos.

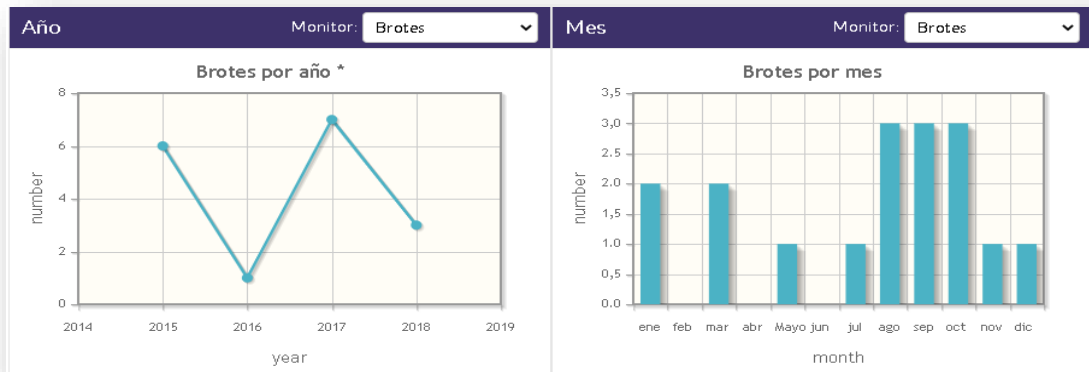


Figura 9. Estadísticas de CDC del comportamiento de los brotes causados en quesos frescos y leche por año y mes.

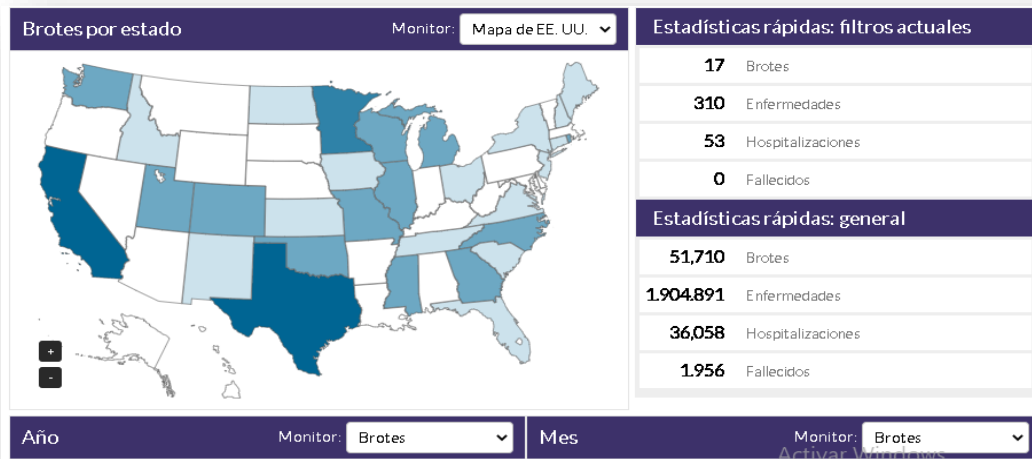


Figura 10. Estadísticas de CDC de los brotes, enfermedades, hospitalizaciones y fallecimientos causados por quesos frescos por *E.coli* y *Listeria monocytogenes*, en Estados Unidos.

De acuerdo a esta información expresada en las figuras 5 a 10 aportada por la página del CDC, se puede inferir que los quesos frescos son uno de los principales productos de la canasta familiar causantes de ETAs, por la naturaleza de la matriz y la corta vida útil que estos tienen. Los microorganismos como *Salmonella* spp, *Listeria* spp y *E.coli*, presentes por lo general en la materia prima, también pueden estar en el ambiente, equipos y superficies como se muestra en la figura 5 y 8, lo cual puede afectar el producto terminado por contaminación cruzada. Es así como

las investigaciones realizadas por CDC indican que estos microorganismos presentan mayor incidencia en el ambiente y son las principales causas de contaminación en el producto.

7.3. Verificación estadística

Muestreo aleatorio simple es uno de los tipos de muestreo probabilístico, sus pasos son definir la población objetivo, identificar un marco de muestreo actual de la población objetivo o desarrollar uno nuevo, evaluar el marco de muestreo para la falta de cobertura, cobertura excesiva, cobertura múltiple y la agrupación, y realizar los ajustes necesarios, incluyendo el tamaño de la muestra (Questionpro). Es por esto que se escogió este tipo de herramienta estadística para la aplicación de la verificación microbiológica en el protocolo, haciendo que una muestra sea o no representativa, si fue seleccionada al azar; es decir todos los equipos de la población tienen la misma posibilidad de ser seleccionados en la muestra.

La población a seleccionar es el conjunto de equipos que pertenecen a la línea, y que deben ser muestreados.

MUESTREO ALEATORIO SIMPLE	
Fórmula	<div style="border: 2px solid black; padding: 10px;"> <p>n para muestreo de <i>Listeria</i> spp</p> $n = \frac{Z^2 \times P \times Q \times N}{N \times E^2 + Z^2 \times P \times Q}$ <p>n : $\frac{1.96^2 \times 0.0346 \times 0.9654 \times 100}{100 \times 0.05^2 + 1.96^2 \times 0.0346 \times 0.9654} = 33.91$ muestras</p> <p>n para muestreo de <i>E.coli</i></p> $n = \frac{Z^2 \times P \times Q \times N}{N \times E^2 + Z^2 \times P \times Q}$ <p>n : $\frac{1.96^2 \times 0.0488 \times 0.9515 \times 100}{100 \times 0.05^2 + 1.96^2 \times 0.0488 \times 0.9515} = 41.64$ muestras</p> </div> <p>Referencias de la fórmula:</p> <p>Alfa % de error (A α): 0.05 (Constante) Z: 1.96 P: muestras no conforme/total de muestras Q: 1-P Z: 1.96 E (ERROR): 0.05 N (total muestras): 100</p>

7.4. Especificaciones del muestreo

Para definir el muestreo se empleó una fórmula estadística, la cual permite definir el número de muestras a analizar por cada microorganismo que se busca analizar basándose en los resultados de la base de datos existente.

Desarrollo de la fórmula

Listeria spp

$$n = \frac{Z^2 \times P \times Q \times N}{N \times E^2 + Z^2 \times P \times Q}$$

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.0346 \times 0.9654 \times 100}{100 \times 0.05^2 + 1.96^2 \times 0.0346 \times 0.9654} = \mathbf{33.91}$$

E.coli

$$n = \frac{Z^2 \times P \times Q \times N}{N \times E^2 + Z^2 \times P \times Q}$$

$$n = \frac{1.96^2 \times 0.0488 \times 0.9515 \times 100}{100 \times 0.05^2 + 1.96^2 \times 0.0488 \times 0.9515} = \mathbf{41.64}$$

De esta forma al reemplazar la fórmula con los datos seleccionados, se sugiere que el número de muestras a tomar para la verificación microbiológica de los POES de forma aleatoria para *Listeria spp* **34 puntos**; para *E.coli* **42 puntos**, para este último microorganismo el número de muestras es mayor dado que la cantidad de no conformes fue más alto que para *Listeria spp*.

El frotis a equipos y superficies para análisis de *E.coli* como indicador de calidad y *Listeria spp* como indicador de inocuidad fue una metodología empleada para monitorear los equipos y superficies que se encontraban en contacto directo con el alimento y que pudieron convertirse en fuente directa de contaminación con estos microorganismo.

“Información tomada del instructivo de análisis microbiológicos, de la Cooperativa Colanta (documento privado)”

7.4.1. Frotis a equipos y superficies para análisis de *Listeria spp.* como indicador de inocuidad

La identificación de *Listeria spp* se realizó por técnica Vidas®, el cual consiste en un análisis inmuno enzimático o tecnología de proteína recombinante, que permite la detección de antígenos propios del microorganismo gracias al método ELFA (ensayo de inmunofluorescencia ligado a enzimas) o tecnología recombinante de fagos VIDAS UP, diseñado para detectar *Listeria* en productos alimenticios para humanos y muestreos de ambiente en producción).

Tabla 2. Materiales para el muestreo de *Listeria spp*

Mecheros	Estufa de incubación a 30 +/-1 °C	Escobillones de algodón estériles	Plantilla de 25*25 cm
Cabina de bioseguridad	Pipeta electrónica o mecánica	Puntas para micro pipetas	Placa de calentamiento
Caldo LPT o LXT en tubos de 10 ml	Tubos con neutralizante	Kit vidas para <i>Listeria</i> UP	Agar OXFORD
Agar tripticasa de soya	API <i>Listeria</i>	Kit vidas para <i>Listeria species express</i>	

Descripción del muestreo

Se utilizó el caldo LPT el cual se dejó temperar entre 18 a 25 °C; se identificaron los tubos del neutralizante y los tubos de caldo LPT con área, punto y línea; para tomar la muestra se humedecieron los hisopos en el neutralizante; se colocó la plantilla de 25*25 sobre la superficie plana (que lo permitía) y si el área no lo permitía se tomaba una área proporcional realizando el frotis de forma homogénea con dos escobillones, pasando 10 veces los escobillones de forma horizontal, vertical, diagonal desde la parte superior derecha y luego desde la parte superior izquierda y se finalizó bordeando el área de muestreo. Luego se colocaron los hisopos en el neutralizante; finalizando el muestreo se transfirieron de forma aséptica los hisopos al caldo LPT previamente identificados; se incubaron las muestras a 30 +/-1 °C de 26 a 30 horas y pasado este tiempo de incubación se retiraron las muestras de la estufa; homogenizando el caldo de pre enriquecimiento y se transfirieron 0.5 ml del caldo LPT a los cartuchos, se pasaron al bloque de calentamiento durante 5 +/-1 minutos; luego se retiró el cartucho dejándolo enfriar por 10 minutos; posterior a esto se colocó el cartucho en el equipo de lectura. (Las figuras 11 y 12 dan cuenta de una parte importante del muestreo)

Lectura: Especificación AUSENCIA de *Listeria* spp.

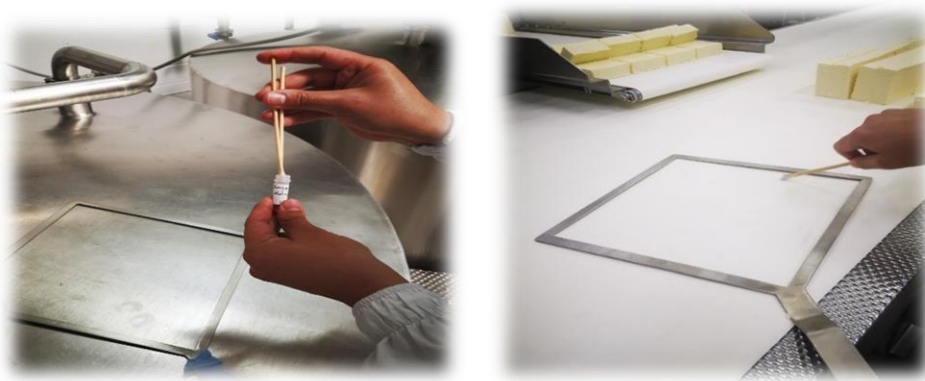


Figura 11-12. Frotis a superficie para *Listeria* spp, fuente propia

7.4.2. Frotis a equipos y superficies para análisis de E.coli como indicador de calidad

Este muestreo aplica a todos los equipos y superficies que estaban en contacto directo con el producto en proceso y representaban un riesgo de contaminación al producto terminado.

En la Cooperativa Colanta® se utilizó la identificación de *E.coli* como indicador sanitario de contaminación fecal por medio de un agar selectivo para la identificación simultánea de *Coliformes totales* y *Coliformes fecales*; esta identificación se hace posible por la combinación de sustratos cromógenos el sustrato salmón GAL, es escindido por la enzima b-D galactosidasa característico de *Coliformes* y provoca una coloración roja. La identificación de la b- D glucoronidasa característica para *E.coli* tiene lugar mediante el sustrato X-Glucorónido, que produce un color azul- violeta de las colonias positivas.

Después de realizar la revisión de los resultados de los muestreos microbiológicos (históricos) se debió definir por medio de herramientas estadísticas cuales son los puntos a evaluar y el número de muestras para realizar el muestreo. Tal como se indica a continuación

Tabla 3. Materiales para el muestreo de *E.coli*

Cajas de petri estériles	Mecheros	Estufa de incubación a 35 +/-2 °C
Escobillones de algodón estériles	Plantilla de 10*10 cm	Asas de inoculación de 1 a 10 ul
Caldo BHI	Agar Chromocult Coliformes	

Descripción del muestreo

En el procedimiento se marcaron los tubos que contenían el caldo BHI (caldo infusión cerebro corazón) con el nombre del equipo o superficie; utilizando la plantilla de 10*10 (100cm²), se colocó sobre la superficie plana que lo permitía, si la superficie no era plana se tomaba la muestra abarcando la mayor parte posible; humedeciendo los escobillones en el caldo BHI y realizando el frotis pasando 10 veces los escobillones de forma horizontal, vertical, diagonal y se

finaliza bordeando el área de muestreo; se colocaron de nuevo los hisopos en el caldo BHI; al llegar al laboratorio se registraron en la plantilla creada para ese fin con los nombres de las superficies que fueron muestreadas; se incubó el caldo BHI a una temperatura de 35 +/-2 mínimo por 24 horas y pasado este tiempo se identificaron las cajas de Petri que contenían el agar Chromocult Coliformes previamente temperadas (de tal modo que garantice la trazabilidad); se tomó muestra desde el caldo BHI con un asa calibrada de 10um y se realizó una estría en la caja de Petri; luego el agar Chromocult Coliformes se incubó a una temperatura de 35 +/-2 por 24 horas; pasado este tiempo se realizó la lectura. (Las figuras 13 y 14 muestran de forma general como se realiza el muestreo de frotis a equipos)

Lectura Si las cajas no presentan crecimiento de colonias moradas reporte como AUSENCIA de *E.coli*.

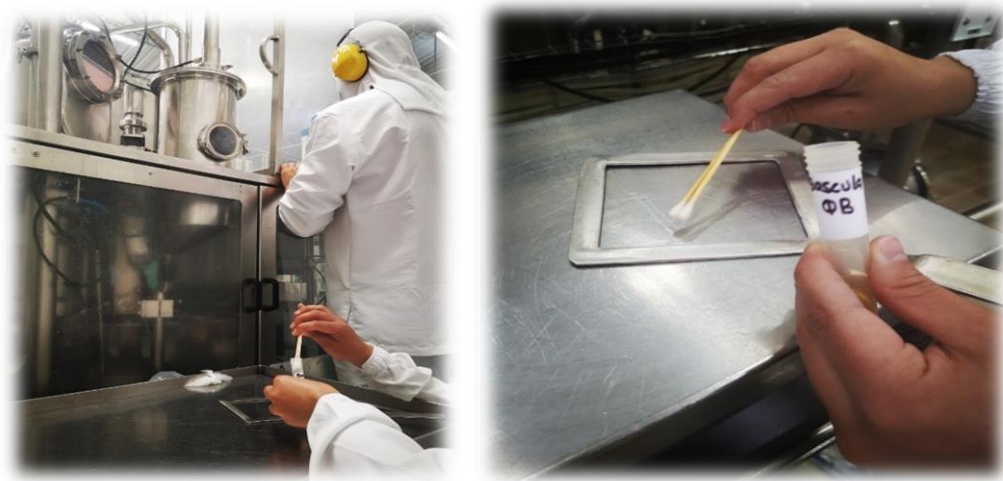


Figura 13-14 Frotis a superficie para *E.coli*, fuente propia.

Las figuras 15-16-17 muestran como sería el resultado positivo de Coliformes fecales y Coliformes totales en agar Chromocoult.



Figura 15. Presencia de *Coliformes* *totales*



Figura 16. Presencia de *E.coli*

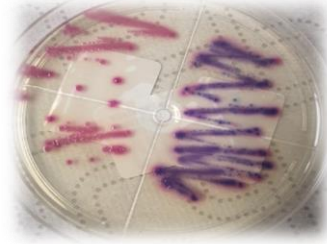


Figura 17. Presencia de *Coliformes* *totales* y *E.coli* respectivamente

8. Resultados

Durante los meses de Enero a Agosto del año 2021 se realizó muestreo en la línea de quesos blancos de la Cooperativa Colanta®, periodo en el cual se analizaron 2.422 puntos y de estos 84 fueron no conformes por el aislamiento de *Listeria* spp, obteniendo un cumplimiento en la línea relacionado a este patógeno de (96.53%) y de estos no conformes, 3 equipos eran de contacto directo con el producto para un cumplimiento total de (99.88%); En este mismo periodo se realizó muestreo para la identificación de *E.coli* donde se tomaron 1.987 frotis a equipos y superficies de las cuales 97 fueron no conformes por presencia de este indicador de calidad, todos los equipos eran de contacto directo con el producto para un cumplimiento de (95.11%).

Dentro del proceso de investigación se utilizó la gráfica “forest plot” el cual permite ver los resultados y el resumen estadístico del muestreo realizado entre Enero y Agosto de 2021 de *E.coli* y *Listeria* spp.

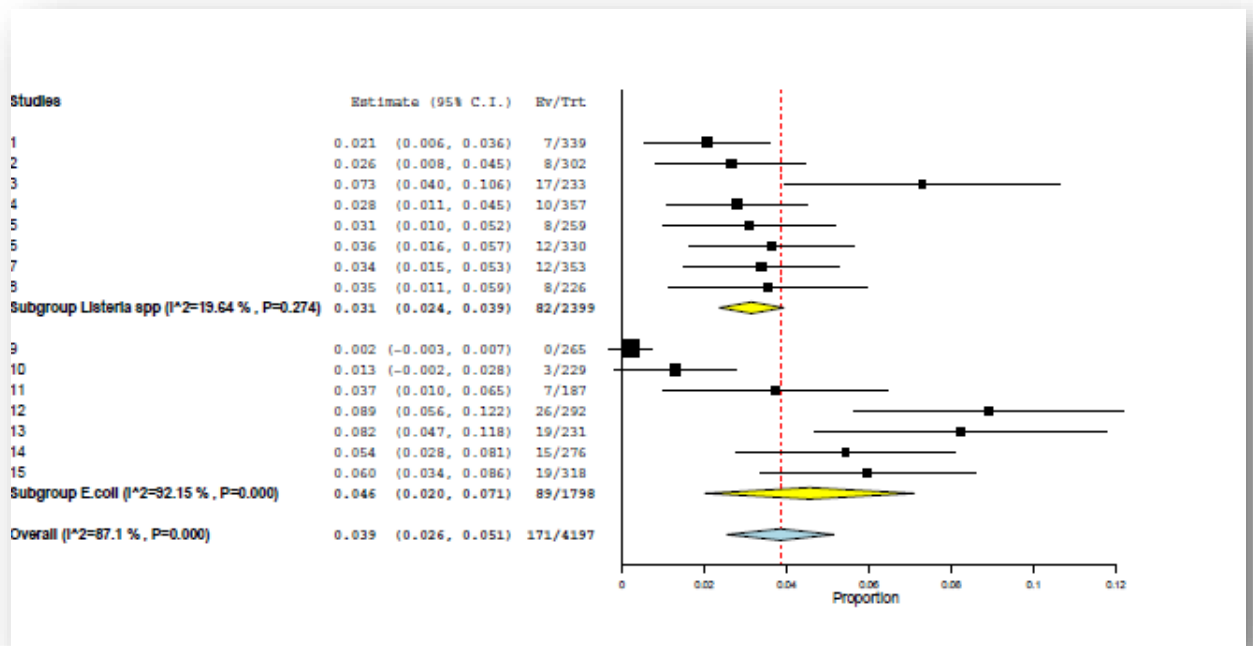


Figura 18. Ejercicio de forest plot con las variables de microorganismos (*E.coli* y *Listeria* spp)

Acorde con la figura 10, se puede inferir que los resultados de *Listeria* spp. estuvieron dentro del rango de cumplimiento para la línea con respecto al indicador microbiológico (99.88%) Entre los meses evaluados de enero a agosto del año 2021 para *Listeria* spp. no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí a excepción del mes de marzo, de esta manera la prevalencia global para *Listeria* spp es de 3,1% con intervalo de confianza de (2,4 – 3,9%) con valores de heterogeneidad (I^2 = correspondió a 19,64%), esta heterogeneidad indica la prevalencia de *Listeria* spp en la línea de quesos blancos y el peligro que puede representar al este microorganismo contaminar el producto terminado.

Para *E.coli* se evidencia que los resultados presentaron una desviación mayor con respecto al microorganismo patógeno durante el periodo de 8 meses, donde se analizaron 1.987 muestreos a equipos y superficies en contacto directo con el producto (banda, mesa, torre de formado, cuchillas, tinas, túnel, multivac) de las cuales 97 muestras fueron no conformes para un cumplimiento en la línea de 95.11%.

Evidenciando así que para *E.coli* durante los meses de Enero, Febrero y Marzo no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí, a excepción de los meses de Abril a Agosto, de esta manera la prevalencia global para *E.coli* es de 4,6% con intervalo de confianza de (2,0 – 7.1%) con valores de heterogeneidad (I^2 = correspondió a 92.15%), con este valor de heterogeneidad se infiere que la prevalencia de *E.coli* es alta, lo cual representa mayor riesgo de contaminación y que la calidad del producto se vea afectada directamente. Sin embargo, no se evidencia diferencias entre las prevalencias de los dos microorganismos porque ambos tocan la línea punteada roja con un intervalo de confianza de (0.026-0.051%).

Acorde con los resultados obtenidos se planteó una matriz DOFA, la cual puede ser pertinente para garantizar la eficacia y la mejora continua de los procesos.



Figura 19. Debilidades (matriz DOFA)



Figura 20. Oportunidades (matriz DOFA)

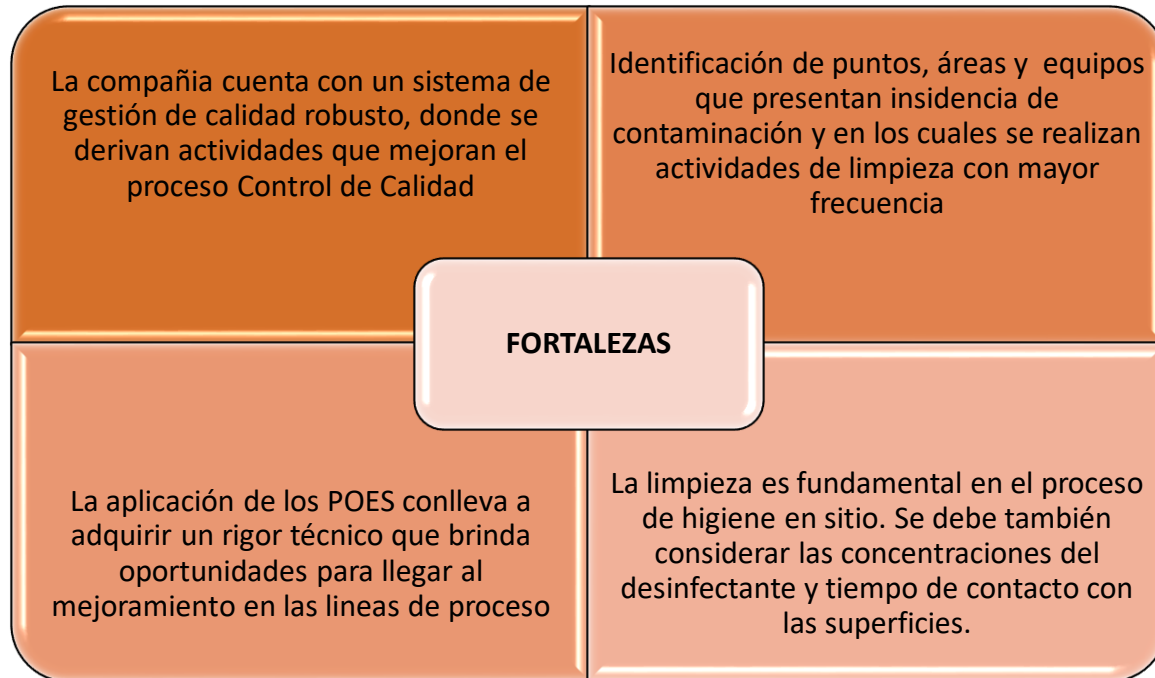


Figura 21. Fortalezas (matriz DOFA)

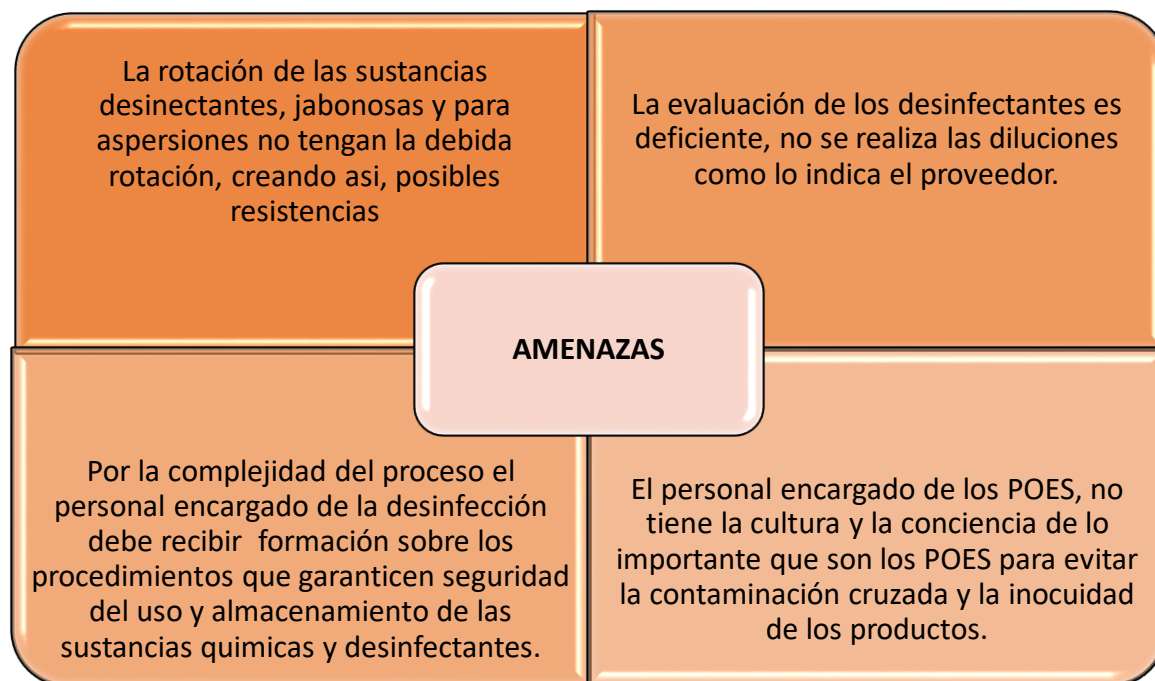


Figura 22. Amenazas (matriz DOFA)

9. Conclusiones

Con este trabajo investigativo se puede concluir según los objetivos propuestos que los POES definidos dentro de la Cooperativa Colanta® específicamente en la línea de quesos blancos, se desarrollan y ejecutan de forma adecuada, cumpliendo con la norma y aplicando lo descrito en la documentación protocolizada internamente; sin embargo es importante la capacitación continua a todo nivel, para la concientización de la calidad e inocuidad con la que se deben fabricar los productos y que siempre se debe apuntar a la mejora continua.

De igual manera de la búsqueda de información durante la investigación se puede dilucidar que los muestreos y los análisis microbiológicos cumplen un papel fundamental en la industria de alimentos los cuales se deben realizar al azar durante el procesamiento; es por esto que las herramientas estadísticas son fundamentales para determinar un número de muestras representativo, en este caso utilizado a partir del muestreo aleatorio simple, el cual infiere que el número de muestras para *Listeria* spp es de 34, y para *E.coli* es de 42; sin embargo es importante mencionar que los planes de muestreo para las industrias alimentarias deben ser móviles, a necesidad de la línea, por cambios en la infraestructura y según el comportamiento del indicador microbiológico.

Asimismo se identificó que existen fortalezas y oportunidades lo cual favorece los procesos, entre estas la importancia de contar con personal calificado y capacitado, además de las certificaciones de las secciones o líneas de proceso, garantizar el uso de sustancias evaluadas y aprobadas en los procesos, tener implementado un sistema de gestión de calidad el cual actualice los documentos y formatos según lo describa la norma, contar con la identificación de equipos y la zonificación de las áreas de procesos para realizar muestreos microbiológico, entre otras; y de esta manera es necesario conocer las debilidades y las amenazas que puedan afectar el proceso, para que en un corto plazo sean oportunidades de mejora como por ejemplo, el uso de sustancias químicas en concentraciones que no sean adecuadas, no se da la importancia suficiente a las actividades y frecuencias de limpieza y sanitización, no se dé cumplimiento a las recomendaciones del proveedor.

Por último el gráfico de “*forest plot*” permite identificar estadísticamente la prevalencia de *E.coli* (4.6%) es mayor a la prevalencia de *Listeria* spp. (3.1%) en los datos analizados durante ese periodo. Se observa además que el mes de Marzo se ve afectado por la presencia de *Listeria* spp. y los meses de Abril y Mayo se ven afectados por el indicador de calidad *Escherichia coli*, sin embargo se muestra que entre los dos subgrupos no existe evidencia estadísticamente significativa ya que ambos alcanzan a tocar la línea punteada, aun así es importante mencionar que el número de muestras analizadas fue mayor para el microorganismo patógeno.

Referencias

- Adox (s.f.). Fundamentos de luminometría. <https://www.adox.com.ar/docs/articulos/luminometria.pdf>
- Albo Davio, G. y otros (2010) “Portafolio educativo en temas clave en control de la inocuidad de los alimentos” Anmat, Argentina. http://www.anmat.gov.ar/portafolio_educativo/Capitulo1.asp
- ANMAT (2015) Procedimientos operativos estandarizados. Portafolio educativo. http://anmat.gov.ar/portafolio_educativo/pdf/cap6.pdf
- Barilla, M. y Pineda, R. (2018) Limpieza y desinfección de las superficies de contacto con el alimento. Ensayos y trabajos essays club. <https://es.essays.club/Otras/Temas-variados/LIMPIEZA-Y-DESINFECCI%C3%93N-DE-LAS-SUPERFICIES-DE-CONTACTO-38842.html>
- Buenas prácticas de manufactura Intedya <https://www.intedya.com/>
- BURKERT IBÉRICA, S.A.U. ¿Qué significa *Clean in Place* (CIP)? <https://www.burkert.es/>
- Camaró-Sala, M. L., Martínez-García, R., Olmos-Martínez, P. (2013) Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. <https://www.cdc.gov/>
- Caro Hernández, P. A. (Junio - 2020) Análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos. <http://www.scielo.org.co/pdf/entra/v16n1/2539-0279-entra-16-01-240.pdf>
- Castro, A. Porras Atencia, O., Bermúdez S., Velasco Sánchez J. y Osorio Padilla M. (Diciembre de 2016) Detección de *listeria* spp y *salmonella* spp en queso y su relación con las características fisicoquímicas”. Revista politécnica ISSN.
- Centros para el control y prevención de enfermedades CDC <https://www.cdc.gov/>
- Carlos Manuel (2014) Análisis de superficies. <https://es.slideshare.net/>
- Codex alimentarius (2020) normas internacionales de los alimentos, principios generales de higiene de los alimentos.
- Cooperativa Colanta. <http://www.colanta.com/>

Distribuciones de probabilidad continuas y discretas. <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/probability-distributions-and-random-data/supporting-topics/basics/continuous-and-discrete-probability-distributions/>

Escalante, E. (2006). Análisis y mejoramiento de la calidad. Limusa.

Gastronomía & Cía, (2018), 116 millones de toneladas de productos lácteos se desperdician cada año en el mundo. <https://gastronomiaycia.republica.com/2018/11/28>

Gómez Chagoya, M del C. (s.f.) Metodología y técnicas de la investigación. http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/69957/secme2549_4.pdf?sequence=4

González C.J. Galvis S. D y Hurtado T. L., (2014) La distribución Beta Generalizada como un modelo de sobrevivencia para analizar la evasión universitaria. https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07052014000100008

GUIA ISO (2005) Norma técnica NTC-ISO/IEC colombiana 17025

Gutiérrez Pulido, H., & De La Vara Salazar, R. (2009). *Control estadístico de calidad y seis sigma*. México, D.F.: McGraw Hill. https://www.academia.edu/16455512/Control_Estad%C3%ADstico_de_la_Calidad_y_Seis_Sigma_3ed

Hernández Sampieri, R. y Otros, (2014) Metodología de la investigación. Mc Graw Hill

Intedya, (2020) “Buenas prácticas de manufactura” web. <https://www.intedya.com/internacional/intedya-presentacion.php>

Instituto nacional de salud (2018) Enfermedades transmitidas por alimentos, ETAS. Boletín epidemiológico semanal.

INVIMA (2020-12-21) <https://www.invima.gov.co/buenas-practicas-de-manufactura-bpm-sinonimo-de-responsabilidad-e-inocuidad-en-los-alimentos>

- Juárez, C. (2020). Limpieza integral en alimentos y bebidas para optimizar costos. <https://thefoodtech.com/seguridad-alimentaria/limpieza-integral-en-alimentos-y-bebidas-para-optimizar-costos/>
- Martínez Vasallo, A., Montes de Oca, N., Villoch Cambas. A, (2016) Determinación de indicadores sanitarios en quesos artesanales. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2016000100011
- Martínez Vasallo, A., Montes de Oca, N., Villoch Cambas. A, (2016) *Determination of hygienic quality indicators of cheeses made from unpasteurized milk.* http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253570X2016000100011&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Mata Solís, L. D. (2020) “Las variables en la Investigación Cuantitativa”. *Revista Investigalia.* <https://investigaliacr.com/investigacion/las-variables-en-la-investigacion-cuantitativa/>
- Merchán Castellanos, N. A. (2007-2016) Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas <http://www.revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/171/260>
- Ministerio de Salud, (1986) Resolución 2310 de 1986. <https://www.google.com/search?q=resolucion+2310&oq=resolucion+2310&aqs=chrome..69i57j35i39j0l2j69i60l3.4008j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
- Ministerio de protección social (2013) Resolución 2674 del 22 de Julio de 2013. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-2674-de-2013.pdf>
- Ministerio de Salud Pública. <https://www.minsalud.gov.co/>
- Molina Arias, M (2018), Aspectos metodológicos del metaanálisis. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322018000400017

- Morán, A. (2016) Análisis de la Microbiología de superficies y ambientes, un problema real en la Industria Alimentaria. <https://www.tecnoalimen.com/articulos/20160429/analisis-microbiologia-superficies-ambientes-problema-real-industria-alimentaria#.YI8firUzbiU>
- Murcia, F. (s.f.). Verificación microbiológica de programas de limpieza y desinfección. <https://www.invima.gov.co/documents/20143/354605/6.+VERIFICACI%C3%93N+MICROBIOLOGICA+DE+POES+Y+VIDA+UTIL.pdf/bc7e3388-1822-ea15-f945-1b83e48df626>
- Murcia, F. (s.f.) Criterios microbiológicos. Alianza convenio. <https://www.invima.gov.co/documents/20143/354605/4CRITERIOSMICROBIOL%C3%93GICOS.pdf/afe8536b-87bc-e94f-683b-7aa82e56cab0>
- Norma general para el queso, 2018, Codex alimentarius. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius>
- Organización de las naciones unidas (FAO) EN Colombia <http://www.fao.org/colombia>
- Ocampo Ibáñez, I. D. González. C. (2019) Presencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales comercializados en Cali-Colombia. <http://www.scielo.org.co/>
- Parra, J. M. (2013) La investigación o enfoque cualitativo. Blogs Post
- Questionpro. ¿Cómo hacer un muestreo estratificado? <https://www.questionpro.com/blog/es/como-hacer-un-muestreo-estratificado/>
- Raffino, M. (2020) "Monografía" Argentina. <https://concepto.de/monografia/#ixzz6s9JA3Db7>
- Revista Cubana de Higiene y epidemiología (2016) <http://www.revepidemiologia.sld.cu/>
- Rodríguez Pacheco, J.; Borrás Sandoval, L.; Pulido Medellín, M. (2015) Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja. Revista cubana.
- Rus Arias, E. (2020) Investigación mixta. Economipedia. <https://economipedia.com/definiciones/investigacion-mixta.html#:~:text=La%20investigaci%C3%B3n%20mixta%20es%20aquella,ambos%20y%20minimizar%20sus%20inconvenientes.>

Solinal food school (2018) Procedimientos Operativos Estándar de Sanitización (POES).
<https://www.solinalfoodschool.org/course/poes/>

Varón, A. (2017) Los microorganismos en los POES. <https://medium.com/calidadsuperior/los-microorganismos-en-los-poes-1521eaabbc9a>

Varón, A. (2017) ¿Cómo verificar los POES en las plantas de beneficio? Calidad superior.
[https://medium.com/calidadsuperior/c%C3%B3mo-verificar-los-poes-en-plantas-de-beneficio-a24b3489fcad#:~:text=%C2%BFC%C3%B3mo%20se%20verifican%20los%20POES,\(visuales\)%20en%20las%20C3%A1reas](https://medium.com/calidadsuperior/c%C3%B3mo-verificar-los-poes-en-plantas-de-beneficio-a24b3489fcad#:~:text=%C2%BFC%C3%B3mo%20se%20verifican%20los%20POES,(visuales)%20en%20las%20C3%A1reas).