

 <i>República de Colombia</i> <i>Gobernación de Santander</i>	MANUAL DE ESTERILIDAD COMERCIAL SEGÚN MOSSEL Y QUEVEDO LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-90
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	1 de 9

República de Colombia



Gobernación de Santander

MANUAL DE ESTERILIDAD COMERCIAL SEGÚN MOSSEL Y QUEVEDO DEL ÁREA DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE ESTERILIDAD COMERCIAL SEGÚN MOSSEL Y QUEVEDO LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-90
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	2 de 9

TABLA DE CONTENIDO

1. OBJETIVO.....	3
3. RESPONSABILIDADES.....	3
4. DEFINICIONES.....	3
5. CONDICIONES GENERALES	5
6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO.....	5
7. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS	6
8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	6
9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA	6
10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA	6
10.1 Equipos	6
10.2 Reactivos.....	7
11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO	7
12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO.....	8
13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS.....	8
14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS.....	9
15. DOCUMENTOS DE REFERENCIA	9
16. CONTROL DE CAMBIOS	9

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE ESTERILIDAD COMERCIAL SEGÚN MOSSEL Y QUEVEDO LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-90
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	3 de 9

1. OBJETIVO

Establecer el procedimiento para la prueba de esterilidad comercial según Mossel y Quevedo para determinar si los alimentos envasados, en latas o bolsas herméticamente cerradas (termosellados), cumplen con los requisitos de esterilización comercial a los que sometieron.

2. ALCANCE

Esta técnica determina si los alimentos envasados en recipientes herméticamente cerrados cumplen con el requisito de esterilización comercial al que se sometieron. Se aplica para todos aquellos alimentos catalogados como comercialmente estériles.

3. RESPONSABILIDADES

Será responsabilidad del profesional asignado, según cronograma de análisis de muestras verificar que, ese procedimiento se lleve a cabo según esta consignado en este documento.

4. DEFINICIONES

CALDO INFUSIÓN CEREBRO CORAZÓN CON ALMIDÓN AL 0.1% (BHI): es el medio de cultivo que se utiliza para el crecimiento de microorganismos de difícil crecimiento y microorganismos de crecimiento rápido entre los que se incluyen bacterias aerobias y/o microaerófilos.

PRUEBA DE ESTERILIDAD: la esterilidad comercial de un alimento tratado térmicamente es el estado que se consigue aplicando calor suficiente, solo o en combinación con otros tratamientos apropiados, con el objeto de liberar el alimento de microorganismos patógenos capaz de reproducirse en él en condiciones normales, no refrigeradas, en las que se mantendrá durante su distribución y almacenamiento.

ACTIVIDAD DE AGUA (aw): Es la cantidad de agua disponible en un alimento necesaria para el crecimiento y proliferación de microorganismos. Calculada como la relación entre la presión parcial del vapor del agua del producto y la presión parcial del vapor del agua pura a la misma temperatura.

ALIMENTOS ÁCIDOS: Alimentos que tienen un ph natural de 4,6 o menor.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE ESTERILIDAD COMERCIAL SEGÚN MOSSEL Y QUEVEDO LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-90
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	4 de 9

ALIMENTOS ACIDIFICADOS: Alimentos de baja acidez a los cuales se les añade ácido o alimentos ácidos para reducir su ph; estos alimentos tienen una actividad de agua (aw) mayor a 0.85 y un ph en equilibrio final de 4.6 o menor.

ALIMENTOS DE BAJA ACIDEZ: Cualquier alimento envasado, con un valor de ph en equilibrio final mayor a 4.6 y con una actividad de agua mayor a 0.85.

ASÉPTICO: Comercialmente estéril.

ENVASE DEL PRODUCTO: Todo envase destinado a contener un alimento y que ha de cerrarse herméticamente.

ENVASE FLEXIBLE: Aquel envase cuya forma es afectada significativamente por su contenido.

ENVASE RÍGIDO: Aquel envase que no es afectado por su contenido ni es deformado por presiones externas de hasta 0,7 kg/cm².

ENVASE SELLADO HERMÉTICAMENTE: Envase diseñado con el propósito de evitar en forma segura, la entrada de microorganismos de mantener la esterilidad comercial de su contenido después del procesamiento.

ENVASE SEMIRRÍGIDO: Aquel envase que no es afectado por su contenido, pero puede ser deformado por una presión externa mediante presión externa mecánica de menos de 0,7 kg/cm².

ESTERILIDAD COMERCIAL DE ALIMENTOS TÉRMICAMENTE PROCESADOS: Condición alcanzada por la aplicación de calor dejando al alimento libre de microorganismos capaces de reproducirse en condiciones normales de almacenamiento y distribución, no refrigerada, y libre de microorganismos viables (incluyendo esporas) de importancia para la salud pública.

FACTOR CRÍTICO: Cualquier propiedad, característica, condición, aspecto u otro parámetro cuya variación puede afectar un proceso térmico programado y el logro de la esterilidad comercial.

LOTE: Es la cantidad específica de producto de características uniformes de producción que corresponde a un período de tiempo determinado que se somete a inspección como un conjunto unitario.

PROCESAMIENTO Y ENVASADO ASÉPTICO: Llenado de un producto comercialmente estéril en envases previamente esterilizados, seguido de un cerrado hermético con un cierre esterilizado de manera que se evite la recontaminación microbiológica viable del producto estéril.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE ESTERILIDAD COMERCIAL SEGÚN MOSSEL Y QUEVEDO LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-90
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	5 de 9

ENVASE O BOLSA HERMÉTICAMENTE CERRADA: Aquél que está diseñado y se entiende como seguro contra la entrada de microorganismos y mantiene la esterilidad comercial de su contenido después de su procesamiento.

ENVASE O BOLSA HINCHADA O ABOMBADA: Envase que presenta deformación convexa.

5. CONDICIONES GENERALES

- Las muestras se deben analizar en cuarto de siembra y en cabina de seguridad biológica (CSB).
- El personal debe realizar el lavado de las manos antes y después de la actividad laboral.
- Utilizar los elementos de protección personal (EPPs) requeridos según el riesgo de exposición en el área, tales como: Bata de laboratorio desechable, Cubrebocas, Guantes de nitrilo, Gorro desechable, Gafas de bioseguridad. Los EPPs se pueden contaminar durante la actividad, por lo tanto, se debe restringir el uso al área de trabajo para evitar la propagación de microorganismos hacia áreas ajenas al laboratorio, la verificación de los EPPs podrá realizarse en cualquier instante y se registrará en el formato de verificación de uso de elementos de protección personal MI-GS-RG-378.
- El uso de esta prueba es para control microbiológico exclusivamente, se deben cumplir con las normas de bioseguridad. Los medios de cultivo utilizados para esta prueba son Irritantes para los ojos, piel y el sistema respiratorio.

6. FUNDAMENTO DEL MÉTODO DE ENSAYO

El deterioro de los alimentos enlatados puede deberse a causas químicas, biológicas o a ambas. La alteración química más importante es el abombamiento por hidrógeno, consecuencia de la producción y almacenamiento de hidrógeno a presión, liberado por la acción de un alimento ácido sobre el hierro del bote o lata.

La alteración biológica de los alimentos enlatados por los microorganismos puede ser consecuencia de cualquiera de estas dos causas (o de ambas simultáneamente); (1) supervivencia de microorganismos después del tratamiento térmico; (2) fallos del recipiente, permitiendo la entrada de microorganismos una vez terminado el tratamiento térmico.

La prueba de esterilidad comercial se realiza en envases que no presenten ningún defecto visual. Si luego de la incubación el producto presenta alguna alteración en

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE ESTERILIDAD COMERCIAL SEGÚN MOSSEL Y QUEVEDO LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-90
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	6 de 9

el olor, color, apariencia, pH, el producto se considerará "No estéril Comercialmente".

7. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

Revisar que los productos no presenten alguna alteración antes de ser procesados ya que esto afecta la prueba.

8. RECOLECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA

- La muestra debe estar debidamente cerrada y embalada, sin presentar roturas en su empaque, fugas, derrames ni abolladuras.
- Debe conservarse bajo las condiciones de almacenamiento adecuadas de tal manera que se reduzcan al mínimo los riesgos de alteraciones de la muestra, que pueda experimentar antes del análisis (condiciones indicadas en el empaque e información sobre la temperatura - ambiente, refrigeración o congelación).
- Disponer de una cantidad suficiente de muestra compuesta por varias unidades, según corresponda, que permita la realización de los análisis requeridos y dejar una parte como testigo (contramuestra).

Ver manual de toma y recepción de muestras de alimentos y bebidas alcohólicas laboratorio de salud pública de Santander MI-GS-MA-08, inciso 3: Toma de muestras de alimentos, Tabla 2: Método de recolección de muestras de alimentos y materias primas sólidas, líquidas, deshidratadas y congeladas e inciso 6.2 Entrega de muestras al laboratorio.

9. CONSERVACIÓN DE LA MUESTRA

Almacenar las muestras a temperatura ambiente para evitar que se produzcan alteraciones en ella antes de su análisis.

10. EQUIPOS, REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIAL DE REFERENCIA

10.1 Equipos

- Cabina de flujo laminar
- Refrigerador a 0 – 5° C

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE ESTERILIDAD COMERCIAL SEGÚN MOSSEL Y QUEVEDO LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-90
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	7 de 9

- Incubadora 35° C +/- 2 °C
- Incubadora 55° C +/- 2 °C
- Microscopio
- Campana de anaerobiosis
- Pipetas bacteriológicas de 1 mL
- Gradillas
- Pipeteador
- Laminas portaobjetos
- Sobres generadores de anaerobiosis
- Indicadores de anaerobiosis
- Tubos de ensayo tapa rosca de 20 x 180 mm
- Instrumentos para preparar muestras: cuchillos, tenedores, pinzas tijeras, cucharas, espátulas, sacabocados, etc; previamente esterilizados.

10.2 Reactivos

- Caldo Infusión Cerebro Corazón, con almidón 0.1%, BHI
- Colorantes de tinción de Gram (Cristal violeta, Lugol, Alcohol Acetona, Safranina).

11. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Las dos muestras que se utilizarán para realizar el procedimiento deben pertenecer al mismo lote de producción.

Para la preparación de las muestras se debe realizar lo siguiente:

- Retirar las etiquetas de los empaques de las muestras (latas, bolsas de leche, de yogurt, de leche saborizada, cajitas de leche, etc)
- Lavar los empaques con agua tibia jabonosa
- Enjuagar con agua tibia y secar con toallas limpias desechables
- Envolver cada empaque en papel de filtro con el objeto de descubrir cualquier escape del producto.
- Marcar los empaques con fechas, número de muestra y temperatura de incubación.

Pre-incubación

- Incubar un empaque a 35° C +/- 2 ° C durante 10 días y otro a 55° C +/- 2° C durante 10 días
- Observar los empaques cada dos días, con el objeto de descubrir cualquier escape del producto (Microfugas).

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

	MANUAL DE ESTERILIDAD COMERCIAL SEGÚN MOSSEL Y QUEVEDO LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-90
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	8 de 9

- Separar y examinar inmediatamente aquellas que muestran abombamiento o escape de material
- Agitar los empaques no alteradas e invertir su posición

Preparación de las latas para su análisis

- Desinfectar con alcohol al 70% todas las latas a examinar
- Flamear rápidamente la parte que va a abrirse. No hacerlo nunca con empaques abombados
- No abrir por los lados donde lleve impreso el número de control, código, o lote.
- Abrir el empaque trabajando en la cabina de flujo laminar y eliminar totalmente la abertura de este.

Análisis del contenido del empaque

- Transferir aproximadamente 2 gr del producto (tomando todas las partes representativas) a cada uno de los 6 tubos que contienen 10 mL de Caldo Infusión Cerebro Corazón, adicionado de 0.1% de almidón.
- Incubar 3 tubos con anaerobiosis y 3 tubos con anaerobiosis a la misma temperatura de pre-incubación (35°C +/- 2°C y 55°C +/- 2°C) por 72 horas.
- Realizar un frotis directo del producto sobre la lámina limpia y desengrasada y colorearla con Gram, contar las células bacterianas por campo. Un número elevado indicará pésimas condiciones de higiene durante la preparación del producto y utilización de materia primas muy contaminadas.

Lectura

- Hacer frotis de cada tubo sembrado y colorear con Gram para determinar el tipo de gérmenes presentes.
- Considerar que el producto es estéril cuando máximo un tubo muestre desarrollo.

12. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO

Se informará el resultado del Análisis en el formato de DATOS PRIMARIOS Y FORMATO DE RESULTADOS DE ALIMENTOS.

De acuerdo con la interpretación de los resultados, se considera que el producto es estéril cuando máximo, un tubo aerobio muestra desarrollo.

13. ANÁLISIS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

- Contar las células bacterianas por campo. Un número alto indica malas condiciones de producción o de materia prima.

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas

 <i>República de Colombia</i> <i>Gobernación de Santander</i>	MANUAL DE ESTERILIDAD COMERCIAL SEGÚN MOSSEL Y QUEVEDO LABORATORIO DEPARTAMENTAL DE SALUD PÚBLICA	CÓDIGO	MI-GS-MA-90
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	08/11/2023
		PÁGINA	9 de 9

- Una vez cumplido el tiempo de incubación de los tubos de BHI y examinadas las láminas coloreadas de GRAM, se considera el producto estéril cuando no hay crecimiento en ningún cultivo de BHI o máximo en un tubo aerobio.
- El hallazgo de latas abombadas puede indicar contaminación microbiana que se confirma con los hallazgos microscópicos del cultivo de las no abombadas.

14. EMISIÓN DEL INFORME DE RESULTADOS

Los resultados se emiten en la plantilla que contiene información general del punto de toma, información de la muestra recibida y los análisis realizados.

15. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

Luna, J. Curso Taller de Garantía de calidad de laboratorio de ensayo microbiológico para alimentos. OPS/OMS/INPPAZ/INVIMA.1995

16. CONTROL DE CAMBIOS

CONTROL DE CAMBIOS				
VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO	REVISÓ	APROBÓ
0	08/11/2023	Emisión inicial del documento	Alba Rocío Orduz Amézquita Líder Grupo LDSP German Eduardo Marín Cárdenas Director de Salud Integral Diego Sánchez Báez Coordinador Grupo de Apoyo a la Gestión y Calidad César Ernesto Sánchez Aranda Director de Planeación y Mejoramiento en Salud	Javier Alonso Villamizar Suarez Secretario de Salud de Santander

Versión	Elaboración	Revisión Técnica	Revisión de Calidad
0	Sandra Isabel Bohórquez	Ayde López	Alejandra Galvis Vargas