

# GUÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE PUNTOS DE MUESTREO MICROBIOLÓGICO EN CENTRALES FRUTÍCOLAS



ChileG.A.P.<sup>®</sup>



Comité de Inocuidad de ASOEX  
Santiago, marzo 2016

# GUÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE PUNTOS DE MUESTREO MICROBIOLÓGICO EN CENTRALES FRUTÍCOLAS

Comité de Inocuidad de Asociación de Exportadores  
de Frutas de Chile, ASOEX A.G.

Santiago, marzo de 2016



ChileG.A.P.<sup>®</sup>



---

Esta Guía para la determinación de puntos de muestreo microbiológico en Centrales frutícolas, ha sido desarrollada por los siguientes profesionales que forman parte del Comité de Inocuidad de la Asociación de Exportadores de Frutas de Chile A.G.:

- Sr. Ricardo Adonis P.  
Editor  
Ingeniero Agrónomo  
Fundación para el Desarrollo Frutícola (FDF)
- Sr. Andrés Delgado  
Ingeniero Ambiental y Experto en Prevención de Riesgos  
Dole Chile S.A.
- Sra. Marjolaine Ducaud  
Ingeniero Agrónomo  
Del Monte Fresh Produce (Chile) S.A.
- Sra. Javiera Maurens  
Ingeniero Agrónomo  
Gesex S.A.
- Sra. Rita Rojas  
Ingeniero Agrónomo  
Unifrutti Traders Ltda.

La Guía para la determinación de puntos de muestreo microbiológico en Centrales frutícolas (en adelante, la "Guía"), ha sido preparada por la "Asociación de Exportadores de Frutas de Chile, Asociación Gremial" (en adelante "Asoex"), con el objetivo de orientar a la industria en la utilización de la misma según se deja señalado. La Guía es sólo material referencial y, en este sentido, no constituye ni reemplaza en forma alguna la asesoría profesional que cada empresa requiere, para la evaluación de los riesgos propios de cada instalación y proceso e implementación de los puntos de muestreo para análisis microbiológicos que puedan serle necesarios, por lo que Asoex no será responsable en caso alguno de eventuales daños personales y/o a la propiedad que se produzcan con ocasión del uso de la Guía.

---

Registro de Propiedad Intelectual en trámite.

Prohibida su reproducción total o parcial así como su distribución por cualquier medio, sin la autorización escrita de la Asociación de Exportadores de Frutas de Chile A.G.

# Índice

1. Introducción	1
2. Definiciones	1
3. Criterios para definir monitoreos	2
4. Tipos de monitoreo microbiológico	3
4.1. Monitoreo ambiental	3
4.2. Monitoreo de producto terminado	9
4.3. Monitoreo de aguas de proceso	9
5. Frecuencias de muestreo microbiano	9
5.1. Monitoreo investigacional	9
5.2. Monitoreo ambiental de rutina	9
5.3. Monitoreo de producto terminado	10
5.4. Monitoreo de aguas de proceso	10
6. Tamaño de muestras	11

# 1. Introducción

La presente guía tiene por objeto proponer los criterios básicos que ayuden a identificar los puntos de muestreo para análisis microbiológicos en Centrales de embalaje o packing de frutas, teniendo en consideración los riesgos asociados a la inocuidad alimentaria.

El conocer ciertos principios básicos, permitirá efectuar una detección oportuna de estos peligros para enfrentar de forma apropiada los factores que ponen en riesgo la inocuidad, durante las distintas etapas de los procesos de selección, embalaje y almacenaje de frutas frescas.

Algunos de estos principios son:

1. La implementación de buenas prácticas agrícolas (BPA) y de manufactura (BPM), son un elemento esencial para reducir al mínimo el riesgo microbiológico en frutas frescas.
2. El contacto del producto con contaminantes microbiológicos puede ocurrir en cualquier punto de su trayectoria, desde el campo hasta a la mesa.
3. La calidad y procedencia del agua determina la posibilidad de contaminación, por lo que hay que reducir al máximo los riesgos debidos al agua en cualquier estado de desarrollo de la fruta.
4. La higiene y prácticas sanitarias de los trabajadores durante la producción, cosecha, selección, embalaje y transporte juegan un papel esencial en reducir el riesgo de contaminación microbiológica de frutas frescas. Por lo tanto, se debe contar con personal capacitado y un control eficaz para asegurar que todos los elementos del programa funcionen correctamente.
5. Siempre será necesario poder rastrear el origen del producto a través de diversos canales de distribución.
6. Cumplir con la reglamentación local en todos los ámbitos es una exigencia.

La prevención de la contaminación microbiológica del producto es la mejor vía para evitar que ellas ocurran. Las legislaciones modernas hacen énfasis en la prevención, para lo cual las medidas se deben tomar caso a caso dependiendo de los riesgos.

El usuario de esta guía podrá utilizar las herramientas entregadas en ella para tomar decisiones que le permitan definir un programa de verificación y monitoreo microbiano, según la realidad y riesgos propios de su instalación.

## 2. Definiciones

Superficies de contacto con los alimentos	Son aquellas superficies que entran en contacto directo con las frutas frescas. Pueden ser polines, rodillos, cintas de selección, tolvas, guantes de los operadores, etc.
Microorganismos	En esta Guía se refiere a bacterias, hongos o mohos, virus y protozoos.
Peligro microbiológico	Se refiere a la presencia de un microorganismo ya sea en el producto o en el ambiente de proceso, que puede causar problemas de salud al consumidor.
Peligro	Agente biológico, químico o físico, o propiedad de un alimento, capaz de provocar un efecto nocivo para la salud. (CODEX).
Riesgo	Es una función de la probabilidad de un efecto nocivo para la salud y de la gravedad de dicho efecto, debido a un peligro o peligros en los alimentos. (CODEX).
Agua de procesamiento	Se refiere al agua que toma contacto con el producto en cualquier etapa de la postcosecha, (por ej. las operaciones de lavado, enfriado, encerado, entre otros).
Monitoreo ambiental	Monitoreo microbiológico de todo el entorno donde se maneje el producto (superficies, equipos, instalaciones físicas). No se refiere solamente al monitoreo del aire ambiente, como se entendía antiguamente.
Producto terminado	Corresponde a fruta de una misma especie, presentada en su embalaje definitivo.

### 3. Criterios para definir monitoreos microbiológicos

Los criterios para definir monitoreos microbiológicos (tipo y frecuencia) se realizan en base a evaluación de riesgos, la cual considera la Frecuencia, la Probabilidad y la Severidad de ocurrencia del peligro .

Un punto práctico inicial de la evaluación de riesgos es estimar los peligros existentes en el sistema productivo actual. La estimación del riesgo es frecuentemente utilizada como una línea de base contra la cual se evalúan las estrategias de intervención para reducir los riesgos. En el marco del Codex, la evaluación de riesgos es el proceso de efectuar los siguientes cuatro pasos:

1. Identificación de los peligros
2. Caracterización de los peligros
3. Evaluación de la exposición al peligro
4. Caracterizar el riesgo: Es la síntesis de los elementos anteriores



Para identificar el peligro, evaluarlo y luego tener planes de acción para controlar o mitigar los riesgos (en este caso, biológicos), se debe contar con información basal previa y posteriormente de rutina, la cual se puede obtener aplicando los conceptos señalados en esta Guía.

El propósito final es tomar las medidas de prevención más específicas posibles que permitan reducir o mitigar los riesgos y mantenerlos bajo control. Para ello se deben considerar condiciones tales como las caracterizaciones y sectorización del Centro de embalaje o packing, las especies procesadas, los planes de lavado y sanitización y el monitoreo.

## 4. Tipos de monitoreo microbiológico

El monitoreo microbiológico en un Centro de embalaje o packing debe considerar tres modalidades:

1. Monitoreo ambiental. Permite validar los planes implementados (HACCP, BPM) y cumplir con las regulaciones legales y los requerimientos de clientes.
2. Monitoreo de producto terminado. Nos permite verificar aleatoriamente, las características de inocuidad en la fruta.
3. Monitoreo de aguas de proceso. Nos permite mantener el agua en niveles aceptables de sanidad biológica y determinar ajustes en los agentes sanitizantes empleados.

### 4.1. Monitoreo ambiental

Hoy en día cuando se habla de Monitoreo ambiental no sólo se refiere al monitoreo del aire como se entendía antiguamente, sino al monitoreo de superficies, equipos, instalaciones físicas y manipuladores.

El monitoreo ambiental es el más complejo de determinar en cuanto a su frecuencia y alcance, pues en el desarrollo de microorganismos inciden muchas las variables propias de cada instalación.

El monitoreo ambiental puede ser efectuado con tres objetivos:

- a) Monitoreo investigacional. Se efectúa para detectar o identificar las zonas críticas de la línea, del proceso o de la instalación, con mayor riesgo de contaminación.
- b) Monitoreo de rutina. Es el monitoreo, a determinadas frecuencias, de puntos de mayor peligro que se han determinado en el monitoreo investigacional, mas algunos puntos control. Este tipo de monitoreo permite tomar las medidas de prevención en cada temporada y manejar un historial de las instalaciones.
- c) Monitoreo de sanitización. Permite verificar la calidad del lavado y sanitización y validar la efectividad del plan de limpieza y sanitización.

Lo anterior se resume en la siguiente figura:



Un buen programa de monitoreo ambiental debe considerar:

- Determinación de posibles organismos indicadores o patógenos en la instalación respectiva.
- Definir los puntos críticos para prevenir los peligros microbiológicos en lugares y superficies de contacto con los productos. Cada planta de embalaje o proceso tiene puntos de peligros microbiológicos distintos.
- Incluir pruebas que verifiquen la efectividad de los procesos de limpieza y sanitización respecto al control de los organismos indicadores y de cualquier otro organismo particular.

### 4.1.1. Monitoreo investigacional

El monitoreo investigacional es aquel que tiene por objeto detectar los puntos críticos de las líneas de embalaje en cuanto a riesgos de contaminación biológica, para luego usar esos puntos como sitios Indicadores en el monitoreo ambiental de rutina.

El monitoreo investigacional, en esencia, requiere un gran número de muestras. Sin embargo, ese gran número de muestras se puede ir reuniendo a través del tiempo y organizando planillas donde se recopilen los resultados de análisis microbiológicos, para facilitar el análisis de la información.

Dado que el interés es encontrar los puntos críticos de riesgos de contaminación u hospedaje de patógenos en las líneas de embalaje, los análisis a efectuar deben ser principalmente de *E. coli* y *Listeria*. Incluir *Salmonella* depende de las condiciones o riesgos de la instalación o producto. En el caso de frutos secos, se debe agregar *Salmonella*.

Los análisis microbiológicos necesarios para el monitoreo investigacional se deben efectuar mediante laboratorios especializados, aunque un buen laboratorio propio debe tener las capacidades de poder efectuarlo. En dicho caso es necesario utilizar un laboratorio externo como confirmatorio o de referencia.

#### Zonas de monitoreo

Para un análisis que permita identificar en forma más certera los peligros de mayor impacto a la fruta, es conveniente efectuar los muestreos microbiológicos de acuerdo a la Zonificación de la planta. Esta zonificación se efectúa basada en la probabilidad de contaminación del producto, por lo cual presenta la ventaja de facilitar la detección de riesgos de contaminación cruzada desde una zona a otra.

La literatura especializada identifica cuatro zonas en una planta de alimentos, según el grado de contacto con el producto. En esta guía se considera el monitoreo de las tres zonas donde se maneja el producto.

Zona 1	Zona 2	Zona 3
<ul style="list-style-type: none"><li>Superficies de Contacto DIRECTO con la fruta: Cintas, rodillos, manos de operadores, capachos, balanzas, entre otros.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>Superficies de contacto NO DIRECTO con la fruta: Zona de cerrado de cajas, cámaras de frío, estructura de equipos, iluminación, desagües, etc.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>Otras superficies en la zona de manejo de producto, como accesorios, equipos, herramientas: teléfonos fijos, equipamientos de oficina, grúas horquilla, entre otros.</li></ul>

Al planificar un programa de monitoreo ambiental se debe enfatizar en las zonas 1 y 2.

Para elegir los puntos de muestreo específicos se deben seleccionar las zonas que sean susceptibles a crecimiento de microorganismos capaces de contaminar directa o indirectamente el producto. Estos sitios son aquellas zonas más escondidas de las líneas, como por ejemplo rodillos de estruje, cepillos, estructuras bajo los equipos. Especialistas de Estados Unidos entrevistados en Chile, nos han mencionado que los amortiguadores de caídas en las cintas deben ser considerados puntos de muestreo, dado que en su parte interior, normalmente son de difícil limpieza. Lo mismo ocurre con cintas craqueladas.

Por tanto, según lo analizado en las secciones anteriores, el criterio de puntos de muestreo será:

### Priorizar muestras en zona 1

¿Dónde muestrear?	¿Cuánto muestrear?	¿Qué analizar?
Identificar las superficies críticas para monitoreo investigacional. Por ejemplo, rodillos de estruje, cepillos, estructuras bajo los equipos, amortiguadores de impacto en tolvas de caída, áreas que permanezcan húmedas, etc.	No existe un número pre determinado, pero el número mínimo que permite tomar alguna decisión es cinco muestras por temporada en cada punto crítico identificado.	En estos puntos, hacer análisis de patógenos, dependiendo de la condición y riesgos ( <i>E. coli</i> , <i>Listeria</i> y <i>Salmonella</i> ).

En zona 2 el muestreo y análisis dependerán del tipo de planta y de los riesgos de contaminación al producto que se puedan identificar. Por ejemplo, puntos o sitios con riesgos de caída de agua o polvo sobre el producto, estructuras en mal estado, o sucias o de difícil limpieza, drenajes y sus cubiertas.

#### 4.1.2. Monitoreo de rutina

Este monitoreo se efectúa para asegurar que en una operación normal, las líneas de embalaje y ambiente de trabajo, se encuentran bajo control desde el punto de vista de peligros biológicos. Ello significa que:

- El proceso se encuentre en condiciones de limpieza adecuada.
- El proceso se encuentre libre de patógenos.

El monitoreo de rutina nos permite identificar, por ejemplo, si hay aumento de carga biológica en las líneas, detectando así la necesidad de acciones adicionales en cuanto a limpieza.

Considerando lo anterior, el monitoreo de rutina debe contemplar:

- Los puntos críticos determinados por el monitoreo investigacional. Dado que estos puntos son aquellos donde se podrían encontrar los patógenos ya señalados (*E. coli*, *Listeria* y *Salmonella*), dependiendo del peligro.
- Uno o más puntos de referencia. Normalmente corresponden a superficies tales como cintas de selección o polines o tolvas de caída. El análisis a efectuar en ellos es Recuento total de mesófilos también conocido como RAM. Algunas plantas incorporan también en este caso el análisis de coliformes totales, pero ello dependerá del tipo de proceso.

El monitoreo de rutina se debe efectuar frecuentemente en la temporada, entendiendo como tal alrededor de cada 15 días, (número indicado como referencia solamente), dependiendo de los procesos, tipo de fruta y condición de los equipos. Una vez determinadas las condiciones que señalen que el proceso se encuentre bajo control, se puede reestudiar otra frecuencia apropiada.

Para facilitar la decisión de dónde efectuar el monitoreo de rutina, se pueden utilizar técnicas de evaluación visual, efectuadas por una persona preparada para identificar situaciones de riesgo, como por ejemplo:

- Identificar puntos de acumulación de residuos de materia orgánica, incluyendo puntos muertos por debajo de la línea de packing, estructuras con bordes irregulares, uniones de estructuras etc. Observar limpieza y estado de polines, cadenas
- Observar prácticas de manejo del producto, verificando en qué partes del equipo los manipuladores apoyan sus manos, ya que deben ser consideradas superficies de contacto con el producto. Es importante verificar la ausencia de elementos portables que puedan caer sobre la línea de embalaje, estado de guantes (si es que la política de la empresa es usarlos), disponibilidad de acceso frecuente a productos sanitizantes (gel alcohol) entre otras.
- Observar tránsito de producto y del personal para determinar flujos de personas, productos, grúas, basuras, etc., que permitan detectar riesgos de contaminaciones cruzadas.

- Observar limpieza de operadores, su vestuario, elementos de protección para evitar la caída de cabello, protección de heridas en las manos, verificar la ausencia en la línea de trabajo de personas con evidencia de enfermedades infecciosas, etc. Es importante observar que se cumplan las instrucciones para el lavado y sanitizado de manos al ingreso de packing y cuando momentáneamente se ausenten de su puesto de trabajo.
- Examinar daños estructurales de la planta, protección de luminarias, limpieza de pisos y paredes, limpieza de mallas, techos, estado de los desagües, cintas agrietadas y craqueladas, estructuras oxidadas.
- Observar las siguientes situaciones:
  - Apozamiento de agua en los pisos y desbordes de desagües.
  - Condiciones de limpieza de envases cosecheros.
  - Que no exista tránsito de personas o grúas por zonas húmedas o con agua apozada (pueden llevar contaminación de una zona a otra).
  - Presencia de fecas de aves, roedores y similares en las instalaciones (interior o exterior).
  - Presencia de agua condensada en paredes y techos, verificando que no caigan sobre el producto.

Después de detenciones de las líneas para intervenciones mecánicas en los equipos, es un buen momento para tomar muestras microbiológicas a fin de verificar si hubo aumento de riesgos.

A partir de estas observaciones, es posible determinar la necesidad de efectuar análisis microbiológicos específicos.

<b>Análisis de rutina: Priorizar muestras en zona 1</b>		
<b>¿Dónde muestrear?</b>	<b>¿Cuánto muestrear?</b>	<b>¿Qué analizar?</b>
Las superficies mas criticas identificadas en el monitoreo investigacional. + Superficies de contacto directo como testigos. + Superficies que en el momento del muestreo se encuentren en condiciones de peligro biológico.	Una muestra por cada punto. Tres o cuatro puntos por vez.  Muestrear al menos 4 horas después de inicio del proceso.  La frecuencia depende de cada planta.	Microorganismos indicadores: Recuento aerobios mesófilos RAN.  Microorganismos patógenos ( <i>E. coli</i> , <i>Listeria</i> y <i>Salmonella</i> ) Coliformes totales.

Para la evaluación microbiológica de este monitoreo se pueden utilizar técnicas rápidas de rutina, efectuadas por un laboratorio de la propia empresa o laboratorios especializados.

- Pruebas de microorganismos indicadores, indican la calidad de los procesos de limpieza y desinfección o podrían sugerir la presencia de patógenos. Algunos análisis de este tipo son RAM (recuento de aerobios mesófilos), coliformes totales, enterobacterias, hongos y levaduras.
- Pruebas de microorganismos patógenos indican la inocuidad de los procesos y de los manipuladores. Algunos análisis de patógenos en líneas de proceso son *E. coli*, *Listeria monocitogenes*, *Salmonella*, etc. En el caso de manipuladores, *E. coli* y dependiendo de un análisis de riesgo podría incluirse *Staphylococcus aureus*.

En el muestreo de rutina, priorizar los muestreos en la zona 1 y dependiendo del tipo de planta y condiciones, alrededor de un 20% de las muestras se debe tomar en la zona 2.

### 4.1.3. Monitoreo de sanitización

Este monitoreo se utiliza para medir la efectividad de los procesos de limpieza y desinfección y es parte de un correcto programa de muestreo. Por lo tanto no es necesario efectuarlo frecuentemente, pues sus resultados se deben utilizar solamente para verificar la efectividad de los lavados y de los agentes sanitizantes en uso.

#### Evaluación rápida de sanitización en tiempo real

Una alternativa al muestreo para análisis de microorganismos, es el uso de la técnica de bioluminiscencia por ATP (adenosin tri fosfato). Es la metodología más utilizada actualmente por las plantas procesadoras de alimentos en Estados Unidos pues es un análisis eficaz y de bajo costo de operación, que puede ser utilizado las veces necesarias en cada planta.

El equipo mide luminiscencia, derivada de la materia orgánica presente sobre una superficie. No indica la presencia de bacterias en forma específica. La limitante es que el nivel de luminiscencia sobre la cual tomar acción, asociado a limpieza y suciedad debe ser determinado mediante ensayos y testeos en cada planta específica.

Las versiones más modernas de estos equipos ya traen una escala de medición indicando simplemente "limpio o sucio".

## 4.2. Monitoreo de producto terminado

Se refiere al monitoreo de fruta fresca en su embalaje definitivo, entendiéndose producto terminado a frutos de una misma especie.

Este monitoreo no debe tomarse como una herramienta preventiva, pues sólo informa los resultados de un conjunto de frutas específicas muestreados en un momento específico, reflejando en parte, las condiciones de inocuidad del producto en el momento del muestreo. Dadas las variabilidades de las poblaciones de microorganismos y de su ocurrencia en el producto terminado, las que no pueden ser detectadas con certeza estadística ni por los mayores planes de muestreo. Nunca se podrá asegurar la ausencia completa de riesgos biológicos, a partir de este muestreo. Sin embargo el análisis de producto terminado es una referencia que, acompañado de los análisis de rutina e investigacionales, pueden dar tranquilidad sobre el bajo riesgo de un producto.

En el sentido preventivo que las legislaciones actuales requieren, es más efectivo enfatizar el monitoreo ambiental de la planta o en la zona de contacto de producto. En este contexto, el análisis de rutina, especialmente en los puntos críticos, es la mejor herramienta para mantener un proceso bajo control de riesgos biológicos.

Para producto terminado, se sugiere considerar el monitoreo que exige el Reglamento Sanitario (DS 977) para fruta fresca y hortalizas, al menos una vez por temporada para cada especie y ceñirse a los parámetros definidos en dicho Reglamento, según se señala en la siguiente tabla:

Parámetro	Categoría	Clases	n	c	m	M
<i>E. coli</i>	5	3	5	2	10 <sup>2</sup> (a)	10 <sup>3</sup> (a)
Salmonella en 25 g	10	2	5	0	0	---

(a): Valor límite por gramo.

El significado de cada columna se explica en la siguiente Tabla:

Leyenda	Explicación	Aplicación práctica
Categoría de riesgo	Relación entre el grado de peligrosidad para la salud que representa el alimento en relación con las condiciones posteriores de manipulación. Estas categorías están determinadas por la autoridad sanitaria chilena.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Categoría 5: Peligro para la salud bajo, indirecto</li> <li>• Categoría 10: Peligro para la salud moderado, directo, difusión potencialmente extensa.</li> </ul>
Clases	Referido al plan de muestreo establecido	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Plan de 2 clases: Un producto puede ser clasificado como, "aceptable" y "rechazable", según la presencia o ausencia de microorganismos, o si la tasa microbiológica es superior o inferior al nivel crítico establecido (c).</li> <li>• Plan de 3 clases: Un producto puede ser clasificado como, "aceptable", "medianamente aceptable" y "rechazable".</li> </ul> <p>La clase aceptable tiene como límites 0 y m; la clase medianamente aceptable tiene valores que se encuentren entre m y M, y la clase rechazable aquellos valores superiores a M.</p>
n	Número de unidades de muestras a ser examinadas. En la tabla es 5	Cinco es la cantidad de muestra que se debe tomar y analizar por separado. Cinco frutos, muestreados individualmente y analizados en forma separada.
c	Número máximo de unidades de la muestra que puede contener un número de microorganismos comprendidos entre "m" y "M" para que el alimento sea aceptable.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• En el caso de <i>E. coli</i> de los cinco frutos, dos (valor c) pueden contener esta bacteria en valores entre <math>10^2</math> y <math>10^3</math> por gramo.</li> <li>• En el caso de Salmonella el límite es cero para todas las unidades analizadas.</li> </ul>
m	Valor del parámetro microbiológico para el cual o por debajo del cual el alimento no representa un riesgo para la salud;	En la tabla, en caso de <i>E. coli</i> , cualquier muestra con hasta $10^2$ UFC por gramo es aceptable En el caso de Salmonella, la tolerancia es cero.
M	Valor del parámetro microbiológico por encima del cual el alimento representa un riesgo para la salud.	En la tabla, en caso de <i>E. coli</i> , cualquier muestra con valores sobre $10^3 \cdot$ UFC por gramo es rechazable.

En aquellos casos en que los compradores soliciten análisis de otros patógenos en la fruta, normalmente la tolerancia es igual a la de Salmonella. No debe haber detección en la muestra.

### 4.3. Monitoreo de aguas de proceso

Se refiere al monitoreo de todas las fuentes de agua que estén en contacto con el producto. Todas las aguas utilizadas en el proceso deben ser de calidad potable para lo cual, si son de fuentes distintas al abastecimiento público, deben contener un nivel de desinfectante adecuado para mantenerlas en esa condición. El análisis microbiológico se utiliza solamente para:

- verificar que los niveles de desinfectantes en el agua se encuentran en los parámetros establecidos,
- decidir periodos de recambio de aguas que se recirculen
- detectar anomalías, como mezclas de agua de distinto uso.

Considerando que actualmente el cloro es el desinfectante más utilizado para el agua, es necesario mantener un monitoreo frecuente del cloro libre presente en el agua utilizado en el proceso. Para que el cloro sea efectivo, el agua debe tener su pH controlado (el efecto óptimo del cloro se obtiene a un pH de 6,5 a 7,5).

El análisis de agua, de cualquier origen, debe verificar presencia de Coliformes totales y *E. Coli*.

## 5. Frecuencias de muestreo microbiológico

La frecuencia del muestreo para análisis microbiológico dependerá de varios factores, como por ejemplo, del tamaño de las instalaciones, características del proceso, frecuencia de sanitización, del análisis de los riesgos existentes y también dependerá del historial de resultados de análisis anteriores.

Se recomienda que el muestreo se realice siempre en los mismos puntos para tener una base de información comparativa; sin embargo es recomendable complementar con muestreos realizados en forma aleatoria y registrando la ubicación del punto muestreado.

En términos generales se sugieren las siguientes frecuencias de muestreo:

### 5.1. Monitoreo investigacional

El muestreo investigacional, tal como se ha señalado, está destinado a identificar los puntos mas críticos en relación al riesgo biológico. Por ello es necesario efectuarlo una vez al inicio de la identificación de puntos de riesgo y posteriormente, cuando haya cambios en las líneas, procedimientos, prácticas de lavado, etc. Si no hay cambios, es recomendable renovarlo cada dos años.

### 5.2. Monitoreo ambiental de rutina

#### • Superficies:

En la zona 1: Se sugiere muestrear microorganismos indicadores al menos quincenalmente. Entre las opciones están:

- Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM). Recomendable.
- Coliformes totales, Enterobacterias. Recomendable.
- Análisis de patógenos (*E. coli*, *Listeria* y *Salmonella*). Se deben efectuar en aquellos puntos más propensos a que se inserten estas bacterias, de acuerdo a los peligros determinados en el muestreo investigacional, (cepillos, rodillos de estruje, esponjas, tolvas de caída, estructuras húmedas , etc.) o donde haya presencia de biofilms. Necesario, de acuerdo a los peligros identificados.
- Hongos y levaduras.

En las zonas 2 y 3: Se sugiere muestrear microorganismos patógenos de acuerdo al riesgo evaluado por cada instalación. La frecuencia de monitoreo microbiológico en estas zonas puede ser muy variable y deberá ser mayor donde realmente haya riesgo de contaminar al producto.

- **Manipuladores:** Se sugiere muestrear *E. coli* en las manos. La frecuencia la determina cada instalación pero idealmente se sugiere muestrear al menos cada 2 semanas a un grupo de manipuladores en forma aleatoria. Muestreo de *Staphylococcus aureus* dependerá de los riesgos identificados.

### 5.3. Monitoreo de producto terminado

El monitoreo de producto terminado no posee una frecuencia establecida pues no se busca, a través del análisis microbiano, la verificación del total de la producción. Es sólo un indicador.

La frecuencia de muestreo dependerá de cada planta, basado en un conjunto de características que van desde el tipo y características del producto hasta las condiciones de sanitización y barreras al peligro biológico que existan en las líneas de embalaje.

Se debe complementar la frecuencia de análisis de muestra de fruta con el análisis de rutina de las líneas.

- En caso de detectarse patógenos en las líneas, se debe verificar la ausencia de ellos en la fruta embalada en esos momentos.
- En caso de detectarse patógenos en el producto, se deben analizar las limitaciones para los diferentes mercados según sus legislaciones públicas o estándares privados.

### 5.4. Monitoreo de aguas de proceso

La frecuencia de muestreo del agua de proceso dependerá de la calidad, continuidad y seguridad que nos proporcione la medición de sanitizantes o desinfectantes de agua. Para identificar los momentos de muestreo se recomienda analizar los registros de clarificación de agua y proceder de acuerdo a ellos.

En el caso de las aguas de proceso:

- Se sugiere el análisis de una muestra tomada al inicio de la temporada considerando el punto más cercano a su utilización.
- Al menos una segunda muestra de verificación debe tomarse a mediados de temporada. Ejemplos de puntos de muestreo recomendable son llaves o boquillas de agua del último lavado de la fruta, en el punto más lejano a la clorinación.
- Si en la planta hay más de una fuente de agua, cada fuente se debe muestrear por separado.

En el caso de estanques con recirculación de agua:

- El muestreo para análisis microbiológico del agua se debe efectuar a la salida del circuito de recirculación para establecer la tasa de frecuencia de cambio de agua.

En el caso que el suministro de agua sea de algún servicio de agua potable:

- La legislación chilena solicita efectuar un análisis anual.

## 6. Tamaño de las muestras

### 6.1. Muestra de superficie

No se debe olvidar que el objetivo del muestreo es buscar y eliminar sitios donde puedan encontrarse bacterias, especialmente patógenos o indicadores de contaminación. Por tanto, este muestreo debe ser efectuado en superficies relativamente grandes y en sitios que el muestreo investigacional nos haya mostrado que son de mayor peligro.

- Superficies grandes. Son, por ejemplo, cintas de inspección, tolvas, estanques, mesas de llenado. En general una muestra puede ser como mínimo de 10x10 cm aunque para superficies grandes, lo óptimo es tomar desde 30x30 centímetros.
- En superficies irregulares o pequeñas una alternativa novedosa es enjuagando y torulando la superficie (con suero fisiológico estéril o medio de transporte que puede proveer el laboratorio) y recuperando el líquido de enjuague en un recipiente estéril, para su análisis.
- Para superficies largas (Ej: rodillos) puede ser recomendable repetir la operación de muestreo sobre tres porciones de la misma superficie a lo largo de todo el rodillo.
- Para paredes, mesas y bandas largas se recomienda realizar esta operación en 4 puntos diferentes de la superficie, abarcando una superficie de 250 cm<sup>2</sup> en cada punto para completar una superficie muestreada de 1 m<sup>2</sup>.

La muestra debe tomarse preferentemente con esponja o “pad”, medio con el que es más probable extraer bacterias que puedan estar adheridas. Se debe seguir el esquema de movimiento horizontal, vertical y diagonal en toda la superficie a muestrear (por ej 30x30 cm).

### 6.2. Muestreo de frutas

El tamaño de muestra para frutas frescas se encuentra en el punto 4.2 donde se explica el muestreo relacionado con la legislación chilena.

### 6.3. Momento de muestreo

#### 6.3.1. Monitoreo investigacional y monitoreo de rutina

Para el análisis investigacional y el monitoreo de rutina, el momento de muestreo debe ser efectuado con un mínimo de 4 horas de trabajo de las líneas de embalaje. Es probable que transcurrido este tiempo las bacterias que puedan estar colonizando algunos nichos en los equipos, se esparzan y puedan ser detectadas.

El día de la semana y hora, debe ser rotada entre diferentes turnos incluyendo fines de semana cuando la planta trabaje esos días. El objetivo es verificar que la condición de inocuidad se mantiene en el tiempo.

#### 6.3.2. Monitoreo de sanitización

En el caso del muestreo de sanitización, el momento de muestreo debe ser al término del proceso de lavado y sanitización de las líneas de embalaje. El objetivo es verificar que los métodos y productos utilizados están efectivamente eliminando patógenos y reduciendo la carga microbiana general de los equipos.

#### 6.3.3. Monitoreo de fruta

El muestreo de fruta, para análisis y registro de la empresa, debe efectuarse también al menos después de un tiempo de trabajo de la línea.

# GUÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE PUNTOS DE MUESTREO MICROBIOLÓGICO EN CENTRALES FRUTÍCOLAS



ChileG.A.P.<sup>®</sup>



Comité de Inocuidad de ASOEX. Santiago, marzo 2016.