



## **ANEXO 5**

### **METODOLOGÍAS PARA EL MUESTREO DE SUPERFICIES**

## ANEXO 5 | METODOLOGÍAS PARA EL MUESTREO DE SUPERFICIES

Un programa de monitoreo ambiental sienta las bases para la correcta selección de controles dedicados a la eliminación y reducción de microorganismos, los cuales son considerados exitosos cuando estos se basan en el análisis real de los datos microbiológicos. Para que esto sea posible, es fundamental establecer técnicas de muestreo adecuadas que permiten una valoración fiable y eficiente de las condiciones higiénicas de las superficies.

Si la organización lo desea puede tomar como base la norma "ISO 18593:2018 Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Métodos horizontales para las técnicas de toma de muestras a partir de superficies utilizando placas de contacto e hisopos". Donde se encontrará la descripción de los métodos para la toma de muestras en superficies.

Antes de seleccionar los métodos adecuados de muestreo es importante que se consideren las superficies a muestrear, las cuales, son: superficies inertes y superficies vivas, ya que de esto dependerá en gran medida la eficacia del método seleccionado.

Se consideran superficies vivas a las áreas del cuerpo humano que están en contacto directo o indirecto con los alimentos, equipos o utensilios necesarios para la producción de alimentos.



Las superficies inertes son todos los equipos, utensilios que están en contacto directo o indirecto con los productos o instalaciones que son necesarias para la producción higiénica de alimentos.

En términos generales, se puede decir que el proceso de muestreo se compone de tres pasos fundamentales:



Figura 2; Pasos fundamentales para la toma de muestras

Cada paso debe cumplir con una serie de requerimientos específicos para que sea posible la obtención de resultados reales. Es recomendable que para la etapa del muestreo se consideren los siguientes requerimientos: el objetivo del estudio, material de muestreo y las competencias de los analistas.

En ocasiones las superficies a muestrear pueden contener trazas de productos desinfectantes lo que inhibe o elimina a microorganismos, evitando que se logre el objetivo del estudio, por lo que, pueden utilizarse neutralizantes antes del muestreo o adicionarse al medio de cultivo.

Es necesario mantener sumergidas las esponjas o hisopos en solución neutralizante por lo menos 20 min. (puede ajustarse el tiempo a las características del producto utilizado), siempre cuidando de respetar el mismo tiempo para todos los muestreos, con el fin de obtener resultados estadísticamente comparables, para aumentar la recuperación de microorganismos, es mejor utilizar utensilios (hisopos, esponjas o toallas) humedecidos.

Debido a las características del material de muestreo estos pueden convertirse en reservorios de microorganismos, por lo que, la organización deberá considerar que el analista que opere dichos utensilios conozca las medidas de higiene y seguridad para la manipulación y desecho de estos productos.

Es importante considerar que los métodos de muestreo no realizan una recolección de todos los microorganismos que se encuentran en la superficie que se busca analizar, pero, si la técnica se realiza cumpliendo todos los estándares establecidos se podrán obtener resultados confiables.



Objetivo del estudio



Material de muestreo



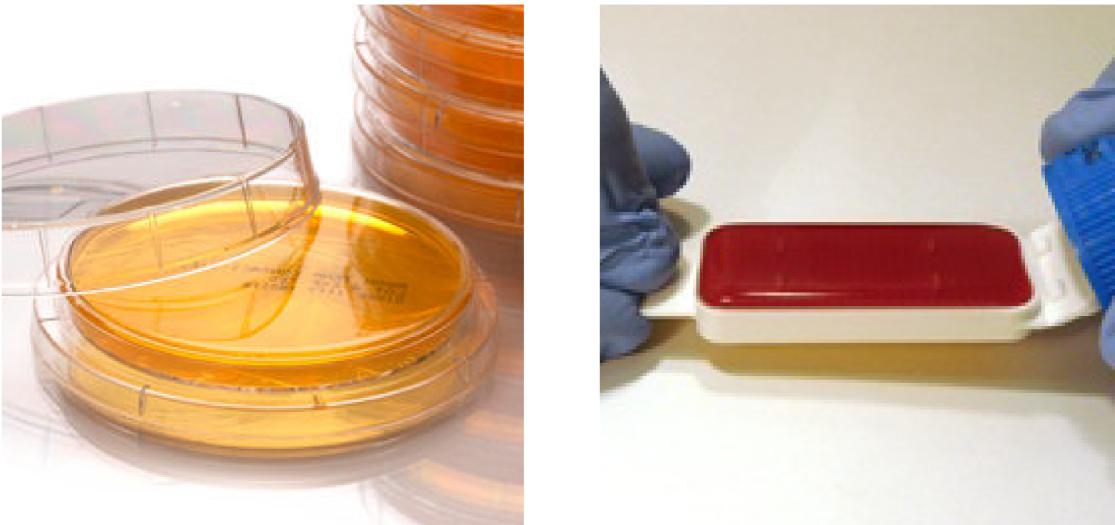
Competencias de los analistas

Figura 3; Factores que influyen en la toma de muestra

Algunos métodos básicos para el muestreo de superficies son:

#### a) Métodos de contacto

Trata de placas con un medio enriquecedor sólido, por lo general estas placas cuentan con una superficie convexa, estas placas son presionadas suavemente durante 10 segundos sobre las superficies que se buscan analizar. Las placas son incubadas a las especificaciones necesarias para cada cultivo para su posterior lectura, los resultados obtenidos son expresados en UFC/cm<sup>2</sup>. Algunas placas que pueden ser utilizados bajo esta metodología son placas RODAC y laminocultivos.



Placas RODAC: es recomendable el uso de estos métodos para el análisis de superficies lisas, no porosas y que presenten un nivel bajo de contaminación, preferentemente que no se esperen recuentos superiores a 100 UFC/cm<sup>2</sup>.

Laminocultivos o paletas de agar: pueden ser utilizados para superficies con recuentos superiores a 100 UFC/cm<sup>2</sup>, se recomienda que el tiempo de contacto con las superficies sea alrededor de 10 s.

Figura 4; Métodos de contacto

#### b) Métodos por arrastre

Estos métodos pueden ser aplicados para superficies regulares e irregulares, desde equipos de producción, utensilios y manos de manipuladores de alimentos, no es importante que para su uso el recuento microbiológico de la superficie a analizar sea menor a 100 UFC/cm<sup>2</sup> a comparación de las placas RODAC, sin embargo, si es necesario que sean muestreadas superficies no menores a 100 cm<sup>2</sup>, para ello, son utilizadas plantillas estériles que permiten la correcta toma de muestra. Algunos ejemplos de estos métodos son:



**Hisopos:** pueden encontrarse hisopos con un medio de enriquecimiento para los microorganismos, existen otras presentaciones, donde el analista deberá preparar el medio de enriquecimiento.

**Toallas:** se recomienda el uso de pinzas o guantes estériles para retirarlas de su empaque original al momento de tomar la muestra, son útiles para muestrear superficies mayores a los 100 cm<sup>2</sup>.

**Esponjas:** estas pueden ser secas o húmedas, con o sin asa.

Figura 5; Métodos por arrastre

Se han llegado a utilizar toallas o esponjas en los desagües para la identificación de microorganismos patógenos como: *Salmonella spp.*, *Listeria spp.* y *Vibrio spp.* En caso de que el área a muestrear se encuentre húmeda, pueden utilizarse utensilios secos, a menos que sean necesarios neutralizadores, esto permitirá mayor recuperación de microorganismos. Es importante considerar que los hisopos, esponjas o toallas son utilizados por su practicidad al muestrear superficies irregulares, pero, la recuperación de microorganismos de la superficie podrá depender de la textura de esta.

#### c) Enjuague

El agua de enjuague de equipos, así como exudados derivados de la producción de alimentos, son elementos importantes para analizar, por lo que para la toma de muestra son utilizados frascos o bolsas estériles que permiten la recolección de estos líquidos, estos utensilios deben ser estériles antes de su uso, cerrar de manera hermética, permitir la rotulación del utensilio y que esta información pueda mantenerse sin modificaciones hasta el final del proceso. El material debe garantizar que la muestra no se contamine o dañe durante el transporte.



Ilustración 1; Bolsas para la recolección de muestras líquidas

#### d) Bioluminiscencia

La tecnología a través de la bioluminiscencia ha sido una prueba práctica y efectiva para la identificación de zonas contaminadas, ya que arroja resultados en tiempos cortos, se trata de equipos que identifican la presencia de Adenosín Trifosfato (ATP) presente en toda materia orgánica, estos equipos utilizan la enzima Luciferina/Luciferasa, que al reaccionar con el ATP produce luz que puede ser medida por el equipo para su análisis.

Generalmente estos equipos cuentan con un software que permite el análisis estadístico de datos para el seguimiento a las tendencias, además están equipados con un hisopo para realizar la recolección de la muestra en una superficie de 100 cm<sup>2</sup>.

Al finalizar la recolección de muestras la organización debe considerar la limpieza y desinfección de la superficie muestreada con el fin de eliminar residuos físicos, o el uso de neutralizantes que eviten se favorezca alguna condición óptima para el desarrollo de microorganismos en la zona muestreada, esto puede realizarse con toallas estériles y solución de alcohol al 70%.



Ilustración 2; Equipo luminómetro



## INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA Y DE REFERENCIA

- Manual de técnicas y procedimientos para la detección de Vibrio cholerae en agua y alimentos. 2018. COFEPRIS.  
<http://documentos.cofepris.gob.mx/archivos/ccayac/grl/Manual%20de%20colera.pdf>
- Manual de toma de muestras de alimentos y bebidas para entidades territoriales de salud. 2015. INVIMA.  
<https://www.invima.gov.co/documents/20143/1402493/29.+Manual+de+Toma+de+Muestras+de+Alimentos+y+Bebidas+para+LAS+ETS.pdf>
- Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas. 2007. Perú.  
[http://www.sanipes.gob.pe/normativas/8\\_RM\\_461\\_2007\\_SUPERFICIES.pdf](http://www.sanipes.gob.pe/normativas/8_RM_461_2007_SUPERFICIES.pdf)