

**ASPECTOS GENERALES**

- La persona encargada de la recogida de muestras debe utilizar bata, gorro y guantes estériles.
- Debe existir una desinfección previa de las manos con jabón germicida o con otro producto que mantenga la esterilidad, aunque se vayan a utilizar guantes para la recogida.

**OBJETIVO DEL MUESTREO**

Establecer el procedimiento a seguir para la toma de las muestras microbiológicas de superficies. Dependiendo del objetivo se tomará la muestra en un momento y/o en otro.

- Verificar la adecuada limpieza y desinfección: la toma de muestra se deberá hacer sobre la superficie seca posteriormente al proceso de limpieza y desinfección.
- Detectar la potencial contaminación cruzada a los alimentos: la toma de muestra se hará con la planta en funcionamiento o justo al acabar, antes de la limpieza y en superficies de contacto directo con el producto, o próximas al mismo.

**TOMA DE MUESTRAS DE SUPERFICIES:****PRECAUCIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA:**

- La persona encargada de recoger la muestra deberá utilizar bata, gorro y guantes estériles.
- Debe existir una desinfección previa de las manos con jabón germicida o con otro producto que mantenga la esterilidad, aunque se vayan a usar guantes para la recogida.
- Para la toma de cada muestra la persona que la recoja se cambiará de guantes, con el fin de no contaminar la siguiente muestra.

**METODOLOGÍA GENERAL DE MUESTREO:**

Se recomienda seguir la Guía ANSES y la ISO 18593. En concreto y con los equipos propuestos la metodología podría ser la siguiente:

Es necesaria la **fricción** vigorosa de la superficie para, en caso de contaminación superficial, recoger los microorganismos que hubiera.

En el caso que se quieran muestrear **indicadores** (mesófilos aerobios, enterobacterias, mohos y levaduras...) se utilizarán preferentemente hisopos, muestreando superficies  $\leq 100 \text{ cm}^2$ . En determinados casos (superficies secas o de las que se espere una baja contaminación microbiológica) se podrán usar placas rodac.

En el caso de muestrear para **patógenos**, el área total debería ser lo más grande posible (entre 1.000 y 3.000  $\text{cm}^2$ ), con el fin de aumentar la probabilidad de detectar el patógeno en cuestión, y se usarán preferentemente gasas, toallitas o esponjas abrasivas por su mayor capacidad de muestreo frente al hisopo, se frotrarán 10 veces en sentido horizontal y 10 veces en el vertical por cada uno de los lados.

- Si se utiliza la esponja abrasiva es conveniente que esté prehumedecida y el método será exactamente el mismo. Lo único que varía es que se trata de un equipo de muestreo menos flexible y con menor superficie de contacto que la toallita y como ventaja presenta mayor capacidad de fricción.

- Sobre el hisopo, su uso puede estar indicado en zonas no accesibles por otro método, pero su fragilidad limita la fricción y por su pequeño tamaño implica una menor superficie de contacto.

**PUNTOS DE MUESTREO**

Elegir en función del objetivo del muestreo, los puntos de potencial contaminación del producto (aunque no estén en contacto con el mismo). Algunos puntos de muestreo: zonas expuestas a contaminación, zonas de almacenamiento, además de cuchillas loncheadoras, cintas transportadoras, mesas, grapas de sujeción, delantales, ganchos, vagonetas, drenajes, paredes, mangos de puertas, equipos de envasado, etc. Toda superficie que esté en contacto con el producto.

Puede haber puntos constantes de muestreo (muestreo en el mismo punto regularmente) por su alta probabilidad de crecimiento de patógenos; y puntos variables. Se recomienda tomar muestras en las proximidades de muestras positivas.

Los microorganismos pueden estar presentes en superficies limpias, aunque es más frecuente en zonas húmedas, sucias y de difícil acceso.

**MATERIAL NECESARIO:**

- Guantes desechables estériles
- Bata
- Gorro
- Alcohol u otro desinfectante
- Plantillas estériles de superficie conocida

Dependiendo de la zona a muestrear se usará el material más adecuado:

- Toallita o gasa: para zonas amplias y de fácil acceso.
- Esponja abrasiva: para zonas amplias (>100 cm<sup>2</sup> y /o investigación de patógenos).
- Hisopo: para localizaciones difíciles a las que no se puede acceder mediante otros equipos de muestreo. Vienen en la rosca de un tubo de plástico hermético y están estériles.

**TIPOS DE TOMA DE MUESTRA DE SUPERFICIES:**

**Método no destructivo:** para los puntos anteriormente descritos. Frotar toda la superficie de muestreo con fuerte presión.

- Toallita o gasa: contactar por ambos lados con la superficie, 10 veces en sentido horizontal y 10 veces en vertical.
- Esponja abrasiva: contactar por ambos lados con la superficie, frotar con fuerza con movimientos en zigzag en dos direcciones perpendiculares.
- Hisopo: usar una plantilla esterilizada (autoclavada, o desinfectar con alcohol u otro desinfectante) para delimitar una superficie de 20 o 100 cm<sup>2</sup>. Poner la plantilla sobre la superficie a muestrear y usar un hisopo mezclando movimientos de rotación-traslación, 10 veces de arriba a abajo y 10 de derecha a izquierda para tomar la muestra.

\*En caso de muestrear superficies húmedas, el hisopo/gasa/esponja estará preferentemente seco.

\*En caso de muestrear superficies secas, el hisopo/gasa/esponja estará humedecido con agua estéril, agua de peptona tamponada, o medio con neutralizantes de detergentes y desinfectantes (ej. caldo Letheen) si hay sospecha de que queden restos de los mismos.

Después de recoger la muestra, introducir la toallita o esponja en bolsa estéril (en caso de hisopo en su propio tubo), cerrarla e identificarla; y frotar la zona muestreada con un paño con alcohol.

**Método destructivo:** para canales de carne.

Cortar 5 tiras de carne de la superficie de la canal, obteniendo una superficie total de aproximadamente 20 cm<sup>2</sup>. Meter la muestra en recipiente estéril con agua peptonada tamponada.

**CONSERVACIÓN Y ENVÍO:**

- Una vez tomada la muestra,
- Identificarla adecuadamente: anotar lugar, persona y hora de recogida.
- Mantenerla en refrigeración (1-8°C) hasta su envío a CNTA, que se hará lo más rápidamente posible. Las muestras se transportarán refrigeradas en un envase isoterma. El análisis de las muestras se realizará lo más rápido posible y nunca deben transcurrir más de 24-36 h. desde la toma de la misma. La hora de la toma de muestras se refleja en el acta de toma de muestras y en la ficha del laboratorio aparecerán tanto la hora de recepción como la del comienzo del análisis
- Realizar la Solicitud de Análisis: por escrito o preferentemente on-line (CNTA pone a su disposición en su web la SOLICITUD ON-LINE para realizar dicha solicitud)
- Enviar la muestra en un paquete adecuado, mediante transporte refrigerado o en caja aislante con acumuladores de frío, de modo que lleguen a CNTA por debajo de 10°C. , de este modo se evita el deterioro de las muestras durante el transporte.

**- DIRECCIÓN:****CNTA****-DEPARTAMENTO DE BIOENSAYOS (MICROBIOLOGÍA)****Ctra. NA-134 Km 53****31570 San Adrián (Navarra)****Tel: 948 67 01 59****RECOMENDACIONES:**

En el control de *Listeria monocytogenes*, se recomienda solicitar el análisis de *Listeria* spp. ya que la detección de cepas no patógenas de *Listeria* indican que se han dado las condiciones ecológicas para que *Listeria monocytogenes* estuviera presente en caso que hubiera llegado a la línea.