



INFORME FINAL PROYECTO

OBTENCION DE PARAMETROS TECNICOS RELACIONADOS CON LA HIGIENE ALIMENTARIA Y SU EFECTO EN LA INDUSTRIA HORTOFRUTICOLA DE EXPORTACION CHILENA



Junio 2000

Indice

I.- Antecedentes Generales	1
II.- Resumen Ejecutivo	2
III.- Texto Principal	3
1.- Resumen propuesta original	3
2.- Cumplimiento de los objetivos del proyecto	4
3.- Aspecto metodológicos del proyecto	27
4.- Tareas Ejecutadas	42
5.- Problemas enfrentados	49
6.- Calendario de ejecución	50
7.- Difusión de los resultados obtenidos	54
8.- Conclusiones y recomendaciones	63
9.- Anexos	67
Anexo 1: Detalle Métodos Rápidos	
Anexo 2: Programas de Seminarios Realizados	
Anexo 3: Presentaciones Realizadas	
10.- Bibliografía	

I. ANTECEDENTES GENERALES

<p>Nombre del Proyecto</p>	<p>“Obtención de Parámetros Técnicos Relacionados con la Higiene Alimentaria y su Efecto en la Industria Hortofrutícola de Exportación Chilena”</p> <p>Código : V98-0-A-009</p> <p>Regiones: 3, 4, 5, 6, 7, 8, Metropolitana</p>
<p>Fecha de aprobación</p>	<p>5 Mayo 1998</p>
<p>Entidad Ejecutora</p>	<p>Asociación de Exportadores de Chile A.G.</p>
<p>Coordinador del Proyecto</p>	<p>Miguel Canala – Echeverría</p>
<p>Costo total</p>	<p>\$ 94.608.711</p>
<p>Aporte del FIA</p>	<p>\$ 66.225.519</p> <p>70% del total</p>
<p>Período de ejecución</p>	<p>Junio 1998 a 30 junio 2000</p>

II. RESUMEN EJECUTIVO

El objetivo de este proyecto fue efectuar un diagnóstico del nivel de higiene en la industria exportadora de fruta fresca de exportación y proponer acciones con base científica y cuantitativa, para asegurar la exportación de fruta sana e inocua, acordes con las nuevas tendencias sobre la materia.

Para cumplir con la primera parte de estos objetivos, se determinó la contaminación por coliformes totales, *Escherichia coli* y *Salmonella sp.* en frutas, manipuladores y aguas de proceso, a fin de visualizar los puntos críticos del proceso de embalaje.

Para ello durante el período de julio de 1998 a junio de 1999 se tomaron entre la tercera y novena región del país, 5.731 muestras de fruta, agua y manipuladores. Las especies evaluadas fueron arándanos, ciruelas, cerezas, damascos, duraznos, espárragos, frambuesas, kiwis, manzanas, nectarines, peras y uva. Para efectuar las evaluaciones se utilizaron métodos rápidos de análisis microbiológico

En los resultados obtenidos se determinó que de las muestras de fruta, (que correspondieron al 67.7 % del total), el 52.1 % estaba contaminado con coliformes totales, el 3 % tenía *Escherichia coli* y ninguna de ellas estaba contaminada con *Salmonella sp.* En las muestras tomadas a manipuladores (19.8% del total), el 31.6 % estaba contaminada con coliformes totales, el 3% con *Escherichia coli* y 0% con *Salmonella sp.* En las muestras de aguas (12.7% del total) se obtuvo los mayores niveles de contaminación. El 14% del total de muestras de agua presentó *Escherichia coli*, el 57.3 % estaba contaminado con coliformes totales y el 0% con *Salmonella sp.*

A medida que se desarrollaba el proyecto, las empresas participantes fueron tomando conciencia de la importancia del tema, efectuando algunas mejoras relacionadas con la higiene en sus instalaciones e implementando nuevas medidas de control sobre el tema. Como fruto de ello, se observó cambios en los niveles de contaminación detectados entre una temporada y otra.

Para cumplir con la segunda parte de los objetivos, se emitió la guía de "Buenas Prácticas Agrícolas para el Sector Frutícola de Exportación" donde se incorporan cada uno de aquellos aspectos relevantes en el tema, tanto para el manejo en huerto como en centros de embalaje. Se incluyen además los aspectos de la legislación nacional e internacional relacionados con Higiene e Inocuidad Alimentaria.

Posteriormente, dentro del marco de difusión y capacitación orientado a crear conciencia en el sector exportador, se llevaron a cabo 18 charlas y seminarios en diferentes Regiones del país. En ellos, se informó de los resultados parciales obtenidos en el proyecto tanto a nivel nacional como Regional, se presentaron recomendaciones para identificar sus puntos de riesgo y las prácticas de higiene apropiadas. En estos seminarios, se entregó la guía "Buenas Prácticas Agrícolas para el Sector Frutícola de Exportación".

III. TEXTO PRINCIPAL

1. Resumen propuesta original

La industria nacional de productos frescos se enfrenta cada día más a un conjunto de exigencias en el área de higiene alimentaria. Diversos países están adoptando nuevos estándares que pueden llegar a ser barreras no arancelarias, difíciles de superar si la industria chilena no cambia sus procesos de operación para que, además de satisfacer aspectos cuarentenarios y las tolerancias de residuos químicos, deba mantener en sus productos prácticas de seguridad higiénica.

Es así como en la temporada 1999 en Estados Unidos, se tomaron muestras de los siguientes productos hortícolas importados: melones, frutillas, lechugas, cebollas, cilantro, perejil, apio y brócoli. A cada una de estas muestras se les determinó los niveles de contaminación con: coliformes totales y *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O 157:H7, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y recuento de aerobios mesófilos totales.

Por esta razón, el objetivo de este proyecto era efectuar un diagnóstico acerca de la presencia y cuantificación de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. en las principales frutas frescas de exportación, a través de una prospección. En aquellos casos en que se detectó contaminación se evaluó las posibles fuentes, de modo de orientar las diversas acciones a implementar.

Como parte del proyecto, personal del área de control de calidad de 21 empresas del sector fueron capacitados en las técnicas de muestreo microbiológico. Se dictaron 9 talleres impartidos en las ciudades de Copiapo, Coquimbo, San Felipe, Santiago, Rancagua y Curico. En total fueron capacitadas 98 representantes de 22 exportadoras de frutas.

Asimismo se evaluaron métodos rápidos de análisis microbiológico para la detección de los microorganismos antes mencionados en la superficie de la fruta, manipuladores y en aguas. A fin de transferirlos a los productores y exportadores interesados en implementar sus propios sistemas de evaluación de higiene e inocuidad alimentaria, se efectuaron 2 talleres de transferencia a los cuales asistieron 26 representantes de 9 empresas del sector.

Finalmente, en función de los resultados obtenidos se desarrolló material audiovisual para capacitar al sector productor y exportador, en los cambios necesarios de introducir, para mejorar las prácticas relacionadas con seguridad e inocuidad alimentaria. Para ello se llevaron a cabo 9 seminarios (Santiago (2), Copiapo, La Serena, Ovalle, San Felipe, Quillota, Rancagua y Curicó), en los cuales se presentaron los resultados parciales obtenidos en el proyecto tanto a nivel nacional como Regional y se les entregó la "Guía de Buenas Prácticas Agrícolas para el Sector Frutícola de Exportación". A estos seminarios asistieron 639 personas.

Es importante destacar que en estos seminarios se incluyó la presencia del sector público, a través de exposiciones efectuadas por parte de los Sres. Seremi de Agricultura de la Región, Servicio Agrícola y Ganadero y Servicio de Salud del Medio Ambiente.

Los impactos logrados en este proyecto son:

- Hoy en día se cuenta con un diagnóstico del grado de seguridad actual de la fruta y hortalizas de exportación (espárragos).
- El proyecto ha contribuido a difundir ampliamente en la industria frutícola nacional, el concepto de Inocuidad e Higiene Alimentaria y la necesidad de aplicar las Buenas Prácticas Agrícolas.
- Se han identificado los puntos de riesgo de inocuidad alimentaria en las líneas de embalaje, lo cual permite tomar medidas de prevención.
- Se ha logrado crear conciencia en el personal de las exportadoras de fruta, sobre la importancia de utilizar buenas prácticas de higiene, tanto sobre el producto final que ellos manipulan, así como en aquellos aspectos que les permiten mejorar su calidad de vida.
- Las empresas han establecido cambios en su infraestructura, orientados a mejorar sus aspectos sanitarios y a dar cumplimiento a la legislación sanitaria vigente en el país. En concreto, esto condujo a que entre una temporada y otra se obtuvo una mejoría en el nivel de contaminación con coliformes totales y *Escherichia coli* en la fruta, manipuladores y aguas utilizadas en los procesos.
- Las empresas cuentan con personal capacitado para efectuar sus propios sistemas de control preventivo, utilizando las metodologías analíticas desarrolladas en este proyecto
- Es posible demostrar a los clientes u organismos interesados, que la fruta chilena es inocua y cumple con los estándares sanitarios internacionales.

2. Cumplimiento de los objetivos del proyecto

- 2.1. Prospección nacional de contaminación microbiológica en muestras de frutas, manipuladores, aguas y superficies

**TABLA N°1
RESUMEN DE DATOS**

ITEM	Cantidad	Porcentaje
Número total de muestras	5.731	100,0

**TABLA N°2
ANALISIS EFECTUADOS**

ITEM	E.coli	Colif.totales	Salmonella *
Fruta	Si	Si	Si
Agua	Si	Si	Si
Manipuladores	Si	Si	No
Superficies	Si	Si	No

* - Sólo cuando se detectó E.coli

**TABLA N° 3
DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS**

ITEM	Cantidad	Porcentaje del proyecto	Porcentaje Real
Muestras de fruta	3.878	75,0	67,7
Muestras de agua	728	15,0	12,7
Muestras de manipuladores	1.080	10,0	18,8
Muestras de superficie	45	0,0	0,8
Total de Muestras	5.731	100	100

Figura N° 1- Distribución de muestras

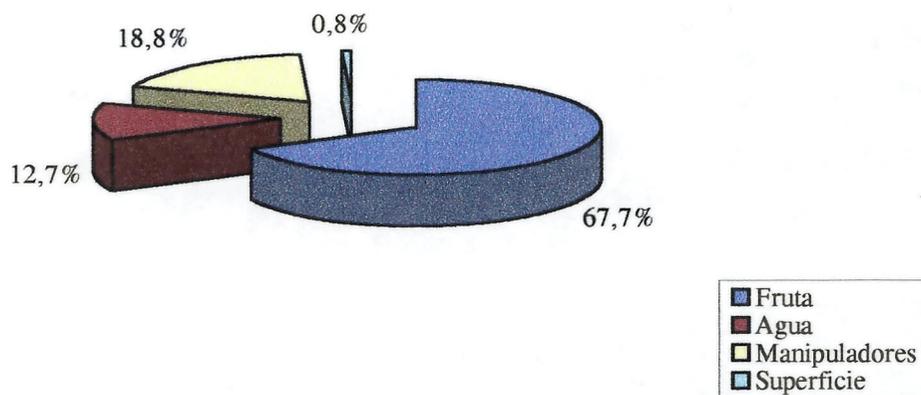


TABLA N°4
Muestreo de frutas por región

	III Región	IV Región	V Región	R. M.	VI Región	VII Región	VIII Región	IX Región	TOTAL
Arándanos	-	-	-	7	15	-	5	55	82
Cerezas	-	-	-	-	105	54	-	-	159
Ciruelas	-	-	47	125	50	15	-	-	237
Damascos	-	-	20	78	10	-	-	-	80
Duraznos	-	-	19	66	15	-	-	-	100
Espárragos	-	-	-	191	-	96	54	-	341
Frambuesas	-	-	10	33	-	15	20	30	108
Kiwis	-	-	65	239	107	60	-	-	471
Manzanas	-	-	-	5	370	522	-	-	897
Nectarines	-	-	55	101	54	-	-	-	210
Peras	-	-	40	127	171	65	-	-	403
Uva	92	84	256	224	119	15	-	-	790
Total	92	84	512	1.196	1.016	842	79	85	3.878

Figura N°2
Muestreo por especie

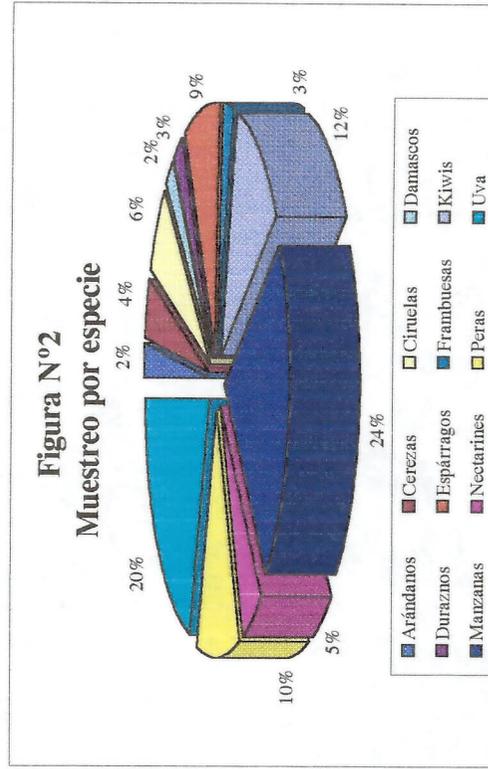


Figura N°3
Muestreros por región

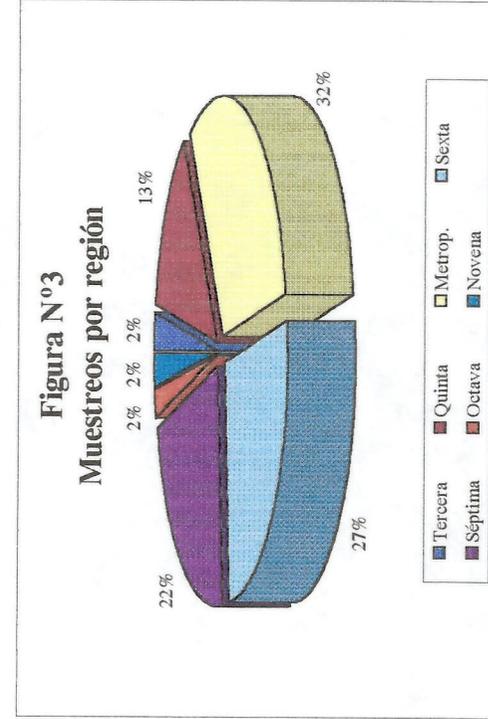


TABLA N° 5

Muestreo Manipuladores, Aguas y Superficies / Región
(período julio 1998 a junio 1999)

	III Región	IV Región	V Región	R.M.	VI Región	VII Región	VIII Región	IX Región	Total
Agua	8	0	36	176	268	226	14	0	728
Superficies	0	0	0	11	13	21	0	0	45
Manipulador	42	25	175	333	241	222	16	26	1.080
Total	50	25	211	520	522	469	30	26	1.853

Figura N°4
DISTRIBUCION MUESTRAS
AGUAS POR REGIONES

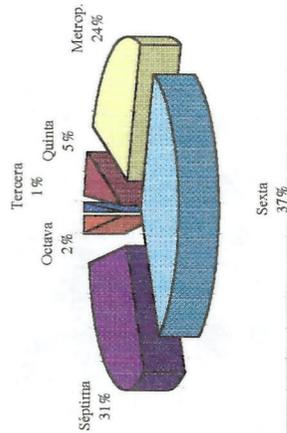


Figura N°5
DISTRIBUCIÓN MUESTRAS DE
MANIPULADORES POR
REGIONES

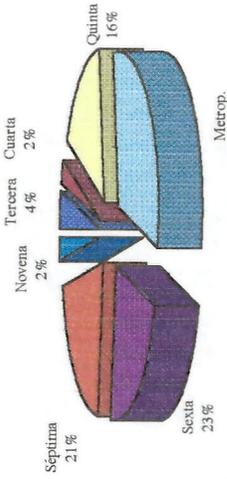
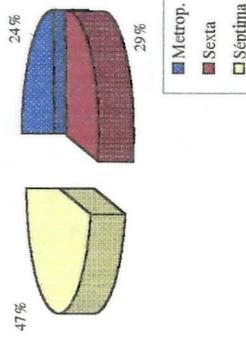


Figura N°6
DISTRIBUCION DE MUESTRAS
DE SUPERFICIES POR
REGIONES



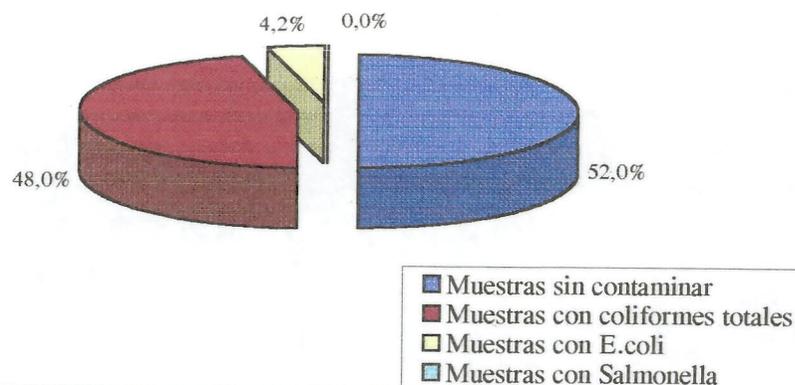
**TABLA N° 6
RESUMEN DE RESULTADOS**

ITEM	Cantidad	Porcentaje
Número total de muestras	5.731	100,0
Muestras sin contaminar	2.982	52,0
Muestras contaminadas	2.749	48,0

**TABLA N° 7
DESGLOSE DE CONTAMINACION**

ITEM	Cantidad	Porcentaje
Muestras contaminadas con coliformes totales	2.749	48,0
Muestras contaminadas con <u>E.coli</u>	242	4,2
Muestras contaminadas con Salmonella	0	0,0

**Figura N°7
Distribución de muestras contaminadas
(Fruta, Aguas, Manipuladores, Superficies)**



Las muestras contaminadas con E.coli, también lo estaban con coliformes totales

TABLA N° 8
RESUMEN DE CONTAMINACION

ITEM	Con coliformes totales	Con Escherichia coli
Número total de muestras de frutas contaminadas	1.979	110
Número total de muestras de manipuladores contaminadas	341	30
Número total de muestras de agua contaminadas	417	102
Número total de muestras de superficie contaminadas	12	0
Total	2.749	242

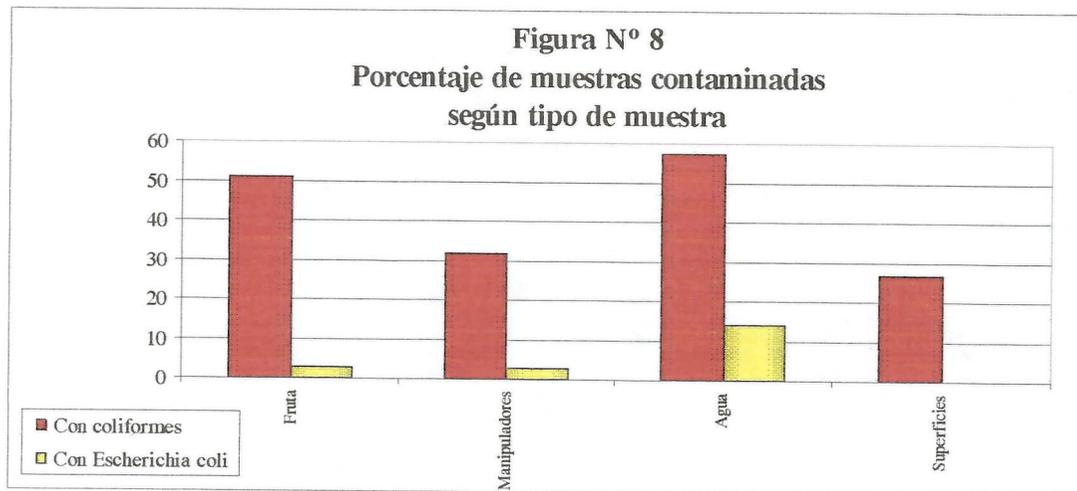


TABLA N° 9
Muestras de Fruta Contaminadas por Especie

Especie	Número Total de Muestras	Coliformes Totales		Escherichia coli	
		Muestras c/recuento	Valor promedio ufc/gr	Muestras c/recuento	Valor promedio ufc/gr
Arándanos	82	20	11	0	-
Círuelas	237	143	14	20	33
Cerezas	159	128	15	6	3
Damascos	80	9	3	0	-
Duraznos	100	97	46	5	2
Espárragos	341	246	32	23	13
Frambuesas	108	22	5	0	-
Kiwis	471	219	21	22	15
Manzanas	897	565	29	8	40
Nectarines	210	175	14	18	22
Peras	403	336	28	15	2
Uva	790	62	7	1	3
Total	3.878	2.022		118	

u.f.c. Unidades formadoras de colonias

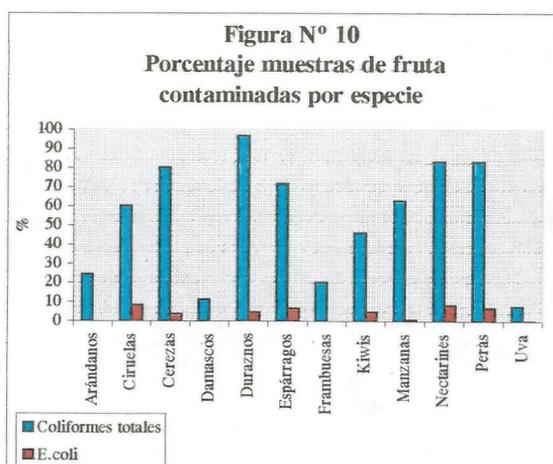
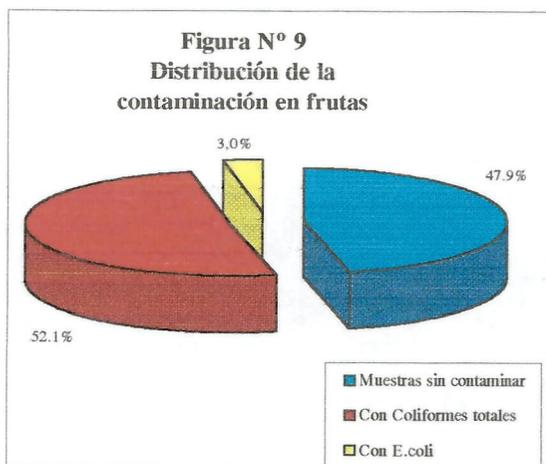


TABLA N° 10
Distribución de muestras contaminadas año 1998 y año 1999

	Año 1998			Año 1999			Total
	Con coliformes 1998	Con E.coli 1998	Sub Total 1998	Con coliformes 1999	Con E.coli 1999	Sub Total 1999	
Fruta	1.291	105	2.300	688	5	1.578	3.878
Aguas	200	83	390	217	19	338	728
Manipuladores	189	25	533	152	5	547	1.080
Superficies	-	-	0	12	0	45	45
Total	1.680	213	3.223	1.069	29	2.508	5.731

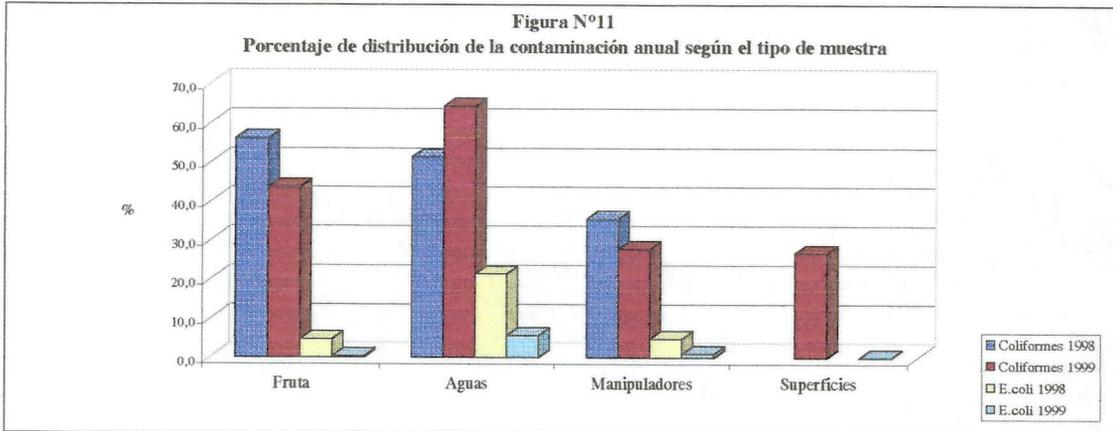


TABLA N° 11
PORCENTAJE DE MUESTRAS DE FRUTA CON COLIFORMES TOTALES POR ESPECIE

	1998			1999		
	< 10 ufc/gr	Entre 10 y 100 ufc/gr	> 100 ufc/gr	< 10 ufc/gr	Entre 10 y 100 ufc/gr	> 100 ufc/gr
Arándanos	30	0	0	14	10	0
Cerezas	26	53	1			
Ciruelas	39	27	0	37	19	0
Damascos	8	0	0			
Duraznos	32	47	18	40	58	0
Espárragos	42	24	6			
Frambuesas	7	4	0	16	0	0
Kiwis	36	25	3	6	4	0
Manzanas	27	33	10	30	27	0
Nectarines	29	53	0	50	33	1
Peras	30	38	6	40	43	1
Uva	3	0	0	10	3	0

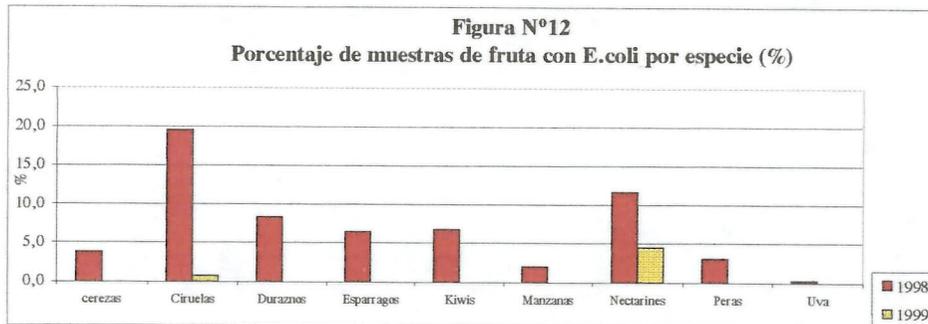


TABLA N° 12
Muestras contaminadas en Manipuladores y Superficies

Especie	Número Total de Muestras	Coliformes Totales		Escherichia coli	
		Muestras c/recuento	Valor promedio	Muestras c/recuento	Valor promedio
Manipuladores	1.080	341	1.1×10^3 ufc/5ml	30	115 ufc/5 ml
Superficies	45	12	108 ufc/100 cm ²	0	0 ufc/100 cm ²
Total	1.125	353		30	

Figura N° 13
Distribución de contaminación en manipuladores

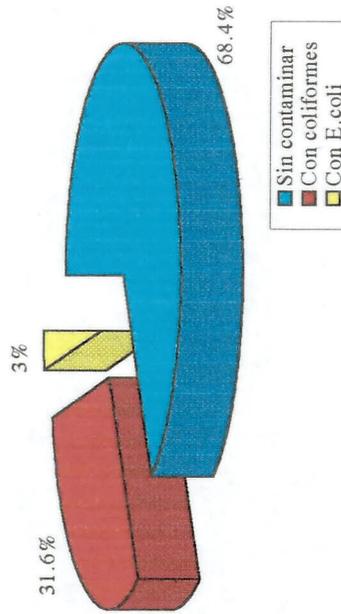


Figura N° 14
Distribución de contaminación en superficies

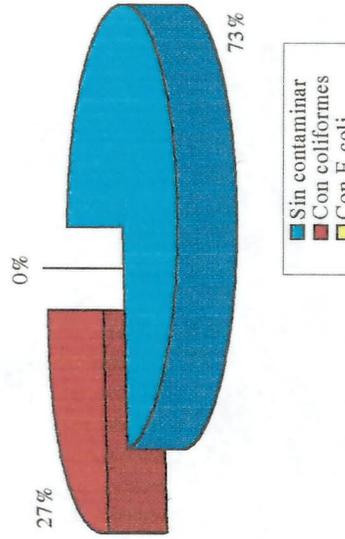


TABLA N° 13
PORCENTAJE DE MUESTRAS DE MANIPULADORES CON
COLIFORMES TOTALES POR ESPECIE

	1998			1999		
	< 10 ufc/gr	Entre 10 y 100 ufc/gr	> 100 ufc/gr	< 10 ufc/gr	Entre 10 y 100 ufc/gr	> 100 ufc/gr
Arándanos	0	0	0	0	17	7
Cerezas	10	17	13			
Ciruelas	17	17	22	8	24	16
Damascos	0	2	0			
Duraznos	16	28	16	0	56	25
Esparragos	5	29	29			
Frambuesas	7	0	0	0	9	0
Kiwis	2	17	5	0	8	4
Manzanas	7	11	9	0	16	4
Nectarines	15	11	19	10	32	26
Peras	6	13	23	4	28	24
Uva	4	4	1	2	1	3

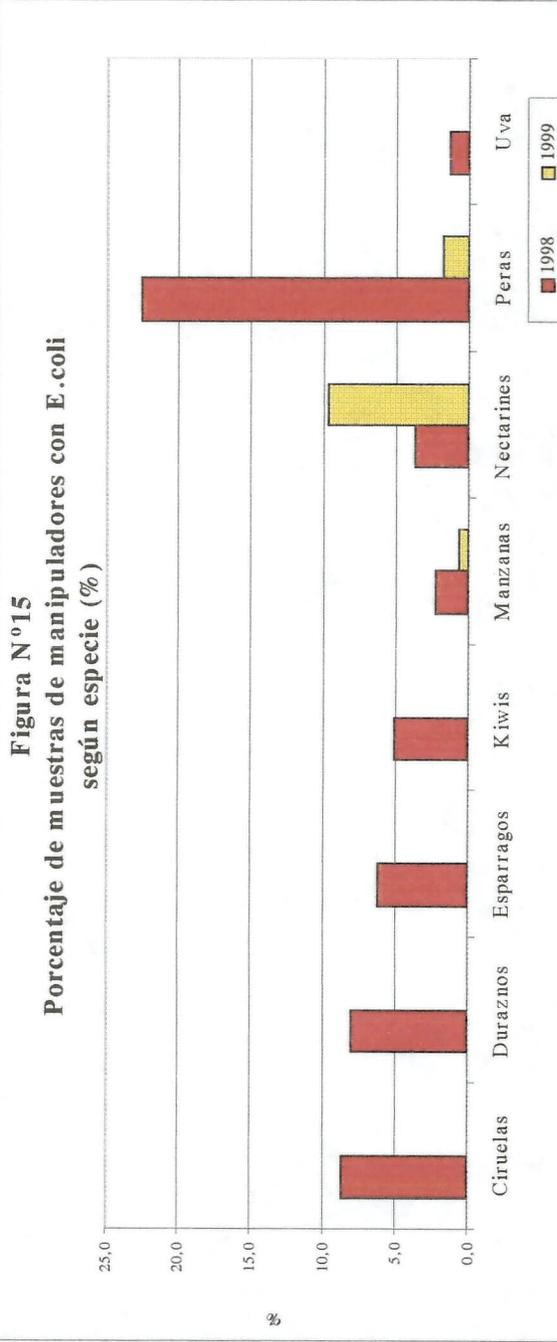


TABLA N° 14
Muestras de aguas contaminadas según procedencia

Especie	Número Total de muestras	Coliformes Totales		Escherichia coli	
		Muestras c/recuento	Valor promedio	Muestras c/recuento	Valor promedio
Acequia	4	4	2.4×10^2 ufc/100 ml	4	1.7×10^2 ufc/100 ml
Aspersiones	5	5	Incontables ufc/100 ml	4	Incontables ufc/100 ml
Tranque de regadío	1	1	Incontables ufc/100 ml	1	Incontables ufc/100 ml
Pozo de abastecimiento de agua	50	26	3.1×10^2 ufc/100 ml	9	1.1×10^2 ufc/100 ml
Pozo de vaciado	168	93	3.6×10^3 ufc/100 ml	20	2.8×10^3 ufc/100 ml
Agua potable	8	4	76 ufc/100 ml	0	0 ufc/100 ml
Ducha lavado	280	185	5.4×10^2 ufc/100 ml	47	1.8×10^2 ufc/100 ml
Hidrogenfriador	48	10	1.8×10^2 ufc/100 ml	1	8 ufc/100 ml
Ducha con DPA	9	8	Incontables ufc/100 ml	6	Incontables ufc/100 ml
Cera	85	31	5.8×10^5 ufc/100 ml	3	52 ufc/100 ml
Fungicidas	70	50	3.9×10^5 NMP/100 ml	7	1.4×10^4 NMP/100 ml
Total	728	417		102	

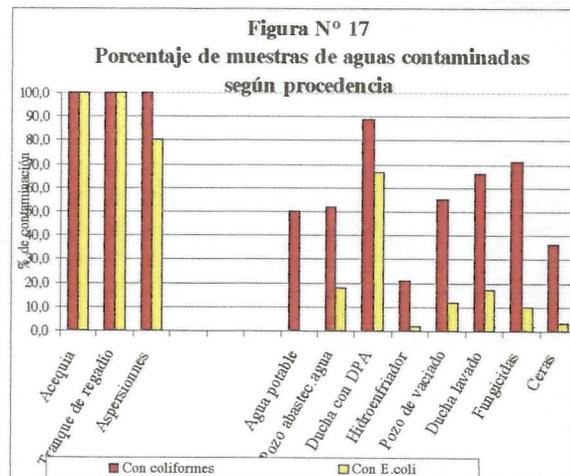
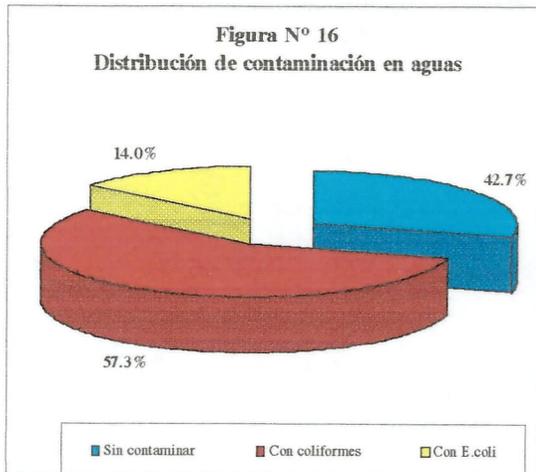


TABLA Nº 15
PORCENTAJE DE MUESTRAS DE AGUA
CON COLIFORMES TOTALES

	1998	1999
AGUAS EN EL HUERTO	> 100 ufc/100 ml	> 100 ufc/100 ml
Acequia	100	
Tranque de regadío	100	
Aspersiones	100	
AGUAS DE PROCESO		
Pozo de abastecimiento	19	0
Estanque DPA	100	100
Hidroenfriador	14	14
Pozo de vaciado	36	44
Ducha de lavado	38	24
Boquilla Fungicida	15	54
Boquilla cera	8	19

PORCENTAJE MUESTRAS AGUAS CON E.COLI SEGÚN PROCEDENCIA (%)

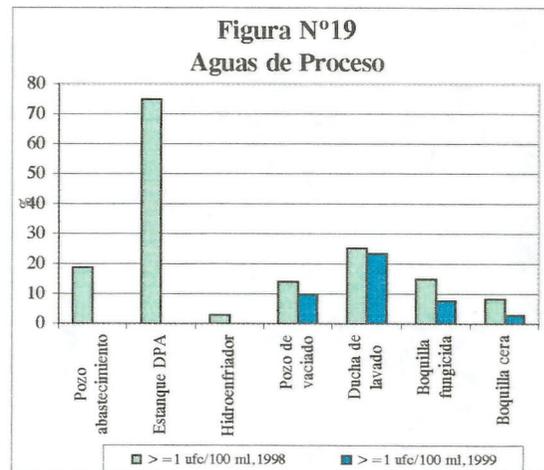
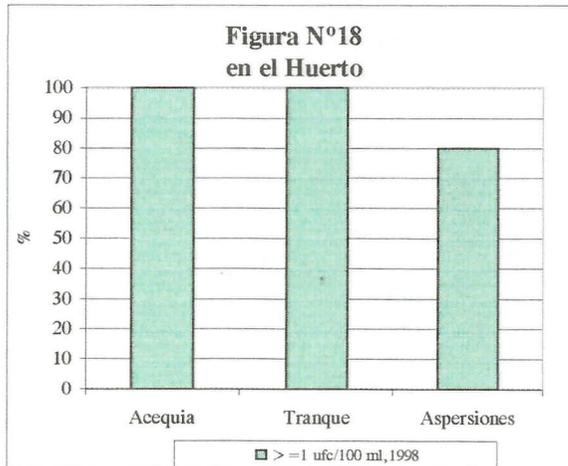
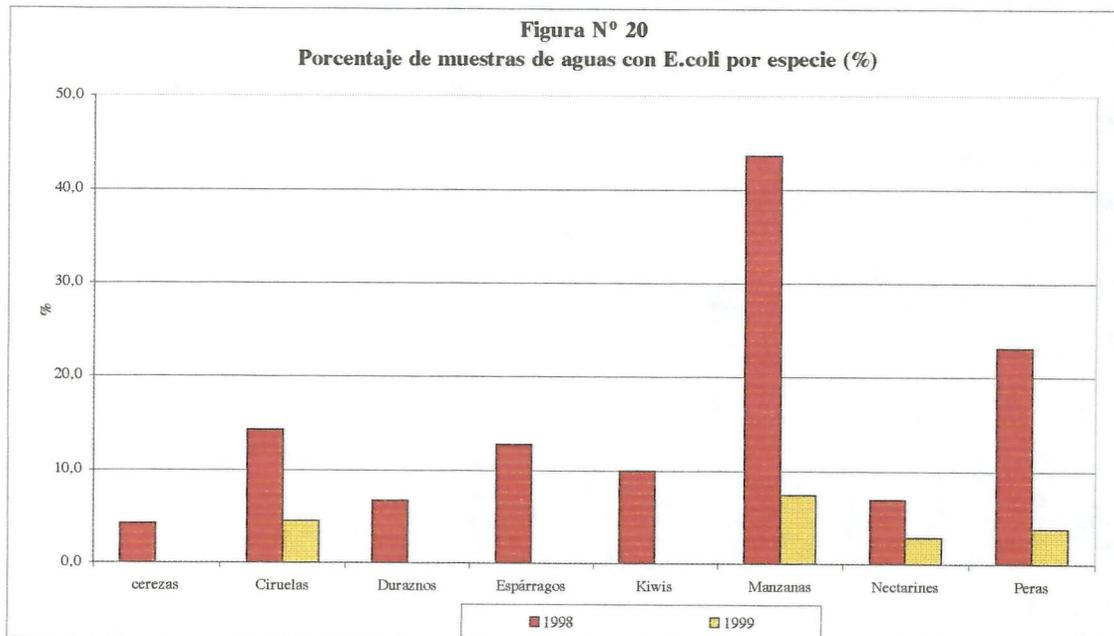


TABLA N° 16
PORCENTAJE DE MUESTRAS DE AGUA CON COLIFORMES TOTALES POR ESPECIE

	1998			1999		
	< 10 ufc/gr	Entre 10 y 100 ufc/gr	> 100 ufc/gr	< 10 ufc/gr	Entre 10 y 100 ufc/gr	> 100 ufc/gr
Cerezas	8	0	27			
Ciruelas	0	46	29	29	27	22
Duraznos	0	40	33	40	27	20
Espárragos	6	0	30			
Kiwis	0	0	55	0	0	100
Manzanas	6	18	48	11	9	32
Nectarines	14	41	17	34	20	23
Peras	10	31	33	23	21	38



2.1.2- VISITAS A PLANTAS

TABLA N° 17
DETALLE PROSECCION MICROBIOLÓGICA EN PACKING
VISITA N° 1- REGIÓN METROPOLITANA
 (Packing central, mes Enero, proceso carozos)

Lugar de muestreo	N° de muestras	Recuento coliformes totales	Recuento E.coli	Observaciones
FRUTA				
Fruta de huerto	5	0	0	Antes de ingresar al hidrogenfriador
Fruta bins antes proceso	5	0	0	Fruta ya hidrogenfriada
Fruta embalada	5	43	0	-
MANIPULADORES				
Seleccionadora	1	72	0	-
Embaladora	1	1	0	-
AGUAS				
Agua general planta	1	2	0	-
Hidrogenfriador	1	0	0	Agua cambiada recientemente
Ducha de lavado	1	0	0	Operando
Cera +fungicida	1	1.600	0	-
SUPERFICIES				
Cinta de alimentación	1	53	0	-
Rodillo chascón pozo vaciado	1	2	0	-
Rodillo mesa selección	1	105	0	-
Capachos	1	6	0	-
Cinta salida capachos	1	0	0	-
Cuello	1	33	0	-
Tombola	1	22	0	-

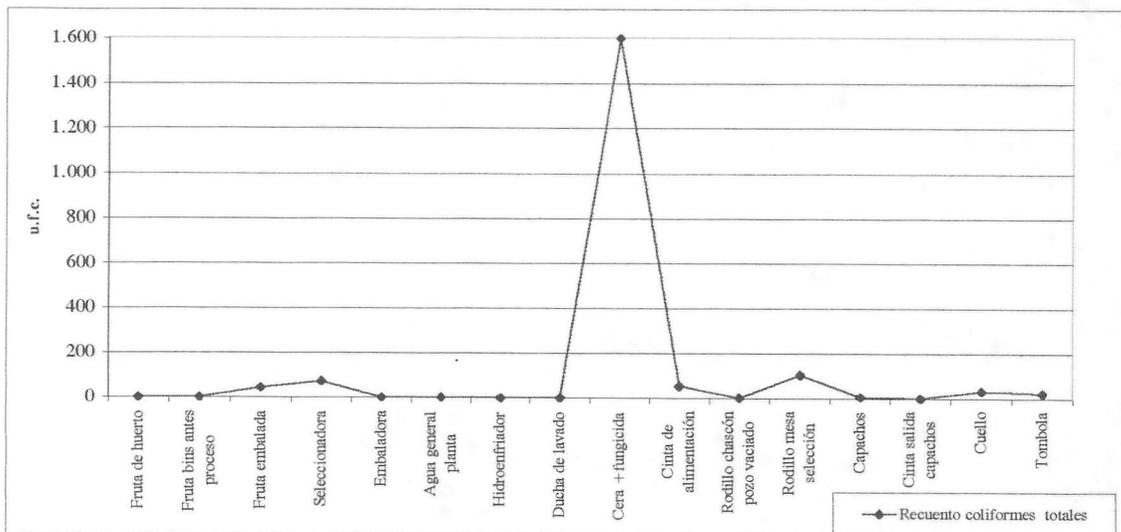


TABLA N° 18
DETALLE PROSPECCION MICROBIOLÓGICA EN PACKING
VISITA N° 2- SEXTA REGION
(Packing central, mes Enero, proceso carozos)

Lugar de muestreo	N° de muestras	Recuento coliformes totales	Recuento E.coli	Observaciones
FRUTA				
Fruta bins a proceso	5	0	0	Fruta ya hidrofriada
Fruta embalada	5	1	0	-
MANIPULADOR				
Seleccionadora	1	1	0	Usan uniforme y guantes
Embaladora	1	0	0	Usan uniforme y guantes
AGUAS				
Agua de pozo sin clorar	1	2		-
Agua general planta	1	1	0	Agua clorada, 10 ppm
Hidrofriador	1	0	0	Agua limpia, 140 ppm, cambio diario
Ducha de lavado	2	5	0	Operando, agua clorada, 66 ppm
Cera + fungicida línea #1	1	3.000.000	0	Operando
Cera + fungicida línea #3	1	1.600.000	0	Operando
SUPERFICIES				
Rodillo mesa selección	1	0	0	Limpio
Tómbola	1	0	0	Ligeramente sucia

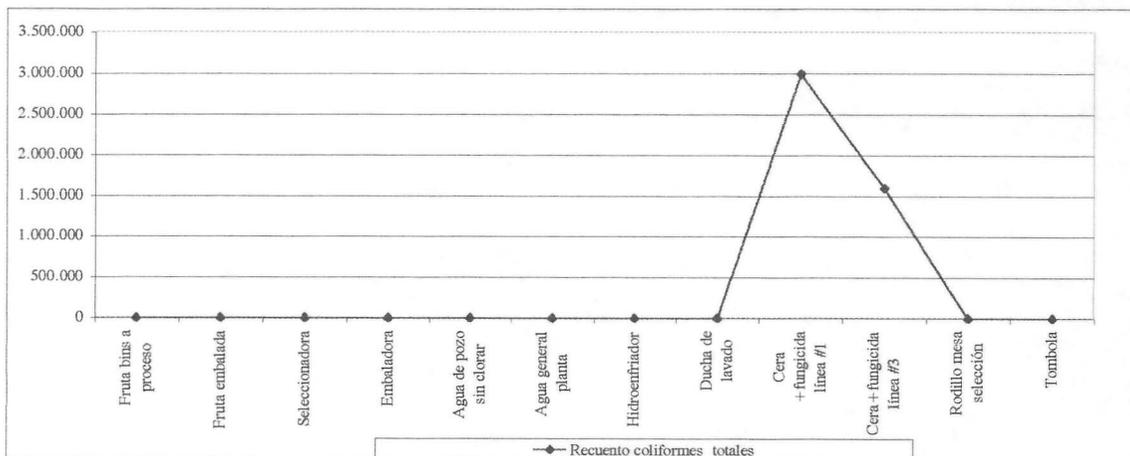


TABLA N° 19
DETALLE PROSPECCION MICROBIOLÓGICA EN PACKING
VISITA N° 3- REGION METROPOLITANA
(Packing central, mes Marzo, proceso peras)

Lugar de muestreo	N° de muestras	Recuento coliformes totales	Recuento E.coli	Observaciones
FRUTA				
Fruta de bins a proceso	5	0	0	-
Fruta embalada	5	34	0	-
MANIPULADOR				
Manipuladoras de selección	2	0	0	Una c/guantes sucios, la otra s/guantes
Embaladora	2	0	0	-
AGUA				
Agua de pozo de vaciado	1	350	0	Sucia a la vista
Agua duchas de lavado	1	3	0	Duchas funcionando

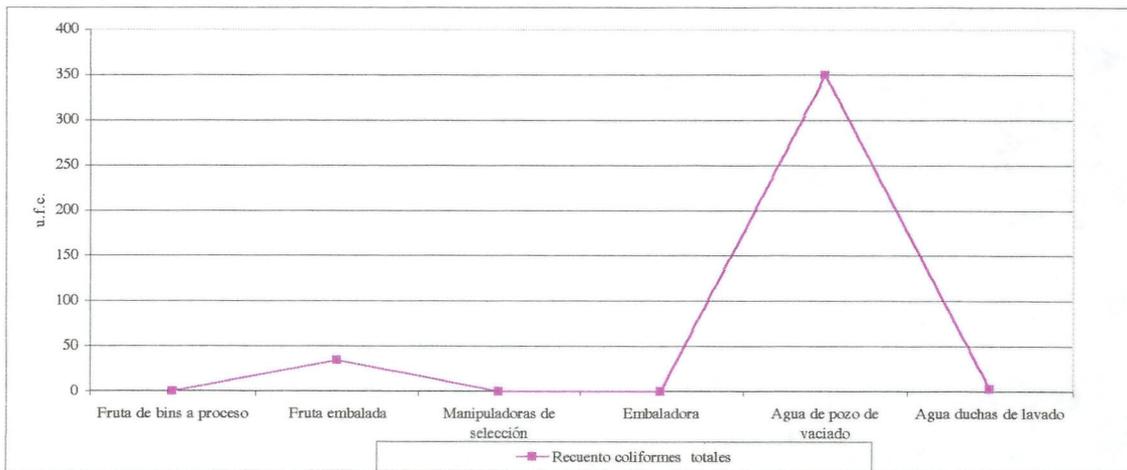


TABLA N° 20
DETALLE PROSPECCION MICROBIOLOGICA EN PACKING
VISITA N° 4- REGION METROPOLITANA
(Packing central, mes Abril, proceso peras)

Lugar de muestreo	N° de muestras	Recuento coliformes totales	Recuento E.coli	Observaciones
FRUTA				
Fruta de bins a proceso	5	1	0	Fruta con tierra y polvo
Fruta en cinta post-selección	5	70	1	Fruta con restos de tierra
Fruta embalada	5	12	0	Fruta con restos de tierra
MANIPULADOR				
Manipuladoras de selección	1	0	0	Manos limpias, s/guantes
Embaladora	2	0	0	Manos sucias, sin guantes
AGUA				
Agua general de la planta	1	0	0	
Agua de proceso	1	0	0	
Agua duchas de lavado	1	0	0	En operación
Estanque fungicida	1	350	0	

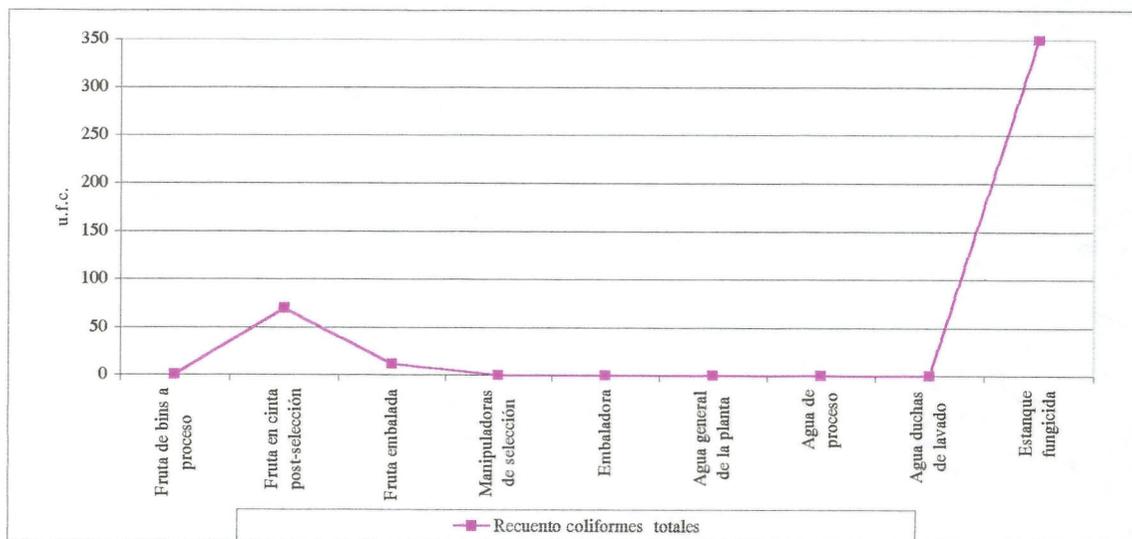
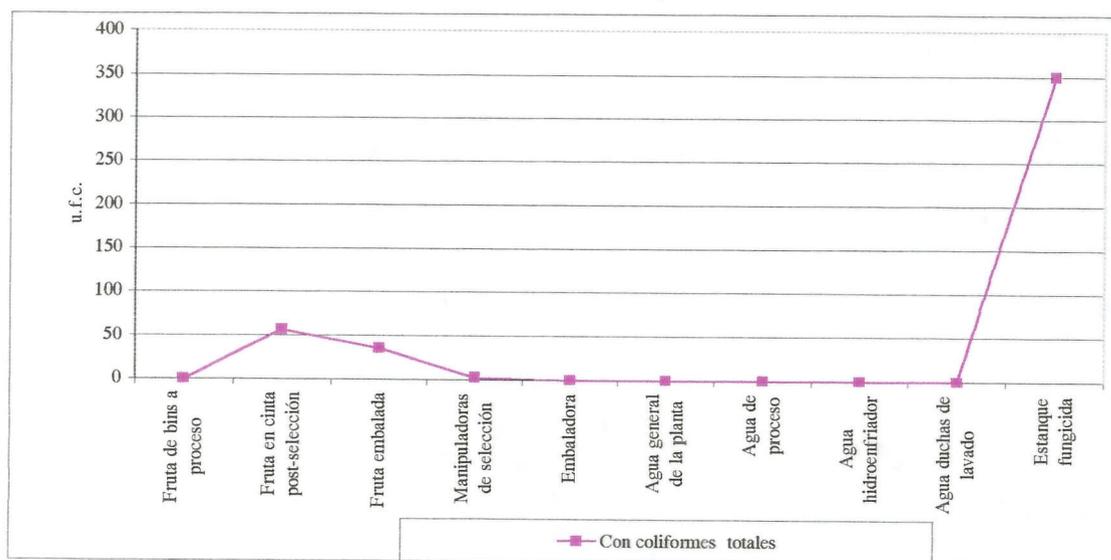


TABLA N° 21
DETALLE PROSPECCION MICROBIOLÓGICA EN PACKING
VISITA N° 5- REGIÓN METROPOLITANA
(Packing central, mes Abril, proceso ciruelas)

Lugar de muestreo	N° de muestras	Con coliformes totales	Con E.coli	Observaciones
FRUTA				
Fruta de bins a proceso	5	0	0	-
Fruta en cinta post-selección	5	57	0	Limpia
Fruta embalada	5	36	0	fruta muy mojada
MANIPULADOR				
Manipuladoras de selección	2	3	0	manos limpias, con guantes
Embaladora	1	0	0	manos limpias, con guantes
AGUA				
Agua general de la planta	1	0	0	-
Agua de proceso	2	0	0	-
Agua hidrofriador	1	0	0	Clorinador fuera de servicio
Agua duchas de lavado	1	0	0	Duchas no operativas
Estanque fungicida	1	350	120	-



2.1.3.- RESULTADOS DE AUDITORIAS DE HIGIENE

A continuación se presentan los resultados obtenidos en las auditorías de higiene llevadas a cabo durante la ejecución del proyecto

TABLA N°22
% PROMEDIO DE CUMPLIMIENTO ITEM EVALUADO

Tipo de centro de embalaje	Número total de auditorías	Característica centro de embalaje %	Baños %	Personal %	Otros %	Manejo de desecho %	Hidroenf. /pozo de vaciado %
Central	18	72	94	91	82	93	86
Periférico	10	42	52	52	73	87	-
Productor	8	33	60	33	44	54	-

TABLA N°23
Tipo de agua utilizada y descarga de aguas servidas

Tipo de centro de embalaje	Procedencia agua utilizada			Descarga de aguas servidas	
	Pozo %	Potable %	No potable %	Fosa %	Alcantarillado %
Central	50	50	0	50	50
Periférico	40	50	10	100	0
Productor	50	38	12	50	50

En las tablas 22 y 23 se aprecia que la mayoría de las centrales de las empresas visitadas cumplían con los requerimientos mínimos de infraestructura y condiciones de operación acordes con la buenas prácticas auditadas, debiendo efectuar mejoras en los aspectos de infraestructura general del packing donde se obtuvo un 72% de cumplimiento en los parámetros evaluados.

En cambio en los centros de embalaje periféricos y productor, es necesario efectuar cambios para alcanzar los niveles mínimos recomendables en cuanto a infraestructura y condiciones de operación acorde con las Buenas Prácticas Agrícolas.

2.1.4.- Validación Kit Rápidos

2.1.4.1.- Metodología Petrifilm 3M

Para validar la metodología utilizada, se enviaron las contramuestras de frutas a Cesmec y se les solicitó analizarlas, utilizando la metodología convencional. Los resultados obtenidos son:

Tabla N°24

Tipo de muestra	Cantidad	Coliformes totales (ufc/gr)	Escherichia coli (ufc/gr)
Cesmec	111	577	0,1
FDF	111	28	0,2

Los valores promedio obtenidos entre ambas metodologías son diferentes, dado que la fruta analizada, a pesar de provenir de la contramuestra, no era la misma y la contaminación presente en un fruto no corresponde necesariamente a la del fruto que está al lado. Por tal razón, durante el transcurso del proyecto se determinó que no era posible analizar exactamente la misma muestra y se decidió evitar a CESMEC sólo las contramuestras para análisis de Salmonella.

2.1.4.2.- Metodología Bind

Los resultados obtenidos en los ensayos de validación del kit rápido Bind de Idexx, para análisis de Salmonella en fruta son:

Tabla N°25
Resultados de la validación del método Bind para Salmonella
(primer ensayo)

Código	CESMEC	F.D.F. Bind	Código	CESMEC	F.D.F. Bind
B-2921	Presencia	Presencia	B-2941	Ausencia	Presencia
B-2922	Presencia	Presencia	B-2942	Ausencia	Ausencia
B-2923	Presencia	Presencia	B-2943	Ausencia	Presencia
B-2924	Presencia	Presencia	B-2944	Ausencia	Presencia
B-2925	Presencia	Presencia	B-2945	Ausencia	Presencia
B-2926	Presencia	Presencia	B-2946	Ausencia	Presencia
B-2927	Presencia	Presencia	B-2947	Ausencia	Ausencia
B-2928	Presencia	Presencia	B-2948	Ausencia	Presencia
B-2929	Presencia	Presencia	B-2949	Ausencia	Presencia
B-2930	Presencia	Presencia	B-2950	Ausencia	Presencia
B-2931	Presencia	Presencia	B-2951	Ausencia	Presencia
B-2932	Presencia	Presencia	B-2952	Ausencia	Ausencia
B-2933	Presencia	Presencia	B-2953	Ausencia	Ausencia
B-2934	Presencia	Presencia	B-2954	Ausencia	Presencia
B-2935	Presencia	Presencia	B-2955	Ausencia	Presencia
B-2936	Presencia	Presencia	B-2956	Ausencia	Ausencia
B-2937	Presencia	Presencia	B-2957	Ausencia	Ausencia
B-2938	Presencia	Presencia	B-2958	Ausencia	Presencia
B-2939	Presencia	Presencia	B-2959	Ausencia	Ausencia
B-2940	Presencia	Presencia	B-2960	Ausencia	Ausencia

Dado que en este ensayo el 60% de las muestras testigo dio falso positivo, indujo a suponer que se produjo contaminación de las muestras y se repitió el ensayo con un número menor de muestras. Se asume que esta contaminación se debió a que al no poseer FDF una campana de flujo laminar, se vio favorecida la probabilidad de generar contaminaciones cruzadas. Por otra parte, las muestras estaban codificadas y no se conocía cuales eran las inoculadas y cuales eran los testigos.

Tabla N°26

**Resultados de la validación del método Bind para Salmonella
(Segundo ensayo)**

Código	INOCULO	Bind	Código	TESTIGO	F.D.F. Bind
1	Presencia	Presencia	6	Ausencia	Ausencia
2	Presencia	Presencia	7	Ausencia	Ausencia
3	Presencia	Presencia	8	Ausencia	Ausencia
4	Presencia	Presencia	9	Ausencia	Ausencia
5	Presencia	Presencia	10	Ausencia	Ausencia

Los resultados obtenidos en el segundo ensayo se encontraban dentro de los valores esperados, lo que indica que esta metodología podría ser utilizada para el análisis de Salmonella sp. en muestras de frutas.

2.2.- Impactos observados

El principal impacto del proyecto, radica en la generación de una amplia toma de conciencia y en la ejecución de acciones a todo nivel (productores- packings y exportadoras), respecto a la importancia de los conceptos de inocuidad y seguridad alimentaria aplicados a la fruta fresca, para cumplir con las demandas de la comunidad internacional.

La inocuidad y seguridad alimentaria se ha incorporado en las preocupaciones principales de productores, exportadores, organizaciones gremiales y en el sector público relacionado con la agricultura. En gran medida esto se ha debido a la ejecución de este proyecto y a su amplia difusión.

Como fruto de este proyecto, hoy en día se cuenta con un diagnóstico de la inocuidad y seguridad alimentaria de la fruta fresca chilena. Dado que los resultados del diagnóstico son positivos en términos generales, permite que la industria frutícola nacional pueda mantener y fomentar un grado de confianza hacia nuestra fruta por parte del mercado.

El proyecto ha permitido detectar además aquellas etapas del proceso que pueden tener mayor riesgo de inocuidad e higiene, información que permite a la industria concentrar sus esfuerzos en los puntos realmente críticos. Como fruto de estas acciones, se ha efectuado notables avances en la calidad sanitaria de la fruta, manipuladores, aguas de proceso y en el entorno productivo. Se puede señalar por ejemplo, que tanto en las empresas y huertos se han habilitado lavamanos al ingreso al packing y servicios higiénicos donde no existían. Se están implementando sistemas o procedimientos para el lavado de equipos y mantención de la higiene en las instalaciones y las propias empresas continúan solicitando mayores antecedentes respecto a metodologías de control y evaluación de sus condiciones.

Esto se refleja en mejoras medibles entre una temporada y otra.

El hecho de no haber encontrado muestras de fruta con Salmonella sp., indica que durante el período en que se ha efectuado el estudio, la fruta ha estado cumpliendo con las legislaciones vigentes. Ello no asegura que nunca se producirá este tipo de contaminación en fruta fresca, pero lograr que las empresas y agricultores tomen conciencia del peligro que ello involucra y en cómo afectaría una situación de esta naturaleza el proceso exportador, permitirá evitar que a futuro se generen situaciones que pongan en peligro el prestigio de nuestro producto en el extranjero.

Aparte de este impacto, también se ha obtenido un efecto social, dado que los trabajadores están siendo capacitados en buenas prácticas de higiene y cuentan en sus lugares de trabajo con mejores instalaciones para su aseo y cuidado personal. Ello permite mejorar estas prácticas en su vida privada, involucrando un beneficio a su grupo familiar al disminuir las prácticas deficientes que producen daño a la salud.

A futuro se espera que los impactos antes mencionados aumenten en forma significativa y no queden en el país packing que no cumplan con los estándares sanitarios mínimos requeridos y el personal, al ser capacitado en forma permanente, internalize las buenas prácticas de higiene tanto en el trabajo como en su vida diaria.

3.- Aspectos metodológicos del proyecto

Se tomaron muestras de arándanos, carozos, cerezas, damascos, espárragos, frambuesas, kiwis, manzanas, peras y uva, procesados entre la tercera y séptima región incluyendo en el muestreo análisis a manipuladores y aguas utilizadas en el proceso.

Las muestras fueron tomadas por personal de control de calidad de las diferentes exportadoras participantes en la prospección, el cual fue capacitado previamente por la Fundación para el desarrollo Frutícola (FDF), en las técnicas y procedimiento de toma de muestras para análisis microbiológicos.

El procedimiento utilizado, fue el siguiente.

- Elaboración de un programa semanal de toma de muestras.
- Preparación de materiales para el muestreo
- Envío de cajas con los materiales para realizar el muestreo, a las diferentes empresas y Regiones
- Toma de muestra por parte de cada Empresa.
- Mantenimiento de las muestras con "Ice pack" activados.

- Envío de las muestras desde las Regiones a FDF.
- Recepción de las muestras en el laboratorio. Identificación y registro.
- Registro de la temperatura de llegada de las muestras
- Preparación de la muestra e inoculación, en los medios de cultivo específicos para cada una de ellas
- Incubación
- Lectura a las 24 y 48 horas
- Registro de los resultados

3.1- Métodos de análisis

Se utilizaron métodos rápidos de análisis microbiológico, con el objetivo de transferir a las empresas metodologías que les permitan efectuar cambios y/o rectificaciones en el proceso en el menor tiempo posible.

a- Métodos rápidos de análisis utilizados

Para la determinación de coliformes totales y *Escherichia coli* sp. se utilizaron los siguientes métodos rápidos:

- Petrifilm de 3 M, para el análisis de muestras de frutas y manipuladores
- Filtración por membrana NKS Pads de Sartorius, para el análisis de muestras de agua (NCh 1620/2)

En todas las muestras de fruta en que se detectó *Escherichia coli* se envió la contramuestra a CESMEC, donde se realizó determinación de *Salmonella* sp., mediante la metodología convencional.

b- Otros métodos de análisis evaluados

Entre los objetivos del proyecto se encontraba evaluar otros métodos rápidos. Para tal efecto se probó la facilidad de operación e interpretación de resultados de los siguientes métodos rápidos:

- Colilert de Idexx Laboratories para determinación de coliformes totales y *Escherichia coli* en agua

- Simplate test de *Idexx* Laboratories para determinación de coliformes totales y *Escherichia coli* en fruta, ceras y fungicidas.
- Bind de *Idexx* Laboratories Inc para *Salmonella* sp.
- Immunobead *Salmonella* de Vicam
- Reveal *Salmonella* de Neogen
- Transia Card *Salmonella* de Diffchamb
- Transia Card *Escherichia coli* O157 de Diffchamb
- Reveal *Escherichia coli* O157:H7 de Neogen
- Inmuno Card Stat *Escherichia coli* O 157:H7 de Meridiam Diagnostic

3.1.1- Toma de muestras

La toma de muestras constituye una de las etapas más importantes en el análisis microbiológico, porque debe reflejar con exactitud las condiciones existentes en el momento del muestreo. Por lo tanto debe realizarse asépticamente, utilizando contenedores e instrumentos estériles y protegiendo las muestras contra la contaminación externa.

Se tomaron muestras a manipuladores, aguas, frutas y espárragos embalados en diferentes Centrales de Embalaje y packing de tipo satélite.

a) Materiales para tomar las muestras

- Caja de aislapol de 25 mm de espesor de pared, lavada y sanitizada con alcohol al 70 %
- Seis unidades de "Ice-pack" activados, sanitizados superficialmente con alcohol al 70 %
- Cinta adhesiva para embalaje de 49 mm de ancho
- Plumón indeleble y etiquetas autoadhesivas para rotular las bolsas, tubos de ensayo y frascos de vidrio.
- Dispensador "spray" con alcohol al 70%, para sanitizar las cajas, manos y "ice-pack"
- Guantes estériles
- Planilla de informe de muestreo
- Bolsas plásticas estériles para tomar muestras de frutas
- 2 Botellas estériles de 250 ml para tomar muestras de agua, con 2,5 ml de tiosulfato de sodio al 10% m/v
- Tubos de ensayo con 5 ml de letheen estéril para el muestreo de manipuladores
- Tómulas estériles para el muestreo de mano de manipuladores.

b) Toma de muestras de fruta:

Se tomaron muestras de fruta desde la línea de embalaje donde se estaba procesando el calibre más representativo, cuidando de no alterarlas por el proceso de muestreo.

Antes de tomar las muestras se procedió al lavado y sanitización de las manos con alcohol al 70% y uso de guantes estériles.

Las muestras de fruta fueron colocadas en el interior de una bolsa estéril, la bolsa fue cerrada en forma inmediata y rociada con alcohol para evitar contaminaciones externas.

Cada muestra se identificó con un código que se registró a la vez en la planilla de muestreo. La muestra se guardó en la caja de aislapol que estaba con los "Ice pack" activados (8 horas en el congelador de un refrigerador a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$).

c) Toma de muestras de agua de proceso

Se tomaron en forma aséptica muestras de agua utilizada en la línea donde se tomaron las muestras de fruta, considerando dos sitios diferentes de muestreo.

Antes de colocarse los guantes estériles se procedió al lavado de manos con agua y jabón y desinfección con alcohol al 70%.

Se abrió el frasco sacando el tapón compuesto por papel y algodón estériles, evitando tocar la boca del frasco con elementos de la línea de proceso.

Para tomar las muestras de agua de pozo de vaciado, el frasco se sumergió boca abajo hasta una profundidad de 30 cm de la superficie, se invirtió y llenó hasta completar $\frac{3}{4}$ partes de su capacidad. Posteriormente se tapó con un tapón de goma estéril.

Para tomar las muestras de agua provenientes de las llaves o de las duchas de lavado, se dejó correr el agua a lo menos dos minutos antes de tomarlas. Se colocó el frasco abierto bajo el chorro de agua de la ducha hasta llenarlo a $\frac{3}{4}$ de su capacidad y una vez lleno, se tapó con el tapón de goma estéril suministrado para este fin.

Para eliminar la interferencia del cloro, se adicionó a los envases antes de la esterilización 2.5 ml de tiosulfato de sodio.

Cada muestra fue codificada e identificada con cinta autoadhesiva y almacenada en la caja de aislapol con los "Ice pack" activados (8 horas en el congelador de un refrigerador).

El plazo máximo entre la toma de la muestra y el análisis no superó las 24 horas.

d) Toma de muestra de manipuladores

Para tomar la muestra se extrajo la tórula de su envase y humedeció ligeramente en un tubo de letheen estéril. Se pidió al manipulador extender ambas manos y se recorrieron por todo el perímetro de los dedos desde su extremo hasta su base, especialmente en la zona interior de las uñas.

La tórula se colocó en un nuevo tubo con agua peptonada estéril, teniendo la precaución de cortar el extremo de la tórula tomada por el muestreador.

Cada muestra fue codificada e identificada con una etiqueta autoadhesiva y almacenada en la caja de aislapol con los "Ice pack" activados.

3.1.2- Tamaño de la muestra

a) Fruta

Se tomaron muestras de fruta procesada en condiciones uniformes, en un mismo lugar y en un momento acotado en el tiempo, es decir, fruta perteneciente a un mismo productor, variedad y fecha de embalaje.

De ese lote se eligieron 5 muestras representativas siguiendo el esquema indicado en la siguiente tabla:

Especie	Muestras a tomar	Cada muestra compuesta por	Total de unidades de muestra por vez	Sitio muestreo
Uva	5	1 Racimo	5 Racimos	Uva limpiada, antes de embalar
Carozo, Kiwis Manzanas, Peras,	5	4 unidades	20 frutos	Fruta ya seleccionada y embalada
Cerezas	5	2 bolsas de 250 gr o 500 gr cerezas a granel	10 bolsas	Fruta ya seleccionada y embalada
Frambuesas, Arándanos	5	2 canastillas	10 canastillas	Fruta ya seleccionada y embalada
Espárragos	5	2 paquetes	10 paquetes	Producto empaquetado

b) Tamaño de muestras de aguas de proceso

Se tomaron muestras de aguas en la línea o equipos involucrados en el proceso de embalaje de la fruta anteriormente muestreada:

Sitio de muestreo	Muestras a tomar	Cada muestra compuesta por *
Pozo de vaciado	1	200 ml
Hidroenfriador	1	200 ml
Ducha de lavado final de la fruta	1	200 ml
Aplicación de cera y/o fungicida	1	200 ml
DPA	1	200 ml

*Volumen establecido en la Norma Chilena 409/2

Cuando se obtuvo crecimiento de *Escherichia coli*, se tomó inmediatamente otra muestra (1 lt de agua), del mismo sitio donde se detectó el problema y se envió al laboratorio certificador (CESMEC) para recuento de Salmonella.

c) Manipuladores

En cada centro de embalaje se tomaron muestras de ambas manos a dos manipuladores, quienes efectuaban el trabajo que se indica en el siguiente recuadro.

Especie	Personal	Cantidad de personas por vez
Carozos, Manzanas, Kiwis, Cerezas, Peras	Seleccionadora	1
	Embaladora	1
Frambuesas, Arándanos	Cosechador	1
	Embaladora	1
Damascos	Limpiadora	1
	Embaladora	1
Uva	Limpiadora	1
	Embaladora	1
Espárragos	Seleccionadora	1
	Empaquetadora	1

3.1.3- Determinación de coliformes totales y *Escherichia coli*.

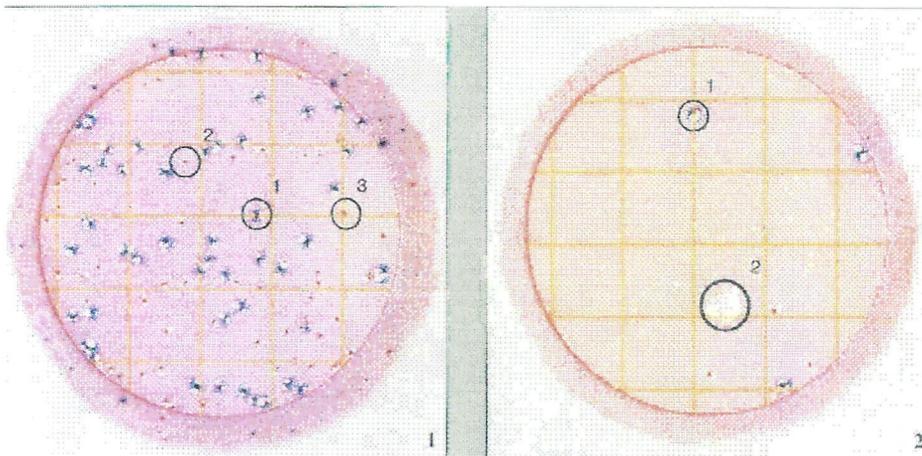
Los métodos rápidos detallados a continuación constituyen tecnologías recientes y son utilizados para detección rápida, caracterización y enumeración de microorganismos.

3.1.3.1 Método Petri Film Coliform Count 3 M en fruta fresca

Las placas Petrifilm constituyen un sustituto de placas de agar, desarrollado por 3M y consisten en un sistema listo para usar. Contienen los elementos nutritivos Bilis Rojo Violeta, un agente gelificante soluble en agua, un indicador de la actividad de la enzima glucoronidasa y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de las colonias.

Las bacterias coliformes producen colonias de color rojo, debido a la reducción del Trifeniltetrazolio incorporado en el gel y por la producción de gas por fermentación de la lactosa. El gas es atrapado en el film y aparece como pequeñas burbujas de gas asociadas con las colonias.

Las placas contienen además 5- bromo- 4- cloro- 3- indolyl- β - D-glucoronidasa, indicador de la actividad de la enzima glucoronidasa encontrada en el 97 % de las cepas de *Escherichia coli*. Cuando el indicador es dividido por acción de la enzima, se forma un compuesto insoluble de color azul. Por esta razón las colonias de *Escherichia coli* aparecen de color azul, asociadas a burbujas de gas.



Cuando se detectó en una muestra *Escherichia coli*, se envió la contramuestra a CESMEC para análisis de *Salmonella* sp.

En el anexo 1 se describe en detalle la metodología utilizada.

a) Validación

Con el objeto de validar la técnica utilizada, cada 100 análisis se envió una contramuestra a CESMEC, para recuento de coliformes y *Escherichia coli*. Los resultados se presentan en la tabla N° 24

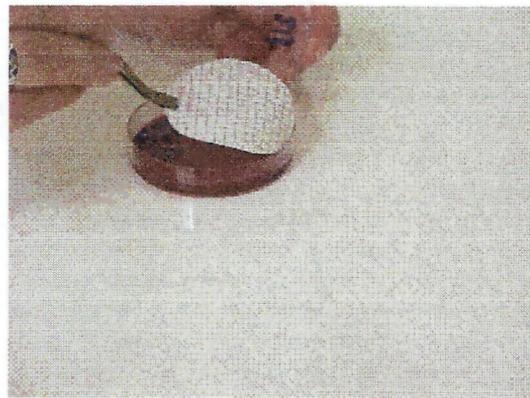
3.1.3.2.- Análisis de agua mediante la técnica de filtración por membrana

Esta técnica se basa en la filtración de 100 ml de agua a través de una membrana estéril, capaz de retener a las bacterias y en la posterior incubación de esta membrana en un medio de cultivo adecuado, en condiciones de tiempo, humedad y temperaturas determinados.

El medio de cultivo utilizado en el laboratorio corresponde al establecido en la Norma Chilena 1620/2, y es agar m-Endo LES



Embudo de Filtración



Siembra de Placa

3.1.4 Evaluación de otros métodos para la determinación de Coliformes totales y *Escherichia coli*

Los métodos evaluados se seleccionaron considerando los siguientes aspectos: los resultados se obtienen en 24 a 48 horas; ahorro de materiales y tiempo; menores requerimientos de mano de obra, infraestructura y espacio en el laboratorio

3.1.4.1 Colilert de Ideex Laboratories Inc.d Método desarrollado para detectar selectivamente coliformes totales y *Escherichia coli* en aguas.

Es un método sencillo, los resultados se obtienen a las 24 horas y son claros y fáciles de leer y se expresan como Número más probable (NMP). No requiere el uso de una gran infraestructura y podría ser utilizado sin problemas en los laboratorios de la industria.

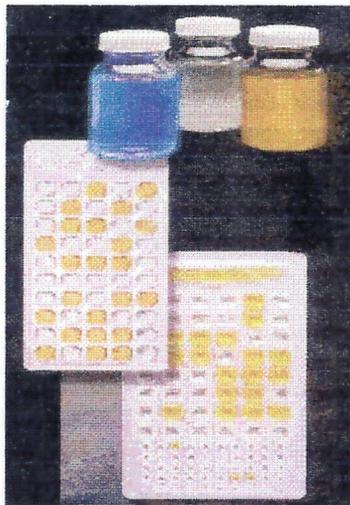
Utiliza la técnica del sustrato definido para la detección, identificación y confirmación simultanea de enzimas presentes en las bacterias coliformes totales y *Escherichia coli*.

El sistema de reactivos es una formulación que optimiza el pH y el contenido de nutrientes para favorecer el crecimiento más rápido de los microorganismos antes mencionados.

Los nutrientes indicadores específicos de Colilert son: orto-nitrofenil- β - δ -galactopiranosido (ONPG) y 4-metil-umberifenil- β - δ -Glucorónido (MUG).

Las bacterias coliformes poseen la enzima β -galactosidasa la cual reacciona con el ONPG, liberando la porción indicadora o nitrofenol (enzima cromogénica indicadora de coliformes). Enzima que al ser incubada a 35 °C por 24 hrs. se torna amarilla.

Por otra parte, *Escherichia coli* pose la enzima β -Glucoronidasa lo cual reacciona con el MUG, y libera la porción indicadora, 4-metil-umbeliferona (Enzima cromogénica indicadora de E. Coli), que al ser incubada a 35 °C por 24 hrs, produce fluorescencia.

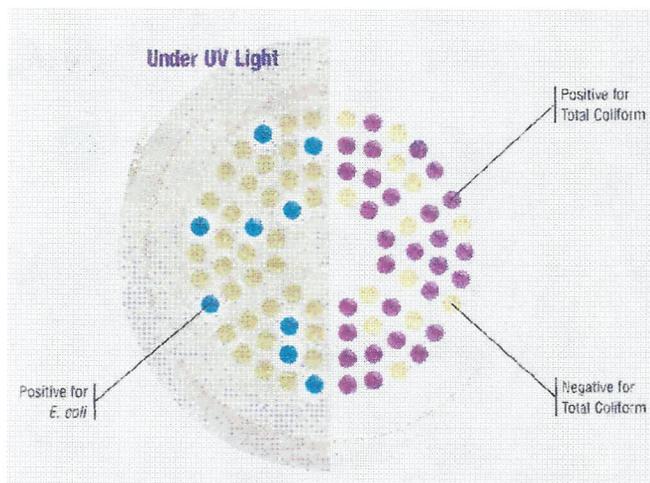


E. coli: Fluorescente

Coliformes: Amarillo

Este método ha sido aprobado por la EPA en U.S.A. para el análisis de agua potable y aguas de proceso y ha sido aprobado por la AOAC para el análisis de agua en alimentos, registro N° 991.15. Este método está aprobado por el Servicio Nacional de Salud y está registrado en la NCh- 2043/98 para aguas potables y aguas naturales. Incluido en la 20ª edición de U.S. Standard Methods.

3.1.4.2- Simplate test de *Idexx* Este método está basado en la técnica del sustrato definido, que relaciona la presencia de la enzima β - Galactosidasa y β - Glucoronidasa a la presencia de coliformes totales y *Escherichia coli*, respectivamente. Sólo requiere rehidratar el medio de cultivo y dispensarlo junto con 1 ml de la muestra en las placas. El número de bacterias coliformes se lee directamente (rojo- púrpura) y las colonias de *Escherichia coli* se determinan por fluorescencia. Los resultados se leen a las 48 horas y se expresan como NMP.

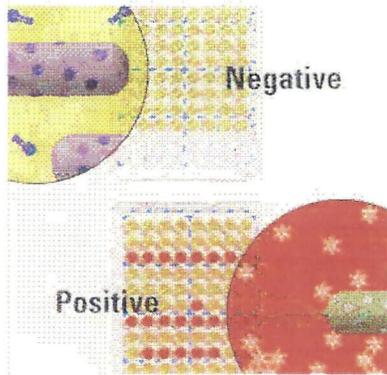


3.1.5 Métodos para determinación de Salmonella sp.

3.1.5.1- *Bind* de *Idexx Laboratories Inc.* (Certificado AOAC 970501)

Es un método que indica en 24 horas la presencia o ausencia de *Salmonella* sp. Este método utiliza una mezcla de bacteriofagos que atacan e infectan en forma selectiva el DNA de un gran rango de especies de *Salmonella*, incluyendo las más comunes. Los bacteriofagos contienen el gen INA e incorporan su DNA modificado en la pared celular de *Salmonella*.

Durante el período de incubación, el DNA modificado induce a la *Salmonella* a producir las proteínas INA, que se expresan en su superficie. Esta proteína produce la formación de cristales de hielo a $9,3^{\circ}\text{C} \pm 0,2$. Las muestras que no contienen *Salmonella* no se congelarán a esa temperatura y permanecerán amarillas. Las muestras positivas al congelarse cambian a color naranja.



Las muestras positivas dan una coloración amarilla cuando son congeladas a la temperatura antes mencionada. Es un método fácil y sencillo de usar. Los resultados se expresan como ausencia o presencia

3.1.5.2- Inmunobead Salmonella test de VICAM

Este método se basa en el test de anticuerpo basal. No detecta las cepas no productoras de H₂S. Se realiza en etapas donde en la primera de pre-enriquecimiento (16 horas), son eliminadas las muestras negativas. Posteriormente las muestras son mezcladas con partículas magnéticas y pre-recubiertos con anticuerpos específicos para Salmonella. Las Salmonella adheridas son retiradas magnéticamente de la muestra.

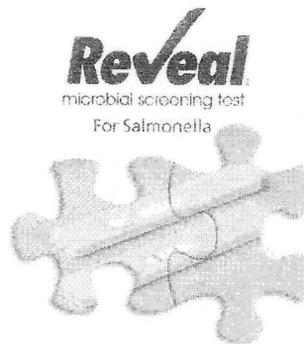
Las colonias obtenidas son enriquecidas en agar XLD durante 16 horas. Donde las colonias negras son seleccionadas para realizar la prueba de confirmación con anticuerpos específicos. El resultado es positivo si se observa aglutinación. Es fácil de usar pero requiere mayor uso de mano de obra y tiempo que el método anterior. Los resultados se expresan como presencia o ausencia.

3.1.5.3 Reveal Salmonella de Neogen

Se basa en el uso de anticuerpos selectivos para Salmonella marcados con oro coloidal, que forman un complejo con este microorganismo y migran a través del soporte sólido del dispositivo suministrado en el kit, hasta la zona de unión, donde se localiza un segundo anticuerpo específico para Salmonella.

Al igual que el método anterior, requiere preenriquecer la muestra en un Stomacher durante 2 horas utilizando el medio de cultivo REVIVE, posteriormente se inocula en medio de enriquecimiento Selenito Cistina y se incuba 18 horas a 43°C. Los resultados se expresan como ausencia o presencia. Requieren confirmación

El resultado positivo se lee como una línea roja en la zona de lectura

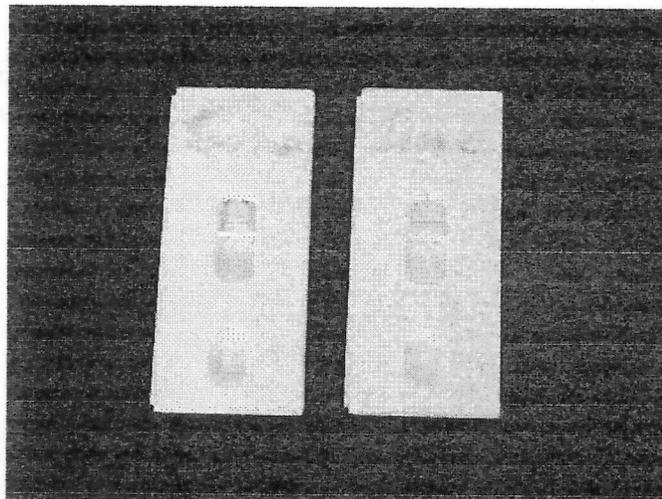


3. 1.5.4- Transia Card Salmonella

Está basada en una reacción inmunocromatográfica tipo sándwich que emplea anticuerpos específicos para Salmonella. Los anticuerpos contra Salmonella marcados con colorante, se unen al antígeno. El complejo migra por la zona de prueba y de control, hasta encontrar los anticuerpos específicos de captura, generando una banda roja en la ventana de test.

Al igual que los métodos anteriores las muestras se deben preenriquecer durante 16 a 20 horas en medio de cultivo Rappaport y Selenito Cistina. (Ver anexo 1)

Los resultados se expresan como presencia - ausencia



Testigo (-), Inoculado (+)

3.1.6- Métodos para la determinación de *Escherichia coli* O 157

3.1.6.1- Immuno Card Stat de Meridian

Está basado en el uso de anticuerpos selectivo. Los anticuerpos monoclonales contra E. Coli O157:H7 (MARC 19 F8), marcados con oro coloidal, migran por la membrana a través del Test al segundo anticuerpo monoclonal (MARC 13 B3). Si hay presente E.coli O157:H7 se forma un complejo entre el anticuerpo de captura y el anticuerpo monoclonal que se puede visualizar como una línea roja - púrpura.



Testigo (-)

Positivo (+)

Al igual que los métodos anteriores requiere preenriquecer (ver anexo 1). Los resultados se expresan como presencia, ausencia.

3.1.6.2- Reveal de Neogen (8 horas)

Los anticuerpos contra E. Coli O157:H7, marcados con oro coloidal, se unen al antígeno. El complejo migra por la membrana a través de la zona de la prueba y del control, hasta encontrar anticuerpos específicos para E. Coli O157:H7, los que los inmovilizan generándose una línea debida a la presencia de oro ligado en esa zona.



Los resultados se expresan como presencia ausencia. Ver anexo 1

3.1.7 Validación método Bind para Salmonella

El ensayo de validación se llevó a cabo utilizando el siguiente protocolo:

- Se tomó una muestra de 400 kiwis y dividió en dos lotes de 40 muestras cada uno. Cada muestra contenía 5 frutos. Las muestras fueron enviadas a CESMEC, laboratorio donde el primer grupo de 40 muestras fue codificado e inoculado con Salmonella y el segundo grupo (testigo) sólo fue codificado.
- Cada lote se dividió en dos grupos de 20 muestras cada una, donde la mitad permaneció en CESMEC y la otra fue enviada a FDF. En CESMEC tanto las muestras inoculadas como los testigos fueron analizadas siguiendo el protocolo establecido para la metodología BIND detallada en el anexo 1. A fin de mantener la independencia de los análisis, las muestras recibidas en FDF estaban codificadas y no se conocía cuales eran testigo y cuales estaban inoculadas.

Puesto que se produjo contaminación en las muestras testigos, se realizó un segundo ensayo donde se tomó una muestra inoculada de la fase anterior y con ella fueron inoculadas cinco muestras, siguiendo el procedimiento establecido en el protocolo inicial, pero tomando mayores precauciones y separando las muestras inoculadas de las cinco muestras testigo.

3.2- Principales problemas metodológicos enfrentados y adaptaciones introducidas

a- Tamaño de la muestra de fruta

Inicialmente la muestra consistía en tres frutos, donde se analizaban dos y se dejaba uno de contramuestra. Como no siempre se alcanzaba el peso mínimo establecido de 250 gr, el número de frutos por muestra fue aumentado a cuatro y el volumen de agua peptonada utilizado para lavar la fruta, se definió como el equivalente al peso de la muestra para mantener el criterio de dilución microbiológica (1:1).

b- Temperatura de recepción de las muestras

Inicialmente se usaban para mantener la temperatura de las muestras durante el transporte, seis unidades de "gel pack". Como las muestras en algunos casos llegaban al laboratorio con temperaturas superiores a 14°C, los "gel pack" fueron cambiados por "Ice pack", cuyo uso permitió que las muestras llegaran al laboratorio con temperaturas dentro del rango establecido (4° a 12°C).

c- Análisis de aguas cloradas

Para eliminar la interferencia del cloro que se agrega en algunas partes de las líneas de embalaje, se adicionó 2,5 ml de Tiosulfato de sodio a las muestras de agua.

d- Frascos para tomar muestras de agua

Inicialmente se utilizaban frascos Schott, pero considerando su costo y corta vida útil, fueron cambiados por botellas de vidrio corriente debidamente esterilizadas, cuyo uso no presentó problemas.

e- Medio de cultivo filtración por membrana

El medio de cultivo utilizado inicialmente en las placa Petrifilm 3M era Tergitol. Para cumplir con la norma Chilena se cambió a agar Sartorius m Endo LES.

f- Calendario de muestreo

Al inicio se presentaron problemas de tipo logístico, tales como: la planta no estaba operando el día que correspondía tomar las muestras y/o no fue procesada la especie solicitada. Para solucionar estas situaciones, el calendario de muestreo fue flexibilizado, permitiendo a las empresas tomar las muestras al día siguiente o tomar muestras de la especie que estuviese siendo procesada en el momento.

g- Diluciones de las muestras de aguas con ceras y/o fungicidas

Inicialmente las muestras de agua con ceras y o fungicidas no eran diluidas, pero debido a las dificultades presentadas al filtrar, fue necesario diluir, utilizando diluciones 1:10 o 1:100.

h- Análisis de ceras y fungicidas

Las muestras de ceras de manzanas y fungicidas no pudieron analizarse con las metodologías predeterminadas en el proyecto: placas Petrifilm de 3M y filtración por membrana utilizada para aguas. Por ello debieron ser evaluadas otras metodologías.

En primera instancia se recurrió al uso de prefiltros como ayuda filtrante, pero estos no dieron buenos resultados. Posteriormente se evaluó el comportamiento de las muestras de ceras al usar los métodos Simplate y Colilert de Idexx.

Cuando se utilizó el método Colilert las muestras coagulaban al quedar en contacto con el medio de cultivo y se debió descartar el uso de dicha metodología para este tipo de muestras. Sólo las placas con medio de cultivo Simplate dieron buenos resultados y permitieron obtener una lectura final sin problemas.

4.- Tareas ejecutadas

ACTIVIDAD	Indicador	Meta Proyectada	Meta	
			Realizada	Periodo
Muestreadores capacitados	Numero personas capacitadas	15	66	Nov1998, Dic. 1999
Búsqueda y análisis de métodos rápidos para Salmonella	Análisis teórico kits disponibles	2	6	Dic. 1998
Diagnóstico de Salmonella en frutas y agua	Análisis efectuados	0	106	Junio1998 Julio 1999
Fuentes de contaminación detectadas (Visitas con muestreo)	Visitas efectuadas a packings	0	5	Enero a Abril 1999
Fuentes de contaminación detectadas	Auditorías efectuadas a packings	16	36	Enero a Abril 1999
Comparación de métodos rápidos para E coli y coliformes totales versus método convencional	Análisis efectuados	120	123	Junio1998 julio 1999
Ensayos de kits seleccionados para Salmonella	Análisis efectuados	72	50	Abril 1999
Ensayo de kit para <i>Escherichia coli</i> O157:H7	Kit evaluados	0	3	Ene.2000
Manual de procedimientos de muestreo microbiológico	1ª versión	1	1	Nov. 1999
Manual de procedimientos de muestreo microbiológico	Manual corregido	1	1	Julio 1999
Manual de métodos rápidos	1ª versión	1	1	Nov. 1999
Manual de métodos rápidos	Manual corregido	1	1	Julio 1999
Transferencia de métodos microbiológicos rápidos	Personas Capacitadas	10	15	Diciembre 1999
Guía para reducir riesgos sanitarios de origen microbiano en la fruta fresca	Publicación Guía de Buenas Prácticas (310 ág.)	1	1	Oct 1999
Instructivos de manejo sanitario: " Guía resumida de BPA para huertos y centros de embalaje"	Guía resumida	1	1	Nov. 1999
Seminarios de trasferencia	Seminarios	0	9	1999, 2000
Manual de auditorías	Manual	0	1	Diciembre 1999

En las siguientes tablas se describen el número total de muestras proyectadas y el número real de muestras tomadas durante el período.

Muestra	Año 1998											
	Julio		Agosto		Septiembre		Octubre		Noviembre		Diciembre	
	Proyec.	Realiz.	Proyec.	Realiz.	Proyec.	Realiz.	Proyec.	Realiz.	Proyec.	Realiz.	Proyec.	Realiz.
Arándanos												
Carozos									100		100	
Cerezas									200	71	60	188
Ciruelas										52		35
Damascos									100	46	80	114
Duraznos										50		43
Espárragos					400	96	450	247	0	220		
Frambuesas												
Kíwi	150	124	190	186								
Manzana	200	219										
Nectarines										77		64
Pera	0	32									20	0
Uva									100	83	200	77
Sub total	350	375	190	186	400	96	450	247	500	599	460	521
Proy- Real.	-25		4		304		203		-99		-61	



FUNDACIÓN PARA EL DESARROLLO FRUTÍCOLA

Año 1999

Muestra	Enero		Febr.		Marzo		Abril		Mayo		Junio		Total	
	Proyec.	Realiz.	Proyec.	Realiz.	Proyec.	Realiz.	Proyec.	Realiz.	Proyec.	Realiz.	Proyec.	Realiz.	Proyec.	Realiz.
Arándanos	100	42	100	35		36							200	113
Carozos	150		97		96								543	
Cerezas													260	259
Ciruelas		125		79		80							0	371
Damascos													180	160
Duraznos		71		7									0	171
Espárragos													850	563
Frambuesas				16	80	113	80	5	20				180	134
Kiwi					100	124	178	102	200	40	150	25	968	601
Manzana			42	91	200	458	250	224	250	268	200	179	1.142	1.439
Nectarines		150		45		7							0	343
Peras	100	145	125	208	33	160				7			278	552
Uva	200	203	266	417	258	245	7	0					1.031	1.025
Sub total	550	736	630	898	767	1.223	515	331	470	315	350	204	5.632	5.731
Proy- Real.	-186		-268		-456		184		155		146		-99	

a) Tamaño de la muestra:

Se tomaron 99 muestras más del total proyectado originalmente, dado que:

- Se incluyeron 45 muestras de superficies. Estas muestras no habían sido consideradas en el proyecto original, sin embargo se consideró conveniente visualizar qué estaba sucediendo en este aspecto, puesto que en las visitas y muestreos llevados a cabo en las plantas se detectó un elevado porcentaje de muestras con coliformes.
- Se debieron realizar 20 análisis para ajustar y/o probar métodos de análisis a ceras y fungicidas, debido a los problemas en la metodología analítica detallados previamente (punto 3.2).
- Las 39 restantes se tomaron para :
 1. Completar los déficit en los muestreos parciales de algunas especies, puesto que en ocasiones las plantas no estaban procesando las especies solicitadas y las personas de control de calidad enviaban muestras de la especie que estaba siendo procesada
 2. Se tomaron muestras adicionales de manipuladores dado que se detectó una contaminación importante en peras y carozos.

b) Distribución de muestras:

El porcentaje total de muestras de manipuladores fue superior al presupuestado (18.8%), dado que en uva, damascos, frambuesas, kiwis y arándanos, no se utiliza agua en el proceso. Por otra parte se perdieron algunas muestras de agua debido a que las botellas no estaban bien tapadas o no se respetó el tiempo máximo que debía pasar desde la toma de la muestra y su envío al laboratorio de FDF.

c) Métodos de análisis de coliformes totales y *Escherichia coli*.

Se mantuvo una búsqueda bibliográfica permanente de nuevas metodologías de análisis rápido para *Escherichia coli* y coliformes totales. En el mercado existe una gran variedad de alternativas, entre ellas se estima que las más convenientes son las detalladas en este informe, dado que son métodos de fácil lectura y aplicación y poseen registros internacionales.

Al finalizar el proyecto se evaluaron dos alternativas a las utilizadas en el proyecto (Colilert y Simplate). Por otra parte, para validar la metodología utilizada se envió el 2.8 % de las contramuestras de fruta a CESMEC, para comparar los resultados obtenidos con los kits rápidos versus los obtenidos utilizando la metodología convencional.

d) Métodos rápidos para determinación de Salmonella.

Se probó en el laboratorio 4 kit rápidos para determinación de Salmonella: Bind, Neogen, Vicam y Transia Card. Se seleccionó entre ellos el método Bind para ensayos de validación en muestras de frutas.

e) Métodos rápidos para determinación de *Escherichia coli* O157:H7

Puesto que en estados Unidos el FDA está realizando análisis para la determinación de *Escherichia coli* O157:H7, se buscaron métodos rápidos para determinar este microorganismo. En la actualidad existe disponible en el país 1 kit para la determinación de este microorganismo en aguas (marca Chromagar) y 4 para análisis en alimentos (marca Tecra, Meridiam, Neogen y Diffchamb).

Se consiguieron muestras de ellos para análisis en alimentos y éstos fueron probados en los laboratorios de la Universidad Católica, por un estudiante en práctica de dicha universidad. Estos análisis no se realizaron en los laboratorios de FDF, dado lo patógeno de este microorganismo y de que en nuestro laboratorio no se cuenta con campana de flujo laminar.

La inoculación se realizó con una cepa de *Escherichia coli* O 157:H7 adquirida en el Instituto de Salud Pública. La descripción de los métodos se encuentra detallada en el anexo 1.

f) Visitas a plantas

Se efectuaron 36 visitas de auditorías a packing centrales, periféricos y de productor. En cada uno de ellos se verificó el grado de cumplimiento de cada uno de los parámetros considerados en la planilla detallada a continuación. Cada informe de auditoría fue emitido con una copia que fue entregada al jefe técnico de la planta visitada, para que tomara las medidas del caso.



A continuación se detalla la planilla utilizada en las visitas efectuadas.

EVALUACIÓN BUENAS PRACTICAS DE HIGIENE E INOCUIDAD

Exportador _____
 Planta _____
 Fecha y hora _____

Región / Comuna / _____
 Especie Procesada _____
 N° personas packing _____

TIPIFICACION INSTALACION

Packing Central
 Packing satélite
 Packing de productor

Tipo	Res sanitaria

HIDROENFRIADOR Y POZO DE VACIADO

HIDROENFRIADOR

Hay registros de control de cloro y pH

POZO DE VACIADO

Hay registros de control de cloro y pH

SI	NO

CARACTERISTICAS PACKING

Letreros Normas de higiene
 Lavamanos entrada packing
 Hay jabón disponible
 Elementos para secarse las manos
 Luces cuentan con protecciones
 Piso está limpio
 Piso es liso y bien mantenido
 Packing está ordenado

SI	NO

LIMPIEZA E HIGIENIZACION

Existe programa de limpieza
 Existen registros de limpieza
 Se aprecian moscas en el packing

HIDROENFRIADOR

Agua está
 limpia

Existe programa de limpieza
 Frecuencia recambio de agua

POZO DE VACIADO

Agua está
 limpia

Existe programa de limpieza
 Frecuencia recambio de agua

CERA / FUNGICIDA

Se lava estanque diariamente
 Frecuencia lavado estanques
 Se lava y sanitiz cañerías, boquillas
 Existe programa de limpieza

SI	NO

BAÑOS CENTRO DE EMBALAJE

Están a distancia apropiada
 Baños damas/varones separados
 Cantidad adecuada sanitarios
 Hay lavamanos
 Tienen agua
 Hay algún tipo de jabón
 Hay papel toilette
 Elementos para secarse las manos
 Luz eléctrica funciona
 Sanitarios operan bien
 Baños están limpios
 Se almacenan objetos ajenos
 en los baños

SI	NO

MEDIO AMBIENTE

DESCARGA RESIDUOS LIQUIDOS

Fosa
 Alcantarillado

SI	NO

PERSONAL

- Usa uniforme
- Usa gorro
- Usa guantes
- Uñas cortas y limpias
- Uniforme limpio
- Hay sala casilleros

- Nº apropiado de casilleros
- Hay sector exclusivo para colación

SI	NO

- Canal
- Canaletas están limpias
- DESECHOS SOLIDOS**
- Usan bins sin marcas p. basura
- Basureros se mantienen tapados
- Basura se acumula sector separado y señalado
- Zona de basureros está limpia
- Tiene programa retiro de basura

AGUA

- Es de pozo
- Se potabiliza
- Es potable de red
- No potable
- Se recircula agua ?
- Indicar dónde

SI	NO

MUESTRAS

- Durante esta evaluación se toma muestras?
- De qué ?

SI	NO

Representante Empresa evaluada
C/ ManualBPA /Planillas
auditorías/Evalpackingbásica

Evaluador FDF

g) Manual de procedimientos de muestreo y de análisis

Se elaboraron y corrigieron los manuales de procedimientos de muestreo microbiológico y de métodos rápidos de análisis, los que fueron entregados a los participantes en las actividades de transferencia programadas, con el fin de capacitar al personal de las áreas de control de calidad de las empresas en las técnicas de muestreo y en la metodología rápida utilizada en el proyecto análisis microbiológico.

h) Guía de Buenas Practicas

Se emitió la versión definitiva de la Guía de Buenas Practicas Agrícolas para el Sector Hortofrutícola de Exportación, la que fue entregada a los asistentes a los seminarios de transferencia detallados en el punto 7 de este informe.

5- Problemas enfrentados

Aparte de los problemas metodológicos y de muestreo detallados en el punto 3, no se verificó otro tipo de problemas

6- Calendario de ejecución

Actividades	98						99						00														
	Jun	Jul	Ago	Sept	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sept.	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	
Capacitación en técnicas de muestreo																											
Elaboración programa de toma de muestras																											
Prospección (muestreo)																											
Evaluación kit rápido para <i>Escherichia coli</i>																											
Evaluación Kit rápidos para Salmonella																											
Evaluación kit rápido para E.coli O157:H7																											
Elaboración Manual para tomar muestras																											
Emisión manual de muestreo corregido																											
Elaboración manual Métodos rápidos																											
Emisión Manual métodos rápidos corregido																											
Preparar material para Guía de Buenas Prácticas																											
Análisis de la información																											
Transferencia a las empresas de métodos rápidos																											
Preparación material audiovisual																											
Emitir Guía de Buenas Practicas corregida																											
Análisis, conclusiones y recomendaciones																											
Reuniones de transferencia																											
Seminarios de transferencia, presentación de los resultados finales																											



FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO

PROGRAMADO / REAL APORTES FIA

ITEM	Jul-98		Ago-98		Sep-98		Oct-98		Nov-98		Dic-98		Ene-99	
	PPTO.	REAL												
Personal Profesional	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000
Diag. Microbiológico	1.619.202	1.730.888	902.586	913.909	1.871.656	443.107	1.140.078	1.125.000	2.604.407	2.400.164	2.127.725	2.354.007	2.479.400	3.498.701
Publicaciones	0	0	0	236.000	834.595	63.720	587.640	0	0	0	0	0	0	0
Base Datos Dcmtos.	35.000	0	35.000	70.162	35.000	35.042	70.084	0	35.000	35.000	35.000	125.151	35.000	0
Administración	541.072	532.462	482.764	480.518	432.899	411.289	545.713	263.557	293.034	338.034	345.374	338.034	347.707	0
Imprevistos	215.273	0	147.889	0	190.918	0	139.944	0	173.813	0	136.275	0	225.600	0
Reiterización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	3.610.547	3.463.349	2.768.239	2.900.588	4.565.068	2.153.158	3.882.899	3.468.515	4.306.254	3.863.721	3.837.034	4.024.532	4.278.034	5.046.407

ITEM	Feb-99		Mar-99		Abr-99		May-99		Jun-99		Jul-99		Ago-99	
	PPTO.	REAL												
Personal Profesional	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000
Diag. Microbiológico	2.840.040	4.287.500	3.457.360	6.105.400	2.321.620	1.641.500	2.118.760	1.558.200	1.577.800	965.300	0	0	0	0
Publicaciones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Base Datos Dcmtos.	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0
Administración	338.034	345.433	338.034	344.192	293.034	311.938	263.699	243.474	279.735	243.474	279.735	304.119	234.730	274.105
Imprevistos	256.960	0	310.640	26.400	211.880	21.600	194.240	12.000	147.200	10.800	84.182	0	10.000	0
Reiterización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	4.670.034	5.632.933	5.341.034	7.675.992	4.061.534	3.175.038	2.958.899	3.841.934	3.239.735	2.419.574	1.598.917	1.504.119	1.479.730	1.474.105

ITEM	Sep-99		Oct-99		Nov-99		Dic-99		Ene-00		Feb-00		Mar-00	
	PPTO.	REAL												
Personal Profesional	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000
Diag. Microbiológico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Publicaciones	0	365.800	0	367.628	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Base Datos Dcmtos.	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	164.310	35.000	145.970	35.000	92.309	35.000	62.309
Administración	234.730	285.312	234.730	237.318	279.735	254.566	279.735	261.250	251.000	261.049	120.000	154.356	120.000	131.378
Imprevistos	10.000	0	10.000	0	41.968	0	10.000	0	10.000	0	10.000	0	10.000	0
Reiterización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	1.479.730	1.851.112	1.479.730	1.437.318	1.924.331	1.454.566	1.524.735	1.625.560	1.496.000	1.607.019	1.365.000	1.446.665	1.365.000	1.393.687

ITEM	Abr-00		May-00		Jun-00		Jul-00		Ago-00		TOTAL	
	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL
Personal Profesional	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	1.200.000	0	0	0	0	28.800.000	28.650.000
Diag. Microbiológico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25.995.612	25.995.612
Publicaciones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.202.223	1.253.160
Base Datos Dcmtos.	35.000	46.290	35.000	15.482	35.000	15.155	0	0	0	0	840.000	842.264
Administración	120.000	123.504	120.000	142.134	135.000	135.165	0	0	0	0	6.810.902	6.999.610
Imprevistos	10.000	0	10.000	0	10.000	0	0	0	0	0	2.576.782	1.113.941
Reiterización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	1.365.000	1.369.794	1.365.000	1.357.616	1.380.000	1.350.320	0	0	0	0	66.225.519	64.854.587

Ministerio de Agricultura
Fundación para la Innovación Agraria



FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO

PROGRAMADO / REAL APORTES ASOEX

ITEM	Jul-98		Ago-98		Sep-98		Oct-98		Nov-98		Dic-98		Ene-99	
	PPTO.	REAL												
Personal Profesional	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000
Diag. Microbiológico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Publicaciones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Base Datos Dcmtos.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Administración	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Imprevistos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reiterización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	1.175.000													

ITEM	Feb-99		Mar-99		Abr-99		May-99		Jun-99		Jul-99		Ago-99	
	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL										
Personal Profesional	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.175.000	1.091.500	1.091.500
Diag. Microbiológico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Publicaciones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Base Datos Dcmtos.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Administración	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Imprevistos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reiterización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	1.175.000	83.500	729.429											

ITEM	Sep-99		Oct-99		Nov-99		Dic-99		Ene-00		Feb-00		Mar-00	
	PPTO.	REAL												
Personal Profesional	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500
Diag. Microbiológico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Publicaciones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Base Datos Dcmtos.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Administración	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Imprevistos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reiterización	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500
TOTAL	1.175.000	1.091.500	1.175.000	1.091.500	1.175.000	1.091.500	1.175.000	1.137.603	1.203.730	1.291.785	1.289.732	1.245.856	1.194.865	1.222.878

ITEM	Abr-00		May-00		Jun-00		Jul-00		Ago-00		TOTAL	
	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL
Personal Profesional	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	1.091.500	0	0	0	0	27.281.500	27.281.500
Diag. Microbiológico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Publicaciones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Base Datos Dcmtos.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Administración	19.865	123.504	0	142.134	0	135.165	0	0	0	0	183.192	778.706
Imprevistos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Reiterización	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500	83.500	0	0	0	0	918.500	883.646
TOTAL	1.194.865	1.215.004	1.175.000	1.233.634	1.175.000	1.226.665	0	0	0	0	28.383.192	28.943.852

Ministerio de Agricultura
Fundación para la Innovación Agraria



FUNDACIÓN PARA EL DESARROLLO FRUTÍCOLA

PROGRAMADO / REAL APORTES TOTALES

ITEM	Jul-98		Ago-98		Sep-98		Oct-98		Nov-98		Dic-98		Ene-99	
	PPTO.	REAL												
Personal Profesional	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000
Diag. Microbiológico	1.619.202	1.730.888	902.586	913.909	1.871.656	443.107	1.140.078	2.300.000	2.375.000	2.604.407	2.127.725	2.354.007	2.479.400	3.498.701
Publicaciones	0	0	0	236.000	834.595	63.720	0	587.640	0	0	0	0	0	0
Base Datos Dcmto.	35.000	0	35.000	70.162	35.042	35.042	70.084	35.000	35.000	35.000	35.000	125.151	35.000	0
Administración	541.072	532.462	482.764	480.518	432.899	411.289	545.713	432.899	293.034	263.557	338.034	345.374	338.034	347.707
Imprevistos	215.273	0	147.889	0	190.918	0	139.944	0	173.813	0	136.275	0	225.600	0
Reitemización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	4.785.547	4.638.349	3.943.239	4.075.588	5.740.068	3.328.158	4.643.515	5.057.899	5.481.254	5.038.721	5.012.034	5.199.532	5.453.034	6.221.407

ITEM	Feb-99		Mar-99		Abr-99		May-99		Jun-99		Jul-99		Ago-99	
	PPTO.	REAL												
Personal Profesional	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.375.000	2.291.500	2.291.500
Diag. Microbiológico	2.840.040	4.287.500	3.457.360	6.105.400	2.321.620	1.641.500	2.118.760	2.300.000	2.375.000	1.577.800	965.300	0	0	0
Publicaciones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Base Datos Dcmto.	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0
Administración	338.034	345.433	338.034	344.192	293.034	311.938	263.699	293.934	279.735	243.474	304.119	279.735	234.730	274.105
Imprevistos	256.960	0	310.640	26.400	211.880	21.600	12.000	194.240	147.200	10.800	84.182	0	10.000	0
Reitemización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	83.500	729.429
TOTAL	5.845.034	7.007.933	6.516.034	8.850.992	5.236.534	4.350.038	4.133.899	4.414.735	3.594.574	2.773.917	2.679.119	2.654.730	2.654.730	3.295.034

ITEM	Sep-99		Oct-99		Nov-99		Dic-99		Ene-00		Feb-00		Mar-00	
	PPTO.	REAL												
Personal Profesional	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500
Diag. Microbiológico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Publicaciones	0	365.800	0	0	367.628	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Base Datos Dcmto.	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0	35.000	0
Administración	234.730	285.312	234.730	237.318	279.735	254.566	279.735	307.352	307.117	308.711	308.711	308.711	139.865	262.757
Imprevistos	10.000	0	10.000	0	41.968	0	10.000	0	10.000	0	10.000	0	10.000	0
Reitemización	83.500	0	83.500	0	83.500	0	83.500	0	83.500	0	83.500	0	83.500	0
TOTAL	2.654.730	2.942.612	2.654.730	2.528.818	3.099.331	2.546.066	2.699.735	2.763.162	2.898.804	2.654.732	2.692.520	2.559.865	2.616.566	2.616.566

ITEM	Abr-00		May-00		Jun-00		Jul-00		Ago-00		TOTAL	
	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL	PPTO.	REAL
Personal Profesional	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500	2.291.500
Diag. Microbiológico	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	56.081.500
Publicaciones	0	46.290	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25.995.612
Base Datos Dcmto.	35.000	0	35.000	15.482	35.000	15.155	0	0	0	0	0	1.202.223
Administración	139.865	247.008	120.000	284.267	135.000	270.329	0	0	0	0	0	840.000
Imprevistos	10.000	0	10.000	0	10.000	0	0	0	0	0	0	6.994.094
Reitemización	83.500	0	83.500	0	83.500	0	0	0	0	0	0	2.576.782
TOTAL	2.559.865	2.584.798	2.540.000	2.591.249	2.555.000	2.576.984	0	0	0	0	0	94.608.711

7- Difusión de los resultados obtenidos

7.1- Capacitación en técnicas de muestreo

Se llevaron a cabo 9 talleres denominados "Técnicas de muestreo aplicadas a la Industria Frutícola", destinados a capacitar al personal de control de calidad de las diferentes empresas en las técnicas y procedimientos de toma de muestras para análisis microbiológico, conforme al siguiente calendario:

Región	Fecha	Número de participantes	Empresas	Lugar
Quinta	18 Febrero 1998	8	Agrofrío, Dole, David del Curto, Chiquita Enza, Del Monte, Unifrutti	Dole San Felipe
Sexta	19 Febrero 1999	15	Agrofrío, Dole, Chiquita Enza, Fénix, Frusan, Lafrut, Tandem, Unifrutti Del Monte	Del Monte Requinoa
Séptima	20 febrero 1998	7	Copefrut, ICC, Frutasol, Del Monte, Vital berry	Copefrut – Curico
Metrop.	23 febrero 1998	8	Agrofrío, Dole, Chiquita Enza, Vital berry, Del Monte	Dole San Bernardo
Tercera	12 Nov. 1998	5	Agrícola UAC, David del Curto, Del Monte, Unifrutti	Unifrutti – Copiapó
Cuarta	6 Nov. 1998	7	Chiquita Enza, Del Monte, Unifrutti	Unifrutti – Coquimbo
Quinta y Metropolitana	11 Nov. 1998	11	Dole, ICC S.A., Chiquita Enza, David del Curto, Del Monte, Representaciones Internacionales	FDF Buin
Sexta y séptima	12 Nov. 1998	21	Agrofrío, Copefrut, Chiquita Enza, ICC S.A., David del Curto, Dole Del Monte, Frusan	Chiquita Enza-Graneros
Todas	16 Dic. 1999	16	Agricom, Córpora Agrícola, Del Monte, Fénix, Frutal, Frusan, Nafsa, Representaciones Internacionales	Bavaria Paine

En total fueron capacitados en las técnicas de muestreo microbiológico, 98 representantes de las empresas 20 empresas detalladas en la tabla.

7.2 Transferencia de metodología analítica

Los días 25 de Noviembre de 1998 y 13 de diciembre de 1999, se llevó a cabo el taller de dos sesiones de duración, denominado "Métodos Rápidos de análisis microbiológico para la Industria Frutícola", al cual asistieron en total 26 personas representando a las siguientes empresas detalladas en la tabla.

Los días consecutivos a la sesión teórica se efectuaron las sesiones prácticas, donde en el laboratorio de FDF se demostró los métodos de análisis utilizado, a grupos de 3 personas por sesión.

Región	Fecha	Número de participantes	Empresas	Lugar
Todas	25 Nov. 1998	15	Agrofrío, Copefrut, Dole, Chiquita Enza, David del Curto, Frutexport, ICC S.A., Unifrutti	Dole San Bernardo
Todas	13 Dic. 1999	11	Copefrut, Del monte, Hortifrut	FDF- Buin

En total fueron capacitadas 26 representantes de 10 empresas exportadoras

7.3 - Difusión

a- Charla a personas invitadas a EE.UU.

El día 20 de Abril de 1999 se llevó a cabo una charla en la Asociación de Exportadores donde se expusieron los resultados preliminares obtenidos hasta esa fecha, con el objeto de mostrar a los asistentes la realidad sanitaria actual de la fruta de exportación en el ámbito nacional. A la charla asistieron las personas invitadas a EE.UU. al taller "Enhancing the safety of Fresh Produce at the Source" organizado por el USDA y el FDA, en el cual se expusieron las direcciones a seguir por la Industria para reducir el riesgo microbiano en frutas y vegetales frescos y la posición de EE.UU. al respecto.

b- Tránsito de resultados preliminares

En Junio se realizó en las oficinas del FIA una reunión donde asistieron representantes del FIA, SNA, SAG, ASOEX A.G., FEDEFruta y FDF, en la cual se presentó un resumen de los resultados preliminares obtenidos en la prospección llevada a cabo durante los meses de Julio de 1998 a Abril de 1999.

Al final de la exposición de cada uno de los expositores se llevó a cabo una mesa redonda coordinada por el presidente de la ASOEX, Sr. Ronald Bown, donde los participantes hicieron preguntas y comentarios.



Octubre 08 de 1999

7.4 Conferencias

Se llevaron a cabo 9 charlas de transferencia a las que asistió un total de 639 personas. Cada asistente recibió un ejemplar de la Guía de Buenas Prácticas Agrícolas para el Sector Hortofrutícola de Exportación. En ellas se informó del contenido de la guía de buenas prácticas, y de los resultados obtenidos en la prospección llevada a cabo y que estaban relacionados con cada zona productiva en particular.

Ciudad	Fecha	Número de asistentes
Santiago	8 octubre	115
Copiapo	5 de noviembre	37
La Serena	12 noviembre	29
San Felipe	18 noviembre	108
Rancagua	25 de noviembre	69
Curico	26 de noviembre	71
Santiago	15 Junio 2000	99
Ovalle	22 Junio 2000	76
Quillota	29 Junio 2000	35



FUNDACION PARA EL DESARROLLO FRUTICOLA

A los seminarios antes detallados asistieron además, 29 representantes del sector público y 44 invitados del sector privado.

Las charlas dictadas en cada seminario fueron:

- Desafíos de la Industria Hortofrutícola de Exportación - Presidente ASOEX
- La guía de aplicación de los principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria - FDF
- Guía en el almacenaje, manejo y aplicación de los agrocomplementos - FDF
- La trazabilidad de los procesos y su importancia estratégica - FDF

Al final de cada sesión se efectuaron mesas redondas, en las cuales los participantes hicieron preguntas y comentarios que les permitieron aclarar sus dudas y aportar su experiencia.

En el anexo 2 se detalla el programa y expositores y en anexo 3 se detallan cada una de las charlas efectuadas.

A cada uno de los seminarios asistieron agricultores de cada zona y representantes de las siguientes empresas o sociedades.

Ciudad	Empresas o Sociedades asistentes
<p>Copiapo (Total = 17)</p>	<p>Inversiones del Pacífico, Soc. Agrícola Valle dorado, Comercial Río Blanco, Dole, Unifrutti, Agro Frío, Unión Comercial Unimesa, David del Curto, Deliber, Soc. Agrícola Buenaventura, Sergio Ruiz Tagle, Fundo Altar de la Virgen, Soc. Agrícola Francisco, Chiquita Enza, Jorge Schmidt, Oscar Prohen, Unión Comercial Unimesa</p>
<p>La Serena (Total = 14)</p>	<p>Chiquita Enza, David del Curto, Fisher South, Contador Frutos, Frutícola Nacional, Unifrutti, Paloma States, Soc. Agrícola Forestal San Ramón, Del Monte, Soc. Agrícola Copequen, Domingo Rojas, Compañía F.N., INIA, Wanda Prado de la Fuente</p>
<p>San Felipe (Total = 24)</p>	<p>Río Blanco, David de Curto, Del Monte, Dole, Agrícola El Molino, Agrofrutera GIOIA, Agrícola Santana, Agrícola Santa Ana Del Sauce, Talemú, Carlos Winkelman, Exser, Cerro Maulo, FOSIS, Unifrutti, Agrícola Fortaleza, Agrícola Brown, Hortofrutícola del Rosario, Asociación de Agricultores Los Andes, Topfrut, Agrícola Portezuelo, Dule, Renato Segura</p>
<p>Santiago (Total = 21)</p>	<p>Hortifrut, Aconex, Del Monte, Chiquita Enza, David del Curto, Unifrutti, Frutícola Colchile, Trinidad Exports, Agrofruta Pehuenche, Agrícola Brown, Cía Frutera Santa María, Agricom, Córpora Agrícola, Core, Comercial Eyzaguirre, Hacienda Chada, Nafsa, Exp. Santa Cruz, Exp. Agrícola Andes, Villa Alegre Fundo la Paloma, Soc. Agrícola Santa Teresita de Paine</p>
<p>Rancagua (Total = 17)</p>	<p>Dole, Del Monte, Agro Tuniche, Agrícola Vidal, Unifrutti, Cía Frutícola Alessandrini, Frutera San Fernando, Río Blanco, Agrobosques San Isidro, Suc. Joaquín Gaete, Chiquita Enza, Jorge Correa, Service Ltda, Fernando Oruestes, Caiquenes, Sofruco, Ramón Pastenes,</p>
<p>Curico (Total = 17)</p>	<p>Frutera Tucapel, Chiquita Enza, Frutícola Nacional, Dole, Unifrutti, Agrizano, Copefrut, Agroindustrial Soler, Villanova Servicios, Agrisouth Services, Agroindustrial Solfrut, Agrícola Manuel Santa María, Deshidratadora Las Acacias de Molina, La Fortuna S.A., Agríc. Sucesión Juan Mourá, Agríc. y Comercial Yerbas Buenas, David del Curto</p>
<p>Santiago (Total = 29)</p>	<p>Merex, Wiesner, Dole, Agrícola Frucol, fruit Model Chile, Manquehue Servicios, Soc. Agrícola La Capilla, Protecsa, Sara Rodríguez, Fruit América, David del Curto, Del Monte, Laboratorio Quality Insurance, Agrícola Ponderosa, Topfrut, Agrícola Las fresas, Terramater, Escuela Agrícola Las Garzas, Geoservice, Unifrutti, Copefrut, Serv. Frío Teno, Fruta Sur, Exp. Nova Terra, Rucaray, Agrocap, Agrícola Los Eucaliptos, Agricom, Agromax, más independientes</p>
<p>Ovalle (Total = 18)</p>	<p>Agrícola San Jorge, Siglo XXI, Del Monte, INIA Limarí, Exser, Rafael Prohems, Contador frutos, Senel Velez, Agrícola Guayaquil, Sub Sole, Aconex, 1º de Abril Chile, Agrícola, Sicos, Agrícola Atunguay, Atún Huayco, Unifrutti, Tanaya SA, Soc. Agrícola Caru, más independientes</p>
<p>Quillota Total = 6)</p>	<p>Unifrutti, Agrícola Montolin, Facultad de Agronomía Universidad Católica de Valparaíso, Agrícola Nadco, Universidad Católica de Aconcagua, SAG, más independientes</p>

En dicha reunión se informó el nivel de contaminación obtenida en las muestras de frutas, aguas y manipuladores obtenidas a la fecha y se comentó las implicancias que estos resultados habían tenido para el sector exportador, el cual ya estaba tomando medidas para minimizar los niveles obtenidos.

c- Preparación de material audiovisual

Para llevar a cabo las charlas de BPA, realizadas en las diferentes regiones se preparó material visual (en Power Point, ver anexo 2), e incluyó en ellas los siguientes videos:

Asegurando Productos Sanosj. elaborado por el FDA
Calibración de Unidades Aplicadoras de Agroquímicos
Seguridad en el Uso de Agroquímicos- Universidad de Idaho

Todo este material en su conjunto constituye material audio visual e incluye cada uno de los aspectos de importancia en el tema Higiene e Inocuidad Alimentaria, insertos en el programa de BPA.

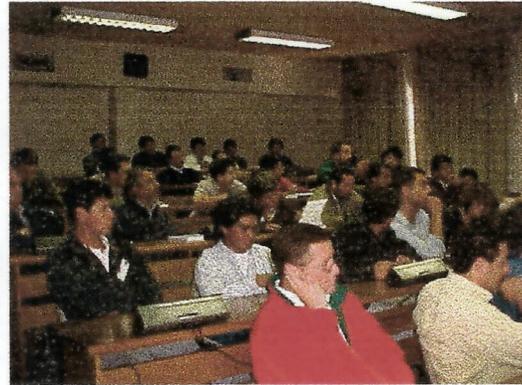
d- Presentación de la Guía

La Guía de Buenas Practicas Agrícolas para el sector Hortofrutícola de Exportaciónj fue presentada y entregada en forma oficial a los asistentes en un acto que se efectuó el día 8 de octubre de 1999, en el auditorio del Estadio del Banco Central de Chile, donde participó el Ministro de Agricultura Sr. Angel Sartori, la directora subrogante del FIA Sra. Macarena Vio, el director del SESMA Metropolitano Sr. Mauricio Ilabaca, el presidente de la Asociación de Exportadores Sr. Ronald Bown, e invitados pertenecientes a las siguientes organizaciones: ODEPA, Sociedad Nacional de Agricultura, FEDEFRUTA, SAG, USDA-APHIS, INTA, Facultad de Agronomía Universidad de Chile, Facultad de Agronomía Universidad Católica, INIA, FEPACH, SESMA, Ministerio de Salud, INDAP, ASOEX, INTA y FDF entre otros.

A este evento asistieron 30 invitados (autoridades y prensa), 85 participantes correspondientes a personal técnico de las exportadoras y agricultores y 6 profesionales de FDF.



Seminario Copiapo - 1999



Seminario La Serena - 1999



Seminario San Felipe - 1999



Seminario Rancagua 1999



Seminario Curico -1999



Seminario Santiago -2000

Se reiniciaron los seminarios de transferencia durante la temporada 2000, con una reunión en Santiago, a la cual asistió el Ministro de Agricultura Sr. Jaime Campos, la directora del FIA Sra. Margarita D Ètigny, el Presidente de la Asociación de Exportadores A.G. Sr. Ronald Bown, Sra. Lorena Contreras en representación del Director del SESMA e invitados pertenecientes a las siguientes organizaciones: Fedefruta y SAG



Seminario Ovalle- 2000



Seminario Quillota 2000



Posteriormente se realizaron 4 seminarios de “Higiene e Inocuidad de los Alimentos”, a solicitud de FEDEFruta y ASOEX, con un programa orientado específicamente a presentar los resultados e implementación de medidas de prevención por parte de los productores y packing.

28 de Agosto - Copiapó	18 representantes de las empresas más importantes
29 de Agosto - La Serena	Organizado por la Asociación de productores de la 4 ^{ta} región. Asistieron 160 personas.
31 de Agosto - Curicó	Organizado por la Asociación de Productores de la Séptima Región. Fruséptima. Asistieron 150 personas
7 Septiembre- Recinto ferial FISA de Maipú. XVI Convención Nacional de Productores de Frutas	Asistieron 180 personas.



FUNDACION PARA EL DESARROLLO FRUTICOLA

Adicionalmente se repitieron las charlas a diversos grupos de productores organizados a través de los Grupos de Transferencia (G.T.T.) de la Sociedad Nacional de Agricultura (S.N.A.).

G.T.T. – Mallarauco Melipilla 29 septiembre 2000	30 productores
G.T.T. Región Metropolitana Santiago 2 de Octubre del 2000	16 productores

Por otra parte se efectuaron estas charlas a productores de las siguientes empresas exportadoras de frutas

Del Monte- Requinoa Diciembre 1999	50 productores de uva de la sexta región
Aconex- San Felipe 17 de agosto del 2000	25 productores de la zona

7.5 Interacción con organismos del Ministerio de Salud

Se interactuó con el personal del SESMA, en la emisión de sugerencias y comentarios relacionados con la lista de chequeo que este organismo elaboró para utilizar en la presente temporada, donde se incluyen aspectos de la normativa sanitaria a cumplir y lista de chequeo de elementos a ser evaluados durante la fiscalización. Se incluye el formulario antes mencionado.

A solicitud del SESMA se entregó a este organismo una copia de la conferencia "La Guía de Aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria "

8- Conclusiones y recomendaciones

8.1- Conclusiones

1.- Los resultados obtenidos en el proyecto, permiten concluir que en lo que respecta a características microbiológicas y en particular en la ausencia de *Salmonella* sp., la fruta chilena cumple con la reglamentación vigente, específicamente con el Reglamento Sanitario de los Alimentos, el cual está elaborado acorde con el Codex Alimentarius.

2.- Sin embargo, los resultados también permiten concluir que existe un 3% de frutas con contaminación por *Escherichia coli*. Este microorganismo es un indicador directo de contaminación fecal y por lo tanto es un indicador del riesgo de contaminación a la fruta por otras bacterias que pueden causar enfermedades al consumidor. El riesgo radica que en cualquier descuido en las condiciones de manejo, proceso o transporte en que se está produciendo este 3% de fruta, se pueden producir contaminaciones con microorganismos patógenos.

3.- Conjuntamente con lo anterior, existe un importante porcentaje (52.1%) de muestras de frutas contaminadas por coliformes totales. Si bien estos microorganismos no son causantes directos de enfermedades al consumidor, esta contaminación es importante tanto porque alcanza un gran porcentaje de las muestras analizadas, como a la vez, es un indicador de condiciones sanitarias e higiénicas inadecuadas.

4.- Las principales fuentes de contaminación detectadas por este proyecto radican en:

- El uso de agua, específicamente el agua del pozo de vaciado, duchas de lavado y de aplicación de DPA en pomáceas.
- Otra fuente importante de contaminación se detectó en las aplicaciones de ceras y fungicidas que se efectúan en ciruelas, nectarines, duraznos, peras y manzanas.

Las especies que presentaron mayor nivel de contaminación con *Escherichia coli* corresponden a carozos (ciruelas, cerezas y nectarines), espárragos y peras, que tienen en común el tratamiento con agua y/o algún tipo de ceras y fungicidas, lo cual refuerza la necesidad de mejorar las condiciones de higiene del proceso en esas etapas.

5.- Coincidentemente con el nivel de contaminación de fruta con *Escherichia coli* que alcanzó al 3%, también el 3% de los manipuladores analizados presentaron este microorganismo. Por el diseño del proyecto, no fue posible establecer si existe correlación entre estos dos resultados. Sin embargo se puede concluir que los manipuladores pueden ser fuente de *Escherichia coli* y coliformes totales (encontrados en el 31.6% de los manipuladores analizados), por lo cual se requiere continuar mejorando la infraestructura para el lavado frecuente de manos del personal, antes de iniciar su trabajo, especialmente después del uso de servicios higiénicos, y fomentar en gran escala la capacitación en materia de higiene a los manipuladores.

6.- Las superficies de las máquinas y equipos utilizados durante el embalaje no presentan niveles importantes de contaminación y según los resultados, se descartan como fuentes principales de contaminación a la fruta. Sin embargo, no deben ser descuidadas y se deben elaborar programas de higiene y sanitización de plantas, donde se describa en detalle, la frecuencia y método de limpieza e higienización requeridos.

7.- De acuerdo a los resultados y como manera de prevención para mantener la Inocuidad de la fruta producida en el país, las empresas exportadoras deben tomar todas las medidas necesarias para eliminar aquellas fuentes de contaminación por *Escherichia coli* y a la vez reducir al máximo la contaminación por coliformes totales.

A la fecha gran parte de los centros de embalaje han tomado medidas para mantener y/o mejorar las condiciones higiénicas del personal y de los sitios de trabajo, para prevenir así la contaminación de la fruta. Sin embargo, aún se requiere efectuar un trabajo adicional para que los packings pequeños y medianos puedan tomar medidas correctivas en sus instalaciones.

8.- Este proyecto, como diagnóstico del estado de inocuidad e higiene de la fruta nacional, concluye que es necesario elaborar y difundir los aspectos técnicos que sustentan las Buenas Prácticas Agrícolas y las Buenas Prácticas de Fabricación (Aplicables en el caso de packings), especialmente para los productores y packings medianos y pequeños, a fin que puedan tomar las acciones correctas para obtener fruta de buena calidad y segura para el consumidor.

9.- Además de la necesidad de establecer y difundir el uso de Buenas Prácticas, es recomendable establecer algún sistema que permita efectuar un seguimiento, que bajo un enfoque de asistencia técnica les permita a los productores y embaladores, mejorar en forma continua sus condiciones referidas a Inocuidad e Higiene Alimentaria.

10.- Los kit de métodos rápidos utilizados en el proyecto para la determinación de *Escherichia coli* y coliformes totales, en muestras de aguas, frutas, superficies, ceras, fungicidas y manipuladores, son efectivos y cumplen con las exigencias establecidas de facilidad de uso y rapidez.

De acuerdo a las evaluaciones realizadas en el proyecto los que mejor se comportaron con cada sustrato fueron:

- Frutas, superficies y manipuladores: Placas Petrilim de 3 M
- Aguas: Filtración por membrana de Sartorius y Colilert de Idexx
- Ceras y fungicidas- Simplate de Idexx

11.- El mercado de kit rápidos para determinación de microorganismos es muy dinámico y en la actualidad hay disponible en el mercado nacional varios métodos para la determinación de *Salmonella* en alimentos. Entre los probados en este proyecto fue validado el método Bind de Idexx en frutas, que podría ser utilizado para el análisis de *Salmonella* en frutas.

12.- Existen diferentes alternativas en el mercado nacional de métodos rápidos para la determinación de *Escherichia coli* O 157:H7, los que deben ser validados para los sustratos específicos de este rubro, especialmente para aquellos que presentaron problemas tales como ceras y fungicidas.

Recomendaciones

1.- Al finalizar este proyecto, y frente al creciente nivel de exigencias por parte del mercado internacional, los esfuerzos efectuados en esta investigación no pueden concluir aquí.

Se requiere continuar con una serie de acciones para que los agricultores y los exportadores, especialmente los de tamaño pequeño y mediano puedan contar con herramientas que les permitan ser competitivos en el mundo de la Inocuidad e Higiene. Entre estas herramientas se puede mencionar la necesidad de elaborar Guías de Aplicación Técnica de Buenas Prácticas y su difusión, acompañadas con asistencia a través de Seguimientos Técnicos y Protocolos de Registro.

Por ello es recomendable continuar con la línea de trabajo que este proyecto ha generado, a fin de permitir a la Industria Frutícola Chilena poder continuar entregando productos confiables al mercado internacional.

2.- Las Buenas Prácticas Agrícolas y la Inocuidad Alimentaria que ellas involucran, también requieren una gran dosis de capacitación. Esta necesidad debe ser traspasada a todo nivel en la cadena de producción, embalaje y transporte, a fin de lograr el conocimiento y el convencimiento en todo el personal que participa en ella.

3.- Se estima necesario que este proyecto pueda ser efectuado nuevamente en alrededor de tres años más, con varios objetivos:

- Medición del avance del sector frutícola nacional en cuanto a Inocuidad e Higiene en Chile,
- Probablemente utilizar herramientas de control microbiológico, más precisas que puedan desarrollarse durante este período.
- Focalizarse en el control de los microorganismos patógenos que esté controlando el FDA y en las especies de mayor susceptibilidad.
- Incorporar más especies hortícolas.
- Mantener vigente la preocupación del sector sobre estas materias.

9. ANEXOS

Anexo 1

DETALLE METODOS RAPIDOS

Método Petri Film Coliform Count 3M en fruta fresca:

a) Reactivos:

Agua peptonada - 10 gr./lt.

Agua destilada estéril

Alcohol al 70%

b) Materiales:

Estufa de esterilización

Autoclave a 121°C

Estufa de cultivo, regulable a 35°C

Balanza de precisión

Contador de colonias

Pipetas 1 ml.

Frascos Schott

Bolsas plásticas estériles

Petrifilm 3 M Coliform Count Plates

Vasos precipitados de 1 lt.

Varillas de agitación

Espátula

Vidrio de reloj

c) Preparación de agua peptonada:

Disolver 10 gr de peptona en 1 lt de agua destilada, dispensar en frascos Schott de 1 lt y esterilizar en autoclave a 121°C, durante 15 min. Identificar con la fecha de esterilización y conservar refrigerados.

d) Recepción de las muestras:

Las bolsas con las muestras se deben sacar de la caja de aislapol en un área limpia, separada del área de siembras y clasificar de acuerdo al origen y fecha de muestreo. Cuando no es posible analizarlas inmediatamente se deben mantener refrigeradas en sus bolsas originales sin abrir.

Las muestras a ser analizadas fueron codificadas y registradas en la planilla del laboratorio.

e) Manejo de las muestras recepcionadas:

Las bolsas se abrieron en el área de trabajo estéril y traspasó la mitad de los frutos a bolsas estériles, dejando las contramuestras refrigeradas e identificadas hasta finalizar el análisis.

f) Lavado de la fruta :

La fruta de cada bolsa se pesó en la balanza digital descontando el peso de la bolsa, para luego agregar igual cantidad de agua peptonada al 10%, en una relación 1:1. Se agitó por dos minutos para homogeneizar y retirar los microorganismos ubicados en la superficie de los frutos.



g) Siembra:

De cada bolsa se tomó 1 ml con una pipeta estéril, el que fue sembrado en una placa Petrifilm 3 M Coliform Count Plate. Cada muestra fue analizada en duplicado conforme al siguiente procedimiento:

- Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana.
- Levantar el film superior, con una pinza estéril.
- Colocar 1 ml de muestra en el centro de la placa del film inferior.
- Bajar el film superior con cuidado, evitando introducir burbujas de aire.
- Con la cara lisa hacia abajo colocar el aplicador en el film superior sobre el inoculo, y presionar el aplicador para repartir el inoculo sobre el área circular.
- Levantar el aplicador y esperar un minuto para que el gel solidifique.
- Identificar cada placa en el extremo superior con el código de la muestra al cual pertenecía.



h) Incubación:

Las placas Petrifilm se incubaron en una posición horizontal, cara arriba, durante 24 a 48 horas a 35°C.

i) Recuento:

Después de la incubación se contó las colonias a las 24 y a las 48 horas, según el siguiente criterio.

- ☼ Coliformes totales - Colonias rojas asociadas a burbujas de gas.
- ☼ *Escherichia coli* - Colonias azules asociadas a producción de gas.

El resultado de ambos recuentos se informó como unidades formadoras de colonias por gr.

j) Informe de análisis:

Los análisis se registraron en un informe que contenía los siguientes datos:

- ☼ Código de muestra
- ☼ Tipo de muestra
- ☼ Fecha de análisis
- ☼ Peso neto de la muestra
- ☼ Temperatura de incubación
- ☼ Recuentos a la 24 y 48 horas

Cuando se detectó en una muestra *Escherichia coli*, se envió la contramuestra a CESMEC para análisis de Salmonella.

b) Preparación de las placas:

Abrir la bolsa y sacar las placas que se utilizarán. Marcar las placas indicando el número de muestra y fecha. Los Pads deben ser hidratados con 3 a 3.5 ml. de agua destilada estéril.

c) Análisis de muestras de agua por filtración:

- ☉ Armar el equipo de filtración, colocando la trampa de agua entre la bomba y el matraz Kitazato receptor del filtrado.
- ☉ Antes de filtrar esterilizar el embudo y el portafiltro adicionado alcohol al 70% al interior del embudo y filtrar posteriormente. Flamear el embudo tanto en la zona interior como donde se ubicará la membrana. Este procedimiento se debe realizar entre cada filtración que se lleve a cabo.
- ☉ Esterilizar una pinza por flameo, tomar la membrana y colocarla sobre el portafiltro con la parte cuadrículada hacia arriba, retirar el disco protector antes de cerrar el embudo de filtración.
- ☉ Agregar agua tamponada para dilución a la membrana para humedecerla, filtrándola bajo vacío parcial.
- ☉ Agitar la muestra y vaciar 100 ml en el embudo de filtración.
- ☉ Filtrar la muestra a vacío. Lavar el embudo con el filtro de membrana con tres porciones de 20 a 30 ml de agua de dilución estéril, aplicando vacío.
- ☉ Una vez filtrada levantar el embudo y sacar la membrana con la pinza estéril, y colocarlo con la parte cuadrículada hacia arriba sobre la placa de agar m-Endo LES correspondiente.
- ☉ El mismo equipo de filtración se puede usar en forma sucesiva para un número máximo de 30 muestras, siempre y cuando no se interrumpa el proceso de filtración por un período mayor a 30 minutos.

k) Validación:

Con el objeto de validar la técnica utilizada cada 100 análisis se envió una contramuestra a CESMEC, para recuento de *coliformes* y *Escherichia coli*.

Método Petrifilm en Manipuladores y Superficies

Sacar con una pipeta estéril 1 ml del tubo que contiene la muestra tomada en terreno e inocular cada placa Petrifilm conforme al procedimiento detallado para las muestras de fruta, (procedimientos indicados en los puntos c a k).



Método de filtración por Membrana para Análisis de Agua

a) Materiales y reactivos

- ☉ Estufa de esterilización a 180°C.
- ☉ Estufa de cultivo a 35°C.
- ☉ Contador de colonias.
- ☉ Frascos Schott de 250 ml.
- ☉ Matraz Kitazato de 1 lt.
- ☉ Embudo de filtración por membrana.
- ☉ Bomba de vacío.
- ☉ Minisart, trampa de agua.
- ☉ Jeringa dosificadora.
- ☉ Pinzas de bordes lisos, estériles.
- ☉ Membranas de ésteres de celulosa polimerizados cuadrículadas estériles, de 47 mm de diámetro y 0.45 μm de porosidad.
- ☉ Filtro para jeringa, minisart estériles de 0.2 μm .
- ☉ Placas de medio cultivo NKS Pads, Agar M-Endo.

d) Incubación:

Incubar las placas en posición invertida, durante 24 horas en la estufa de incubación a 35°C.

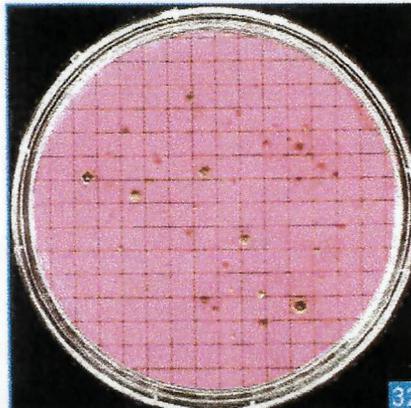


e) Recuento:

El recuento de colonias puede hacerse con un contador de colonias.

Medio de cultivo d agar m-Endo LES:

- ☉ Coliformes totales = colonias rojas (37°C)
- ☉ *Escherichia coli* = Usualmente con brillo metálico (37°C)



c) Interpretación de resultados:

En el cuadro se presentan la forma de interpretación de los resultados una vez que la muestra se ha incubado por 24 horas.

COLOR DE LA MUESTRA	RESULTADOS
Muestra transparente	< a 1 NMP/100 ml. de muestra
Muestra amarilla	Coliformes totales
Muestra amarilla y fluorescente	<i>Escherichia coli</i>

Para determinar coliformes totales, contar los tubos amarillos e ir a la tabla de NMP específica para el método. Para cuantificar *Escherichia coli*, contar los tubos fluorescentes al aplicar UV e ir a la misma tabla de NMP específica para el método.

Los resultados se expresan como NMP/100 ml.

d) Eliminación

Los tubos deben ser eliminados esterilizando en autoclave a 121°C, por 30 min.



Simplate test de Ideex d Método desarrollado para determinar coliformes totales y *Escherichia coli* en muestras de alimentos.



FUNDACION PARA EL DESARROLLO FRUTICOLA

f) Eliminación:

Después de su uso las placas contendrán colonias viables, por lo cual deben ser eliminadas autoclavando durante 30 minutos a 121°C.

Otros métodos para determinación de coliformes totales y *Escherichia coli*

Colilert de Ideex Laboratories Inc.– Método desarrollado para detectar selectivamente coliformes totales y *Escherichia coli* en aguas.

a) Equipos y Materiales:

- ⊗ Estufa de cultivo, regulable a 35°C.
- ⊗ Frasco estéril de 100 ml, con tiosulfato de sodio al 10 % m/v.
- ⊗ Lámpara UV de 365 nm.
- ⊗ Medio de cultivo Colilert.

b) Método:

- ⊗ Adicionar 2 envases de Colilert en 200 ml de agua destilada estéril
- ⊗ Agitar
- ⊗ Traspasar el medio de cultivo preparado en 15 tubos de 10ml c/u
- ⊗ En los primeros 5 tubos adicionar 10ml de muestra.
- ⊗ En los 5 tubos siguientes adicionar 1ml de muestra
- ⊗ Adicionar 1ml de muestra a 9ml de agua estéril, traspasar 1ml de esta dilución a los 5 tubos restantes.
- ⊗ Incubar por 24 horas a 35°C ± 0,5 ° C
- ⊗ Cuantificar los tubos positivos.

a) Equipos y Materiales:

- ☉ Estufa de cultivo, regulable a 35°C.
- ☉ Medio de cultivo Simplat.
- ☉ Placa Simplat.
- ☉ Lámpara UV de 365 nm.
- ☉ Matraz con 100 ml de agua destilada estéril.

b) Método:

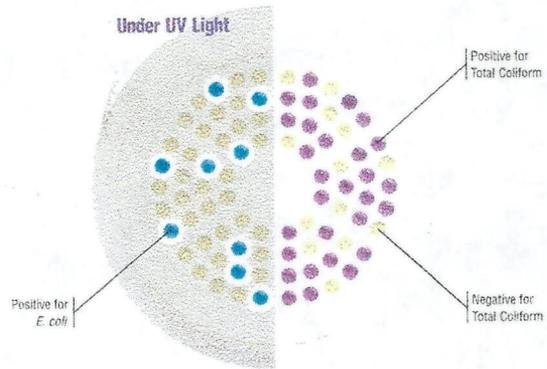
- ☉ Adicionar el medio Simplat deshidratado en 100 ml de agua estéril.
- ☉ Tapar y agitar hasta disolver completamente.
- ☉ Retirar la tapa de la placa Simplat y dispensar 1 ml de la muestra en el centro de la placa.
- ☉ Adicionar 9 ml del medio Simplat, preparado previamente en el centro de la placa.
- ☉ Tapar la placa.
- ☉ Distribuir la mezcla en las celdas, con movimientos circulares.
- ☉ Para eliminar las burbujas de aire, inclinar la placa unos 30°.
- ☉ Botar el exceso de líquido.
- ☉ Incubar las placas invertidas durante 24 horas a 37°C.
- ☉ Leer los resultados.

c) Interpretación de resultados:

En el cuadro se presentan la forma de interpretación de los resultados una vez que la muestra se ha incubado por 24 horas.

COLOR DE LA MUESTRA	RESULTADOS
Muestra amarilla	< 1 NMP/gr de muestra
Muestra roja	Coliformes totales
Muestra azul fluorescente	<i>Escherichia coli</i>

Para determinar coliformes totales, contar las celdas rojas e ir a la tabla de NMP específica para el método. Para cuantificar *Escherichia coli*, contar los tubos fluorescentes al aplicar UV e ir a la misma tabla de NMP específica para el método.



Los resultados se expresan como NMP/gr.

d) Eliminación:

Los tubos deben ser eliminados esterilizando en autoclave a 121°C, por 30 min.

Métodos para determinación de Salmonella

Bind de Ideex Laboratories Inc.

a) Materiales y métodos técnica Bind:

- ☼ Equipos y Materiales
- ☼ Estufa de esterilización a 180°C
- ☼ Autoclave a 121°C
- ☼ Estufa de cultivo, regulable a 35 °C ± 0,5°C.
- ☼ Agua de peptona tamponada al 0,1 %
- ☼ Medio de pre-enriquecimiento
- ☼ Pipetas estériles
- ☼ Rack de tubos de ensayo Bind
- ☼ Agitador vortex
- ☼ Bind super cooler
- ☼ Tapas Bind
- ☼ Micropipeta de 1250 µl

- b) Preparación de la muestra:
- b.1) Preparación y esterilización del agua peptonada:
- ⊗ Preparar peptona tamponada según las indicaciones del fabricante.
 - ⊗ Dispensar la solución en frascos Schott de 1l., marcándolos con la fecha y cinta indicadora de esterilización.
 - ⊗ Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
 - ⊗ Una vez esterilizados, los frascos deben conservarse refrigerados.
- b.2) Preparación de dilución de la fruta:
- ⊗ Pesar la muestra en una bolsa estéril.
 - ⊗ Agregar la cantidad de agua peptonada tamponada equivalente al peso de la muestra.
- b.3) Mezclar u homogenizar la muestra:
- ⊗ Agitar por 2 minutos como mínimo, con el objeto que el agua peptonada arrastre de la superficie de la muestra los microorganismos que ésta pueda contener.
- c) Pre-enriquecimiento:
- ⊗ Preenriquecer la muestra preparada en los pasos 2 y 3, incubando a 35-37 °C por 18 a 22 horas.
- d) Procedimiento de análisis:
- ⊗ Diluir 1 ml de la muestra preenriquecida, en 9ml. de agua peptonada tamponada estéril, preparada según las instrucciones del fabricante.
 - ⊗ Agitar bien en vortex.
 - ⊗ Adicionar 500 µl de muestra a un tubo BIND blanco (testigo).
 - ⊗ Adicionar 500 µl de muestra en un tubo BIND rosado.
 - ⊗ Colocar el código de la muestra a cada tubo.
 - ⊗ Agitar los tubos para disolver los reactivos.
 - ⊗ Dejar los tubos a temperatura ambiente (20-25 °C) por 2,5 horas. No mezclar ni agitar durante ese periodo de tiempo.
 - ⊗ Llenar las ocho celdas de la primera fila de la bandeja con 50 µl cada una de muestra proveniente del tubo de ensayo blanco (testigo).
 - ⊗ Llenar las ocho celdas de la segunda fila con muestra proveniente del tubo de ensayo rosado. En cada celda se adicionan 50 µl de muestra.

- ⦿ Cada bandeja posee 12 filas con 8 celdas cada una. Cada fila representa a una muestra.
- ⦿ Una vez completado el muestreo, o bien cuando se han llenado las 12 filas, sellar la bandeja con la tapa correspondiente.
- ⦿ Colocar la bandeja en el supercooler Bind durante 20 minutos a $-9,3^{\circ}\text{C}$.
- ⦿ Retirar la bandeja y anotar el número de celdas naranja positivo de cada una de las filas en la planilla de resultados.
- ⦿ Registrar las lecturas.
- ⦿ Leer la tabla y comparar con la tabla patrón.
- ⦿ Las muestras positivas deben ser sembradas en agar de enriquecimiento, para iniciar los protocolos de confirmación.

e) Resultados:

Negativo

El resultado es negativo si sólo 0 o 1 de las celdas de la columna correspondiente a la muestra, son naranjas. Este resultado indica que **No Hay** Salmonella presente, o está bajo el umbral de detección del método (1 ufc/ 25 gr. de muestra).

Sospechoso Positivo

Si dos o más celdas de la columna correspondiente a la muestra son naranjas y el número de celdas positivas del testigo es menor o igual al número de celdas positivas de la muestra.

f) Confirmación:

Las muestras sospechoso positivas deben ser inoculadas en un agar de enriquecimiento selectivo.

- ⦿ Inocular 100 μl de la muestra preenriquecida preparada en el punto 4, en 10 ml. de medio de cultivo Rappaport- Vassiliadis (RV).
- ⦿ Incubar a 42°C , por 18 a 24 horas.
- ⦿ Inocular 1 ml. de la muestra preenriquecida en agua peptonada (indicada en paso 4 del punto 4.5.2.2), en 9 ml. de medio Selenito Cistina (SC) .
- ⦿ Incubar a $35-37^{\circ}\text{C}$, por 18 a 24 horas.
- ⦿ Mezclar volúmenes iguales de los dos medios selectivos de enriquecimiento ya incubados. Dos ml. de cada uno.
- ⦿ Tomar 1 ml. de esta mezcla y repetir el procedimiento de análisis indicado en el punto 5.
- ⦿ Realizar cada análisis en duplicado.

Nota: Durante la etapa de Confirmación es necesario tomar mayores precauciones dada la probabilidad de estar trabajando con Salmonella.

g) Resultados:

Los resultados se expresan como Presencia o ausencia de Salmonella.

h) Eliminación:

Seguir el procedimiento de eliminación convencional, es decir esterilizar en autoclave a 121°C por 30 min.

Inmunobead Salmonella test de VICAM

a) Materiales y métodos:

Equipos y Materiales

- ☉ Estufa de esterilización a 180°C.
- ☉ Autoclave a 121°C.
- ☉ Estufa de cultivo, regulable a 35°C ± 0,5°C.
- ☉ Rack Magnético.
- ☉ Rotador de captura.
- ☉ Medio de pre-enriquecimiento.
- ☉ Pipetas estériles de 100 µl.
- ☉ Asas de inoculación.
- ☉ Filtro.
- ☉ Embudo filtración.
- ☉ Pipetas 2 ml.

Suministrados en el kit

- ☉ Tubos de captura
- ☉ Anticuerpos policlonales para Salmonella
- ☉ Tampón de reacción
- ☉ Tampón de aglutinación. Referencia positiva
- ☉ Laminas para ver las reacciones de aglutinación
- ☉ Papel filtro 150 mm
- ☉ Tampón de captura (10X fosfato salino tamponado)

b) Preparación de la muestra:

b.1) Preparación y esterilización del medio de pre-enriquecimiento:

- ☉ Preparar el medio de cultivo en Triptona de Soya según las indicaciones del fabricante.
- ☉ Dispensar la solución en frascos Schott de 1l., marcándolos con la fecha y cinta indicadora de esterilización.
- ☉ Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
- ☉ Una vez esterilizados, los frascos deben conservarse refrigerados.

b.2) Preparación de dilución de la fruta:

- ☉ Seguir el protocolo detallado en el punto a) método petrifilm.
- ☉ Tomar 25ml. de la solución de lavado, Adicionar 225ml. del medio de enriquecimiento.

b.3) Mezclar u homogenizar la muestra:

- ☉ Agitar por 2 minutos como mínimo, con el objeto que el agua peptonada arrastre de la superficie de la muestra los microorganismos que ésta pueda contener.

c) Pre-enriquecimiento:

- ☉ Preenriquecer la muestra preparada en los pasos 2 y 3, incubando a 37°C por 16 horas.

d) Procedimiento de análisis:

- ☉ Filtrar y transferir 2ml. a las celdas de captura.
- ☉ Adicionar 100 µl de Salmonella Inmunobead a cada celda.
- ☉ Colocar las celdas de captura en el rotador de captura a velocidad media (15 r.p.m.), durante 1 hora a temperatura ambiente.
- ☉ Colocar las celdas en el rack magnético. Dejar actuar 10 min.
- ☉ Aspirar el líquido de las celdas. No dejar que se sequen pues pueden ser eliminadas las Salmonella.
- ☉ Lavar dos veces con tampón de captura cada celda para retirar los otros microorganismos. Salmonella queda adherida a la pared.

- ⊗ Volver a poner las celdas en el rack magnético y esperar 5 min. Para que los magnetos recapturen el Inmunobead. Cuando se han segregado, repetir 4 a 6 veces más. Lavar por segunda vez.
- ⊗ Aspirar el líquido de lavado final.
- ⊗ Resuspender inmediatamente el sólido remanente en 0.1 ml de tampón de captura.
- ⊗ Esparcirlo en las placas de agar (por estrías), con un asa en agar XLD y Rambach
- ⊗ Incubar las placas 16 a 22 horas a 37°C.
- ⊗ Si no se observan colonias negras el resultados es negativo y el ensayo ha finalizado.
- ⊗ Si hay colonias negras se debe realizar el ensayo de confirmación.

e) Confirmación:

- ⊗ Adicionar 1 gota de tampón de reacción en uno de los círculos de la carta.
- ⊗ Picar 3 a 5 colonias negras (positivos-presuntos) y resuspenderlas en el tampón de reacción de la carta.
- ⊗ Añadir una gota de SAL de verificación en diferentes lugares del circulo con la muestra.
- ⊗ La muestra positiva se prepara añadiendo 1 gota del test de aglutinación positivo y 1 gota del tampón de aglutinación de referencia positivo. La muestra negativa se prepara adicionando una gota de SAL y una gota del tampón de reacción.
- ⊗ Para iniciar la reacción de aglutinación se mezclan las muestras y referencias con el respectivo cama de látex.
- ⊗ Incubar 2 min a temperatura ambiente, girando la carta.
- ⊗ Comparar las muestras aglutinadas con el patrón de referencia.
- ⊗ Las muestras negativas no aglutina y las positivas aglutinan.

f) Resultados:

Los resultados se expresan como Presencia o ausencia de Salmonella.

g) Eliminación:

Seguir el procedimiento de eliminación convencional, es decir esterilizar en autoclave a 121°C por 30 min.

Reveal Salmonella de Neogen

a) Equipos, Materiales y Reactivos

1. Suministrados con el producto:

- ⊗ Dispositivo Reveal para Salmonella.
- ⊗ Pipeta de transferencia desechable.
- ⊗ Reactivo "mejorado" (un gotario con medio Selenito-Cistina).
- ⊗ Bolsa Stomacher.
- ⊗ Vaso de precipitado.
- ⊗ Frasco de medio Selenito- Cistina (concentración 2X).
- ⊗ Frasco de medio Revive.

2. No suministrados con el producto:

- ⊗ Mezcladora de alta velocidad, máquina Stomacher (mezclador peristáltico) o equivalente.
- ⊗ Incubadora para temperaturas de 37° C y 43 ± 2° C.
- ⊗ Autoclave.
- ⊗ Cronómetro.
- ⊗ Balanza.
- ⊗ Bolsa Stomacher.
- ⊗ 250 g de muestra.
- ⊗ 400 ml. de agua esterilizada.

Métodos

a) Preparación del medio:

- ⊗ En el vaso precipitado, calentar 200 ml de agua estéril a 43° C, en la incubadora.
- ⊗ Transferir el contenido de un frasco de medio Revive a la bolsa Stomacher provista y agregar el agua recalentada.
- ⊗ Cerrar la bolsa.
- ⊗ Tomar la bolsa suavemente a 5 - 7 cm del borde superior, sostenerla por debajo y mezclar vigorosamente hasta que el medio se disuelva (aproximadamente durante 1 minuto).

- b) Preparación de la muestra:
- Seguir el protocolo detallado en el punto a) método petrifilm.
 - Agregar 25 ml de la muestra dentro de la bolsa Stomacher que contiene el medio Revive.
 - Cerrar la bolsa.
 - Mezclar por 2 minutos.
 - Cerrar la bolsa, no herméticamente porque el intercambio de aire es vital para un óptimo crecimiento celular.
 - Incubar la bolsa a 37° C durante 2 h.
- c) Reconstitución:
- En el vaso plástico precipitado, calentar 200 ml de agua estéril a 43° C, en la incubadora.
 - Transferir el contenido de un frasco de medio de enriquecimiento Selenito-Cistina a una bolsa Stomacher y agregar el agua precalentada. Cerrar la bolsa.
 - Tomar la bolsa suavemente a 5 - 7 cm del borde superior, sostenerla por debajo y mezclar vigorosamente hasta que el medio se disuelva (aproximadamente durante 1 minuto).
- d) Enriquecimiento:
- Sacar de la estufa de incubación la bolsa provista con el medio Revive y la muestra.
 - Agregar a la misma bolsa los 200ml. del medio de enriquecimiento reconstituido.
 - Tomar la bolsa suavemente a 5 - 7 cm del borde superior, sostenerla por debajo y mezclar suavemente con un movimiento de lado a lado.
 - Cerrar la bolsa (no herméticamente).
 - Incubar a $43 \pm 2^\circ$ C durante 18 h.
- e) Procedimiento de análisis con Reveal:
- Permitir que el dispositivo Reveal alcance la temperatura ambiente (aproximadamente 25° C) antes de abrir el sobre.
 - Tomar un dispositivo y colocarlo sobre una superficie plana.
 - Sacar la muestra de la incubadora y agitarla suavemente.
 - Con una pipeta de transferencia desechable, colocar 3 gotas de la muestra en la ventana circular del dispositivo.
 - De inmediato luego que la muestra sea absorbida, con el gotario, agregar una gota del reactivo "mejorado" en la misma ventana.
 - Observar los resultados dentro de los 20 min. No leerlos después.

f) Interpretación:

- ⊗ Resultado positivo: línea en las zonas C y T.
- ⊗ Resultado negativo: línea en la zona C, pero no en la zona T.
- ⊗ Resultado no válido: no aparece línea en la zona C.

g) Eliminación:

Seguir el protocolo de eliminación detallado en los puntos anteriores

Transia Card Salmonella de Diffchamb.

Procedimiento:

Se siguió el método adecuado para preparar el medio de enriquecimiento provisto por el kit, disolviéndolo en agua estéril en un tubo de ensayo.

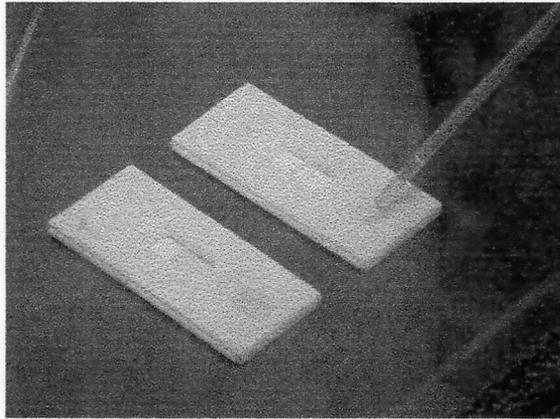
En lugar de agregar la muestra, se inoculó el medio con una cepa pura de Salmonella Tiphymurium, proporcionada por el Laboratorio de Microbiología de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Se incubó esta mezcla a 43° C durante 6 h.

Después de la incubación, el tubo de ensayo fue calentado a baño María por 20 minutos. Luego se dejó enfriar el tubo hasta temperatura ambiente, colocándolo bajo un chorro de agua fría, como aparece en la fotografía.



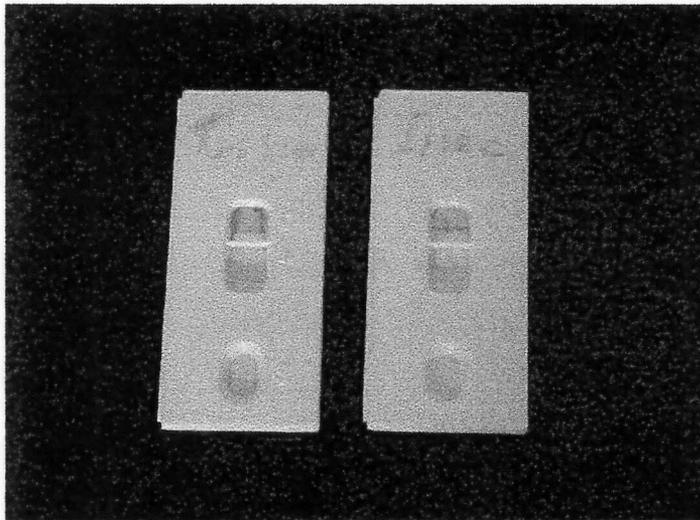
Se sacaron los dispositivos Transia de refrigeración, para que alcanzaran la temperatura ambiente. Se abrieron 2 dispositivos, se colocaron en una superficie plana y se dispensaron, como se observa en la foto, con las pipetas de transferencia, 3 gotas de los siguientes componentes en cada dispositivo:

- Dispositivo No. 1: medio de cultivo.
- Dispositivo No. 2: medio de cultivo inoculado con Salmonella Tiphymurium.



Luego de más de 30 minutos, aunque recomendaba esperar mucho menos tiempo, se registraron los siguientes resultados de la prueba:

- Dispositivo No. 1: prueba negativa.
- Dispositivo No. 2: prueba negativa.



Como se ve en la foto, los resultados no fueron los esperados, porque en el dispositivo No.1, no se observó la presencia de una línea suficientemente marcada como para establecerla como resultado positivo. La tarjeta no cumplió las expectativas.

Métodos para determinación de *Escherichia coli* O 157: H7 Neogen Reveal (8 horas)

Equipos, Materiales y Reactivos:

1. Suministrados con el producto:
 - ⊗ Dispositivo Reveal para *Escherichia coli* O157:H7.
 - ⊗ Pipeta de transferencia desechable.
 - ⊗ Frasco de medio Reveal 8 horas.

2. No suministrados con el producto:
 - ⊗ Mezcladora de alta velocidad, máquina Stomacher (mezclador peristáltico) o equivalente.
 - ⊗ Incubadora capaz de mantenerse a $43 \pm 1^\circ \text{C}$.
 - ⊗ Baño de agua hirviendo o equivalente.
 - ⊗ Refrigerador.
 - ⊗ Autoclave.
 - ⊗ Cronómetro.
 - ⊗ Balanza.
 - ⊗ Pipeta estéril de 5 ml.
 - ⊗ Bolsa Stomacher.
 - ⊗ Tubo de ensayo de 13 x 100 mm.
 - ⊗ Probeta graduada de 250 ml.
 - ⊗ 225 ml. de agua esterilizada.

Métodos

1. Preparación del medio:
 - ⊗ En la probeta graduada, calentar 225 ml de agua estéril a 43°C , en la incubadora.
 - ⊗ Transferir el contenido de un frasco de medio Reveal 8 horas a una bolsa Stomacher y agregar el agua a 43°C . Cerrar la bolsa. No rehidratar más de 6 horas antes de su uso.
 - ⊗ Tomar la bolsa suavemente a 5-7 cm del borde superior, sostenerla por debajo y mezclar vigorosamente durante 1 minuto hasta que el medio se disuelva.

2. Preparación de la muestra:

- Seguir el protocolo detallado en el punto a) método petrifilm.
- Agregar 125 ml de la muestra dentro de la bolsa Stomacher que contiene 125 ml del medio Reveal. Cerrar la bolsa y colocar la bolsa en la máquina Stomacher. Mezclar por 2 minutos a velocidad normal.
- Cerrar la bolsa, no herméticamente porque el intercambio de aire es vital para un óptimo crecimiento celular.
- Incubar la muestra a 43° C durante 8 h.
- Tomar la bolsa a 5- 7 cm del borde superior, sostener la base y mezclar el contenido con movimientos de lado a lado.

3. Tratamiento de la muestra:

- Usando una pipeta estéril, transferir 5 ml a un tubo de ensayo.
- Colocar el tubo en un baño de agua hirviendo: 20 min. (tubo de polipropileno) o 10 min. (tubo de vidrio).
- Retirar el tubo del agua y dejarlo enfriar a temperatura ambiente (aproximadamente 25° C), o acelerar el proceso colocando el tubo en agua fría.

4. Procedimiento de análisis:

- Mantener los dispositivos refrigerados a 4-8° C, sin congelar.
- Permitir que la muestra preparada y los dispositivos alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos.
- Tomar un dispositivo Reveal para *Escherichia coli* 0157:H7 de los envases sellados. Colocar el dispositivo sobre una superficie plana e identificarlo apropiadamente.
- Apretar el bulbo de la pipeta de transferencia y colocar la punta dentro de la muestra. Soltar el bulbo para que se llene la porción tubular de la pipeta.
- No agitar la muestra con ningún tipo de movimiento ni provocar la resuspensión de las partículas sedimentadas en la base de la muestra.
- Solamente tomar la parte líquida y sin sedimento.
- Mantener la pipeta de transferencia vertical sobre la ventana de muestra del dispositivo y dispensar 4 gotas sobre la misma.

- Luego de 15 a 20 minutos, observar y registrar los resultados de la prueba. Las observaciones luego de 20 minutos podrían ser imprecisas, debido a una sobreexposición del dispositivo.

5. Interpretación:

- Resultado positivo: línea en las zonas C y T.
- Resultado negativo: línea en la zona C, pero no en la zona T.
- Resultado no válido: no aparece línea en la zona C.

6. Confirmación de positivos:

La confirmación de un resultado presuntivo positivo debe establecerse utilizando un método aprobado por USDA/FSIS o por el Manual Analítico Bacteriológico (BAM) para la detección de *Escherichia coli* 0157:H7.

7. Eliminación:

- Autoclavar a 15 psi y 121° C durante 1 hora.
- Dispositivos y pipetas pueden ser tirados a la basura.
- Desechar el líquido en el desagüe junto con agua corriente.

8. Procedimiento ensayo realizado:

Se siguió el método adecuado para preparar el medio, calentando 225 ml de agua estéril a 43° C en un matraz de 250 ml. Luego se disolvió el contenido de un frasco de medio Reveal 8 horas en el matraz.

En lugar de agregar la muestra, se inoculó el medio con una cepa pura de la bacteria, proporcionada por el Instituto de Salud Pública de Chile. Se incubó esta mezcla en el matraz a 43° C durante 8 h. Después de la incubación, se transfirieron 10 ml a un tubo de ensayo, como muestra la fotografía.



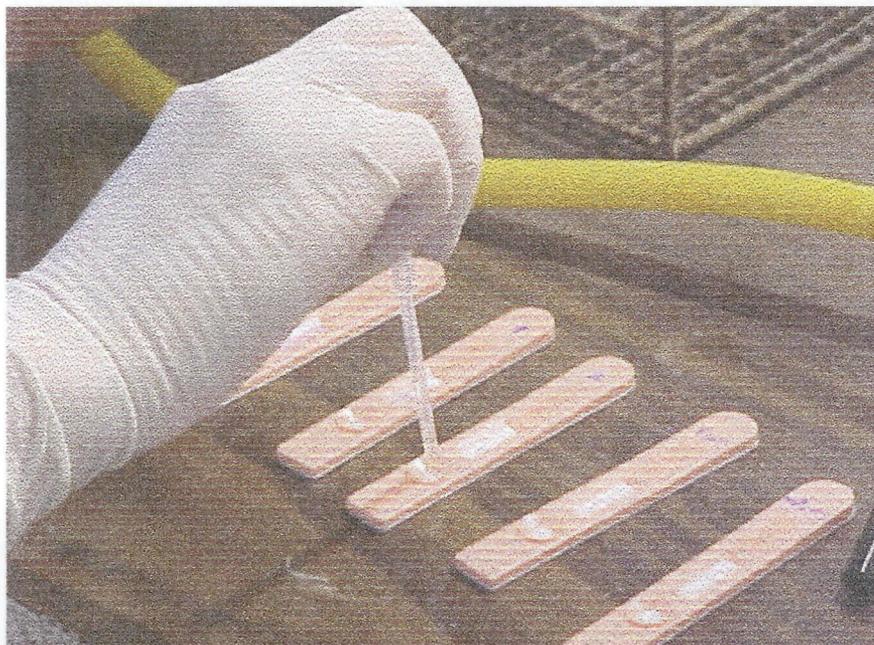
El sistema fue calentado a baño María por 10 minutos, como se observa en la siguiente foto:



Luego se dejó enfriar el tubo hasta temperatura ambiente, colocándolo bajo un chorro de agua fría.

Se sacaron los dispositivos Reveal de refrigeración, para que alcanzaran temperatura ambiente. Se abrieron 5 dispositivos, se colocaron en una superficie plana y, como se ve en la fotografía, se dispensaron, con las pipetas de transferencia, 4 gotas de los siguientes componentes en cada dispositivo:

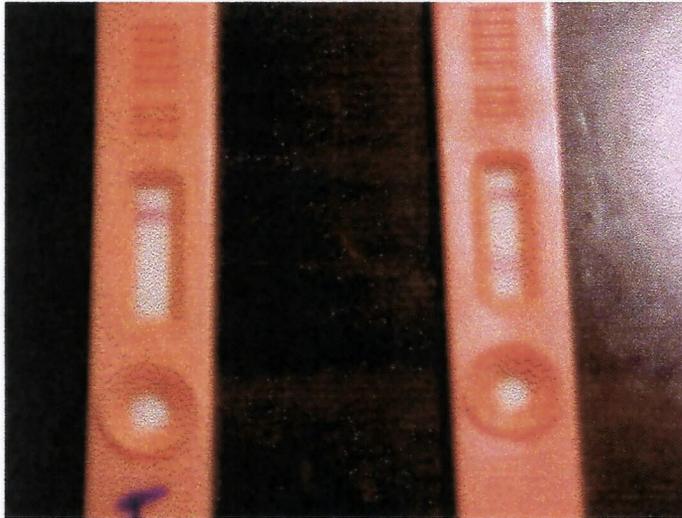
- Dispositivo No. 1: agua esterilizada.
- Dispositivo No. 2: medio Reveal.
- Dispositivo No. 3: medio Reveal inoculado con *Escherichia coli* O157: H7.
- Dispositivo No. 4: medio Reveal inoculado con *Escherichia coli* O157: H7.
- Dispositivo No. 5: medio Reveal inoculado con *Salmonella* Tiphymurium.



Luego de 15 a 20 minutos, se registraron los siguientes resultados de la prueba:

- Dispositivo No. 1: prueba negativa.
- Dispositivo No. 2: prueba negativa.
- Dispositivo No. 3: prueba positiva.
- Dispositivo No. 4: prueba positiva.
- Dispositivo No. 5: prueba negativa

Por lo tanto, se comprobó la correcta lectura de la tarjeta.



En la fotografía, se observa, a la izquierda, una prueba negativa (sólo la línea control se marca); a la derecha, una prueba positiva (líneas control y de prueba se marcan).

Confirmación de positivos:

Los cultivos enriquecidos presuntamente positivos deben ser verificados mediante plaqueo a partir del medio Revive en medios descritos en el BAM o procedimientos del FSIS, dependiendo del tipo de materias primas.

Por ejemplo, utilizando técnicas apropiadas, pasar del Revive (RV, SC) a placas de XLD (Xilosa Lisina Deoxicolato), Sulfito de Bismuto (BS) y Hektoen (He). Luego incubar estas placas a 37° C por 24 h. Observar las colonias típicas de Salmonella en dichas placas. Si no hay colonias presentes en el medio BS, incubar por 24 h adicional y reexaminar el crecimiento.

Inocular las colonias sospechosas en Agar inclinado de Hierro Triple azúcar y Hierro Lisina para caracterización bioquímica del aislamiento.



Eliminación:

- Autoclavar los dispositivos, pipetas y medios utilizados a 15 psi y 121° C durante 1 hora.

Meridian Immuno Card Stat!

a) Equipos, Materiales y Reactivos:

1. Suministrados con el producto:

- Equipo de inmuno tarjeta Stat para *Escherichia coli* O157:H7.
- Pipeta de transferencia.
- Control positivo (*Escherichia coli* O157:H7 inactivas en solución de azida de sodio al 0.094%).
- Control negativo (*Escherichia coli* O157:H12 inactivas en solución de azida de sodio al 0.094 %).

2. No suministrados con el producto:

- Mezcladora de alta velocidad, máquina Stomacher (mezclador peristáltico) o equivalente.
- Incubadora capaz de trabajar a 21-25° C y 43° C.
- Autoclave.
- Cronómetro.
- Balanza.
- Par de guantes estériles.
- 2 Bolsas Stomacher.
- Vaso precipitado de 250 ml.
- 8,75 g de medio de enriquecimiento MacConkey
- 250 ml. de agua esterilizada.

b) Métodos

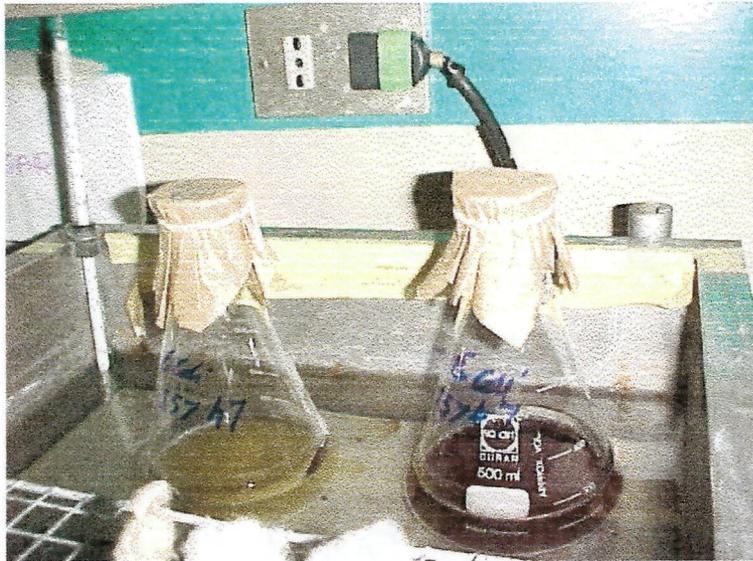
1. Preparación del medio de enriquecimiento:

- Con la balanza, pesar 8,75 g de medio de enriquecimiento MacConkey.
- En una bolsa Stomacher, disolver el medio de enriquecimiento en 250 ml. de agua esterilizada.
- Tomar la bolsa suavemente a 5- 7 cm del borde superior, sostenerla por debajo y mezclar vigorosamente hasta que el medio se disuelva. Esterilizar en autoclave.

2. Preparación de la muestra:

- ☼ Seguir el procedimiento establecido en el punto a) método petrifilm.
- ☼ Agitar bien.
- ☼ Colocar la bolsa en la máquina Stomacher. Mezclar por 2 minutos a velocidad normal.
- ☼ Cerrar la bolsa.
- ☼ Incubar esta mezcla por 20 a 24 horas a 43° C.

En el ensayo llevado a cabo en lugar de agregar la muestra, se inoculó el medio con una cepa pura de la bacteria, proporcionada por el Instituto de Salud Pública de Chile. Como aparece en la fotografía, se incubó esta mezcla en el matraz a 43° C durante 20-24 h.



3. Procedimiento de análisis:

- ☼ Con la pipeta de transferencia, agregar 3 gotas de muestra (aproximadamente 100 μ l) a una inmuno tarjeta Stat, correspondiente a la segunda línea desde la punta de la pipeta de transferencia.
- ☼ Incubar a 21-25° C por 10 min.
- ☼ Leer el resultado en la ventana de la tarjeta.

Después de la incubación, se transfirieron 10 ml a un tubo de ensayo. Se sacaron las tarjetas Meridian de refrigeración, para que alcanzaran temperatura ambiente. Se abrieron 4 dispositivos, se colocaron en una superficie plana y se dispensaron, como muestran las fotos, con las pipetas de transferencia, 3 gotas de los siguientes componentes en cada dispositivo:

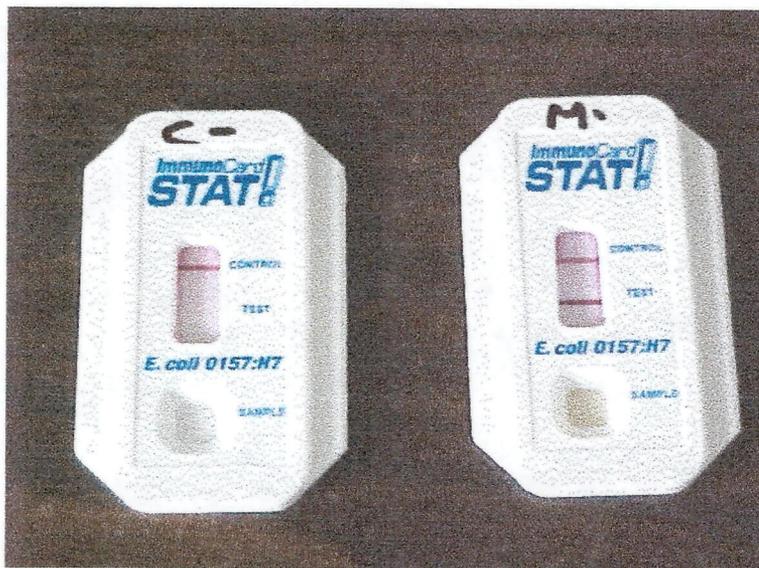
- Dispositivo No. 1: medio MacConkey.
- Dispositivo No. 2: medio MacConkey inoculado con *Escherichia coli* O157:H7.
- Dispositivo No. 3: control positivo de la tarjeta.
- Dispositivo No. 4: control negativo de la tarjeta.



Luego de muy poco tiempo, aunque se recomendaba esperar hasta 10 minutos, se registraron los siguientes resultados de la prueba:

- Dispositivo No. 1: prueba negativa.
- Dispositivo No. 2: prueba positiva.
- Dispositivo No. 3: prueba positiva.
- Dispositivo No. 4: prueba negativa.

Así, se comprobó la correcta lectura de la tarjeta, cuyo control positivo fue incluso menos intenso que el resultado en el dispositivo No 2.



Se observa en la fotografía, una prueba negativa, a la izquierda, y una positiva, a la derecha.

4. Interpretación:

- ⊗ Resultado positivo: línea rojo- morada en las zonas C y T.
- ⊗ Resultado negativo: línea rojo- morada en la zona C, pero no en la zona T.
- ⊗ Resultado no válido: no aparece línea en la zona C.

5. Confirmación de positivos:

La confirmación de un resultado presuntivo positivo debe establecerse utilizando un método aprobado por USDA/FSIS o por el Manual Analítico Bacteriológico (BAM) para la detección de *Escherichia coli* O157:H7.5.

6. Controles positivos y negativos:

Son controles de equipamiento a efectuarse antes del protocolo. No es necesario realizarlos más de una vez por suministro. Consisten en:

- ☉ Con una pipeta de transferencia, agregar 3 gotas de control positivo a una tarjeta Immuno Stat.
- ☉ Análogamente, agregar 3 gotas de control negativo a otra tarjeta.
- ☉ Tomar precauciones, porque los componentes de estos controles son irritantes para la piel.
- ☉ Leer el resultado en la ventana de la tarjeta.

Las líneas observadas deberían aparecer como las correspondientes a un resultado positivo o negativo.

7. Expresión de resultados:

Se expresan como presencia- ausencia

8. Eliminación:

Autoclavar todo a 15 psi y 121° C durante 1 hora.

Transia card *Escherichia coli* O 157: H7- Diffchamb

Equipos, Materiales y Reactivos

1. Suministrados con el producto:

- ☉ Equipo de tarjeta Transia para *Escherichia coli* O157: H7
- ☉ Pipeta de transferencia

2. No suministrados con el producto:

- ☉ Mezcladora de alta velocidad, máquina Stomacher (mezclador peristáltico) o equivalente.
- ☉ Incubadora capaz de mantenerse a $41,5 \pm 1^\circ$ C.
- ☉ Baño de agua hirviendo o equivalente.
- ☉ Autoclave.
- ☉ Cronómetro.
- ☉ Balanza.
- ☉ 2 Bolsas Stomacher.
- ☉ Tubo de 5 ml, resistente a 100° C.
- ☉ Pipeta esterilizada de 1 ml.
- ☉ EC + Novobiocina (20 mg/l).
- ☉ 250 ml de agua esterilizada.

Métodos

1. Preparación del medio de enriquecimiento:

- Con la balanza, pesar 8,75 g de medio de enriquecimiento EC + Novobiocina.
- En una bolsa Stomacher, disolver el medio de enriquecimiento en 250 ml de agua esterilizada, medido en un vaso precipitado.
- Tomar la bolsa suavemente a 5- 7 cm del borde superior, sostenerla por debajo y mezclar vigorosamente hasta que el medio se disuelva.

2. Preparación de la muestra:

- Según procedimiento establecido para fruta.
- Pesar 250 gr. de fruta, adicionar 250 ml. de peptona tamponada, Agitar bien
- Tomar 25 ml. de esta submuestra y adicionar 250 ml. de medio de enriquecimiento. Cerrar la bolsa.
- Colocar la bolsa en la máquina Stomacher. Mezclar por 2 minutos a velocidad normal.
- Cerrar la bolsa, no herméticamente porque el intercambio de aire es vital para un óptimo crecimiento celular.
- Incubar a $41,5 \pm 1^\circ \text{C}$ por 20-24 h.
- Tomar la bolsa a 5- 7 cm del borde superior, sostener la base y mezclar el contenido con movimientos de lado a lado.
- Con una pipeta esterilizada, extraer 1 ml de cultivo.
- Traspasar el cultivo a un tubo de ensayo resistente al calor y llevarlo 100°C por 20 min., en el baño de agua hirviendo.
- Retirar el tubo del agua hirviendo y dejarlo enfriar hasta temperatura ambiente (aproximadamente 25°C), o acelerar el proceso colocando el tubo en agua fría.

3. Procedimiento de análisis:

- Manualmente, agitar el tubo de ensayo.
- Con una pipeta de transferencia, sacar del tubo 4 gotas de muestra (aproximadamente $150 \mu\text{l}$) y colocarlas en la ventana S de la tarjeta Transia. Mantener la pipeta en posición vertical
- Incubar a temperatura ambiente por 5-10 min.
- Leer los resultados en la ventana C, T de la tarjeta.

4. Interpretación:

- ⊗ Resultado positivo: línea rojo-moradas en las zonas C y T.
- ⊗ Resultado negativo: línea rojo-morada en la zona C, pero no en la zona T.
- ⊗ Resultado no válido: no aparece línea en la zona C.

5. Confirmación de positivos:

La confirmación de un resultado presuntivo positivo debe establecerse utilizando un método aprobado por USDA/FSIS o por el Manual Analítico Bacteriológico (BAM) para la detección de *Escherichia coli* 0157:H7.

6. Eliminación:

- ⊗ Autoclavar todo a 15 psi y 121° C durante 1 hora.

7. Resultados:

Los resultados se expresan como ausencia o presencia. Requieren confirmación

ANEXO 2



SEMINARIO : Higiene e Inocuidad en la Industria Frutícola de Exportación

Organizan : Asociación de Exportadores de Chile, A.G. y Fundación para el Desarrollo Frutícola
Auspicia : Fundación para la Innovación Agraria del Ministerio de Agricultura.
Lugar : Auditorio del Estadio Banco Central de Chile – Av. Príncipe de Gales 6030 – La Reina
Fecha : Viernes 8 de octubre de 1999.

PROGRAMA

8:30 – 9:00 Registro de los Participantes y Entrega Publicaciones

9:00 – 9:50 Ceremonia Inaugural

1. Palabras de Bienvenida . Sr. Anthony Wylie W. – Presidente de FDF
2. Palabras del Sr. Ministro de Agricultura .
3. Desafíos de la Industria Frutícola de Exportación
Ronald Bown F. – Presidente de ASOEX
 - Las Buenas Prácticas Agrícolas .
 - Demandas de los Consumidores (Supermercados) y Acciones de los Estados (USA,UK)
 - Agenda de Pesticidas y otras publicaciones de ASOEX
 - Capacitación especializada
 - Promoción – Imagen País
4. 9:50 – 10:00 CAFÉ
5. 10:00 – 10:45
La Guía de aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria.
Sr. Ricardo Adonis – Jefe del Proyecto ASOEX-FDF-FIA
 - Microorganismos posibles de contaminar fruta fresca y sus efectos.
 - La contaminación microbiológica y su prevención. Uso de la Guía.
 - Principales puntos de contaminación en el proceso de la producción y embalaje .
 - Acciones Preventivas.
 - Video “Asegurando Productos Sanos” (FDA-USA).
6. 10:45 – 11:15
Guía en el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos
Sr. Jorge Saavedra J. – Miembro del equipo agronómico de F.D.F.
 - Uso óptimo de agroquímicos
 - Estructuración de programas fitosanitarios
 - Calibración de equipos
 - Eliminación de envases

7. 11:15 – 11:45

Charla representante de SESMA

8. 11:45 – 12:15

La Trazabilidad de los procesos . Su importancia comercial y estratégica.

Sr. Edmundo Araya A. – Director General de FDF

- La responsabilidad por el producto
- Procesos documentados
- Aprender de los errores o fallas
- Cuadernos de Campo y Packing
- Garantía de Calidad

9. 12:15 – 13:00

Mesa Redonda

Coordina : Sr.Miguel Canala-Echeverría – Gerente General ASOEX

- Acciones de la ASOEX y Conclusiones
- Preguntas de los asistentes al Panel.

Panel : Sr. Ronald Bown F. , Edmundo Araya A.,Ricardo Adonis , Jorge Saavedra J. y Representante SESMA.

Cada asistente recibirá las siguientes publicaciones : Guía para la aplicación de los principios de Higiene e Inocuidad de los Alimentos . Guía para el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos . Legislación y Reglamentos relacionados con la Higiene Alimentaria e Inocuidad Alimentaria. Cuaderno de Registros de Campo para la Producción Frutícola.

CONSULTAS : Fono : (2) 821 5995

INSCRIPCIONES : Sólo vía Fax . (2) 821 6004



SEMINARIO : Higiene e Inocuidad en la Industria Frutícola de Exportación

- Organizan : Asociación de Exportadores de Chile, A.G. y Fundación para el Desarrollo Frutícola
Auspicia : Fundación para la Innovación Agraria del Ministerio de Agricultura.
Lugar : Salón José Joaquín Vallejos – Intendencia Regional (III Región) –
Calle Colipí S/N° - Costado Biblioteca Pública de Copiapó.
Fecha : Viernes 5 de noviembre de 1999.

PROGRAMA

- 8:30 – 9:00 Registro de los Participantes y Entrega Publicaciones
9:00 – 9:50 Ceremonia Inaugural

1. Palabras de Bienvenida . Sr.Edmundo Araya A. – Director General de FDF
2. Palabras del Sr. Secretario Ministerial de Agricultura III Región don Maximiliano Baeza
3. Desafíos de la Industria Frutícola de Exportación
Ronald Bown F. – Presidente de ASOEX
 - Las Buenas Prácticas Agrícolas .
 - Demandas de los Consumidores (Supermercados) y Acciones de los Estados (USA,UK)
 - Agenda de Pesticidas y otras publicaciones de ASOEX
 - Capacitación especializada
 - Promoción – Imagen País
4. 9:50 – 10:00 CAFÉ
5. 10:00 – 10:45
La Guía de aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria.
Sr. Ricardo Adonis – Jefe del Proyecto ASOEX-FDF-FIA
 - Microorganismos posibles de contaminar fruta fresca y sus efectos.
 - La contaminación microbiológica y su prevención. Uso de la Guía.
 - Principales puntos de contaminación en el proceso de la producción y embalaje .
 - Acciones Preventivas.
 - Video “Asegurando Productos Sanos” (FDA-USA).
6. 10:45 – 11:15
Guía en el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos
Sr. Jorge Saavedra J. – Miembro del equipo agronómico de F.D.F.
 - Uso óptimo de agroquímicos
 - Estructuración de programas fitosanitarios
 - Calibración de equipos
 - Eliminación de envases

7. 11:15 – 11:45

Charla del Servicio de Salud de la Región

8. 11:45 – 12:15

La Trazabilidad de los procesos . Su importancia comercial y estratégica.

Sr. Edmundo Araya A. – Director General de FDF

- La responsabilidad por el producto
- Procesos documentados
- Aprender de los errores o fallas
- Cuadernos de Campo y Packing
- Garantía de Calidad

9. 12:15 – 13:00

Mesa Redonda

Coordina : Sr.Miguel Canala-Echeverría – Gerente General ASOEX

- Acciones de la ASOEX y Conclusiones
- Preguntas de los asistentes al Panel.

Panel : Sr. Ronald Bown F. , Edmundo Araya A.,Ricardo Adonis , Jorge Saavedra J. y
Representante Servicio de Salud de la Región.

Cada asistente recibirá las siguientes publicaciones : Guía para la aplicación de los principios de Higiene e Inocuidad de los Alimentos . Guía para el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos . Legislación y Reglamentos relacionados con la Higiene Alimentaria e Inocuidad Alimentaria. Cuaderno de Registros de Campo para la Producción Frutícola.

Valores : \$ 5.000 Socios F.D.F

\$ 8.000 Público en general

CONSULTAS : Fono : (2) 821 5995

INSCRIPCIONES : Sólo vía Fax . (2) 821 6004



SEMINARIO : Higiene e Inocuidad en la Industria Frutícola de Exportación

Organizan : Asociación de Exportadores de Chile, A.G. y Fundación para el Desarrollo Frutícola
Auspicia : Fundación para la Innovación Agraria del Ministerio de Agricultura.
Lugar : Salón Peñuelas – Hotel Costa Real, Avda. Francisco de Aguirre 170, La Serena.
Fecha : Viernes 12 de noviembre de 1999.

PROGRAMA

8:30 – 9:00 Registro de los Participantes y Entrega Publicaciones
9:00 – 9:50 Ceremonia Inaugural

1. Palabras de Bienvenida . Sr. Edmundo Araya. – Director General de FDF
2. Palabras del Sr. Director Regional del SAG Ing. Agr. don Juan Carlos Silva
3. Desafíos de la Industria Frutícola de Exportación
Ronald Bown F. – Presidente de ASOEX
 - Las Buenas Prácticas Agrícolas .
 - Demandas de los Consumidores (Supermercados) y Acciones de los Estados (USA,UK)
 - Agenda de Pesticidas y otras publicaciones de ASOEX
 - Capacitación especializada
 - Promoción – Imagen País
4. 9:50 – 10:00 CAFÉ
5. 10:00 – 10:45
La Guía de aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria.
Sr. Ricardo Adonis – Jefe del Proyecto ASOEX-FDF-FIA
 - Microorganismos posibles de contaminar fruta fresca y sus efectos.
 - La contaminación microbiológica y su prevención. Uso de la Guía.
 - Principales puntos de contaminación en el proceso de la producción y embalaje .
 - Acciones Preventivas.
 - Video “Asegurando Productos Sanos” (FDA-USA).
6. 10:45 – 11:15
Guía en el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos
Sr. Jorge Saavedra J. – Miembro del equipo agronómico de F.D.F.
 - Uso óptimo de agroquímicos
 - Estructuración de programas fitosanitarios
 - Calibración de equipos
 - Eliminación de envases

7. 11:15 – 11:45

Charla representante del Servicio de Salud de la Región

8. 11:45 – 12:15

La Trazabilidad de los procesos . Su importancia comercial y estratégica.

Sr. Edmundo Araya A. – Director General de FDF

- La responsabilidad por el producto
- Procesos documentados
- Aprender de los errores o fallas
- Cuadernos de Campo y Packing
- Garantía de Calidad

9. 12:15 – 13:00

Mesa Redonda

Coordina : Sr.Miguel Canala-Echeverría – Gerente General ASOEX

- Acciones de la ASOEX y Conclusiones
- Preguntas de los asistentes al Panel.

Panel : Sr. Ronald Bown F. , Edmundo Araya A.,Ricardo Adonis , Jorge Saavedra J. y Representante Servicio de Salud.

Cada asistente recibirá las siguientes publicaciones : Guía para la aplicación de los principios de Higiene e Inocuidad de los Alimentos . Guía para el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos . Legislación y Reglamentos relacionados con la Higiene Alimentaria e Inocuidad Alimentaria. Cuaderno de Registros de Campo para la Producción Frutícola.

Valores : \$ 5.000 Socios F.D.F

\$ 8.000 Público en general

CONSULTAS : Fono : (2) 821 5995

INSCRIPCIONES : Sólo vía Fax . (2) 821 6004



SEMINARIO : Higiene e Inocuidad en la Industria Frutícola de Exportación

Organizan : Asociación de Exportadores de Chile, A.G. y Fundación para el Desarrollo Frutícola
Auspicia : Fundación para la Innovación Agraria del Ministerio de Agricultura.
Lugar : Auditorio de la Gobernación de San Felipe – Merced 219, 8° piso, San Felipe.
Fecha : Jueves 18 de noviembre de 1999.

PROGRAMA

8:30 – 9:00 Registro de los Participantes y Entrega Publicaciones

9:00 – 9:50 Ceremonia Inaugural

1. Palabras de Bienvenida . Sr. Edmundo Araya A. – Director General de FDF
2. Desafíos de la Industria Frutícola de Exportación
Ronald Bown F. – Presidente de ASOEX
 - Las Buenas Prácticas Agrícolas .
 - Demandas de los Consumidores (Supermercados) y Acciones de los Estados (USA,UK)
 - Agenda de Pesticidas y otras publicaciones de ASOEX
 - Capacitación especializada
 - Promoción – Imagen País
3. Palabras del Sr. Secretario Ministerial de Agricultura de la V Región Sr. Sergio Ibaceta M.
4. 9:50 – 10:00 CAFÉ
5. 10:00 – 10:45
La Guía de aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria.
Sra. Ana María Godoy de la Vega – Proyecto ASOEX-FDF-FIA
 - Microorganismos posibles de contaminar fruta fresca y sus efectos.
 - La contaminación microbiológica y su prevención. Uso de la Guía.
 - Principales puntos de contaminación en el proceso de la producción y embalaje .
 - Acciones Preventivas.
 - Video “Asegurando Productos Sanos” (FDA-USA).
6. 10:45 – 11:15
Guía en el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos
Sr. Jorge Saavedra J. – Miembro del equipo agronómico de F.D.F.
 - Uso óptimo de agroquímicos
 - Estructuración de programas fitosanitarios
 - Calibración de equipos
 - Eliminación de envases

7. 11:15 – 11:45

Charla del Dr. Germán Bachler - Servicio de Salud del Ambiente de San Felipe y Los Andes.

8. 11:45 – 12:15

La Trazabilidad de los procesos . Su importancia comercial y estratégica.

Sr. Edmundo Araya A. – Director General de FDF

- La responsabilidad por el producto
- Procesos documentados
- Aprender de los errores o fallas
- Cuadernos de Campo y Packing
- Garantía de Calidad

9. 12:15 – 13:00

Mesa Redonda

Coordina : Sr. Edmundo Araya A.

Panelistas: Sr. Ronald Bown F., Edmundo Araya A., Ana María Godoy, Jorge Saavedra J. y Dr. Germán Bachler.

Cada asistente recibirá las siguientes publicaciones : Guía para la aplicación de los principios de Higiene e Inocuidad de los Alimentos . Guía para el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos . Legislación y Reglamentos relacionados con la Higiene Alimentaria e Inocuidad Alimentaria. Cuaderno de Registros de Campo para la Producción Frutícola.

Valores : \$ 5.000 Socios F.D.F

\$ 8.000 Público en general

CONSULTAS : Fono : (2) 821 5995

INSCRIPCIONES : Sólo vía Fax . (2) 821 6004



SEMINARIO : Higiene e Inocuidad en la Industria Frutícola de Exportación

- Organizan : Asociación de Exportadores de Chile, A.G. y Fundación para el Desarrollo Frutícola
Auspicia : Fundación para la Innovación Agraria del Ministerio de Agricultura.
Lugar : Salón de Eventos – Club de Campo de Rancagua – Longitudinal Sur Km. 93, Los Lirios.
Fecha : jueves 25 de noviembre de 1999.

PROGRAMA

8:30 – 9:00 Registro de los Participantes y Entrega Publicaciones

9:00 – 9:50 Ceremonia Inaugural

1. Palabras de Bienvenida . Sr.Edmundo Araya A. – Director General de FDF
2. Desafíos de la Industria Frutícola de Exportación
Ronald Bown F. – Presidente de ASOEX
 - Las Buenas Prácticas Agrícolas .
 - Demandas de los Consumidores (Supermercados) y Acciones de los Estados (USA,UK)
 - Agenda de Pesticidas y otras publicaciones de ASOEX
 - Capacitación especializada
 - Promoción – Imagen País
3. Palabras del Sr. Francisco Morales, Secretario Ministerial de Agricultura VI Región
4. 9:50 – 10:00 CAFÉ
5. 10:00 – 10:45
La Guía de aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria.
Sra. Ana María Godoy de la Vega – Proyecto ASOEX-FDF-FIA
 - Microorganismos posibles de contaminar fruta fresca y sus efectos.
 - La contaminación microbiológica y su prevención. Uso de la Guía.
 - Principales puntos de contaminación en el proceso de la producción y embalaje .
 - Acciones Preventivas.
 - Video “Asegurando Productos Sanos” (FDA-USA).
6. 10:45 – 11:15
Guía en el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos
Sr. Jorge Saavedra J. – Miembro del equipo agronómico de F.D.F.
 - Uso óptimo de agroquímicos
 - Estructuración de programas fitosanitarios
 - Calibración de equipos
 - Eliminación de envases

7. 11:15 – 11:45
Charla de los Drs. Guillermo Carrasco y Nelson Adrian F. – Depto. Programas sobre el Ambiente
Servicio de Salud O'Higgins
8. 11:45 – 12:15
La Trazabilidad de los procesos . Su importancia comercial y estratégica.
Sr. Edmundo Araya A. – Director General de FDF
- La responsabilidad por el producto
 - Procesos documentados
 - Aprender de los errores o fallas
 - Cuadernos de Campo y Packing
 - Garantía de Calidad
9. 12:15 – 13:00

Mesa Redonda

Coordina : Sr. Rodolfo Truffello – Presidente de FRUSEXTA

- Acciones de la ASOEX y Conclusiones
- Preguntas de los asistentes al Panel.

Panel : Sr. Ronald Bown F. , Edmundo Araya A., Sra. Ana María Godoy de la Vega,
Jorge Saavedra J. y Representante Servicio de Salud de la Región.

Cada asistente recibirá las siguientes publicaciones : Guía para la aplicación de los principios de Higiene e Inocuidad de los Alimentos . Guía para el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos . Legislación y Reglamentos relacionados con la Higiene Alimentaria e Inocuidad Alimentaria. Cuaderno de Registros de Campo para la Producción Frutícola.

Valores : \$ 5.000 Socios F.D.F y FRUSEXTA
\$ 8.000 Público en general

CONSULTAS : Fono : (2) 821 5995

INSCRIPCIONES : Sólo vía Fax . (2) 821 6004



SEMINARIO : Higiene e Inocuidad en la Industria Frutícola de Exportación

- Organizan : Asociación de Exportadores de Chile, A.G. y Fundación para el Desarrollo Frutícola
Auspicia : Fundación para la Innovación Agraria del Ministerio de Agricultura.
Lugar : Salón Auditorio – Hotel Villa El Descanso – Carretera Longitudinal Sur Km. 187, Curicó.
Fecha : viernes 26 de noviembre de 1999.

PROGRAMA

- 8:30 – 9:00 Registro de los Participantes y Entrega Publicaciones
9:00 – 9:50 Ceremonia Inaugural

1. Palabras de Bienvenida . Sr.Edmundo Araya A. – Director General de FDF
2. Desafíos de la Industria Frutícola de Exportación
Ronald Bown F. – Presidente de ASOEX
 - Las Buenas Prácticas Agrícolas .
 - Demandas de los Consumidores (Supermercados) y Acciones de los Estados (USA,UK)
 - Agenda de Pesticidas y otras publicaciones de ASOEX
 - Capacitación especializada
 - Promoción – Imagen País
3. Palabras del Sr. Georges Kerrigan - Secretario Ministerial de Agricultura VII Región
4. 9:50 – 10:00 CAFÉ
5. 10:00 – 10:45
La Guía de aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria.
Sra. Ana María Godoy de la Vega – Proyecto ASOEX-FDF-FIA
 - Microorganismos posibles de contaminar fruta fresca y sus efectos.
 - La contaminación microbiológica y su prevención. Uso de la Guía.
 - Principales puntos de contaminación en el proceso de la producción y embalaje .
 - Acciones Preventivas.
 - Video “Asegurando Productos Sanos” (FDA-USA).
6. 10:45 – 11:15
Guía en el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos
Sr. Jorge Saavedra J. – Miembro del equipo agronómico de F.D.F.
 - Uso óptimo de agroquímicos
 - Estructuración de programas fitosanitarios
 - Calibración de equipos
 - Eliminación de envases

7. 11:15 – 11:45
Charla de la Dra. María Helena Célis Rozzi – Jefe Depto. Programas sobre el Ambiente

8. 11:45 – 12:15
La Trazabilidad de los procesos . Su importancia comercial y estratégica.
Sr. Edmundo Araya A. – Director General de FDF

- La responsabilidad por el producto
- Procesos documentados
- Aprender de los errores o fallas
- Cuadernos de Campo y Packing
- Garantía de Calidad

9. 12:15 – 13:00

Mesa Redonda

Coordina : Sr. Miguel Canala-Echeverría – Gerente General ASOEX

- Acciones de la ASOEX y Conclusiones
- Preguntas de los asistentes al Panel.

Panel : Sr. Ronald Bown F. , Edmundo Araya A., Sra. Ana María Godoy de la Vega,
Jorge Saavedra J. y Representante Servicio de Salud de la Región.

Cada asistente recibirá las siguientes publicaciones : Guía para la aplicación de los principios de Higiene e Inocuidad de los Alimentos . Guía para el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos . Legislación y Reglamentos relacionados con la Higiene Alimentaria e Inocuidad Alimentaria. Cuaderno de Registros de Campo para la Producción Frutícola.

Valores : \$ 5.000 Socios F.D.F
\$ 8.000 Público en general

CONSULTAS : Fono : (2) 821 5995

INSCRIPCIONES : Sólo vía Fax . (2) 821 6004



Programa

“Higiene e Inocuidad en la Industria Frutícola de Exportación 2000”

Organizan : Asociación de Exportadores de Chile, A.G. y Fundación para el Desarrollo Frutícola
Auspicia : Fundación para la Innovación Agraria del Ministerio de Agricultura.
Lugar : Restaurante Bavaria de Paine – Kilometro 40 Carretera 5 Sur Parcela 111.
Fecha : Jueves 15 de junio del 2000.

PROGRAMA

14:00 – 14:30 Registro de los Participantes y Entrega Publicaciones

14:30 – 15:20 Ceremonia Inaugural

1. Palabras de Bienvenida . Sr. Anthony Wylie W. – Presidente de FDF
2. Palabras del Sr. Ronald Bown F. – Presidente de ASOEX
- Desafíos de la Industria Frutícola de Exportación
3. Palabras del Sr. Ministro y Presidente del Consejo del FIA
4. 15:20 – 15:50
La Guía de aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria.
Sr. Ricardo Adonis – Jefe del Proyecto ASOEX-FDF-FIA
- Microorganismos posibles de contaminar fruta fresca y sus efectos.
- La contaminación microbiológica y su prevención. Uso de la Guía.
- Principales puntos de contaminación en el proceso de la producción y embalaje .
- Acciones Preventivas.
- Video “Asegurando Productos Sanos” (FDA-USA).
5. 15:50 – 16:25
Guía en el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos
Sr. Rafael Parada H. – Miembro del equipo agrónomo de F.D.F.
- Uso óptimo de agroquímicos
- Estructuración de programas fitosanitarios
- Calibración de equipos
- Eliminación de envases
6. 16:25 – 16:45 CAFÉ
7. 16:45 – 17:15
Conferencia representante de SESMA
8. 17:15 – 17:45
La Trazabilidad de los procesos . Su importancia comercial y estratégica.
Sr. Edmundo Araya A. – Director General de FDF
- La responsabilidad por el producto
- Procesos documentados
- Aprender de los errores o fallas
- Cuadernos de Campo y Packing
- Garantía de Calidad
9. 17:45 – 18:30
Mesa redonda:
- Preguntas de los asistentes.



Programa

“Higiene e Inocuidad en la Industria Frutícola de Exportación 2000”

Organizan : Asociación de Exportadores de Chile, A.G. y Fundación para el Desarrollo Frutícola
Auspicia : Fundación para la Innovación Agraria del Ministerio de Agricultura.
Lugar : Salón Auditorio Ilustre Municipalidad de Ovalle, Vicuña Mackenna 441
Fecha : Jueves 22 de junio del 2000.

PROGRAMA

14:30 – 15:00 Registro de los Participantes y Entrega Publicaciones

15:00 – 15:50 Introducción

1. Palabras de Bienvenida . Sr. Edmundo Araya – Director General de FDF
2. Palabras SEREMI de Agricultura - Sra. Angela Rojas E.
3. Acciones Ministeriales relativas a Higiene e Inocuidad – Sr. Director Regional del SAG., Ing. Agr. don Juan Carlos Silva
4. Desafíos de la Industria Frutícola de Exportación
Expositor Sr. Carlos A. Caballero - FDF
 - Las Buenas Prácticas Agrícolas .
 - Demandas de los Consumidores (Supermercados) y Acciones de los Estados (USA,UK)
 - Agenda de Pesticidas y otras publicaciones de ASOEX
 - Capacitación especializada
 - Promoción – Imagen País
5. 15:50 – 16:00 CAFÉ
6. 16:00 – 16:45
La Guía de aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria.
Sr. Ricardo Adonis – Jefe del Proyecto ASOEX-FDF-FIA
 - Microorganismos posibles de contaminar fruta fresca y sus efectos.
 - La contaminación microbiológica y su prevención. Uso de la Guía.
 - Principales puntos de contaminación en el proceso de la producción y embalaje .
 - Acciones Preventivas.
 - Video “Asegurando Productos Sanos” (FDA-USA).
7. 16:45 – 17:15
Guía en el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos
Sr. Rafael Parada H. – Miembro del equipo agronómico de F.D.F.
 - Uso óptimo de agroquímicos
 - Estructuración de programas fitosanitarios
 - Calibración de equipos
 - Eliminación de envases
8. 17:15 – 17:45
Acciones Ministeriales relativas a Higiene e Inocuidad – Sr. Mario Rodríguez – Servicio de Salud del Ambiente
9. 17:45 – 18:15
La Trazabilidad de los procesos . Su importancia comercial y estratégica.
Sr. Ricardo Adonis - FDF
 - La responsabilidad por el producto
 - Procesos documentados
 - Aprender de los errores o fallas
 - Cuadernos de Campo y Packing
 - Garantía de Calidad
10. 18:15 – 19:00
 - Preguntas de los asistentes.



FUNDACION PARA EL DESARROLLO FRUTICOLA



ASOCIACION DE
EXPORTADORES DE CHILE A.G.

Programa

“Higiene e Inocuidad en la Industria Frutícola de Exportación 2000”

Organizan : Asociación de Exportadores de Chile, A.G. y Fundación para el Desarrollo Frutícola
Auspicia : Fundación para la Innovación Agraria del Ministerio de Agricultura.
Lugar : Hostería El Edén, Vicuña Mackenna s/n, Boco, Quillota
Fecha : Jueves 29 de junio del 2000.

PROGRAMA

14:30 – 15:00 Registro de los Participantes y Entrega Publicaciones

15:00 – 15:50 Introducción

1. Palabras de Bienvenida . Sr. Edmundo Araya – Director General de FDF
2. Palabras SEREMI de Agricultura V Región
3. Desafíos de la Industria Frutícola de Exportación
Expositor Sr. Sr. Edmundo Araya A.- Director General FDF.
 - Las Buenas Prácticas Agrícolas .
 - Demandas de los Consumidores (Supermercados) y Acciones de los Estados (USA,UK)
 - Agenda de Pesticidas y otras publicaciones de ASOEX
 - Capacitación especializada
 - Promoción – Imagen País
4. 15:50 – 16:00 CAFÉ
5. 16:00 – 16:45
La Guía de aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria.
Sr. Ana María Godoy – Jefe del Proyecto ASOEX-FDF-FIA
 - Microorganismos posibles de contaminar fruta fresca y sus efectos.
 - La contaminación microbiológica y su prevención. Uso de la Guía.
 - Principales puntos de contaminación en el proceso de la producción y embalaje .
 - Acciones Preventivas.
 - Video “Asegurando Productos Sanos” (FDA-USA).
6. 16:45 – 17:15
Guía en el almacenaje , manejo y aplicación de los Agrocomplementos
Sr. Rafael Parada H. – Miembro del equipo agronómico de F.D.F.
 - Uso óptimo de agroquímicos
 - Estructuración de programas fitosanitarios
 - Calibración de equipos
 - Eliminación de envases
7. 17:15 – 17:45
Acciones Ministeriales relativas a Higiene e Inocuidad – Delegando Salud del Ambiente V Región.
8. 17:45 – 18:15
La Trazabilidad de los procesos . Su importancia comercial y estratégica.
Sr. Ricardo Adonis - FDF
 - La responsabilidad por el producto
 - Procesos documentados
 - Aprender de los errores o fallas
 - Cuadernos de Campo y Packing
 - Garantía de Calidad
9. 18:15 – 19:00
 - Preguntas de los asistentes.

ANEXO 3

“HIGIENE E INOCUIDAD EN LA INDUSTRIA FRUTÍCOLA DE EXPORTACIÓN”



“DESAFÍOS DE LA INDUSTRIA FRUTÍCOLA DE EXPORTACIÓN”

RONALD BOWN FERNANDEZ - PRESIDENTE ASOCIACION DE EXPORTADORES DE CHILE, A.G.
JUNIO DEL 2000

TEMARIO

- ANTECEDENTES GENERALES
- EXPERIENCIA CHILENA
- MARCO INSTITUCIONAL
- MARCO REGULATORIO
- COSTOS Y BENEFICIOS INVOLUCRADOS
- ACTITUD DE LA INDUSTRIA
- CONCLUSIONES

ANTECEDENTES GENERALES

- AUMENTO DEL CONSUMO DE FRUTAS Y VEGETALES
- LOS SUPERMERCADOS COMERCIALIZAN APROX. 80%
- EL CONSUMIDOR TIENE HOY UN PERFIL DIFERENTE
 - HAY MAYOR CONCIENCIA CON EL MEDIO AMBIENTE
 - PREFERENCIA POR PRODUCTOS MAS HIGIÉNICOS
- ENDOSA RESPONSABILIDAD AL SUPERMERCADO
- GENERA REACCIÓN A VECES DESMEDIDA
- LA INICIATIVA PDTE. CLINTON (USA) Y OTROS PAÍSES (UK)
- UE y EUREP HAN DEFINIDO UN PROGRAMA DE BPA (LIBRO BLANCO)

LA EXPERIENCIA CHILENA

- CASO UVAS ENVENENADAS
 - SEGURIDAD EN PLANTAS
 - SEGUIMIENTO DE PRODUCTOS
- LA AGENDA DE PESTICIDAS
- ESTANDARIZACIÓN DE INFORMACIÓN EN EL ETIQUETADO
- MANEJO INSTANTÁNEO DE LA INFORMACIÓN

MARCO INSTITUCIONAL

- GENERACIÓN DE ESTRUCTURA DE LA INDUSTRIA PARA ABORDAR COMO UN TODO LA INVESTIGACIÓN, RECOPIAR INFORMACIÓN, CREAR LOS SOPORTES NECESARIOS, DIFUNDIR, CAPACITAR Y ARTICULAR LAS DIVERSAS INSTITUCIONES INVOLUCRADAS
- APOYO EFECTIVO A PRODUCTORES Y EXPORTADORES SIN DISCRIMINACIÓN
- COORDINACIÓN CON ACTIVIDADES EXTERNAS

MARCO INSTITUCIONAL

- COMITÉ COORDINADOR HORTOFRUTÍCOLA
 - *ASOC. DE EXPORTADORES DE CHILE A.G.
 - *FEDEFruta
- TEMAS :
 - *PROMOCIÓN (MARKETING)
 - *BUENAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS (BPA)
 - *CALIDAD

ORGANIZACIONES DE APOYO

FIDE
FONDACIÓN PARA EL DESARROLLO AGROPECUARIO Y SILVÍCOLA

OTIC AGROCAP
CAPACITACIÓN SILVOAGROPECUARIA

- Investigación & Desarrollo
- Capacitación

HERRAMIENTAS DE APOYO

Fruta Fresca Chilena
DE EXPORTACIÓN
Manual de Producción y Embalaje

AGENDA ARANCELARIA
Y FITOSANITARIA
MANUAL PARA ELABORAR LA DECLARACIÓN DE EXPORTACIÓN

HERRAMIENTAS DE APOYO

Agenda de Pesticidas
registro, tolerancias y carencias en frutas y hortalizas de exportación

HERRAMIENTAS DE APOYO

EXPORDATA YEARBOOK 1999

CHILE
www.cffa.org

MARCO REGULATORIO

NUEVO REGLAMENTO SANITARIO DE LOS ALIMENTOS

EDICIÓN 1998 PRECIO \$ 8.500
EDICIONES PUBLILEY

REGLAMENTO SANITARIO Y AMBIENTAL EN LOS LUGARES DE TRABAJO

EDICIÓN 1998 PRECIO \$ 2.500
EDICIONES PUBLILEY

MARCO REGULATORIO

- REGLAMENTO SANITARIO DE LOS ALIMENTOS MUY DE ACUERDO A NORMAS CODEX
- OTRAS REGLAMENTACIONES ESTÁN DISOCIADAS CON LA REALIDAD AGRÍCOLA CHILENA:
 - PESTICIDAS
 - INFRAESTRUCTURA OPERATIVA EN LOS LUGARES DE TRABAJO
 - GRADUALIDAD
- PLANTEAMIENTO AL MINISTERIO DE SALUD Y SESMA
- TRABAJO CONJUNTO ESTADO - SECTOR PRIVADO DEBE PROFUNDIZARSE
- APOYO GUBERNAMENTAL PARA IMPLEMENTACIÓN DE PROGRAMA NACIONAL DE B.P.A.

COSTOS Y BENEFICIOS

- LA FRUTA NO RESISTE MAS COSTOS
- CUALQUIER NUEVO COSTO TIENE QUE TENER UNA COMPENSACIÓN CLARA
- LA INDUSTRIA TIENE UNA ESTRATEGIA Y ESPERA BENEFICIOS NETOS.
- ASOCIAREMOS NUESTRO DISTINTIVO AL CONCEPTO DE FRUTA SEGURA Y DE CALIDAD (B.P.A.)
- SELLOS, CERTIFICACIONES, OTROS.

BUENAS PRÁCTICAS AGRÍCOLAS



PROGRAMA " MARCO "

- HIGIENE E INOCUIDAD ALIMENTARIA.
- MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES.
- MANEJO DE AGROCOMPLEMENTOS (PESTICIDAS).
- SEGURIDAD LABORAL.
- MEDIO AMBIENTE.

CONCLUSIONES

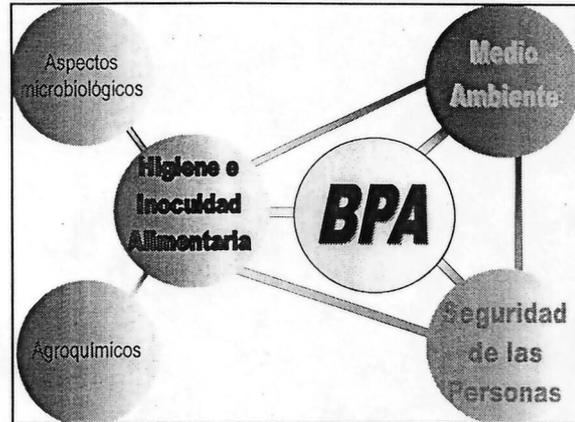
- ACTITUD RESPONSABLE DE LA INDUSTRIA
- RESPUESTA ADECUADA DE LA AUTORIDAD
- RESULTADOS ALENTADORES
- NECESIDAD DE IMPLEMENTAR UN PROGRAMA NACIONAL DE B.P.A. EN FORMA GRADUAL
- ELLO REQUIERE DE UNA ACTITUD CONSTRUCTIVA Y REALISTA DE LA AUTORIDAD REGULATORIA Y CONTRALORA
- DEBEMOS OBTENER UN PROVECHO CLARO DEL ESFUERZO A REALIZAR
- EN ESTADO DE ALERTA ANTE HECHOS QUE PUEDEN SER UTILIZADOS COMO BARRERAS AL COMERCIO
- CREAR INFRAESTRUCTURA DE INFORMACIÓN RELATIVA A LA EVOLUCIÓN DEL TEMA EN EL EXTERIOR



Higiene e Inocuidad en la Industria Frutícola de Exportación

Guía de Aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria

Ana María Godoy de la V.
Fundación para el Desarrollo Frutícola



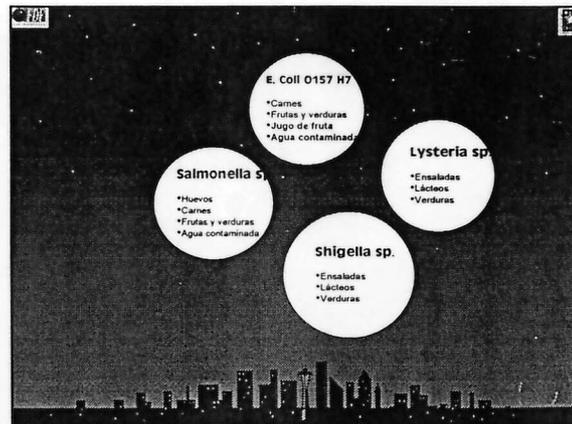
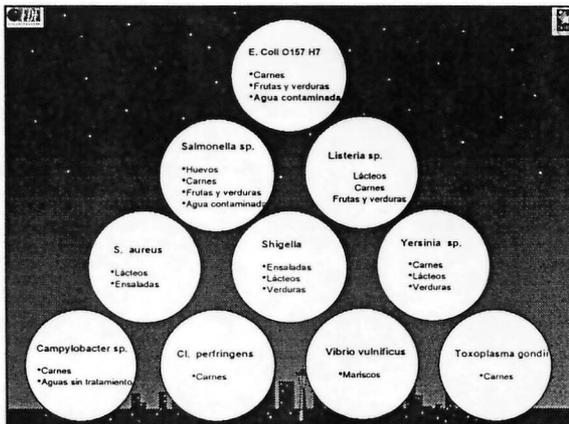
Cadena de Innovación de productos



Cadena de Innovación de productos



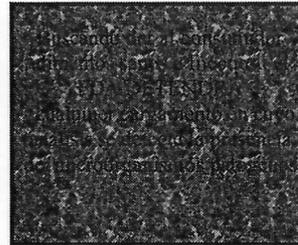
Cadena de contaminación



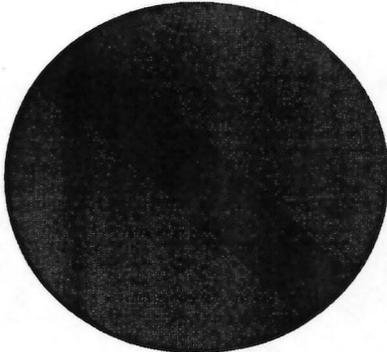
DOSE INFECCIONA

- E. COLI ENTEROTOXIGENICA (ETEC) - 100.000.000 ufc
- E. COLI ENTEROPATOGENICA - 1.000.000 ufc
- E. COLI (HEC) O 157:H7 - 10 ufc
- E. COLI ENTEROINVASIVA (EIEC) - 10 ufc
- SALMONELLA - 15 a 20 ufc
- SHIGELLA - 10 ufc
- STAPHILOCOCCUS AUREUS - 100.000 ufc
generan 1 µg de toxina

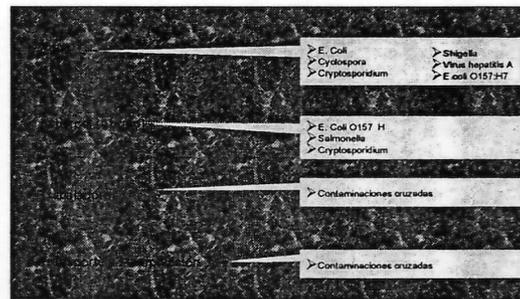
Muestreos del FDA a productos hortícolas importados en la recepción en Estados Unidos



Vehículos de contaminación



Riesgos asociados a los vehículos de contaminación

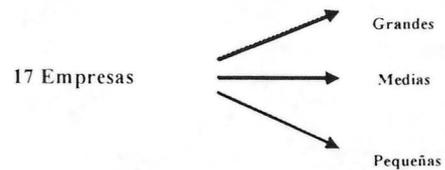


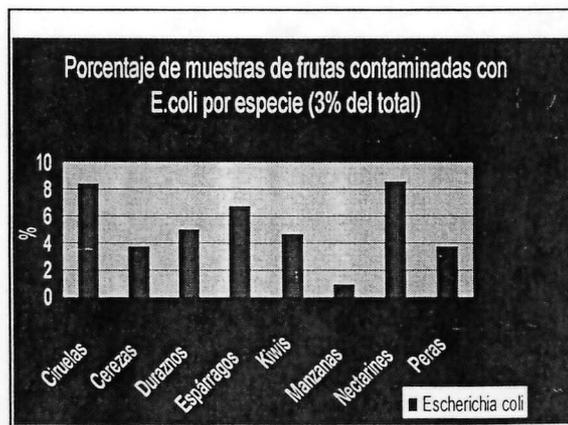
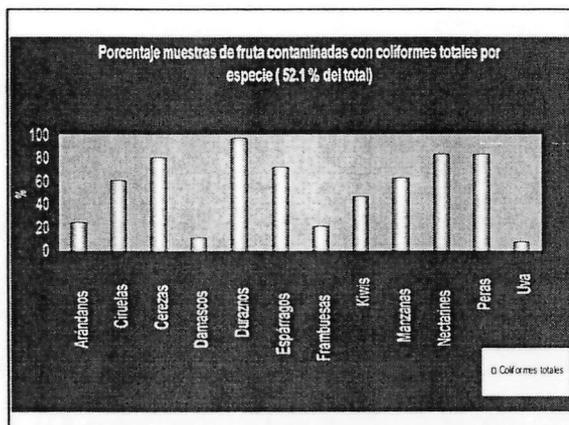
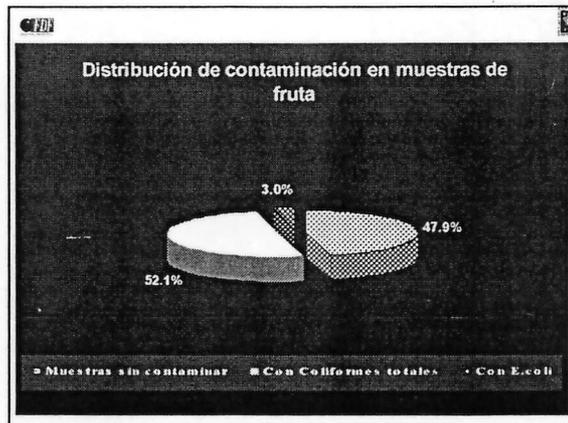
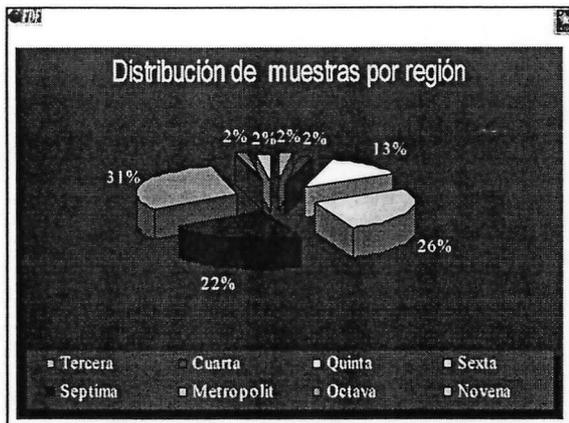
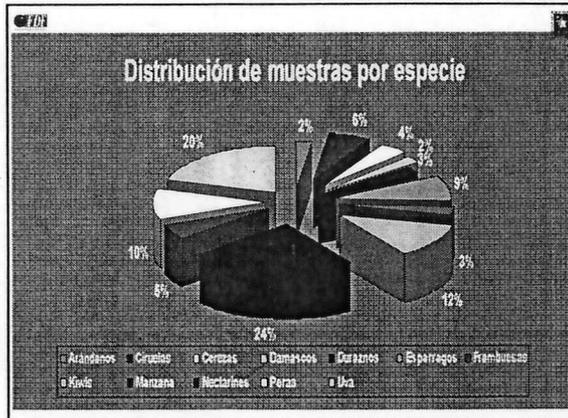
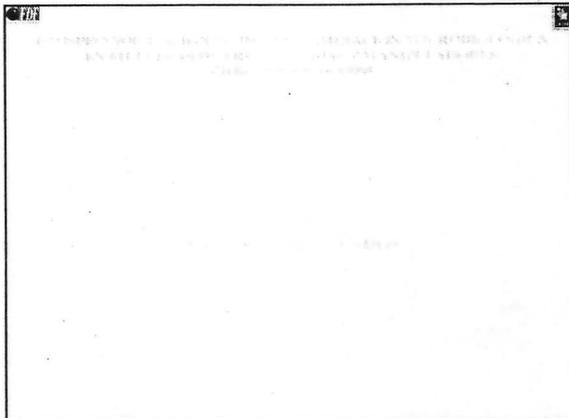
PROSPECCIÓN NACIONAL DE CONTAMINACIÓN MICROBIOLÓGICA EN LA INDUSTRIA HORTOFRUTÍCOLA DE EXPORTACIÓN

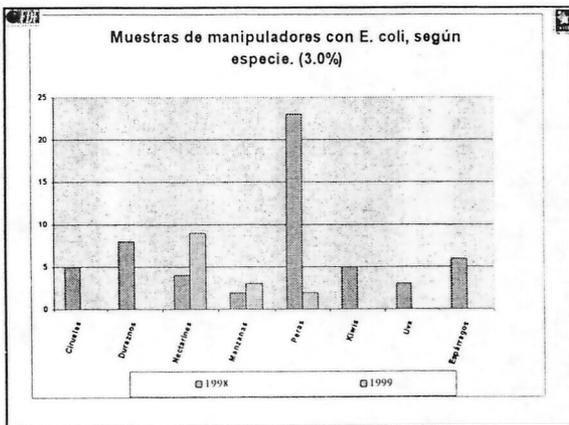
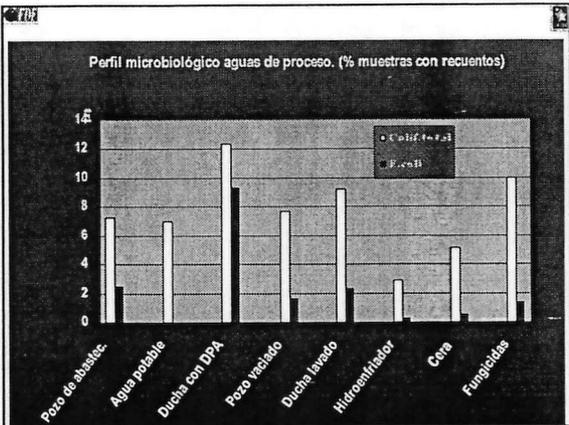


UNIVERSO DEL PROYECTO

Muestras de Frutas agua y manipuladores.
Temporadas 1997-98 y 1998-99







No se ha detectado presencia de *Salmonella* sp.

RECOMENDACIONES

①
Coliformes totales = señal de precaución.
Es necesario y urgente rebajar la presencia de estos microorganismos

②
Continuar con el trabajo de mejoramiento de limpieza e higiene en packings

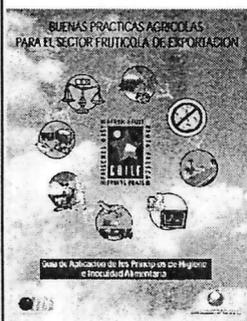
③
Aumentar las medidas de Prevención a todo nivel



Aguas



Trabajadores

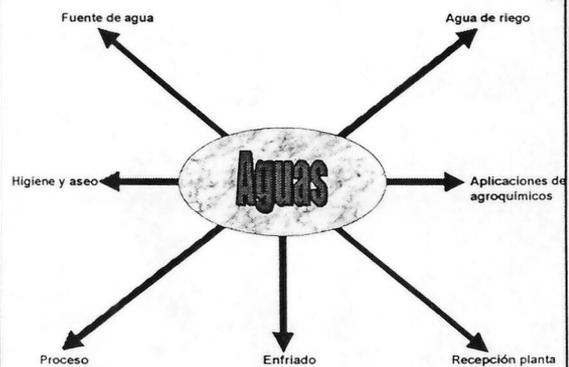


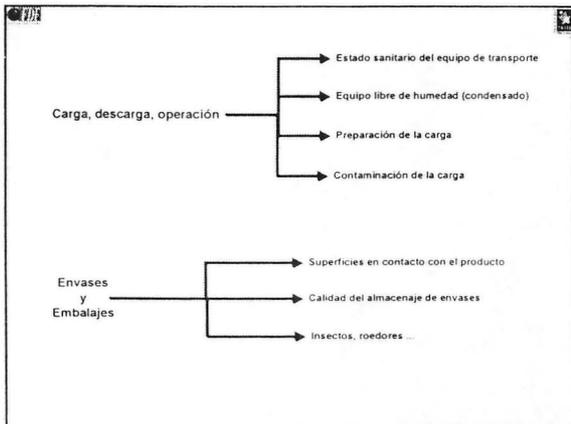
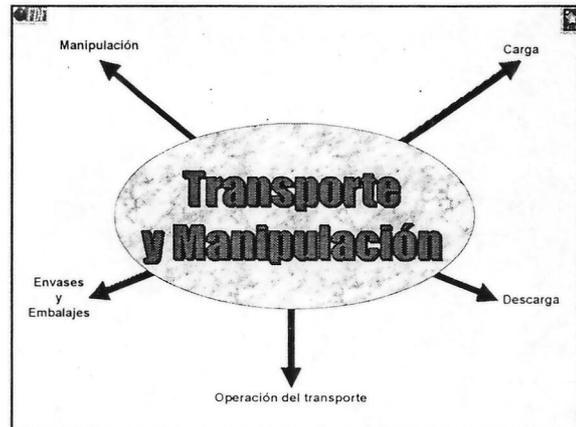
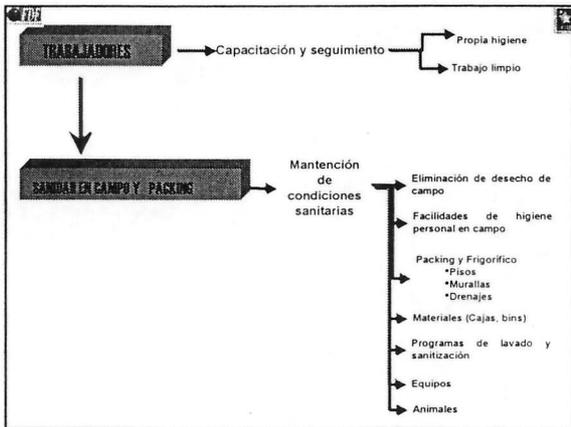
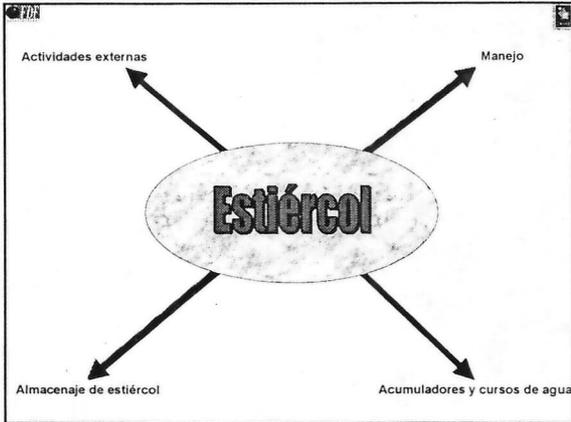
Guía de Aplicación de los Principios de Higiene e Inocuidad Alimentaria para el Sector Hortofrutícola de Exportación

Guía para el Almacenaje, Manejo y Aplicación de los Agrocomplementos

Cuaderno de Registros de Campo para la Producción Frutícola

Legislación y Reglamentos Relacionados





La producción hortofrutícola no necesariamente debe estar libre de microorganismos,

sin embargo....

Debemos prevenir que nuestros productos no se contaminen con microorganismos u otros agentes dañinos a la salud.

BPA

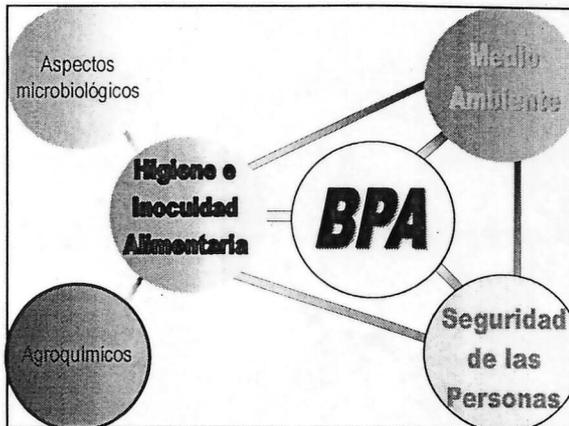


- Productos sanos e ino cuos
- Producidos en forma acorde con el medio ambiente
- Salud de los trabajadores

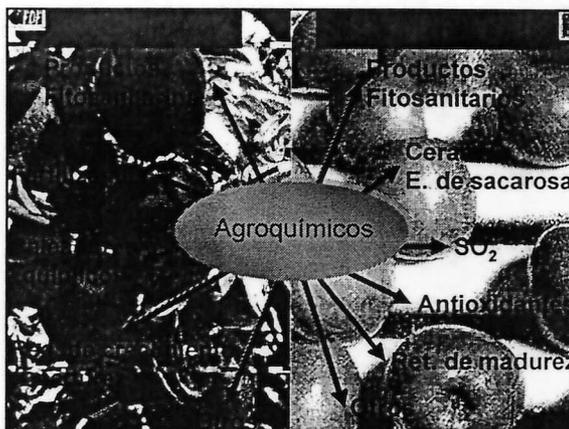
Higiene e Inocuidad de los alimentos

Uso y manejo seguro de Agroquímicos y su impacto sobre trabajadores y medio ambiente

Jorge A. Saavedra J.
Rafael Parada H.
Ingeniero Agrónomo
Fundación para el Desarrollo Frutícola



" Son el conjunto de sustancias de cualquier naturaleza que se encuentran legalmente permitidas para su uso y aplicación con diversos objetivos, durante el cultivo, cosecha, procesamiento y embalaje de frutas frescas "



Clasificación de los Productos Fitosanitarios

	Producto	Org. controlados	
Ambito	Acaricidas	Acaros	Alación
	Bactericidas	Bacterias	
	Fungicidas	Hongos	
	Insecticidas	Insectos	
	Herbicidas	Malezas	
	Nematicidas	Nemátodos	
	Ovicidas	Huevos	
Modo d	Rodenticidas	Roedores	Química
	Molusquicidas	Caracoles	

- Ambito de acción
- Modo de acción
- Formulación
- Familia Química

Ambito de acción

Modo de acción

- Sistémico
- Translaminar
- Ingestión
- Contacto
- Inhalación
- Reg. de crecimiento
- Repelente

Formulación

Familia Química

Ambito de acción

Modo de acción

Formulación

- Concentrado soluble
- Polvos Mojables
- Suspensión concentrada (Floable)
- Concentrado emulsible
- Polvo seco (Dust)

Familia Química

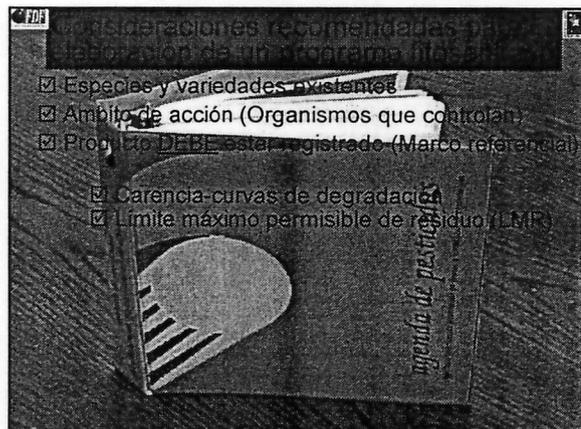
Ambito de acción

Modo de acción

Formulación

Familia Química

- Piretroides
- Organofosforados
- Carbamatos
- Triazinas
- Productos Biológicos



Especies y variedades existentes

Ambito de acción (Organismos que controlan)

Producto DEBE estar registrado (Marco referencial)

MARCO REFERENCIAL PARA LA CONFECCION DE PROGRAMAS FITOSANITARIOS
(Las dosis recomendada será según fabricante en la dosis de etiqueta)

Nombre Técnico	Nombre Comercial	Obj. Principal	Clasific. Toxic.	Restric. de uso

Especies y variedades existentes

Ambito de acción (Organismos que controlan)

Producto DEBE estar registrado (Marco referencial)

Toxicidad (al hombre, fauna y flora silvestre)

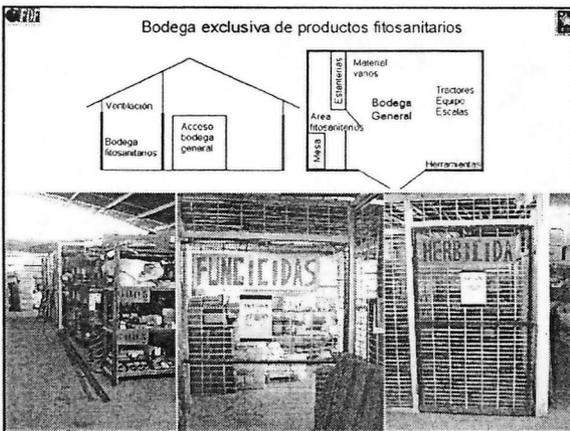
Consideraciones recomendadas para la elaboración de un programa fitosanitario

Categoría	Palabras prevención	Emblemas de peligro	Color
I Altamente tóxico	Peligro		Rojo
II Moderadamente tóxico	Peligro		Amarillo
III Moderadamente tóxico	Peligro		Azul
IV Levemente tóxico	Precaución		Verde

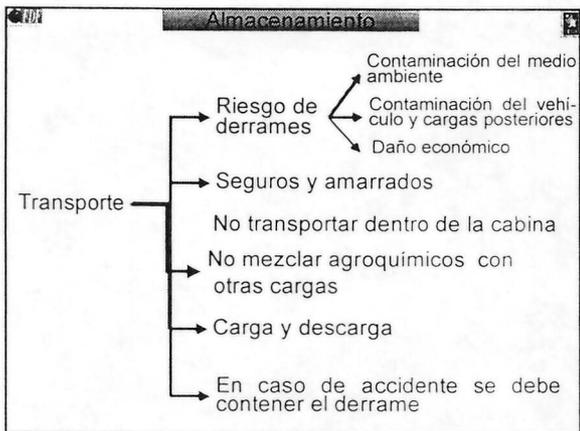
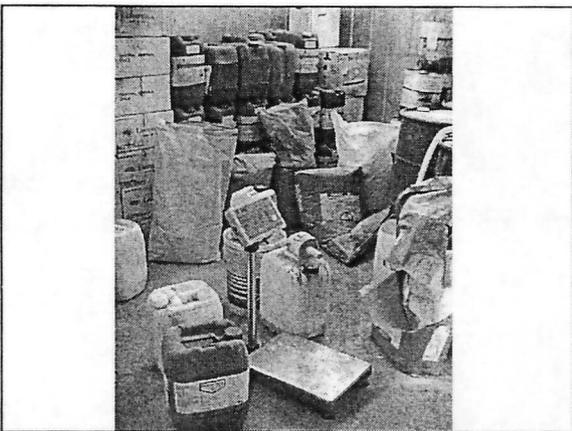
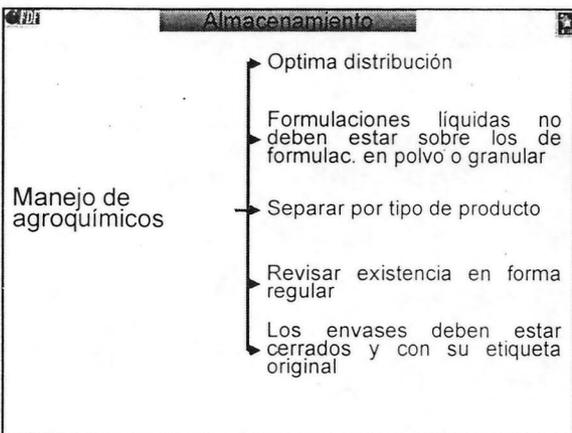
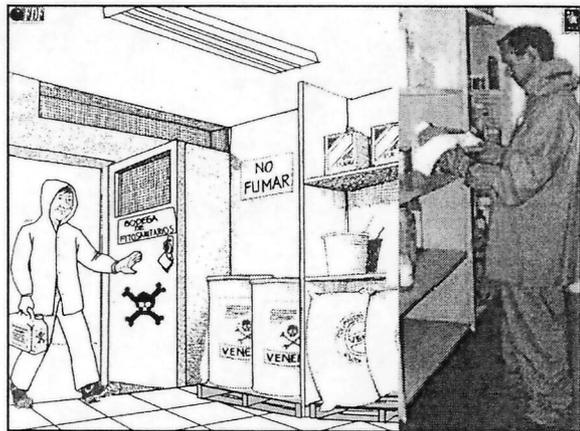
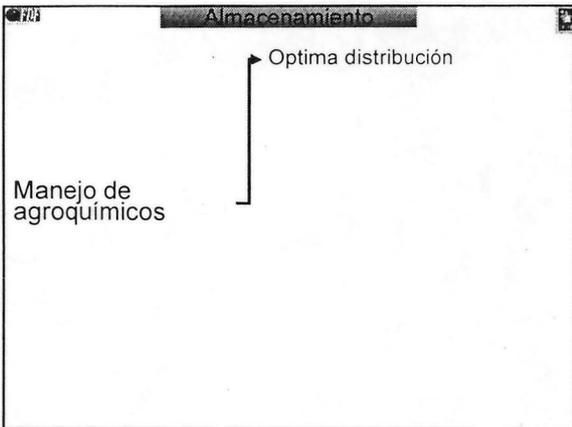
- Consideraciones recomendadas para la elaboración de un programa fitosanitario
- Especies y variedades existentes
 - Ambito de acción (Organismos que controlan)
 - Producto DEBE estar registrado (Marco referencial)
 - Toxicidad (al hombre, fauna y flora silvestre)
 - Fitotoxicidad (Especies y variedad)
 - Costos
 - Familia química
 - Modo de acción
 - Formulaci3n
 - Efecto residual
 - Oportunidad de Aplicaci3n
 - Compatibilidad con otros productos
 - Cercanías corrientes de agua

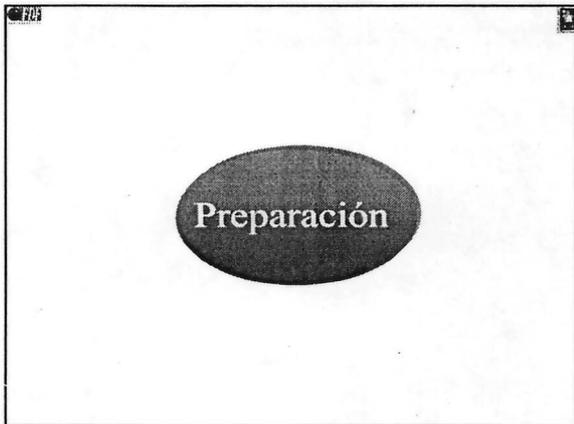


- Almacenamiento**
- Características
- Construcci3n s3lida
 - Techos y pisos
 - Ubicaci3n en terrenos altos y lejos de viviendas y alimentos
 - Uso exclusivo



- Almacenamiento**
- Características
- Construcci3n s3lida
 - Techos y pisos
 - Ubicaci3n en terrenos altos y lejos de viviendas y alimentos
 - Uso exclusivo
- Administraci3n
- Persona responsable (llave)
 - Ingreso s3lo de personal capacitado y autorizado
 - Tener seÑalizaciones
 - Contar con ext. de incendio
 - Tener la indumentaria aprop. para el manejo, dosificaci3n y aplicaci3n
 - Antídotos y N° de emergencia

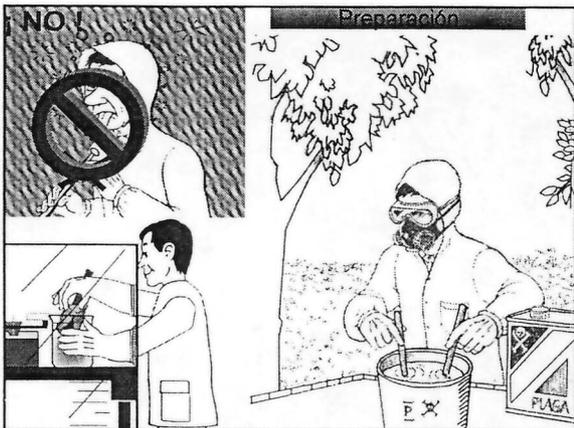
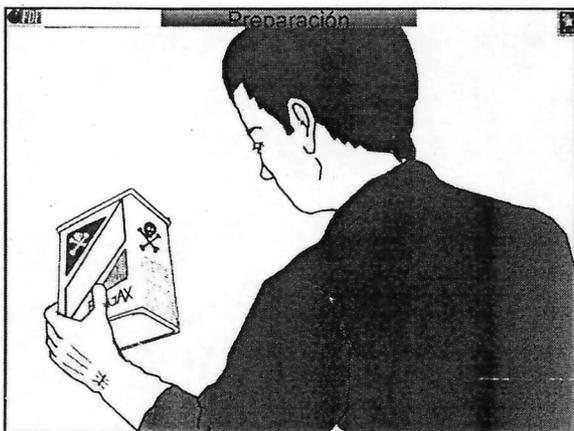




Preparación

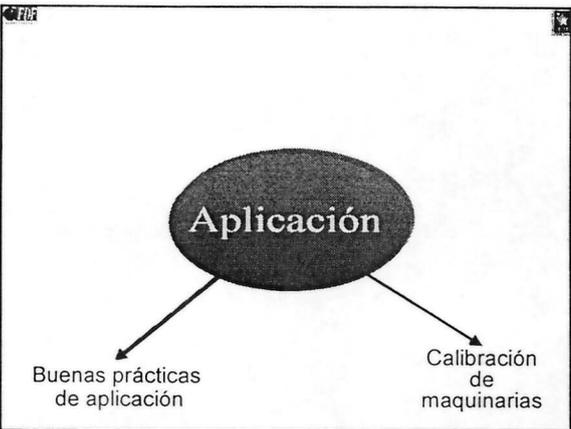
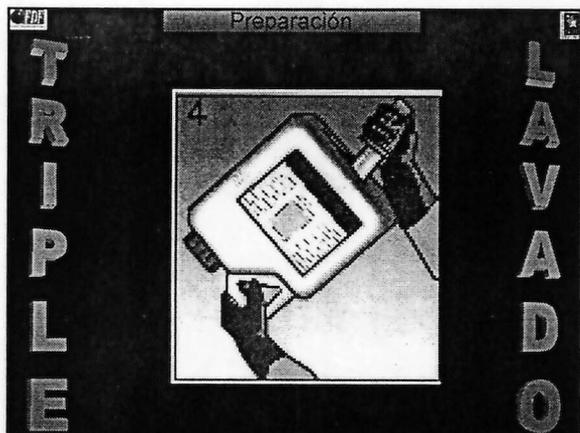
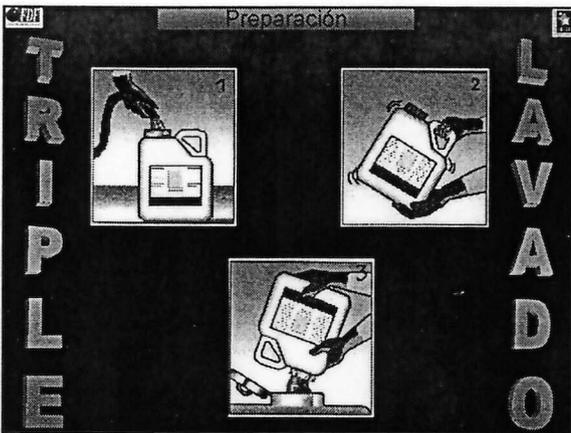
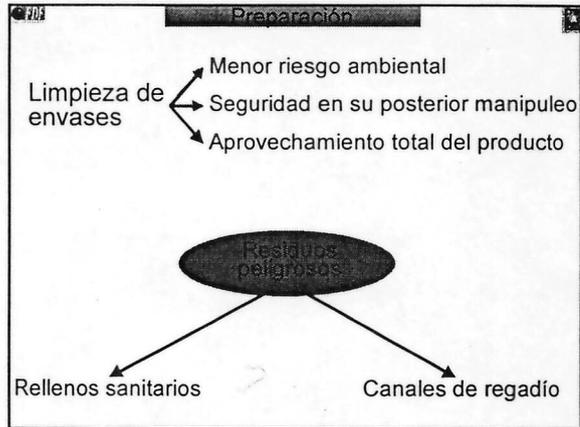
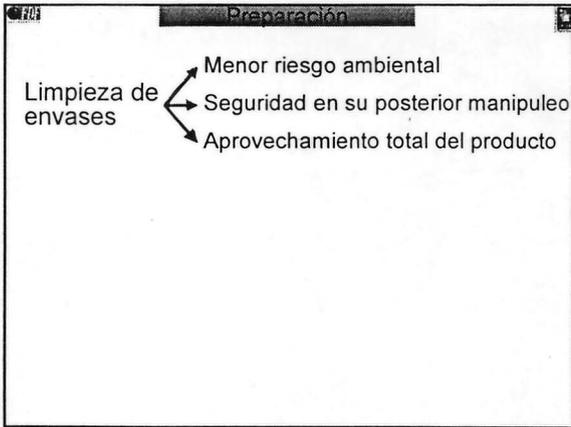
Recomendaciones generales

- Balanzas y dispositivos de medición exclusivos
- No utilizar utensilios domésticos
- Área de trabajo exclusiva para ese fin
- Verificar que los equipos estén en buen estado
- Debe haber buena ventilación (diferentes formulaciones)



Preparación

- Vestirse con ropa de protección adecuada.
- Llenar el estanque del equipo con agua hasta la mitad.
- Agitar (líquidos) y abrir el envase.
- Medir cantidad en envase graduado (líquidos) y pesar la cantidad en balanza (sólidos y polvos)
- Hacer mezcla (sólidos y polvos)
- Agregar el producto al estanque, evitando derrames
- Lavar con abundante agua los instrumentos usados y agregar el agua al estanque del equipo. Repetir tres veces.
- Completar con agua el estanque del equipo hasta el nivel requerido
- Tapar el estanque



Buenas prácticas de aplicación

Evitar la inhalación o contacto directo producto y neblina de aspersión.

Nunca almacenar envases o recipientes de aplicación elevados a lugares altos, lejos del alcance de niños y personas ajenas.

Aplicar de preferencia temprano en la mañana o al final de la tarde.

No aplicar cuando exista riesgo de lluvia.

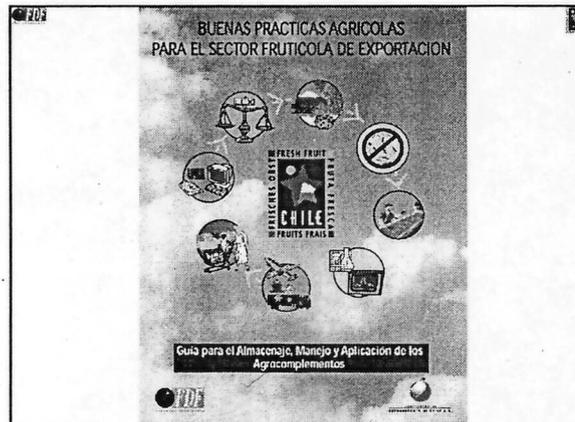


Convenio de Diagnóstico y Calibración de Unidades Aplicadoras

The block contains the title "Convenio de Diagnóstico y Calibración de Unidades Aplicadoras" and two logos: "FDE" and "copeval". The FDE logo is a stylized 'F' inside a circle. The copeval logo is a stylized 'C' inside a circle.

Beneficios

- P Lograr un control eficiente
- P Reducir uso de agroquímicos
- P Respetar el medio ambiente
- P Respetar las normativas vigentes
- P Maximizar eficiencia de aplicación del producto
- P Reducir el riesgo de accidentes
- P Bajar costos
- P Obtener un producto de óptima calidad



LA TRAZABILIDAD DE LOS PROCESOS

Su importancia comercial y estratégica

Edmundo Araya A.
Director General
Fundación para el Desarrollo Frutícola



Relación Cliente-Proveedor

- Entre otras ...
Basada en la CONFIANZA mutua.
Especificaciones de CALIDAD.
RESPONSABILIDAD por el producto o servicio.
De largo PLAZO.



Relación Cliente-Proveedor

- En la industria de hoy y en particular en la Industria Agrícola , se agregan nuevos elementos :

- Medio Ambiente
- Higiene e Inocuidad
- Protección al Trabajador
- Información
- ...



LA RESPONSABILIDAD POR EL PRODUCTO

- ¿Productor?
- ¿Exportador?
- ¿Transportista?
- ¿Mayorista?
- ¿Supermercado?



RESPONSABILIDAD POR EL PRODUCTO

- CONTROL DE PROCESOS
- CONTROL DE CALIDAD



CONTROL NO SIGNIFICA INSPECCION

Significa esencialmente PREVENCIÓN



RESPONSABILIDAD POR EL PRODUCTO

- CONTROL DE PROCESOS
 - Producción (Vivero, Plantación)
 - Packing
 - Frigorífico
 - Transporte
 - ...

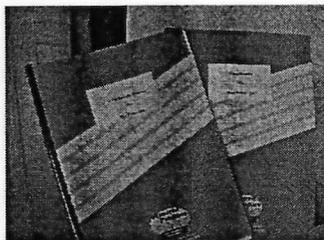
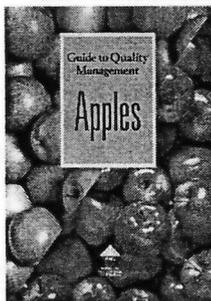


RESPONSABILIDAD POR EL PRODUCTO

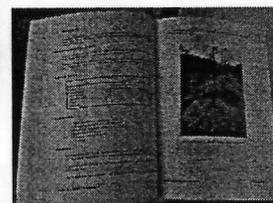
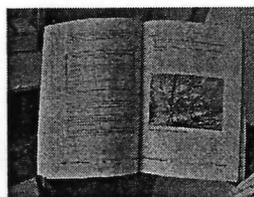
- Para dar GARANTIA, los Procesos deben ser:
 - Planificados (Base Técnica)
 - Documentados (Manuales)
 - Monitoreados (Registros)
 - Auditados (Terceras partes)



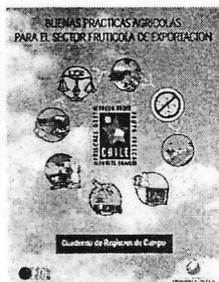
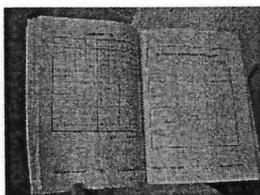
ALGUNOS EJEMPLOS



ALGUNOS EJEMPLOS



ALGUNOS BUENOS EJEMPLOS



ALGUNOS BUENOS EJEMPLOS



TRAZABILIDAD

PROCEDIMIENTO INFORMÁTICO MEDIANTE EL CUAL A PARTIR DEL EXAMEN DE LOS DATOS (REGISTRO) DE UN CUARTEL , LOTE , BIN , PALLET Ó CAJA , PUEDE DETERMINAR CON PRECISIÓN TODAS LAS COMPONENTES DE LOS PROCESOS ANTERIORES POR LOS QUE PASÓ, CON EL OBJETO DE AYUDAR A LA TOMA DE DECISIONES



TRAZABILIDAD

- En caso de un Producto Defectuoso o Reclamo permite:
Seguir hacia atrás en los REGISTROS para establecer la o las posibles causas .
 - Si se establecen , permite SEPARAR .
 - CORREGIR el proceso , y
 - Tomar ACCION.
 - Si no se establecen , entonces se MEJORAN los registros o se INVESTIGA.



TRAZABILIDAD

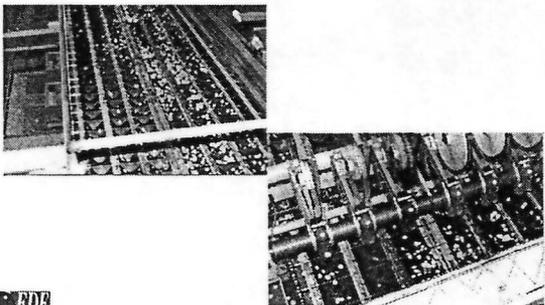
- Un buen sistema de REGISTROS tiene entre otras las siguientes características :
 - SIMPLE
 - Cada DATO DEBE tener una justificación CLARA.
 - MUY PRECISO.
 - Debe permitir al usuario DETECTAR en el punto de trabajo una anomalía.



ALGUNOS MALOS EJEMPLOS

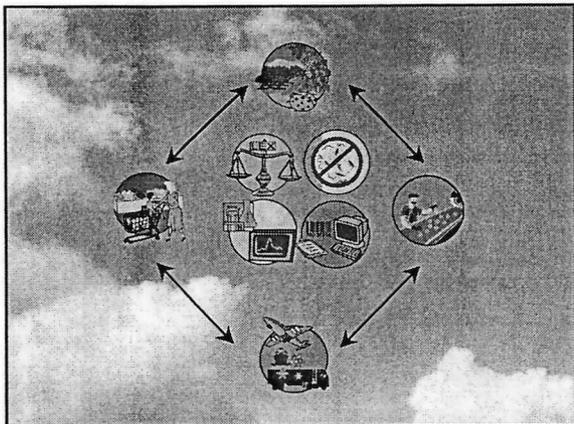


ALGUNOS MALOS EJEMPLOS



LO QUE VIENE ...



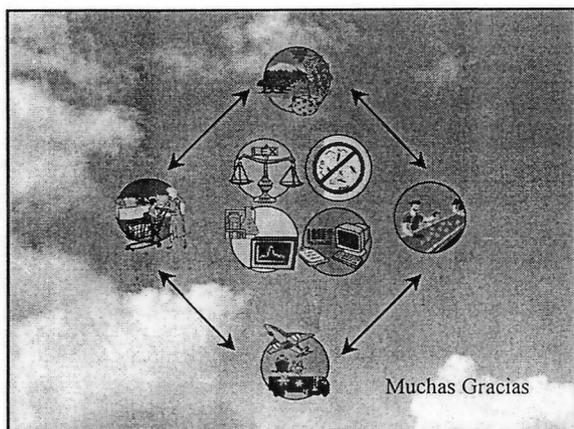


⋮

TRAZABILIDAD

Recomendaciones Finales

- Este es un Procedimiento que permite mejor **TRANSPARENCIA** a la relación Cliente-Proveedor.
- Por ende , contribuye a una mayor **CONFIANZA** mutua y en el corto tiempo a **COMPARTIR** decisiones comerciales.
- Es una herramienta para ayudar al **ASEGURAMIENTO** de la Calidad y hacer **Mejores Negocios**.



10. BIBLIOGRAFÍA

1. Food Safety from Farm to Table. EPA. A report to the President. Mayo 1997.
2. Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables. FDA, October 1998.
3. Recommendation 13- Apply Control Practices from Food Source to Consumption. CAST- October 1998.
4. Industrywide Guidance to Minimize Microbiological Food Safety Risks for Produce. Scientific & Regulatory affairs United Fresh Fruit & Vegetable Association. Nov. 1998.
5. Food Safety for Produce Distribution. PMA 1998.
6. Bacterial and Coliform Counts in Milk. Dry Rehydratable Film Methods- 986.33
AOAC Official Methods of Analysis, 1990.
7. Dry Rehydratable Film for Enumeration of Total Coliforms and *Escherichia coli* in Foods. Collaborative Study. M.Curial etal. J.Assoc.Anal. Chem. Vol. 72, N° 4,1990.
8. Salmonella. Chapter 5- Bacteriological Analytical Manual Online. September 1999.
9. Bind Salmonella. Rapid Assay kit for Salmonella- Idexx.
10. Salmonella Screen and Salmonella Verify. Vicam.
11. Análisis de Agua- Millipore 1996.
12. Deteccao d`*Escherichia coliformes* Fecais pela Tecnica da Membrana Filtrante e pelo Sistema Cromogénico Colilert. Daniel Cerqueira etal. Companhia de Saneamento de Minas Gerais- COPASA, 1998.
13. Enzyme Substrate *Escherichia Coliform* Test. 9223- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20 Th ed.1997.
14. AOAC Official Method total Coliforms and *Escherichia coli* in Water.16 ed. 1991.
15. National Primary Drinking Water Regulation, Analytical techniques. Coliform Bacteria. Final Rule. Environmental Protection Agency. 40 CFR Part 141. 1992.