

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE PRODUCTOS
HIDROBIOLÓGICOS CHILENOS DE EXPORTACIÓN**

**Actividad Formativa Equivalente (AFE) presentada a la Universidad
de Chile para optar al grado de Magíster en Alimentos mención
Gestión, Calidad e Inocuidad de los Alimentos por:**

RICARDO ANDRÉS RIQUELME FERNÁNDEZ

DIRECTOR DE AFE: Javiera Cornejo Kelly

SANTIAGO DE CHILE

Septiembre 2020

INDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	7
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	8
Aerobios mesófilos.....	11
<i>Escherichia coli</i>	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	13
<i>Salmonella</i> spp	15
<i>Listeria monocytogenes</i>	17
3. HIPÓTESIS.....	20
4. OBJETIVO GENERAL.....	20
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
6. MATERIALES Y MÉTODOS	21
a) Lugar de estudio.....	21
b) Población de estudio y muestreo	21
c) Ingreso y Almacenamiento	22
d) Objetivo N°1 - Evaluar los recuentos de indicadores de calidad microbiológica (aerobios mesófilos, <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>) en productos hidrobiológicos chilenos de exportación	22
▪ Aerobios mesófilos por recuento en placa (Norma NCh 2659):	22
▪ <i>E. coli</i> por Número Más Probable (NMP) (Norma NCh 3056):	22
▪ <i>S. aureus</i> por recuento en placa (Norma NCh 2671):.....	23
e) Objetivo N°2 - Determinar la presencia de <i>Salmonella</i> spp. y <i>L. monocytogenes</i> en productos hidrobiológicos chilenos de exportación	23
▪ <i>Salmonella</i> spp. (Norma NCh 2659):.....	23
▪ Detección de <i>L. monocytogenes</i> (Norma NCh 2657):.....	24
▪ Enumeración de <i>L. monocytogenes</i> por recuento en placa (Norma NCh 2657/2):..	24
7. RESULTADOS.....	25
a) Objetivo N°1 - Evaluar los recuentos de indicadores de calidad microbiológica (aerobios mesófilos, <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>) en productos hidrobiológicos chilenos de exportación	25
▪ Aerobios mesófilos:	25
▪ <i>E. coli</i> :	26
▪ <i>S. aureus</i> :.....	27
b) Objetivo N°2 - Determinar la presencia de <i>Salmonella</i> spp. y <i>L. monocytogenes</i> en productos hidrobiológicos chilenos de exportación	29
▪ Detección de <i>Salmonella</i> spp:	29

▪	Detección de <i>L. monocytogenes</i> :	31
▪	Enumeración de <i>L. monocytogenes</i> :	33
8.	DISCUSIÓN	35
9.	CONCLUSIONES.....	40
10.	BIBLIOGRAFÍA	42
11.	ANEXO N°01: GLOSARIO.	46
12.	ANEXO N°02. Certificados de Acreditación LE1362 y LE1363.....	47

INDICE DE AYUDAS ILUSTRATIVAS

Tabla N°01. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para aerobios mesófilos, según tipo de producto.	12
Tabla N°02. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para <i>Escherichia coli</i> , según tipo de producto.	13
Tabla N°03. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para <i>Staphylococcus aureus</i> , según tipo de producto.....	14
Tabla N°04. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para <i>Salmonella</i> spp., según tipo de producto.	16
Tabla N°05. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para la enumeración de <i>Listeria monocytogenes</i> , según tipo de producto.	18
Tabla N°06. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para la detección de <i>L. monocytogenes</i> , según tipo de producto.....	18
Tabla N°07. Muestras PAC analizadas, por año, según categoría de producto.....	22
Tabla N°08. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para aerobios mesófilos, según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.....	25
Tabla N°09. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para <i>Escherichia coli</i> , según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.....	26
Tabla N°10. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para <i>Staphylococcus aureus</i> , según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.....	28
Tabla N°11. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para la detección de <i>Salmonella</i> spp., según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.....	30
Tabla N°12. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para la detección de <i>Listeria monocytogenes</i> , según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.....	32
Tabla N°13. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para la enumeración de <i>Listeria monocytogenes</i> , según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.....	33

RESUMEN

Chile posee diversos ecosistemas pesqueros a lo largo de sus costas, lo cual le otorga ventajas en cuanto a la producción de variados recursos marinos altamente valorados en el mundo. Sin embargo, los pescados y productos de la pesca juegan un rol preponderante en la aparición de brotes de ETA, por lo que las empresas, como parte de los requisitos estipulados por los organismos reguladores, deben establecer programas de aseguramiento de calidad en sus líneas de producción. Considerando lo anterior, se evaluó la calidad microbiológica de productos pesqueros chilenos de exportación.

Objetivo: Evaluar la calidad microbiológica de productos hidrobiológicos chilenos de exportación.

Material y Métodos: Se realizó un muestreo censal de las muestras de exportación de empresas pesqueras del Programa de Aseguramiento de la Calidad del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura de Chile (SERNAPESCA) entre enero de 2018 y julio de 2019. En el Laboratorio de Inocuidad de los Alimentos, de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, se analizaron 164 muestras entre 2018 y 2019, evaluándose los recuentos de indicadores de calidad (aerobios mesófilos, según NCh 2659; *E. coli*, según NCh 3056; y *S. aureus*, según NCh 2671) y determinando la presencia de microorganismos patógenos (*Salmonella* spp., según NCh 2659; detección de *L. monocytogenes*, según NCh 2657, y enumeración de *L. monocytogenes*, según NCh 2657/2). Se evaluó el cumplimiento de los criterios de aceptación de los planes de muestreo de cada producto estudiado, al ser comparados con los estándares microbiológicos establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA. Se realizó un estudio descriptivo de los resultados obtenidos para cada ensayo, según tipo de producto analizado.

Resultados: Se detectaron muestras desfavorables en las categorías “platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos” (30%), “productos pesqueros ahumados” (22,2%), “crustáceos congelados cocidos” (12,5%), y “pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos” (4,2%). Paralelamente, los parámetros evaluados, ordenados de mayor a menor porcentaje de desfavorables, fueron detección de *L. monocytogenes* (6,36%), detección de *Salmonella* spp. (2,1%), y recuento de aerobios mesófilos (0,9%). No se detectaron resultados desfavorables para *E. coli*, *S. aureus*, ni enumeración de *L. monocytogenes*. Particularmente, una muestra de producto pesquero ahumado resultó desfavorable para dos parámetros al mismo tiempo. Por otra parte, todos los aislados de *Salmonella* spp. obtenidos correspondieron a la serovariedad Infantis.

Conclusiones: Este estudio sienta las bases para enfocar las medidas de control de calidad en la industria pesquera. En este sentido, los productos altamente procesados y aquellos listos para el consumo deben ser cuidadosamente controlados, por cuanto no requieren un tratamiento previo a su consumo, lo cual implica un riesgo directo a la salud de los consumidores.

Palabras clave: Productos pesqueros; indicadores de calidad; microorganismos patógenos; inocuidad de los alimentos; Salud Pública.

ABSTRACT

Chile has diverse fishing ecosystems along its coasts, which gives it advantages in terms of the production of several marine resources highly valued in the world. However, fish and fishery products play a preponderant role in the appearance of outbreaks of foodborne illnesses. So, companies as part of the requirements stipulated by regulatory bodies, must establish quality assurance programs in their lines of production. Considering the above, the microbiological quality of Chilean fishery products for export was evaluated.

Objective: evaluate the microbiological quality of Chilean hydrobiological products for export.

Material and Methods: A census sampling of the export samples from fishing companies of the Quality Assurance Program of the National Fisheries and Aquaculture Service of Chile (SERNAPESCA) was carried out between January 2018 and July 2019. In the Food Safety Laboratory from the Faculty of Veterinary and Livestock Sciences of the University of Chile, 164 samples were analyzed between 2018 and 2019, evaluating the counts of quality indicators (mesophilic aerobes, according to NCh 2659; *E. coli*, according to NCh 3056; and *S. aureus*, according to NCh 2671) and determining the presence of pathogenic microorganisms (*Salmonella* spp., according to NCh 2659; detection of *L. monocytogenes*, according to NCh 2657, and enumeration of *L. monocytogenes*, according to NCh 2657/2). Compliance with the acceptance criteria of the sampling plans of each product studied was evaluated, and compared with the microbiological standards established in the SERNAPESCA Safety and Certification Manual. A descriptive study of the results obtained for each test was carried out, according to the type of product analyzed.

Results: Unfavorable samples were detected in the categories "mixed prepared dishes with raw and / or cooked ingredients" (30%), "smoked fish products" (22.2%), "cooked frozen crustaceans" (12.5%), and "raw chilled and frozen fish and cephalopods" (4.2%). In parallel, the evaluated parameters, ordered from highest to lowest percentage of unfavorable, were detection of *L. monocytogenes* (6.36%), detection of *Salmonella* spp. (2.1%), and count of mesophilic aerobes (0.9%). No unfavorable results were detected for *E. coli*, *S. aureus*, or enumeration of *L. monocytogenes*. In particular, a smoked fish product sample was unfavorable for two parameters at the same time. On the other hand, all *Salmonella* spp. obtained corresponded to the Infantis serovar.

Conclusions: This study lays the foundations to focus on quality control measures in the fishing industry. In this sense, highly processed products and those ready for consumption must be controlled, since they do not require treatment prior to consumption, which implies a direct risk to the health of consumers.

Keywords: Fishery products; quality indicators; pathogenic microorganisms; food safety; Public Health.

1. INTRODUCCIÓN

Es fundamental el consumo de alimentos inocuos para promover la vida y salud de las personas, y es responsabilidad de las autoridades de cada país asegurar que los alimentos producidos, consumidos y comercializados no provoquen infección ni contaminación, ya que las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) menoscaban la salud humana y provocan cuantiosas pérdidas económicas.

Debido a que Chile está próximo a convertirse en el principal exportador de productos hidrobiológicos a nivel latinoamericano, el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA) fiscaliza continuamente la industria pesquera para asegurar que se cumplan los requisitos necesarios para asegurar la inocuidad de los productos pesqueros producidos. Esto, porque alimentos inseguros que contienen bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas dañinas provocan más de 200 enfermedades distintas, desde diarrea a cáncer. Particularmente, se asocia a productos hidrobiológicos la multiplicación de varios microorganismos que pueden producir enfermedades en el ser humano.

En vista de lo anterior, en este estudio, se evaluó la calidad de productos hidrobiológicos chilenos de exportación, durante los años 2018 y 2019.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), los alimentos que contienen bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas dañinas provocan más de 200 enfermedades distintas, desde diarrea a cáncer, siendo las enfermedades diarreicas las más comunes, resultando del consumo de alimento contaminado. Se estima que 600 millones de personas en el mundo (1 de cada 10) se enferma luego de comer alimentos contaminados, y que 400.000 personas mueren cada año. Por otra parte, los niños menores a cinco años representan el 40% del total de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), con 125.000 muertes cada año (WHO, 2017).

Las ETAs impiden el desarrollo socioeconómico al afectar los sistemas de salud, al dañar economías nacionales, el turismo y el intercambio. Así, se crea un ciclo vicioso de enfermedad y malnutrición, afectando particularmente a niños, ancianos y enfermos. Como las cadenas de abastecimiento de alimentos ahora atraviesan múltiples límites internacionales, para asegurar la inocuidad de los alimentos es necesaria una buena colaboración entre gobiernos, productores y consumidores (WHO, 2017). Por lo tanto, las consecuencias de las enfermedades transmitidas por los alimentos se dejan sentir a todos los niveles: se menoscaba el bienestar del consumidor; la empresa que suministró el producto puede ser procesada y experimentar los efectos financieros de la publicidad negativa; se puede empañar la reputación de la industria en general y del comercio internacional (FAO, 2009).

En general, las ETAs son de naturaleza infecciosa o tóxica, y pueden ser causadas por bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas que ingresan al cuerpo a través de agua o alimento contaminado. Los patógenos transmitidos por alimentos pueden causar severa diarrea o infecciones debilitantes, incluyendo meningitis (WHO, 2017).

Particularmente, en Chile, entre los años 2005 y 2010, se notificaron 5.689 brotes de ETA, siendo registrado el mayor número en 2008, contabilizándose 1.316 (7,9 brotes por 100.000 habitantes). Los brotes presentaron un comportamiento estacional, con tendencia a los meses de verano (Olea *et al.*, 2012). Algunos de los agentes etiológicos involucrados fueron *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Vibrio parahaemolyticus*, y otros, como *Listeria* spp, *Staphylococcus* spp, enteritis virales e infección por *Giardia* spp y por *Sarcocystis* spp. Por otra parte, el grupo de mayor riesgo correspondió al de

15 a 44 años, seguido por el grupo etario de 45 a 64, y 5 a 14, con una tendencia similar en cuanto a la distribución por sexos en prácticamente todos los grupos etarios (Alerte *et al.*, 2012). A lo largo de los años, la tendencia indica un aumento en la proporción de la pérdida de inocuidad atribuible a la manipulación doméstica, en vez de manipulación comercial (Olea *et al.*, 2012).

De acuerdo con el Departamento de Estadísticas e Información de Salud (DEIS) del Gobierno de Chile, en 2018, el 33,6% de los brotes de ETA fueron atribuidos a pescados y productos de la pesca. Particularmente, los moluscos bivalvos frescos fueron responsables del 16,9%, seguidos de pescados y mariscos crudos congelados con un 4,9%, y pescado fresco con un 3,5% (DEIS, 2020).

Comparativamente, de acuerdo con los datos del Sistema de Alerta Rápida para Alimentos y Piensos de la Unión Europea (RASFF, por sus siglas en inglés), se notificaron 927 alertas alimentarias en 2017, de las cuales 177 (19%) se asociaron a productos hidrobiológicos; y, de éstas, en un 9% se determinó como agente etiológico a *Salmonella* spp. (European Commission, 2019).

Adicionalmente, en la Unión Europea también se han notificado eventos microbiológicos en productos provenientes de Chile: Presencia de *Salmonella* spp. y elevado recuento de aerobios mesófilos y *Listeria monocytogenes* en pescados y productos de la pesca; elevado recuento de *Escherichia coli* y *Samonella* spp. en moluscos bivalvos y relacionados; y *Staphylococcus aureus* en crustáceos y relacionados (European Commission, 2019).

Por otra parte, de acuerdo con los datos de la Red de Información y Alertas Alimentarias (RIAL) de la Agencia Chilena para la Inocuidad y Calidad Alimentaria (ACHIPIA), en los últimos cinco años, se han notificado eventos asociados a *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* en merluza, langostinos, salmón, jibia y camarón (ACHIPIA, 2019a).

Lo anterior cobra relevancia si se considera que desde la década del 80 hubo un crecimiento significativo de la actividad pesquera nacional, entre otras razones, debido a que Chile es un país privilegiado desde el punto de vista pesquero, ya que, frente a sus costas de 4.300 km, se encuentran ecosistemas de gran productividad (Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, 2018). La gran diversidad en ambientes marinos y las alteraciones a las que está sujeto el océano chileno determinan la existencia de

recursos adaptados a esas particulares condiciones de vida (Arana, 2012), y, evidentemente, otorgan ventajas casi únicas en el mundo, como productor de recursos pesqueros altamente valorados y demandados en los mercados mundiales. Dichas ventajas le han permitido a nuestro país llegar a posicionarse entre los primeros diez países del mundo con mayores desembarques de recursos pesqueros (Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, 2018). De hecho, en 2017 se produjeron 582.175 toneladas de producto congelado, de las cuales 389.252 toneladas correspondieron a peces, 181.893 a moluscos, 9.615 toneladas a crustáceos, y 1.355 a otras especies (SERNAPESCA, 2020). Por otra parte, en términos de exportación, en 2018, se exportaron 1.4 millones de toneladas de pescados, valorizadas en 6.600 millones de dólares, con lo que Chile fue ubicado como el quinto exportador de pescados en el mundo; adicionalmente, fue el segundo mayor exportador de salmón y moluscos bivalvos (el principal exportador de salmón es Noruega, mientras que China es el principal exportador de moluscos bivalvos), y está dentro de los tres principales exportadores de plantas acuáticas; ocupó el segundo lugar a nivel mundial en la producción acuicultura y de moluscos bivalvos (1.266 mil toneladas) y décimo entre los principales productores de algas (20.7 mil toneladas) (FAO, 2020).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) estima que, para 2030, Chile incrementará su exportación pesquera a 2,3 millones de toneladas, el equivalente a un crecimiento del 53,6%, con respecto a 2018. Así, para 2030, la producción pesquera, incluida la acuicultura, alcanzaría los 3,9 millones de toneladas, el equivalente a un aumento del 16,6% sobre el nivel de producción alcanzado en 2018; particularmente se prevé que, para 2030, la producción acuícola crecerá a más de 1,6 millones de toneladas, correspondiendo a un aumento del 30,3% respecto a 2018 (FAO, 2020). Es en este contexto que se vuelve necesaria la producción de alimentos inocuos para mantener y promover la Salud Pública.

En Chile, el organismo encargado de contribuir a la sustentabilidad y a la protección de los recursos hidrobiológicos y su medio ambiente es el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA), que, a través de una fiscalización integral y sanitaria, influye en el comportamiento sectorial, promoviendo el cumplimiento de las normas. Particularmente, dentro de sus programas de procesos y comercialización, el Programa de Aseguramiento de Calidad (PAC) asegura la inocuidad de productos

pesqueros de exportación mediante la evaluación de peligros y control de puntos críticos (HACCP) en el proceso productivo de la industria, cuyos planes son aprobados y supervisados, basándose en las normas del *Códex Alimentarius* (SERNAPESCA, 2018a).

Para verificar que los productos hidrobiológicos de exportación cumplen con un nivel microbiológico aceptable, las autoridades sanitarias y la industria utilizan ensayos microbiológicos, de modo de evaluar la presencia de bacterias patógenas, bacterias indicadoras de contaminación fecal, o bacterias indicadoras de prácticas de elaboración deficiente o contaminación general (Álvarez, 2005). Para asegurar lo anterior, SERNAPESCA emitió el Manual de Inocuidad y Certificación, el cual describe las normas y procedimientos que permiten controlar la inocuidad de productos pesqueros y de acuicultura de exportación, tomando como base legal Decretos y Resoluciones del Ministerio de Salud (por ejemplo, el Reglamento Sanitario de los Alimentos), Ministerio de Agricultura, Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, y Ministerio de Relaciones Exteriores.

De acuerdo con este Manual, algunos de los parámetros a evaluar en los productos pesqueros de exportación son (SERNAPESCA (2018b):

Aerobios mesófilos

Las bacterias aerobias mesófilas son consideradas como organismos indicadores, y el recuento de aerobios mesófilos (RAM) es una de las pruebas más comunes para indicar calidad microbiológica en alimentos, siendo utilizado como indicador de la calidad del procesamiento del alimento (FSANZ, 2016). Además, es un método útil para obtener una idea del grado de frescura o pronta alteración de los alimentos, dado que este método indica el número de bacterias que crecen en la presencia de oxígeno y a temperaturas moderadas (20 °C y 40 °C), sin realizar una diferenciación entre especie (Mol *et al.*, 2007; FSANZ, 2016). Está descrito que cantidades de 107-108 UFC/g hacen que el deterioro organoléptico sea detectable (Mol *et al.*, 2007; Armani *et al.*, 2016).

En la tabla N°01 se indican los estándares microbiológicos para aerobios mesófilos, según el tipo de producto, establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA.

Tabla N°01. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para aerobios mesófilos, según tipo de producto.

Producto	m	M	n	c
Crustáceos congelados crudos	5 x 10 ⁵	10 ⁶	5	3
Crustáceos congelados cocidos	5 x 10 ⁵	10 ⁶	5	3
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados crudos	5 x 10 ⁵	10 ⁶	5	3
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados cocidos	10 ⁵	5 x 10 ⁵	5	3
Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos	5 x 10 ⁵	10 ⁶	5	3
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	10 ⁵	10 ⁶	5	1
Productos pesqueros ahumados	10 ⁵	5 x 10 ⁵	5	1

m: límite inferior; M: límite superior; n: número de muestras; c: criterio de aceptación (número máximo de muestras que puede presentar valores entre los límites inferior y superior)

(SERNAPESCA, 2018b)

Escherichia coli

Es una bacteria coliforme que coloniza y reside en el tracto gastrointestinal de casi todos los animales de sangre caliente, incluyendo humanos, y cuya transmisión, por lo tanto, ocurre principalmente por ruta fecal-oral a través de la ingestión de agua o alimento contaminado (Murugadas *et al.*, 2016).

Aunque la mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas (Dutta y Sengupta, 2016), aquellas que provocan enfermedad en seres humanos, especialmente diarrea hemorrágica, y ocasionalmente falla renal (especialmente en niños y ancianos), han sido implicados en importantes brotes de origen alimentario (Murugadas *et al.*, 2016). Estas cepas con propiedades típicamente virulentas han surgido como un serio peligro a la salud, ya que el consumo de incluso bajas cantidades conlleva el riesgo de enfermedades que amenazan la vida (Dutta y Sengupta, 2016).

E. coli es considerada el mejor indicador de contaminación fecal, aunque también puede atribuirse su presencia a la calidad del agua (contaminación con aguas residuales), a un manejo inadecuado, método de pesca y almacenamiento. En ese sentido, se ha reportado su ocurrencia en diversos productos hidrobiológicos (Chakravarty *et al.*, 2015). Kumaran *et al.* (2010) cuantificaron menores recuentos de *E. coli* en centros de desembarque, con peces capturados del mar y desde estuarios, que otros mercados locales, ya que *E. coli* no sobrevive en el ambiente marino por mucho tiempo. Dutta y Sengupta (2016), por otra parte, determinaron que la presencia

de *E. coli* presenta marcada estacionalidad, al incrementar su presencia en meses de verano.

En mariscos, la presencia de *E. coli* se ha documentado en distintas partes del mundo. Particularmente, ambientes costeros podrían jugar un rol en la transmisión de STEC. Por otra parte, se han descrito altos niveles de *E. coli* en moluscos bivalvos durante meses de verano, y cepas resistentes a cefalotina y gentamicina en ostras afectadas por plantas de tratamiento de aguas residuales. Además, se ha detectado una alta prevalencia de *E. coli* en camarones descabezados y con cáscara; y también en muestras de camarón cocido sin cáscara (Albuquerque, 2013).

En la tabla N°02 se indican los estándares microbiológicos para *Escherichia coli*, según el tipo de producto, establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA.

Tabla N°02. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para *Escherichia coli*, según tipo de producto.

Producto	m	M	n	c
Crustáceos congelados crudos	100	500	5	3
Crustáceos congelados cocidos	10	100	5	3
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados crudos	100	500	5	3
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados cocidos	10	100	5	3
Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos	100	500	5	3
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	50	500	5	1
Productos pesqueros ahumados	10	100	5	1

m: límite inferior; M: límite superior; n: número de muestras; c: criterio de aceptación (número máximo de muestras que puede presentar valores entre los límites inferior y superior)

(SERNAPESCA, 2018b)

Staphylococcus aureus

Es una bacteria Gram positiva anaeróbica facultativa, catalasa y coagulasa positiva; y es considerada como la tercera causa más importante de ETAs en el mundo (Arfatahery *et al.*, 2015). Se describe que un 35-50% de la población humana es portadora asintomática de *S. aureus* en la cavidad nasal, garganta y piel, siendo, por lo tanto, la mala higiene en la manipulación de alimentos, una importante fuente de contaminación. Además, puede haber una contaminación de los productos

hidrobiológicos dado un mal manejo de captura, almacenamiento o cocción de este (Loir *et al.*, 2003; Gutiérrez *et al.*, 2012).

La ETA asociada a esta bacteria cursa con signología luego de 2-6 horas de la ingesta, y es caracterizada por vómitos, náuseas, diarrea y cólicos, siendo más severa en personas de edades extremas o inmunocomprometidas (Romero *et al.*, 1994; Arfatahery *et al.*, 2015).

En Reino Unido y E.E.U.U, el *S. aureus* es la causa de más del 69% de todas las ETAs, causado por diversos alimentos crudos o mal cocidos. En Japón, por otra parte, el alimento más comúnmente involucrado en estos brotes es el sushi (pescado crudo), y en Corea, los alimentos involucrados en brotes entre 1996-2000 fueron productos hidrobiológicos crudos y la carne (Arfatahery *et al.*, 2015).

Obaidat *et al.* (2015) evaluó 330 muestras de pescado fresco importado desde tres países distintos, obteniendo 156 aislados de *S. aureus*, de los cuales un 88,5% presentaba resistencia a al menos un antibiótico. Es más, cierta resistencia a antibióticos presentó una fuerte correlación con enterotoxigenicidad en *S. aureus*, lo cual brinda importancia a la manipulación y procesamiento de pescados en relación con la salud de los consumidores a nivel mundial.

En la tabla N°03 se indican los estándares microbiológicos para *Staphylococcus aureus*, según el tipo de producto, establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA

Tabla N°03. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para *Staphylococcus aureus*, según tipo de producto.

Producto	m	M	n	c
Crustáceos congelados crudos	100	500	5	2
Crustáceos congelados cocidos	10	100	5	1
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados crudos	100	500	5	2
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados cocidos	10	100	5	1
Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos	100	500	5	2
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	50	500	5	1
Productos pesqueros ahumados	10	100	5	1

m: límite inferior; M: límite superior; n: número de muestras; c: criterio de aceptación (número máximo de muestras que puede presentar valores entre los límites inferior y superior)

(SERNAPESCA, 2018b)

***Salmonella* spp.**

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae (Bergey, 2012), y corresponde a un grupo de bacterias mesófilas que representan la segunda causa más importante de gastroenteritis en humanos (Novoslavskij *et al.*, 2015). Son bacilos rectos Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulados, generalmente móviles por flagelos peritricos (Bergey, 2012). *Salmonella* es un importante patógeno alimentario (Asai *et al.*, 2008), ya que es el agente etiológico de la salmonelosis, enfermedad de transmisión alimentaria que anualmente origina millones de casos en el mundo, constituyendo un serio problema en el ámbito social, económico y de Salud Pública (ISP, 2010), con un costo estimado en mil millones de dólares, asociados a los problemas de salud crónicos y de la enfermedad diarreica, junto con las secuelas asociadas a la enfermedad (Heinitz *et al.*, 2000).

Los miembros del género *Salmonella* están ampliamente distribuidos en la naturaleza, se les encuentra como comensales y como patógenos en el tracto gastrointestinal de mamíferos domésticos y salvajes, reptiles, aves e insectos, causando un amplio espectro de enfermedades en el hombre y los animales (ISP, 2010).

Aunque los alimentos más asociados a su infección son los huevos y el pollo, la contaminación por *Salmonella* spp. se ha reportado en productos hidrobiológicos (Asai *et al.*, 2008) incluyendo pescado, camarones, almejas, mejillones, ostras, cangrejos, langostas, calamares, sepias y pulpos (Novoslavskij *et al.*, 2015). Hoffmann *et al.* (2016) asociaron aislados de *Salmonella* *bareilly* de un brote ETA en Estados Unidos, con atún proveniente de una instalación en India.

La prevalencia depende del tipo de producto, reportándose que moluscos, camarones, almejas y varias especies de pescado presentan las tasas más altas, lo cual puede explicarse principalmente por fallas de higiene durante la producción (Novoslavskij *et al.*, 2015).

Se estiman más de 1.340.000 casos de enfermedades alimentarias atribuidas a *Salmonella* no tifoidea, con más de 15.600 hospitalizaciones, y más de 550 muertes (30,6% del total de muertes por ETA) anualmente en Estados Unidos, donde la incidencia con productos hidrobiológicos como vehículo de transmisión representa el 7,42% del total de brotes (Heinitz *et al.*, 2000).

La incidencia de *Salmonella* varía según el tipo de producto, con el pescado presentando la incidencia más alta (12.2%), mientras que la menor incidencia la presentan los productos procesados (2%). Se ha estimado que el número de infecciones que no son reportadas es de 20 y 100 veces más grande que las infecciones reportadas, resultando en 1% de la población aproximadamente infectada cada año (Heinitz *et al.*, 2000)

Salmonella Enteritidis es el serotipo más frecuentemente asociado con muertes en los Estados Unidos, y ha sido aislada desde pastas de pescado que son usadas como condimentos, sin ser sometidos a altas temperaturas (Heinitz *et al.*, 2000). Sin embargo, se ha aislado una amplia diversidad de serovares en productos hidrobiológicos, por lo que la contaminación proviene de diversas fuentes (Deekshit *et al.*, 2016), entre las que pueden atribuirse la contaminación del agua y prácticas de alimentación con piensos contaminados, lo cual puede influir en la prevalencia de peces vivos, mientras que una higiene deficiente durante la captura, el manejo y el transporte puede resultar en la contaminación y en la alta prevalencia de *Salmonella* en productos destinados a consumo humano (Novoslavskij *et al.*, 2015). Por otra parte, en Chile, se observó un aumento de brotes por *Salmonella* Enteritidis, de 8% el año 2005 a 34% en el año 2010, de acuerdo con lo informado por Olea *et al.* (2012).

En la tabla N°04 se indican los estándares microbiológicos para *Salmonella* spp., según el tipo de producto, establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA

Tabla N°04. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para *Salmonella* spp., según tipo de producto.

Producto	M	n	C
Crustáceos congelados crudos	Ausencia	5	0
Crustáceos congelados cocidos	Ausencia	5	0
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados crudos	Ausencia	5	0
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados cocidos	Ausencia	5	0
Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos	Ausencia	5	0
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	Ausencia	5	0
Productos pesqueros ahumados	Ausencia	5	0

m: límite inferior; n: número de muestras; c: número de aceptación (número máximo de muestras que pueden presentar valores superiores al límite inferior)

(SERNAPESCA, 2018b)

Listeria monocytogenes

Es un patógeno intracelular, responsable de la listeriosis. A nivel mundial ha causado importantes brotes de origen alimentario (EFSA, 2015). Una vez ingerido, puede penetrar la barrera endotelial intestinal, placentaria e incluso la hematoencefálica. Debido a su adaptabilidad en ambientes ácidos y de baja actividad de agua, es una amenaza insidiosa para algunos tipos de alimentos, incluyendo alimentos listos para el consumo (LPC) y productos marinos. Además, es capaz de resistir y sobrevivir a temperaturas de refrigeración (Saldívar *et al.*, 2018). Gracias a que su período de incubación puede variar de 3 a 60 días, a menudo es difícil determinar el alimento responsable de la infección, pudiendo provocar en personas sanas episodios de gastroenteritis y fiebre, siendo los grupos de mayor riesgo niños, personas sobre 65 años, embarazadas, y personas inmunocomprometidas (Gambarin *et al.*, 2012). La tasa de mortalidad en individuos susceptibles puede alcanzar el 20-40%, sin embargo, presenta una baja incidencia (4-12%) (Lianou y Sofos, 2007). *L. monocytogenes* es ubicua en el medioambiente, y ha sido aislada desde suelos, ensilados, heces animales, agua dulce y salada y desde sedimento marino (Embarek, 1994), detectándose también como microbiota natural de sistemas acuáticos, debido a su habilidad de sobrevivir fuera de organismos huésped por un prolongado período de tiempo (Adgamov *et al.*, 2013). Es así como también se ha encontrado en diversos productos pesqueros procesados y sin procesar, incluyendo mariscos congelados, salmón ahumado en frío y caliente, peces marinados, fermentados y salados, representando un riesgo para los consumidores. En general, la prevalencia de *L. monocytogenes* en ambientes acuáticos se correlaciona con el grado de actividad humana. Su alta prevalencia junto con la habilidad de sobrevivir en el ambiente indica que los peces pueden ser una fuente de listeriosis humana y representa potencialmente un problema de salud pública. Por lo tanto, la contaminación de productos crudos podría ser un factor importante, que contribuya a los riesgos de una contaminación más amplia con *L. monocytogenes*, especialmente si los productos se consumen sin un tratamiento térmico previo (Novoslavskij *et al.*, 2015).

En las tablas N°05 y N°06, se indican los estándares microbiológicos para *Listeria monocytogenes*, según el tipo de producto, establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA.

Tabla N°05. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para la enumeración de *Listeria monocytogenes*, según tipo de producto.

Producto	m	n	c
Crustáceos congelados crudos	100	5	0
Crustáceos congelados cocidos	100	5	0
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados crudos	100	5	0
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados cocidos	100	5	0
Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos	100	5	0
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	10	5	0
Productos pesqueros ahumados	10	5	0

m: límite inferior; n: número de muestras; c: número de aceptación (número máximo de muestras que pueden presentar valores superiores al límite inferior)

(SERNAPESCA, 2018b)

Tabla N°06. Plan de muestreo y estándares microbiológicos para la detección de *L. monocytogenes*, según tipo de producto.

Producto	m	n	c
Productos pesqueros en general, algas y derivados de algas (mercado China)	Ausencia en 25 g	5	0
Productos pesqueros y crustáceos listos para consumo, productos pelados y descabezados de crustáceos, moluscos cocidos (mercado Costa Rica)	Ausencia en 25 g	5	0
Alimentos congelados y frescos o ahumados que puedan ser consumidos de manera directa (mercado Turquía)	Ausencia en 25 g	5	0
Pescados, cangrejos y similares y otros Invertebrados (cefalópodos, equinodermos, gasterópodos) crudos enfriados-refrigerados y congelados (mercado Unión Económica Euroasiática)	Ausencia en 25 g	5	0
Pescado ahumado en caliente congelado (mercado Unión Económica Euroasiática)	Ausencia en 25 g	5	0
Pescado entero ahumado en frío congelado (mercado Unión Económica Euroasiática)	Ausencia en 25 g	5	0
Pescado en filete, porciones y rodajas ahumado en frío congelado (mercado Unión Económica Euroasiática)	Ausencia en 25 g	5	0
Pescado cortado, leve ahumado, ligero salado, envasado al vacío (mercado Unión Económica Euroasiática)	Ausencia en 25 g	5	0
Moluscos bivalvos crudos enfriados-refrigerados y congelados (mercado Unión Económica Euroasiática)	Ausencia en 25 g	5	0
Moluscos bivalvos, crustáceos, cangrejos y similares y otros invertebrados (cefalópodos, equinodermos, gasterópodos) cocidos congelados (mercado Unión Económica Euroasiática)	Ausencia en 25 g	5	0
Ovas crudas congeladas (mercado Unión Económica Euroasiática)	Ausencia en 25 g	5	0
Algas secas (mercado Unión Económica Euroasiática)	Ausencia en 25 g	5	0

m: límite inferior; n: número de muestras; c: número de aceptación (número máximo de muestras que pueden presentar valores superiores al límite inferior)

(SERNAPESCA, 2018b)

En Chile, Álvarez (2005) realizó un estudio descriptivo de la condición sanitaria microbiológica de productos pesqueros chilenos de exportación entre los años 1998-2002. Sin embargo, a la fecha, no se han vuelto a publicar estudios relacionados con el tema. En consecuencia, se evaluará la calidad microbiológica en productos hidrobiológicos chilenos de exportación entre los años 2018 y 2019

3. HIPÓTESIS

Los productos hidrobiológicos de exportación cumplen con los criterios microbiológicos de aceptación establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA.

4. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad microbiológica de productos hidrobiológicos chilenos de exportación.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- I. Evaluar los recuentos de indicadores de calidad microbiológica (aerobios mesófilos, *E. coli* y *S. aureus*) en productos hidrobiológicos chilenos de exportación.
- II. Determinar la presencia de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* en productos hidrobiológicos chilenos de exportación.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

a) Lugar de estudio

Esta investigación se realizó en las dependencias del Laboratorio de Inocuidad de los Alimentos (LIA), del Departamento de Medicina Preventiva Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, el cual está Certificado bajo la Norma ISO 17.025:2005, sobre “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración”, otorgada por el Instituto Nacional de Normalización (INN), según Certificados de Acreditación LE 1362 y LE 1363 (Anexo N°1); además es reconocido por la SEREMI de Salud de la Región Metropolitana como Laboratorio Bromatológico de Salud Pública, según Resolución Exenta N°15760 del 24 de julio de 2017; y es reconocido como Laboratorio de Verificación de SERNAPESCA, según Resolución Exenta N°4315 del 15 de septiembre de 2017.

b) Población de estudio y muestreo

Se realizó un muestreo censal de todas las muestras de exportación de empresas pesqueras del Programa de Aseguramiento de la Calidad (PAC), que sean ingresadas a LIA para análisis entre enero de 2018 y julio de 2019.

En vista de lo anterior, la unidad muestral correspondió a cada encomienda enviada por las empresas pesqueras suscritas al programa PAC, cada una de las cuales consistía en cinco unidades de un producto determinado.

Las muestras recepcionadas fueron clasificadas según tipo de producto, de acuerdo con la categorización dispuesta en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA (2018b).

En total, se analizaron 164 muestras de productos hidrobiológicos entre 2018 y 2019. La tabla N°07 detalla esta información.

Tabla N°07. Muestras PAC analizadas, por año, según categoría de producto.

Categoría de producto	Muestras analizadas en 2018	Muestras analizadas en 2019	Total 2018-2019
Crustáceos congelados (crudos y cocidos)	6	3	9
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados (crudos y cocidos)	12	4	16
Pescados y cefalópodos enfriados-refrigerados y congelados	50	70	120
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	3	7	10
Productos pesqueros ahumados	5	4	9
TOTAL	76	88	164

c) Ingreso y Almacenamiento

Con cada envío de muestras, se adjuntaba un Formulario de Envío de Muestras (FEM), que incluía información de la empresa, el muestreo, el producto, y los ensayos a realizar.

Se siguieron las indicaciones del Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA (2018b), respecto de los requisitos de aceptación y almacenamiento de muestras, e inicio de análisis.

d) Objetivo N°1 - Evaluar los recuentos de indicadores de calidad microbiológica (aerobios mesófilos, *E. coli* y *S. aureus*) en productos hidrobiológicos chilenos de exportación

Se analizaron las muestras utilizando los ensayos microbiológicos convencionales que solicita SERNAPESCA.

- Aerobios mesófilos por recuento en placa (Norma NCh 2659):

A partir de diluciones decimales, se siembran placas petri a las cuales se les adiciona Agar de Recuento en Placa. Luego de ser incubadas a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$, se realiza el cálculo para obtener el recuento unidades formadoras de colonias por gramo de muestra.

- *E. coli* por Número Más Probable (NMP) (Norma NCh 3056):

A partir de diluciones decimales, se inoculan series de tubos con medio glutamato mineral modificado de doble y simple concentración, e incuban a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por

24 h ± 2h. Los tubos positivos son confirmados en placas de agar TBX incubadas a 44 °C ± 1°C por 20 h a 24 h.

- S. aureus por recuento en placa (Norma NCh 2671):

A partir de diluciones decimales, se siembran placas de agar Baird-Parker, las cuales son incubadas a 35 °C ± 1 °C durante 24 h ± 2 h. Se realiza un recuento de las colonias típicas, el cual es confirmado mediante la prueba de la coagulasa.

Los resultados obtenidos, para cada tipo de producto, fueron comparados con los estándares microbiológicos establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA (2018b), evaluándose el cumplimiento de los criterios de aceptación de los planes de muestreo de cada producto. Se utilizó el término “desfavorable” para referirse a muestras o resultados que incumplieron algún criterio.

Se realizó un estudio descriptivo, en el cual los resultados obtenidos de los análisis, en cada ensayo, fueron presentados en tablas de proporción, según tipo de producto analizado.

e) Objetivo N°2 - Determinar la presencia de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* en productos hidrobiológicos chilenos de exportación

Se analizaron las muestras utilizando los ensayos microbiológicos convencionales que solicita SERNAPESCA.

- Salmonella spp. (Norma NCh 2659):

Se determina la presencia o ausencia mediante cuatro etapas sucesivas: Pre-enriquecimiento en medio líquido no selectivo (agua peptonada tamponada); Enriquecimiento en medios líquidos selectivos (caldos Rapaport-Vassiliadis y Selenito Cistina); Aislamiento en agares selectivos (Xilosa lisina desoxicolato y *Salmonella-Shigella*); y Confirmación por pruebas bioquímicas y serológicas (Agar triple azúcar hierro, agar urea, agar hierro lisina o caldo de decarboxilación de L-Lisina, detección de β-galactosidasa, reacción Voges Proskauer, reacción de indol, serología).

Adicionalmente, toda vez que una muestra resultó positiva, la cepa aislada fue serotipificada en el Instituto de Salud Pública de Chile.

- Detección de *L. monocytogenes* (Norma NCh 2657):

Consiste en un enriquecimiento selectivo de la muestra (Caldo de enriquecimiento para *Listeria*, el cual es incubado a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 h); posterior al cual se realiza un aislamiento en medios sólidos selectivos (agares Palcam y Oxford, incubadas a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 h); se seleccionan las colonias características, las cuales son finalmente identificadas por pruebas morfológicas y bioquímicas (prueba de la catalasa, tinción Gram, prueba de motilidad, hemólisis, CAMP, y uso de carbohidratos).

- Enumeración de *L. monocytogenes* por recuento en placa (Norma NCh 2657/2):

A partir de diluciones decimales, se siembran placas de agar ALOA (medio sólido selectivo con indicador cromogénico) a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por $48\text{ h} \pm 3\text{ h}$. Las colonias características son identificadas y enumeradas, para luego ser confirmadas mediante pruebas morfológicas y bioquímicas (prueba de la catalasa, tinción Gram, prueba de motilidad, hemólisis, CAMP, y uso de carbohidratos).

Los resultados obtenidos, para cada tipo de producto, fueron comparados con los estándares microbiológicos establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA (2018b), evaluándose el cumplimiento de los criterios de aceptación de los planes de muestreo de cada producto. Se utilizó el término “desfavorable” para referirse a muestras o resultados que incumplieron algún criterio

Se realizó un estudio descriptivo, en el cual los resultados obtenidos de los análisis, en cada ensayo, fueron presentados en tablas de proporción, según tipo de producto analizado.

7. RESULTADOS

a) Objetivo N°1 - Evaluar los recuentos de indicadores de calidad microbiológica (aerobios mesófilos, *E. coli* y *S. aureus*) en productos hidrobiológicos chilenos de exportación

▪ Aerobios mesófilos:

Se analizaron 108 muestras de productos hidrobiológicos para recuento de aerobios mesófilos, durante los años 2018 y 2019, con 68 y 40 muestras para cada año, respectivamente. El detalle de esta información se encuentra en la tabla N°08.

En 2018, el 100% de las muestras analizadas, en cada categoría de producto, cumplió los criterios de aceptación, según los planes de muestreo correspondientes a cada tipo de producto, establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA.

Sin embargo, en 2019, la categoría “Productos pesqueros ahumados” presentó una muestra que no cumplió el criterio de aceptación correspondiente (ver tabla N°08), ya que, en cuatro de las cinco unidades de producto analizadas, se obtuvieron recuentos superiores a 5 log. Este resultado representó el 25% de las muestras analizadas durante el año para su categoría (1 de 4), el 11,1% del total de muestras de esta categoría para ambos años (1 de 9), el 2,5% del total de muestras analizadas en 2019 (1 de 40), y el 0,9% del total de muestras analizadas durante el estudio (1 de 108).

Tabla N°08. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para aerobios mesófilos, según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.

Categoría de producto	2018			2019			Total nro. muestras
	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	
Crustáceos congelados cocidos	6	6	0	2	2	0	8
Crustáceos congelados crudos	0	0	0	1	1	0	1
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos	5	5	0	2	2	0	7

Categoría de producto	2018			2019			Total nro. muestras
	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	
congelados cocidos							
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados crudos	0	0	0	2	2	0	2
Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos	49	49	0	25	25	0	74
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	3	3	0	4	4	0	7
Productos pesqueros ahumados	5	5	0	4	3	1	9
TOTAL	68	68	0	40	39	1	108

▪ *E. coli*:

Se analizaron 115 muestras de productos hidrobiológicos para enumeración de *E. coli* por NMP, durante los años 2018 y 2019, con 75 y 40 muestras para cada año, respectivamente. El detalle de esta información se encuentra en la tabla N°09.

Durante todo el período evaluado, el 100% de las muestras analizadas, en cada categoría de producto, cumplió los criterios de aceptación, según los planes de muestreo correspondientes a cada tipo de producto, establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA.

Tabla N°09. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para *Escherichia coli*, según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.

Categoría de producto	2018			2019			Total nro. muestras
	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	
Crustáceos congelados cocidos	6	6	0	2	2	0	8
Crustáceos congelados crudos	0	0	0	1	1	0	1

Categoría de producto	2018			2019			Total nro. muestras
	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados cocidos	12	12	0	2	2	0	14
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados crudos	0	0	0	2	2	0	2
Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos	49	49	0	25	25	0	74
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	3	3	0	4	4	0	7
Productos pesqueros ahumados	5	5	0	4	4	0	9
TOTAL	75	75	0	40	40	0	115

- S. aureus:

Se analizaron 108 muestras de productos hidrobiológicos para el recuento de *Staphylococcus aureus*, durante los años 2018 y 2019, con 68 y 40 muestras para cada año, respectivamente. El detalle de esta información se encuentra en la tabla N°10.

Durante todo el período evaluado, el 100% de las muestras analizadas, en cada categoría de producto, cumplió los criterios de aceptación, según los planes de muestreo correspondientes a cada tipo de producto, establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA.

Tabla N°10. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para *Staphylococcus aureus*, según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.

Categoría de producto	2018			2019			Total nro. muestras
	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	
Crustáceos congelados cocidos	6	6	0	2	2	0	8
Crustáceos congelados crudos	0	0	0	1	1	0	1
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados cocidos	5	5	0	2	2	0	7
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados crudos	0	0	0	2	2	0	2
Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos	49	49	0	25	25	0	74
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	3	3	0	4	4	0	7
Productos pesqueros ahumados	5	5	0	4	4	0	9
TOTAL	68	68	0	40	40	0	108

b) Objetivo N°2 - Determinar la presencia de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* en productos hidrobiológicos chilenos de exportación

▪ Detección de *Salmonella* spp:

Se analizaron 142 muestras de productos hidrobiológicos para la detección de *Salmonella* spp., durante los años 2018 y 2019, con 68 y 74 muestras para cada año, respectivamente. El detalle de esta información se encuentra en la tabla N°11.

En 2018, se detectaron 3 muestras desfavorables, correspondientes a dos categorías, “Crustáceos congelados cocidos” y “Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos”, lo cual correspondió al 4,41% del total de muestras analizadas durante el año, y el 2,11% del total de muestras analizadas durante el estudio.

Por una parte, la categoría “Crustáceos congelados cocidos” presentó una muestra que no cumplió el criterio de aceptación correspondiente (ver tabla N°11), ya que se detectó presencia de *Salmonella* spp. en 25 g, en dos de las cinco unidades de producto analizadas. Este resultado representó el 16,66% de las muestras analizadas durante el año para su categoría (1 de 6), el 12,5% del total de muestras de esta categoría para ambos años (1 de 8), el 1,47% del total de muestras analizadas en 2018 (1 de 68), y el 0,70% del total de muestras analizadas durante el estudio (1 de 142).

Por otra parte, la categoría “Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos” presentó 2 muestras desfavorables, por cuanto una unidad de producto en cada muestra resultó positiva a *Salmonella* spp. en 25 g. Esto representó el 4,08% de las muestras de esta categoría analizadas en 2018 (2 de 49), el 1,85% de las muestras de la categoría analizadas durante el estudio (2 de 108), el 2,94% del total de muestras analizadas en 2018 (2 de 68), y el 1,41% del total de muestras analizadas durante el estudio (2 de 142).

Las cepas aisladas de las muestras positivas fueron enviadas al Instituto de Salud Pública de Chile, donde fueron serotipificadas, de acuerdo con sus antígenos somáticos y flagelares. Todas las cepas aisladas correspondieron a *Salmonella* Infantis.

No obstante, en 2019, el 100% de las muestras analizadas, en cada categoría de producto, cumplió los criterios de aceptación, según los planes de muestreo

correspondientes a cada tipo de producto, establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA.

Tabla N°11. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para la detección de *Salmonella* spp., según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.

Categoría de producto	2018			2019			Total nro. muestras
	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	
Crustáceos congelados cocidos	6	5	1	2	2	0	8
Crustáceos congelados crudos	0	0	0	1	1	0	1
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados cocidos	5	5	0	2	2	0	7
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados crudos	0	0	0	2	2	0	2
Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos	49	47	2	59	59	0	108
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	3	3	0	4	4	0	7
Productos pesqueros ahumados	5	5	0	4	4	0	9
TOTAL	68	65	3	74	74	0	142

- Detección de *L. monocytogenes*:

Se analizaron 110 muestras de productos hidrobiológicos para la detección de *Listeria monocytogenes*, durante los años 2018 y 2019, con 63 y 47 muestras para cada año, respectivamente. El detalle de esta información se encuentra en la tabla N°12.

Durante este estudio, se detectaron siete muestras desfavorables, lo que representó el 6,36% del total de muestras analizadas entre 2018 y 2019.

En 2018, la categoría “Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos” presentó una muestra desfavorable, ya que se detectó presencia de *L. monocytogenes* en 25 g, en una de las cinco unidades de producto analizadas. Este resultado representó el 2,08% de las muestras analizadas durante el año 2018 para su categoría (1 de 48), el 1,28% del total de muestras analizadas en esa categoría en ambos años (1 de 78), el 1,59% del total de muestras analizadas en 2018 (1 de 63), y el 0,91% del total de muestras analizadas durante todo el estudio (1 de 110).

Por otra parte, en 2019, seis muestras, correspondientes a tres categorías distintas, no cumplieron el estándar correspondiente a la detección de *L. monocytogenes* en 25 g. Esto representó el 12,77% de las muestras analizadas ese año (6 de 47%), y el 5,45% del total de muestras analizadas durante el estudio (6 de 110).

La categoría “Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos” se adjudicó dos muestras desfavorables en 2019. Una muestra presentó una unidad de producto afectado; y la otra, dos. Esto representó el 6,67% de las muestras de la categoría analizadas ese año (2 de 30), el 2,56% del total de muestras de la categoría analizadas en ambos años (2 de 78), el 4,26% del total de muestras analizadas en 2019 (2 de 47), y el 1,82% del total de muestras analizadas durante todo el estudio (2 de 110).

La categoría “Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos”, por su parte, presentó 3 muestras desfavorables, por presentar una unidad de producto positiva a *L. monocytogenes* en 25 g cada una. Esto representó el 42,86% de las muestras de la categoría analizadas durante el año (3 de 7), el 30% del total de

muestras de la categoría analizadas en ambos años (3 de 10), el 6,38% del total de muestras analizadas en 2019 (3 de 47), y el 2,73% del total de muestras analizadas durante todo el estudio (3 de 110).

Finalmente, la categoría “Productos pesqueros ahumados” presentó una muestra desfavorable en 2019, por presentar 3 unidades de producto positivas a *L. monocytogenes* en 25 g, lo que representó el 25 % de las muestras de la categoría analizadas durante el año (1 de 4), el 11,11% del total de muestras de la categoría analizadas en ambos años (1 de 9), el 2,13% del total de muestras analizadas ese año (1 de 47%), y el 0,91% de las muestras analizadas durante todo el estudio (1 de 110).

Es importante destacar, que la categoría “Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos” fue la única que presentó muestras desfavorables durante ambos años de estudio. Las tres muestras desfavorables representaron el 3,85% del total de muestras de la categoría durante ambos años estudiados (3 de 78), y el 2,73% del total de muestras analizadas en este estudio (3 de 110).

Tabla N°12. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para la detección de *Listeria monocytogenes*, según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.

Categoría de producto	2018			2019			Total nro. muestras
	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	
Crustáceos congelados cocidos	2	2	0	1	1	0	3
Crustáceos congelados crudos	0	0	0	1	1	0	1
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados cocidos	5	5	0	2	2	0	7
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados crudos	0	0	0	2	2	0	2
Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y	48	47	1	30	28	2	78

Categoría de producto	2018			2019			Total nro. muestras
	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	Nro muestras	Cumplen	No cumplen	
congelados crudos							
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	3	3	0	7	4	3	10
Productos pesqueros ahumados	5	5	0	4	3	1	9
TOTAL	63	62	1	47	41	6	110

▪ Enumeración de *L. monocytogenes*:

Se analizaron 105 muestras de productos hidrobiológicos para enumeración de *Listeria monocytogenes*, durante los años 2018 y 2019, con 65 y 40 muestras para cada año, respectivamente. El detalle de esta información se encuentra en la tabla N°13.

Durante todo el período evaluado, el 100% de las muestras analizadas, en cada categoría de producto, cumplió los criterios de aceptación, según los planes de muestreo correspondientes a cada tipo de producto, establecidos en el Manual de Inocuidad y Certificación de SERNAPESCA.

Tabla N°13. Análisis del cumplimiento del criterio microbiológico del Manual de Inocuidad y Certificación SERNAPESCA, establecido para la enumeración de *Listeria monocytogenes*, según categoría de producto hidrobiológico, en muestras PAC, durante los años 2018 y 2019.

Categoría de producto	2018			2019			Total nro. muestras
	Nro. muestras	Cumplen	No cumplen	Nro. muestras	Cumplen	No cumplen	
Crustáceos congelados cocidos	6	6	0	2	2	0	8
Crustáceos congelados crudos	0	0	0	1	1	0	1
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados cocidos	5	5	0	2	2	0	7
Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados,	0	0	0	2	2	0	2

Categoría de producto	2018			2019			Total nro. muestras
	Nro. muestras	Cumplen	No cumplen	Nro. muestras	Cumplen	No cumplen	
equinodermos congelados crudos							
Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos	46	46	0	25	25	0	71
Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos	3	3	0	4	4	0	7
Productos pesqueros ahumados	5	5	0	4	4	0	9
TOTAL	65	65	0	40	40	0	105

8. DISCUSIÓN

Este estudio permitió evaluar la calidad microbiológica de productos hidrobiológicos chilenos del Programa de Aseguramiento de la Calidad (PAC) del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA), destinados a exportación, entre los meses de enero de 2018 y julio de 2019, a través del análisis del cumplimiento de los criterios microbiológicos establecidos para cada tipo de producto, analizando específicamente los recuentos de indicadores de calidad, recuento de aerobios mesófilos, *S. aureus* y *E. coli*; y determinación de patógenos como *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes*. Aunque Álvarez realizó una investigación similar en 2005, en donde analizó los parámetros microbiológicos de productos pesqueros de exportación, este es el primer estudio de este tipo en Chile en 15 años.

Se aplicaron los criterios microbiológicos establecidos por SERNAPESCA, en su Manual de Inocuidad y Certificación (MIC). En él, se describen los requisitos generales que deben cumplir los productos pesqueros, por tipo de recurso hidrobiológico y mercado de destino. Aunque el MIC toma como base legal, entre otros decretos y resoluciones, el Reglamento Sanitario de los Alimentos (RSA), los criterios microbiológicos establecidos en ambos no son iguales, siendo más estrictos en el MIC, por cuanto incorpora requisitos extra que deben cumplir los productos. Adicionalmente, las empresas suscritas al PAC deben seguir los lineamientos estipulados en él. Es por este motivo, que los resultados obtenidos se analizaron, en función del cumplimiento de los requisitos del MIC de SERNAPESCA.

Se analizaron 164 muestras a lo largo de este estudio, de las cuales el 73,2% de las muestras analizadas correspondió a “Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos”; el 9,8%, a “Moluscos bivalvos, gasterópodos, tunicados, equinodermos congelados”; el 6%, a “Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos”; 5,5%, a “Crustáceos congelados”; y 5,5% a “Productos pesqueros ahumados”. A pesar de haber analizado un “n” de 164 muestras, se considera relevante y significativo, ya que los porcentajes de muestras analizadas se asemejan a la realidad de la producción pesquera nacional ya descrita previamente.

En este estudio, el 6,1% (10 de 164) de las muestras analizadas presentó un resultado desfavorable en alguno de los parámetros evaluados. Particularmente, en

2018, se obtuvo un 5,3% (4 de 76) de desfavorables, mientras que, en 2019, un 6,8% (6 de 88). Esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0,7$). Sin embargo, hay que considerar que, aunque este estudio analizó las muestras de todo 2018, sólo se evaluaron siete meses de 2019. Es posible que, de evaluar la totalidad de 2019, se analizara un “n” mayor de muestras, que pudiera afectar la significancia estadística. En consecuencia, la discusión de este estudio estará enfocada en la totalidad de muestras, sin hacer distinción por año.

Con respecto a las categorías de producto con mayor porcentaje de resultados desfavorables, el 30% correspondió a “Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos”; el 22,2%, a “Productos pesqueros ahumados”; el 12,5%, a “Crustáceos congelados cocidos”, y el 4,2%, a “Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos”. Este resultado es importante, por cuanto los porcentajes más altos de desfavorables se atribuyeron a productos que fueron sometidos a algún tipo de procesamiento (por ejemplo, ahumado, o cocido) o derechamente productos listos para el consumo, y que, por tanto, no requieren un tratamiento previo a su ingesta, representando un riesgo directo para los consumidores (Okonko *et al.*, 2008).

En relación con los indicadores de calidad, no se detectaron muestras desfavorables para *E. coli* ni *S. aureus*, lo cual es atribuible a una buena manipulación, por parte de los trabajadores. Comparativamente, en el estudio de Álvarez (2005), no se detectaron muestras desfavorables para *S. aureus*, aunque un 0,35% de las muestras de productos pesqueros congelados que analizó, durante los cuatro años evaluados, fueron desfavorables para coliformes fecales. Esta diferencia podría atribuirse al hecho de que coliformes fecales es un grupo sin valor taxonómico, definido por propiedades bioquímicas, que, además de *E. coli*, puede incluir otros géneros bacterianos, como *Klebsiella*, *Enterobacter* o *Citrobacter* (Schraft, 2005).

Por otra parte, solamente una muestra de la categoría “Productos pesqueros ahumados”, en 2019, fue desfavorable al recuento de aerobios mesófilos, representando al 0,9% del total de muestras analizadas, lo cual indicaría deficiencia en la elaboración y/o una conservación inadecuada del producto, y, por tanto, se deberían reforzar las Buenas Prácticas de Manufactura en la empresa elaboradora. De forma similar, un bajo porcentaje (3,45%) de productos pesqueros ahumados presentaron resultados desfavorables para aerobios mesófilos, en el estudio de

Álvarez (2005). Adicionalmente, es importante destacar que, de acuerdo con la RIAL, la última notificación por aerobios mesófilos fue en 2018, para la categoría de pescado y productos de la pesca, lo que coincide con los resultados obtenidos en esta tesis, pues observamos que las alertas atribuidas a RAM elevados son poco frecuentes en el país.

En cuanto a la determinación de microorganismos patógenos, no se detectaron muestras desfavorables para enumeración de *L. monocytogenes* durante todo el estudio, incluso cuando las mismas muestras fueron desfavorables para la detección de *L. monocytogenes*. Esta diferencia podría atribuirse, por una parte, a las porciones de análisis utilizadas para cada ensayo, ya que, en general, los microorganismos se distribuyen heterogéneamente en un alimento (Jongenburger, 2012). Por otro lado, los ensayos utilizados, para la detección y la enumeración de *L. monocytogenes* (basados en NCh 2657 y NCh 2657/2, respectivamente), son distintos entre sí, por lo que la sensibilidad de cada uno pudo jugar un papel ponderante.

Para el análisis de detección de *L. monocytogenes*, se obtuvo un 6,4% de las muestras como desfavorables, donde las categorías afectadas fueron “Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados” (2,7%), “Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos” (2,7%) y “Productos pesqueros ahumados” (0,9%). En la literatura se describe que *L. monocytogenes* generalmente se encuentra en productos pesqueros crudos en bajas concentraciones con prevalencias de 1-20%, mientras que los platos preparados y pescados ahumados poseen mayores prevalencias, oscilando entre 4%-35% (Hoffman *et al.*, 2003; Nakamura *et al.*, 2004). Estos últimos representan un mayor riesgo para la población, por ser productos listos para el consumo, destacando, por lo tanto, la relevancia en controlar la contaminación del producto pesquero listo para consumo en el envasado o procesamiento (Gambarin *et al.*, 2012). En este contexto, entre 2016-2019 se describieron 22 brotes de listeriosis en Europa, causados por consumo de salmón y trucha ahumada (ECDC y EFSA, 2019).

Además, de estos resultados es importante destacar que una de las muestras de “Productos pesqueros ahumados” fue desfavorable para dos parámetros microbiológicos al mismo tiempo, recuento de aerobios mesófilos y detección de *L. monocytogenes*. Este resultado se diferencia al previo obtenido en Chile (Álvarez, 2005), donde solamente se observaron productos pesqueros con resultados

desfavorables para aerobios mesófilos, y no así para *L. monocytogenes*. Según la revisión realizada por el autor, esta corresponde a la primera descripción de *L. monocytogenes*, junto a un elevado recuento de aerobios mesófilos en el mismo producto pesquero.

Por otra parte, en cuanto a la determinación de *Salmonella* spp, un 2,1% de muestras fueron desfavorables durante este estudio, con un 1,4% de “Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos” y 0,7% de “Crustáceos congelados cocidos”. Estos valores son similares a los reportados en la literatura. Heinitz *et al.* (2000) reportaron para *Salmonella* spp. una prevalencia del 2,8-12%, en peces crudos, y del 0,5-2,7%, en productos listos para consumo (crustáceos cocidos, pescado ahumado, caviar); Zarei *et al.* (2012), un 1,5% para productos listos para el consumo; y Amagliani *et al.* (2012), un 0,3% en pescado y productos de la pesca en la Unión Europea. De forma similar, los resultados obtenidos se condicen con lo notificado por la RIAL, pues la última notificación por *Salmonella* spp. fue en 2019, para la categoría de pescado y productos de la pesca, en muestras de choritos, es decir, las alertas atribuibles a este patógeno son poco frecuentes para el país. Por otra parte, este estudio se contrapone al realizado por Álvarez (2005) en Chile, donde no hubo ninguna muestra positiva a *Salmonella* spp., lo que pudiera deberse a la cantidad de muestras y también, al tipo de productos pesqueros analizados.

Los aislados obtenidos de las muestras positivas a *Salmonella* spp. fueron serotipificadas en el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP). Todos los aislados correspondieron a *Salmonella* Infantis, de importancia, por su alta prevalencia en producción avícola a nivel mundial, y presentándose en Chile en los últimos años en la misma industria. Este serotipo puede afectar al ser humano (principalmente niños, pero también afecta adultos) y numerosas especies animales, caracterizándose por provocar septicemia y persistir por prolongados periodos de tiempo en hospitales, describiéndose reportes de resistencia antimicrobiana en aislados de industria avícola en diversos países (Ghoddusi *et al.*, 2015). Particularmente, en Chile, el último reporte de vigilancia de *Salmonella* spp, realizado por el ISP, en 2010, indicó que, de 2.728 casos confirmados, *Salmonella* Infantis fue la responsable de 61 (2,3%) (ISP, 2010). Sumado a lo anterior, esta sería la primera descripción de *Salmonella* Infantis en productos pesqueros chilenos de exportación, lo cual reafirma la importancia de esta

serovariedad, representando un riesgo a la salud pública, por su potencial transmisión al ser humano vía cadena alimenticia.

En síntesis, dados los resultados obtenidos, la hipótesis de este estudio se rechaza, por cuanto se detectaron resultados desfavorables en muestras de exportación, lo cual involucra un no cumplimiento de los parámetros microbiológicos estipulados en el MIC de SERNAPESCA. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio son importantes, debido a que entregan información relevante sobre los productos y los parámetros en los que enfocarse, para implementar medidas de control de calidad en la industria pesquera.

9. CONCLUSIONES

En este estudio, se evaluó la calidad microbiológica de productos hidrobiológicos chilenos de exportación, de empresas pesqueras suscritas al Programa de Aseguramiento de la Calidad del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, mediante el análisis de los recuentos de indicadores de calidad microbiológica (aerobios mesófilos, *E. coli* y *S. aureus*) y la determinación de microorganismos (*Salmonella* spp. y *L. monocytogenes*); siendo posteriormente evaluados en función del cumplimiento de los estándares microbiológicos estipulados en el Manual de Inocuidad y Certificación del Servicio. Este estudio es relevante para la industria y los organismos nacionales, por cuanto es el primer estudio de este tipo en Chile en 15 años.

No hubo muestras desfavorables para los parámetros de *E. coli* ni *S. aureus* en ninguna de las categorías evaluadas, lo cual demuestra las correctas condiciones de manipulación a las que son sometidos los productos al momento de ser procesados. Por otra parte, la categoría de “Productos pesqueros ahumados” fue desfavorable al recuento de aerobios mesófilos, por lo que debieran reforzarse las Buenas Prácticas de Manufactura en la planta elaboradora; sin embargo, se destaca que sólo fue una muestra la afectada, lo que concuerda con la baja frecuencia de alertas atribuidas a elevados recuentos de aerobios mesófilos en estos productos.

En relación con los patógenos evaluados, se detectaron desfavorables para los ensayos de detección de *L. monocytogenes*, pero no así, para la enumeración de *L. monocytogenes*, lo cual podría estar relacionado con la distribución de microorganismos en la muestra, o por la sensibilidad de los métodos de ensayo empleados. La presencia de este patógeno en muestras de “Pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados”, “Platos preparados mixtos con ingredientes crudos y/o cocidos” y “Productos pesqueros ahumados” refuerza la importancia de este microorganismo en la industria alimentaria, como agente etiológico de varios brotes de ETA en el mundo.

Además, este estudio es relevante para la industria y la Salud Pública, ya que se realizó la primera descripción de una misma muestra de producto pesquero ahumado, que fue desfavorable para dos parámetros distintos, aerobios mesófilos y detección

de *L. monocytogenes*. Estudios posteriores podrían evaluar más en profundidad potenciales asociaciones entre este patógeno y elevados recuentos de aerobios mesófilos.

Paralelamente, se detectó *Salmonella* Infantis en muestras de “pescados y cefalópodos enfriados refrigerados y congelados crudos” y de “crustáceos congelados cocidos”, siendo la primera descripción de este serotipo en productos pesqueros chilenos de exportación. Esto es relevante, ya que este serotipo es mayormente atribuido a productos de la industria avícola, por lo que la descripción en productos pesqueros implica una nueva fuente de potenciales brotes de ETA.

Aunque la hipótesis de este estudio se rechaza, los resultados obtenidos sientan las bases para establecer directrices sobre los productos y parámetros en los que enfocar las medidas de control de calidad en la industria pesquera. En este sentido, los productos altamente procesados y aquellos listos para el consumo deben ser cuidadosamente controlados, por cuanto no requieren un tratamiento previo a su consumo, lo cual implica un riesgo directo a la salud de los consumidores.

Estudios futuros podrían evaluar los recuentos de microorganismos indicadores y la prevalencia de los patógenos evaluados en un mayor número de muestras y por un periodo más prolongado de tiempo, de modo de tener una visión más completa y cercana a la realidad de la producción pesquera nacional destinada a exportación.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. **ADGAMOV R, TIMCHENKO N, ZAITSEVA E, PUSHKAREVA V, KOLBASOV D, EGOROVA I, PUKHOVSKAYA N, MUSATOV Y, IVANOV L, ERMOLAEVA S.** 2013 Ecological and genetic mechanisms of development of epidemiologically significant strains of sapronosis causative agents. *Biol Bull Rev* 3: 125–138.
2. **ACHIPIA, AGENCIA CHILENA PARA LA INOCUIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA.** 2019a. Buscador del Portal RIAL. [En línea] < <https://www.achipia.gob.cl/portal-rial/busquedas-rial/>>
3. **ACHIPIA, AGENCIA CHILENA PARA LA INOCUIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA.** 2019b. Portal RIAL. [En línea] < <https://www.achipia.gob.cl/portal-rial/>>
4. **ALBUQUERQUE R.** 2013. *Escherichia coli* in seafood: A brief overview. *Advances in Bioscience and Biotechnology.* 4: 450-454
5. **ALERTE V, CORTÉS S, DÍAZ J, VOLLAIRE J, ESPINOZA M, SOLARI V, CERDA J, TORRES M.** 2012. Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos y agua en la Región Metropolitana, Chile (2005-2010). *Rev Chil Infectol.* 29 (1): 26-31.
6. **ÁLVAREZ J.** 2005. Estudio descriptivo de la condición sanitaria microbiológica de productos pesqueros chilenos de exportación entre los años 1998-2002. Memoria para optar al título profesional de Médico Veterinario. U Chile. Santiago, Chile. 55 pp.
7. **AMAGLIANI G, BRANDI G, SCHIAVANO GF.** 2012. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. *Food Res Int.* 45: 780-788.
8. **ARANA P.** 2012. Recursos pesqueros del mar de Chile. Escuela de Ciencias del Mar, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso. 308 pp.
9. **ARFATAHERY N, MIRSHAFIEY A, ABEDIMOHTASAB T, ZEINOLABEDINIZAMANI M.** 2015. Study of the prevalence of *Staphylococcus aureus* in marine and farmed shrimps in Iran aiming the future development of a prophylactic vaccine. *Procedia Vaccinol.* 9:44-49.
10. **ARMANI M, CIVETTINI M, CONEDERA G, FAVRETTI M, LOMBARDO D, LUCCHINI R, PATERNOLLI S, PEZZUTO A, RABINI M, ARCANGELI G.** 2016. Evaluation of hygienic quality and labelling of fish distributed in public canteens of Northeast Italy. *IJFS.* 5(5723): 185-190.
11. **ASAI Y, KANEKO M, OHTSUKA K, MORITA Y, KANEKO S, NODA H, FURUKAWA I, TAKATORI K, HARA-KUDO Y.** 2008. *Salmonella* prevalence in Seafood Imported into Japan. *J Food Prot.* 71 (7): 1460–1464
12. **BERGEY D.** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* 2da Ed. New York, Springer. 2012.
13. **CHAKRAVARTY M, GANESH P, AMARANTH D, SHANTHI B, SUBHASHINI M.** 2015. *Escherichia coli* - occurrence in the meat of shrimp, fish, chicken and mutton and its antibiotic resistance. *Euro J Exp Bio.* 5(7):41-48
14. **DEIS. DEPARTAMENTO DE ESTADÍSTICAS E INFORMACIÓN DE SALUD.** 2020. Brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimento (ETA). Chile, períodos años 2011-2017 [en línea]

- <https://public.tableau.com/profile/deis4231#!/vizhome/BrotosdeEnfermedadesTransmitidasporAlimentoETA_Aos2011-2017/BrotosETACHile2011-2017>
15. **DEEKSHIT V, KUMAR B, RAI P, KARUNASAGAR I.** 2016. Antibiotic resistance and molecular characterization of seafood isolates of nontyphoidal *Salmonella* by PFGE. *Procedia Food Science* 6: 334 – 338.
 16. **DUTTA C, SENGUPTA C.** 2016. Prevalence of *Escherichia coli* in Fish and Shrimps obtained from Retail Fish Markets in & around Kolkata, India. *Frontiers in Environmental Microbiology*. 2(1): 1-5
 17. **ECDC, EFSA.** 2019. Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* clonal complex 8 infections linked to consumption of cold-smoked fish products. EFSA supporting publication 2019. EN: 1665. 20 pp.
 18. **EMBAREK P.** 1994. Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods: a review. *Int J Food Microbiol* 23:17– 34.
 19. **EUROPEAN COMMISSION.** 2019. Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). [en línea] <<https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/?event=SearchForm&cleanSearch=1>>
 20. **EFSA. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY.** 2015. The European union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, and food-borne outbreaks in 2013. *EFSA J* 13(1):1–312
 21. **FAO. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA.** 2009. Directrices para la inspección del pescado basada en los riesgos. Roma, Italia. 99p.
 22. **FAO. ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y AGRICULTURA.** 2019. Inocuidad Alimentaria. [en línea] <<http://www.fao.org/food-safety/es/>>
 23. **FAO. ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y AGRICULTURA.** 2020. El estado mundial de la pesca y acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción. Roma, Italia. 243 pp.
 24. **FSANZ. FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZEALAND.** 2016. Compendium of Microbiological Criteria for Food. CC, Australia. 50 p.
 25. **GAMBARIN P, MAGNABOSCO C, LOSIO M, PAVONI E, GATTUSO A, ARCANGELI G, FAVRETTI M.** 2012. *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Seafood and Potential Hazards for the Consumers. *Int J Microbiol*: 1-10.
 26. **GHODDUSI A, NAYERI B, KARIMI V, ASHRAFI I, MOULANA Z, ZAHRAEI T.** 2015. Molecular identification of *Salmonella* *Infantis* isolated from backyard chickens and detection of their resistance genes by PCR. *Iran J Vet Res*.16(3): 293–297.
 27. **GUTIERREZ D, DELGADO S, VÁZQUEZ-SÁNCHEZ D, MARTINEZ B, LÓPEZ M, RODRIGUEZ A, HERRERA J, GARCÍA P.** 2012. Incidence of *Staphylococcus aureus* and Analysis of Associated Bacterial Communities on Food Industry Surfaces. *Appl Environ Microbiol*. 78 (24): 8547-8554.
 28. **HEINITZ M, RUBLE R, WAGNER D, TATINI S.** 2000. Incidence of *Salmonella* in Fish and Seafood. *J Food Prot*. 63 (5): 579–592
 29. **HOFFMAN A, GALL K, NORTON D, WIEDMANN M.** 2003. *Listeria monocytogenes* Contamination Patterns for the Smoked Fish Processing Environment and for Raw Fish. *J Food Prot*. 66 (1): 52–60.

30. **HOFFMAN M, LUO Y, MONDAY S, GONZÁLEZ-ESCALONA N, OTTESEN A, MURUVANDA T, WANG C, KASTANIS G, KEYS C, JANIES D, SENTURK I, CATALYURES U, WANG H, HAMMACK T, WOLFGANG W, SCHOONMAKER-BOPP D, CHU A, MYERS R, HAENDIGES J, EVANS P, MENG J, STRAIN E, ALLARD M, BROWN E.** 2016. Tracing Origins of the *Salmonella bareilly* strain causing a food-borne outbreak in the United States. *J Infect Dis.* 213 (4): 502–508.
31. **ISP. INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA.** 2010. Vigilancia de *Salmonella* spp. Newsletter Científico. 10p.
32. **JONGENBURGER I.** 2012. Distributions of microorganisms in foods and their impact on food safety. Tesis Doctoral. Wageningen University. 208 pp.
33. **KUMARAN S, DEIVASIGAMANI B, ALAGAPPAN K, SAKTHIVEL M, KARTHIKEYAN R.** 2010. Antibiotic resistant *Escherichia coli* strains from seafood and its susceptibility to seaweed extracts. *Asian Pac J Trop Med.* 977-981.
34. **LEY Nº18892.** Ley General de Pesca y Acuicultura. Diario Oficial de la República de Chile, Santiago, Chile. 23 de diciembre de 1989
35. **LIANOU A, SOFOS J.** 2007. A review of the incidence and transmission of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products in retail and food service environments. *J Food Prot.* 70:2172–2198.
36. **LOIR Y, BARON F, GAUTIER M.** 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* 2 (1): 7-28.
37. **MOL S, ERKAN N, UCOK D, TOSUN Y.** 2007. Effect of psychrophilic bacteria to estimate fish quality. *J Muscle Food.* 18: 120-128.
38. **MINISTERIO DE ECONOMÍA, FOMENTO Y TURISMO.** 2018. Pesca y acuicultura. [en línea] <<http://www.economia.gob.cl/areas-de-trabajo/subs-pesca/pesca-y-acuicultura>>
39. **MURUGADAS V, JOSEPH T, LALITHA K.** 2016 Distribution of pathotypes of *Escherichia coli* in seafood from retail markets of Kerala, India. *Indian J Fish.* 63(1): 152-155.
40. **NAKAMURA H, HATANAKA M, OCHI K, NAGAO M, OGASAWARA J, HASE A, KITASE, T, HARUKI K, NISHIKAWA Y.** 2004. *Listeria monocytogenes* isolated from cold-smoked fish products in Osaka City, Japan. *Int J Food Microbiol.* 94 (3): 323-328.
41. **NOVOSLAVSKIJ A, TEREŃTJEVA M, EIZENBERGA I, VALCIŃA O, BARTKEVIČS V, BĒRZIŃŠ A.** 2015. Major foodborne pathogens in fish and fish products: a review. *Ann Microbiol.* 15p.
42. **OBAIDAT M, BANI SALMAN A, LAFI S.** 2015. Prevalence of *Staphylococcus aureus* in Imported Fish and Correlations between Antibiotic Resistance and Enterotoxigenicity. *J. Food Prot.* 78 (11): 1999–2005.
43. **OKONKO I, OGUNJOBI A, FAJOBI E, ONOJA B, BABALOLA E, ADEDEJI A.** 2008. Comparative studies and microbial risk assessment of different Ready-to-Eat (RTE) frozen sea-foods processed in Ijora-olopa, Lagos State, Nigeria. *Afr J Biotechnol* 7(16): 2898-2901.
44. **OLEA A, DÍAZ J, FUENTES R, VAQUERO A, GARCÍA M.** 2012. Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en Chile. *Rev Chil Infectol.* 29 (5): 504-510.

45. **OPS. ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD.** 2019. Anexo I: Glosario. [en línea] <
https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10810:2015-anexo-i-glosario&Itemid=41421&lang=es>
46. **ROMERO A, ABREU R, SCUSSEL V.** 1994. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. *Int J Food Microbiol.* 24: 171-178.
47. **SALDÍVAR J, DAVIS M, JOHNSON M, RICKE S.** 2018. Chapter 13 - *Listeria monocytogenes* adaptation and growth at low temperatures: mechanisms and implications for foodborne disease. **In:** *Food and Feed Safety Systems and Analysis.* Academic Press, EEUU. 424 p.
48. **SERNAPESCA. SERVICIO NACIONAL DE PESCA Y ACUICULTURA.** 2018a. Aseguramiento de Calidad [PAC]. [en línea] <
http://ww2.sernapesca.cl/index.php?option=com_remository&Itemid=246&func=select&id=62>
49. **SERNAPESCA. SERVICIO NACIONAL DE PESCA Y ACUICULTURA.** 2018b. Manual de Inocuidad y Certificación. [en línea] <
<http://www.sernapesca.cl/manuales-publicaciones/manual-de-inocuidad-y-certificacion>>
50. **SERNAPESCA: Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura.** 2020. Estadísticas. [en línea] <
http://www.sernapesca.cl/informes/estadisticas?qt-quicktabs_area_trabajo=3>
51. **SCHRAFT, H; WATTERWORTH, L.** 2005. Enumeration of heterotrophs, fecal coliforms and *Escherichia coli* in water: comparison of 3M Petrifilm plates with standard plating procedures. *J Microbiol Methods.* 60: 335 – 342.
52. **WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION.** 2017. Food safety. [en línea] <
<http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>>
53. **ZAREI M, MAKTABI S, GHORBANPOUR M.** 2012. Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. in seafood products using multiplex polymerase chain reaction. *Foodborne Pathog Dis.* 9(2):108-12.

11. ANEXO N°01: GLOSARIO.

1. **Brote de ETA:** Episodio en el cual dos o más personas presentan una enfermedad similar después de ingerir alimentos, incluida el agua, del mismo origen y donde la evidencia epidemiológica o el análisis de laboratorio implica a los alimentos o al agua como vehículos de la misma (OPS, 2019).
2. **Especie hidrobiológica:** Especie de organismo, en cualquier fase de su desarrollo, que tenga en el agua su medio normal o más frecuente de vida. (LEY N°18892, 1989).
3. **Evento:** Presencia de un peligro (verificada de forma oficial, como resultado de actividades de control o vigilancia realizada por autoridades competentes nacionales o de terceros países) en un alimento para consumo humano o consumo animal, que haya transgredido la normativa nacional o del Mercado de destino (ACHIPIA, 2019b).
4. **ETA:** Enfermedad Transmitida por Alimentos. Síndrome originado por la ingestión de alimentos o agua, que contengan agentes etiológicos en cantidades tales que afecten la salud del consumidor a nivel individual o grupos de población. Las alergias por hipersensibilidad individual a ciertos alimentos no se consideran ETA (OPS, 2019).
5. **Infeción:** Entrada, desarrollo y multiplicación de un agente infeccioso en el cuerpo de una persona o animal (OPS, 2019).
6. **Infecciones alimentarias:** Son las ETA producidas por la ingestión de alimentos o agua contaminados con agentes infecciosos específicos tales como bacterias, virus, hongos, parásitos, que en la luz intestinal pueden multiplicarse o lisarse y producir toxinas o invadir la pared intestinal y desde allí alcanzar otros aparatos o sistemas (OPS, 2019).
7. **Inocuidad de los alimentos:** Es la ausencia, o niveles seguros y aceptables, de peligro en los alimentos, que pueden dañar la salud de los consumidores. Los peligros transmitidos por los alimentos pueden ser de naturaleza microbiológica, química o física y con frecuencia son invisibles a simple vista, bacterias, virus o residuos de pesticidas son algunos ejemplos. La inocuidad de los alimentos tiene un papel fundamental para garantizar alimentos seguros en cada etapa de la cadena alimentaria, desde la producción hasta la cosecha, el procesamiento, el almacenamiento, la distribución, hasta la preparación y el consumo (FAO, 2019).
8. **Intoxicaciones alimentarias:** Son las ETA producidas por la ingestión de toxinas formadas en tejidos de plantas o animales, o de productos metabólicos de microorganismos en los alimentos, o por sustancias químicas que se incorporan a ellos de modo accidental, incidental o intencional en cualquier momento desde su producción hasta su consumo (OPS, 2019).

12. ANEXO N°02. Certificados de Acreditación LE1362 y LE1363.

acreditación


INSTITUTO NACIONAL
DE NORMALIZACIÓN

El Instituto Nacional de Normalización, INN, certifica que:

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
LABORATORIO DE INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS
ubicado en Av. Santa Rosa N° 11735, La Pintana, Santiago

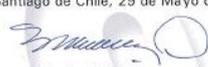
ha sido acreditado en el Sistema Nacional de Acreditación del INN,
como

Laboratorio de Ensayo
según NCh-ISO 17025.Of2005

en el área Microbiología para productos hidrobiológicos, con el
alcance indicado en anexo.

Vigencia de la Acreditación: hasta el 29 de Mayo de 2021

Santiago de Chile, 29 de Mayo de 2017


Eduardo Ceballos Osorio
Jefe de División Acreditación


Sergio Toro Galleguillos
Director Ejecutivo


IAG-MRA


INSTITUTO NACIONAL
DE NORMALIZACIÓN
INN - CHILE

ACREDITACION LE 1362

F407-01-30 v01

acreditación


INSTITUTO NACIONAL
DE NORMALIZACIÓN

El Instituto Nacional de Normalización, INN, certifica que:

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
LABORATORIO DE INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS
ubicado en Av. Santa Rosa N° 11735, La Pintana, Santiago

ha sido acreditado en el Sistema Nacional de Acreditación del INN,
como

Laboratorio de Ensayo
según NCh-ISO 17025.Of2005

en el área Microbiología para alimentos, con el alcance indicado
en anexo.

Vigencia de la Acreditación: hasta el 29 de Mayo de 2021

Santiago de Chile, 29 de Mayo de 2017


Eduardo Ceballos Osorio
Jefe de División Acreditación


Sergio Toro Galleguillos
Director Ejecutivo


IAG-MRA


INSTITUTO NACIONAL
DE NORMALIZACIÓN
INN - CHILE

ACREDITACION LE 1363

F407-01-30 v01

LAS CONDICIONES BAJO LAS CUALES RIGE ESTA ACREDITACIÓN ESTAN DETALLADAS EN EL ACTA DE COMPROMISO