



SOLICITUD DE PROPUESTA 2015 INFORME DEL PROYECTO

Título del Proyecto

Factores que influyen en la introducción, fin, y mitigación de patógenos de origen alimentario a lo largo de la cadena productiva

Período del Proyecto

1ro de enero de 2016 al 30 de junio de 2018

Investigador Principal

Michelle D. Danyluk
Universidad de Florida /IFAS
Departamento de Ciencias de la Alimentación y Nutrición Humana
Centro de Investigación y Educación Sobre Cítricos
700 Experiment Station Rd.
Lake Alfred, Florida 33850
T: 863-956-8654
E: mddanyluk@ufl.edu

Objetivos

- 1. Evaluar la condición de los patógenos de origen alimentario en las superficies de mangos enteros y frescos cortados.*
- 2. Evaluar los riesgos de contaminación con patógenos de origen alimentario derivados de las prácticas de manejo que se utilizan comúnmente en plantas de empaque.*
- 3. Evaluar la capacidad que posee la Salmonella spp. de infiltrar el mango y determinar la condición de las células interiorizadas después de la infiltración.*

El financiamiento para este proyecto fue proporcionado por el Centro de Inocuidad Alimentaria de Productos Agroalimentarios (Center for Produce Safety) por medio de la: National Mango Board

INFORME FINAL

Resumen

El mango ha sido vinculado con brotes de salmonelosis en Norteamérica y existe información muy limitada sobre su persistencia o control en la literatura publicada. Los objetivos de este estudio están diseñados para generar una base científica que sirve para minimizar y controlar la presencia de patógenos en el mango fresco durante el empaque de postcosecha, distribución, y las ventas al por menor. Se incluyen tres objetivos en esta propuesta: 1) Evaluar la condición de patógenos de origen alimentario en las superficies de mango entero y fresco cortado; 2) Evaluar el riesgo de contaminación con patógenos de origen alimentario derivado de la utilización de prácticas de manejo comúnmente utilizadas en plantas de empaque de mango; y 3) Evaluar la capacidad que posee la *Salmonella* de infiltrar el mango, y determinar la condición de las células interiorizadas. La mayor parte del trabajo se concentra en la *Salmonella* y la variedad de mango 'Tommy Atkins', pero los experimentos también evaluaron la *Listeria monocytogenes*, en las variedades de mango 'Ataulfo' y 'Kent'. No se observaron reducciones significativas de *Salmonella* o *L. monocytogenes* en la superficie del mango entero durante el almacenamiento a temperaturas típicas en las que se usan para la retención o manejo del mango. Estos resultados implican que no se debe depender de las tasas de reducción microbiana en la postcosecha como una Medida Correctiva para cumplir con los requerimientos regulatorios de inocuidad alimentaria aplicables al mango. Aunque la *L. monocytogenes* no se propagó sustancialmente en el mango fresco cortado bajo las temperaturas típicas de almacenamiento sometidas a prueba, es evidente que cuenta con el potencial de sobrevivir durante la vida de anaquel del mango fresco cortado. Al hacer la comparación con investigación publicada anteriormente sobre la *Salmonella* y la *E. coli* O157:H7, estos organismos se propagaron en una forma sustancialmente mayor ($p \leq 0.05$) que la *Listeria monocytogenes*. Si se identifica algún control contra peligros bacterianos de la cadena de frío como un Control Preventivo de Proceso que forma parte de un Plan de Inocuidad Alimentaria bajo el esquema de la Reglamentación Sobre Controles Preventivos de Alimentos para Humanos dentro del marco de la Ley de Modernización de la Inocuidad Alimentaria (FSMA por sus siglas en inglés), la *Salmonella*, no la *L. monocytogenes*, debe identificarse como el peligro bacteriano, ya que presenta la tasa de propagación más vertiginosa. El uso de aspersores desinfectantes (cloro libre, 100 ppm, pH 6.5-7.5; dióxido de cloro, 5 ppm; ozono, 2 ppm; y APA (ácido peroxiacético), 80 ppm) puede resultar en reducciones significativas de poblaciones de *Salmonella* en la superficie del mango tanto con rodillos de PVC como de cepillos. Las reducciones sustanciales son aparentes después de los 5 s en el caso de la mayoría de los desinfectantes, y continúan durante hasta 60 s. Después de los 60 s, las reducciones superan los 3.5 log CFU/mango en el caso de todos los desinfectantes salvo el ozono, y superan los 4 log CFU/mango con el cloro libre a 100 ppm y el APA a 80 ppm. La *Salmonella* se interioriza en el mango entero y algunas variedades de mango, así como algunas regiones en la superficie del mango, demuestran una mayor susceptibilidad a la interiorización. La adición del período de reposo entre la aplicación de los tratamientos hidrotérmico e hidroenfriado reduce sustancialmente la infiltración de *Salmonella*. Una vez interiorizadas, las poblaciones de *Salmonella* pueden incrementar a temperaturas de almacenamiento más altas, y persistieron en todas las temperaturas de almacenamiento sometidas a evaluación.

Antecedentes

En 2011, se ratificó la Ley de Modernización de la Inocuidad Alimentaria (FSMA por sus siglas en inglés), además de dos reglamentaciones que impactarán a los productores y empaques de mango, así como a todos aquellos que importan mango a los EE.UU. La Reglamentación Sobre la Inocuidad Alimentaria de Productos Agroalimentarios (PSR; US FDA, 2015a), impactará a productores y a algunos empaques. Uno de los aspectos más polémicos de la PSR es el

conjunto de requerimientos que rige la calidad microbiana del agua que hace contacto con la porción cosechada de la fruta. Se han ofrecido alternativas a productores que necesitan utilizar agua que no cumple con la normatividad propuesta para la calidad microbiológica, denominadas Medidas Correctivas. Estas incluyen (pero no se limitan a) la aplicación de una intervención de postcosecha, como el lavado comercial, en el que se ha documentado la tasa de remoción microbiana, o un intervalo de tiempo (en días) entre la cosecha y la transferencia del producto a un local minorista en el que se conocen las reducciones microbianas registradas con el paso del tiempo. En ambos casos, la reducción microbiana requerida durante la intervención de postcosecha o durante los períodos de almacenamiento en postcosecha está sujeta a la calidad inicial del agua utilizada. Actualmente, no existe información científica que sustente una intervención de postcosecha o un período de almacenamiento de postcosecha para el mango.

Algunos empacadores, importadores, o cualquier actor involucrado en la comercialización del mango fresco cortado, o de productos de mango de valor agregado, están regidos por la Reglamentación Sobre Controles Preventivos (PC por sus siglas en inglés) de Alimentos para Humanos (US FDA, 2015b), bajo el esquema de la Ley de Modernización de la Inocuidad Alimentaria. La reglamentación sobre controles preventivos requiere que todas las empresas que manejan alimentos cuenten con un Plan de Inocuidad Alimentaria, incluyendo un análisis de riesgos y peligros. La piedra angular de estos programas es el componente de verificación de la existencia de controles preventivos con base en riesgos. Anteriormente, no existían datos científicos que podrían ser utilizados por la industria para el cumplimiento de la Reglamentación Sobre la Inocuidad Alimentaria, específicamente relacionada con la identificación del patógeno apropiado de interés, así como estrategias de reducción verificadas.

Cinco brotes de *Salmonella* documentados en norteamérica han estado vinculados con el mango, ocurriendo en 1998, 1999, 2001, 2003, y 2012 en Oranienburg, Newport, Saintpaul, y Braenderup y Worthington, respectivamente (Beatty et al., 2004; CDC, 2003; PHAC, 1998; Sivaapalasingam et al., 2003; CDC, 2012). En todos los casos, el mango fresco importado resultó ser la fuente del brote. Aunque la *Salmonella* es el único organismo que está vinculado en la actualidad con cualquiera de los brotes de norteamérica, existen inquietudes acerca de la *L. monocytogenes* a raíz de recientes brotes y retiros de producto del mercado asociados con frutas frescas.

La investigación ha demostrado que la *Salmonella* tiene la capacidad para interiorizarse en la pulpa intacta de mango de la variedad '*Tommy Atkins*' durante los tratamientos hidrotérmico y de hidrogenfriado durante la postcosecha, mismos a los que todo el mango fresco importado que ha sido vinculado con los brotes de salmonelosis había sido sometido (Penteado et al., 2004; Bordini et al., 2007). También se ha documentado la propagación de *Salmonella* que se ha interiorizado en la pulpa de mango a lo largo de un período de 6 días a una temperatura de 22°C (Bordini et al., 2007). La interiorización en otras variedades de mango, así como la condición de los patógenos interiorizados durante la distribución a temperaturas típicas no se ha sido previamente documentado.

Existe poca información que detalle la propagación y la supervivencia de *Salmonella* u otros patógenos sobre la superficie del mango. En mango fresco cortado, la *Salmonella* se propagó a temperaturas de 23 y 12°C, y sobrevivió por un período extendido de tiempo a temperaturas de 4 y -20°C; la *Escherichia coli* O157:H7 se propagó a 23°C, y sobrevivió a temperaturas de 12, 4 y -20°C (Strawn y Danyluk, 2010). En pulpa de mango fresco, la *E. coli* O157:H7 sobrevivió durante 13 días al almacenarse a temperaturas de 6 o -10°C (Leite et al., 2002); la *Salmonella* Enteritidis se propagó a 25°C y sobrevivió a temperaturas de 10, 4, y -20°C, mientras que la *Listeria monocytogenes* se propagó tanto a temperatura de 25 como de 10°C, y sobrevivió a temperaturas

de 4 y -20°C (Penteado, et al., 2014). La *E. coli* O157:H7 sobrevivió en jugo de mango almacenado a temperatura ambiente (25°C) y a temperatura de refrigeración (7°C) durante 6 y 8 días, respectivamente, registrando mejores índices de supervivencia bajo refrigeración, sin importar la cepa o la adaptación de ácido, y las cuentas de población de *E. coli* O157:H7 declinaron rápidamente a temperatura ambiente (Hsin-Yi y Chou, 2001). Ningún estudio publicado anteriormente ha evaluado la supervivencia de patógenos en mango entero.

Existe poca información que se haya publicado anteriormente que haya evaluado métodos para controlar la poblaciones de patógenos que podrían estar presentes en la superficie de mango. Penteado et al. (2014) describe el potencial tanto de la *Salmonella* como la *L. monocytogenes* de provocar la contaminación cruzada de cuchillos contaminados durante el procesamiento. Aunque Fernandes et al. (2014) describe la adhesión de *Salmonella* Typhimurium al mango como un proceso multifactorial, en el que la aspereza y la hidrofobicidad de la superficie de la fruta no afectan la eficiencia de los tratamientos de desinfección. El tratamiento de pedazos de cáscara de mango de 1 x 1 cm por sumersión en distintos desinfectantes y mezclas surfactantes durante 10 min no representa un tratamiento práctico para las plantas de empaque que pueda servir para remover patógenos de la superficie del mango, y es poca la información práctica que se pueda extraer de este estudio como para informar la verificación de procesos de la planta de empaque.

Métodos de la Investigación y Resultados

Objetivo 1. Evaluar la condición de patógenos de origen alimentario en las superficies de mango entero y fresco cortado.

El principal enfoque del objetivo 1 era evaluar la persistencia de los patógenos de origen alimentario en la superficie completa e intacta del mango, tema para el cual la información publicada existente es limitada al considerar el caso de almacenamiento a distintas temperaturas. El efecto del nivel del inóculo en la supervivencia de los patógenos en mango entero se abordó como retroalimentación recibida de los actores interesados indicando que los niveles de microorganismos utilizados en el laboratorio a menudo son irrealistamente altos como para ser de valor práctico. Para comparar el inóculo, se inoculó *Salmonella* o *L. monocytogenes* en la superficie de mango de la variedad 'Tommy Atkins' a concentraciones ya sea Altas (6 log) o Bajas (3 log) y se almacenó durante 14 días a 25 ± 5°C. Las poblaciones de patógenos se enumeraron luego de realizar un protocolo de frote (60 s)- sacudido (60 s)- frote (30 s). Se prepararon diluciones seriadas en agua de peptona al 0.1% que se depositaron en la superficie (0.1 ml) por duplicado en medios selectivos y no selectivos, con antibióticos según correspondiera. Para incrementar el límite de detección, se depositó un (1) ml de la dilución más baja en cuatro placas cada una de (0.25 ml/placa) de medios selectivos y no selectivos. La Figura 1 muestra que las poblaciones de *Salmonella* exhiben tendencias similares de propagación para los niveles de inoculación tanto altos como bajos, ambos alcanzando una propagación máxima para el día 3 (Alto de 6.4 y Bajo de 5.8 Log CFU/mango). Posteriormente, los niveles declinan ligeramente para el día 14 (Alto de 6.1 y Bajo de 5.6 Log CFU/mango). Las poblaciones de *L. monocytogenes*, asimismo, muestran tendencias semejantes para el inóculo alto y bajo (Figura 2) con una propagación máxima para el día 7 (6.5 y 5.9 Log CFU/mango, respectivamente) y muestra una reducción leve para el día 14 (6.1 y 5.6 Log CFU/mango, respectivamente). Tanto la *Salmonella* como la *L. monocytogenes* se propagaron en la superficie del mango, un resultado inesperado.

Se completaron estudios para evaluar la persistencia de cócteles de *Salmonella* y *L. monocytogenes* en la superficie de mango entero de las variedades 'Ataulfo', 'Tommy Atkins', y 'Kent'. Se inoculó fruta entera depositando 100 µl del cóctel del inóculo de 6 log CFU/mango sobre el área de la muestra debidamente marcada en la parte media y suave de la fruta. Fruta

intacta inoculada se secó durante una (1) h antes del almacenamiento a la temperatura apropiada. Las temperaturas seleccionadas para la evaluación fueron 12, 20 y $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Estas temperaturas fueron seleccionadas en base a la temperatura baja más segura para la exposición de tiempo extendido del mango (12°C), la mínima temperatura de refrigeración por aire forzado (10°C), las temperaturas recomendadas para el cuarto de almacenamiento y el embarque en contenedor marítimo, o contenedor de tracto-camión (10 al 12°C), la temperatura recomendada para el almacenamiento posterior al proceso de maduración (10 a 13°C), la temperatura a la que el mango se enfría en el hidrogenfriado (hydrocooler) (21 a 22°C), la temperatura óptima para la maduración del mango (20 a 22°C), la temperatura ambiente aproximada de un escaparate a nivel minorista (ca. 20°C), y la temperatura más alta de exposición para prevenir temperaturas que causan una maduración y un sabor deficientes (30°C) que los mangos experimentan al ser descargados en una planta de empaque y procesados (Brecht, 2014). El mango se almacenó por hasta 28 días. Las poblaciones de patógenos se enumeraron como se describe arriba. Las Figuras 2 al 6 muestran que la propagación de ambas poblaciones de patógenos incrementó en las superficies de todas las variedades de mango, y en todas las temperaturas. Estos resultados son semejantes a los experimentos preliminares de evaluación del nivel del inóculo, en el que ambos patógenos se propagaron en la superficie del mango.

Aunque fue una parte relativamente menor de este objetivo, expandimos nuestro conocimiento sobre la investigación que ya habíamos realizado y sobre proyectos publicados con información limitada acerca del mango fresco cortado y de la pulpa de mango, y evaluamos la condición de los patógenos de origen alimentario inoculados en superficies de pulpa de mango cortado y almacenado a diferentes temperaturas. Debido a que este trabajo ya se publicó para *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7 (Strawn y Danyluk, 2010), este objetivo se llevó a cabo utilizando únicamente *L. monocytogenes* y mango de la variedad 'Tommy Atkins'. Se colocó fruta cortada (10 g) en una placa de Petri y se inoculó con $20 \mu\text{l}$ a 3 log CFU/g y se mantuvo en un gabinete de bioseguridad durante 20 min para permitir que el inóculo se secase. Luego del período de secado, se colocaron muestras en una bolsa filtrada estéril Stomacher®. Las bolsas no se sellaron para permitir el movimiento de aire y para prevenir la creación de un entorno anaeróbico a raíz de la respiración de la fruta. Muestras cortadas a 4, 12 y $20 \pm 2^\circ\text{C}$ por hasta 28 días. Las temperaturas seleccionadas para la evaluación fueron 4, 12, y $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Estas temperaturas representan la temperatura óptima para el almacenamiento de producto fresco cortado (4°C), la temperatura común de escaparate abierto refrigerado de tiendas minoristas (10 a 12°C), y temperaturas ambientes (20°C). Las poblaciones de patógenos se enumeraron en la forma descrita arriba, con una excepción; las muestras se colocaron en bolsas Stomacher durante 2 min a alta velocidad, en lugar de someterse al proceso frote-sacudido-frote. A 4 y 12°C , las poblaciones de *L. monocytogenes* permanecieron estables durante 14 días declinando ligeramente ($0.8 \log \text{CFU/g}$) para el día 28 (Figura 7). Al almacenarse a 20°C , las poblaciones de *L. monocytogenes* incrementaron ligeramente para el día 3 ($0.6 \log \text{CFU/g}$) y posteriormente declinaron a lo largo de los 7 días de almacenamiento (Figura 7).

Objetivo 2. Evaluación de los riesgos de contaminación con patógenos de origen alimentario derivada de prácticas utilizadas comúnmente en plantas de empaque de mango.

El principal enfoque de este objetivo será evaluar el control de patógenos de origen alimentario por medio de varios pasos utilizados actualmente en la producción de mango. Después de que la fruta sale del estanque inicial, se pasa por una operación de aspersión para remover la tierra, látex, y otros materiales adheridos a la fruta. Es aquí donde evaluamos la eficacia de los químicos antimicrobianos aprobados por la Agencia de Protección del Medio Ambiente de EE.UU. (US Environmental Protection Agency (EPA por sus siglas en inglés) como productos que pueden

tener contacto con alimentos en operaciones de aspersión de mango utilizando una operación de escala de piloto con rodillos de PVC y cepillos. Se evaluaron cuatro desinfectantes diferentes, incluyendo cloro, dióxido de cloro, ozono, y ácido peroxiacético (APA). Se usó mango de la variedad 'Tommy Atkins' para todos los estudios. Cuando se juzgó necesario, el mango se almacenó a una temperatura de 12°C, y se calentó hasta llegar a temperatura ambiente antes de usarse. Se realizó la preparación de cócteles de *Salmonella*, la inoculación de mango entero, y la enumeración de la *Salmonella* después del tratamiento como se describe arriba. Se prepararon cuatro soluciones distintas para el aspersor de desinfectante en agua subterránea que cumple los estándares microbiológicos para agua potable, incluyendo: (i) cloro, 100 ppm, pH 6.5-7.5; (ii) dióxido de cloro, 5 ppm; (iii) ozono, 2 ppm; y (iv) APA, 80 ppm. Un control de agua también será evaluado. Ambos rodillos de cepillos y PVC se evaluaron. El mango se colocó en el sistema de aspersor y de rodillos, y se trató durante 0, 5, 15, 30 y 60 s. Tres mangos se trataron en la mesa de cepillado uno a la vez y el experimento se duplicó cinco veces ($n=15$). A raíz de que no siempre había disponibilidad de mango sin lavar/sin encerar que no haya sido sometido al Tratamiento Hidrotérmico de USDA APHIS, se realizó un ensayo pequeño ($n=3$) para determinar si existían diferencias en la eliminación de *Salmonella* entre mango que había sido sometido al hidrotérmico anteriormente, y mango que no había sido tratado, como se describe arriba, con cloro, APA, agua, y dióxido de cloro.

Al utilizar rodillos de cepillo, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P<0.05$) en las reducciones de *Salmonella* entre el agua, cloro y dióxido de cloro, así como el tratamiento con APA sin importar el período de lavado (Figura 8A). No se observaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre el ozono y agua. La mayor reducción log en el tratamiento con APA ocurrió a los 60 s (5.13 ± 1.03), comparado con el cloro (4.43 ± 0.95), dióxido de cloro (3.81 ± 0.64), ozono (3.20 ± 0.50) y tratamiento de agua (3.27 ± 0.50). En todos los casos, las reducciones log incrementaron con períodos más extensos de tratamiento. El cloro, dióxido de cloro, ozono y el agua, así como el lavado con APA lograron por lo menos reducciones de 3-log y 4-log CFU/mango, respectivamente.

Los resultados de los rodillos PVC aparecen en la Figura 8B. No se observaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre el agua, dióxido de cloro, y ozono. La mayor reducción log ocurrió con el tratamiento APA a los 60 s (4.65 ± 1.04), comparado con el cloro (4.46 ± 0.83), dióxido de cloro (3.77 ± 0.41), ozono (2.70 ± 0.10) y tratamiento de agua (3.27 ± 0.50). En todos los casos, las reducciones log incrementaron con períodos de tratamiento más extensos. El lavado con cloro y APA produjo una reducción de por lo menos 4-log, el dióxido de cloro y el agua produjo una reducción de 3-log, y el ozono produjo una reducción de por lo menos 2.5 log-CFU/mango.

Los resultados de los tratamientos con desinfectantes en mango que no ha sido sometido al hidrotérmico aparecen en la Figura 9. En el caso de los rodillos con cepillo (Figura 9A), la mayor reducción log ocurrió en el tratamiento con APA a los 60 s (5.2 ± 1.1), comparado con el cloro (4.1 ± 0.0), dióxido de cloro (4.2 ± 0.0), y tratamiento de agua (2.9 ± 0.4). Los resultados de los rodillos PVC aparecen en la Figura 9B. La mayor reducción del tratamiento con cloro ocurrió a los 60 s (4.8 ± 1.2), comparado con el APA (3.4 ± 0.3), dióxido de cloro (3.8 ± 0.5), y tratamiento de agua (3.4 ± 0.3). En todos los casos, las reducciones log incrementaron con períodos de tratamiento más extensos, y las reducciones son semejantes a las de experimentos de mayor escala realizados en mango sometido al hidrotérmico.

Asimismo, se realizó un análisis de experimentos correspondientes para evaluar la eficacia de los cuatro productos químicos antimicrobianos (cloro, dióxido de cloro, ozono, y APA) en una operación de aspersión de mango utilizando una operación de escala de piloto con rodillos de

cepillo y de PVC en contra *L. monocytogenes* luego de cumplir con los protocolos semejantes descritos arriba; una diferencia importante fue el tamaño de la muestra ($n=3$ frutos en lugar de $n=15$). Los resultados de la eliminación de *L. monocytogenes* del mango utilizando distintos desinfectantes en rodillos de cepillo y de PVC aparecen en la Figura 10. Los resultados de los rodillos de cepillo aparecen en la Figura 10A. La mayor reducción log registrada en los tratamientos con cloro y APA ocurrió a los 60 s (4.3), comparado con el dióxido de cloro (2.7 ± 0.3), ozono (2.5 ± 0.7) y tratamiento de agua (3.9 ± 0.5). En los rodillos de PVC (Figura 10B), la mayor reducción log del tratamiento con APA ocurrió a los 60 s (4.3 ± 0.3), comparado con el cloro (4.0 ± 0.0), dióxido de cloro (3.5 ± 0.0), ozono (2.0 ± 0.0) y tratamiento de agua (3.0 ± 0.5). En todos los casos, las reducciones log incrementaron con períodos de tratamiento más extensos.

Objetivo 3. Evaluación de la capacidad que posee la *Salmonella* spp. de infiltrar el mango y determinar la condición de las células interiorizadas después de la infiltración.

El tratamiento hidrotérmico (46.1°C) para el control de la mosca de la fruta varía en base a la forma general y el peso de la fruta. Las variedades de mango '*Tommy Atkins*' y '*Kent*' son redondas, que pueden sumergirse durante 75 min (<500 g) o 90 min (501-700 g). El mango '*Ataulfo*' es una variedad plana y el período de sumersión es 65 min (<375 g) o 75 min (376-570 g). Después del hidrotérmico, el mango generalmente es sometido al tratamiento de hidrogenfriado. El hidrogenfriado se aprueba inmediatamente después de la aplicación del tratamiento hidrotérmico si se agregan 10 min a los períodos del hidrotérmico (Brecht, 2014). De manera alternativa, la fruta puede someterse al hidrogenfriado después de un período de reposo de por lo menos 30 min a temperatura ambiente sin cambios al tratamiento hidrotérmico (USDA, 2010). El agua del estanque del hidrogenfriado no puede tener una temperatura por debajo de los 21°C . Mango de las variedades '*Tommy Atkins*', '*Ataulfo*' y '*Kent*' fueron utilizado para los estudios. Mango que no ha sido lavado/encerado que no se ha sometido al tratamiento hidrotérmico del USDA APHIS fue obtenido de Florida para este estudio. El mango se separó en base al peso en dos categorías de calibre: <500 g o 501-700 g para las variedades '*Tommy Atkins*' y '*Kent*' y <375 g, y 375-570 g para el '*Ataulfo*'. Mango a temperatura ambiente se sumergió en agua que cumple los estándares para agua potable calentada a una temperatura de 41.6°C durante el período que corresponde a la forma, peso, y tiempo en el hidrogenfriado (USDA, 2010). Todo el mango '*Tommy Atkins*' y '*Kent*' que se sometió a evaluación pesaba <500 g, y se sumergió durante 85 min. El mango '*Ataulfo*' que pesaba <375 g se sumergió durante 75 min y los que pesaban entre 376 y 570 g se sumergieron durante 85 min.

El cóctel del inóculo se preparó como se describe arriba. Agua subterránea que cumple los estándares microbiológicos para agua potable se ajustó a 21°C , y se agregó el cóctel de *Salmonella* al agua para lograr un nivel de inóculo de 6 log CFU/ml. Se sumergió mango a una profundidad de 12 cm en el agua de enfriado inoculada, ya sea inmediatamente después de la aplicación del tratamiento hidrotérmico o después de 30 min a temperatura ambiente. El mango se removió del tratamiento de hidrogenfriado después de 0, 30, 40, y 50 min. Inmediatamente después de sacarlo del hidrogenfriado, la superficie del mango se desinfectó mediante la aspersión con etanol al 95% y se limpió con una toalla de papel remojada en etanol al 95%. Una vez que se realizó la desinfección de la superficie, el mango se secó durante 10 min en placas Petri estériles.

Las poblaciones de *Salmonella* se enumeraron desde el tallo, la sección media, y el extremo de la flor del mango. En una tabla de picar esterilizada, piel del extremo de la flor, piel del extremo de la cicatriz del tallo, y una sección de la piel de la sección media (ca. 3-5 mm), se removió utilizando un cuchillo dentado esterilizado. Una despepitadora esterilizada (1.9 cm de diámetro) se insertó en el extremo de la flor, extremo de la cicatriz del tallo o en la sección media para remover la

semilla de la pulpa del mango. Se utilizó un hisopo de algodón estéril para remover el centro de la despepitadora. Cada sección del centro se pesó, y se colocó en una bolsa para digestor Stomacher® estéril y filtrada utilizando pinzas esterilizadas. Luego de preparar los segmentos de los centros, se agregaron 25 ml de caldo de lactosa a cada bolsa y las muestras se sometieron a un proceso de macerado por 60 s en la modalidad más alta del digestor Stomacher®. Una vez digeridas, se agregaron 15 ml de caldo de lactosa y la bolsa se sacudió a mano durante 30 s. Las poblaciones de *Salmonella* se enumeraron de estos centros utilizando dos métodos, por cuenta de placas como se describe arriba y por Número Más Probable (MPN por sus siglas en inglés), con un límite menor de detección de 0.1 log MPN/segmento. Se montó un MPN 3 x 3 para la mezcla de tejidos homogenizados mediante la extracción de 3 x 10 ml, 1 ml y 0.1 ml de cada muestra y agregando cada una a una probeta estéril, 9 ml de caldo de lactosa, y 9.9 ml de caldo de lactosa, respectivamente. Las probetas se incubaron por 24 ± 2 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Después de la incubación, se transfirió 1 ml de cada probeta a 9 ml de caldo de tetratón (TT) y 0.1 ml se transfirió a 9.9 ml de caldo de Rappaport-Vassiliadis R10 (RV). Las probetas con caldo TT se incubaron de un día para otro (24 ± 2 h) a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ y las probetas RV se incubaron durante 48 ± 2 h a $42 \pm 2^\circ\text{C}$. Después de la incubación, las probetas TT y RV se vertieron sobre agar entérico Hektoen (HE) y agar de desoxicolato de lisina xilosa (XLD) suplementado con antibióticos, según corresponda. Las placas se incubaron por 24 ± 2 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, y los positivos presuntivos para colonias de *Salmonella* fueron confirmados mediante la perforación y el rayado sobre agar triple azúcar hierro (TSI) y agar hierro lisina (LIA) incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 ± 2 h. Todos los experimentos utilizaron muestras en triplicado en mango no tratado ($n=3$).

La infiltración de la *Salmonella* fue significativamente ($P \leq 0.05$) impactada por variedad, región de la fruta, período del hidrogenfriado, y la añadidura de un período de reposo entre el hidrotérmico y el hidrogenfriado. El mango sometido al hidrogenfriado por 50 y 40 min resultó en un mayor índice de infiltración (3.2 y 3.1 log CFU/segmento) comparado con 30 min (2.7 log CFU/segmento). Las variedades 'Tommy Atkins' y 'Ataulfo' (3.1 y 3.2 log CFU/segmento, respectivamente) exhibieron una mayor susceptibilidad a la infiltración que la variedad *Kent* con 2.7 log CFU/segmento. Mayores concentraciones de *Salmonella* estuvieron presentes en la pulpa muestreada de los extremos del tallo en las tres variedades (4.0 – 4.7 log CFU/segmento) que del extremo de la flor o de la sección media (1.9-2.8 log CFU/segmento). La añadidura de un período de reposo de 30 minutos resultó en una reducción significativa de *Salmonella* interiorizada de 3.1 a 2.8 log CFU/muestra ($P < 0.05$) a través de todas las variedades y regiones de la pulpa.

Los resultados de los experimentos en los que el mango se sumergió inmediatamente en el agua subterránea se pueden ver en la Figura 11. Se observaron niveles más altos de interiorización de *Salmonella* en la cicatriz del tallo, que en la sección media o en el extremo de la flor para todos los tipos de mango en todos los tiempos del hidrogenfriado. La interiorización en la cicatriz del tallo, la sección media, y el extremo de la flor, registraron índices generalmente más altos en el mango 'Ataulfo' (Figura 11C), que en el mango 'Tommy Atkins' (Figura 11A) o el mango 'Kent' (Figura 11B).

Los resultados de los experimentos en los que el mango reposaron a temperatura ambiente por 30 min antes de someterse al hidrogenfriado se pueden ver en la Figura 12. Se observaron niveles más altos de interiorización de *Salmonella* en la cicatriz del tallo, que en la sección media o en el extremo de la flor para todos los tipos de mango y en todos los tiempos del hidrogenfriado con la excepción del mango 'Ataulfo' que se sometió al hidrogenfriado durante 50 minutos. La interiorización en la cicatriz del tallo, sección media y extremo de la flor registraron índices generalmente más altos en el mango 'Ataulfo' (Figura 12C), que en el mango 'Tommy Atkins' (Figura 12A) o en el mango 'Kent' (Figura 12B).

Para poder determinar lo que ocurre con las poblaciones de *Salmonella* que se han interiorizado en la pulpa de mango durante el tratamiento hidrotérmico de APHIS, se interiorizaron poblaciones de *Salmonella* en mango 'Ataulfo' como se describe arriba. Luego de secarse, el mango se almacenó a 12, 20 y 30 ± 2°C. Las poblaciones de *Salmonella* serán enumeradas del extremo de la flor, extremo del tallo y sección media como se describe arriba los días: 12 ± 2°C, días 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, y 28; 20 ± 2°C, días 0, 1, 3, 7, 10, 14, y 21; 30 ± 2°C, días 0, 1, 3, 5, 7, 10, y 14. A raíz de la disponibilidad limitada de mango 'Ataulfo' que no había sido sometido al hidrotérmico en Florida, se efectuaron tres reproducciones con muestras sencillas (n=3).

La condición de las poblaciones de *Salmonella* interiorizadas en mango 'Ataulfo' y almacenadas a 12, 20, o 30°C aparece en la Figura 13. Las concentraciones iniciales de *Salmonella* interiorizada registraron algo de variabilidad en los tejidos de la cicatriz del tallo, sección media, y extremo de la flor. Las poblaciones interiorizadas, en general, permanecieron constantes durante el almacenamiento a 12°C por hasta 28 días (Figura 13A). Cuando las temperaturas del almacenamiento incrementaron a 20 o 30°C, la *Salmonella* interiorizada en los tejidos de la cicatriz del tallo incrementaron durante los primeros 3 días, luego permanecieron estables durante el resto del período de almacenamiento (21 días a 20°C, Figura 13B; 14 días a 30°C Figura 13C). Las poblaciones interiorizadas en las secciones medias incrementaron tanto a la temperatura de 20°C como de 30°C dentro de las primeras 24 h, pero el incremento no fue sustentable, y las poblaciones permanecieron estables a niveles semejantes a los de las poblaciones interiorizadas en el extremo de la flor (Figura 13 B y C) por el resto del período del almacenamiento.

A fines del verano de 2017, Danyluk viajó a una planta de empaque de mango donde el tratamiento hidrotérmico se está utilizando para tratar mango antes de su arribo a los EE.UU. Este viaje fue extremadamente valioso para Danyluk, y el CPS debe alentar actividades semejantes entre investigadores y la industria toda vez que sea posible.

Resultados y Logros

Se realizaron estudios iniciales para abordar la inquietud de los actores interesados de que el nivel de microorganismos utilizado en el laboratorio es irrealistamente alto como para ser de valor práctico. Los resultados demuestran que la concentración del inóculo inicial no ejerce un impacto en la supervivencia de patógenos en la superficie del mango entero. Por lo tanto, los inóculos altos fueron utilizados en estudios subsiguientes. No se observaron reducciones sustanciales de *Salmonella* o de *L. monocytogenes* en la superficie del mango entero. Estos resultados implican que no se debe depender de las tasas de reducción microbiana en la postcosecha como una Medida Correctiva para cumplir con los requerimientos de la reglamentación sobre la inocuidad alimentaria del mango.

- Aunque la *L. monocytogenes* no se propagó sustancialmente bajo las temperaturas de almacenamiento que se sometieron a prueba, tiene el potencial de sobrevivir durante la vida de anaquel del mango fresco cortado. Sin embargo, al compararse con investigación publicada anteriormente sobre la *Salmonella* y el *E. coli* O157:H7 (Strawn y Danyluk, 2010), las poblaciones de *Salmonella* a 12 y 20°C, y las poblaciones STEC a 20°C, se propagaron sustancialmente más ($p \leq 0.05$) que la *Listeria monocytogenes*. Si se identifica algún control de riesgos bacterianos durante la cadena del frío como Control Preventivo del Proceso en el Análisis de Riesgos de un Plan de Inocuidad Alimentaria para el mango fresco cortado bajo el esquema de la Reglamentación de Controles Preventivos de Alimentos para Humanos de FSMA, la *Salmonella*, y no la *L. monocytogenes*, debe identificarse como el riesgo bacteriano, ya que registra la tasa de crecimiento más vertiginosa.

El uso de desinfectantes puede reducir sustancialmente las poblaciones de *Salmonella* en la superficie del mango tanto con rodillos de PVC como de cepillo. Reducciones significativas son aparentes después de los 5 s, y continúan por hasta 60 s. Después de los 60 s, las reducciones exceden 3.5 log CFU/mango con todos los desinfectantes salvo el ozono, y exceden 4 log CFU/mango con 100 ppm cloro libre y 80 ppm APA.

La *Salmonella* se interioriza en el mango entero con algunas variedades de mango y algunas regiones en la superficie del mango demostrando una mayor susceptibilidad a la interiorización. La añadidura del período de reposo entre el tratamiento hidrotérmico y el tratamiento de hidrogenfriado produce una reducción sustancial en la infiltración de *Salmonella*. Una vez interiorizadas, las poblaciones de *Salmonella* pueden incrementar a temperaturas de almacenamiento más altas, y persistir a todas las temperaturas evaluadas.

Resumen de Conclusiones y Recomendaciones

- No se observaron reducciones sustanciales de *Salmonella* o de *L. monocytogenes* en la superficie del mango entero. Estos resultados implican que no se debe depender de las tasas de reducción microbiana en la postcosecha como Medida Correctiva para cumplir los requerimientos de las reglamentaciones de inocuidad alimentaria del mango.
- Si se identifica algún control de riesgos bacterianos durante la cadena del frío como Control Preventivo del Proceso en el Análisis de Riesgos de un Plan de Inocuidad Alimentaria para el mango fresco cortado bajo el esquema de la Reglamentación de Controles Preventivos de Alimentos para Humanos de FSMA, la *Salmonella*, y no la *L. monocytogenes*, debe identificarse como el riesgo bacteriano, ya que registra la tasa de crecimiento más vertiginosa.
- El uso de un sistema de lavado por aspersion de agua, con rodillos de PVC o de cepillo, puede utilizarse como Medidas Correctivas tal y como las define la Reglamentación Sobre la Inocuidad Alimentaria y como Controles Preventivos de Procesos como los define la Reglamentación Sobre Controles Preventivos de Alimentos para Humanos.
 - Las mayores reducciones se observaron después de 60 s con 100 ppm cloro libre y 80 ppm APA.
 - Las reducciones específicas que se requieran en las verificaciones se basarán en el tipo de rodillo, tipo de desinfectante, y tiempo de contacto.
- Las poblaciones de *Salmonella* que están presentes en el agua del estanque del hidrogenfriado pueden interiorizarse en la pulpa del mango si el mango se enfría a temperatura ambiente antes de aplicar el hidrogenfriado. Se necesita el debido control del desinfectante en el agua del estanque del hidrogenfriado para prevenir la interiorización.

Literatura Citada

- Beatty, M. E., T.N. LaPorte, Q. Phan, S.V. Van Duyne, and C. Braden. 2004. A multistate outbreak of *Salmonella* enterica serotype Saintpaul infections linked to mango consumption: a recurrent theme. **(Un brote multiestatal de infecciones de Salmonella enterica serotipo Saintpaul está vinculado con el consumo de mango: un tema recurrente)** Clinical Infectious Disease. 38:1337-1338.
- Bordini, M.E.B., C.A. Ristori, M. Jakabi, and D.S. Gelli. 2007. Incidence, internalization and behavior of *Salmonella* in mangoes, var. Tommy Atkins. **(Incidencia, interiorización, y comportamiento de la Salmonella en mango de la variedad Tommy Atkins)** Food Control. 18:1002-1007.
- Brecht, J. 2014. Mango Postharvest Best Management Practices Manual. **(Manual de Mejores Prácticas de Postcosecha para el Manejo del Mango)** Available at <http://edis.ifas.ufl.edu/hs1185>. Accessed 20 December 2014.
- CDC. 2003. Foodborne outbreaks due to confirmed bacterial etiologies, 2006. **(Los brotes de origen alimentario se deben a etiologías bacterianas confirmadas)** Available at: http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/us_outb/fbo2003/fbofinal2003.pdf. Accessed 20 June 2009.
- CDC. 2012. Multistate outbreak of *Salmonella* Braenderup infections associated with mangoes (Final Update). **(Un brote multiestatal de infecciones de Salmonella Braenderup está vinculado con el mango)** Available at: <http://www.cdc.gov/salmonella/braenderup-08-12/>. Accessed 3 December 2014.
- Fernandes, P.E., J.F.B. Sao Jose, E.R.M.A. Zerdas, H.J. Andrade, C.M. Fernandes. 2014. Influence of the hydrophobicity and surface roughness of mangoes and tomatoes on the adhesion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and evaluation of cleaning procedures using surfactin. **(Influencia de la hidrofobicidad y aspereza superficial del mango y tomate en la adhesión de Salmonella enterica serovar Typhimurium y evaluación de los procedimientos de limpieza utilizando surfactin)** Food Control. 14:21-26
- Hsin-Yi, C., and C. Chou. 2001. Acid adaption and temperature effect on the survival of *E. coli* O157:H7 in acidic fruit juice and lactic fermented milk product. **(Efecto de la adaptación al ácido y la temperatura en la supervivencia de E. coli O157:H7 en jugo de fruta ácido y producto de leche fermentada láctica)** International Journal of Food Microbiology. 70:189-195.
- Leite, C. C., A.G Guimaraes, M.D. da Silva, P.N. de Assis, and R.L. Cardoso. 2002. Evaluation of the behavior of *Escherichia coli* O157:H7 in fruit pulp. **(Evaluación del comportamiento de Escherichia coli O157:H7 en pulpa de fruta)** Higiene Alimentar. 16:67-73.
- Penteado, A. L., B.S. Eblen, and A.J. Miller. 2004. Evidence of *Salmonella* internalization into fresh mangoes during simulated postharvest insect disinfestations procedures. **(Evidencia de interiorización de Salmonella en el mango fresco durante procedimientos de desinfestación de insectos en postcosecha)** Journal of Food Protection. 67:181-184.
- Penteado, A.L., M. Fernanda PM de Castro, and A.C.B. Rezende. 2014. *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and *Listeria monocytogenes* in mango (*Mangifera indica* L.) pulp: growth, survival and cross-contamination. **(La Salmonella enterica serovar Enteritidis y Listeria monocytogenes en pulpa de mango (Mangifera indica L.): crecimiento, supervivencia y contaminación cruzada)** Journal of the Science of Food and Agriculture. 94:2746-2751
- PHAC. 1998. *Salmonella* Oranienburg, Ontario. In: Canadian Communicable Disease Report; 24-22:15 November 1998.
- Sivaapalasingam S., E. Barrett, A. Kimura, S.V. Duyne, W.D. Witt, M. Ying, A. Frisch, Q. Phan, E. Gould, P. Shilam, V. Reddy, T. Cooper, M. Hoekstra, C. Higgins, J.P. Sanders, R.V. Tauxe, and L. Slutsker. 2003. A multistate outbreak of *Salmonella enterica* Serotype Newport infection linked to mango consumption: impact of water-dip disinfestation technology. **(Un**

brote multiestatal de infección de Salmonella enterica serotipo Newport está vinculado al consumo de mango: impacto de tecnología de desinfección por inmersión en agua

Clinical Infectious Disease. 37:1585-1590.

Strawn, L.K. and M.D. Danyluk. 2010. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. on fresh and frozen cut mangoes and papayas. **(Condición de *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella* spp en mango y papaya, tanto fresco como congelado cortado)** International Journal Food Microbiology. 138:78-84.

USDA. 2010. Treatment Manual. Available at:

http://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/manuals/ports/downloads/treatment.pdf
Accessed March 1, 2015.

U.S. Food and Drug Administration (FDA), (2015a). U.S. FDA Standards for the Growing, Harvesting, Packing, and Holding of Produce for Human Consumption; Final Rule. **(FDA - Normas para la Producción, Cosecha, Empaque, y Almacenamiento de Productos Agroalimentarios para el Consumo Humano)** Federal Register. 2015;80(228):74354-568

U.S. Food and Drug Administration (FDA), (2015b). U.S. FDA Final Rule for Preventive Controls for Human Food. Available at:

<https://www.fda.gov/food/guidanceregulation/fsma/ucm334115.htm>. Accessed 6 September 2016.

Publications and Presentations (required)

Friedrich, L.M., L.L. Dunn, and M.D. Danyluk. 2018. *Salmonella enterica* infiltration into whole mangoes. **(La infiltración de *Salmonella enterica* en el mango entero)** International Association for Food Protection Annual Meeting Abstract P-1-182.

Danyluk, M.D. 2018. Factors that influence the introduction, fate, and mitigation of foodborne pathogens on mangoes throughout the production chain. **(Factores que influyen en la introducción, condición, y mitigación de patógenos de origen alimentario en el mango a lo largo de la cadena productiva)** Center for Produce Safety Research Symposium, Charlotte, NC, 2018

Danyluk, M.D. 2017. Factors that influence the introduction, fate, and mitigation of foodborne pathogens on mangoes throughout the production chain. **(Factores que influyen en la introducción, condición, y mitigación de patógenos de origen alimentario en el mango a lo largo de la cadena productiva)** Center for Produce Safety Research Symposium, Denver, CO, 2017.

Wang, X., and M.D. Danyluk. 2017. Assessing the effectiveness of sanitizer spray and brush roller treatment on reducing the population of a five-strain *Salmonella enterica* cocktail on mango surfaces. **(Evaluación de la eficacia del aspersor de desinfectante y del tratamiento de rodillos de cepillo en la reducción de la población de un cóctel de *Salmonella enterica* cepa 5 en las superficies del mango)** International Association for Food Protection Annual Meeting Abstract P3-43.

Wang, X., and M.D. Danyluk. 2017. Assessing the effectiveness of sanitizer spray and PVC roller treatment on reducing the population of a five-strain *Salmonella enterica* cocktail on mango surfaces. **(Evaluación de la eficacia del aspersor de desinfectante y del tratamiento de rodillos PVC en la reducción de la población de un cóctel de *Salmonella enterica* cepa 5 en las superficies del mango)** Florida State Horticultural Society Annual Conference, HP-13.

Wang, X., and M.D. Danyluk. 2017. Assessing the effectiveness of sanitizer spray and roller treatment on reducing the population of a five-strain *Salmonella enterica* cocktail on mango surfaces. **(Evaluación de la eficacia del aspersor de desinfectante y del tratamiento de rodillos en la reducción de la población de un cóctel de *Salmonella enterica* cepa 5 en**

las superficies del mango) Citrus Research and Education Center, University of Florida, Posters and Pastries 2017 Research Symposium, P. 25.

Danyluk, M.D. 2016. Factors that influence the introduction, fate and mitigation of food-borne pathogens on mangoes throughout the production chain. **(Factores que influyen en la introducción, condición, y mitigación de patógenos de origen alimentario en el mango a lo largo de la cadena productiva)** CPS Research Symposium Lightning Round, Seattle, WA, 2016 – presentation given by M. Roberts.

Sharma, V., L.M. Friedrich, and M.D. Danyluk. 2016. Fate of *Listeria monocytogenes* on fresh cut mangoes stored at three different temperatures. **(Condición de la *Listeria monocytogenes* en mango fresco cortado almacenado a tres temperaturas distintas)** 2016 Florida State Horticultural Society Abstract HP-17.

No se han presentado publicaciones a la fecha.

Tablas y Figuras (opcional)

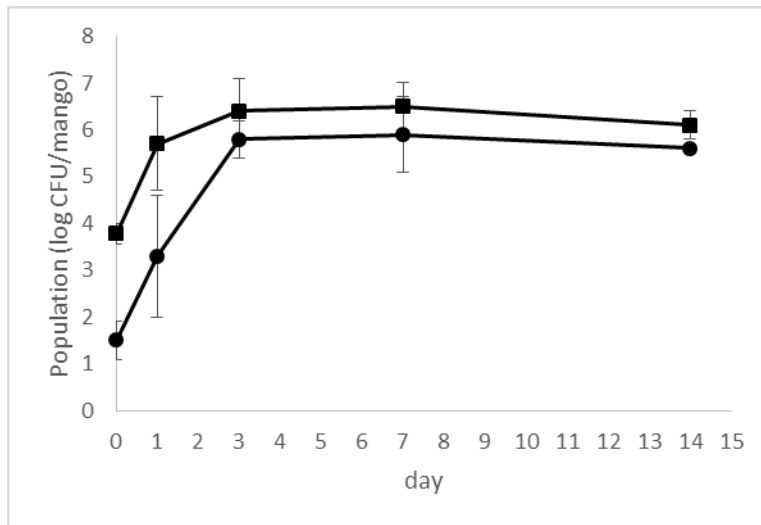


Figura 1. El comportamiento durante el almacenamiento a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ de la *Salmonella* spp. inoculada en mango entero a niveles de 4 log CFU (■), y 2 log CFU (●) por mango. Los valores son el promedio de muestras duplicadas de cada uno de tres experimentos ($n = 6$)

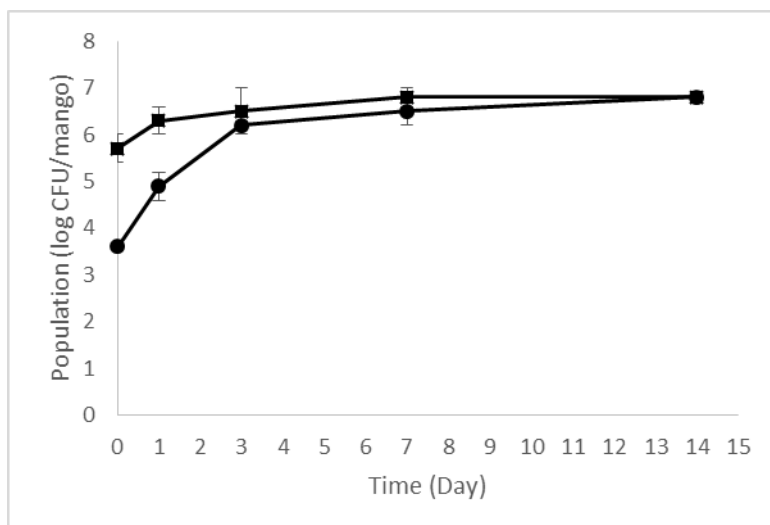


Figura 2. El comportamiento durante el almacenamiento a $25 \pm 5^\circ\text{C}$ de la *Listeria monocytogenes* inoculada en mango entero a niveles de 6 log CFU (■), y 3 log CFU (●) por mango. Los valores son el promedio de muestras duplicadas de cada uno de tres experimentos ($n = 6$)

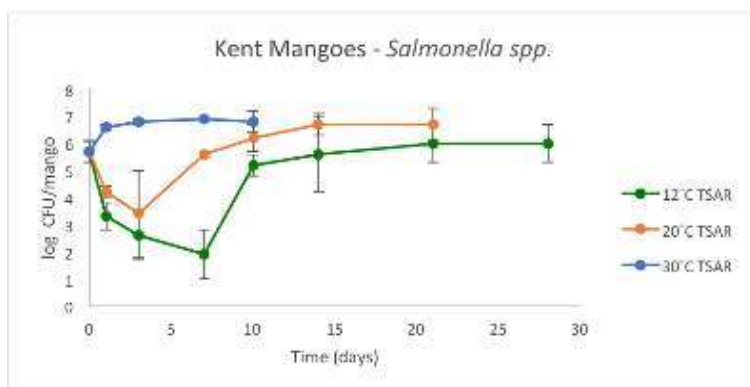


Figura 3. Supervivencia de un cóctel de *Salmonella* cepa 5 inoculado en la superficie de mango de la variedad *Kent* almacenado a $12 \pm 2^\circ\text{C}$ por 28 días, $20 \pm 2^\circ\text{C}$ por 21 días, y $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 14 días. Los valores representan el error promedio y estándar de 3 reproducciones con muestras duplicadas ($n=6$).

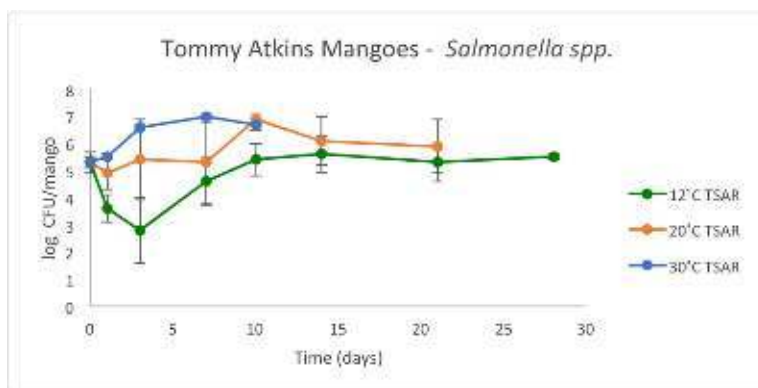


Figura 4. Supervivencia de un cóctel de *Salmonella* cepa 5 inoculado en la superficie de mango de la variedad *Tommy Atkins* almacenado a $12, 20$, y $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 14 días. Los valores representan el error promedio y estándar de 3 reproducciones con muestras duplicadas ($n=6$).

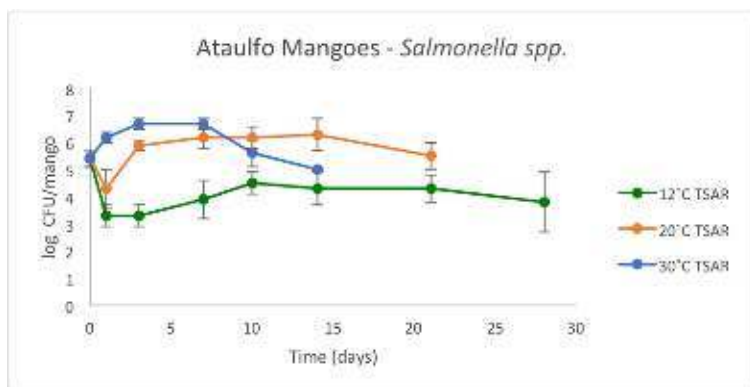


Figura 5. Supervivencia de un cóctel de *Salmonella* cepa 5 inoculado en la superficie de mango de la variedad *Ataulfo* almacenado a $12, 20$, y $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 7 días. Los valores representan el error promedio y estándar de 3 reproducciones con muestras duplicadas ($n=6$).

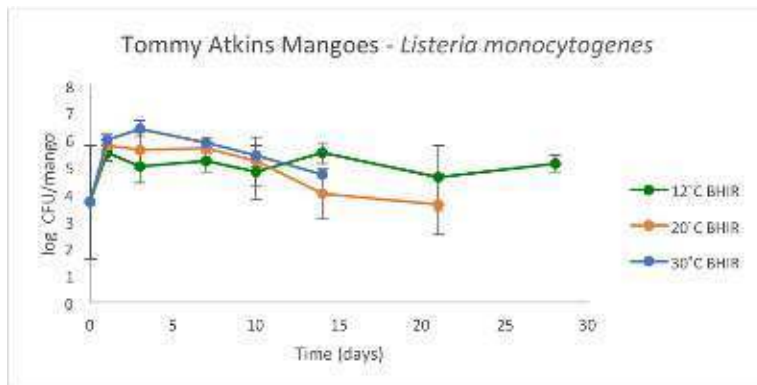


Figura 6. Supervivencia de un cóctel de *Listeria monocytogenes* cepa 5 inoculado en la superficie de mango de la variedad *Tommy Atkins* almacenado a 12, 20, y 30 ± 2°C por 7 días. Los valores representan el error promedio y estándar de 3 reproducciones con muestras duplicadas (n=6).

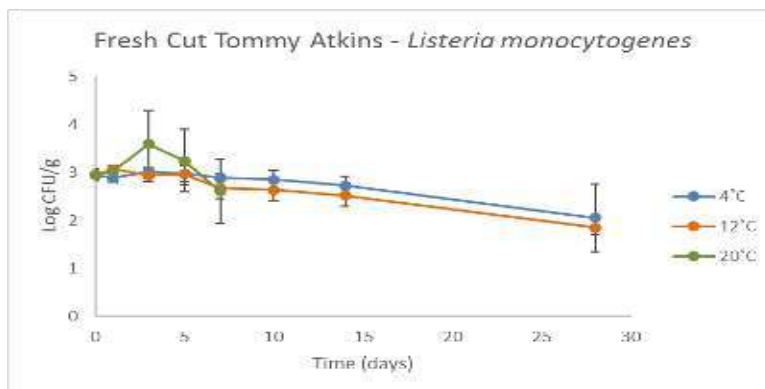


Figura 7. Supervivencia de un cóctel de *Listeria monocytogenes* cepa 5 inoculado en mango cortado de la variedad *Tommy Atkins* almacenado a 4, 12, y 20 ± 2°C por 28 días. Los valores representan el error promedio y estándar de 3 reproducciones con muestras duplicadas (n=6).

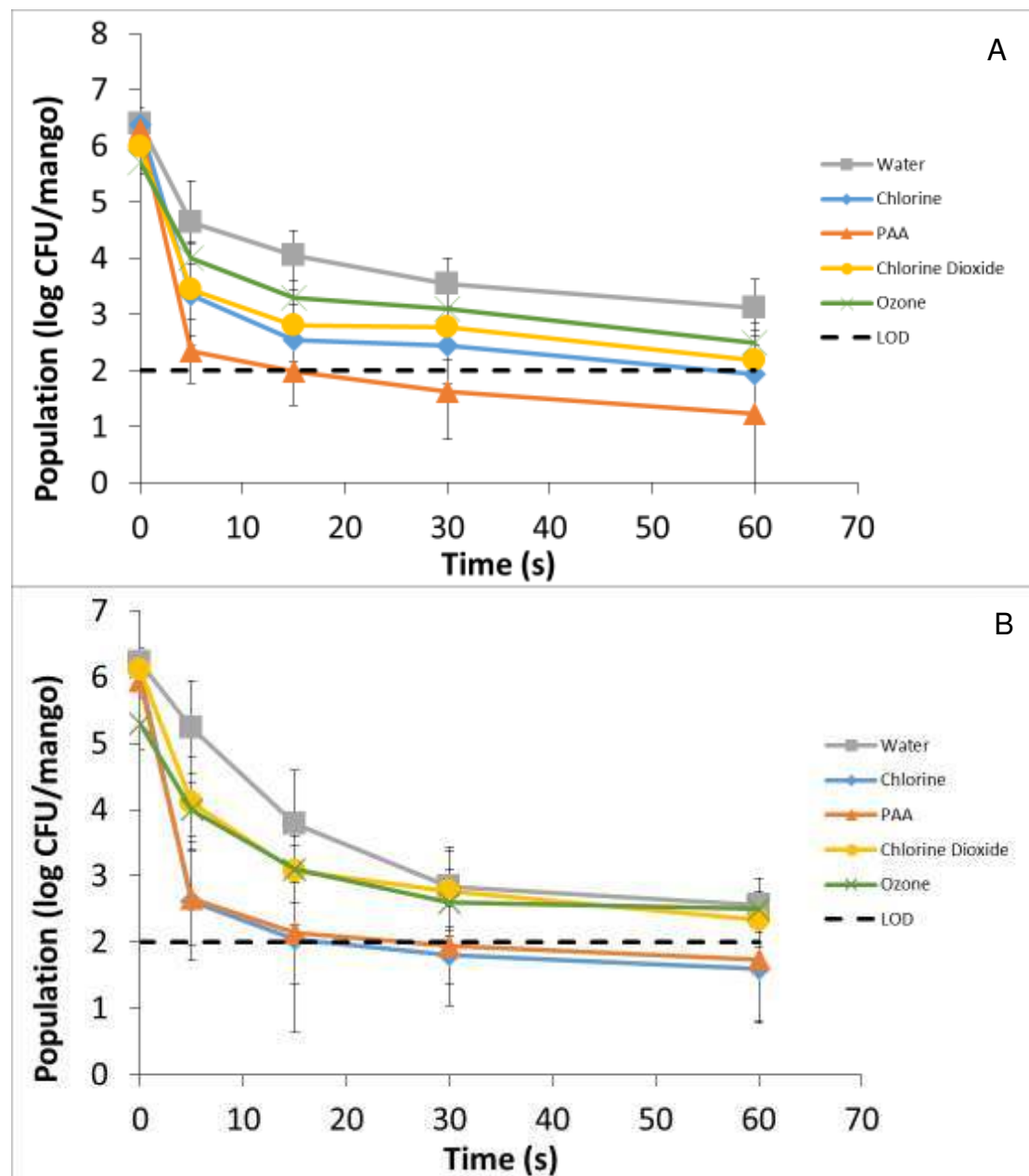


Figura 8. Reducción de un cóctel de Salmonella Cepa 5 en la superficie de mango ‘Tommy Atkins’ tratado por hasta 60 s con 100 ppm cloro libre (pH 6.5), 80 ppm APA, 5 ppm dióxido de cloro, 2 ppm ozono, o agua subterránea en un sistema de lavado con rodillos de cepillo y aspersión con agua desde arriba (A) o un sistema de lavado con rodillos de PVC y aspersión con agua desde arriba (B). Los valores representan el error promedio y estándar de cinco reproducciones con muestras en triplicado (n=15), la curva intermitente representa el límite de la detección (2 log CFU/mango).

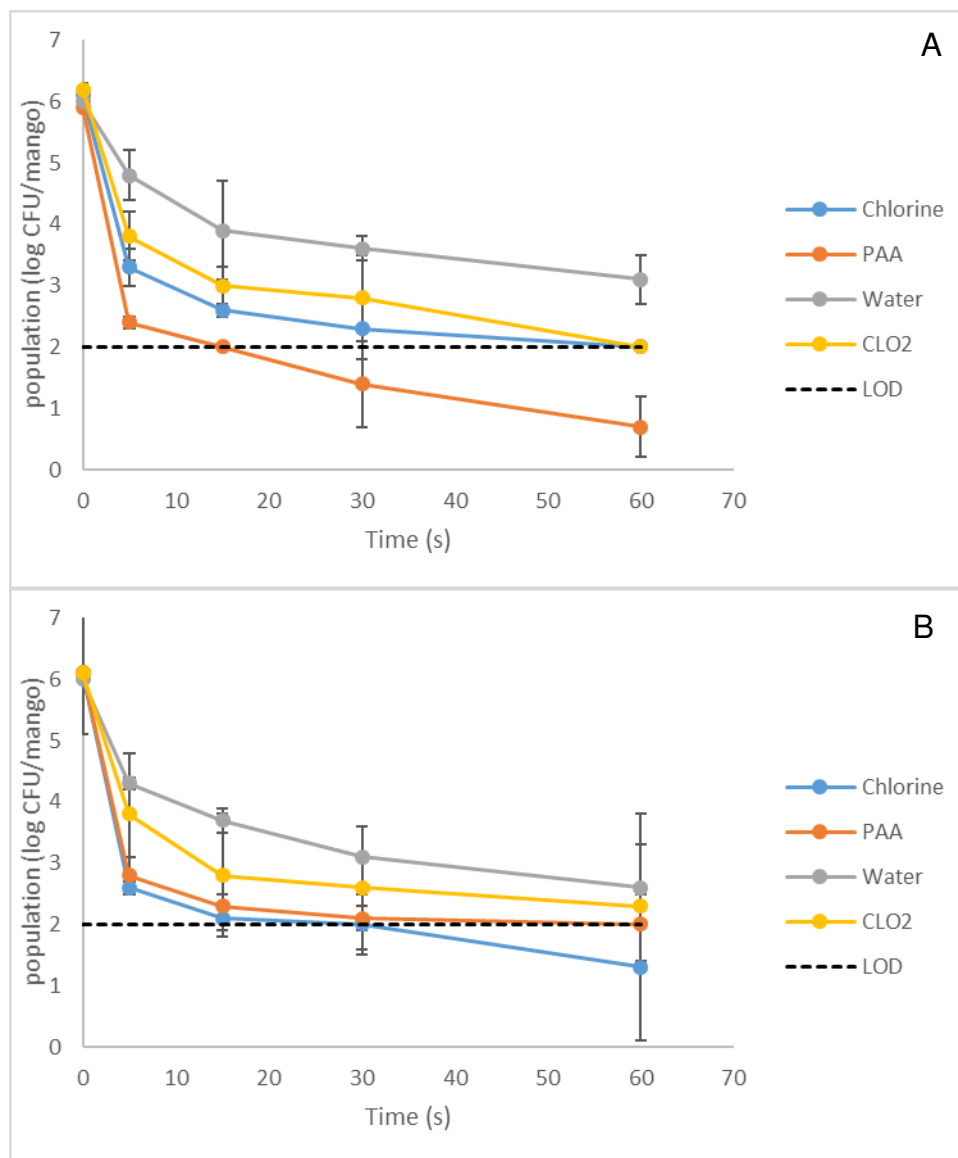


Figura 9. Reducción de un cóctel de *Salmonella cepa* 5 en la superficie de mango 'Tommy Atkins' no sometido al hidrotérmico y tratado por hasta 60 s con 100 ppm cloro libre, 80 ppm APA, 5 ppm dióxido de cloro, o agua subterránea en un sistema de lavado con rodillos de cepillo y aspersión con agua desde arriba (A) o un sistema de lavado con rodillos de PVC y aspersión de agua desde arriba (B). Los valores representan el error promedio y estándar de muestras en triplicado (n=3), la curva intermitente representa el límite de detección (2 log CFU/mango).

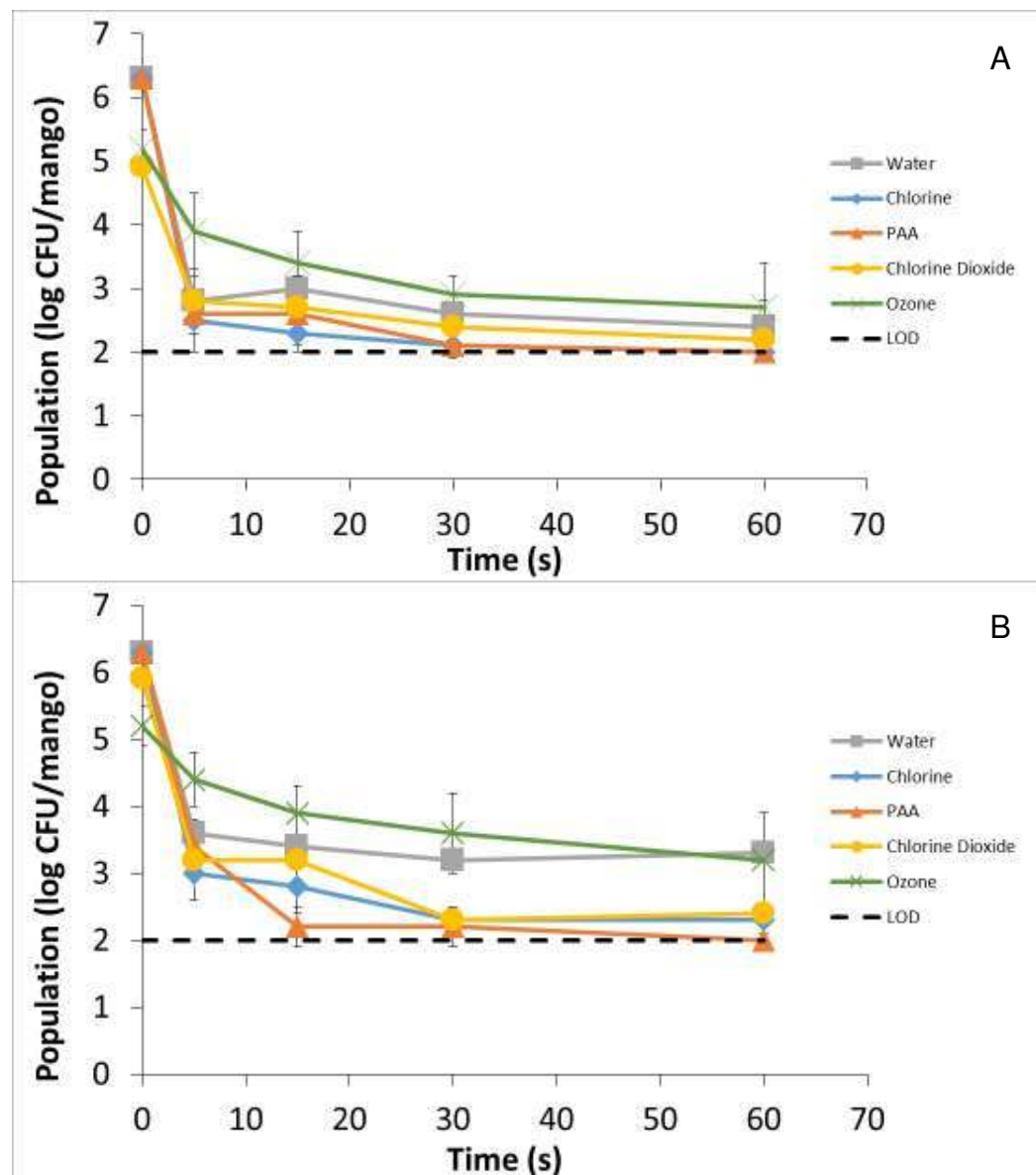


Figura 10. Reducción de un cóctel de *L. monocytogenes* cepa 5 en la superficie de mango 'Tommy Atkins' tratado por hasta 60 s con 100 ppm cloro libre (pH 6.5), 80 ppm APA, 5 ppm dióxido de cloro, 2 ppm ozono, o agua subterránea en un sistema de lavado con rodillos de cepillo y aspersión con agua desde arriba (A) o un sistema de lavado con rodillos de PVC y aspersión de agua desde arriba (B). Los valores representan el error promedio y estándar de 5 reproducciones con muestras en triplicado (n=3), la curva intermitente representa el límite de detección (2 log CFU/mango).

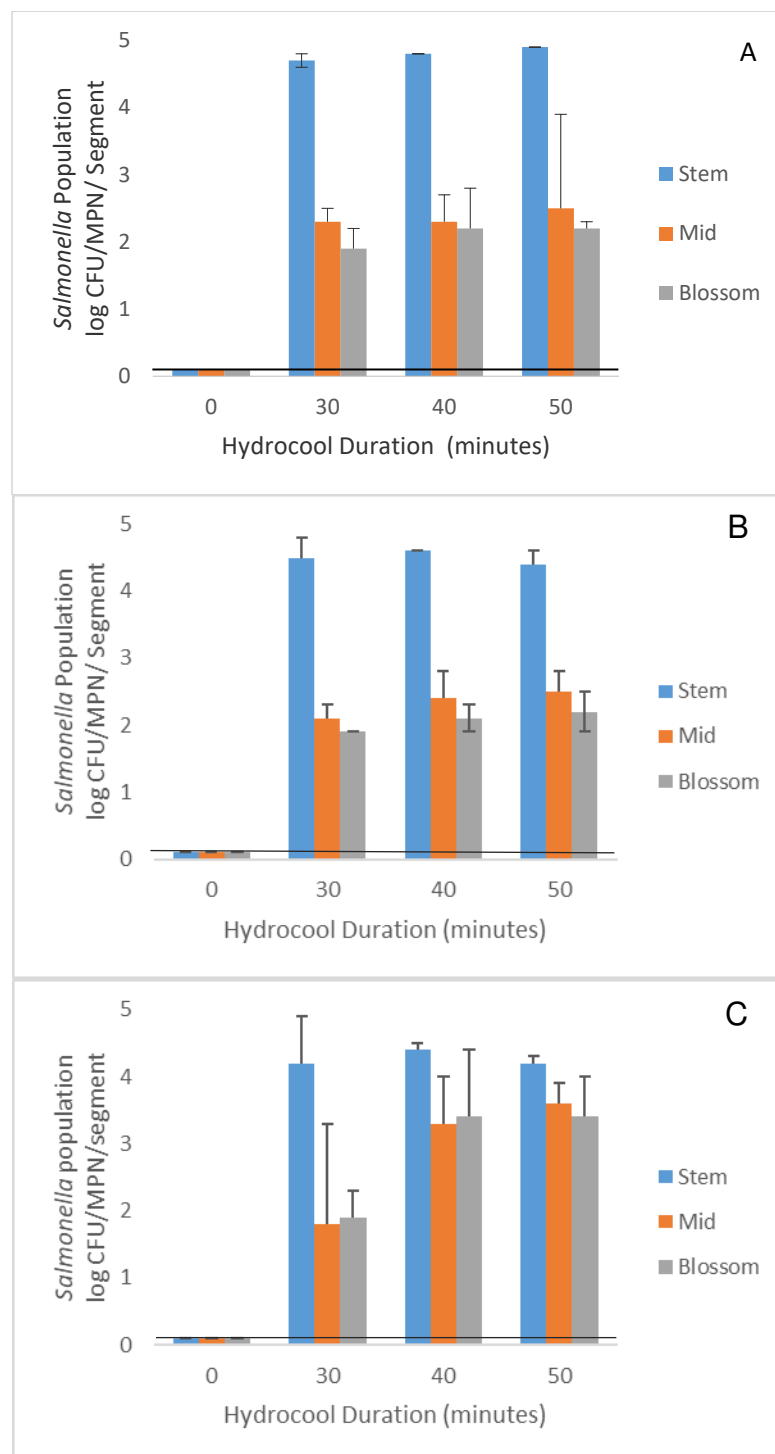


Figura 11. Interiorización de un cóctel de *Salmonella cepa 5* en mango (A) ‘Tommy Atkins’, (B) ‘Kent’, y (C) ‘Ataulfo’ sumergido en agua a 21°C y a una profundidad de 12 cm por hasta 50 min, inmediatamente después del tratamiento hidrotérmico a 46.1°C. Los valores representan el error promedio y estándar de tres muestras (n=3), la curva sólida representa el límite inferior (0.1 log MPN/segmento) de la detección.

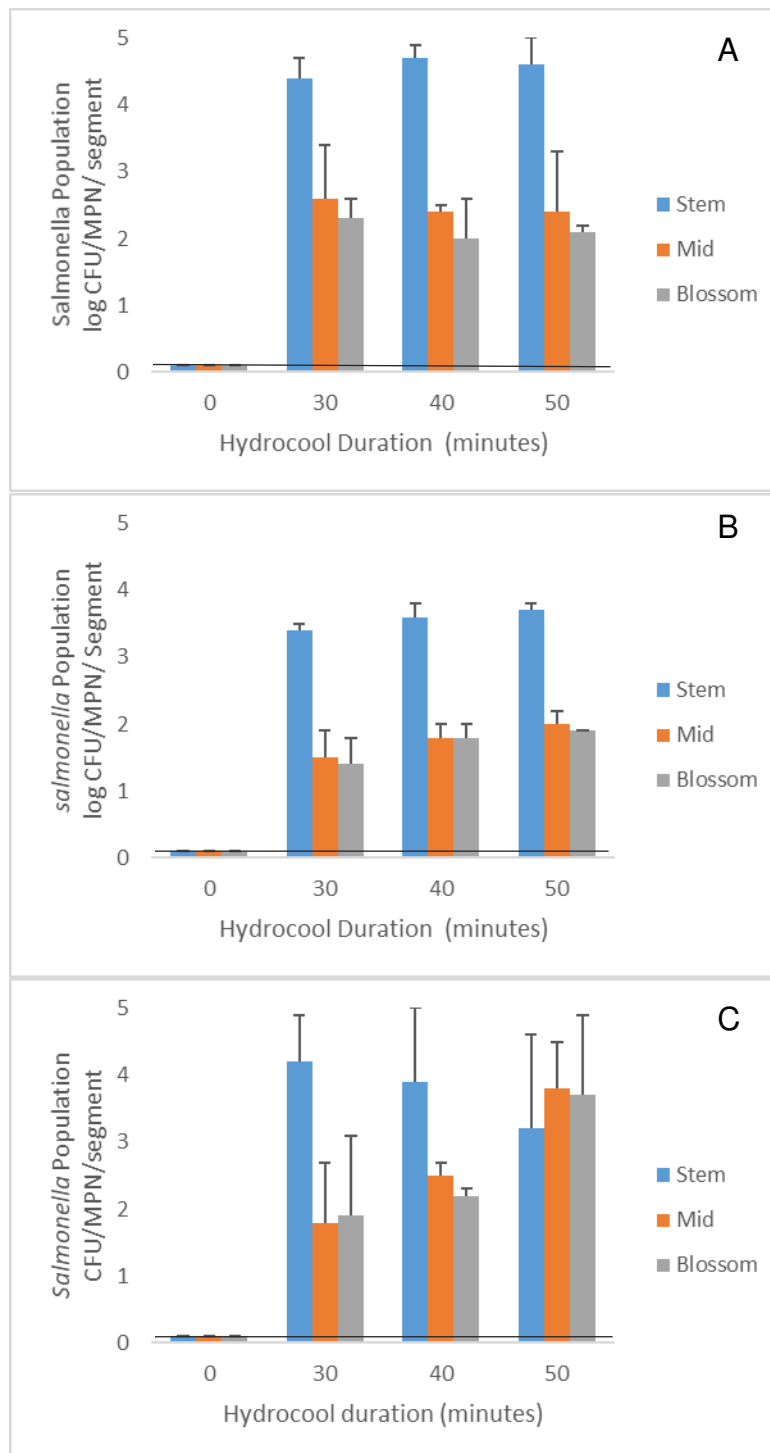


Figura 12. Interiorización de un cóctel de *Salmonella cepa 5* en mango (A) ‘Tommy Atkins’, (B) ‘Kent’, y (C) ‘Ataulfo’. El mango se sometió al tratamiento hidrotérmico a 46.1°C, seguido por un período de reposo de 30 min a temperatura ambiente, y posteriormente se sumergió en agua a 21°C a una profundidad de 12 cm por hasta 50 min. Los valores representan el error promedio y estándar de tres muestras (n=3), la curva sólida representa el límite inferior (0.1 log MPN/segmento) de la detección.

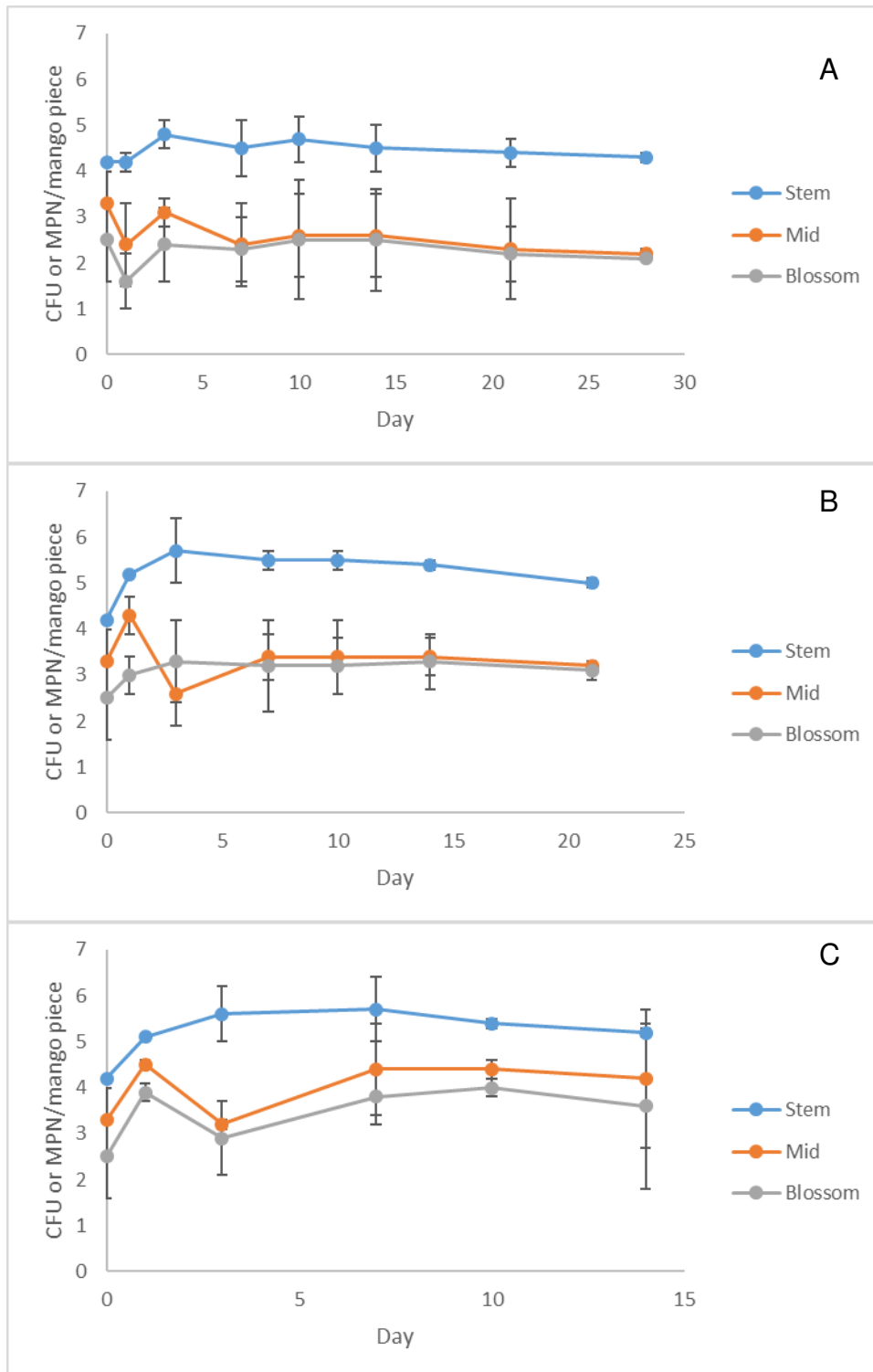


Figura 13. Persistencia de un cóctel de *Salmonella* cepa 5 interiorizada en mango 'Ataulfo' y almacenada a (A) 12°C, (B) 20°C, o (C) 30°C. Los valores representan el error promedio y el error estándar de tres muestras (n=3).

Sugerencias para CPS (opcional)

Ninguna.