

DIRECCION GENERAL DE SERVICIOS GANADEROS
DIVISION INDUSTRIA ANIMAL

MANUAL DE PROCEDIMIENTO DE
***E. Coli* genérica**
EN BOVINOS Y OVINOS

Febrero 2023

	Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
Nombre	Dr. Fernando Gutierrez	Dr. Pablo Nadal	Dr. Diego de Freitas
Firma			
Cargo	Departamento Técnico	División Industria Animal	Dirección General de Servicios Ganaderos
Fecha	13 de febrero de 2023	13 de febrero de 2023	13 de febrero de 2023

INDICE

	Página
Abreviaturas y Siglas.....	4
Definiciones.....	5
1. CONTENIDO.....	6
1.1. Introducción.....	6
1.2. Objetivos.....	6
1.3. Alcance.....	7
1.4. Marco Legal, Referencias Normativas y Doc. Relacionados.....	7
1.5. Responsabilidades.....	8
2. DESCRIPCION DEL PROGRAMA.....	9
2.1. Generalidades.....	9
2.2. Metodología.....	10
2.3. Frecuencia de muestreo.....	10
2.4. Selección de Carcasas.....	11 - 12
3. PROCEDIMIENTO DE MUESTREO.....	13
3.1. Objetivo.....	13
3.2. Tareas preparativas o previas a la toma de muestras.....	13
3.3. METODOLOGIA DE ESPONJADO.....	15 - 20
3.4. METODOLOGIA DE ESCISION.....	21 - 24
3.5. Transporte de las muestras.....	24
3.6. Análisis de las muestras.....	24
4. MANEJO E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS.....	25
4.1. Objetivo.....	25
4.2. Responsable.....	25
4.3. Frecuencia.....	25
4.4. Descripción.....	25
4.5. Interpretación de los Resultados para <i>E. coli</i> genérica por método de Esponjado (Bovinos y ovinos).....	26 - 28
4.6. Interpretación de los Resultados para <i>E. coli</i> genérica por método de Escisión (Bovinos).....	29
4.7. Criterio de Verificación.....	29 - 32
4.8. Acciones en respuesta a la pérdida de control de proceso.....	32
5. CONTROL.....	33
5.1. Verificación diaria por la IVO.....	33
5.2. Verificación semanal por la IVO.....	33

INDICE

	Página
Tabla 1. Método utilizado para muestrear <i>E. coli</i> genérica.....	10
Tabla 2. Frecuencia de muestreo y área para cada especie.....	10
Tabla 3. Listado de Materiales para el muestreo de <i>E. coli</i> genérica por esponjado.....	15
Tabla 4. Listado de Materiales para el muestreo de <i>E. coli</i> genérica por escisión.....	21
Tabla 5. Valores para Resultados de <i>E. coli</i> genérica por escisión.....	29
Tabla 6. Registro de Resultados de <i>E. coli</i> genérica en Carcasas.....	30 - 31
Gráfico 1. Resultados ploteados de <i>E. coli</i> genérica.....	28
Gráfico 2. Resultados de <i>E. coli</i> genérica ploteados con ventana móvil.....	31
Gráfico 3. Resultados de <i>E. coli</i> genérica ploteados con ventana móvil.....	32
Anexo 1. Áreas de muestreo para <i>E. coli</i> genérica en carcasas bovinas.....	34
Anexo 2. Áreas de muestreo para <i>E. coli</i> genérica en carcasas ovinas.....	35
Anexo 3. Colocación de guantes estériles.....	36 - 38
Anexo 4. Metodología para el correcto esponjado.....	39
a. Método I	39
b. Método II	40 - 41
Anexo 5. Identificación, transporte y envío de muestras a laboratorios designados.....	42 - 43
Anexo 6. Planilla de verificación de procedimiento de muestreo.....	44
Anexo 7. Formulario de Control de <i>E. coli</i> genérica Criterio de Verificación de Procesos.....	45

Abreviaturas

AOAC	Asociación Oficial de Análisis Químicos (Asociación Oficial Análisis Chemists)
BDP	Solución Butterfields Fosfato estéril (Butterfields Diluent Phosphate)
CFR	Código de Regulaciones Federales
CVP	Criterio de Verificación de Proceso (Rendimiento o Performance)
CFIA	Agencia Canadiense de Inspección de Alimento (Canadian Food Inspection Agency)
DGSG	Dirección General de Servicios Ganaderos
DIA	División Industria Animal
DEF	Departamento Establecimientos de Faena
DT	Departamento Técnico
DILAVE	División Laboratorios Veterinarios
EFSA	Autoridad Europea de Inocuidad Alimentaria (European Food Safety Authority)
EH	Establecimiento Habilitado
FSIS	Servicio de Inocuidad e Inspección de Alimentos (Food Safety and Inspection Service)
HACCP	Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (Hazard Analysis and Critical Control Point)
IVO	Inspección Veterinaria Oficial
MGAP	Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca
SPC	Control estadístico de proceso (Statistical Control of Process)
SOP	Procedimientos operativos estándar (Standard Operating Procedures)
SSOP	Procedimientos operativos estandarizados de Sanitización (Sanitation Standard Operating Procedures)
UFC/cm ²	Unidades Formadoras de Colonias por cm ²
UHL	Unidad de Habilitación de Laboratorios
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos

Definiciones

Acción Correctiva: Procedimientos que se deben llevar a cabo cuando ha fallado la implementación o mantenimiento de los SOP, SSOP o Plan HACCP, restableciendo las condiciones sanitarias y evaluando las causas del problema encontrado y previniendo que vuelva a ocurrir la contaminación.

Medidas Preventiva: Es una herramienta usada para controlar un peligro potencial identificado. Las medidas preventivas eliminan o reducen el peligro hasta un nivel aceptable.

Plantilla: Marco rígido con un área interna conocida descubierta, la misma puede ser de metal, papel grueso, plástico flexible, etc. Algunas plantillas desechables vienen esterilizadas y empacadas individualmente. Las dimensiones se especifican según la especie y en ella se realizan los métodos de muestra que están definidos en el presente manual.

Control de Procesos: Se define como todas las actividades que aseguran un proceso de producción estable y que opere de manera consistente en el nivel de rendimiento establecido, permitiendo la normal variación. Los establecimientos deben desarrollar, implementar y mantener procedimientos escritos para prevenir la contaminación microbiológica de las carcasas.

Control Estadístico de Proceso (SPC Statistical Process Control): Es la aplicación de técnicas estadísticas para determinar si el resultado de un proceso concuerda con las especificaciones de un producto. Esta metodología permite establecer criterios para medir, detectar y corregir variaciones en el proceso que puedan afectar la calidad del producto o servicio final.

Verificación: Aplicación de método, procedimiento, ensayos y otras evaluaciones además del monitoreo, para constatar el cumplimiento del sistema de Aseguramiento de calidad.

1. CONTENIDO

1.1. Introducción

El comercio internacional de carne y productos cárnicos ha incrementado su exigencia aprobando nueva normativa sanitaria a cumplir por los mercados exportadores. En ese sentido, este programa ha sido diseñado para alcanzar la equivalencia de la normativa nacional con las medidas sanitarias sancionadas por los mercados compradores, y del mismo modo, disminuir los riesgos para la salud y el impacto económico de los patógenos transmitidos por los alimentos en la carne y productos cárnicos para el mercado interno.

La certificación sanitaria de exportación requiere que todos los establecimientos habilitados para la exportación de carne y productos cárnicos, cumplan con la normativa nacional y a su vez satisfagan los requisitos del país importador.

La Dirección General de Servicios Ganaderos (DGSG) a través de la División Industria Animal (DIA) **verifica** el cumplimiento de la normativa nacional y de los requisitos sanitarios del mercado comprador y certifica que el o los productos de establecimientos de faena habilitados (EH) para la exportación se elaboran de acuerdo a estos requisitos. El sistema de certificación tiene claras definiciones con respecto al rol, así también como las responsabilidades de cada uno de los actores que participan en él.

En el sistema se pueden distinguir varios procesos, cada uno con diferentes etapas y requiere que todos los establecimientos de faena, realicen muestreos y análisis del microorganismo indicador ***Escherichia coli* Biotipo I** (*E. coli genérica*) para verificar la higiene de sus procesos.

1.2. Objetivos

Establecer procedimientos que permitan cumplir con los requisitos de muestreo y manejo de resultados del control de *E. coli genérica* en Carcasas bovinas y ovinas.

Verificar el plan de monitoreo de *E. coli genérica* del establecimiento, como agente indicador de la calidad higiénica en carcasas bovinas y ovinas faenadas en los EH.

Evaluar el comportamiento de las medidas higiénicas que ha adoptado la planta y el desempeño del sistema de aseguramiento de calidad (HACCP).

1.3. Alcance

El alcance del presente Manual de Procedimientos comprenderá a la IVO dependientes del Departamento de Establecimiento de Faena (DEF) de la DIA y a los EH.

1.4. Marco Legal, Referencias Normativas Internacionales y Documentos Relacionados

Marco Legal

Ley N°3.606 de 13 de abril de 1910: Ley de Policía Sanitaria

Artículo 144 de la Ley 13.835 de 7 de enero de 1970 en la redacción dada por el artículo 134 Ley N° 18.996 de 7 de noviembre de 2012.

Artículo 285 de la Ley N°16.736 de 5 de enero de 1996 en la redacción dada por el artículo 87 de la Ley N° 19.355 de 19 de diciembre de 2015.

Artículo 131 de la Ley N° 18.996 de fecha 7 de noviembre de 2012 en la redacción dada por el artículo 133 de la Ley N°19.670 de fecha 15 de octubre de 2018

Decreto N° 369/983 del 7 de octubre de 1983: Reglamento Oficial de Inspección Veterinaria de Productos de Origen Animal.

Decreto N° 199/013 de 7 de julio de 2013, en la redacción dada por el artículo 1 del Decreto N° 265/022 de 23 de agosto de 2022. 23/08/2022

Referencias Normativas Internacionales y documentos relacionados

Electronic Code of Federal Regulations (e-CFR) 9 CFR § 310.25 – POST-MORTEM INSPECTION. Contamination with microorganisms; process control verification criteria and testing; pathogen reduction standards.

Canadian Food Inspection Agency (CFIA). Export requirements for meat and poultry products. Annex T: Testing for *Escherichia coli* (*E. coli*) in Slaughter Establishments.

Guidelines for *Escherichia coli* Testing for Process Control Verification in Cattle and Swine Slaughter Establishments. USDA FSIS-GD-1996-0001.

Directive FSIS 5000.1 Verifying an Establishment's Food Safety System

FSIS Policies and guidance on statistical process control procedures in slaughter operations. John G, Surak PhD. December 2007.

1.5. Responsabilidades

División Industria Animal. El programa es responsabilidad de la DIA y se implementa a través de los Departamentos Técnico (DT) y Departamento de Establecimientos de Faena (DEF).

Inspección Veterinaria Oficial. La IVO es responsable de la interpretación de los resultados y su manejo posterior, así como de la verificación en la correcta toma y envío de muestras al laboratorio por parte del EH.

Establecimiento habilitado. El EH debe de proveer los materiales y equipamientos necesarios para la toma de muestras.

Es responsabilidad del EH decidir y detallar en sus procedimientos la técnica a utilizar para el análisis de *E. coli* genérica e informar ante un cambio en la misma. Asimismo, es responsable de la toma de muestra y suministro de los datos según las disposiciones de este documento.

Es responsabilidad del EH el envío de todas las muestras comprendidas dentro del programa para análisis en un laboratorio.

Laboratorios de Análisis. El análisis de *E. coli* genérica se lleva a cabo en Laboratorios privados habilitados a tal efecto, por la Unidad de Habilitación de Laboratorios (UHL) de la División Laboratorios Veterinarios (DILAVE) del MGAP.

2. PROGRAMA *E. coli* genérica (biotipo I)

2.1 Generalidades

Para el Programa de verificación de procesos, se ha elegido como **microorganismo indicador** *Escherichia coli* Biotipo 1 (*E. coli* genérica), debido a que el hábitat natural de este microorganismo es el intestino de los animales vertebrados, además es fácil de analizar, resultando en **un buen indicador del control del proceso**.

Los criterios microbiológicos que incluyen *E. coli* genérica son de utilidad en casos en que se desea determinar contaminación fecal, ya que en caso de contaminación del alimento por este microorganismo implica el riesgo de que puedan encontrarse patógenos entéricos en el mismo, y su consecuente riesgo para la salud humana.

A pesar que la ausencia de *E. coli* genérica no asegura la ausencia de patógenos entéricos, es un excelente indicador de contaminación de las carcasas con materia fecal animal durante la faena.

Debido a que los requisitos de *E. coli* genérica se diseñan en torno a los **Criterios de verificación del rendimiento** (CVP), que a menudo son específicos del establecimiento, por lo cual un mismo resultado de prueba puede llevar a conclusiones diferente en dos establecimientos que adoptan criterios diferentes.

La verificación de la *E. coli* genérica se realiza de forma continua, la falla en el cumplimiento del criterio es una deficiencia solo cuando el establecimiento no puede volver a poner su proceso "**bajo control**" con éxito.

El requisito de *E. coli* genérica (biotipo I) está destinado a lograr la implementación en los establecimientos de **Controles Estadísticos de Procesos** (SPC), basados en pruebas microbiológicas.

2.2 Metodología

Las metodologías de muestreo indicadas por el Departamento Técnico (DT) para tomar muestras de *E. coli* genérica, cubiertas por el alcance de este manual, se describen en la Tabla 1, donde se proporciona una referencia fácil de los métodos de muestreo permitido para cada especie.

Tabla 1. Método utilizado para muestrear *E coli* genérica.

Metodología	Definición	Especies
Escisión	Consiste en cortar asépticamente una sección de superficie de la carcasa. Es un método destructivo de muestreo	Bovinos
Espojado	Consiste en frotar asépticamente la superficie de la carcasa con una esponja estéril. Es un método no-destructivo de muestreo.	Bovinos Ovinos

Las muestras deben tomarse de sitios específicos de las carcasas, que serán especificados en el punto 3.3 y 3.4 de acuerdo a la técnica utilizada.

2.3 Frecuencia de Muestreo

Los establecimientos de faena, deben tomar muestras **diariamente**, siendo el número de muestras a tomar cada día en base al volumen de faena para cada especie, según la siguiente tabla.

Tabla 2. Frecuencia de muestreo y área para cada especie.

Especie	Frecuencia de muestreo ^a	Área de Muestreo
Bovinos	Una muestra cada 300 carcasas faenadas	300 cm ²
Ovinos	Una muestra cada 300 carcasas faenadas.	150 cm ²

^a Los establecimientos deben recolectar como mínimo una muestra por día para el análisis de *E coli* genérica

Si no se alcanza en la faena el número establecido se tomará una muestra y si se sobrepasara en 1 carcasa la frecuencia establecida, se tomará el número inmediatamente superior. Ej. Entre 0 y 300 carcasas se toma 1 muestra, entre 301 y 600 carcasas se toman 2, entre 601 y 900 carcasas se toman 3 y así sucesivamente.

En caso de establecimientos de muy bajo volumen de faena deberá tomarse como mínimo una muestra por cada semana de operación.

2.4 Selección de Carcasas

Se pueden usar diferentes métodos para seleccionar las carcasas, pero todos requieren el uso de números al **azar** generados por calculadoras o computadoras, planillas electrónicas, tarjetas, etc.

Las unidades a muestrear se seleccionan al azar entre todas las carcasas elegibles. Si existen varias líneas de producción, se **selecciona al azar** la línea de producción para la recolección de muestras de ese intervalo, repitiendo el proceso de **selección al azar** para el próximo intervalo. Cada línea debe tener la misma oportunidad de ser seleccionada en cada intervalo de muestreo.

Las medias reses para el caso de bovinos, o carcasas para el caso de ovinos elegibles para muestreo deberán seleccionarse en la cámara entre aquellas que tengan doce (12) o más horas de faenadas. Tanto la primera media res como la segunda correspondiente a cada animal deben tener la misma oportunidad de ser seleccionadas. Si hay más de un turno, la muestra puede ser tomada en cualquier turno, siempre que se cumplan los siguientes requisitos:

- Selección del **MOMENTO**: determinar el momento en que estén disponibles carcasas con 12 o más horas de enfriadas.
- Selección del **LUGAR DE LA CAMARA**: elegir un lugar seguro y accesible de la cámara para seleccionar las carcasas al azar. Este lugar puede estar ubicado en la cadena de transferencia, o en un riel que contenga carcasas con 12 o más horas de enfriadas. Si hay muchos lugares de este tipo, elegir uno al azar.
- Selección de la **UNIDAD A SER MUESTREADA**:
 - **MEDIA RES BOVINA**: en el momento elegido, identificar la media res (seleccionada por un método al azar) en el punto predeterminado del riel (lugar de la cámara) y luego contar cinco (5) medias reses hacia atrás, comenzando en la media res derecha si el número sorteado es par, o en la media res izquierda si el número sorteado es impar, y seleccionar la próxima para muestrear. La razón para este procedimiento es evitar cualquier sesgo durante la selección.

- **CARCASA OVINA:** en el momento elegido, identificar un riel de la cámara (seleccionado por un método al azar) y posteriormente identificar el elemento de sujeción de las carcasas “farol” (seleccionado también por un método al azar, a efectos de dicha selección los “faroles” del riel serán numerados de menor a mayor comenzando desde la puerta de ingreso a la cámara. En el punto predeterminado del riel (lugar de la cámara), seleccionar una carcasa del “farol” (seleccionado por un método al azar) y proceda a muestrearla de acuerdo a si el número de “farol” sorteado es par, la muestra se tomará en la superficie derecha de la carcasa, y si el número sorteado es impar la muestra se tomará en la superficie izquierda de la carcasa. La razón para este procedimiento es evitar cualquier sesgo durante la selección.

3. PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

3.1. Objetivo

Tomar y acondicionar las muestras para el transporte al laboratorio para realizar el análisis de *E. coli* genérica e incluye el cumplimiento de tareas previas por parte del funcionario responsable, tales como selección de carcasas e inventario de materiales.

3.2. Tareas preparativas o previas a la toma de muestras

La toma de la muestra la realizará la persona designada en los procedimientos escritos del EH para el muestreo microbiológico

La persona responsable de realizar el muestreo debe:

- a) Tener conocimiento de los procedimientos de muestreo microbiológico para la verificación a realizar
- b) Revisar toda información que pueda ayudar en este proceso.

Es muy importante utilizar equipos desinfectados y suministros esterilizados. Si no se aplican técnicas asépticas de muestreo, pueden obtenerse resultados analíticos erróneos debido a microorganismos extraños del ambiente, manos, ropas, contenedores de muestras, dispositivos de muestreo, etc.

Área de trabajo. Debe asignar un área adecuada para preparar y manipular los suministros para el muestreo. Una mesa o carro de acero inoxidable resulta muy útil para realizar el muestreo, ya que puede trasladarse al lugar del muestreo para llevar suministros, cargar las bolsas de muestras, las soluciones estériles, etc.

Se debe desinfectar la superficie del área de trabajo con papel toalla mojado en una solución recién preparada de 500 ppm (partes por millón) de hipoclorito de sodio (0.05% hipoclorito de sodio) u otro desinfectante que provea una concentración de cloro equivalente.

La superficie del área de trabajo debe estar libre de líquido antes de apoyar los implementos para el muestreo y/o los envases de productos. La solución de hipoclorito debe ser preparada al momento de utilizarla, debido a que con el tiempo va perdiendo efectividad.

Día previo al muestreo. En el caso de muestreo por método de esponjado, se debe colocar en el refrigerador la cantidad necesaria de recipientes con Solución Butterfields Fosfato estéril (BDP). Se verifica la calidad la solución, revisando que este con las condiciones de esterilidad exigidas (no debe contener material particulado en suspensión o turbidez, y debe de estar dentro del periodo de vigencia al momento de utilizarse). Si se encuentran materiales o insumos en condiciones defectuosas, deben ser identificados (rotulados) con la palabra **“ELIMINAR”** y proceder a su disposición final.

Día del muestreo. Antes de empezar la recolección de las muestras, es conveniente tener disponibles todos los elementos necesarios para el muestreo, tales como bolsas de recolección, guantes estériles, jabón de mano, soluciones estériles (ver punto 3.3 *Inventario de Materiales*).

Para tomar las muestras se deben utilizar guantes estériles. Los únicos objetos que pueden tener contacto con la superficie externa de los guantes son las muestras que están siendo recogidas y/o la esponja estéril para tomar la muestra.

Antes de empezar el proceso de muestreo, se identifican las bolsas, usando un marcador permanente (tinta indeleble). Si se usan etiquetas de papel, es importante que las mismas sean aplicadas a las bolsas a temperatura ambiente, pues no se pegarán si se aplican en la cámara.

Quítese las ropas (túnicas, guantes, cofias, etc.) utilizadas en otras áreas de la planta antes de entrar al área de muestreo o de preparación para recolección de muestras. Replácelas por prendas limpias (por ejemplo, túnica de laboratorio) que no hayan estado expuestas en áreas de la planta fuera del área de muestreo.

Antes del muestreo lávese y cepílese las manos hasta el antebrazo y enjuáguese con abundante agua. Use jabón antibacteriano para las manos, y si es posible use un desinfectante con 50 ppm de cloro o un equivalente. Séquese las manos utilizando toallas de papel desechables.

Para obtener resultados precisos, las muestras deben ser analizadas lo más pronto posible luego de la toma. Si las muestras deben ser enviadas a un laboratorio fuera de la planta, se enfrían los contenedores para el envío y se congelan los packs de geles enfriadores. Las muestras se acondicionan para su envío de acuerdo al Anexo 5 del presente procedimiento.

Nota: Los guantes deben colocarse de acuerdo al Anexo 3. del presente procedimiento.

3.3. METODOLOGIA DE ESPONJADO

Inventario de Materiales.

Los suministros para tomar las muestras, así como los materiales específicos necesarios para el muestreo *E coli genérica* de acuerdo a la técnica de esponjado deben estar disponibles antes de empezar la recolección de las muestras. El listado de materiales se describe en la tabla a continuación.

Tabla 3. Listado de Materiales para el muestreo de E coli genérica por esponjado.

Técnica Esponjado (No destructiva)	
Material	Descripción
Esonja en bolsa esterilizada.	Whirl pack o equivalente (aproximadamente 3,75cm X 7,5cm X 1,5cm después de la hidratación)
Solución estéril de muestreo	Diluyente fosfatado Buterfield`s (BPD) envasada de a 25 ml.
Bolsa esterilizada de tipo con cierre	Ziplock o bolsa "Stomacher"
Plantillas con 100cm ² de superficie para Muestreo en bovinos	Puede ser de metal, papel grueso, plástico flexible, etc. Algunas plantillas desechables vienen esterilizadas y empacadas individualmente. El tamaño del área de la plantilla es de 10 cm X 10 cm (área total 100 cm ²). Si se utiliza una plantilla reciclable, es necesario que se esterilice con una solución aprobada (por ejemplo, una solución de hipoclorito o alcohol). La plantilla debe estar seca antes de apoyarla sobre la carcasa, cuidando de no tocar esta área con ninguna otra cosa que no sea la esponja de muestreo.
Plantillas con 50cm ² de superficie para Muestreo en ovinos.	Puede ser de metal, papel grueso, plástico flexible, etc. Algunas plantillas desechables vienen esterilizadas y empacadas individualmente. El tamaño de la plantilla es de 5cm X 10cm, es decir, tiene un área total de 50cm ² . Si se utiliza una plantilla reciclable, es necesario que se esterilice con una solución aprobada (por ejemplo, una solución de hipoclorito o alcohol). La plantilla debe estar seca antes de apoyarla sobre la carcasa, cuidando de no tocar esta área con ninguna otra cosa que no sea la esponja de muestreo.
Guantes estériles.	Deben colocarse de acuerdo al Anexo 3 del presente Manual
Solución desinfectante.	Hipoclorito de sodio (0.05% hipoclorito de sodio) u otro desinfectante aprobado que provea una concentración de cloro equivalente.
Carro o mesa para llevar los implementos	

Recolección de la muestra por la técnica de esponjado

Paso 1.

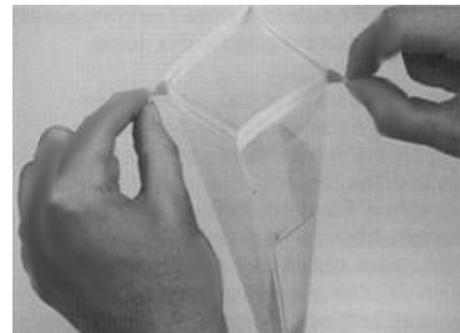
Asegúrese que todos los elementos necesarios estén disponibles (un ayudante será de utilidad durante el proceso de muestreo). Recuerde que en caso de Bovinos usar plantilla de 100 cm² (10 cm X 10 cm) y en Ovinos usar plantilla de 50 cm² (5 cm X 10 cm).

Se utilizará una esponja de muestreo (que generalmente viene deshidratada empackada en bolsa esterilizada) para muestrear las tres sitios de la carcasa.



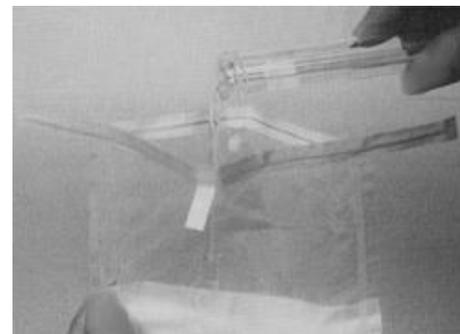
Paso 2.

Se sostiene la bolsa con la esponja por la esquina superior del cierre de alambre y se procede a la apertura por la zona perforada de la parte superior.



Paso 3.

Se saca la tapa del frasco de la solución de muestreo (BPD) con cuidado de no tocar el pico del mismo. Vierta cerca de la mitad del contenido del frasco (aproximadamente 10 ml) en la bolsa con la esponja, a fin de humedecerla, e inmediatamente cierre la bolsa presionando los alambres juntos.



Paso 4.

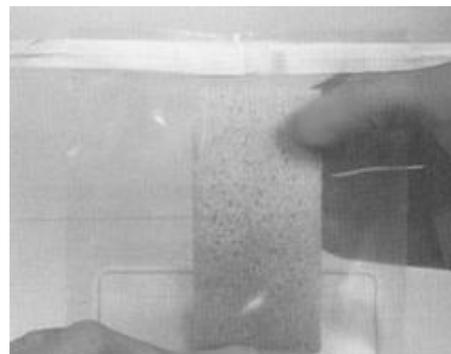
Se masajea cuidadosamente la bolsa hasta que la esponja está TOTALMENTE HIDRATADA.



Paso 5.

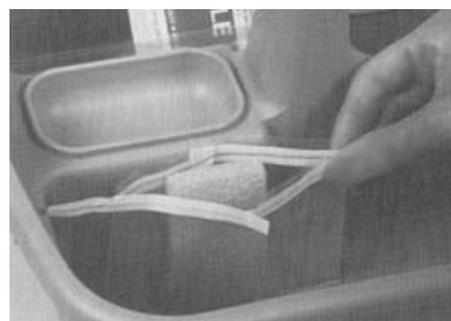
Con la bolsa todavía cerrada, se empuja con cuidado la esponja hacia la parte superior, orientando una punta de la esponja hacia la abertura de la bolsa.

NO SE ABRE la bolsa o se toca la esponja con los dedos. Mientras se sostiene la bolsa, se exprime la esponja suavemente para escurrir el exceso de líquido. Toda la esponja debe estar dentro de la bolsa.



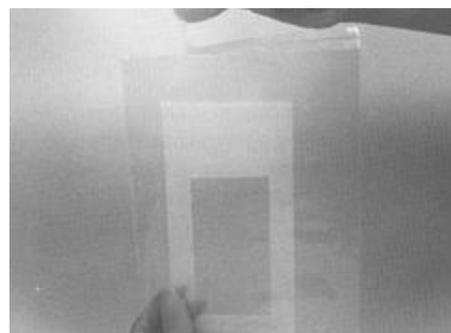
Paso 6.

Abra la bolsa conteniendo la esponja, con cuidado de no tocar la superficie interior de la misma. El alambre del cierre mantiene la bolsa abierta. Se coloca la bolsa a un lado.



Paso 7.

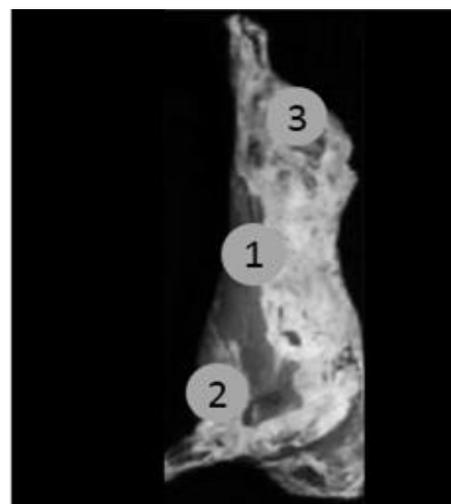
Si se usa una plantilla para muestreo reutilizable, se debe sumergir en una solución desinfectante aprobada durante 1-2 minutos. Un momento antes de tomar la muestra en el primer sitio de muestreo se retira la plantilla de la solución desinfectante. Se elimina el exceso de solución y se protege la parte de la plantilla que tomará contacto con la carcasa.



Paso 8.

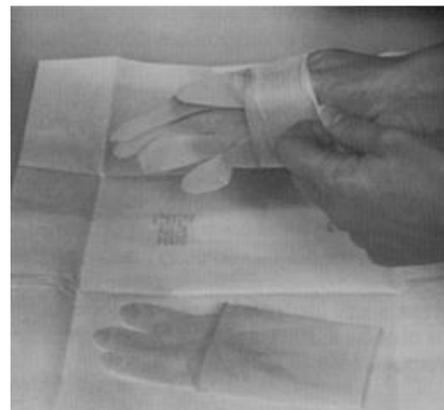
Se ubican los sitios a muestrear primero: **Flanco** (Vacío o Matambre - Musc Oblicuo externo) segundo: **Pecho** (Musc Pectorales) y Tercero: **Grupa** (Peceto-Musc Semitendinoso).

Es importante pasar la esponja (esponjar) **yendo de las áreas de menor a mayor contaminación** para evitar la propagación de cualquier contaminación. Por lo tanto, se deben esponjar las áreas en la secuencia indicada en este instructivo. Ver Anexo 1



Paso 9.

Colóquese los guantes estériles. Ver Anexo 3.



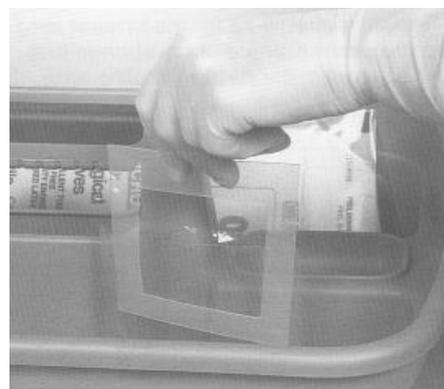
Paso 10.

Retire cuidadosamente la esponja humedecida de la bolsa sosteniéndola con el pulgar y los dedos índice y medio de la mano que va a tomar la muestra.



Paso 11.

Con la otra mano tome la plantilla por el borde exterior, con cuidado de no contaminar los bordes interiores del área de muestreo.



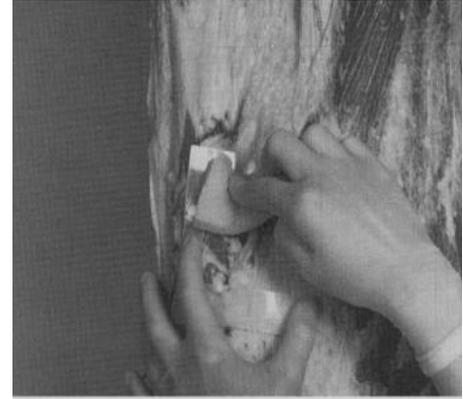
Paso 12.

Ubique el punto de muestreo en el **Flanco** y coloque la plantilla sobre el mismo. Se mantiene la plantilla en su lugar con una mano (recordar que sólo la esponja debe tocar el área a muestrear).



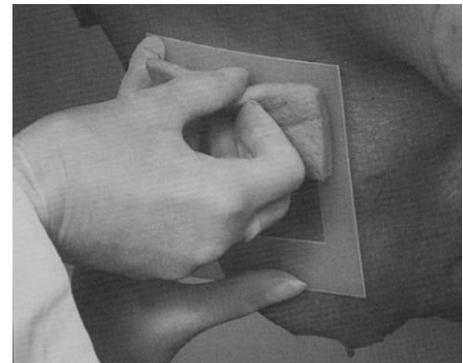
Paso 13.

Con la otra mano, se pasa la esponja sobre el área delimitada de acuerdo a los dos métodos de esponjado Ver Anexo 4. La presión de la esponja debe ser como si estuviera removiendo sangre seca de la carcasa. No obstante, la presión no debe ser demasiado fuerte como para quebrar o destruir la esponja. (Nota: si la plantilla es rígida puede ser necesario moverla hacia los lados para adaptarla a la curvatura de la carcasa, a fin de asegurar que se incluyan la totalidad del área delimitada)



Paso 14.

Luego de muestrear el Flanco, transfiera la plantilla a la misma mano que tiene la esponja. No contamine los bordes internos del área de muestreo de la plantilla. Se repiten los pasos 12-13 para el área del **Pecho**, usando el MISMO lado o superficie de la esponja usada para el área del flanco



Paso 15.

Suba a la escalera o plataforma. Si necesita agarrarse, hágalo con la mano **NO** utilizada para pasar la esponja. Cuando se encuentre a una altura conveniente para muestrear la grupa, transfiera la plantilla de vuelta a la mano con que se agarró para subir, con cuidado para no contaminar los bordes internos del área de muestreo de la plantilla. Evite contaminar su mano “de muestreo”.

Se repiten los pasos 12-13 para el área de la **Grupa**. Debe recordar de frotar con el lado opuesto de la esponja o sea el lado que no fue usado previamente



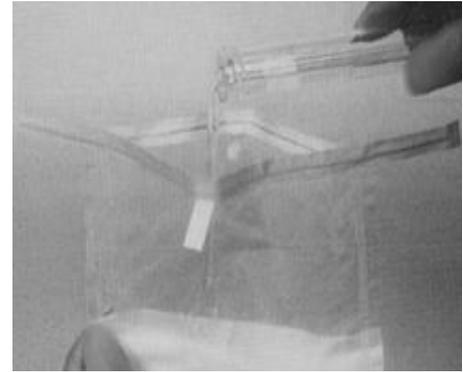
Paso 16.

Después de terminar con el área de la **Grupa**, se coloca la esponja en la bolsa, teniendo cuidado de no tocar la parte exterior de la misma.



Paso 17.

Se agrega el resto de la Solución de muestreo (BPD) adicional (cerca de 15 ml) a la bolsa para llevarla a un volumen total de aproximadamente 25 ml para el análisis de *E coli* genérica.



Paso 18.

Se quita el exceso de aire de la bolsa con la esponja. Se dobla hacia abajo 3 o 4 veces la parte superior de la bolsa para cerrarla. Se asegura el cierre atando el alambre contra la bolsa. Se coloca la bolsa cerrada con la esponja dentro de la segunda bolsa y se cierra.



3.4. METODOLOGIA DE ESCISION

Inventario de Materiales.

Los suministros para tomar las muestras, así como los materiales específicos necesarios para el muestreo *E. coli* genérica de acuerdo a la técnica de escisión deben estar disponibles antes de empezar la recolección de las muestras. El listado de materiales se describe en la tabla a continuación.

Tabla 4. Listado de Materiales para el muestreo de *E coli* genérica por escisión

Técnica de Escisión (destruccion)

Material	Descripción
3 bolsas esterilizadas de tipo con cierre "Ziplock"	Bolsa "Stomacher" o "Whirlpack". Etiquetada con la zona a muestrear (Flanco, Pecho y Grupa)
Cuchillo	Limpio y sanitizado. Previamente medir el largo de la hoja, para estimar la medida del corte.
Pinzas (diente de ratón)	Limpio y sanitizado
Guantes estériles.	
Recipiente limpio	Volumen de 3,8 lts o mas
Solución desinfectante.	Prepare la solución desinfectante hipoclorito a una concentración de 1000-2000 ppm que es lo suficientemente fuerte como para desinfectar adecuadamente (incluso en presencia de algo de materia orgánica).
Carro o mesa para llevar los implementos	

Recolección de muestra por la técnica de escisión.

Paso 1.

Asegúrese que todos los elementos necesarios estén disponibles (un ayudante será de utilidad durante el proceso de muestreo).



Paso 2.

Haga que su asistente limpie y desinfecte las herramientas de muestreo (incluido el mango) con la solución desinfectante.

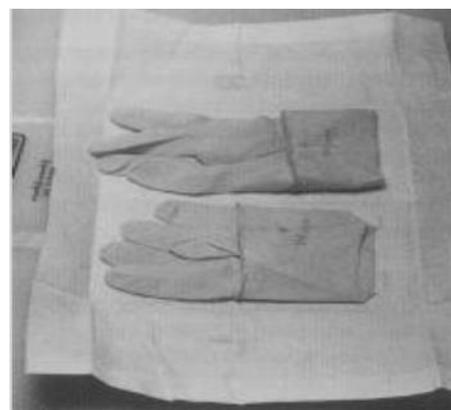
Haga que su asistente se ponga un par de guantes estériles (teniendo cuidado de no tocar la superficie exterior estéril del guante con los dedos) antes de extraer cuidadosamente las herramientas de muestreo de la solución desinfectante. No coloque los implementos de muestreo desinfectados en su vaina (no ha sido desinfectada).



Paso 3.

Colóquese los guantes estériles según el Anexo 3, teniendo cuidado de no tocar la superficie externa estéril del guante con los dedos.

Recuerde: no toque nada con las manos enguantadas excepto los instrumentos desinfectados o la carcasa si es necesario.



Paso 4.

Es importante tomar las muestras (escisión) desde las **áreas de menor a mayor contaminación** para evitar la propagación de cualquier contaminación. Por lo tanto, se deben muestrear las áreas en la secuencia indicada en este instructivo. No necesita cortar muy profundo ya que solo se necesita la superficie del tejido; una muestra de entre 5 mm y 10 mm de espesor es suficiente.

Se ubican los sitios a muestrear primero: **Flanco** (Vacío o Matambre - Musc Oblicuo externo) segundo: **Pecho** (Musc Pectorales) y Tercero: **Grupa** (Peceto-Musc Semitendinoso).

Nota: recuerde que puede usar la cuchilla para estimar la longitud de las muestras.



Paso 5.

Recoja la muestra del **Flanco** de 20cm de largo por 15cm de ancho en una sola pieza y colóquela en la bolsa debidamente etiquetada.

No vuelva a colocar los instrumentos de muestreo en su vaina.



Paso 6.

Enrolle o doble muestra para que se ajuste fácilmente en la bolsa de muestreo.

Haga que su asistente abra la bolsa de muestra etiquetada y coloque la muestra de pecho dentro de la bolsa sin tocar el exterior de la bolsa de muestra o el asistente. Haga que el asistente cierre la bolsa de muestra.



Paso 7.

Utilice el cuchillo para marcar los bordes de la muestra del área del **Pecho** desde un lado de la carcasa. Es muy importante que la muestra tenga 20 cm de largo por 15 cm de ancho y que sea de una sola pieza. Extraiga cuidadosamente la muestra con el cuchillo y el gancho y/o pinzas desinfectadas.



Paso 8.

Quítese los guantes y suba la escalera o la plataforma, sosteniéndose del pasamanos. Una vez que esté a una altura conveniente y segura para obtener la muestra del área de la **Grupa**, póngase cuidadosamente un nuevo par de guantes estériles, y proceda al muestreo. Es muy importante que la muestra tenga 20 cm de largo por 15 cm de ancho y que sea de una sola pieza. Extraiga cuidadosamente la muestra con el cuchillo y el gancho y/o pinzas desinfectadas.



Paso 9.

Cierre la bolsa. Enrolle o doble muestra para que se ajuste fácilmente en la bolsa de muestreo. Haga que su asistente abra la bolsa de muestra etiquetada y coloque la muestra de pecho dentro de la bolsa sin tocar el exterior de la bolsa de muestra o el asistente. Haga que el asistente cierre la bolsa de muestra.



3.5. Transporte de Muestras

Las muestras despachadas a laboratorios externos habilitados deben ser analizadas no más de 24 horas de recogida las mismas.

3.6. Análisis de las muestras:

Las muestras deben analizarse utilizando uno de los métodos de cuantificación de *E. coli* que se encuentran en los Métodos oficiales de AOAC, 16 ed. 3^o rev, (1997), o por cualquier método que sea validado contra el método número más probable (MPN) de 3-tubos y que concuerda con los límites de confianza superior del 95%.

Nota: Si las muestras van a ser analizadas en el laboratorio de la planta, se llevan de inmediato al mismo. Si las muestras van a ser analizadas en un laboratorio fuera de la planta, el acondicionamiento de las muestras para envío se realiza de acuerdo al Anexo 5.

4. MANEJO E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

4.1. Objetivo

Interpretar y manejar los resultados de los análisis para detección de *E. coli* genérica a fin de verificar la higiene del proceso del EH.

4.2. Responsable

Inspección Veterinaria Oficial

4.3. Frecuencia

Semanalmente o cuando la inspección veterinaria lo considere necesario.

4.4. Descripción

El responsable controla y verifica que los resultados lleguen a su conocimiento en tiempo y forma. El resultado de cada análisis debe aparecer informado en términos de unidades formadoras de colonias por centímetro cuadrado (UFC/cm²).

El E.H. debe informar a la IVO metodología utilizada en la toma de muestra y el método de control estadístico, los valores en UFC/cm² de los límites de control superior (UCL) e inferior (LCL) y notificar cada vez que exista algún cambio en los mismos.

Los resultados deben ser registrados en el **Formulario de control de *E coli* genérica** (Anexo7) en el orden en que se tomaron las muestras, a fin de facilitar la evaluación. La información de cada muestra incluye fecha, hora de recolección de la muestra, N° carcasa y el respectivo resultado. Esta información debe mantenerse siempre actualizada.

El registro debe estar actualizado con cada nuevo resultado, asimismo se guardan registros detallados de cualquier acción correctiva tomada en caso de desviaciones en el proceso de control.

Estos registros deben ser mantenidos en el establecimiento por 24 meses y deben estar disponibles cuando la IVO lo solicite.

Del mismo modo, el responsable verifica semanalmente que la toma de muestra por parte del EH se realiza de acuerdo a lo establecido en este procedimiento para la metodología utilizada y se registra en el **Formulario de Verificación de Proceso** (Anexo 6).

4.5 Interpretación de los Resultados para *E. coli* genérica por método de Esponjado (Bovinos y Ovinos).

No está establecido un **criterio de verificación de proceso (CVP)** para la técnica de esponjado, por lo cual el establecimiento debe usar valores de **control estadísticos de proceso (SPC)** para demostrar que sus operaciones están bajo control.

El enfoque de SPC, se basa en el principio de que “cada producto es producido por un proceso y que está sujetos a variaciones, las cuales deben ser entendidas y controladas por métodos estadísticos”.

Cuando un proceso está **bajo control**, quiere decir que es predecible dentro de los límites establecidos. El control se logra mediante la detección y eliminación de causas de variación (la cuales no están presentes todo el tiempo ni afectan a toda la producción del producto).

Esto implica evaluar inicialmente los datos para determinar la capacidad del proceso típico (**nivel de rendimiento**) y luego verificar si los datos posteriores son consistentes con este nivel de referencia y las variaciones están dentro de los límites normales y aceptables.

Para ello, es necesario que el establecimiento lleve a cabo una serie de pruebas preliminares de *E. coli* genérica durante sus propias operaciones de faena (desempeño histórico) y registre los resultados en UFC/cm² en circunstancias normales (típicas) de proceso.

Una vez que el establecimiento tiene una imagen real de su desempeño, calcula estadísticamente y establece los límites de control superior e inferior. Estos límites denominados **CVP** (criterios de verificación de proceso) indicarán cuándo el proceso no está “**bajo control**” o que existen **patrones o tendencias** que indicarían una posible pérdida de control.

Se pueden utilizar muchos enfoques estadísticos diferentes para SPC (por ejemplo, el enfoque de ventana móvil, gráficos de control de Shewhart, análisis de tendencias, desviaciones estándar, gráficos de tiempo, CUSUM, gráficos de control, etc.)

Dentro de SPC se incluyen los “gráficos de control”, que consiste en trazar los datos a lo largo del tiempo y establecer un límite de control superior (tres desvíos estándar) para mediciones específicas, y una línea central (promedio) por encima y por debajo de la cual hay un número igual de resultados de muestra. Un resultado de muestra por encima del límite de control superior indicaría la presencia probable de una causa de variación que debe abordarse.

Es importante que la metodología utilizada para analizar las muestras tenga un mínimo de sensibilidad de 5 UFC/cm².

Un ejemplo de un método que un EH puede utilizar para desarrollar un programa SPC es el siguiente:

- 1) Realiza una serie de pruebas preliminares de *E. coli* genérica durante las operaciones (típicas).
- 2) Grafica o registra los resultados en UFC/cm².
- 3) Recopila los resultados de las pruebas durante el tiempo suficiente para tener una imagen real de su rendimiento (aproximadamente 30 días).
- 4) Determina el rango típico de recuentos *E. coli* genérica que se encuentran normalmente.
- 5) Establece los límites de control superior e inferior en función de los resultados de la prueba

Es posible utilizar los valores de percentiles "m" = percentil 80 y "M" = percentil 98 con el **enfoque de ventana móvil** en el **método de esponjado** siempre que el establecimiento utilice sus propios datos históricos para desarrollar la **línea de base** y establecer el CVP.

Debido a que el método de esponjado es menos sensible que el método de escisión, los valores "m" y "M" del establecimiento no deben ser más altos que los publicados para el mismo proceso con el método de escisión (Punto 4.6, página 29).

El establecimiento que utilice los criterios de percentiles "m" y "M" debe registrar los resultados en una tabla o gráfico de control de proceso que muestre al menos los 13 resultados de prueba más recientes.

En caso de utilizar el criterio de valores marginales (valores entre m y M), un total de más de tres resultados marginales o un inaceptable (Valores por encima de M) en los últimos trece resultados consecutivos indica la necesidad de una revisión en los procesos de controles.

Esta manera de ver el número de resultados marginales e inaceptables se describe como una **"ventana en móvil"**. Con este enfoque los resultados se acumulan hasta llegar a los 13 (trece). Después de esto, solo se consideraran los 13 resultados más recientes, aquellos incluidos en la **"ventana móvil"**.

En muchos casos, es posible que no sea apropiado que se utilice el enfoque de ventana móvil con "m"=percentil 80 "M"=percentil 98, un ejemplo de esto es, cuando un establecimiento obtiene resultados de análisis que consisten principalmente en valores iguales o cercanos a cero. En este caso, si el establecimiento utilizó el mismo enfoque de ventana móvil que el USDA, su valor "m" podría estar cerca del nivel de detección para la prueba y el valor "M" muy bajo (por ejemplo, 10 ufc/cm²).

En este caso, se puede optar por utilizar un SPC diferente (por ejemplo, enfoque de análisis de tendencias, 3 desviaciones estándar, etc.)

Independientemente del método SPC utilizado, el DT de la DIA recomienda hacer una evaluación semestral de los resultados para evaluar el comportamiento de proceso y de ser necesario adecuar los CVP establecido por el EH.

El siguiente ejemplo de un gráfico de resultados SPC, en el mismo se representa en eje horizontal “X” número de prueba, y el eje vertical “Y” los resultados de E coli genérica UFC/cm². Este establecimiento de faena, estableció un valor central para este control de proceso (que indicará el rango aceptable de la prueba). La línea de límite superior de control (UCL) marca el valor más alto considerado aceptable por la empresa.

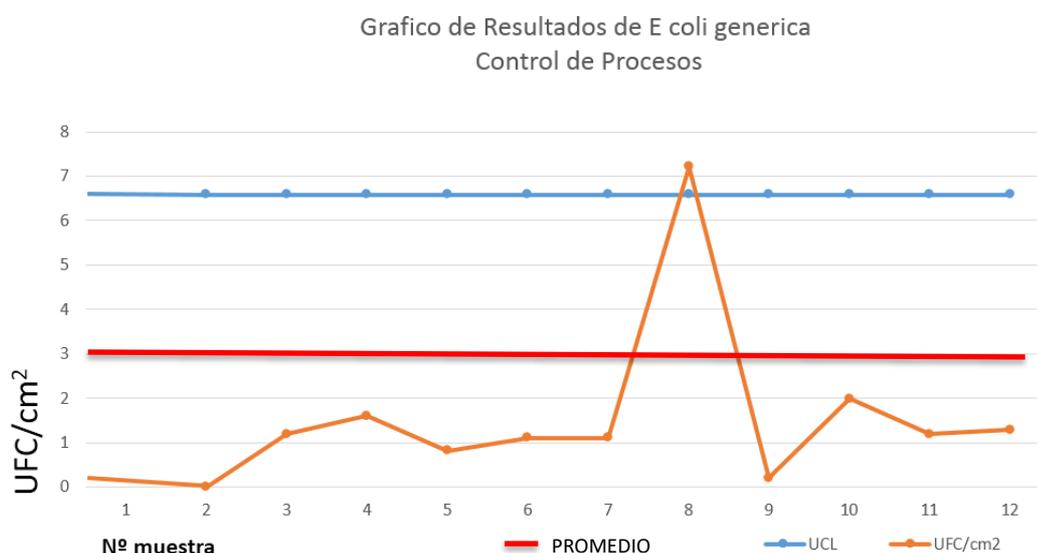


Gráfico 1. Resultados ploteados de *E. coli* genérica.

En el gráfico 1. Se puede observar que test Nº 8, está por encima del límite superior de control, este resultado probablemente se debió a una variación en este proceso que necesitó eliminarse o sea se tomaron acciones correctivas, para evitar la repetición del problema.

De acuerdo, con el gráfico las medidas fueron efectivas porque la reanudación de la prueba de seguimiento volvió al rango aceptable.

4.6. Interpretación de los Resultados para *E. coli* genérica por método de Escisión (Bovinos)

Los niveles de los test para muestras *E. coli* genérica por el método de escisión han sido separados en 3 (tres) categorías con el propósito de la verificación del proceso de control: **Aceptable**, **Marginal**, e **Inaceptable**.

Tabla 5. - Valores para Resultados de *E. coli* genérica por escisión

Especie	Límite Inferior del rango marginal (m)	Límite superior del rango marginal (M)	Numero de muestras testeadas (n)	Número máximo permitidas en el rango marginal (c)
Bovinos	*Negativo	100 UFC/cm ²	13	3

*La muestra de escisión se considera negativa para *E. coli* genérica cuando no hay colonias de *E. coli* presentes en las placas de la dilución más baja (10⁻¹).

A modo de ilustrar la Tabla 5. Los resultados del test para *E. Coli* genérica serían aceptables si fueran negativos, marginal si fueran positivos pero no por encima de 100 UFC/cm², e inaceptable por encima de 100 UFC/cm²

4.7. Criterio de Verificación.

El criterio de verificación es aplicado a los resultados de los test en el orden que las muestras son tomadas. El criterio consiste de límites y ocurrencias de resultados marginales e inaceptables.

Cada vez que se obtiene el resultado de un nuevo test el criterio de Verificación se aplica nuevamente para evaluar la situación del proceso de control.

Un resultado inaceptable demandará una acción inmediata de revisión del proceso de control, debiéndose investigar la causa y prevenir su recurrencia. Un total de más de tres resultados marginales o un inaceptable en los últimos trece resultados consecutivos también indica la necesidad de una revisión en los procesos de controles.

Esta manera de ver el número de resultados marginales e inaceptables se describe como una "**ventana en móvil**". Con este enfoque los resultados se acumulan hasta llegar a los 13 (trece). Después de esto, solo se considerarán los 13 resultados más recientes, aquellos incluidos en la "ventana móvil".

Un ejemplo de registro de resultados de pruebas en bovinos se muestra en la siguiente tabla, para un establecimiento que realiza dos análisis microbiológicos por día.

Test	Fecha	Hora	Resultados (UFC/cm ²)	Resultados Inaceptables	Resultados Marginales	Numero marginales o inaceptables Últimos 13	Pasó /Falló
1	07/10	8:50	10	No	Si	1	Pasó
2		14:00	Negativo	No	No	1	Pasó
3	08/10	07:10	50	No	Si	2	Pasó
4		13:00	Negativo	No	No	2	Pasó
5	09/10	10:00	Negativo	No	No	2	Pasó
6		12:20	Negativo	No	No	2	Pasó
7	10/10	9:20	80	No	Si	3	Pasó
8		13:30	Negativo	No	No	3	Pasó
9	11/10	10:50	Negativo	No	No	3	Pasó
10		14:50	negativo	No	No	3	Pasó
11	14/10	08:40	50	No	Si	4	Falló


 Ventana "Móvil"

Tabla 6. Registro de Resultados de *E. coli* genérica en Carcasas

El día 14/10 a la hora 8:40, aparece el 4to resultado marginal (entre 0 y 100 UFC/cm²) en los últimos 11 resultados, lo que excede el criterio de 3 en 13 (flecha). El registro de las acciones correctivas para el primer fallo deberá ser adecuado para verificar que la desviación o el problema fueron solucionados. Las siguientes observaciones se pueden hacer en el ejemplo a continuación

Test	Fecha	Hora	Resultados (UFC/cm ²)	Resultados Inaceptables	Resultados Marginales	Numero marginales o inaceptables Últimos 13	Pasó /Falló
1	07/10	8:50	10	No	Si	1	Pasó
2		14:00	negativo	No	No	1	Pasó
3	08/10	07:10	50	No	Si	2	Pasó
4		13:00	negativo	No	No	2	Pasó
5	09/10	10:00	negativo	No	No	2	Pasó
6		12:20	negativo	No	No	2	Pasó
7	10/10	9:20	80	No	Si	3	Pasó
8		13:30	negativo	No	No	3	Pasó
9	11/10	10:50	negativo	No	No	3	Pasó
10		14:50	negativo	No	No	3	Pasó
11	14/10	08:40	50	No	Si	4	Falló
12		12:00	negativo	No	No	4	Falló
13	15/10	09:30	negativo	No	No	4	Falló

Tabla 6. Registro de Resultados de *E. coli* genérica en Carcasas

En los siguientes dos test, al desplazarse la ventana “móvil” el criterio 3 en 13 sigue excedido, pero esos fallos no deben de tratarse como evidencia de un nuevo problema.

Test	Fecha	Hora	Resultados (UFC/cm ²)	Resultados Inaceptables	Resultados Marginales	Numero marginales o inaceptables Últimos 13	Pasó /Falló
1	07/10	8:50	10	No	Si	1	Pasó
2		14:00	Negativo	No	No	1	Pasó
3	08/10	07:10	50	No	Si	2	Pasó
4		13:00	Negativo	No	No	2	Pasó
5	09/10	10:00	Negativo	No	No	2	Pasó
6		12:20	Negativo	No	No	2	Pasó
7	10/10	9:20	80	No	Si	3	Pasó
8		13:30	Negativo	No	No	3	Pasó
9	11/10	10:50	Negativo	No	No	3	Pasó
10		14:50	Negativo	No	No	3	Pasó
11	14/10	08:40	50	No	Si	4	Falló
12		12:00	Negativo	No	No	4	Falló
13	15/10	09:30	Negativo	No	No	4	Falló
14		15:20	Negativo	No	No	3	Pasó

Tabla 6. Registro de Resultados de *E coli* genérica en Carcasas

El día 15/10 a la hora 15:20 se desplaza la ventana, y se puede ver que se cumple con el criterio de 3 en 13. Otra forma de ver el uso de las ventanas móviles, es mediante el ploteo de los resultados de los análisis de *E coli* genérica.

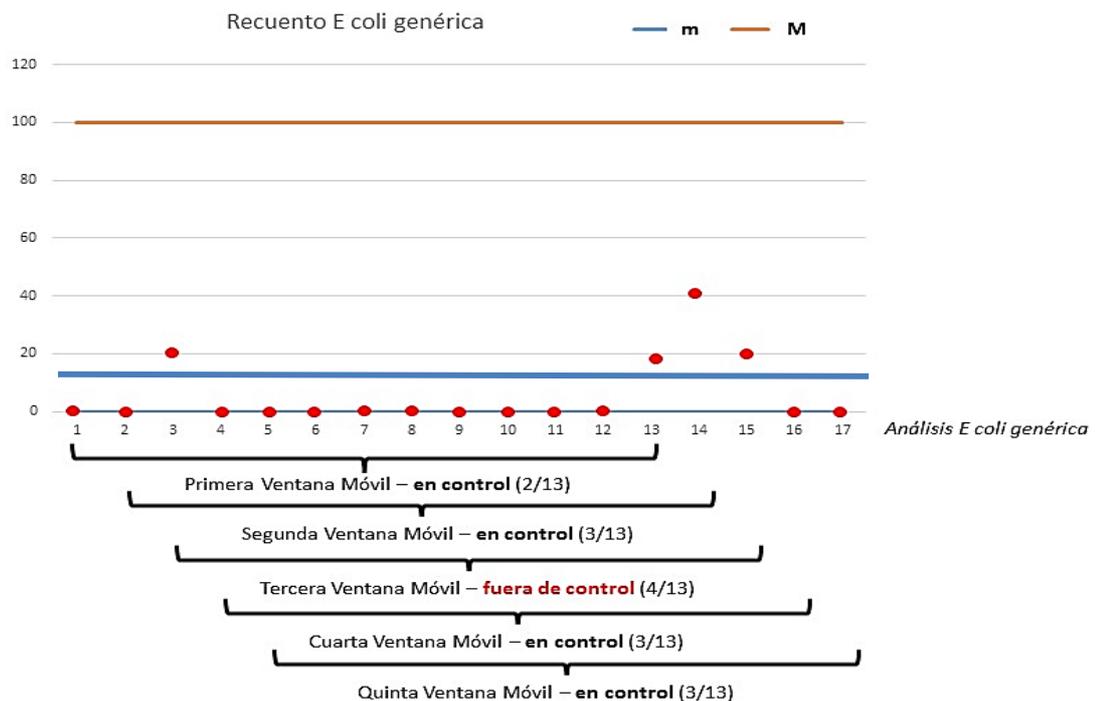


Gráfico 2. Resultados ploteados de *E. coli* Genérica con de ventana móvil.

En el gráfico 2 se puede observar como en la tercera ventana móvil aparecen 4 resultados marginales, lo que deja claramente expuesto que el sistema se encuentra fuera de control. A la cuarta ventana el sistema pasa a control, con tres resultados marginales en los últimos trece.

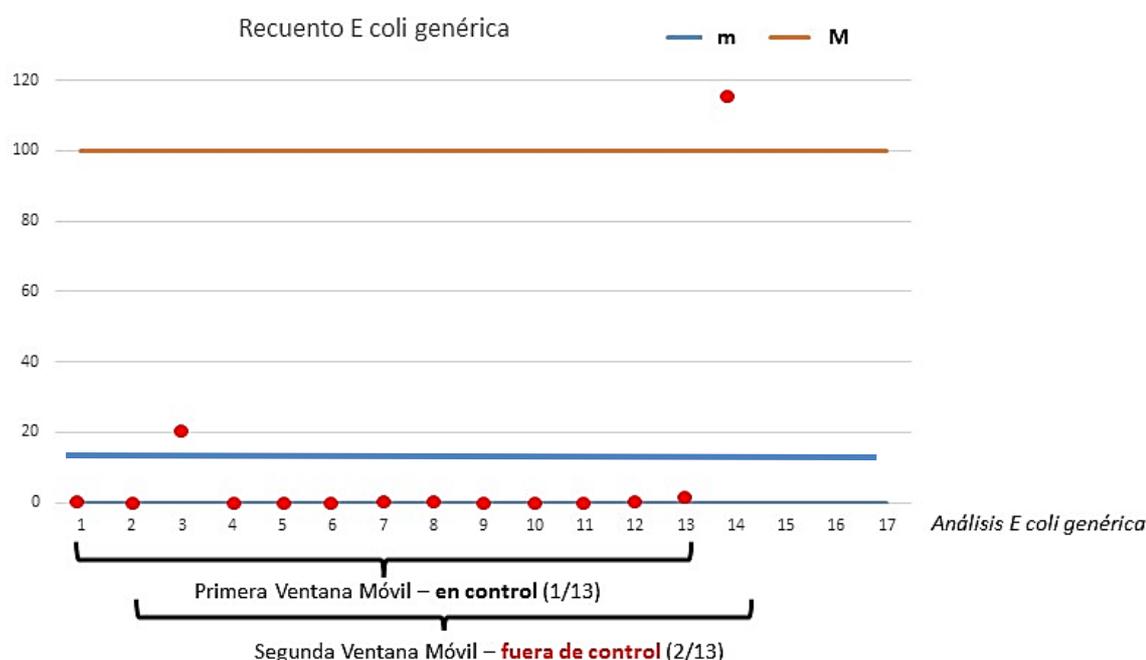


Gráfico 3. Resultados ploteados de *E. coli* Genérica con ventana móvil.

En el Gráfico 3, se puede observar como en la primera ventana el sistema se encontraba bajo control, pero en el resultado N° 14, aparece un resultado por encima del límite superior de control “M” lo que determina que el proceso se encuentra fuera de control.

4.8 Acciones en respuesta a la pérdida de control del proceso

Como parte de sus procedimientos de control de procesos, el EH debe definir las acciones que tomará si los resultados de la prueba obtenidos exceden los límites (no conformes) que ha establecido. El EH debe delinear cuáles serán sus acciones, quién tomará cada acción, cómo se documentará el resultado de estas acciones y cómo se verificarán las acciones.

Si se determina resultados no conformes o existen tendencias en los resultados de sus pruebas que indican una pérdida de control del proceso, el operador debe actuar para investigar la (s) causa (s) raíz.

Para hacer esto, los EH deben evaluar sus procedimientos de control de proceso, las prácticas de faena y los procedimientos de saneamiento, para determinar si se pueden identificar la (s) causa (s) raíz (s) y, posteriormente, tomar las medidas necesarias para corregir el problema. Esta evaluación debe incluir una revisión de los registros de monitoreo de procesos y sus procesos durante las operaciones normales.

5. CONTROL.

La IVO verificará que el establecimiento cumpla con los requisitos de prueba de *E. coli* genérica mediante la verificación de los criterios (CVP) establecidos en el procedimiento de acuerdo a la metodología utilizada.

5.1 Verificación diaria.

La IVO, recibe los resultados de los análisis de *E. coli* genérica por parte del E.H y registra diariamente en el **Formulario de Control de *E. coli* genérica** (Anexo 7), procediendo a verificar si:

- a) Han ocurrido, o no desviaciones en los límites de control establecidos.
- b) El EH ha tomado acciones correctivas y preventivas adecuadas.

5.2 Verificación semanal.

La IVO, debe verificar semanalmente que el EH. realiza la correcta toma de muestras de acuerdo a lo establecido en el procedimiento y registrar en el **Formulario de verificación de procedimiento de muestreo** (Anexo 6) evaluando si:

- a) El procedimiento se ajusta a lo descrito.
- b) Han ocurrido, no conformidades en la toma y envío de muestra.
- c) Se han tomado acciones correctivas ante un desvío en la toma y envío de muestras.
- d) Se ha tomado medidas preventivas.

Si alguno de los puntos anteriores (5.1 y 5.2) No **se ha cumplido satisfactoriamente** la IVO deberá elevar un formulario de **No conformidad**.

Anexo 1. Áreas de muestreo para *E. coli* genérica en carcasas bovinas.

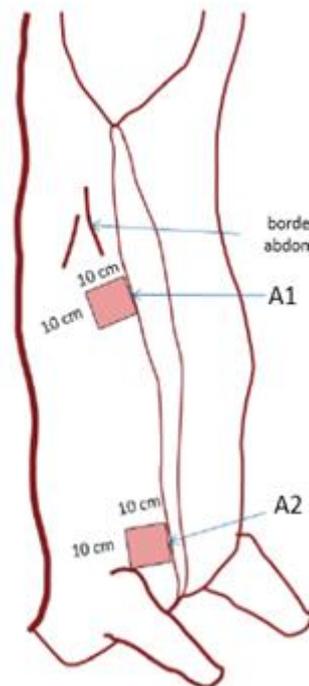
En carcasas bovinas se deben muestrear 3 áreas (A1, A2 y A3) cada uno de 100cm² respectivamente, de acuerdo a la secuencia indicada en este instructivo.

1º. Flanco (vacío y/o matambre) A1.

Localice el musculo oblicuo externo (musculo cutáneo del flanco) y siga el borde medial del músculo en sentido anterior hasta que llegue aproximadamente a 7,5 cm de la línea media. A PARTIR DE ESE LUGAR Coloque su plantilla y frote el área con una esponja a partir de la línea media.

2º. Pecho A2.

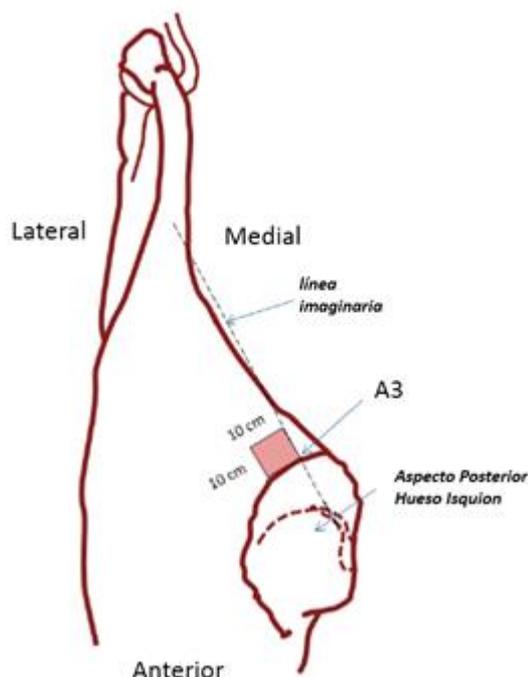
Localice el codo de la canal. Dibuje una línea imaginaria recta (medialmente) hasta el corte de la línea media. COLOQUE LA PLANTILLA POR ENCIMA DE ESA LINEA



3º. Grupa (Peceto/Musc Semitendinoso) A3.

Ubique la cara posterior del isquion o hueso sacro. Dibuje una línea imaginaria hacia el tendón de Aquiles. En el punto donde la línea coincide con la superficie de corte del cuadril, es el punto de partida para el área de muestreo. Mida 10 cm hacia arriba de la línea que conduce al tendón de Aquiles, luego 10 cm por encima (lateralmente), luego 10 cm de regreso a la superficie de corte en el cuadril, luego 10 cm a lo largo de la superficie de corte para formar el área cuadrada de 10 cm.

NOTA: Esta ilustración ha sido modificada intencionalmente: en una vista lateral real de la canal, no se vería el hueso sacro, y desde una vista central, no podría verse toda el área de muestreo de 10 cm x 10 cm. Por lo tanto, se muestra una vista lateral para ilustrar la ubicación del hueso sacro.

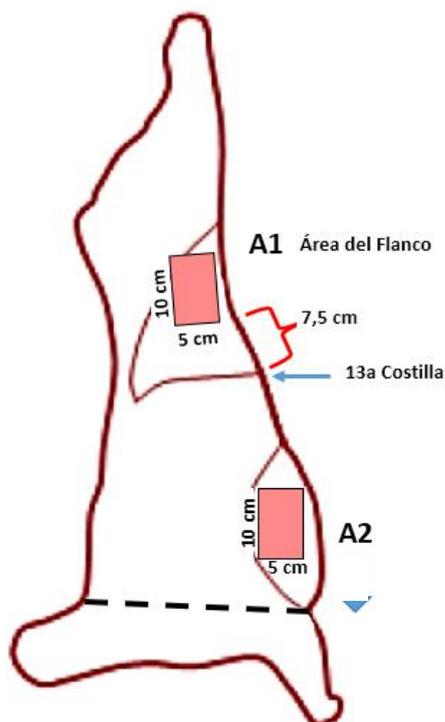


Anexo 2. Áreas de muestreo para *E. coli* genérica en carcasas ovinas.

En carcasas ovinas se deben muestrear 3 áreas (A1, A2 y A3) cada uno de 50cm² respectivamente, de acuerdo a la secuencia indicada en este instructivo.

1º. Flanco (vacío y/o matambre) A1.

Ubique el borde caudal de la 13a costilla. Coloque su plantilla a 7.5 cm por encima del borde caudal de la 13a costilla hacia caudal

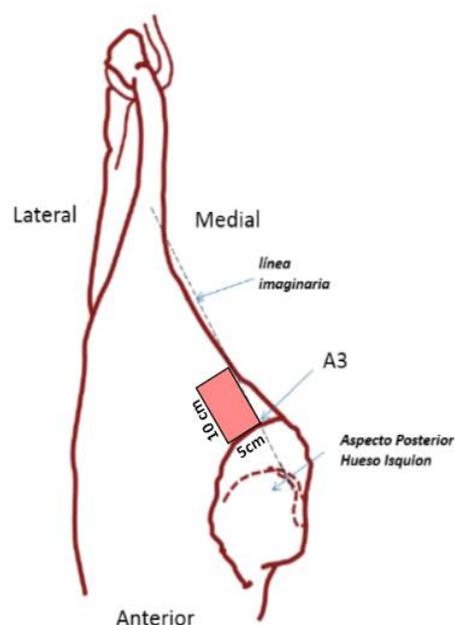


2º. Pecho A2.

Localice el codo de la canal. Dibuje una línea imaginaria recta (medialmente) hasta el corte de la línea media.

3º. Grupa (Peceto/Musc Semitendinoso) A3.

Ubique la cara posterior del isquion. Dibuje una línea imaginaria hacia el tendón de Aquiles. En el punto donde la línea se cruza, la superficie de corte del cuadril, es el punto de partida para el área de muestreo. Mida 10 cm hacia arriba de la línea que conduce al tendón de Aquiles, luego 5 cm por encima (lateralmente), luego 10 cm de regreso a la superficie de corte en el cuadril, luego 5 cm a lo largo de la superficie de corte para formar el área rectangular de 10 cm X 5 cm.

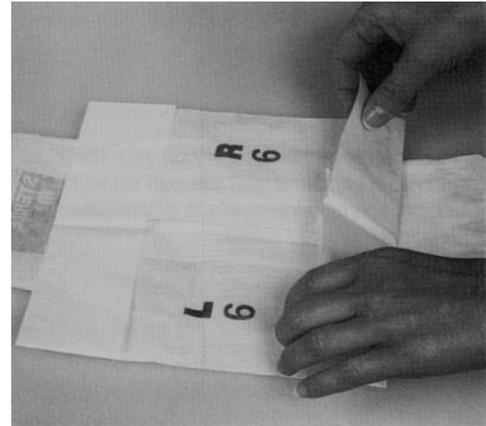


Anexo 3. Colocación de guantes estériles.

Se deben usar guantes esterilizados para recoger las muestras. Los únicos elementos que pueden tener contacto con la superficie externa de los guantes son las muestras que están siendo recogidas y/o el utensilio estéril para la muestra (esponja). Las superficies exteriores de los recipientes para las muestras no están esterilizadas.

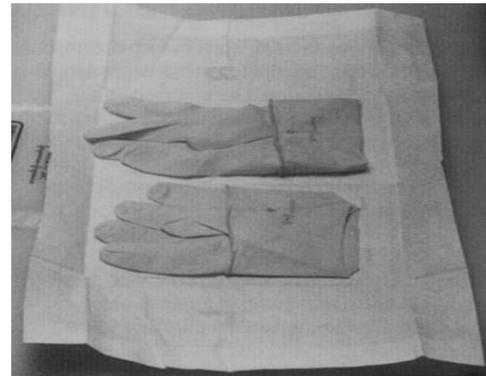
Paso 1.

Coloque el paquete de guantes frente a usted, de forma que queden las letras L a su izquierda (*left*) y R a su derecha (*right*).



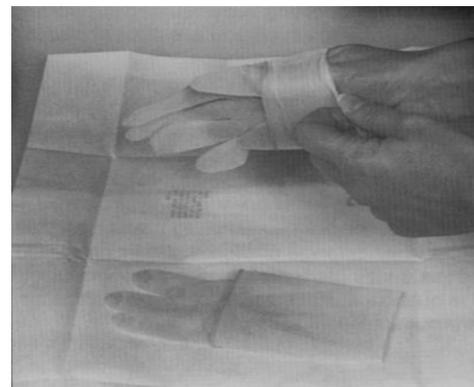
Paso 2.

Cuando abra el paquete, los guantes deben de estar con la palma hacia arriba y doblados en su extremo formando un “puño de camisa”.



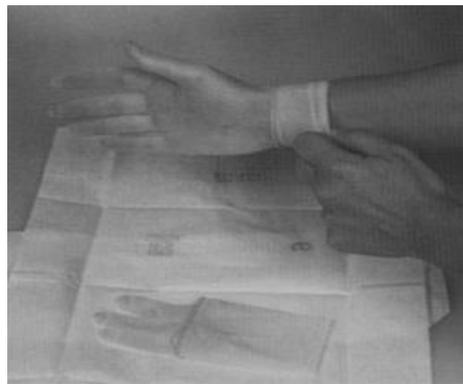
Paso 3.

Inserte una mano dentro del guante correspondiente sosteniendo con la otra el guante desde la superficie interna del “puño de camisa” del guante.



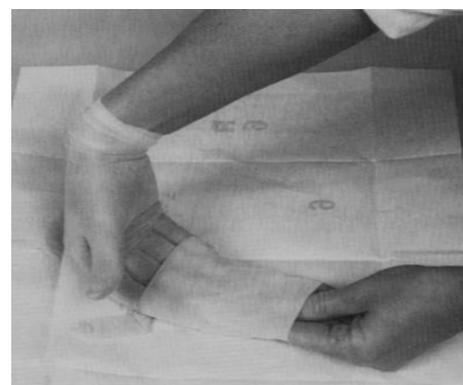
Paso 4.

Inserte totalmente la mano en el guante ayudándose con la otra mano, tirando firmemente desde la superficie interna del “puño de camisa” del guante.



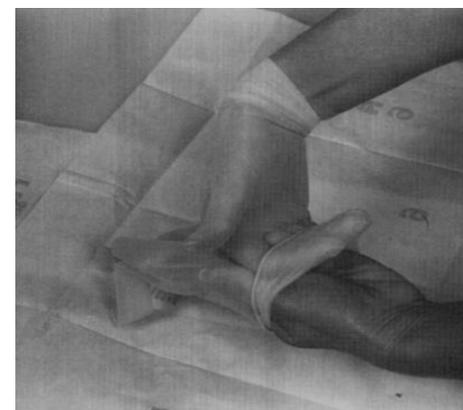
Paso 5.

Coloque los dedos de la mano no enguantada dentro del segundo guante, con la palma hacia arriba. Repita los pasos 3 y 4 con una excepción fundamental: **No manipule el segundo guante desde la superficie interna del “puño de camisa”**, de lo contrario podría ocurrir contaminación.



Paso 6.

Inserte los dedos de la mano enguantada dentro del “puño de camisa” y empuje hacia atrás.



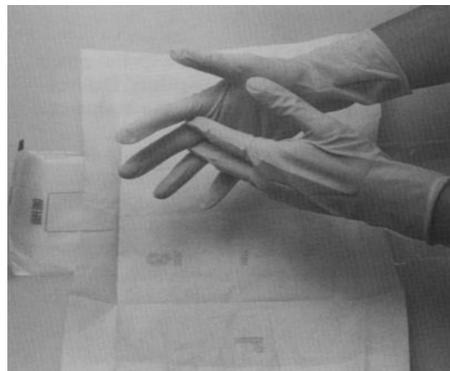
Paso 7.

Manipule el guante desde el exterior para ajustar el “puño de camisa” a su muñeca.



Paso 8.

Una vez que ambos guantes estén puestos, ajuste el guante con la otra mano

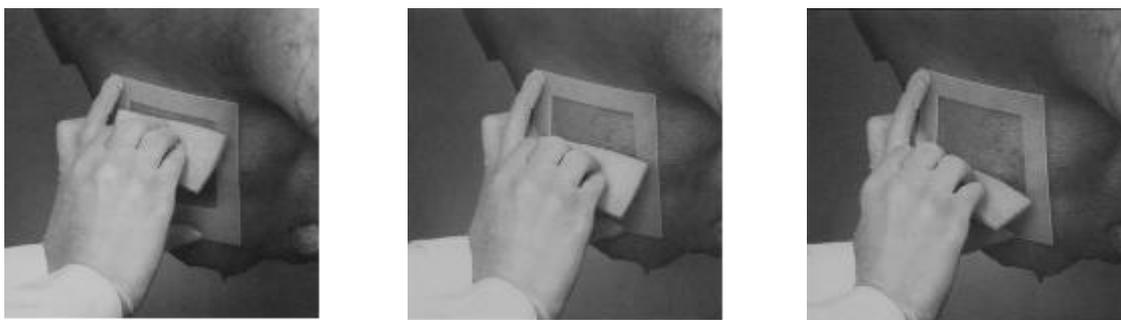


Anexo 4. Metodología para el correcto esponjado

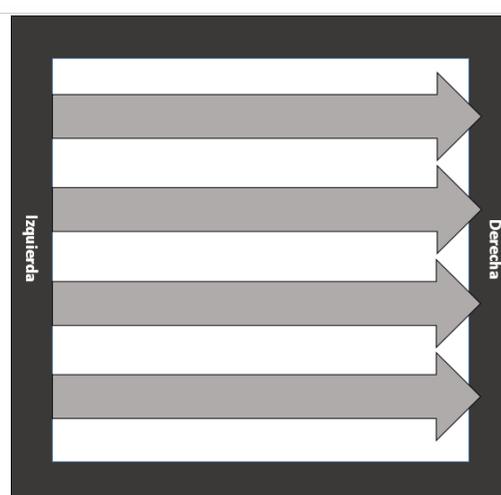
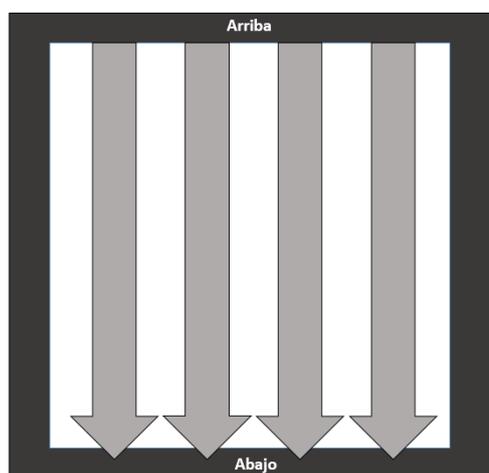
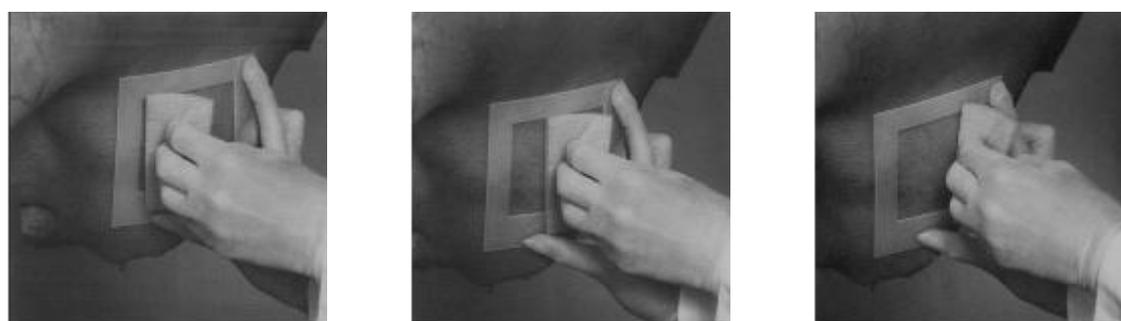
Es posible utilizar dos métodos diferentes para el correcto esponjado de la superficie:

a. Método I

Sostenga firmemente la esponja y aplíquela en una dirección por la superficie. En la dirección vertical debe pasarse de arriba a abajo. Levante la esponja y comience desde el punto inicial, luego repita 10 veces el mismo movimiento.

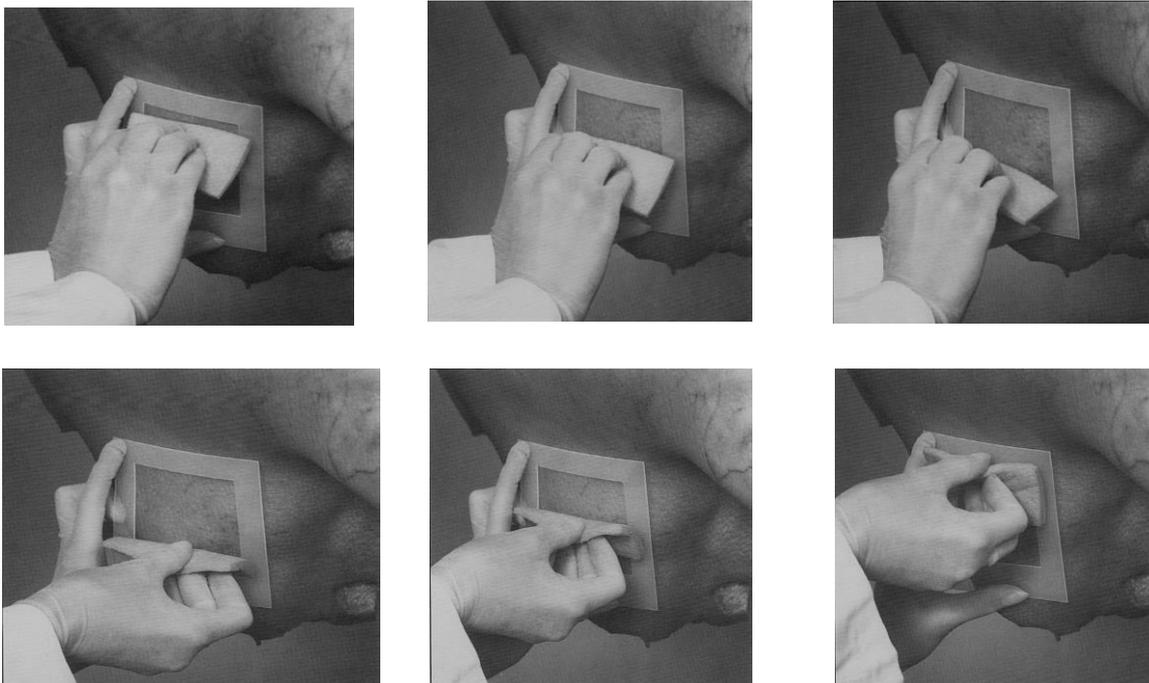


Cambie de dirección, siguiendo los mismos pasos, utilizando el mismo lado de la esponja. En la dirección horizontal debe pasarse de izquierda a derecha. Levante la esponja y comience desde el punto inicial, luego repita el mismo movimiento. 10 veces de la misma manera.

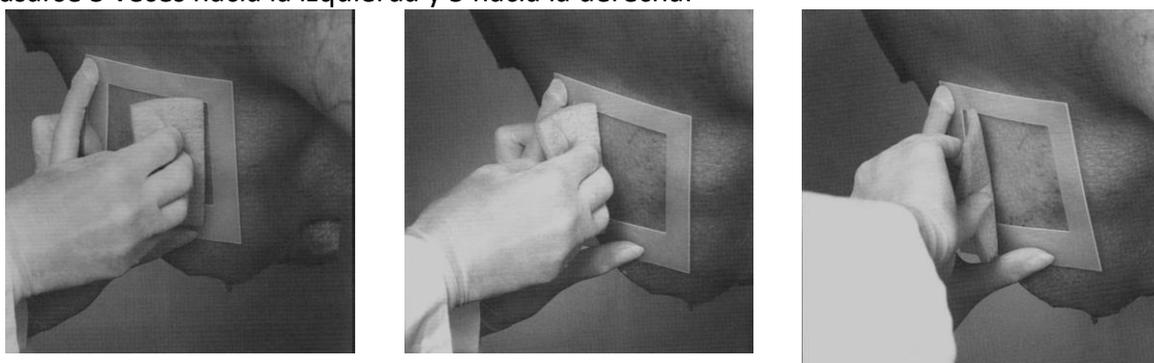


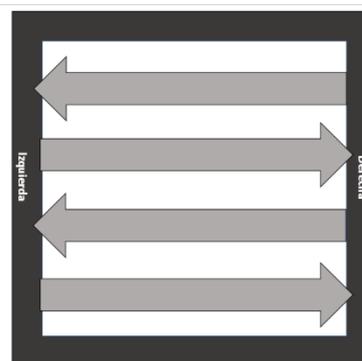
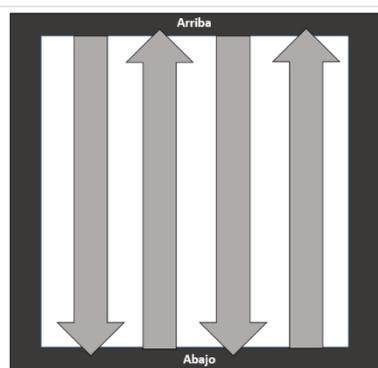
b. Método II

Sostenga firmemente la esponja y aplíquela en una dirección por la superficie. En la dirección vertical debe pasarse de arriba abajo. Al llegar al final, levante la esponja y gire la muñeca, pase la esponja en sentido contrario, retornando al punto inicial. Este movimiento permite que la misma cara de la esponja contacte con la carcasa, debe pasarse 5 veces hacia abajo y 5 hacia arriba.



Cambie de dirección, siguiendo los mismos pasos, utilizando el mismo lado de la esponja. En la dirección horizontal debe pasarse de izquierda a derecha. Para la dirección horizontal debe pasarse 5 veces hacia la izquierda y 5 hacia la derecha.





Nota. *No cambie la cara de la esponja mientras se muestrea una misma superficie.* Recuerde que esto es de extrema importancia para llevar a cabo un muestreo uniforme que asegure la validez de los resultados.

Anexo 5. Identificación, transporte y envío de muestras a laboratorios externos.

Después de colectadas las muestras deben ser mantenidas a temperatura de refrigeración (0 y 8 °C) y adecuadamente acondicionadas para que lleguen al laboratorio designado con este rango de temperatura. Las muestras **NUNCA deberán CONGELARSE**.

Muestras congeladas o mantenidas a temperaturas más altas que la de refrigeración, serán consideradas **NO CONFORMES** y por lo tanto no serán procesadas por los laboratorios designados.

Las muestras deben de ser enviadas para ser procesadas antes de las 24 horas desde la fecha y hora que fueron tomadas hasta el análisis de la muestra, para lo cual se debe considerar los horarios de recepción de los laboratorios. En el caso que lo anterior no se cumpla, la muestra será considerada como **NO CONFORMES** y por lo tanto no serán procesadas.

La muestra debe estar etiquetada con la información correspondiente. Todos los paquetes de muestra enviados a los laboratorios externos deben **PRECINTARSE** e identificarse, vinculando la muestra con el formulario de envío y el contenedor.

Después de completar el formulario de envío de muestra, colóquelo dentro de una bolsa de plástico para protegerlo de la humedad durante el envío.



Coloque la muestra en un contenedor isotérmico previamente enfriado, proteja la muestra con algún material aislante (cartón corrugado u otro elemento que cumpla con la misma función), de manera que al incorporar los geles refrigerantes estos no contacten directamente con las muestras, ya que pueden congelar parte de ellas y alterar los resultados.

La IVO debe supervisar que el contenedor isotérmico se prepare de la siguiente manera:

- a) Colocar el separador de cartón en la parte superior del paquete de refrigerante, para evitar que la muestra se congele (las bolsas con las muestras nunca deben entrar en contacto directo con el refrigerante)
- b) Luego de colocar las muestras.
- c) Rellenar los espacios para evitar el desplazamiento durante el transporte con algún material que cumpla esa función (material adecuado en las condiciones aptas para su uso)
- d) Luego la bolsa que contiene los formularios de envío.



- e) Es conveniente utilizar una tapa de poliuretano que ayude a cerrar correctamente la caja de envío a fin mantener la temperatura correctamente.

El número de cartones separadores y la cantidad de geles refrigerantes dependen de la época del año, a mayor temperatura se deben usar más refrigerantes.

Si la temperatura ambiental es alta, es conveniente usar dos refrigerantes con sus respectivos separadores de cartón. En este caso la muestra se prepara de la siguiente forma:

- a) Coloque el pack de geles refrigerante.
- b) Colocar el separador de cartón en la parte superior del paquete de refrigerante.
- c) Luego de colocar las muestras.
- d) Rellenar los espacios para evitar el desplazamiento durante el transporte con algún material que cumpla esa función (material adecuado en las condiciones aptas para su uso)
- e) Posteriormente colocar el segundo cartón separador, seguido por el segundo pack de gel refrigerante.
- f) Luego la bolsa que contiene los formularios.
- g) Es conveniente utilizar una tapa de poliuretano que ayude a cerrar correctamente la caja de envío a fin mantener la temperatura correctamente.



El contenedor de las muestras debe ser debidamente rotulado con la siguiente información: lugar de origen y nombre y dirección del receptor.

En el caso de los muestreos oficiales el contenedor debe ser precintado de forma oficial. Si el precinto ha sido violado laboratorio, no procederá a su posterior análisis.

Es responsabilidad del EH él envió de muestras a laboratorios habilitados por la UHL de DILAVE para la realización de *E. coli* genérica.

