

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

### A. VERIFICACION OFICIAL DE *Escherichia coli* productora de Shiga Toxina (STEC) PARA ESTADOS UNIDOS.

#### 1. ALCANCE

Establecimientos faenadores de la especie bovina y despostadores/elaboradores/procesadores de productos cárnicos de vacuno inscritos en el LEEPP, que se encuentren habilitados para exportar a Estados Unidos, y que elaboren alguno de los siguientes productos, de acuerdo a lo señalado en la ficha técnica de cada producto para su uso previsto:

- Cuartos de bovino o cortes de carne bovina, que darán origen a trimming (producto no intacto).
- Hamburguesas de bovino.
- Carne molida de bovino.

#### 2. OBJETIVOS

- a) Verificar el correcto funcionamiento del plan HACCP<sup>1</sup> implementado por el establecimiento, por medio de la toma de muestras **oficiales** para la detección de ***Escherichia coli* productora de Shiga toxina (STEC)**. Esto considera tanto a la *E. coli* O157:H7, como los serotipos O26, O45, O103, O111, O121 y O145 de STEC.
- b) Cumplir las exigencias normativas establecidas por Estados Unidos en lo relativo a ***Escherichia coli* productora de Shiga toxina (STEC)**. Esto considera tanto a la *E. coli* O157:H7, como los serotipos O26, O45, O103, O111, O121 y O145 de STEC.
- c) Establecer las directrices para las actividades de verificación y toma de muestras de ***Escherichia coli* productora de Shiga toxina (STEC)**, ejecutadas por el médico veterinario oficial, ya sea en establecimientos con inspección permanente como aquellos con inspección esporádica.
- d) Definir las acciones ejecutadas por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) frente a uno o más resultados con presencia de ***Escherichia coli* productora de Shiga toxina (STEC)**.

<sup>1</sup> HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points, según sus siglas en inglés.

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

### Para esto se evaluará:

- ***Escherichia coli* productora de Shiga toxina (STEC)** en **cuartos de bovino o cortes de carne bovina**, que darán origen a trimming destinado al mercado de Estados Unidos.
- ***Escherichia coli* O157:H7** en hamburguesas y carne molida de bovino, destinados a los Estados Unidos.

La verificación oficial será ejecutada por el equipo de inspección oficial (EIO) en establecimientos con inspección permanente o por el MVO asignado al sector en aquellos con inspección esporádica.

En razón de lo anterior, el Nivel Central capacitará a los supervisores y jefes de equipo de aquellas regiones que presenten establecimientos dentro del alcance del programa. A su vez, estos capacitarán al personal de la región.

### 3. MARCO LEGAL

#### 3.1. CHILE

**3.1.1.- Ley 18755** del Ministerio de Agricultura, de fecha 7 de enero de 1989, por la cual *se establece normas sobre el Servicio Agrícola y Ganadero, deroga la Ley N° 16.640 y otras disposiciones.*

**3.1.2.- Decreto Supremo 977** del Ministerio de Salud, de fecha 6 de agosto de 1996, *que aprueba Reglamento Sanitario de los Alimentos.*

**3.1.3.- Resolución exenta N° 1045** de la Dirección Nacional del Servicio Agrícola y Ganadero, de fecha 22 de febrero de 2013, por la cual *se establecen exigencias específicas de los programas de prerrequisitos y HACCP para la implementación del sistema de aseguramiento de la calidad y deroga Resolución exenta N° 4577 de fecha 3 de agosto de 2012.*

**3.1.4.- Resolución exenta N° 1722** de la Dirección Nacional del Servicio Agrícola y Ganadero, de fecha 29 de marzo de 2017, por la cual *se actualiza el sistema nacional de inscripción, mantención y habilitación de establecimientos exportadores de productos pecuarios para consumo humano y deroga resolución exenta N° 7078 de 2011.*

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

### 3.2 ESTADOS UNIDOS

**3.2.1.-** Code of Federal Regulations CFR 9 Parte § 310.25 // Título 9 del código de reglamento federales de los Estados Unidos, partes 318.2, 325.10, 416, 417, 418 y 500.

**3.2.2.- Directiva 6410.1** / 3 de noviembre de 2011 – *Verificación de procedimientos para el control de procesos y faena sanitario por parte de Personal de Inspección (IPP) fuera de línea en operaciones de faena de ganado de cualquier edad* – Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

**3.2.3.- Directiva 8080.1** / 9 de septiembre de 2013 – *Retiro del mercado de productos de carnes y de aves de corral* – Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

**3.2.4.- Directiva 10,010.1** / 20 de agosto de 2015 – *Actividades de verificación de obtención de muestras para Escherichia coli productora de Shiga toxina (STEC) en productos de carne de res cruda* – Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

**3.2.5.- Directiva 10,010.2** / 20 de agosto de 2015 – *Actividades de verificación para Escherichia coli productora de Shiga toxinas (STEC) en productos de carne de res cruda* – Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

**3.2.6.- Directiva 10,010.3** / 21 de enero de 2015 – *Metodología de trazabilidad de para Escherichia coli (E. coli) O157:H7 en productos de carne de res cruda molida y recortes de mesa* – Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

**VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL****4. DESCRIPCIÓN DE MUESTREO****4.1 FRECUENCIA Y CÁLCULO DE UNIDADES MUESTREALES**

La frecuencia con la que el SAG ejecutará la toma de muestras de verificación microbiológica en los establecimientos será mensual.

El día de toma de muestra<sup>2</sup>, el número de unidades muestrales<sup>3</sup> a coleccionar dependerá del volumen de producción/elaboración del establecimiento, por cada tipo de los productos dentro del alcance del programa, que tienen como destino los Estados Unidos. Cada muestra puede estar constituida por 1 a 4 unidades muestrales.

La determinación del número de unidades muestrales se realizará según lo descrito en Tabla 1:

**Tabla 1.- Determinación del número de unidades muestrales a coleccionar**

<b>Producción del establecimiento por cada tipo de producto (trimming<sup>4</sup>, carne molida o hamburguesas) procesado/elaborado cada día (Kg/día)</b>	<b>Número de unidades muestrales/mes</b>	<b>Criterio de aceptación: Máximo de resultados con presencia al mes</b>
> 113.400 Kg/día	4	0
> 22.680 a ≤ 113.400 Kg/día	3	0
> 455 a ≤ 22.680 Kg/día	2	0
≤ 455 Kg/día	1	0

Se deberán considerar los siguientes puntos:

- El EIO presente en el establecimiento o MVO asignado al sector, según corresponda, evaluará el nivel productivo del establecimiento durante el periodo anterior (año o producción estacional), para cada uno de los productos bajo el alcance del programa, en base a la información entregada por el establecimiento. Con esto, establecerá el **número de unidades muestrales** que deberán ser coleccionadas durante cada mes del año, para cada tipo de producto.

<sup>2</sup> Unidad o conjunto de unidades muestrales coleccionadas en un día del mes en que las medidas de control diseñadas específicamente para controlar el peligro STEC estén siendo aplicadas (en funcionamiento).

<sup>3</sup> Cantidad de matriz o producto coleccionado para ser sometido a una metodología analítica.

<sup>4</sup> El volumen elaborado de trimming del establecimiento, determinará el número de unidades muestrales que se coleccionarán cada mes de cuartos de canales de bovino o cortes de carne bovina.

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

Si los volúmenes productivos del establecimiento fluctúan durante el año, será labor del EIO o MVO asignado al sector, realizar los ajustes al número de unidades muestrales que deberán ser colectadas cada mes. Dicha información deberá ser comunicada a la Unidad de Verificación Microbiológica Oficial del Subdepartamento de Control de Contaminantes.

### 4.2 SELECCIÓN DEL DÍA DE MUESTREO

La selección del día en que se colectará/n la/s unidad/es muestral/es, se realizará dependiendo del modelo productivo del establecimiento. Para esto, se procederá en base a la Tabla 2:

Tabla 2.- Modelo de proceso productivo

PRODUCCIÓN CONTINUA	PRODUCCIÓN PLANIFICADA	PRODUCCIÓN ESPORÁDICA
<p>El o los productos bajo el alcance del programa, se elaboran en forma habitual y continua, <b>bajo aplicación de las medidas de control diseñadas específicamente para eliminar el peligro STEC (en funcionamiento).</b></p> <p>Caerá en esta categoría aquel establecimiento que <b>cuenta con producción para los Estados Unidos todas las semanas del mes, al menos una vez por cada semana.</b></p>	<p>El o los productos bajo el alcance del programa, <b>no se elaboran en forma habitual y continua, bajo aplicación de las medidas de control diseñadas específicamente para eliminar el peligro STEC (en funcionamiento).</b></p> <p>La elaboración del producto destinado a los Estados Unidos, se encuentra sujeto a un programa calendarizado por el establecimiento, <b>donde existen fechas específicas planificadas para la producción (dentro del mes) y estas son conocidas por el MVO en forma anticipada.</b></p>	<p>El o los productos bajo el alcance del programa, son elaborados en <b>forma esporádica, sin una calendarización establecida, bajo aplicación de las medidas de control diseñadas específicamente para eliminar el peligro STEC (en funcionamiento).</b></p> <p>Considera aquellos productos destinados a los Estados Unidos, que se elaboran muy esporádicamente dentro de un mes (1 o 2 veces) como aquellos que se elaboran en frecuencias inferiores a una vez al mes; esto puede incluir ejemplos tales como una vez cada dos meses, una vez al trimestre, en algunos meses del año, etc.</p>

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

<p><b>Selección del día:</b></p> <p>El mes inmediatamente anterior, el EIO o MVO realizará un sorteo aleatorio, que considere <b>todos los días hábiles del mes.</b></p> <p><i><b>Esta selección podrá realizarse por medio de planilla Excel o algún otro método que asegure la aleatoriedad del resultado.</b></i></p> <p>El día seleccionado deberá corresponder a un día con producción destinada a los Estados Unidos, en el que las medidas de control se encuentren en funcionamiento. De no ser así, se sorteará una nueva fecha y se repetirá el proceso (selección sin reposición, ya que se excluirá dicho día).</p> <p>Una vez seleccionado el día para la colección de la o las unidades muestrales, se deberá coordinar con el Laboratorio Lo Aguirre la factibilidad de la recepción de la muestra con 72 horas hábiles de antelación. De ser así, se fijará en el calendario; de no ser así se sorteará una nueva fecha y se repetirá el proceso (selección sin reposición, ya que se excluirá dicho día).</p>	<p><b>Selección del día:</b></p> <p>El mes inmediatamente anterior, el EIO o MVO solicitará al establecimiento el calendario con los días en los que se elaborará producto dentro del alcance de este programa de verificación microbiológica.</p> <p>Con esto, se realizará un sorteo aleatorio que considere <b>todos los días en que el establecimiento elaborará producto que será destinado a los Estados Unidos, bajo medidas de control en funcionamiento.</b> <i>Esta selección podrá realizarse por medio de planilla Excel o algún otro método que asegure la aleatoriedad del resultado.</i></p> <p>Una vez seleccionado el día para la colección de la o las unidades muestrales, se deberá coordinar con el Laboratorio Lo Aguirre la factibilidad de la recepción de la muestra con 72 horas hábiles de antelación. De ser así, se fijará en el calendario; de no ser así se sorteará una nueva fecha y se repetirá el proceso (selección sin reposición, ya que se excluirá dicho día).</p>	<p><b>Selección del día:</b></p> <p>La toma de muestras se ejecutará <b>cada vez que el establecimiento elabore producto que será destinado a los Estados Unidos, bajo medidas de control en funcionamiento (muestreo dirigido).</b></p> <p>El EIO o el MVO, según corresponda, deberá asegurarse de coleccionar la o las correspondientes muestras siempre que exista la oportunidad.</p> <p>Para estos casos, se coordinará con el Laboratorio Lo Aguirre con 24 horas hábiles de antelación, para dar prioridad al análisis de estas unidades muestrales.</p>
--	--	--

### 4.3 MATERIALES DE MUESTREO

Los materiales requeridos para la toma de muestras serán provistos por el establecimiento. Estos deberán estar en condiciones estériles para la toma de muestra y almacenarse cumpliendo los requisitos de temperatura (si corresponde), condiciones que deberán estar respaldadas en los registros de calidad del establecimiento (ver Tabla 3):

**VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL**

Tabla 3.- LISTA DE MATERIALES PARA TOMA DE MUESTRAS

<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Desinfectante para superficies.</li><li>✓ Guantes quirúrgicos estériles.</li><li>✓ Bolsas plásticas estériles con sello hermético.</li><li>✓ Bolsas plásticas colectivas de primero uso.</li><li>✓ Pinzas de acero quirúrgico estéril.</li><li>✓ Cuchillo estéril.</li><li>✓ Cíncel estéril (si corresponde).</li><li>✓ Gancho estéril.</li><li>✓ Tenaza estéril.</li><li>✓ Chaira.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Etiquetas.</li><li>✓ Plumón indeleble.</li><li>✓ Contenedor isotérmico.</li><li>✓ Elementos refrigerantes.</li><li>✓ Material aislante como plumavit u otro material aislante de primer uso.</li><li>✓ Balanza calibrada (en el rango de uso requerido para la toma de muestras).</li><li>✓ Cutímetro para medición de las piezas/trozos.</li></ul>
---	---

Si los materiales de muestreo disponibles se encuentran en condiciones defectuosas, no deberán ser utilizados y se deberá notificar por correo electrónico al Departamento de Calidad del establecimiento, para su reemplazo a la mayor brevedad posible.

#### 4.4 SELECCIÓN DEL TURNO Y LUGAR DE OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

##### 4.4.1 SELECCIÓN DEL TURNO

El EIO o MVO asignado al sector, obtendrá la/s unidades muestral/es dentro de un día de producción en aquellos establecimientos con un turno único. En aquellos casos que el establecimiento tenga más de un turno, se realizará sobre el total elaborado dentro de un turno elegido al azar.

##### 4.4.2 LUGAR DE OBTENCIÓN DE MUESTRA

La/s unidad/es muestral/es que será/n colectada/s por el EIO o el MVO, según corresponda, podrá/n ser obtenida/s en la/s siguiente/s oportunidad/es:

**1.- Para cualquier tipo de producto:** Incluye tanto cuartos de bovino o cortes de carne bovina que darán origen a trimming, como hamburguesas de bovino o carne molida de bovino.

**Durante el proceso de elaboración:** El EIO o el MVO, según corresponda, considerará el inicio y el término del proceso de elaboración del producto sujeto a verificación microbiológica, en razón de establecer por medio de selección aleatoria el horario (o los horarios) en los que irá a terreno para ejecutar la toma de la/s unidad/es muestral/es.

Una vez en terreno y en base al modelo de trabajo del establecimiento, el EIO o el MVO, según corresponda, identificará la unidad productiva que estará sujeta a muestreo. Esta podrá

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

corresponder a cuartos de bovino que vayan a ingresar al desposte, mesón/es de trabajo/elaboración de producto, bolsas de producto, bandejas de productos o aquella utilizada por el establecimiento.

*Nota: El número de horarios será equivalente al número de unidades muestrales que deben ser colectadas considerando el volumen productivo del establecimiento (ver Tabla 1), por cada tipo de producto en el alcance del programa.*

### 2.- Específico para hamburguesas de bovino o carne molida de bovino

**a. Lote de producto terminado en almacenamiento refrigerado:** En el caso de solo existir un lote de producción diario, la muestra será obtenida de este; en su defecto, el EIO o MVO seleccionará, en forma aleatoria, uno de los lotes que serán elaborados dentro del día de producción o turno, según corresponda. También deberá considerar que todo lote, no podrá superar los 4.500 kilogramos de producto.

Se solicitará al establecimiento apartar el lote y del total de pallets (de cajas) elaborados, se procederá a seleccionar en forma aleatoria aquellos de los cuales se obtendrán cajas. Para esto se utilizará la Tabla 4:

Tabla 4.- Número de unidades productivas (pallets) sujetos a muestreo	
Número total de pallets elaborados a partir del lote	Número de pallets de los que se obtendrán cajas
<b>1 a 5</b>	<b>1</b>
<b>6 a 20</b>	<b>2</b>
<b>21 a 35</b>	<b>3</b>
<b>36 a 60</b>	<b>4</b>
<b>Más de 61 pallets</b>	<b>5</b>

**VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL**

**b. Lote de producto terminado posterior al proceso de congelación:** Si bien se debe proceder de la misma manera que en el caso anterior, se debe tener en consideración que solo se podrán obtener unidades muestrales de producto terminado congelado, en aquellos casos en que el establecimiento tenga incluido en su plan HACCP un punto de control crítico (PCC) para congelamiento. La obtención de las muestras se debe ejecutar posterior a que el producto haya pasado por todas las potenciales intervenciones establecidas en el diagrama de flujo del establecimiento.

Todos los lotes de producto muestreado, quedarán segregados, identificados y etiquetados por el EIO o MVO como "Producto Retenido", y serán dispuestos en una cámara de almacenamiento en forma visible. Los lotes serán liberados por el EIO o el MVO, según corresponda, una vez que se obtenga la totalidad de resultados aceptables (ausencia del patógeno).

#### **4.5 EJECUCIÓN DE LA TOMA DE MUESTRA SEGÚN EL LUGAR DE MUESTREO ELEGIDO / TIPO DE PRODUCTO:**

Dependiendo del lugar de obtención de la muestra, se procederá de la siguiente manera:

##### ***4.5.1 Durante el proceso de elaboración:***

- **En el caso de cuartos de canal de bovino**

El EIO o el MVO, según corresponda, al llegar al área de pre-desposte en el horario determinado en forma aleatoria, seleccionará el lote en elaboración para la obtención de la unidad muestral.

Dependiendo del número de cuartos que compongan dicho lote, se determinarán los cuartos que estarán sujetos a muestreo y el número de piezas que serán obtenidos de cada uno. En el caso que estos sean más de cinco (5), se deberá numerar cada uno de ellos y seleccionar al azar un máximo de cinco (5).

Tener en consideración que, para el caso de los cuartos de canal de bovino, cada unidad muestral deberá estar compuesta por un número mínimo de 60 piezas (trozos) de superficie, equivalentemente distribuidas dentro del lote para asegurar su representatividad y colectadas bajo condiciones de asepsia.

**VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL**

**Tabla 5 - Número de piezas a coleccionar por cuarto de canal de bovino**

Número de unidades productivas <i>Cuartos de canal de bovino</i>	Número de piezas obtenidas por unidad productiva (Total 60)
5	12 piezas
4	15 piezas
3	20 piezas
2	30 piezas
1	60 piezas

- **En el caso de los cortes de carne bovina**

El EIO o MVO, al llegar al área de producción/elaboración, determinará el número total de unidades productivas (mesones, bolsas, bandejas u otros) en elaboración. Si éstas son más de cinco (5), se deberá numerar cada una de ellas y seleccionar al azar un máximo de cinco (5).

Una vez determinado el número de unidades productivas, procederá a la obtención de la/s unidad/es muestral/es, que será/n coleccionada/s bajo condiciones de asepsia. Tener en consideración que, para el caso de los cortes de carne bovina, cada unidad muestral deberá estar compuesta por un número mínimo de piezas (trozos) equivalentemente distribuidas dentro del lote para asegurar su representatividad (ver Tabla 6).

**Tabla 6 - Número de piezas a coleccionar por unidad muestral**

Número de unidades productivas <i>Mesones /bandejas u otros</i>	Número de piezas obtenidas por unidad productiva (Total 60)
5	12 piezas
4	15 piezas
3	20 piezas
2	30 piezas
1	60 piezas

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

Dependiendo del tipo de producto, se obtendrán las muestras de la siguiente manera:

<p>A.- Cuartos de canales de bovino</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.- Selección aleatoria de la/s unidad/es productiva/s sujeta a muestreo.</li> <li>2.- Limpieza y desinfección de la estación de trabajo.</li> <li>3.- Se obtendrá de cada cuarto de canal de bovino, un número de piezas (láminas) de la superficie externa, en base a lo establecido en la tabla 5.</li> </ol> <p>Para esto se deberá obtener piezas de la superficie del cuarto de canal ya sea de:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Las mismas partes que serán utilizadas para la elaboración de trimming, o,</li> <li>- De aquellas que se reconozcan como zonas de potencial contaminación asociadas a malas prácticas de faena (cadera, falda, pecho y cuello).</li> </ul> <ol style="list-style-type: none"> <li>4.- El número de piezas obtenidas de cada cuarto, deberán ser proporcionales entre las áreas de las cuales se obtenga. Estas se colectarán por medio del uso de un cuchillo y pinzas/gancho estéril/es.</li> </ol> <p>Cada pieza deberá tener un tamaño aproximado de: 8 cms. de largo, 3 cms. de ancho y 0,8 cms. de grosor (utilizando el cutímetro).</p> <p>Ejemplo: El lote evaluado está compuesto por quince 15 cuartos traseros. Se elegirán cinco (5) cuartos en forma aleatoria y se colectarán, de cada uno, 12 piezas (láminas) de su superficie externa (6 del área de la cadera y 6 de área de la falda), – Esto dará un total de 60 piezas (N60).</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>5.- Se deberá esterilizar o desinfectar el cuchillo y pinzas/gancho entre la obtención de cada pieza.</li> <li>6.- Las 60 piezas, constituyentes de cada unidad muestral, serán depositadas en forma aséptica dentro de dos (2) bolsas estériles de muestreo, en razón de asegurar el correcto cierre de las mismas. Cada unidad muestral deberá tener un peso mínimo de 500 gramos.</li> </ol>
<p>B.- Cortes de carne bovina</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.- Selección aleatoria de la/s unidad/es productiva/s sujeta a muestreo.</li> <li>2.- Limpieza y desinfección de la estación de trabajo.</li> <li>3.- Se obtendrán un número de cortes de cada unidad productiva, equivalente a lo expresado en la tabla antes citada. Estos serán colectados en aséptica y trasladados al mesón de trabajo.</li> <li>4.- Se obtendrá de cada corte una pieza (lámina) de la <u>superficie externa del corte</u>, por medio de un cuchillo y pinzas/gancho estéril/es. Dicha pieza deberá tener un tamaño aproximado de: 8 cms. de largo, 3 cms. de ancho y 0,8 cms. de grosor (utilizando el cutímetro).</li> </ol> <p>Ejemplo: El establecimiento cuenta con cuatro (4) mesones donde se están procesando cortes que serán utilizados como precursores. Se colectarán 15 cortes de cada mesón y de cada uno de ellos se</p>

**VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL**

	<p>obtendrá una pieza (lámina) de la superficie externa del corte – Con esto se obtendrán 15 piezas por mesón, dando un total de 60 piezas.</p> <p>5.- Se deberá esterilizar o desinfectar el cuchillo y pinzas/gancho entre la obtención de cada pieza.</p> <p>6.- Las 60 piezas, constituyentes de cada unidad muestral, serán depositadas en forma aséptica dentro de dos (2) bolsas estériles de muestreo, en razón de asegurar el correcto cierre de las mismas. Cada unidad muestral deberá tener un peso mínimo de 500 gramos.</p>
<p>C.- Carne molida de bovino</p>	<p>1.- Selección aleatoria de la/s unidad/es productiva/s sujeta a muestreo.</p> <p>2.- Se obtendrá una cantidad de carne molida de cada unidad productiva, suficiente para que la unidad muestral pese a lo menos 500 gramos. Esta será colectada en forma aséptica y depositada dentro de dos (2) bolsas estériles de muestreo, en razón de asegurar el correcto cierre de las mismas.</p> <p>Ejemplo: El establecimiento cuenta con cinco (5) bandejas en elaboración de carne molida. Se colectarán 100 gramos de cada bandeja – Con esto se obtendrá un total de 500 gramos.</p>
<p>D.- Hamburguesas de bovino</p>	<p>1.- Selección aleatoria de la/s unidad/es productiva/s sujeta a muestreo, en el caso en que haya más de una línea de elaboración de hamburguesas.</p> <p>2.- Se obtendrá un número de muestras en su envase final, que den como equivalente no menos de 500 gramos. Esta será colectada en forma aséptica y depositada dentro de dos (2) bolsas estériles de muestreo, en razón de asegurar el correcto cierre de las mismas.</p> <p>Ejemplo: Si el establecimiento cuenta con una sola línea de elaboración y prepara hamburguesas de 100 gramos, se obtendrán cinco (5) hamburguesas.</p>

**4.5.2 Lote de producto terminado en almacenamiento refrigerado o congelado**

El EIO o MVO, al llegar al área de almacenamiento en frío donde se encuentra el lote segregado por el establecimiento, determinará el número total de pallets de producto en base a tabla 4.

De cada uno de los pallets se seleccionarán en forma aleatoria, un número de cajas en base a la Tabla 7:

**VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL**

Tabla 7.- Número de cajas a seleccionar por pallet

Número de unidades productivas <i>Pallets de cajas</i>	Número de cajas por pallet
<b>1</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>2</b>
<b>4</b>	<b>1</b>
<b>5</b>	<b>1</b>

Se deberá proceder a la limpieza y desinfección de la estación de trabajo.

Dependiendo del tipo de producto, se obtendrán las muestras de la siguiente manera:

<p>A.- Carne molida de bovino</p>	<p>1.- Selección aleatoria de la/s unidad/es productiva/s sujeta a muestreo.</p> <p>2.- Se obtendrá una cantidad de carne molida de cada caja, suficiente para que la unidad muestral pese a lo menos 500 gramos. Esta será colectada en forma aséptica y depositada dentro de dos (2) bolsas estériles de muestreo, en razón de asegurar el correcto cierre de las mismas.</p> <p>Nota: Cada unidad muestral se obtendrá de cajas diferentes, seleccionadas en forma aleatoria.</p>
<p>B.- Hamburguesas de bovino</p>	<p>1.- Selección aleatoria de la/s unidad/es productiva/s sujeta a muestreo.</p> <p>2.- Se obtendrá un número de hamburguesas de cada caja, en razón de juntar un peso no menor a 500 gramos. Esta será colectada en forma aséptica y depositada dentro de dos (2) bolsas estériles de muestreo, en razón de asegurar el correcto cierre de las mismas.</p> <p>Nota: Cada unidad muestral se obtendrá de cajas diferentes, seleccionadas en forma aleatoria.</p>

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

### 4.6 IDENTIFICACIÓN, MANTENCIÓN Y ENVÍO DE MUESTRAS.

Diagrama de flujo	Descripción de la actividad y/o tarea
<pre> graph TD     Inicio([Inicio]) --&gt; Identificación[Identificación de las muestras]     Identificación --&gt; Mantenión[Mantenión de las muestras]     Mantenión --&gt; Llenado[Llenado de protocolo]     Llenado --&gt; Envío[Envío de muestras]     Envío --&gt; Fin([Fin])         </pre>	<p>Toma de muestras / Se indicará separado por guiones: LEEPP – Prueba diagnóstica solicitada (<i>E. coli</i> productora de Shiga Toxina: STEC o <i>E. coli</i> O157:H7) - Número correlativo anual.</p> <p>Mantenión de muestras a temperatura de refrigeración o congelación.</p> <p>El N° de protocolo estará compuesto por: LEEPP – Año (aaaa) – Número correlativo anual.</p> <p>El EIO o MVO llenará en el protocolo los siguientes datos: N° de Protocolo, Región, Sector, Fecha, Nombre y Dirección Establecimiento, Nombre MVO Monitoreador, Especie, Tipo de Muestra, Lote(s) de Producción, Fecha de Elaboración, Mercado(s) de Destino, Toma de Muestra - Fecha / Hora, Identificación de la Muestra (LEEPP – STEC – Correlativo anual), Reprogramación de Muestreo (sólo si aplica), Hora de Término Toma de Muestra, Muestreo de Contingencia N° (sólo si aplica), Correo Electrónico MVO, Firma y Sello MVO. Enmiendas al protocolo deberán ser firmadas por MVO.</p> <p>Coloque las muestras en un contenedor isotérmico previamente enfriado (según corresponda), proteja la muestra con algún material aislante (cartón corrugado u otro elemento que cumpla la misma función), de manera que al incorporar los refrigerantes de gel éstos no contacten directamente con las muestras, ya que pueden congelar partes de ellas.</p> <p>En el caso de muestras congeladas (-18 °C), se deberá colocar una mayor cantidad de elementos refrigerantes previamente congelados a -18°C.</p> <p>El contenedor de las muestras debe ir sellado con cinta oficial y estar debidamente rotulado con la siguiente información: Fecha toma de muestra, hora de toma de la última muestra, fecha de envío, lugar de origen, tipo y número de muestras, lugar de destino (nombre y dirección del laboratorio receptor) y análisis requeridos. El protocolo debe ser enviado fuera del contenedor.</p> <p>Se debe coordinar el envío con el laboratorio de análisis con 72 horas hábiles de antelación.</p> <p>El contenedor deberá llegar al laboratorio antes de 36 horas de tomada la primera muestra.</p>

**VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL**

En el caso que una o más unidades muestrales sean rechazadas por el laboratorio, dicho muestreo quedará nulo y se deberá realizar un re-muestreo que quedará consignado en la calendarización, asignándose un nuevo número de protocolo y de identificación de la/s nueva/s unidad/es muestral/es.

En el caso que no sea posible ejecutar el re-muestreo dentro del mismo mes, se dejará una evidencia auditable donde se explique la causa.

**5 RESULTADOS**

**5.1 Interpretación y análisis de los resultados de laboratorio**

El análisis de las muestras solo podrá ser realizado por Laboratorios de la Red SAG, por medio de metodologías validadas internacionalmente (ver Tabla 8).

Tabla 8.- Metodologías analíticas validadas internacionalmente

Cuartos de canal de bovino o cortes de carne bovina que darán origen a trimming o hamburguesas o carne molida para los Estados Unidos	
STEC	<i>E. coli</i> O157:H7
SCREENING	SCREENING
Assurance GDS® MPX TOP 7 STEC, Validación AOAC Performance Tested Method 071301	VIDAS® UP <i>E. coli</i> O157 (incluye H7), Validación AFNOR BIO 12/25-05/09
CONFIRMATORIO STEC (O26, O45, O103, O111, O121, O145 y O157:H7)	CONFIRMATORIO <i>E. coli</i> O157:H7
<b>Inmunoconcentración:</b>  GDS POLY IMS TOP STEC  <b>Confirmación Bioquímica:</b> Sistema de Identificación API 20 E (Biomerieux®) o equivalente.  <b>Confirmación Serología:</b> Kits de Aglutinación en látex SLIDEX® para cada serogrupo o equivalente.	<b>Inmunoconcentración:</b>  VIDAS® ICE  <b>Confirmación Bioquímica:</b> Sistema de Identificación API 20 E (Biomerieux®) o equivalente.  <b>Agglutinación Látex:</b> RIM <i>E. coli</i> O157:H7 o SLIDEX O157:H7.  <b>Identificación y determinación de Factores de Patogenicidad (eae, stx1 y/o stx2):</b>

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

<b>Identificación y determinación de Factores de Patogenicidad (eae, stx1 y/o stx2):</b>  Assurance GDS MPX Top 7 STEC AOAC Performance Tested Method 071301 o PCR Múltiple (Primers O157, stx1 y stx2), en Instituto de Salud Pública de Chile (ISP).	<b>Assurance GDS MPX Top 7 STEC AOAC Performance Tested Method 071301 o PCR Múltiple, en Instituto de Salud Pública de Chile (ISP).</b>
--	---

Debido a que este monitoreo corresponde a un plan por atributo, los resultados se expresarán en Ausencia y Presencia, en 375 gramos para STEC y en 325 gramos para *E. coli* O157:H7. Frente a todo resultado positivo, se señalará el serotipo en la columna de observaciones del protocolo.

Si el laboratorio comete algún error cuando está completando los campos que le corresponden en el protocolo, debe tachar, no debe borrar ni hacer ilegible la escritura errónea, luego debe anotar el valor correcto al margen, el cual debe ser firmado o visado por el laboratorista a cargo.

Una vez el laboratorio cuente con los resultados, ya sea del screening como del análisis confirmatorio<sup>5</sup>, procederá a llenar las casillas correspondientes del protocolo y enviará vía correo electrónico a la unidad de verificación microbiológica oficial, adjuntando una copia escaneada del protocolo original. Dicha unidad hará extensiva la información al EIO o MVO, según corresponda, encargado/a regional pecuario, supervisor/a regional de inspección y certificación, gerencia de calidad del establecimiento.

La copia escaneada se almacenará en forma digital y el equipo de inspección oficial o MVO asignado al sector, deberá tabular los resultados, incluyendo la siguiente información: fecha de toma de muestra, la hora de toma de la/s unidad/es muestral/es, identificación de la/s unidad/es muestral/es, tipo de producto muestreado, tipo de análisis, el resultado (Ausencia/Presencia) y el serotipo.

## 5.2 Acciones frente a resultados

### 5.2.1 Frente a resultados de screening negativo a la presencia de STEC o *Escherichia coli* O157:H7 (según corresponda).

El EIO o MVO procederá a liberar los lotes de producto que se encontraban retenidos a la espera de los resultados microbiológicos.

<sup>5</sup> El análisis confirmatorio deberá indicar, según corresponda, la detección de uno o más factores de patogenicidad, tales como Gen stx1 / Gen stx2 / Gen eae (codificante de intimina)

**VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL****5.2.2 Frente a resultados de Screening Positivo a STEC o *Escherichia coli* O157:H7 (según corresponda).**

El EIO o MVO notificará al establecimiento el resultado del análisis, verificará que el/los lote/s involucrados sean identificado/s como sospechosos y continúen retenidos, por parte de la empresa, a la espera del/os resultado/s de análisis confirmatorio.

El establecimiento cargará dichos lotes al sistema de emisión de certificados zoonosanitarios de exportación (ECZE). El EIO o MVO, bloqueará preventivamente dichos lotes para la exportación a todos los destinos a la espera de los resultados confirmatorios.

**Bajo ninguna circunstancia, el/los lote/s identificado/s como sospechoso/s podrá/n ser certificado/s a ningún país por medio de CZE ni trasladado/s a ningún otro establecimiento por RCP (almacenamiento/materia prima), hasta que se cuente con los resultados del análisis confirmatorio que indique/n la ausencia de STEC o *Escherichia coli* O157:H7 (según corresponda).**

**Frente a resultados confirmatorios**

**Cualquier resultado confirmatorio de presencia de STEC o *Escherichia coli* O157:H7, según corresponda, será considerado como inaceptable y no podrá ser certificado a ningún mercado.** El/os lote/s de producto comprometido será/n definido/s como no certificable/s, debe/n ser claramente identificado/s, segregado/s y deberá/n ser puesto/s a disposición del SEREMI de Salud por medio de comunicación escrita de parte de la Dirección Regional con copia al Departamento de Inocuidad y Exportaciones. Independiente de la resolución del SEREMI de Salud, dicho/s lote/s no podrán ser certificados a ningún mercado.

Sumado a lo anterior, el EIO o MVO deberá cursar una Notificación de No Cumplimiento (NNC) o acta de inspección, según corresponda, y el establecimiento entrará en un **proceso de contingencia**. El establecimiento deberá dar respuesta a la NNC u acta de inspección, según corresponda, y generar un Informe de Causalidad en un plazo máximo de 5 días hábiles a contar de la recepción de los resultados de laboratorio, que aborde la razón por la cual las medidas de control implementadas para eliminar el peligro de STEC o *E. coli* O157:H7 (según corresponda) no fueron eficaces y, por otra parte, haga entrega de los plazos en los que el establecimiento implementará una solución definitiva al problema. Dicho informe de causalidad deberá ser enviado por el EIO o el MVO, según corresponda, al Departamento de Inocuidad y Exportaciones.

Con esto, el EIO o el MVO, según corresponda, deberá verificar que el establecimiento haya elaborado, documentado e implementado un plan de acción para abordar este desvío.

Los lotes de producto no intacto elaborados para los Estados Unidos en forma posterior a la fecha del muestreo de verificación oficial<sup>6</sup>, serán considerados como cuestionado/s respecto a su aptitud

<sup>6</sup> Periodo en que las medidas de control no son adecuadas para controlar el peligro y se encuentran en proceso de revisión

**VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL**

de consumo, y solo podrán ser certificados contra resultados de autocontrol microbiológico que indiquen ausencia a **STEC o *Escherichia coli* O157:H7**, según corresponda. Con esto, cada lote de producto no intacto elaborado para los Estados Unidos, quedará sujeto a un programa de muestreo de autocontrol que considerará el doble de unidades muestrales, con relación a aquella definida en su autocontrol. Estas serán colectadas bajo la metodología N60, descrita en el presente programa.

### 5.3 Primera contingencia

Una vez se haya cumplido el plazo indicado en el informe de causalidad, el EIO o MVO procederá a realizar una verificación microbiológica de contingencia **para el patógeno de interés, al mismo tipo de producto que presentó el resultado inaceptable**. Dicha muestra estará compuesta por el mismo número de unidades muestrales que dieron origen al resultado o resultados desfavorable/s y será colectada de lotes elaborados en forma posterior al hallazgo.

El EIO o el **MVO, según corresponda**, procederá a la obtención de la/s unidad/es muestral/es de esta primera contingencia, una vez que **establecimiento complete las acciones correctivas** e indique que la nueva medida de control implementada es eficaz para eliminar el peligro. Esto deberá cumplir con las fechas comprometidas en el informe de causalidad.

#### 5.3.1 Resultados microbiológicos favorables en la contingencia

En el caso de que los resultados de la verificación microbiológica de contingencia sean favorables, es decir ausencia de **STEC o *Escherichia coli* O157:H7, según corresponda**, se levantará el proceso de contingencia y el establecimiento volverá a la verificación microbiológica oficial de rutina.

#### 5.3.2 Resultados microbiológicos desfavorables en la contingencia

En el caso de que los resultados de la verificación microbiológica oficial de contingencia sean desfavorables, es decir, presencia de **STEC o *Escherichia coli* O157:H7** en una o más unidades muestrales, la Dirección Regional deberá proceder a abrir un proceso de investigación, en base a la Resolución N° 1722 y **suspender la certificación de lotes de producto del establecimiento a aquellos destinos que tiene como requisito la ausencia de STEC o *Escherichia coli* O157:H7**.

Dicha decisión debe ser notificada a la SEREMI de Salud, por medio de comunicación escrita con copia al Departamento de Inocuidad y Exportaciones, entregando todos los antecedentes del caso. De igual forma, el/os lote/s de producto comprometido será/n definido/s como no certificable/s, debe/n ser claramente identificado/s, segregado/s y deberá/n ser puesto/s a disposición del SEREMI de Salud.

El establecimiento deberá re evaluar la eficacia de las medidas de control implementadas y entregar al EIO o MVO un nuevo informe de causalidad en un plazo máximo de 5 días hábiles e implementar un nuevo plan de acción para corregir la causa raíz del desvío. Dicho informe de causalidad deberá ser enviado por el EIO o el MVO, según corresponda, al Departamento de Inocuidad y Exportaciones.

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

### 5.4 Segunda contingencia

Una vez se haya cumplido el plazo indicado en el informe de causalidad, el EIO o MVO procederá a realizar una segunda verificación microbiológica de contingencia **para el patógeno de interés, al mismo tipo de producto que presentó el resultado inaceptable**. En este caso, se colectará el mismo número de unidades muestrales que dieron origen al resultado o resultados desfavorable/s, durante tres (3) días consecutivos de producción y serán colectadas de lotes elaborados bajo las nuevas medidas de control, en forma posterior al hallazgo.

El EIO o el **MVO, según corresponda**, procederá a la obtención de la/s unidad/es muestral/es de esta segunda contingencia, una vez que **establecimiento complete las acciones correctivas** e indique que la nueva medida de control implementada es eficaz para eliminar el peligro. Esto deberá cumplir con las fechas comprometidas en el informe de causalidad.

#### 5.4.1 Resultados microbiológicos favorables en la segunda contingencia

En el caso de que los resultados de la verificación microbiológica de contingencia sean favorables, es decir ausencia de **STEC o Escherichia coli O157:H7**, se levantará la suspensión de certificación y el establecimiento volverá a verificación microbiológica oficial de rutina.

#### 5.4.2 Resultados microbiológicos desfavorables en la segunda contingencia

En el caso de que los resultados de la verificación microbiológica oficial de la segunda contingencia sean desfavorables, es decir, presencia de **STEC o Escherichia coli O157:H7** en una o más unidades muestrales, la Dirección Regional evaluará la pertinencia de las medidas definidas en el proceso de investigación en base a la Resolución N° 1722.

Dicha decisión debe ser notificada a la SEREMI de Salud, por medio de comunicación escrita con copia al Departamento de Inocuidad y Certificación, entregando todos los antecedentes del caso. De igual forma, el/os lote/s de producto comprometido será/n definido/s como no certificable/s, debe/n ser claramente identificado/s, segregado/s y deberá/n ser puesto/s a disposición de la SEREMI de Salud.

Debido a la reiteración de desvíos de un límite crítico y en razón de lo establecido en el punto 27 de la Resolución Exenta N° 1045, el establecimiento deberá:

- **Realizar la reevaluación de su plan HACCP** (medidas de control definidas para controlar este peligro) y generar un informe detallando sus hallazgos. Si la reevaluación indica que es necesario modificar el plan, esto deberá realizarse inmediatamente a fin de asegurar la salud de los consumidores. Todo cambio y reevaluación deberán quedar registrados.
- **Entregar al MVO un nuevo plan de acciones correctivas y medidas preventivas**. Dicho plan deberá ser enviado por el EIO o el MVO, según corresponda, al Departamento de Inocuidad y Exportaciones.

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

Una vez implementadas las acciones, el nivel regional realizará una auditoría conjunta con el nivel central para evaluar la modificación del plan HACCP. Una vez realizada dicha visita, se procederá a un nuevo monitoreo oficial para evaluar la eficacia del nuevo programa, con una muestra compuesta por 15 unidades muestrales obtenidas en 3 días consecutivos de producción, con 5 unidades muestrales cada día.

En el caso de que los resultados de la verificación microbiológica de contingencia sean favorables, es decir ausencia de **STEC o *Escherichia coli* O157:H7**, se levantará el proceso de contingencia y el establecimiento volverá a la verificación microbiológica oficial de rutina. De no ser así, se mantendrá la decisión aplicada por la Dirección Regional, en base a la Resolución N° 1722.

## 6 GLOSARIO

### 6.1 Abreviaturas

**APT:** Agua Peptonada Tamponada

**ELFA:** Ensayo Fluorescente Ligado a Enzima

**FSIS:** Servicio de Inspección e Inocuidad Alimentaria

**GDS:** Sistema de Detección Genética

**ICMSF:** Comisión Internacional en Requisitos Microbiológicos para Alimentos

**STEC:** *Escherichia coli* productora de toxina Shiga. Para este instructivo las pertenecientes a los serogrupos O26, O45, O103, O111, O121, O145, O157:H7 y O157.

**USDA:** Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

**VIDAS:** Sistema de Inmunoensayo basado en ELFA

## VERIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA OFICIAL

### 6.2 Definiciones

**Acta de Inspección:** Documento utilizado por el MVO en establecimientos con inspección esporádica.

**Laboratorio central del SAG:** Laboratorio que realizará los análisis microbiológicos oficiales para *E. coli* O157:H7 y/o STEC.

**Lote o batch de producción para exportación:** Total de unidades de un tipo de producto elaboradas en un plazo no mayor a un día. Cada lote estará definido por una cantidad igual o inferior a 4.500 Kg.

**Muestra:** Unidad muestral o conjunto de unidades muestrales colectadas en un día dentro de un horario definido.

**Muestreo de contingencia:** Muestreos realizados posteriores a un hallazgo del *E. coli* O157:H7 y/o STEC y que se realizan sobre el mismo tipo de producto muestreado inicialmente.

**Producto no intacto:** Para efectos de este instructivo, corresponderá a trimming, carne molida y hamburguesas.

**Nivel Central:** Unidad de Verificación Microbiológica Oficial del Subdepartamento de Control de Contaminantes.

**Trimming:** Mezcla de componente cárnico y grasa, obtenido del proceso de desposte.

**Unidad muestral:** Cantidad de matriz (producto) colectada para constituirse como unidad muestral de a lo menos 500 gramos.