

MANUAL PARA LA VERIFICACIÓN DE PROGRAMAS MICROBIOLÓGICOS Y DE RESIDUOS TÓXICOS

2019

| | |
|--|--|
| <p>Revisó</p>  <p>MVZ Jorge Paredes Pérez Director de Establecimientos Tipo Inspección Federal</p> | <p>Autorizó</p>  <p>QFB Amada Vélez Méndez Directora General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera</p> |
|--|--|

**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 2 de 71

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| I.- INTRODUCCIÓN | 3 |
| II.- MARCO JURIDICO | 3 |
| III.- OBJETIVO..... | 4 |
| IV.- ALCANCE | 4 |
| VI.- ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS | 5 |
| VII.- AGENTES MICROBIANOS Y QUÍMICOS DE IMPORTANCIA EN ALIMENTOS | 6 |
| 7.1.- Agentes microbianos | 6 |
| 7.2.- Agentes químicos | 7 |
| VIII.- PROGRAMAS MICROBIOLÓGICOS Y DE RESIDUOS TÓXICOS DEL ESTABLECIMIENTO..... | 8 |
| 8.1.- Programas microbiológicos..... | 9 |
| 8.2.- Programa de residuos tóxicos | 34 |
| 8.3.- Verificación oficial | 50 |
| IX. - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 51 |



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 3 de 71

I.- INTRODUCCIÓN

Los sistemas de minimización de riesgos son medidas y procedimientos que tienen como propósito prevenir la contaminación de productos para el consumo humano. En este sentido, los programas de Microbiología y Residuos Tóxicos son procedimientos que deben documentarse para su implementación en la operación diaria de los Establecimientos Tipo Inspección Federal (TIF), de acuerdo a su categoría de proceso, con la finalidad de mantener la producción de alimentos inocuos. Por lo anterior, el Sistema TIF verifica la implementación del programa, toma de muestras, interpretación de resultados y aplicación de acciones correctivas inmediatas y preventivas que lleva a cabo cada establecimiento, a fin de garantizar que los productos elaborados y sus procesos no pongan en riesgo la salud de los consumidores.

II.- MARCO JURIDICO

Nacional

- Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos.
- Ley Orgánica de la Administración Pública Federal.
- Ley Federal de Sanidad Animal y su Reglamento.
- Ley Federal sobre Metrología y Normalización.
- Ley Federal de Responsabilidades Administrativas de los Servidores Públicos.
- Reglamento Interior de la SAGARPA.
- NOM-008-ZOO-1994. Especificaciones zoonosológicas para la construcción y equipamiento de establecimientos para el sacrificio de animales y los dedicados a la industrialización de productos cárnicos.
- NOM-009-ZOO-1994. Proceso sanitario de la carne.
- MODIFICACION a la Norma Oficial Mexicana NOM-009-ZOO-1994, Proceso sanitario de la carne.
- NOM-034-SSA1-1993. Bienes y servicios. Productos de la carne. Carne molida y carne molida moldeada. Envasadas, Especificaciones sanitarias.
- Todos aquellos manuales, procedimientos, oficios y circulares emitidas por la DGIAAP y la DETIF.

Internacional

- Code of Federal Regulations (CFR) Title 9, section 310.25. Contamination with microorganisms; process control verification criteria and testing; pathogen reduction standards.
- Federal Register, Vol. 77, No. 105. Rules and Regulations (May 31, 2012).
- FSIS Directive 5000.1, Verifying an Establishment's Food Safety System - Revision 4 (Mar 4, 2014)
- FSIS Directive 8080.1, Recall of Meat and Poultry Products - Revision 7 (Sep 9, 2013)
- FSIS Directive 10,010.1, Sampling Verification Activities for Shiga Toxin-Producing *Escherichia Coli* (STEC) in Raw Beef Products (Aug 20, 2015)
- FSIS Directive 10,210.1, Unified Sampling Form. Amendment 6-Change Transmittal Sheet (Dec 18, 2003).
- FSIS Directive 10,240.4, Verification Activities for the *Listeria monocytogenes* (Lm) Regulation and the Ready-to-Eat (RTE) Sampling Program. Revision 3 (Jan 10, 2014).

**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 4 de 71

- FSIS Directive 10,240.5, Verification Procedures for Enforcement, Investigations and Analysis Officers (EIAOs) for the *Listeria monocytogenes* (Lm) Regulation and Routine Risk-Based *Listeria monocytogenes* (RLm) Sampling Program. Revision 3 (Mar 28, 2013).
- FSIS Directive 10,250.1, *Salmonella* and *Campylobacter* Verification Program for Raw Meat and Poultry Products (Sep 20, 2013).
- FSIS Directive 10,300.1, Intensified Verification Testing (IVT) Protocol for Sampling of Product, Food Contact Surfaces and Environmental Surfaces for *Listeria Monocytogenes* - Revision 1 (Mar 28, 2013).
- FSIS Laboratory Guidebook. Isolation and identification of *Salmonella* spp. from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, and Catfish Products and Carcass and Environmental Sponges, MLG 4.08 (Jun 29, 2014).
- Todos aquellos acuerdos que se sostengan con aquellos países con quienes se tienen equivalencias en los Sistemas de Inspección Veterinaria, derivado de la evaluación zoonosológica realizada.

III.- OBJETIVO

Proporcionar los fundamentos teóricos para establecer y conducir los procedimientos de verificación de los programas microbiológicos y de residuos tóxicos de los Establecimientos TIF, con la finalidad de evaluar la pertinencia de los programas de muestreo implementados e interpretar los resultados del análisis de materias primas y productos terminados de bienes de origen animal.

IV.- ALCANCE

Este manual aplica a todos los Supervisores de Establecimientos TIF, Médicos Veterinarios Oficiales (MVO) y Médicos Veterinarios Responsables Autorizados en Establecimientos Tipo Inspección Federal (MVRATIF), que tienen bajo su responsabilidad establecimientos que generen bienes de origen animal destinados al mercado nacional e internacional.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 5 de 71

VI.- ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

BPM. - Buenas Prácticas de Manufactura

CENAPA. - Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal

CENASA. - Centro Nacional de Servicios en Diagnóstico de Salud Animal

CDC. - Centro para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos

CFR. - Code of Federal Regulations

DGIAAP. - Dirección General de Inocuidad, Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera

FSIS. - Food Safety Inspection Service

HACCP. - Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control

ICMSF. - Comité Internacional de Especificaciones Microbiológicas en Alimentos

IDA. - Ingesta Diaria Admisible

LMR. - Límite máximo de residuos

MVO. - Médico Veterinario Oficial

MVRATIF. - Médico Veterinario Responsable Autorizado TIF

NMP. - Método del número más probable

NOEL. - Nivel de efecto no-observable

NOM. - Norma Oficial Mexicana

POES. - Procedimientos Operacionales Estándar de Sanitización

SADER. - Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural.

SENASICA. - Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria

STEC. - *Escherichia coli* productora de toxina Shiga

TIF. - Tipo Inspección Federal



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 6 de 71

VII.- AGENTES MICROBIANOS Y QUÍMICOS DE IMPORTANCIA EN ALIMENTOS

7.1.- Agentes microbianos

Los alimentos son sustratos que pueden permitir la sobrevivencia y el desarrollo de diferentes tipos de microorganismos. Estos microorganismos pueden ser parte de la microbiota natural de los alimentos, o bien, llegar a ellos a través de diversas fuentes de contaminación durante su cadena de producción, procesamiento, comercialización, preparación y servicio. Los microorganismos presentes en los alimentos pueden clasificarse en bacterias, hongos (mohos y levaduras), virus, protozoarios y helmintos, y difieren entre sí en su estructura, tamaño, fisiología, reproducción y la forma en que son identificados en los alimentos. Las fuentes de contaminación a partir de las cuales llegan a los alimentos pueden ser el agua, la tierra, el aire, el mobiliario y equipo, los utensilios, los animales y el hombre. Los mecanismos de contaminación pueden ser directo, de origen o cruzada, la cual implica la transfencia de microorganismos de una superficie sucia a una limpia, o de un alimento crudo hacia un alimento listo para consumo mediante el contacto con las manos, con un objeto (fomite) o por contacto directo.

Microorganismos de importancia en carne y productos cárnicos: La carne constituye un alimento con una composición que lo convierte en un sustrato apto para el desarrollo de microorganismos deterioradores y patógenos. Su composición química es variable en las diversas especies animales, y de acuerdo con la raza, variedad genética, tipo de ganado (lechero o carne), género, órgano, tipo de corte, etc. (Fernández Escartín, 2008). En el animal vivo los microorganismos se encuentran en el tracto digestivo, genital externo, respiratorio, piel y superficies externas. Durante la crianza del ganado, el transporte y descanso de los animales previo al sacrificio, las condiciones higiénicas y el bienestar animal, así como la calidad del agua y del alimento influyen en la prevalencia de patógenos en el ganado. Durante el proceso de sacrificio y faenado, la canal se contamina principalmente a partir de la piel durante el desollado y del tracto intestinal durante la evisceración. También participan en la contaminación de la canal, el equipo, los trabajadores, el agua, aire y otras superficies, mientras que los cuchillos pueden introducir microorganismos a partes profundas de los tejidos (Gill, 2005).

El tejido muscular proveniente de animales sanos no contiene microorganismos en su interior, a excepción de las partes externas cuya carga microbiana dependerá de los microorganismos presentes en el animal vivo, las condiciones higiénicas durante el sacrificio y faenado, la aplicación de tratamientos antimicrobianos y la temperatura de almacenamiento de la canal. En el caso de cortes y carne molida, la carga microbiana dependerá de la microbiología de los cortes primarios y subprimarios de donde se obtienen, así como de las condiciones higiénicas de los equipos y utensilios empleados en su procesamiento, de la higiene del personal y de la temperatura y tiempo de almacenamiento (Gill, 2005; Fernández Escartín, 2008). Durante su comercialización, la carne se puede exponer a una diversidad de fuentes de contaminación en donde es común la contaminación cruzada, la falta de procedimientos de higiene que prevengan la adhesión de bacterias a superficies con la subsecuente formación de biopelículas difíciles de remover, y el abuso de temperatura (Farrell, 1998; Gill y McGinnis, 2004).



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 7 de 71

En consecuencia, una diversidad de microorganismos puede estar presente en la carne y productos cárnicos. Esta microbiota puede incluir microorganismos indicadores que revelan fallas en las buenas prácticas de manufactura (BPM), patógenos que representan un peligro para la salud de los consumidores, y deterioradores que acortan la vida útil del producto. Entre los microorganismos indicadores se encuentran la cuenta aeróbica total, los coliformes, las enterobacterias y *Escherichia coli*, cuyo análisis y significado se explicará con mayor detalle en una sección posterior. Los patógenos de mayor importancia incluyen *Salmonella*, *E. coli* productora de toxina Shiga, *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens*, *Yersinia enterocolitica*, *Arcobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, y *Staphylococcus aureus*, y eventualmente pueden estar presentes parásitos como *Trichinella spiralis*, *Taenia* spp. y *Toxoplasma gondii*. Los microorganismos deterioradores corresponden a los grupos de psicrótrofos, lipolíticos, proteolíticos, mucógenos, cromógenos y fermentadores, de entre los cuales los psicrótrofos son un grupo muy importante ya que determinarán la vida de anaquel de la carne en refrigeración. Algunos géneros de bacterias deterioradoras incluyen Gram positivos como *Bacillus*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Kurthia*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Leuconostoc*, *Microbacterium* y *Bochothrix*, mientras que entre los géneros Gram negativos pueden encontrarse *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Proteus*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Psychrobacter* y *Citrobacter*. Las especies de mohos más importantes en la carne pertenecen a los géneros *Cladosporium*, *Thamnidium*, *Sporotrichum*, *Monilia*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Monascus* y *Alternaria* aunque su participación en el deterioro de la carne cruda es muy limitado debido a que desarrollan más lentamente que las bacterias (Fernández Escartín, 2008; Jay y col, 2008).

7.2.- Agentes químicos

En los alimentos, incluyendo aquellos de origen animal y vegetal, pueden estar presentes sustancias extrañas en forma de residuos o de contaminantes y es importante diferenciar ambos términos. Cuando se utilizan medicamentos veterinarios en animales, los posibles compuestos remanentes en los tejidos de los animales se definen como residuos. En este caso, es posible limitar su concentración por diferentes métodos: a) prohibición de la aplicación de ciertos compuestos, b) establecimiento de períodos de espera entre la última aplicación y el uso del producto como alimento, y c) fijación de límites máximos de residuos. En el caso de los contaminantes, los compuestos entran a la cadena alimentaria de forma no intencional ni controlada, y esto puede ocurrir durante la producción del alimento o en el transcurso de su procesamiento. Las fuentes más comunes de contaminación química de los alimentos pueden provenir de diferentes orígenes, como se muestra en el Cuadro 1. Es importante comprender que las medidas que podrían reducir los niveles de residuos no son, por tanto, aplicables generalmente a los contaminantes.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 8 de 71

Cuadro 1. Fuentes de contaminación química hacia los alimentos

| Origen | Contaminantes |
|--|--|
| Incorporados durante el proceso de obtención de la materia prima | <ul style="list-style-type: none"> • Medicamentos y otros agentes utilizados para la prevención y el control de enfermedades • Promotores del crecimiento • Microorganismos de importancia toxicológica • Residuos de plaguicidas • Compuestos metálicos y metales • Compuestos radioactivos |
| Incorporados durante el procesamiento | <ul style="list-style-type: none"> • Residuos del procesamiento • Radionúclidos |
| Incorporados durante el almacenaje | <ul style="list-style-type: none"> • Sustancias migrantes del embalaje • Sustancias químicas de fuentes externas |

La presencia de residuos de medicamentos veterinarios, promotores del crecimiento y plaguicidas en los alimentos de origen animal constituye una preocupación en el campo de la salud pública. Existen antecedentes que demuestran efectos perjudiciales para la salud de los consumidores incluyendo alergias medicamentosas, sinergismos o inhibiciones terapéuticas, resistencia microbiana, teratogenicidad, mutagenicidad, carcinogenicidad, cambios morfo-fisiológicos por sustancias hormonales, entre otros. Las buenas prácticas de manejo en la producción agrícola y pecuaria, así como la utilización racional de la terapéutica veterinaria posibilita su reducción biológica natural hasta niveles aceptables en los animales antes del sacrificio.

VIII.- PROGRAMAS MICROBIOLÓGICOS Y DE RESIDUOS TÓXICOS DEL ESTABLECIMIENTO

Los programas microbiológicos y de residuos tóxicos son herramientas de verificación que permiten determinar que el Plan HACCP implementado en un establecimiento controla los peligros en el alimento. Estos programas describen los criterios microbiológicos y límites de residuos a cumplir y los planes de muestreo a ejecutar. Deben basarse en principios científicos considerando los peligros significativos en el producto y planes de muestreo con fundamentos estadísticos.

Cada Establecimiento TIF tiene la responsabilidad de desarrollar, implementar y mantener vigente un programa de microbiología y residuos tóxicos con el objetivo de prevenir la contaminación de productos para el consumo humano, por tal razón, se requiere que el programa cumpla con los requisitos básicos para su implementación, verificación e interpretación de resultados. Para demostrar que se está llevando a cabo el programa, el establecimiento deberá mantener registros y resultados suficientes que permitan documentar la aplicación y el seguimiento de sus muestreos microbiológicos y cualquiera de las acciones correctivas y preventivas implementadas. Así mismo, la gerencia será la tutelar para que se apliquen los procedimientos a través de personal suficiente, quienes serán los responsables de desarrollar, implementar, supervisar, verificar y mantener el programa de microbiología y residuos tóxicos.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 9 de 71

8.1.- Programas microbiológicos

Para desarrollar e implementar un programa microbiológico, es importante conocer los microorganismos de importancia de acuerdo al proceso (o procesos) que desarrolle cada establecimiento, mismos que serán analizados por el establecimiento y que pueden ser, más no están limitados a la siguiente clasificación:

Microorganismos indicadores de procesos

El término indicadores en la microbiología del agua y alimentos se refiere a microorganismos, grupos de microorganismos, o sus productos metabólicos cuyo empleo permite evaluar su calidad e inocuidad, el cumplimiento con normas de higiene durante la obtención, elaboración, procesamiento, almacenamiento, distribución y comercialización de los alimentos. Se utilizan para determinar la aceptabilidad microbiológica del agua, materias primas, producto en proceso, producto terminado y superficies, así como para validar medidas de control y como indicadores de proceso. Algunos de éstos microorganismos, grupos microbianos o metabolitos son la causa del deterioro de los alimentos y afectarán su calidad y vida de anaquel. Otros indicadores pueden advertir que un alimento se ha expuesto a condiciones que generan un riesgo de contaminación con patógenos, o que se ha mantenido en condiciones que favorecen su crecimiento, por lo que pueden emplearse con un enfoque de prevención.

Es común referirse a los indicadores en función de su utilidad como indicadores de buenas prácticas higiénicas o indicadores de proceso, indicadores de contaminación fecal e índices. Los **indicadores de proceso**, proporcionan datos para medir la efectividad de un sistema de inocuidad para controlar peligros microbiológicos en un alimento (Buchanan, 2000). Además, son utilizados para verificar y validar la eficacia de los programas de prerrequisito como las BPM y los Procedimientos Operativos Estándar de Saneamiento (POES).

Para elegir el indicador ideal, se debe determinar su validez, utilidad y eficacia; para ello se debe considerar y evaluar el comportamiento del patógeno de interés, las características del alimento, del proceso de manufactura, del ambiente, el sistema de distribución, y las bases metodológicas para su análisis (Buchanan y Oni, 2012). Implica también considerar los riesgos de la presencia de patógenos, siempre con un enfoque preventivo. A continuación se mencionan las características de diversos tipos de indicadores que son útiles en alimentos de origen animal y su interpretación.

Mesófilos aerobios (cuenta aeróbica en placa o cuenta total). Representa la población de bacterias capaces de formar colonias visibles bajo las condiciones de cultivo establecidas en el método de laboratorio (mesófilas y aeróbicas). Es útil para evaluar la exposición de ciertos alimentos a fuentes de contaminación, sus condiciones de almacenamiento, su nivel de frescura, la eficiencia de tratamientos antimicrobianos y para predecir su vida de anaquel. Su interpretación dependerá siempre del alimento en cuestión, lo que implica tener un conocimiento del producto, del proceso o distribución durante el cual se colectó la muestra, así como de las condiciones en las cuales se realizó la técnica de análisis (Fernández Escartin, 2008; NOM-092-SSA1-1994).

La cuenta de mesófilos aerobios también se utiliza para medir el efecto de la implementación de un Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP, por sus siglas en inglés) en



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 10 de 71

plantas de sacrificio de cerdos (Hong y col, 2008); para evaluar la eficacia de las medidas de control implementadas en establecimientos de sacrificio de bovinos (Ruby y col., 2007). Es un criterio microbiológico útil para evaluar la calidad microbiológica de productos cárnicos cocinados, hortalizas cocinadas y congeladas, frutas deshidratadas, mayonesas y aderezos para ensaladas, margarina y mantequilla, leche cruda, leche en polvo y fórmulas infantiles (ICMSF, 2011). Las condiciones de análisis incluyen el uso de un medio de cultivo nutritivo (elaborado a base de triptona, extracto de levadura, glucosa y agar) e incubación a $35\pm 1-2^{\circ}\text{C}$ por $24-48\pm 2$ horas (Maturin y Peeler, 2001; NOM-092-SSA1-1994).

Mohos y levaduras. Los mohos y las levaduras se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, por lo que suelen ser parte de la microbiota de muchos alimentos; se dispersan fácilmente por el aire y el polvo. Ciertas especies de mohos y levaduras son útiles en la elaboración de algunos alimentos, sin embargo, también pueden ser causantes de la descomposición y diversas cepas han sido involucradas en brotes de intoxicación ya que algunas de ellas pueden producir micotoxinas.

Desarrollan en un amplio margen de valores de pH, desde <2 hasta >9 , en rangos de temperatura desde 0 hasta 62°C (Beuchat y Cousin, 2001). Crecen en condiciones de baja humedad y en alimentos con valores de actividad de agua (Aa) de 0.85 o menor, aunque la mayoría lo hace en valores de Aa cercanos a 1.0 . También desarrollan en alimentos con alto contenido en sales o carbohidratos, en condiciones de baja temperatura de almacenamiento y presencia de antibióticos u otros antibacterianos. La totalidad de los mohos importantes en alimentos son aerobios estrictos (Fernández Escartín, 2008), pero las levaduras pueden desarrollar en ausencia total de oxígeno (Pit y Hocking, 2009). Como grupo indicador son útiles para evidenciar grado general de contaminación en alimentos o cuando los mesófilos aerobios no son útiles, como es el caso de alimentos fermentados con bacterias. Indican el grado de frescura, especialmente en los alimentos procesados como los lácteos de baja Aa y derivados de cereales. También son indicadores del riesgo potencial de desarrollo de hongos toxigénicos en alimentos como frutos secos, especias, cereales y otros granos, y sus derivados.

Existen una variedad de medios y técnicas para el recuento, aislamiento e identificación de mohos y levaduras en alimentos, tanto para el grupo en general como para géneros particulares. El recuento en placa puede realizarse a partir de diluciones decimales de la muestra, mediante vaciado en placa en medios selectivos acidificados o adicionados con antibióticos para inhibir el crecimiento bacteriano, o mediante el uso de placas Petrifilm™. Otras técnicas apropiadas para algunos alimentos son el Número Más Probable (NMP), la filtración por membrana y el método filtro de membrana hidrofóbica (National Research Council, 1985; NOM-111-SSA1-1994).

Coliformes totales. Las bacterias del grupo coliforme se definen como bacilos cortos, Gramnegativos, anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa a 35°C en 48 horas o menos, con producción de ácido y gas. Los géneros más representativos de este grupo son *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Su hábitat natural es el contenido intestinal del hombre y diversos animales y durante mucho tiempo se consideraron evidencia de contaminación fecal en alimentos, pero este concepto ya no es válido debido a que tienen capacidad para sobrevivir fuera del intestino y multiplicarse en la materia orgánica, y que pueden recuperarse de una gran cantidad de sustratos como piel de animales, vegetales, insectos, aguas superficiales, tierra y materiales diversos.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 11 de 71

Actualmente, los coliformes totales se consideran un buen indicador de la eficiencia de los procesos de sanitización y desinfección, así como de la calidad sanitaria del agua. En los alimentos su significado depende del tipo de alimento y del procesamiento al que ha sido sometido. Por ejemplo, debido a que los coliformes son fácilmente destruidos durante la pasteurización, en leche y productos lácteos pasteurizados su presencia indica fallas en la eficacia del proceso y/o fallas en las BPM post-tratamiento térmico (Fernández Escartín, 2008). Esta sensibilidad de los coliformes a los tratamientos térmicos, hace que sean buenos indicadores de la eficacia del proceso y/o fallas en las BPM post-tratamiento en ciertos productos cárnicos.

Su determinación se basa en su capacidad para fermentar lactosa con producción de ácido y gas. Se puede utilizar el método del número más probable (NMP) que es un método estadístico en tres etapas. Este método es laborioso pero permite el hallazgo de concentraciones muy bajas de coliformes por gramo o mililitro de muestra, las cuales se calculan a partir del número de tubos positivos a la presencia de gas de acuerdo con tablas estadísticas especialmente diseñadas para interpretar el recuento de microorganismos. También se pueden detectar por cuenta en placa utilizando agar bilis-rojo violeta (ABRV), por el método de filtración por membrana e incubación en medios selectivos adecuados como el agar Endo. Actualmente es muy común el uso de métodos rápidos como las placas Petrifilm™ (3M) y los caldos de cultivo fluorogénicos para el NMP (NOM-112-SSA1-1994; NOM-113-SSA1-1994; Kornacki y Johnson, 2001).

Coliformes termotolerantes (fecales). Dentro del grupo coliforme, existe un subgrupo de bacterias capaces de fermentar lactosa produciendo ácido y gas a temperatura de 44.5 °C y 45.5 °C dentro de 48 horas, por lo cual se denominan termotolerantes. Este grupo está constituido principalmente por la especie *Escherichia coli* pero también por especies del género *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter*. Inicialmente se llamó a este grupo "coliformes fecales" ya que su origen se relacionó principalmente con la materia fecal de animales, sin embargo, debido a su capacidad para permanecer y multiplicarse en ambientes fuera del intestino, esta denominación ha caído en desuso y ahora es más apropiado el término "coliformes termotolerantes" (Kornacki y Johnson, 2001).

Su significado en alimentos dependerá del tipo de alimento en cuestión. Este indicador tiene utilidad para evaluar la calidad microbiológica de productos del mar como pescados, moluscos y crustáceos, así como del agua en donde estos se cosechan (American Public Health Association, 1970; NOM-242-SSA1-2009). También se utiliza para evaluar la eficacia de procesos de composteo, ya que se inactivan de manera similar a los patógenos entéricos (Román y col., 2013). La determinación se hace a partir de la segunda etapa (confirmativa) del método del NMP, cultivando en caldo EC con incubación a 44.5 °C por 24 horas para confirmar la fermentación de lactosa a temperatura elevada.

Escherichia coli. Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y su hábitat es el intestino del hombre y animales de sangre caliente. Inicialmente se le propuso como indicador de contaminación fecal y de la probable presencia de patógenos en agua y alimentos por su abundancia en las heces y su fácil detección (Feng y col, 2002). Sin embargo, numerosas evidencias señalan que su hallazgo no puede considerarse de manera universal como indicador de contaminación fecal ya que puede multiplicarse fuera del hábitat intestinal y su presencia en alimentos no guarda correlación con la presencia de



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 12 de 71

patógenos. El significado de su recuento dependerá de cada alimento (Fernández Escartín, 2008), por ejemplo, en el agua, el recuento de *E. coli* se considera indicador de contaminación fecal reciente, además de que se encuentra en aguas residuales, en aguas y suelos sujetos a una contaminación fecal reciente proveniente de humanos, animales silvestres o actividad pecuaria (Payment y col, 2003). Su presencia en agua tratada (potabilizada) se interpreta como una falla en el tratamiento de potabilización.

En carne cruda, la presencia de *E. coli* sirve para evaluar la eficacia del proceso de faenado para evitar la contaminación fecal de las canales en establecimientos de sacrificio y es un indicador de las BPM en la producción de cárnicos crudos intactos y no intactos (USDA, 1996; Barco y col, 2015). En alimentos sometidos a procesamiento térmico, su presencia indica fallas en la eficacia del proceso y/o fallas en las BPM post-tratamiento térmico. El alimentos fermentados, señala fallas en las BPM.

El recuento de *E. coli* puede realizarse como una continuación del método del NMP para coliformes termotolerantes, en donde a partir de cada tubo de EC positivo a la producción de gas, se estra una alícuota en agar eosina-azul de metileno (EMB, por sus siglas en inglés). Las colonias típicas de *E. coli* se confirman por las pruebas bioquímicas de indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato (IMVIC) (Feng y col, 2002; NOM-112-SSA1-1994), o por medio de sistemas miniaturizados como API® y VITEK® (bioMérieux), entre otros. También se puede realizar su recuento en caldo triptona con la prueba de indol y en caldo EC-MUG para determinar la presencia de la enzima β -glucuronidasa exclusiva de *E. coli* que reacciona con el sustrato fluorogénico β -D-glucurónido-4-metilumbeliferona (MUG) presente en el caldo de cultivo. El método de recuento con placas Petrifilm™ (3M) es de los más comunes en la actualidad y también se basa en la detección del enzima β -glucuronidasa.

Enterobacteriaceae (enterobacterias). La familia *Enterobacteriaceae* comprende múltiples géneros y especies de bacterias Gram negativas, no esporuladas, anaerobias facultativas. Está integrada por 48 géneros bacterianos (Baylis y col, 2011) de los cuales los más comunes son *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* y *Yersinia* (Kornacki y Johnson, 2001). Los miembros de esta familia se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y algunas especies pueden ser patógenas para el hombre, para plantas e insectos.

El recuento del grupo de las enterobacterias en alimentos se utiliza como indicador de procesos y su interpretación también depende del tipo de alimento analizado. En alimentos procesados térmicamente son un buen indicador de la eficacia del proceso térmico y de problemas de contaminación post-proceso, así como de fallas en las BPM. A pesar de que el hábitat natural de muchas de las especies de esta familia es el tracto intestinal del humano y de animales, su significado como indicadores de contaminación fecal solo aplica en ciertos alimentos como carnes crudas, pescados y mariscos frescos. El recuento de este grupo es un buen indicador de BPM en alimentos recientemente procesados, pero no a lo largo o al final de su vida de anaquel.

El recuento de *Enterobacteriaceae* puede realizarse por métodos diversos que basan en la capacidad de las bacterias para desarrollar en medios selectivos y fermentar la glucosa (Paulsen y col, 2008). El método ISO 21528-1:2004 se basa en el recuento del grupo en Agar Bilis y Rojo Violeta (ABRV) con glucosa y confirmación de colonias típicas por prueba de oxidasa y prueba de fermentación de glucosa en medio basal de Hugh y Leifson (OF). Como alternativas más rápidas se encuentra el método



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 13 de 71

Petrifilm™ (3M) así como el método TEMPO® (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, Francia) en donde un equipo automatizado realiza la técnica del NMP usando sustratos fluorogénicos, lo que permite un considerable ahorro de tiempo y trabajo.

Microorganismos patógenos

Escherichia coli productora de toxina Shiga (STEC). Algunas cepas de *E. coli* provocan enfermedades en humanos, principalmente infecciones gastrointestinales, urinarias o del sistema nervioso central, sobre todo en individuos inmunocomprometidos. Las cepas de *E. coli* patógena que producen enfermedad gastrointestinal en humanos se dividen en seis categorías o patotipos, según sus propiedades de virulencia y los síndromes clínicos que producen: *E. coli* enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC), enterotoxigénica (ETEC), de adherencia difusa (DAEC), enteroinvasiva (EIEC) y enterohemorrágica (EHEC) (Kaper y col, 2004). Se reconoce que existe un amplio grupo de cepas de *E. coli* que producen toxinas semejantes a la toxina de *Shigella*, y por ello, se le denomina *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC). Dentro del grupo STEC, se han identificado más de 300 serotipos, pero no todos se asocian a enfermedades. Las cepas del patotipo EHEC constituyen un subgrupo de STEC que se caracteriza por producir diarrea hemorrágica. El serotipo STEC O157:H7 ha sido el más estudiado y es el más común en Norteamérica, mientras que los serotipos no-O157 son más prevalentes en Europa, Australia y América Latina. La importancia de los serotipos no-O157 ha sido subestimada debido a que los métodos de diagnóstico y vigilancia epidemiológica se enfocaron durante mucho tiempo al O157:H7.

STEC causa enfermedad después de ser ingerida (la dosis infectiva es menor a 100 células, dependiendo de la susceptibilidad de cada persona), de sobrevivir la acidez del tracto gastrointestinal (TGI) superior y colonizar el TGI inferior. Algunas infecciones por STEC son asintomáticas, pero comúnmente se caracterizan por una diarrea acuosa con dolor abdominal y en ocasiones con náusea y vómito. En algunos pacientes, después de 1 a 2 días, la diarrea acuosa progresa a una diarrea hemorrágica (colitis hemorrágica) y entre el 5 y 10% de los pacientes desarrollan una complicación llamada síndrome urémico hemolítico (SUH), caracterizada por insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia. El SUH se presenta de 2 a 14 días después del inicio de la diarrea y es más frecuente en niños y ancianos. Cerca del 10% de los pacientes con SUH sufre daño renal permanente o muere. Según los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC, por sus siglas en inglés) se estima que en ese país se presentan 96,534 casos de enfermedad por STEC O157 cada año y 168,698 por STEC no-O157, lo que genera 3,673 hospitalizaciones y 31 muertes (Scallan y col., 2011). Este patógeno no es de notificación obligatoria en nuestro país y no contamos con datos sobre su impacto en la salud pública.

El ganado bovino es el reservorio más importante de STEC ya que la bacteria puede formar parte de su microbiota intestinal. Por esta razón, en los establecimientos de sacrificio se puede contaminar la carne en canal por contacto con heces o con la piel del animal si no se siguen procedimientos apropiados de sacrificio y faenado. En 1994, el Servicio de Inspección e Inocuidad Alimentaria (FSIS, por sus siglas en inglés) del Departamento de Agricultura (USDA), declaró que la presencia de *E. coli* O157:H7 en carne molida de res es un adulterante, y estableció programas de muestreo y procedimientos de verificación para el patógeno. Recientemente se ha demostrado que otras cepas de STEC de los serogrupos O26, O45, O103, O111, O121, y O145 (llamadas "los seis grandes" o "big six")



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 14 de 71

causan enfermedades similares al serotipo O157:H7 y son causa de brotes por consumo de alimentos. Por ello, el FSIS declaró que todos aquellos productos intactos y no intactos de carne de res destinados a la producción de productos no intactos, se consideran adulterados si se encuentran contaminados con STEC O157:H7, O26, O45, O103, O111, O121 ó O145 (USDA, 2011). Los procedimientos de verificación para el control de STEC en la industria cárnica de los Estados Unidos iniciaron en el 2012, incluyendo recortes y componentes destinados a la producción de carne molida de res, y carne molida doméstica e importada (Directivas del FSIS 10,010.1 y 10,010.2).

Salmonella. Bacteria Gram negativa de la familia *Enterobacteriaceae* que tiene forma de bacilo; no forma esporas y es anaerobia facultativa, generalmente móvil. Las cepas de *Salmonella* se clasifican en serotipos de acuerdo con sus antígenos O (somático), Vi (capsular) y H (flagelar). Se han descrito 2,659 serotipos diferentes, pero la mayoría de las infecciones son causadas por cerca de 100 de ellos (Issenhuth-Jeanjean y col., 2014). Los serotipos de *Salmonella* difieren no solo en su estructura antigénica, sino en sus reservorios, distribución geográfica, comportamiento y capacidad para causar infección. En los Estados Unidos, se reporta que 20 serotipos son los más comúnmente relacionados con infecciones en humanos y corresponden al 69% del total de aislamientos reportados a los CDC, siendo los principales *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* y *S. Newport*.

Salmonella puede causar dos tipos de enfermedad en humanos, la fiebre tifoidea causada por los serotipos *S. Typhi* y *S. Paratyphi* adaptados al humano, y que consiste en una enfermedad sistémica ya que la bacteria logra colonizar el TGI, invadir las células epiteliales del intestino, evadir la respuesta inmune del hospedero e invadir diferentes órganos del cuerpo. La otra enfermedad es la salmonelosis, está asociada a serotipos no adaptados al humano y consiste en una infección gastrointestinal con síntomas como fiebre, dolor abdominal, diarrea, náusea y ocasionalmente vómito; en la mayoría de los casos éstos síntomas son leves y la enfermedad es autolimitante, sin embargo en pacientes inmunocomprometidos, niños y ancianos, la enfermedad puede ser grave y causar la muerte. *Salmonella* posee factores de virulencia como adhesinas, sistemas de secreción de proteínas, factores de invasión y producción de toxinas que le permiten sobrevivir de forma intracelular, y los genes que codifican para estos factores se localizan en el cromosoma o en plásmidos, en regiones conocidas como islas de patogenicidad.

La enfermedad se contrae por consumir agua y alimentos contaminados, principalmente de origen animal como carnes, huevo, leche, pescados y mariscos, así como productos hortofrutícolas, nueces y alimentos preparados de composición diversa. Durante 1990 al 2005 se registraron en EUA, 182 brotes de salmonelosis asociados al consumo de carne molida y 197 relacionados a otros productos cárnicos de res. Se estima que cada año se presentan 1,229,007 casos de salmonelosis en ese país, de los cuales 23,128 pacientes son hospitalizados y 452 mueren (Scallan y col., 2011). En México se registraron 75,855 casos de salmonelosis en el 2015, pero esta cifra representa un bajo porcentaje de los casos reales y lamentablemente no contamos con estimaciones para calcular el verdadero impacto en la salud pública.

Salmonella se encuentra distribuida en múltiples reservorios animales, tanto de abasto, domésticos y silvestres. Puede aislarse con frecuencia del contenido intestinal del humano, así como de aves, cerdos, bovinos, gatos, perros, reptiles, anfibios y peces. También puede establecer relaciones epifíticas con plantas y sobrevivir en el medio ambiente (suelos, agua y superficies diversas) por largos



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 15 de 71

periodos de tiempo. A partir de sus múltiples reservorios y del medio ambiente ingresa a la cadena de producción de los alimentos.

En 1996, el FSIS estableció un programa de verificación para *Salmonella* como parte de la Regla Final 61FR 38806 de reducción de patógenos mediante el sistema HACCP. En esta reglamentación se establecieron estándares de desempeño para *Salmonella* en productos cárnicos crudos con la finalidad de reducir el número de casos de salmonelosis asociados al consumo de este tipo de productos. De esta forma, se estableció un estándar de desempeño para *Salmonella* en canales de terneros de bovino del 1% (por cada 82 muestras analizadas (n), puede haber un máximo de 1 muestra positiva (c)), del 2.7% en canales de bovinos adultos (n= 58, c=2), del 7.5% en carne molida de res (n=53, c=5) y del 8.7% en canales de cerdo (n=55, c=6). Recientemente, el FSIS señaló en su Directiva 10,250.1 del año 2013, que ha dejado de recolectar muestras para verificación de *Salmonella* en canales de res y de cerdo de forma rutinaria y que sólo realizará la verificación de estos patógenos con propósitos especiales, pero los muestreo rutinarios para *Salmonella* continúan vigentes en recortes y componentes para fabricación de carne molida y para carne molida nacional y de importación (Directiva 10,010.1 Rev 4, 2015).

Listeria monocytogenes. Es un bacilo Gram positivo, anaerobio facultativo, no forma esporas y puede multiplicarse en temperaturas de refrigeración (psicrótrofo). El género *Listeria* comprende 17 especies, de las cuales *L. ivanovii* es patógena para rumiantes y sólo *L. monocytogenes* causa enfermedad en humanos (Orsi y Wiedmann, 2016). La dosis infectante varía según la susceptibilidad de cada individuo y el alimento que se ingiera, pero no es tan baja como la de otros patógenos entéricos. En brotes asociados a leche cruda se calculó en menos de 1,000 células. La enfermedad se denomina listeriosis y en su forma leve es una gastroenteritis cuyos síntomas aparecen de 2 a 3 días después de haber ingerido el alimento contaminado y consisten en fiebre, dolor muscular, náusea, vómito y en ocasiones diarrea; esta forma se presenta en personas inmunocompetentes. En personas inmunocomprometidas, la listeriosis suele ser invasiva y causar septicemia, meningitis, encefalitis, aborto o parto prematuro y listeriosis neonatal. La mortalidad general va del 15 al 30% y que puede llegar al 70% cuando hay meningitis (FDA, 2012). La capacidad de *L. monocytogenes* para causar enfermedad invasiva se debe a que penetra las células del epitelio intestinal y se multiplica dentro de éstas gracias a que produce proteínas como la Listeriolisina O, fosfolipasas, internalinas y el factor regulador positivo A (Freitag y col, 2009).

El hábitat primario de *L. monocytogenes* es la tierra y los vegetales, pero también habita en gran variedad de animales incluyendo bovinos, cerdos, ovinos, pollos, pavos, patos, entre otros, y en diversos ambientes terrestres, acuáticos y de procesamiento de alimentos. El patógeno resiste la desecación y otros factores ambientales adversos y posee gran capacidad de adaptación para sobrevivir largos periodos de tiempo en el ambiente antes de encontrar un hospedero para comportarse como patógeno intracelular (Freitag y col, 2009). Los alimentos como la leche cruda y los productos lácteos no pasteurizados son muy importantes en la transmisión de la listeriosis, al igual que los alimentos LPC, principalmente los de vida de anaquel en refrigeración mayor a 10 días, debido al carácter psicrótrofo del patógeno. Se estima que *L. monocytogenes* provoca 1,662 casos anuales en EUA, de los cuales 1,520 (94%) requieren hospitalización y 266 mueren (Scallan y col., 2011). En México la listeriosis no es una enfermedad de notificación obligatoria, por lo cual no contamos con estadísticas para calcular su impacto en la salud pública de nuestra población.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 16 de 71

En los Estados Unidos, un alimento listo para consumo se considera adulterado si contiene *L. monocytogenes*, o si ha estado en contacto directo con una superficie contaminada con el patógeno. De acuerdo con el Código de Regulaciones Federales de ese país (9 CFR 430.4), los establecimientos que producen alimentos listos para consumo expuestos al ambiente después de recibir un tratamiento de letalidad, están obligados a controlar este patógeno a través de un Plan HACCP, y a prevenir su presencia en el ambiente de procesamiento a través de POES u otros programas de pre-requisitos, y para mantener las condiciones sanitarias necesarias deben cumplir con alguna de las tres alternativas de control ahí descritas (FSIS, 2003).

Campylobacter spp. Las especies de este género son bacilos curvados pequeño en forma de S, Gram negativos, se mueven mediante un flagelo polar en uno o ambos extremos y no producen esporas. Es una bacteria que crece entre 32 y 45°C con óptimo de 42°C, microaerofílica obligada, la atmósfera más favorable para su desarrollo es de aproximadamente 5% de oxígeno, 8% CO₂ y 87% de N₂ (FDA, 2012; Fernández Escartín, 2008; Ray y Bhunia, 2014). Se trata de una bacteria frágil al ambiente y algo difícil de cultivar en el laboratorio; es sensible a la desecación, calentamiento, congelación, desinfectantes y a condiciones ácidas (FDA, 2012; Montville y col, 2008). Se han descrito 25 especies, de las cuales *C. jejuni*, *C. coli* y *C. fetus* son causa de gastroenteritis en humanos (FDA, 2012; Ray y Bhunia, 2014). La bacteria no se recupera del medio ambiente, su hábitat es el tracto intestinal de animales de sangre caliente como bovinos, ovinos, cerdos, patos, pollos, pavos, animales domésticos y otros, a los cuales no les causa daño (Fernández Escartín, 2008; FDA, 2012). La patogenicidad de *C. jejuni* depende de su habilidad de adherirse e invadir el epitelio de las células por medio de flagelos, fimbrias y otras proteínas de adhesión. Produce toxinas como la citoletal de distensión, hemolisina y fosfolipasa, responsables de los síntomas entéricos; también produce un factor de invasión que le permite invadir y establecerse en las células del epitelio de ambos intestinos (Ray y Bhunia, 2014). La dosis infectante es de 500 células aproximadamente y el período de incubación es de 2 a 5 días. Los principales síntomas son calambres abdominales, diarrea profusa, náusea y vómito, pero otros síntomas incluyen fiebre, dolor de cabeza y calosfríos. La enfermedad es llamada campilobacteriosis y consiste en una gastroenteritis limitante que en algunos casos se manifiesta como diarrea con sangre y ocasionalmente causa septicemia en personas hipersensibles.

Una secuela de la campilobacteriosis es una enfermedad crónica llamada síndrome de Guillain-Barre, que consiste en una parálisis debilitante generalizada que puede progresar hasta producirse un paro respiratorio. Otra secuela puede ser la artritis conocida como síndrome de Reiter que se caracteriza por artritis, uretritis y conjuntivitis (Fernández Escartín, 2008; Ray y Bhunia, 2014).

Se estima que las especies patógenas de *Campylobacter* ocupan el primer lugar como causa de enfermedades transmitidas por alimentos en EUA con 1'322,137 casos anuales, de los cuales 13,240 (17.1%) requieren hospitalización y 119 mueren (Scallan y col, 2011). Debido a su importancia como causa de ETA en ese país, en 2015 se incluyó dentro el programa de verificación para *Campylobacter* en aves, el análisis para este patógeno en la carne de aves que ingresen al mercado de los Estados Unidos (USDA, 2015) para identificar tendencias en su prevalencia y determinar si los aislamientos tienen asociación con casos de enfermedad en humanos. En México la campilobacteriosis no es una enfermedad de notificación obligatoria, por lo cual no conocemos su impacto en la salud pública de nuestra población.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 17 de 71

Como *C. jejuni* habita en el intestino de animales y aves, se aísla con gran frecuencia a partir de sus heces, así como de heces de portadores. En Canadá ha sido aislado del 65% de pollos, del 26% de bovinos y del 2% de aves silvestres, mientras que en Suiza la frecuencia de aislamiento en pollos, bovinos y cerdos fue del 71, 19 y 1%. También se ha aislado de agua, aguas residuales, vegetales y alimentos de origen animal. Los alimentos se pueden contaminar directamente con materia fecal de animales y el hombre o indirectamente por aguas residuales y agua contaminada. Se ha aislado en alta frecuencia de carne cruda de res, cordero, cerdo, pollo y pavo, de huevos, leche, vegetales, champiñones y almejas (Skarp, 2016). Los alimentos implicados principalmente en brotes han sido leche cruda y la carne de aves insuficientemente cocinada, además del agua, aunque también han sido vehículo de brotes los productos lácteos, productos de panadería, comida china y huevos. Su presencia en alimentos procesados por calor se relaciona con contaminación cruzada posterior al tratamiento o manejo inadecuado (FDA, 2012; Ray y Bhunia, 2014).

El control de *C. jejuni* a nivel de granjas de aves consiste en establecer medidas de bioseguridad, la aplicación de intervenciones en el alimento y el agua de bebida. Medidas adicionales como la vacunación, terapia fágica, bacteriocinas. Es difícil evitar la presencia de *C. jejuni* en alimentos crudos, principalmente los de origen animal, pero su presencia puede reducirse con la aplicación de intervenciones para reducir la contaminación durante el procesamiento de la carne y aves, y mediante procedimientos adecuados de higienización durante el procesamiento y posterior a este (Doyle y Buchanan, 2013). La aplicación de tratamientos térmicos, entre estos la pasteurización y la prevención de la contaminación post-tratamiento de calor son medidas importantes, así como evitar el consumo de alimentos crudos de origen animal. La aplicación de buenas prácticas de higiene y evitar el manejo de alimentos por personas enfermas, particularmente los listos para consumir (Fernández Escartín, 2008; Ray y Bhunia, 2014).

Clostridium perfringens. Este microorganismo es una bacteria Gram positiva, móvil, formadora de esporas ovoides sub-terminales y de cápsula. Es anaeróbica pero tolera el oxígeno. Las células vegetativas son sensibles a tratamientos térmicos leves, pero sus esporas son muy resistentes al calor, de forma que sobreviven la ebullición por varias horas. La temperatura necesaria para el desarrollo de las células vegetativas y la germinación de sus esporas está entre 10-52°C, con una óptima de 45°C aproximadamente. Este microorganismo desarrolla fácilmente en alimentos ricos en proteínas, y en condiciones óptimas sus células se multiplican cada 10 minutos, aunque el desarrollo es más lento cuando el pH se encuentra por debajo de 5.0, en presencia de cloruro de sodio por arriba del 5.0%, cuando la actividad de agua A_w es menor a 0.93, y/o en presencia de 500 ppm de nitrito. Sus esporas se encuentran en el suelo, polvo, el contenido intestinal de animales, aves y humanos, las cuales se convierten en fuentes de contaminación hacia los alimentos (Montville y col, 2008; Ray y Bhunia, 2014).

Las cepas de *C. perfringens* se clasifican en cinco tipos toxicológicos (A, B, C, D y E) con base en la producción de cuatro toxinas llamadas alfa, beta, épsilon, e iota, pero la mayoría de las cepas producen toxina alfa. Sólo las cepas de *C. perfringens* tipo A y C han sido asociadas con gastroenteritis humana. Las toxinas que producen las cepas A y C son proteínas estables al calor, que se producen durante la esporulación de la bacteria en el intestino (Bryan, 1969; Fernández Escartín, 2008). La enterotoxina producida se une a una proteína receptora claudina en las células del epitelio intestinal, se inserta dentro de la membrana y cambia su permeabilidad lo que resulta en pérdida de agua y electrolitos (Na^+ y Cl^-) y aumento del peristaltismo, causando la gastroenteritis. La enterotoxina también causa la muerte

**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 18 de 71

de las células epiteliales dañando las microvellosidades intestinales y produciendo necrosis. Los síntomas se presentan de 8 a 24 horas después de la ingestión de un alimento contaminado con más de 500,000 células/gramo. Los síntomas principales son diarrea profusa y dolor abdominal intenso, y menos comunes son la náusea, vómito y fiebre (Ray y Bhunia, 2014).

Los alimentos de origen animal se contaminan con las esporas y células vegetativas provenientes de su tracto intestinal, mientras que los alimentos de origen vegetal se contaminan a partir del suelo y polvo. Los alimentos más frecuentemente asociados a brotes son los guisados de carnes de res, cerdo y aves, asados, pasteles de carne, salsas (tipo gravy), frijoles y alimentos típicos mexicanos como birria, pozole, entre otros (Fernández Escartín, 2008; Ray y Bhunia, 2014). De acuerdo con los CDC en los Estados Unidos, cerca de 1 millón de casos son atribuidos cada año a *C. perfringens* lo que representa el 10% del total de casos de ETA en ese país (Scallan, 2011), y la mayoría de ellos se asocian al consumo de productos cárnicos. Estos alimentos por lo regular han sido cocinados por ebullición, estofados o ligeramente tostados y después mantenidos a temperaturas por encima de 20°C por un período prolongado o bien, refrigerados inadecuadamente en grandes contenedores por toda la noche (Bryan, 1969); éstas condiciones favorecen la germinación de esporas supervivientes y posterior multiplicación hasta alcanzar números suficientes para causar enfermedad. Por lo general los alimentos no muestran signos de deterioro, lo que favorece su consumo (Johnson, 1990).

Las medidas de control para este patógeno se basan en el manejo adecuado de los productos sometidos a tratamiento térmico para evitar la germinación de esporas y posterior multiplicación de células vegetativas del patógeno. La regulación en los EUA requiere que ciertos productos cárnicos sometidos a tratamiento térmico, total o parcialmente cocinados, y listos para consumo cumplan con la norma de estabilización (enfriamiento) (USDA, 1999). Esta norma requiere la prevención de la germinación y el crecimiento de bacterias formadoras de esporas, y no permite un aumento mayor de 1 logaritmo decimal en los recuentos de *C. perfringens* en el producto durante el enfriamiento de los productos cárnicos cocinados.

Criterios microbiológicos y planes de muestreo

Los criterios microbiológicos se utilizan en la producción de alimentos para definir la aceptabilidad o la no aceptabilidad de un producto, ó para vigilar el comportamiento de un proceso. Los criterios microbiológicos pueden establecerse con diversos propósitos (ICMSF, 2002):

- a) Evaluar la inocuidad de un producto o materia prima
- b) Determinar si se cumplió con algunos aspectos de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) durante la producción
- c) Medir la efectividad de un proceso para limitar la contaminación
- d) Evaluar si una materia prima es idónea para la fabricación de un cierto producto
- e) Determinar la vida de anaquel de un producto
- f) Definir la aceptabilidad de un producto terminado para su comercialización
- g) Verificar y validar la eficacia de planes HACCP



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 19 de 71

El uso de los criterios microbiológicos para definir la aceptabilidad o no aceptabilidad de un alimento o de un lote de producción ó para evaluar el desempeño de un proceso puede basarse en la ausencia/presencia de un **patógeno**, o en la presencia de un cierto número microorganismos **indicadores** por unidad de masa (g), volumen (ml) o área (cm²). Un criterio microbiológico está compuesto por los siguientes elementos: el número de muestra (conformado por el número de unidades analíticas para recolectar y ser analizadas, denominado "n"), el tamaño de la unidad analítica (gramos, mililitros, centímetros cuadrados), el límite microbiológico establecido y el número de unidades analíticas que se permite que estén fuera del límite establecido (denominado "c"). De esta forma, un límite microbiológico se define como la frecuencia o la concentración máxima de un microorganismo que puede usarse para diferenciar lo aceptable de lo no aceptable, o para determinar si un proceso está bajo control.

Establecer límites microbiológicos en alimentos no es sencillo, y suele ser el resultado de muchos estudios y la discusión de expertos. Es muy importante enfatizar que el muestreo microbiológico y el cumplimiento de los criterios microbiológicos por sí mismos, no garantiza la inocuidad de un producto, y constituye más bien, una **herramienta de verificación** que debe ser utilizada como parte de un sistema de gestión de la inocuidad implementado en un establecimiento. La información que se presenta en esta sección tiene por objetivo proporcionar los fundamentos sobre planes de muestreo e interpretación de criterios microbiológicos como una herramienta para llevar a cabo las tareas de verificación que permitan determinar si el plan HACCP está controlando eficazmente los peligros microbiológicos significativos en el alimento.

De acuerdo con el Comité Internacional de Especificaciones Microbiológicas en Alimentos (ICMSF, por sus siglas en inglés), existen tres tipos de criterios microbiológicos en alimentos:

- a) **Estándares**, que constituyen criterios de cumplimiento obligatorio porque están incluidos en la legislación de un país,
- b) **Guías**, que son recomendaciones que permiten evaluar el contenido microbiológico de un alimento fabricado con las mejores prácticas posibles, y
- c) **Especificaciones**, que criterios microbiológicos que se establecen como parte de un acuerdo entre un comprador y un proveedor

Independientemente del tipo de criterio microbiológico que un establecimiento de productos cárnicos deba (obligatoriamente) ó decida (voluntariamente) cumplir, debe establecer un plan o programa de muestreo para evaluar el cumplimiento del criterio.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 20 de 71

Un **plan o programa de muestreo** es un conjunto de instrucciones que debe describir los siguientes elementos:

1. El número de muestras a recolectar para ser analizadas (n)
2. El método de recolección y transporte de las muestras
3. La frecuencia de recolección de las muestras
4. El tamaño de la unidad analítica
5. El método analítico a utilizar
6. El límite microbiológico establecido
7. El número de unidades que se permite que estén fuera del límite (c)
8. Las acciones correctivas a tomar en caso de que el número de muestras que no cumplen con el límite establecido sea mayor que (c)

Para desarrollar un plan de muestreo, se deben considerar las propiedades del alimento, el proceso de producción, las condiciones de almacenamiento del producto final, los riesgos asociados, el tipo de consumidor a quién va dirigido el producto y las limitaciones prácticas. Así mismo, se debe tener en cuenta la distribución de los microorganismos en el alimento y la probabilidad estadística de que se acepte un lote o un proceso que no cumple con el criterio establecido. Diseñar e implementar un plan de muestreo sistemático permite obtener información sobre el **desempeño de un proceso** de producción a lo largo del tiempo. La recolección de muestras sin una sistematización sólo permite obtener la imagen microbiana de un alimento en un momento muy específico y no permite evaluar el comportamiento del proceso para tomar las acciones correctivas adecuadas en caso de que se sobrepasen los límites máximos establecidos para el criterio microbiológico evaluado. En los programas microbiológicos para alimentos se utilizan comúnmente dos tipos de planes de muestreo, el plan de dos clases y el plan de tres clases. Un **plan de muestreo de dos clases** incluye dos variables: n =número de unidades analíticas por recolectar y analizar, y c =número de unidades analíticas que se permite que sobrepasen el límite establecido y aún así aceptar el lote de producción.

Un **plan de muestreo de tres clases** incluye además de las variables n y c las variables m =límite inferior y M =límite superior y se expresan en UFC/unidad de masa (g), volumen (ml) o superficie (cm²). Esto significa que en un plan de tres clases, c representa el número de unidades analíticas que se permite que estén por arriba de m pero por debajo de M y ninguna unidad analítica puede estar por arriba de M . Esto se entenderá con mayor facilidad con los ejemplos de planes de muestreo diseñados para criterios microbiológicos en alimentos cárnicos que se muestran en los Cuadros 2 y 3.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 21 de 71

Cuadro 2. Características de un plan de muestreo para *Salmonella* en carne molida de res

| | |
|---------------------------------------|--|
| Tipo de criterio | Estándar |
| Nombre del criterio | Estándar de desempeño para <i>Salmonella</i> en carne molida de res |
| Fundamentación | De acuerdo con la legislación de EUA (Directiva del FSIS 10,250.1), la detección de <i>Salmonella</i> en carne molida de res constituye un estándar de desempeño del proceso y se permite un máximo de 7.5% de muestras positivas al patógeno como aceptable. Los Establecimientos TIF que exporten carne molida de res a EUA deben cumplir con éste estándar de desempeño para <i>Salmonella</i> . |
| Plan de muestreo de dos clases | <ul style="list-style-type: none"> • Número de muestras a recolectar para ser analizadas: $n=53$ • Tamaño de la unidad analítica: 25 g • Límite microbiológico: ausencia del patógeno en 25 g • Número de unidades que se permite que estén fuera del límite establecido: $c=5$ • Frecuencia de recolección de muestras: de acuerdo al volumen de producción, considerando "ventanas móviles" de 53 muestras • Procedimientos para recolectar y transportar muestras: de acuerdo con la Directiva FSIS 10,250.1 • Método analítico para detectar la presencia del patógeno en las muestras recolectadas: MLG 4.08 (FSIS, 2014) • Nombres de las personas responsables de las actividades de muestreo, envío de muestras, recepción e interpretación de resultados • Descripción de acciones correctivas y de verificación en caso de sobrepasar el límite establecido |



| | | | |
|---|-------------|-------------------------|------------------|
| MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF | | | |
| Clave: MTF-SSN-SIS-01 | Versión: 00 | Fecha: 6 de junio, 2019 | Página: 22 de 71 |

Cuadro 3. Características de un plan de muestreo para *E. coli* en carne de cerdo en canal

| | |
|--|--|
| Tipo de criterio | Estándar |
| Nombre del criterio | Estándar de procesos para <i>E. coli</i> en carne de cerdo en canal en EUA |
| Fundamentación | De acuerdo con la legislación de los Estados Unidos (CFR Title 9, section 310.25), el recuento de la bacteria indicadora <i>E. coli</i> en canales de cerdo constituye un estándar de procesos que permite evaluar si un establecimiento de sacrificio y faenado controla eficazmente la contaminación fecal durante la obtención de los canales |
| Plan de muestreo de tres clases | <ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia de muestreo: 1 muestra por cada 1,000 canales • Número de muestras a recolectar para ser analizadas: $n=13$ • Tamaño de la unidad analítica: 300 cm² • Límites microbiológicos: $m=10$ UFC/cm² y $M=10,000$ UFC/cm² • Número de unidades que se permiten por arriba de m, pero no por arriba de M: $c=3$ • Procedimiento para recolectar las muestras: Método de frotación con esponja estéril en tres áreas de la canal de 100 cm² cada una • Procedimientos para recolectar y transportar muestras • Método analítico a utilizar para el recuento del indicador <i>E. coli</i> en las muestras recolectadas • Nombres de las personas responsables de las actividades de muestreo, envío de muestras, recepción e interpretación de resultados • Descripción de acciones correctivas y de verificación en caso de sobrepasar el límite establecido |

El ICMSF ha desarrollado recomendaciones para establecer planes de muestreo microbiológicos basados en el riesgo asociado con diferentes peligros que pueden ser significativos en un alimento o proceso (ICMSF, 2002). El diseño de un plan de muestreo debe considerar el riesgo asociado con el peligro y con las condiciones en las que se espera que se maneje y consuma el alimento después de haber sido analizado. Un plan de muestreo deberá ser más estricto cuanto más severas sean las consecuencias a la salud si el peligro está presente en el alimento y cuanto mayor sea la probabilidad de que el peligro esté presente por arriba de los niveles en que genera consecuencias a la salud; es decir el plan será más estricto a mayor riesgo para la salud de los consumidores.

De acuerdo con estos conceptos y basándose en datos disponibles, experiencias de casos, consideraciones prácticas y estadísticas, el ICMSF ha propuesto planes de muestreo que pueden aplicarse a diversos alimentos (Cuadro 4) en donde se considera la finalidad del plan, el tipo de microorganismo de interés y las condiciones en las cuales se espera que se maneje y consuma el alimento después de haber sido analizado. Estos planes consideran el análisis de para tres tipos de microorganismos: utilitarios, indicadores de proceso y patógenos.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 23 de 71

- a) **Análisis para microorganismos utilitarios:** La implementación de planes de muestreo para microorganismos que pueden reducir la vida de anaquel de un alimento no tiene relación con su inocuidad, pero tiene un objetivo económico para reducir pérdidas por deterioro. Algunas pruebas microbiológicas que pueden utilizarse con este fin incluyen la cuenta microscópica directa, el recuento de mohos y levaduras, la cuenta viable total, el recuento de psicrótrofos, el recuento de bacterias lácticas, ó el recuento de esporulados termofílicos.
- b) **Análisis para microorganismos indicadores:** Estos microorganismos no son patógenos pero pueden ser utilizados como indicadores de malas prácticas de higiene o del desempeño de un proceso para controlar la contaminación. Se debe ser cuidadoso al elegir el indicador a analizar en un alimento, pues no tienen el mismo significado e interpretación en todos los casos. Por ejemplo, el recuento de organismos coliformes en alimentos pasteurizados significa una contaminación post-proceso pero en alimentos crudos puede no tener significado, ya que estas bacterias pueden estar presentes en cantidades importantes como parte de su microbiota natural. De forma similar, el recuento de microorganismos del género *Listeria* es un indicador muy útil para evaluar la posible presencia de la especie patógena *L. monocytogenes* en un ambiente de procesamiento posterior a la aplicación de tratamientos de letalidad, pero no tiene significado en ambientes donde se procesan alimentos crudos. Saber elegir los indicadores adecuados y diseñar un plan de muestreo apropiado puede ahorrar importantes recursos económicos, pues los costos de los muestreos y de los análisis de laboratorio llegan a ser considerables.
- c) **Análisis para patógenos:** El análisis de patógenos es útil para verificar que un plan HACCP funciona apropiadamente y es capaz de controlar el, o los patógenos identificados como peligros significativos en el alimento.

Utilidad del muestreo para evaluar el control del ambiente de producción. La inocuidad microbiológica de los alimentos procesados requiere de un efectivo diseño e implementación de programas de buenas prácticas de higiene y del sistema HACCP. Los programas microbiológicos no sólo deben estar dirigidos a las materias primas y a los productos terminados, sino también al ambiente de producción donde se procesan y empaican los alimentos. En los alimentos listos para consumo ésta premisa toma una mayor dimensión.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 24 de 71

Cuadro 4. Planes de muestreo basados en riesgos y en las condiciones de manejo y consumo del alimento (ICMSF, 2002)

| Riesgo ó utilidad | Ejemplos | Condiciones esperadas para el manejo y consumo del alimento después de haber sido analizado | | |
|---|--|---|---|---|
| | | Reducen el riesgo | No cambian el riesgo | Pueden incrementar el riesgo |
| Utilidad Contaminación general por microorganismos que reducen la vida de anaquel | Cuenta viable total, Recuento de mohos y levaduras | Aumenta la vida de anaquel CASO 1 Plan de 3 clases n=5, c=3 | No cambia la vida de anaquel CASO 2 Plan de 3 clases n=5, c=2 | Menor vida de anaquel CASO 3 Plan de 3 clases n=5, c=1 |
| Indicador Riesgo bajo Riesgo indirecto Indicadores de malas prácticas sanitarias | <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Escherichia coli</i> genérica | Se reduce el riesgo CASO 4 Plan de 3 clases n=5, c=3 | No cambia el riesgo CASO 5 Plan de 3 clases n=5, c=2 | Se aumenta el riesgo CASO 6 Plan de 3 clases n=5, c=1 |
| Peligro moderado Directo Diseminación moderada No pone en peligro la vida, autoclitante, no deja secuelas | <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Clostridium perfringens</i> | Se reduce el riesgo CASO 7 Plan de 3 clases n=5, c=2 | No cambia el riesgo CASO 8 Plan de 3 clases n=5, c=1 | Se aumenta el riesgo CASO 9 Plan de 3 clases n=10, c=1 |
| Peligro serio Incapacitante, generalmente no pone en peligro la vida No deja secuelas y la duración de la enfermedad es moderada | <i>Salmonella</i> <i>Listeria monocytogenes</i> | Se reduce el riesgo CASO 10 Plan de 2 clases n=5, c=0 | No cambia el riesgo CASO 11 Plan de 2 clases n=10, c=1 | Se aumenta el riesgo CASO 12 Plan de 2 clases n=20, c=0 |
| Peligro severo Pone en peligro la vida Genera secuelas crónicas ó genera enfermedad de larga duración | <i>E. coli</i> productora de toxina shiga (STEC) y neurotoxina de <i>Clostridium botulinum</i> En población restringida: <i>Salmonella</i> , <i>Cronobacter</i> y <i>L. monocytogenes</i> | Se reduce el riesgo CASO 13 Plan de 2 clases n=15, c=0 | No cambia el riesgo CASO 14 Plan de 2 clases n=30, c=0 | Se aumenta el riesgo CASO 15 Plan de 2 clases n=60, c=0 |



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 25 de 71

En un ambiente de producción se pueden encontrar microorganismos transitorios y residentes. Los microorganismos transitorios son introducidos al establecimiento a través de la materia prima, los trabajadores, los materiales de empaque, entre otros, y aunque ingresan al ambiente de producción, no se establecen ni se multiplican en él. A pesar de ello pueden contaminar los alimentos si no se implementan procedimientos de limpieza y sanitización sistemáticos. Los microorganismos residentes en cambio ingresan a un ambiente de producción, se adhieren a diversas superficies y se establecen en ellas, multiplicándose y persistiendo por días e incluso por años. En este caso, los procedimientos rutinarios de limpieza y sanitización no han sido suficientes para eliminarlos. Los patógenos que con mayor frecuencia pueden encontrarse como microorganismos residentes en plantas de procesamiento de alimentos son *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*, mientras que otros patógenos como STEC, *S. aureus* y *C. perfringens* no son comúnmente encontrados como residentes.

La temperatura es un factor esencial que determina si un patógeno puede establecerse como residente en un ambiente de producción. Si la temperatura de este ambiente es cercana al límite inferior de multiplicación del patógeno, este se podrá convertir con facilidad en residente. Por ejemplo, *Listeria monocytogenes* puede convertirse en residente en ambientes de producción de alimentos cárnicos listos para consumo ya que la bacteria es capaz de multiplicarse a bajas temperaturas, características de estos ambientes.

Los microorganismos residentes pueden llegar a formar biopelículas en las superficies donde se han adherido y establecido. Las biopelículas consisten en agrupaciones de microorganismos que colonizan una superficie y producen polímeros (polisacáridos) que los protegen. Las condiciones que favorecen la producción de biopelículas son la presencia de humedad suficiente, las superficies que favorecen la adhesión de los microorganismos (porosas, hidrofóbicas, agrietadas, irregulares), la disponibilidad de nutrientes (residuos de alimentos), las condiciones que favorecen el ingreso de la contaminación y la disponibilidad de tiempo para que se forme la biopelícula. Un programa de saneamiento efectivo debe incluir una frecuencia apropiada de limpieza y sanitización para limitar el tiempo disponible para la formación de las biopelículas y la aplicación de presión, fuerza mecánica y agentes químicos que aseguren la remoción y destrucción de aquellos microorganismos planctónicos (libres) y de aquellos presentes en una biopelícula (Gibson, 1999).

El muestreo de ambientes donde se procesan alimentos se utiliza con los siguientes fines:

- Evaluar el riesgo de contaminación del producto
- Generar datos que permitan establecer una base para determinar cuándo el establecimiento está bajo control
- Evaluar si el ambiente de producción está bajo control
- Investigar fuentes de contaminación para poder implementar medidas correctivas

En ciertas ocasiones, el muestreo ambiental puede estar dirigido a investigar la presencia de un patógeno específico, si es que está presente; sin embargo, el análisis para patógenos es laborioso y costoso, y no se recomienda realizarlo de forma rutinaria. Por el contrario, los muestreos de ambientes de producción están enfocados a recolectar muestras de forma rutinaria para el análisis de indicadores microbiológicos y químicos. Su objetivo es verificar que los programas de pre-requisito controlan el riesgo de contaminación del alimento.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 26 de 71

Su enfoque es preventivo, es decir, se trata de detectar condiciones que indiquen un aumento del riesgo de contaminación antes de que ésta ocurra. Los datos recolectados permiten analizar tendencias y aplicar medidas correctivas. El programa de muestreo ambiental puede diseñarse de acuerdo a zonas del área de producción con diferentes niveles de riesgo como se muestran en la Figura 1. Las superficies y áreas indicadas en la figura pueden variar de acuerdo al tipo de proceso y alimento. El muestreo debe ser más intensivo en la zona 1, por ser en donde se presenta el mayor riesgo de contaminación del producto.



Figura 1. Zonificación del muestreo ambiental basado en el riesgo (ICMSF, 2002)

Los programas de muestreo ambiental no constituyen planes de muestreo estadísticamente fundamentados, sino que están basados en el conocimiento que tiene cada establecimiento del proceso y su variabilidad, así como en su experiencia para identificar los sitios en donde se puede detectar con mayor facilidad una falla en las buenas prácticas de manufactura. Conforme se generan datos a partir de los muestreos ambientales, mayor conocimiento del establecimiento y del proceso se va obteniendo. Esto permite hacer ajustes para incrementar la sensibilidad del muestreo sin incrementar e incluso reduciendo el número de muestras a coleccionar y por ende, sin aumentar los costos del programa de muestreo. El establecimiento puede valorar la formación de muestras compuestas para minimizar el trabajo de análisis en el laboratorio y el costo.

| | | | |
|---|-------------|-------------------------|------------------|
| MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF | | | |
| Clave: MTF-SSN-SIS-01 | Versión: 00 | Fecha: 6 de junio, 2019 | Página: 27 de 71 |

El programa de muestreo ambiental sólo es útil cuando los datos obtenidos de él se encuentran organizados y se revisan con frecuencia y de forma retrospectiva para identificar tendencias y debilidades. Los datos se usan para construir gráficos de control en los cuales se representan los resultados obtenidos a lo largo del tiempo y se señala el límite máximo aceptable (Figura 2). Los gráficos de control permiten identificar resultados por arriba del límite máximo permitido, visualizando su frecuencia y patrón de recurrencia, lo que permite identificar si el proceso está fuera de control y las posibles causas.

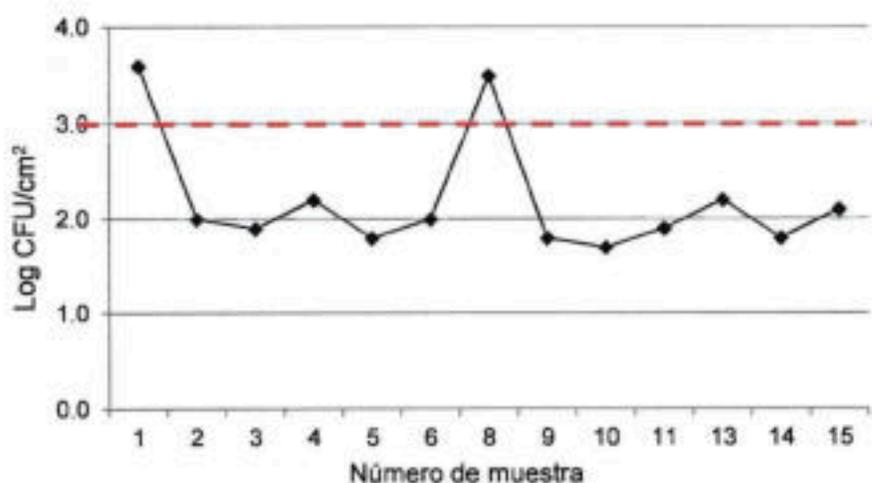


Figura 2. Gráfico de control para un indicador microbiológico. La línea punteada representa el límite máximo permitido del indicador

Programas microbiológicos de acuerdo con las categorías de proceso

Las actividades de Supervisión en los Establecimientos TIF se establecen de acuerdo al total de personas que laboran en las áreas de proceso del establecimiento y al tipo de categoría de proceso que realiza. El establecimiento debe contar con programas microbiológicos y de residuos tóxicos acordes con la(s) categoría(s) de proceso que realiza:

1. No intacto
2. Intacto
3. Térmicamente estéril
4. Sin tratamiento térmico estable en estantería
5. Tratados térmicamente estable en estantería
6. Totalmente cocido no estable en estantería
7. Tratado térmicamente pero no cocido totalmente, no estable en estantería
8. Producto con inhibidores no estable en estantería
9. Ovoproductos
10. Sacrificio
11. Frigorífico



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 28 de 71

Los programas microbiológicos deben diseñarse con base en la categoría de proceso y de acuerdo al mercado destino de los productos, ya sea para cumplir con las regulaciones nacionales o bien, con las establecidas por el país importador. Cuando no se cuenta con regulaciones específicas para ciertos productos, se pueden utilizar los criterios recomendados por el ICMSF o por el Codex Alimentarius. La información contenida en las siguientes secciones puede usarse como un apoyo para verificar si el establecimiento cuenta con programas microbiológicos apropiados para cada categoría de proceso según la especie y mercado destino.

Categoría 1. No intacto.

Esta categoría de proceso se aplica a los establecimientos que someten la materia prima a procedimientos adicionales como molienda, trituración, inyección de producto con soluciones o ablandamiento mecánico por punción, cubicación, dispositivos de golpeo u otros medios de proceso. Ejemplos de productos terminados en esta categoría incluyen productos crudos reconstruidos en preformados, separados mecánicamente o productos obtenidos con el Sistema Avanzado de Recuperación del producto. Si el establecimiento produce trozos de carne a partir de la carne no intacta, entonces el recorte o las piezas se consideran como producto no intacto.

En los productos crudos no intactos puede presentarse una dispersión de los patógenos presentes en la materia prima no intacta, ya que penetran desde la superficie al interior del producto. De esta forma, la diferencia principal entre un producto crudo intacto y uno no intacto depende de que el interior de la carne se mantenga íntegra sin migración de patógenos desde la superficie. Son ejemplos de productos no intactos: Carne molida, Hamburguesa, Productos de carne de res, Filetes formados, Salchichas, Producto de recuperación (AMR), Carne texturizada finamente, Cortes sin hueso no intactos, Cortes no intactos, Recortes no intactos, Otros no intactos, Productos sometidos a bajas temperaturas, Carne cortada parcialmente desgrasada (PDCB), Carne parcialmente desgrasada con grasa (PDBFT)

En **carne de bovino no intacta**, los principales patógenos de interés son *Salmonella* y *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) debido a que son los más frecuentemente asociados a casos y brotes de enfermedad por consumo de estos productos (Rangel y col, 2005). La presencia de *Salmonella* constituye un peligro serio, mientras que STEC se considera un peligro severo (ICMSF, 2002). Los planes de muestreo y límites permitidos en algunos países se basan en estudios de prevalencia realizados para cada patógeno y en métodos estadísticos que soportan la representatividad de las muestras a coleccionar. El principal microorganismo indicador de buenas prácticas de manufactura es *E. coli* genérica. El principal patógeno de interés en **carne de porcino no intacta** es *Salmonella* debido a que ha sido frecuentemente asociada con casos y brotes de enfermedad por consumo de estos productos. La presencia de *Salmonella* constituye un peligro serio. *E. coli* genérica puede usarse como indicador de buenas prácticas de manufactura.

En el caso de la **carne de ave no intacta**, los principales patógenos de interés son *Salmonella* y *Campylobacter* debido a que son los más frecuentemente asociados a casos y brotes de enfermedad por consumo de estos productos (USDA, 2015). La presencia de *Salmonella* constituye un peligro serio, mientras que *Campylobacter* se considera un peligro moderado (ICMSF, 2002). Los planes de muestreo y límites permitidos en algunos países se basan en estudios de prevalencia realizados para patógeno y en métodos estadísticos que soportan la representatividad de las muestras a coleccionar. La



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
 MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 29 de 71

cuenta aeróbica en placa y *E. coli* genérica pueden usarse como indicadores de buenas prácticas de manufactura.

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos realiza muestreos periódicos para calcular la prevalencia de patógenos en productos regulados por dicha instancia, entre los cuales se incluyen productos de la categoría No-intactos. En el Cuadro 5 se muestran los resultados de estos programas de muestreo para el año 2015 (USDA, 2017). Los resultados de este tipo de programas permiten determinar los microorganismos prioritarios y dirigir las políticas para su vigilancia y control.

Categoría 2. Intacto

Esta categoría de proceso se aplica a los establecimientos que no someten a procedimientos adicionales la materia prima que en ellos se obtiene. Con este proceso se obtienen productos crudos que no se someten a alguno de los procesos asociados a la categoría No. 1 para productos crudos no intactos descritos en el apartado anterior. Son productos obtenidos bajo esta categoría de procesos: canales (mitades o cuartos, cortes primarios y subprimarios, cortes, cortes sin hueso, carne de cabeza, carne de cachete, carne de la tráquea, carne de corazón, menudencias comestibles; canales de aves enteras ó sus partes (cuellos, patas, menudencias), así como partes sin hueso o piel y cortes sin hueso. Los patógenos de interés son *Salmonella*, STEC y *Campylobacter* (Cuadro 5).

Cuadro 5. Prevalencia de patógenos en productos cárnicos en Establecimientos regulados por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos en el año 2015

| Producto | Patógeno | No. muestras analizadas | Prevalencia (%) |
|--|--------------------------|-------------------------|-----------------|
| Componentes para carne molida de res | <i>E. coli</i> O157:H7 | 441 | 0.42 |
| | <i>Salmonella</i> spp | 422 | 7.28 |
| Recortes (trim) | <i>E. coli</i> O157:H7 | 3,743 | 0.13 |
| | STEC no O157 | 3,645 | 0.45 |
| | <i>Salmonella</i> spp | 3,625 | 1.74 |
| | <i>E. coli</i> O157:H7 | 11,523 | 0.05 |
| Carne molida de res | <i>Salmonella</i> spp | 11,117 | 2.91 |
| | <i>Salmonella</i> spp | 694 | 11.88 |
| Cortes intactos de cerdo | <i>Salmonella</i> spp | 194 | 5.00 |
| Cortes no intactos de cerdo | <i>Salmonella</i> spp | 355 | 20.96 |
| Carne de cerdo troceada ó triturada ¹ | <i>Salmonella</i> spp | 8,615 | 1.20 |
| Canales de pollo | <i>Campylobacter</i> spp | 7,971 | 1.18 |
| | <i>Salmonella</i> spp | 6,274 | 23.01 |
| Partes de pollo (piernas, pechugas, alas) | <i>Campylobacter</i> spp | 5,978 | 14.51 |
| | <i>Salmonella</i> spp | 1,190 | 30.76 |
| Carne de pollo troceada ó triturada ¹ | <i>Campylobacter</i> spp | 1,184 | 3.45 |
| | <i>Salmonella</i> spp | 92 | 75.56 |
| Carne de pollo separada mecánicamente | <i>Campylobacter</i> spp | 97 | 12.00 |
| | <i>Salmonella</i> spp | 1,803 | 0.62 |
| Canales de pavo | <i>Campylobacter</i> spp | 1,652 | 0.71 |
| | <i>Salmonella</i> spp | 856 | 14.36 |
| Carne de pavo troceada ó triturada ¹ | <i>Campylobacter</i> spp | 854 | 0.00 |
| | <i>Salmonella</i> spp | 94 | 34.88 |
| Carne de pavo separada mecánicamente | <i>Campylobacter</i> spp | 94 | 2.33 |

¹Comminuted meats*

(Fuente: USDA, 2017)



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 30 de 71

Categoría 3. Térmicamente procesado estéril

Esta categoría de proceso se aplica a los establecimientos que utilizan una etapa de tratamiento térmico que genera un producto comercialmente estéril. Los productos térmicamente procesados comercialmente estériles son productos en latas o bolsas flexibles ó en bolsas semi-rígidas como los tazones para comida. Son ejemplos de productos bajo esta categoría las salchichas enlatadas, jamón enlatado, sopas con carne, carnes en conserva, entre otros. Los patógenos de importancia presentes en la materia prima cárnica que se usa para elaborar estos alimentos son *Clostridium botulinum*, *Salmonella* y STEC sin embargo el tratamiento térmico destruye las células vegetativas de estos patógenos y algunas esporas.

Su inocuidad y estabilidad depende del efecto combinado de la destrucción térmica y la inhibición de la esporulación de las esporas que hayan sobrevivido el tratamiento térmico debido a la adición de una cantidad apropiada de sal y nitrito de sodio. El muestreo microbiológico no es recomendable, y la verificación debe enfocarse en los registros del proceso para garantizar la eficiencia del tratamiento térmico y del enfriamiento, así como la integridad del empaque.

Categoría 4. Sin tratamiento térmico estables en estantería

Esta categoría de proceso se aplica a los establecimientos que tienen un proceso de curado, secado, fermentado los cuales representan un paso en el procesamiento y que sirven como el único medio por el cual el producto alcanza la inocuidad alimentaria. Los establecimientos de esta categoría de proceso pueden aplicar un tratamiento de calor de bajo nivel, siempre y cuando el tratamiento térmico no se utilice como medio para lograr la inocuidad alimentaria. Los productos terminados producidos bajo esta categoría de proceso son de larga conservación. No se requiere que los productos estables en estantería sean congelados o refrigerados con motivos de inocuidad. Ejemplos de alimentos en esta categoría incluyen alimentos listos para consumo como salchichas fermentadas (salami y pepperoni), carne curada desecada (prosciutto), carne seca y carne curada salada; también se incluyen productos no listos para consumo como los jamones crudos.

Categoría 5. Tratados térmicamente estables en estantería

Esta categoría de proceso se aplica a los establecimientos que tienen una etapa de procesamiento de tratamiento térmico en combinación con un proceso de curado, secado, fermentación u otro para lograr la inocuidad del producto. Los productos terminados producidos bajo esta categoría son productos estables en estantería y de larga conservación; no requieren ser congelados o refrigerados.

Entre los microorganismos de interés para la categoría 4 y para la categoría 5 pueden encontrarse *L. monocytogenes* y *S. aureus* así como *E. coli* O157 y *Salmonella*. Varios brotes por *E. coli* O157 han sido asociados al consumo de salami, por lo cual este patógeno puede ser de interés en este producto y similares, sobre todo cuando el proceso de producción no incluye un tratamiento térmico leve que permita controlar al patógeno (CDC, 1995; Williams y col, 2000; MacDonald y col, 2004; Conedera y col, 2007). *Salmonella* también ha causado diversos brotes por consumo de salami, en los cuales se identificó que los factores contribuyentes fueron un tiempo de curado insuficiente y un pH alto en el producto lo que permitió la sobrevivencia del patógeno, mientras que en otro brote reportado en USA se demostró que la fuente del patógeno fue la pimienta utilizada en la elaboración del salami, la cual sobrevivió el proceso de fermentación y secado del producto (CDC, 2010).



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 31 de 71

Categoría 6. Totalmente cocido no estable en estantería

Corresponde a los establecimientos que incluyen una etapa de calor letal como una fase dentro del proceso (por ejemplo, la cocción) para asegurar la inocuidad. Los productos bajo esta categoría de procesos no son estables durante el almacenamiento o en estantería y se requiere que sean congelados o refrigerados. Estos productos cumplen con la definición de Listo para consumo o Ready To Eat (RTE). Los productos de esta categoría se pueden subdividir en dos grupos:

- a) Productos con subsecuente exposición al ambiente (Exposición post letal)
- b) Sin subsecuente exposición al ambiente (NO exposición post letal)

En esta categoría se incluyen productos como salchichas para hot-dogs, productos de salchicha, aderezos untables de carne, nuggets, jabón entero y rebanado, así como comidas listas para consumo que incluyen productos cárnicos. Los microorganismos de interés incluyen *L. monocytogenes*, *Salmonella*, *C. perfringens* y *C. botulinum*. En el caso de los esporulados, no se requiere de un programa microbiológico, y la verificación debe basarse en los registros del proceso térmico y el de enfriamiento (estabilización).

Categoría 7. Tratamiento térmico pero no cocidos completamente, no estables en estantería

Se aplica a los establecimientos que procesan productos que son: 1) No listos para consumo (NRTE), ó 2) Productos procesados crudos que se refrigeran o congelan durante el periodo de estantería o vida útil del producto. La carne y los productos avícolas se producen mediante un proceso térmico que cumple alguno de los siguientes criterios:

- a) El tratamiento térmico no es suficiente para lograr la inocuidad del producto. Los productos pueden ser parcialmente cocidos o calentados para asegurar la inocuidad.
- b) El tratamiento térmico aplicado es adecuado para lograr la inocuidad alimentaria, sin embargo el producto tiene un proceso adicional en donde es ensamblado o envasados de manera que puede entrar en contacto con ingredientes no listos para consumo. En este caso, el producto final no está listo para consumo a menos que sea sometido a formas adicionales de preparación para lograr su inocuidad. Un ejemplo son las empanadas que contienen pollo cocido y masa cruda.

Esta categoría también puede incluir productos que reciben un tratamiento de letalidad completo, pero no existe un estándar de identidad para definirlos como completamente cocidos (por ejemplo, hot dogs o barbacoa), o un nombre común o usual que los consumidores entiendan para referirse al producto como RTE (por ejemplo, los patés). Los microorganismos de interés pueden incluir *Salmonella*, STEC y *Campylobacter*.

Categoría 8. Productos con inhibidores secundarios - No estables en estantería

Aplica a los establecimientos que utilizan una etapa de procesamiento de curado o una etapa de procesamiento donde se incluyen ingredientes que inhiben el crecimiento bacteriano. Estos productos son generalmente refrigerados o congelados durante toda su vida útil. Dependiendo del proceso y los ingredientes, estos productos pueden o no pueden cumplir con la definición de RTE. Los microorganismos de interés pueden incluir *Salmonella*, STEC y *Campylobacter*.

Categoría 9. Huevo y ovoproductos

**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 32 de 71

Esta categoría se aplica a productos de huevos pasteurizados y no pasteurizados, así como a productos deshidratados. El principal patógeno de interés es *Salmonella*. La contaminación de los huevos ha sido identificada como una de las principales causas de la salmonelosis transmitida por alimentos. En USA se ha identificado que el 53% de los casos de salmonelosis se relacionan con el consumo de huevo y ovoproductos. Los serotipos más frecuentemente asociados a casos de ETA por consumo de huevo y productos derivados de huevo son *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*. Ambos serotipos colonizan los órganos reproductivos de las gallinas (ovario y oviducto) produciendo una contaminación directa del huevo durante su formación. La contaminación del huevo por *Salmonella* también se presenta posteriormente por contacto con los materiales de la cama de postura y a través de diversas fuentes de contaminación ambiental como polvo, fauna nociva, entre otras (Whiley y Ross, 2015). El porcentaje de muestras positivas a la presencia de *Salmonella* spp en ovoproductos elaborados en Establecimientos regulados por el USDA fue de 0.01% en el año 2015 (USDA, 2017).

Categoría 10. Sacrificio.

En esta categoría de proceso se incluyen los establecimientos en los que se sacrifican y faenan animales para abasto. La carne en canal que en ellos se produce es refrigerada para su posterior traslado al área de fabricación y empaque que puede localizarse en las mismas instalaciones del establecimiento o fuera de él. Los principales microorganismos de interés en las canales de animales de abasto incluyen *Salmonella*, STEC y *Campylobacter*, y su importancia varía de acuerdo con la especie. Durante muchos años se ha documentado la prevalencia de estos patógenos en canales en establecimientos de sacrificio en función de la especie, la etapa del proceso y la aplicación o no de tratamientos de descontaminación.

La prevalencia de STEC en canales de bovino en estudios realizados en diversos países ha sido reportada desde el 0.3% hasta el 43%, mientras que *Salmonella* ha sido aislada desde el 0.1 al 45% de las canales analizadas (Rhoades y col, 2009). La mayor prevalencia de los patógenos se observa en las canales antes de la evisceración y de la aplicación de tratamientos descontaminantes. En canales de cerdo, *Salmonella* ha sido aislada a partir del 3.8% en USA (USDA, 2009), del 27% en Bélgica (Korsak y col, 1998) y del 40% en Irlanda (McDowell y col, 2007), mientras que el patógeno ha sido encontrado en el 1.2 y 0.62% de las canales de pollo y pavos, analizadas por el USDA (Cuadro 5). Los programas microbiológicos deben dirigirse a estos patógenos, y también al análisis de microorganismos indicadores del control de la contaminación fecal en las operaciones de sacrificio y faenado. *Escherichia coli* y el grupo *Enterobacteriaceae* son los grupos indicadores mayormente utilizados (USDA, 1996; CCE, 2005).

Categoría 11. Frigorífico.

Categoría que aplica a establecimientos constituidos por almacenes y bodegas con temperaturas de refrigeración o congelación en donde se conservan y almacenan productos de origen animal. Debido a que son establecimientos en donde no se llevan a cabo procesos de producción, no se puede hablar de patógenos de interés como en el caso de las categorías anteriores, sin embargo, estos establecimientos deben contar con programas de monitoreo ambiental que garanticen que el ambiente de almacenamiento no se convertirá en reservorio y fuente de contaminación hacia los productos ahí almacenados.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
 MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 33 de 71

**Cuadro 6. Microorganismos de interés en productos de origen animal de
 diversas especies de acuerdo con la categoría de proceso**

| Categoría de proceso | Especie | <i>Salmonella</i> | <i>E. coli</i> O157:H7 STEC | <i>Campylobacter</i> | <i>L. monocytogenes</i> | <i>S. aureus</i> | <i>C. perfringens</i> | <i>C. botulinum</i> |
|--|----------|-------------------|--------------------------------|----------------------|-------------------------|------------------|-----------------------|---------------------|
| 1. No intacto | Bovino | ✓ | ✓ | | | | | |
| | Ovino | ✓ | | | | | | |
| | Cerdo | ✓ | | | | | | |
| | Equino | ✓ | | | | | | |
| | Ave | ✓ | | ✓ | | | | |
| | Avestruz | ✓ | | | | | | |
| | Conejo | ✓ | ✓ | | | | | |
| 2. Intactos | Bovino | ✓ | ✓ | | | | | |
| | Ovino | ✓ | | | | | | |
| | Cerdo | ✓ | | | | | | |
| | Equino | ✓ | | | | | | |
| | Ave | ✓ | | ✓ | | | | |
| | Avestruz | ✓ | | | | | | |
| | Conejo | ✓ | ✓ | | | | | |
| 3. Térmicamente procesado Comercialmente estéril | Bovino | | | | | | | ✓ |
| | Ovino | | | | | | | ✓ |
| | Cerdo | | | | | | | ✓ |
| | Ave | | | | | | | ✓ |
| 4. Sin tratamiento térmico Estable en estantería | Bovino | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | | |
| | Ovino | | | | ✓ | ✓ | | |
| | Cerdo | ✓ | | | ✓ | ✓ | | |
| | Ave | | | | ✓ | ✓ | | |
| 5. Tratado térmicamente Estable en estantería | Bovino | ✓ | ✓ | | ✓ | ✓ | | |
| | Ovino | | | | ✓ | ✓ | | |
| | Cerdo | ✓ | | | ✓ | ✓ | | |
| | Ave | | | | ✓ | ✓ | | |
| 6. Totalmente cocido No estable en estantería Con exposición post- letal | Bovino | ✓ | | | ✓ | | ✓ | ✓ |
| | Ovino | ✓ | | | ✓ | | ✓ | ✓ |
| | Cerdo | ✓ | | | ✓ | | ✓ | ✓ |
| | Ave | ✓ | | | ✓ | | ✓ | ✓ |
| 7. Con tratamiento térmico pero no totalmente cocido No estable en estantería | Bovino | ✓ | ✓ | | | | | |
| | Ovino | ✓ | | | | | | |
| | Cerdo | ✓ | | | | | | |
| | Ave | ✓ | | ✓ | | | | |
| 8. Producto con inhibidores secundarios No estable en estantería | Bovino | ✓ | ✓ | | | | | |
| | Ovino | ✓ | | | | | | |
| | Cerdo | ✓ | | | | | | |
| | Ave | ✓ | | ✓ | | | | |



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

| | | | |
|-----------------------|-------------|-------------------------|------------------|
| Clave: MTF-SSN-SIS-01 | Versión: 00 | Fecha: 6 de junio, 2019 | Página: 34 de 71 |
|-----------------------|-------------|-------------------------|------------------|

| | | | |
|-----------------|----------|---|---|
| 9. Ovoproductos | Ave | ✓ | |
| 10. Sacrificio | Bovino | ✓ | ✓ |
| | Ovino | ✓ | |
| | Cerdo | ✓ | |
| | Equino | ✓ | |
| | Ave | ✓ | ✓ |
| | Avestruz | ✓ | |
| | Conejo | ✓ | ✓ |

Revisión de datos de los programas microbiológicos implementados por el establecimiento.

Los resultados de los programas microbiológicos deben ser revisados periódicamente de acuerdo con la frecuencia con que el establecimiento recolecta y analiza las muestras de materia prima, producto terminado y ambientes de producción. En algunos casos, la revisión de resultados debe ser semanal pero en otros casos se justifica que sea mensualmente. El Supervisor Estatal, MVO y/o MVRATIF debe revisar los resultados para identificar tendencias, por ejemplo:

1. Los resultados demuestran que una cantidad de muestras superior a lo permitido sobrepasan los límites establecidos
2. Los resultados demuestran que durante un periodo corto de tiempo se excedieron los límites establecidos mostrando valores sumamente altos
3. Se observa una tendencia constante a empeorar en el desempeño del proceso a lo largo de un periodo largo de tiempo

De acuerdo con la tendencia observada, el Supervisor Estatal, MVO y/o MVRATIF deberá emitir recomendaciones o en su caso, determinar si existe una no conformidad de acuerdo con la normatividad aplicable. En ocasiones, las tendencias observadas no significan necesariamente una no conformidad, pero indican que el proceso no está bajo control y que se requieren de acciones correctivas que permitan regresar el proceso a condiciones que permitan asegurar la eficacia del plan HACCP para controlar los patógenos significativos.

8.2.- Programa de residuos tóxicos

Los Establecimientos TIF bajo la categoría de proceso No. 10 que corresponde a Sacrificio, deben desarrollar e implementar un programa de residuos tóxicos. Para ello, es importante conocer los principales residuos químicos tóxicos que pueden estar presentes en la carne de diferentes especies de animales de abasto, así como los conceptos básicos de toxicología que permiten comprender las bases para el establecimiento de dicho programa.



MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 35 de 71

Residuos tóxicos en alimentos de origen animal

Desde hace décadas, las legislaciones internacionales han establecido regulaciones, prohibiciones y autorizaciones para una serie de medicamentos, anabólicos y plaguicidas, cuyos residuos en los alimentos de origen animal se consideran potencialmente peligrosos para la salud. Por ello, la presencia de residuos implica restricciones al comercio mundial de alimentos, situación que afecta la competitividad de los países agroindustriales, generalmente de economías emergentes. Entre los fármacos más utilizados y cuestionados se encuentran los antimicrobianos (antibióticos y antiparasitarios), anabólicos estrogénicos o androgénicos, naturales o sintéticos y más recientemente los fármacos β -agonistas (clenbuterol, salbutamol, cimaterol, entre otros) aprobados y aplicados como broncodilatadores, tanto en terapéutica humana como animal, pero que presentan como efecto colateral una elevada actividad anabolizante. El empleo racional y controlado de ciertas sustancias, previamente autorizadas, deben permitir obtener los máximos beneficios zootécnicos, sin riesgos para la salud. Es prioritario entonces, realizar estudios para establecer parámetros que garanticen que aún, consumiendo alimentos con residuos durante toda la vida de una persona, en límites inferiores a los establecidos, no produzcan ningún riesgo para la salud de los consumidores. Las principales sustancias objeto de control y sus residuos en alimentos se presentan en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Sustancias que pueden presentarse en forma de residuos en alimentos de origen animal

| Grupo farmacológico | | Ejemplos |
|--------------------------|-----------------------------------|--|
| Sustancias anabolizantes | Hormonas | 17- β -estradiol, progesterona, somatotropina, testosterona, estilbenos |
| | β -agonistas | Clenbuterol |
| Medicamentos | Tireostáticos | Tiouracilo, propiltiouracilo |
| | Antimicrobianos | Bencilpenicilina, ceftiofur, clortetraciclina, dihidroestreptomicina, espectinomicina, espiramicina, estreptomicina, flumequina, gentamicina, lincomicina, neomicina, oxitetraciclina, sarafloxacin, sulfadimidina, tetraciclina, tilmicosin |
| | Antihelmínticos | Abamectina, albendazol, closantel, doramectin, eprinomectin, febantel, fenbendazol, flubendazol, ivermectina, levamisol, moxidectin, oxfendazole, thiabendazol, triclabendazol |
| | Antiprotozoarios | Diclazuril, imidocarb, nicarbacina |
| | Tripanocidas | Diminazina, isometamidio |
| Contaminantes | Tranquilizantes | Azaperona |
| | Micotoxinas | Aflatoxinas, tricotecenos, T-2 toxina, zearalenona, y otras de interés. |
| | Colorantes | Verde malaquita |
| | Metales pesados | Arsénico y Cadmio |
| | Fertilizantes | NPK |
| Plaguicidas | Organoclorados y organofosforados | |



MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 36 de 71

La presencia de éstos residuos puede deberse a su administración de forma deliberada para lograr mayor ganancia de peso en los animales vivos destinados al abasto, para el tratamiento clínico médico veterinario o pueden ser contaminantes indirectos provenientes de los piensos animales.

Residuos provenientes de tratamientos terapéuticos. Todos los medicamentos veterinarios, de cualquier tipo y por cualquier vía, aplicados o suministrados a los animales cuyas carnes o productos son destinados al consumo humano, ya sea utilizados con una finalidad terapéutica, profiláctica o de diagnóstico, o bien para modificar las funciones fisiológicas o el comportamiento, pueden dejar residuos de sus sustancias precursoras o de sus metabolitos en los alimentos. Esto sucede si no se respetan las buenas prácticas en el uso de los medicamentos veterinarios, es decir, las formas de empleo oficialmente recomendadas o autorizadas, incluidas los períodos de suspensión de tratamiento aprobados por las autoridades correspondientes. Son ejemplos de este tipo de residuos los antiinflamatorios, antimicrobianos (antibióticos, sulfonamidas, nitrofuranos, antiparasitarios), tranquilizantes, tratamientos hormonales y cualquier medicamento que se utilice en la clínica animal.

Residuos provenientes de aplicaciones anabolizantes. Ciertos fármacos se administran en el ganado para promover su desarrollo y la consecuente ganancia de peso diario. La eficiencia productiva en su relación alimento/ganancia de peso diario/recurso financiero son parámetros sumamente atractivos para el productor que no es posible desconocer. En estos casos, se pretende utilizar los medicamentos de uso veterinario con efecto anabolizante con el fin de producir un efecto no terapéutico, sino lograr estimular la conversión alimenticia o la producción láctea. Son ejemplos de éstas sustancias los antibióticos, hormonas, sustancias tireostáticas y adrenérgicas.

Contaminantes provenientes de plaguicidas. Los residuos de plaguicidas provienen de la aplicación de estas sustancias en la producción agrícola y pueden estar presentes en frutas y hortalizas, granos y forrajes, o bien depositarse en la carne de animales que pastaron en lotes tratados con agroquímicos, así como en la leche, huevos, miel o subproductos como la grasa, manteca, etc. Ciertos plaguicidas como los organoclorados y organofosforados son reconocidos como cancerígenos (Noa, 2013).

Los residuos químicos que podrían aparecer potencialmente en carne serían los provenientes de los medicamentos de uso veterinario registrados para uso en México (PEV, 2016), cuyo listado se muestra en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Medicamentos registrados en México para uso veterinario en especies productoras de alimentos (PEV, 2016)

| Sustancia activas | Uso/tipo | Aves | Bovinos | Porcinos | Caprinos | Ovinos | Equinos |
|-------------------|-------------|------|---------|----------|----------|--------|---------|
| 1. Albendazol | P | | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2. Amikacina | A/ AMINO G | | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 3. Amoxicilina | A-β | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4. Ampicilina | A-β | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5. Amprolio | A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6. Bacitracina | A/PEPT | 0 | 0 | 0 | | 0 | 0 |
| 7. Bambermicina | A | | | 0 | | | |
| 8. Boldenona | H (PC) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 9. Carbadox | A (PC) | | | 0 | | | 0 |
| 10. Carazolol | β- AGONISTA | | 0 | 0 | | | |



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
 MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

| | | | |
|-----------------------|-------------|-------------------------|------------------|
| Clave: MTF-SSN-SIS-01 | Versión: 00 | Fecha: 6 de junio, 2019 | Página: 37 de 71 |
|-----------------------|-------------|-------------------------|------------------|

| | | | | | | | |
|-----------------------------|---------------|---|---|---|---|---|---|
| 11. Cefalexina | A-β | | 0 | | 0 | | |
| 12. Carbadox | A-β | | | 0 | | | |
| 13. Cefalonium | A-β | | 0 | | | | |
| 14. Cefaperazona | A-β | | 0 | | 0 | | |
| 15. Cefapirina | A-β | | 0 | | | | |
| 16. Cefotaxina | A-β | | | 0 | | | 0 |
| 17. Cefquinoma | A-β | | 0 | 0 | | | |
| 18. Ceftiofur | A-β | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 19. Ceftriazona | A-β | 0 | 0 | 0 | | | 0 |
| 20. Ciprofloxacina | Q | | 0 | | | | |
| 21. Clindamicina | A | | 0 | 0 | | | |
| 22. Clortetraciclina | A/ TETRA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 23. Clorsulón | P | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24. Cloprostenol | H | | 0 | 0 | | 0 | |
| 25. Closartel | P | | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26. Cloxacilina | A-β | | 0 | | | | 0 |
| 27. Colistina (Polimixin E) | A/ PEPT (PC) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 28. Dexametasona | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 29. Dicloxacilina | A-β | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 30. Dihidroestreptomina | A/ AMINOG | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 31. Doramectina | P | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 32. Doxiciclina | A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 33. Enramicina | A (PC) | 0 | | 0 | | | |
| 34. Enrofloxacina | Q | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 35. Eritromicina | A-MACROLIDO | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 36. Espectinomina | A | 0 | 0 | 0 | | | |
| 37. Espiramicina | A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 38. Estradiol | H (PC) | | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 39. Estreptomina | AMINO | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 40. Fenbendazol | P | 0 | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 41. Flavomicina | A (PC) | 0 | | 0 | | | 0 |
| 42. Florfenicol | A/ FENICOL | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 43. Fosfomicina | A | 0 | | 0 | | | |
| 44. Framicetina | A/ AMINO (PC) | | 0 | | | | |
| 45. Furazolidona | Q | | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 46. Gamitromicina | A/ MACROL | | 0 | 0 | | | |
| 47. Gentamicina | A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48. Imidocarb | P | | 0 | | 0 | 0 | |
| 49. Ivermectina | P (PC) | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 50. Kanamicina | A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 51. Levamisol | P | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 52. Lincomicina | A | 0 | | 0 | | | 0 |
| 53. Marbofloxacina | A/ β | | 0 | 0 | | | 0 |
| 54. Mebendazol | P | | | 0 | 0 | 0 | |
| 55. Meloxicam | I | | 0 | 0 | | | |
| 56. Monensina | CC | 0 | 0 | 0 | | 0 | 0 |
| 57. Nafcilina | A | | 0 | | | | 0 |
| 58. Nandrolona | H | | | 0 | | | 0 |
| 59. Neomicina | AMINO | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 60. Nitroxinil | P | | 0 | | | 0 | |
| 61. Norfloxacina | A | 0 | 0 | 0 | | | 0 |
| 62. Oxibendazol | P | | | 0 | | | 0 |
| 63. Oxitetraciclina | A-TETRA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |



MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF

| | | | |
|-----------------------|-------------|-------------------------|------------------|
| Clave: MTF-SSN-SIS-01 | Versión: 00 | Fecha: 6 de junio, 2019 | Página: 38 de 71 |
|-----------------------|-------------|-------------------------|------------------|

| | | | | | | | |
|--------------------------------------|--------------|---|---|---|---|---|---|
| 64. Penicilina G | A-β | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 65. Praziquantel | P | | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 66. Progesterona | H | | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 67. Piroxicam | I | | 0 | 0 | | | 0 |
| 68. Rafoxanida | P | | 0 | | 0 | 0 | 0 |
| 69. Ricobendazol | P | | 0 | | 0 | 0 | 0 |
| 70. Salinomicina | A/ POLIETER | 0 | 0 | 0 | | | |
| 71. Sulfaciolpiridazina | Q | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 72. Sulfadiazina | Q | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 73. Sulfadimidina (Sulfametazina) | Q | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 74. Sulfadoxina | Q | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 75. Sulfaguanidina | Q | | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 76. Sulfamerazina | Q | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 77. Sulfametoxazol | Q | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 78. Sulfametoxipiridazina | Q | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 79. Sulfamonometoxina | Q | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| 80. Sulfanilamida | Q | | | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 81. Sulfatiazol | Q | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 82. Sulfaquinoxalina | Q | | | 0 | | | 0 |
| 83. Testosterona | H | | 0 | | 0 | | |
| 84. Tetraciclina | A/TETRA | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 85. Tiamulina | A | | | 0 | | | |
| 86. Tianfenicol | A | 0 | | 0 | | | |
| 87. Tildipirosina | A/ MACROLIDO | | 0 | 0 | | | |
| 88. Tilvalosina | A/ MACRÓLIDO | 0 | | 0 | | | |
| 89. Tilmicosin | A/ MACRÓLIDO | | 0 | 0 | | 0 | |
| 90. Tilosina | A/ MACRÓLIDO | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 91. Tolfenámico, ácido | I | | 0 | 0 | | | 0 |
| 92. Trembolona | H (PC) | | | | | | |
| 93. Toltrazuril | CC | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 94. Triclabendazol | P | | 0 | | 0 | 0 | 0 |
| 95. Trimetoprim | Q | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 96. Zeranol | H (PC) | | 0 | | 0 | 0 | |
| 97. Zilpaterol | H (PC) | | 0 | | | | |

A=antibiótico, H=homornales u hormonomiméticos, I=anti-inflamatorios, Q=quimioterapéuticos, P=antiparasitarios, CC=Coccidiostático, β=β-agonista

De éstos 97 medicamentos de uso veterinario registrados en México, 53 corresponden a antibióticos, 14 son quimioterapéuticos, 8 son hormonales, 4 son antiinflamatorios, 15 son antiparasitarios y 2 son coccidiostáticos (PEV, 2016). De igual forma, en el Prontuario de Especialidades Veterinarias 2016 se encuentran registrados 16 plaguicidas para uso veterinario en especies productoras de alimentos en México, en calidad de ectoparasiticidas (Cuadro 9). De los plaguicidas registrados, 9 están autorizados para uso en bovinos, 9 en porcinos, 12 en caprinos y ovinos, y 1 en equinos. La mayor cantidad de formulaciones incluyen abamectina y permetrina, que son compuestos relativamente inocuos. Su uso principal es como ectoparasiticidas y también como coccidiostáticos (PEV, 2016).



MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 39 de 71

Queda por lo tanto claro, que el mayor número de sustancias activas pertenece a los antibióticos, ya sean de uso terapéutico, o bien como promotores de crecimiento, seguidos de los quimioterapéuticos y antiparasitarios. Los dos primeros grupos están incluidos en la denominación general de "inhibidores del crecimiento microbiano" o simplemente inhibidores.

Cuadro 9. Plaguicidas registrados en México para uso veterinario en especies productoras de alimentos (PEV, 2016)

| Sustancia activas | Aves | Bovinos | Porcinos | Caprinos | Ovinos | Equinos |
|-------------------|------|---------|----------|----------|--------|---------|
| 1. Abamectina | | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 2. Amitraz | | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 3. Ciflutrina | | | 0 | 0 | 0 | |
| 4. Cipermetrina | | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 5. Clorhexidina | | | | | | |
| 6. Clorpirifos | | | 0 | 0 | 0 | |
| 7. Coumaphos | | | | 0 | 0 | |
| 8. Diazinón | | 0 | 0 | | 0 | |
| 9. Eprinomectina | | 0 | | 0 | 0 | |
| 10. Etión | | 0 | | | | |
| 11. Fentión | | 0 | | 0 | 0 | |
| 12. Flumetrina | | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 13. Imidacloprid | | | | | | |
| 14. Permetrina | | | 0 | 0 | 0 | |
| 15. Propoxur | | | | 0 | 0 | |
| 16. Triclorfón | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 17. Toltrazuril | 0 | | | | | |

Principios de la evaluación toxicológica de residuos químicos y contaminantes en alimentos

Los efectos toxicológicos de los residuos y contaminantes se determinan generalmente sobre la base de bioensayos y aunque los principios generales de la evaluación toxicológica son similares para cualquier medicamento, plaguicida u otro tipo de sustancia, es importante considerar el metabolismo específico de cada sustancia en el modelo animal utilizado, así como el perfil de residuos resultante en cada caso. El objetivo de la evaluación toxicológica es definir un umbral de concentración (nivel máximo) a la cual no se observe un efecto medible, denominado nivel de efecto no-observable (NOEL) o nivel de no-efecto (NEL).

El NEL se expresa en miligramos por kilogramo de peso corporal, o en miligramos por kilogramo del alimento usado para los animales. El NEL es la concentración a la cual no es posible establecer un "efecto" aun usando los métodos más sensibles, incluidos los exámenes histológicos, hematológicos o enzimáticos. El NOEL sirve para calcular la Ingesta Diaria Admisible (IDA) o la ingesta diaria tolerable (IDT) de un compuesto y está expresada en miligramos por kilogramo de peso corporal. El factor de seguridad (SF) usado normalmente es 100, aunque puede ser 1000 en ciertos casos (por ejemplo, cuando se trata de establecer la IDA para poblaciones más susceptibles). La IDA es la cantidad de sustancia que puede ser ingerida por el hombre sin que le produzcan efectos adversos, esta muy relacionada con el LMR o límite máximo de residuos que es la cantidad máxima de un tóxico que puede



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 40 de 71

aparecer como residuo en un alimento. En la Unión Europea, los LMR se definen como "el contenido de residuos resultante de la utilización de un medicamento veterinario legalmente autorizado en la UE y considerado como admisible desde el punto de vista de la seguridad del consumidor en un producto alimenticio".

En la mayoría de los países, la comercialización de los alimentos se regula con base en la presencia de residuos y contaminantes y para ello se establece y utiliza el LMR o LRE. Los LMR son límites que deben garantizar que no hay riesgo para la salud del consumidor. En el caso de los compuestos persistentes, el riesgo principal para el consumidor no es el consumo directo del alimento respectivo, sino la acumulación de concentraciones del compuesto persistente en la cadena alimentaria por un efecto de bioacumulación.

El Codex Alimentarius quien regula el comercio mundial de alimentos, la Unión Europea, el MERCOSUR y la legislación específica de diversos países, han establecido de forma obligatoria para la aprobación y uso farmacológico de medicamentos veterinarios, tanto en su utilización terapéutica como los que se adicionan a los piensos, y para los plaguicidas, la implementación de estudios rigurosos que permitan establecer la IDA, los LMR y los tiempos de espera o retiro (TE) para asegurar la ausencia de residuos en los alimentos en cantidades que constituyan un peligro a la salud de los consumidores. El correcto manejo y utilización de los plaguicidas y de los fármacos veterinarios deben ser regulados mediante legislaciones actualizadas que favorezcan el uso apropiado, no sólo en su empleo terapéutico sino también para la obtención de alimentos de calidad e inocuos para la salud de los consumidores.

Procedimientos de muestreo para residuos tóxicos en alimentos

De acuerdo con la FAO, deben considerarse ciertos lineamientos fundamentales al implementar un plan para la toma de muestras de alimentos para determinar sus niveles de residuos tóxicos, entre los que se resumen los siguientes:

- a) Deben tomarse muestras por separado de cada lote cuya conformidad haya de comprobarse
- b) De acuerdo a las recomendaciones del Codex Alimentarius, el número mínimo de muestras primarias que han de tomarse de un lote de carne de bovino y de aves se determina de la siguiente manera:

| | Número mínimo de muestras primarias que han de tomarse |
|---------------------|---|
| Lote no sospechoso: | 1 |
| Lote sospechoso: | Determinado según el Cuadro 10 |

- c) Cada muestra primaria debe tomarse de un lugar del lote elegido al azar y las muestras primarias deben contener material suficiente para proporcionar la muestra o muestras de laboratorio necesarias procedentes del lote.
- d) Cuando la muestra primaria sea mayor que la necesaria para una muestra de laboratorio, se divide para obtener una porción representativa y puede utilizarse un instrumento de muestreo, un sistema de división u otro procedimiento apropiado de reducción del tamaño, pero en el caso



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 41 de 71

de huevos enteros no deberán dividirse. El tamaño mínimo necesario para las muestras de laboratorio se indica en los Cuadros 11, 12 y 13.

- e) La persona encargada del muestreo debe hacer constar la naturaleza y el origen del lote, el propietario, proveedor o transportador del mismo; la fecha y lugar del muestreo, y cualquier otra información pertinente. Debe consignarse cualquier desviación respecto del método de muestreo recomendado.
- f) La muestra de laboratorio debe colocarse en un recipiente limpio e inerte que ofrezca protección suficiente contra la contaminación, daños y pérdidas, y debe cerrarse herméticamente, etiquetar firmemente y adjuntarse el registro del muestreo. Se puede utilizar un sistema de código de barras en donde se recomienda dar información alfanumérica. La muestra debe enviarse al laboratorio lo antes posible y evitar su deterioro durante el trayecto para lo cual las muestras frescas deben mantenerse refrigeradas y las congeladas deben permanecer congeladas. Las muestras de carne y ave se congelan con anterioridad al envío, a menos que se transporten al laboratorio antes de que puedan deteriorarse.
- g) Para la preparación de la muestra analítica debe asignarse a la muestra de laboratorio un identificador exclusivo que se añade al registro de la muestra, junto con la fecha de recepción y el tamaño de la muestra. La parte del producto que haya de analizarse, es decir la muestra analítica, se separa lo antes posible y cuando haya que calcular el nivel de residuos incluyendo partes que no se analizan, se hace constar el peso de las partes por separado.
- h) Para la preparación y almacenamiento de la porción analítica, esta debe triturarse y si procede, mezclarse perfectamente para que se puedan extraer porciones analíticas representativas. El método de análisis y la eficiencia del mezclado determinan el tamaño de la porción analítica. Los métodos utilizados para triturar y mezclar deben registrarse y no deben afectar a los residuos presentes en la muestra analítica.
- i) Cuando existe la probabilidad de que los residuos se vean afectados y en caso de que no se disponga de métodos prácticos alternativos, la porción analítica podrá estar constituida por unidades enteras o pedazos tomados de unidades enteras. Por consiguiente, si la porción analítica está constituida por pocas unidades o pedazos, no es probable que sea representativa de la muestra analítica y deben analizarse por separado porciones suficientes, a fin de indicar la incertidumbre del valor mediano.
- j) Cuando las porciones analíticas se almacenan antes del análisis, el método y la duración del almacenamiento no deberán afectar al nivel de residuos presentes y de ser necesario se deben extraer porciones adicionales para realizar análisis repetidos y de confirmación. Para un resultado de valor de concentración válido se requiere que el resultado analítico sea tanto cualitativo como cuantitativo en muestras representativas, y que se hayan seguido procedimientos de muestreo apropiados.
- k) Cuando los resultados obtenidos con la muestra a granel excedan del LMR, la decisión de que el lote no es conforme deberá tener en cuenta los siguientes DOS indicadores: 1) los resultados obtenidos a partir de una o varias muestras de laboratorio, según proceda, 2) la exactitud y precisión del análisis, indicadas por los datos del control de calidad.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
 MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 42 de 71

Cuadro 10. Número de muestras primarias seleccionadas al azar necesario para una probabilidad determinada de detectar una muestra no conforme por lo menos en un lote de carne de bovino y aves, para una incidencia dada de residuos no conformes en el lote

| Incidencia de residuos no conformes en el lote (%) | Número mínimo de muestras (n) necesarias para detectar residuos no conformes con una probabilidad del: | | |
|--|--|-------|-------|
| | 90% | 95% | 99% |
| 90 | 1 | - | 2 |
| 80 | - | 2 | 3 |
| 70 | 2 | 3 | 4 |
| 60 | 3 | 4 | 5 |
| 50 | 4 | 5 | 7 |
| 40 | 5 | 6 | 9 |
| 35 | 6 | 7 | 11 |
| 30 | 7 | 9 | 13 |
| 25 | 9 | 11 | 17 |
| 20 | 11 | 14 | 21 |
| 15 | 15 | 19 | 29 |
| 10 | 22 | 29 | 44 |
| 5 | 45 | 59 | 90 |
| 1 | 231 | 299 | 459 |
| 0.5 | 460 | 598 | 919 |
| 0.1 | 2,302 | 2,995 | 4,603 |

- a) El cuadro se basa en el supuesto de un muestreo aleatorio.
- b) Cuando el número de muestras primarias indicado en el Cuadro 10 es un 10% aproximadamente superior a las unidades en el lote total, el número de muestras primarias podrá ser menor y deberá calcularse del modo siguiente:

$$n = \frac{n_0}{1 + (n_0 - 1)/N}$$

Donde:

n = número mínimo de muestras primarias que habrán de tomarse

n_0 = número de muestras primarias indicado en el Cuadro 8

N = número de unidades en el lote que pueden constituir una muestra primaria

- c) Cuando se toma una sola muestra primaria, la probabilidad de detectar una no conformidad es igual a la incidencia de los residuos no conformes.
- d) Para probabilidades exactas o alternativas, o para una incidencia diferente o no conforme, el número de muestras a tomar se calcula con:

$$1 - p = (1 - i)^n$$

Donde p será la probabilidad de la incidencia de los residuos no conformes en el lote (ambas expresadas como fracciones, no porcentajes), y n el número de muestras.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
 MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 43 de 71

Cuadro 11. Recomendaciones del Codex Alimentarius para la toma de muestras primarias y tamaño mínimo de muestras de laboratorio para determinación de residuos tóxicos en carne y productos de mamíferos

| Clasificación de los productos | Ejemplos | Naturaleza de las muestras primarias a recolectar | Tamaño mínimo de las muestras |
|--|--|---|--|
| Carne | | | |
| Mamíferos grandes, canales enteras o medias canales, habitualmente de 10 Kg o más | bovinos ovinos cerdos | Diafragmas enteros o partes de diafragma, complementados con músculo cervical, cuando sea necesario | 500 g |
| Mamíferos pequeños, canales enteras | conejos | canales enteras o cuartos traseros | 500 g después de quitar la piel y los huesos |
| Partes de carnes de mamíferos, frescas/refrigeradas/congeladas envasadas o no | cuartos chuletas filetes espaldas | unidades enteras, o bien una porción de una unidad grande | 500 g después de quitar los huesos |
| Partes de carne de mamíferos, congeladas a granel | cuartos chuletas | o bien una sección transversal congelada de un recipiente ó la totalidad (o porciones) de partes de carnes | 500 g después de quitar los huesos |
| Grasas de mamíferos, incluidas grasas de canal | | | |
| Mamíferos grandes, en el momento del sacrificio, canales enteras o medias canales habitualmente de 10 Kg o más | bovinos ovinos cerdos | grasa renal, abdominal o subcutánea de un solo animal | 500 g |
| Mamíferos pequeños, en el momento del sacrificio, canales enteras o medias canales <10 Kg | | grasa abdominal o subcutánea de uno o más animales | 500 g |
| Partes de carnes de mamíferos | patas chuletas filetes | grasa visible, recortada de una o varias unidades | 500 g |
| | | una o varias unidades enteras o porciones de una o varias unidades enteras, cuando la grasa no sea recortable | 2 Kg |
| Tejido adiposo de mamíferos a granel | — | unidades tomadas con un instrumento de muestreo en 3 lugares como mínimo | 500 g |
| Despojos de mamíferos | | | |
| Higado de mamíferos, fresco/refrigerado/ congelado | — | higado o hígados enteros, o parte de higado | 400 g |

**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
 MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 44 de 71

| | | | |
|--|-----------------|---|-------|
| Riñón de mamíferos fresco/refrigerado/ congelado | -- | 1 o ambos riñones de uno o más animales | 200 g |
| Corazón de mamíferos, fresco/refrigerado/ congelado | -- | corazón o corazones enteros, o sólo porción del ventrículo, si éste es grande | 400 g |
| Otros despojos de mamíferos, frescos/refrigerados/congelados | tripas sesos | parte o unidad entera de uno o más animales, o sección transversal tomada del producto congelado a granel | 500 g |

Cuadro 12. Recomendaciones del Codex Alimentarius para la toma de muestras primarias y tamaño mínimo de muestras de laboratorio para determinación de residuos tóxicos en carne y productos de aves

| Clasificación de los productos | Ejemplos | Naturaleza de las muestras primarias a recolectar | Tamaño mínimo de las muestras |
|--|--|--|--|
| Carne de aves | | | |
| Aves, canales de tamaño grande >2 Kg | pavos gansos pollos adultos | muslos, patas y otras partes de carne oscura | 500 g después de quitar la piel y los huesos |
| Aves, canales de tamaño medio 500 g- 2 kg. | patos gallinas de Guinea Pollos jóvenes | muslos, patas u otras partes de carne oscura de 3 aves como mínimo | 500 g después de quitar la piel y los huesos |
| Aves, canales de tamaño pequeño canales < 500 g | codornices palomas | canales de 6 aves como mínimo | 200 g de tejido muscular |
| Partes de aves frescas/refrigeradas/ congeladas, envasadas al por menor o al por mayor | patas cuartos | unidades envasadas, o partes individuales | 500 g después de quitar la piel y los huesos |
| Grasas de aves, incluida grasa de canales | | | |
| Aves, en el momento del sacrificio, canales enteras o partes de canales | pollos pavos | unidades de grasa abdominal de 3 aves como mínimo | 500 g |
| Partes de carne de aves | patas músculo del pecho | grasa visible, recortada de una o varias unidades, o una o varias unidades enteras o porciones de una o varias unidades enteras, cuando la grasa no sea recortable | 500 g |
| Tejido adiposo de aves a granel | -- | unidades tomadas con un instrumento de muestreo en 3 lugares como mínimo | 500 g |



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
 MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 45 de 71

| Despojos de aves | | | |
|---|--|--|-------|
| Despojos de aves comestibles, excepto el hígado graso de gansos y patos y productos similares de alto valor | | unidades de 6 aves como mínimo, o sección transversal tomada de un recipiente. | 200 g |
| Hígado graso de gansos y patos y productos similares de alto valor | | unidad de un ave o recipiente | 500 g |

Cuadro 13. Recomendaciones del Codex Alimentarius para la toma de muestras primarias y tamaño mínimo de muestras de laboratorio para determinación de residuos tóxicos en alimentos elaborados de origen animal

| Clasificación de los productos | Ejemplos | Naturaleza de las muestras primarias a recolectar | Tamaño mínimo de las muestras |
|---|--|---|---|
| Productos alimenticios secundarios de origen animal, carnes secas, grasas animales elaboradas, alimentos manufacturados de origen animal de uno solo o de varios ingredientes | | | |
| Productos de mamíferos o aves, triturados, cocinados, enlatados, deshidratados, fundidos o elaborados de otro modo, incluidos productos de varios ingredientes | jamón salchichas carne de bovino picada pasta de pollo | unidades envasadas, o sección transversal representativa de un recipiente, o bien unidades (incluidos jugos, si los hay) tomadas con un instrumento de muestreo | 500 g ó 2 Kg si el contenido de grasa es <5% |

En países Sudamericanos como Chile, se han implementado planes de muestreo para determinación de residuos tóxicos en carne de animales de abasto. En el plan de muestreo incluyen los grupos de sustancias prohibidas con efectos anabolizantes, terapéuticamente activas y contaminantes, incluyendo análisis en canales y animales vivos. La inclusión de sustancias en cada uno de los planes está basada en un análisis que considera los siguientes aspectos: información de registros de medicamentos veterinarios (número de registros, especie destino, presentaciones), información de encuestas aplicadas a productores, tipos de sistemas productivos (extensivos o intensivos) asociados a riesgos sanitarios, característica de la industria (vertical integrada o segregada), resultados de años anteriores, bajo las recomendaciones presentadas en el Cuadro 14. Con el fin de tener la mayor información posible sobre residuos, se incluye en el muestreo el mayor número de productores que envían animales a los rastros, donde se efectúa el proceso de toma de muestra. Las muestras se toman en cada establecimiento y por lote de producción, bajo la responsabilidad de los médicos veterinarios oficiales y si el día de muestreo se presenta un proveedor que tiene antecedentes de haber violado los LMR, éste debe ser muestreado sin excepciones. Así mismo, si durante el proceso de toma de muestra se detecta un animal sospechoso de habersele aplicado sustancias prohibidas o recientemente algún fármaco, también debe ser muestreado.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 46 de 71

Cuadro 14. Número de muestras totales anuales a considerar para el análisis de residuos tóxicos en carne de animales de abasto en Chile

| Especie o matriz | Sustancias prohibidas anabolizantes | Antimicrobianos | Antiparasitarios | Otras sustancias activas | Contaminantes metálicos | Plaguicidas |
|------------------|--|-----------------|------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------|
| Bovinos | 2,231 | 582 | 455 | 224 | 190 | 70 |
| Cerdos | 1,083 | 809 | 351 | 276 | 205 | 70 |
| Pollos | 700 | 353 | 279 | 32 | 117 | 46 |
| Pavos | 151 | 94 | 68 | 7 | 25 | 24 |
| Ovinos | 62 | 99 | 76 | 43 | 30 | 20 |
| Caprinos | 7 | 5 | 7 | 3 | 6 | - |
| Equinos | 18 | 50 | 40 | 50 | 79 | - |

Características generales de los métodos analíticos empleados para la detección de residuos tóxicos en alimentos

Los métodos analíticos desempeñan una importante función en apoyo de los sistemas de inspección y vigilancia de residuos, los estudios toxicológicos y los programas nacionales de regulación. Debe tenerse presente que los residuos de cualquier sustancia en los alimentos se encuentran en cantidades mucho menores a los componentes mayoritarios de la misma. La presencia de agua, grasa, proteínas y carbohidratos en los alimentos debe ser eliminada empleando un procedimiento analítico convenientemente selectivo, simple, efectivo y poco costoso en función de reactivos y de tiempo.

La elección del tipo de método a emplear depende de numerosos factores. En general, los métodos basados en técnicas cromatográficas requieren de pasos de purificación más exhaustivos, debido a que se precisa de una mayor pureza de los extractos para la aplicación a un equipo cromatográfico, mientras los inmunológicos son más rápidos aunque con frecuencia son más caros. Los métodos microbiológicos son por lo general más baratos, cuando son aplicables, pero su respuesta tarda en obtenerse, y no siempre son específicos.

Tipos de métodos de análisis de acuerdo al rendimiento

El Codex Alimentarius ha descrito los métodos de análisis en relación con las características de rendimiento, como una alternativa a su clasificación de acuerdo con el uso propuesto o finalidad. Este enfoque clasifica los métodos analíticos según la información analítica que proporcionan en relación con la cantidad y naturaleza del compuesto o compuestos de interés.



MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 47 de 71

Métodos de Nivel I. Determinan la cantidad de un compuesto específico o su tipo e identifican positivamente al compuesto, ofreciendo la mayor confiabilidad para la cuantificación e identificación de su estructura al nivel de interés. Estos métodos pueden estar constituidos por un solo procedimiento que determina la concentración y la identidad de la sustancia, o una combinación de procedimientos para cuantificar y confirmar la estructura del residuo. Un ejemplo es una técnica de cromatografía combinada con un procedimiento de espectrometría de masas. Aunque los métodos de Nivel I son generalmente procedimientos instrumentales, la observación de un cambio patológico o morfológico en el animal que identifique específicamente la exposición a una clase de sustancia podría potencialmente ser un método de Nivel I, dada la suficiente sensibilidad y precisión.

Métodos de Nivel II. Determinan la concentración de un compuesto al nivel de interés, pero no ofrecen una identificación específica de la estructura. Pueden utilizar una estructura, grupo funcional o las propiedades inmunológicas como base para el esquema analítico. Es común utilizar un método de Nivel II como prueba de determinación y un segundo método del mismo tipo como procedimiento de identificación positiva. Estos métodos también pueden utilizarse para verificar la presencia de un compuesto o clase de compuestos. Dos métodos de Nivel II pueden brindar información adecuada, comparable con un método de Nivel I, cuando utilizan diferentes procedimientos químicos. La mayoría de los métodos de análisis utilizados comúnmente para respaldar los LMR son métodos de laboratorio cuantitativos de Nivel II.

Métodos de Nivel III. Son aquellos que producen información menos específica, pero útil. Estos procedimientos de prueba generalmente determinan la presencia o la ausencia de un compuesto o clase de compuesto a un nivel de interés determinado. Con frecuencia están basados en técnicas no-instrumentales. Comúnmente se hace referencia a los métodos de Nivel III como métodos semi- cuantitativos o de tamizaje. Los resultados de una muestra dada no son tan confiables como los resultados de los métodos de Niveles I y II y por lo general necesitan confirmación para establecer medidas reguladoras. Por ejemplo, los métodos de Nivel III pueden brindar información semi- cuantitativa adecuada, pero una pobre identificación, o bien, pueden brindar una identificación sólida o inequívoca con muy poca información cuantitativa. La decisión de utilizar métodos de Nivel III debe ser determinada, en parte, por las características de rendimiento, así como por la necesidad de analizar grandes números de muestras dentro de un período de tiempo determinado. Dos características claves que deberán tomarse en cuenta para los métodos de Nivel III son los porcentajes de lecturas negativas que deben ser bajas en los niveles de interés (<5%), a la vez que se puede aceptar un poco más de flexibilidad para las lecturas falsas positivas (<10%).

Cuadro 15. Métodos de análisis recomendados para la determinación de residuos químicos en carne

| Método | Principio | Referencia |
|--------------------------------|--------------------------------|---|
| Multiresiduo para antibióticos | Método de las 4 placas | Mylyniemi et al, 2001 |
| Antibióticos | Electroforesis de alto voltaje | Woodward and Shearer, 1995 |
| Multiresiduo o medicamentos | RIA y ELISA | Woodward and Shearer, 1995 Haasnoot and Schilt, 2000 |
| Antibióticos | Prueba de receptores | Okerman et al, 1998 |



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 48 de 71

En general, los métodos de Nivel III comerciales documentados para carne no son tan eficientes en función de tiempo, ni de costo, como los comercializados para sustratos de composición más "simple" como la leche. Para los métodos de Nivel I, la selectividad es la consideración principal. El método debe ser suficientemente selectivo para proporcionar una identificación unívoca. La espectrometría de masas (MS) acoplada a un método de separación cromatográfica es una combinación muy potente para identificar una sustancia en el extracto de la muestra. Los instrumentos GC-MS y LC-MS (examen completo, modo seleccionado de iones, alta resolución, tándem MS/MS, sistemas híbridos, entre otras técnicas avanzadas) proporcionan muchos parámetros mensurables, como tiempos de retención, forma de los picos cromatográficos, intensidades iónicas y abundancias/razones relativas, precisiones en masa, y otros aspectos útiles para ayudar a hacer identificaciones de residuos químicos. La clara desventaja de estos métodos es la disponibilidad de instrumentos analíticos con éstas características, sus costos, así como los costos de operación de los mismos.

Aún no se han establecido criterios de aceptación universal para la identificación basada en MS. Para mostrar el listado de los criterios reglamentarios de diferentes organizaciones y los debates sobre el tema se deben consultar los criterios descritos en el Codex Alimentarius. El servicio de inspección federal de los Estados Unidos ha adoptado métodos de análisis de Nivel I por grupos de sustancias químicas presentes en los alimentos, cuya descripción detallada se describe en USDA (2016).

En la Unión Europea el uso de medicamentos veterinarios está regulado por el Reglamento 2377/90/CE del Consejo de la Comunidad Económica Europea (CCE, 1990) en donde se describe el procedimiento para el establecimiento de límites máximos de residuos (LMR) para los medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal. En los Anexos de este Reglamento se puede consultar la siguiente información:

- Anexo I: sustancias que ya tienen establecido un valor de LMR.
- Anexo II: sustancias para las cuales no se considera necesario establecer un LMR para la protección de la salud pública, y están permitidas en las especies de animales productores de alimento, de acuerdo a las condiciones que fueron registradas.
- Anexo III: sustancias con LMR provisional, que es válido por un período de tiempo definido mientras no se cumplan todos los requerimientos establecidos.
- Anexo IV: sustancias que no poseen LMR ya que no poseen ningún límite aceptable en alimentos de origen animal, ya que constituyen un riesgo para la salud del consumidor, por lo tanto, su administración a especies productoras de alimentos está prohibida.

Se ha establecido la prohibición del uso de agentes promotores del crecimiento tales como, hormonas y β -agonistas, a la vez que se regula el control de residuos mediante monitoreo de los compuestos farmacológicamente activos (contaminantes del medio ambiente, colorantes, elementos químicos, entre otros) en productos de origen animal. Los residuos están divididos en compuestos del grupo A, en donde aparecen sustancias prohibidas (de conformidad con el anexo IV) y sustancias del grupo B, que comprenden todos los medicamentos veterinarios registrados de conformidad con los anexos I y III del, así como otros residuos (Cuadro 16). El control del grupo A es más crítico, por tanto de mayor prioridad, debido a sus implicaciones en la salud pública, lo que significa que es necesario analizar un mayor número de muestras y utilizar criterios más estrictos (Stolker y Brinkman, 2005).



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 49 de 71

Cuadro 16. Medicamentos veterinarios regulados por el Consejo de la Comunidad Económica Europea (CEE, 1990)

| | |
|---|---|
| <p>Grupo A Sustancias que tienen efectos anabólicos y sustancias no autorizadas</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Estilbenos y sus derivados, sales y ésteres • Agente anti-tiroideos • Esteroides • Lactonas del ácido resorcilico incluyendo zeranol • β-Agonistas • Los compuestos incluidos en el Anexo IV de la Regulación 2377/90/EC |
| <p>Grupo B Medicamentos de uso veterinario y contaminantes</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Sustancias antibacterianas, incluyendo sulfonamidas y quinolonas • Anthelmínticos • Coccidiostáticos, incluyendo nitroimidazoles • Carbamatos y piretroides • Sedantes • Medicamentos anti-inflamatorios no-esteroidales • Plaguicidas organoclorados incluyendo PCBs • Plaguicidas organofosforados • Elementos químicos • Micotoxinas • Colorantes • Otros |

Medidas a considerar en caso de detectar una muestra conteniendo residuos químicos de sustancias prohibidas o con niveles superiores a los LMR

En el caso de que un laboratorio autorizado, utilizando técnicas cuantitativas, informe un resultado con presencia de residuos de sustancias químicas o contaminantes con niveles superiores al LMR deben establecer procedimientos para evitar la distribución y comercialización del producto. Estos procedimientos pueden incluir medidas como aquellas consideradas por gobiernos las siguientes (SAG, 2015):

1. Informar del resultado con detección superior al LMR o de la presencia de una sustancia prohibida a quien corresponda y solicitar que se confirme el origen de la muestra, así como instruir del envío de la contramuestra al Laboratorio para la confirmación del resultado.
2. Sin perjuicio del proceso de confirmación del resultado, instruir sobre la suspensión temporal de la certificación oficial de productos provenientes del proveedor de origen, hasta que se comunique el resultado del análisis confirmatorio de la contramuestra.
3. Comunicar del hallazgo y suspensión a las áreas o regiones en las cuales existan establecimientos que podrían proveerse del proveedor suspendido. Se debe iniciar la investigación predial inmediatamente y una vez finalizada, remitirla a la brevedad posible, a la instancia oficial correspondiente.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 50 de 71

- Ingresar al proveedor a un sistema o programa de monitoreo dirigido e informar a las áreas o regiones correspondientes junto con la comunicación del hallazgo y suspensión temporal. Un sistema o programa de monitoreo dirigido puede consistir en tomar 5 muestras de la siguiente faena/producción desde el momento de la notificación, las que pueden quedar almacenadas hasta la entrega de resultados de la contramuestra, para la toma de decisiones.

8.3.- Verificación oficial

El Supervisor Estatal, el MVO y el MVRATIF son los operativos responsables de la verificación externa del Programa de microbiología y residuos tóxicos. A partir de la revisión de cada uno de los subcódigos de salida "A, B y C", siguiendo el esquema básico de los procedimientos indicados en la Figura 1, basándose en la evidencia documental (en papel o electrónica). Para ello, se deberá considerar revisar los aspectos señalados en el numeral 7.5.1 de la Evaluación básica del Programa Microbiología y Residuos Tóxicos.

El Supervisor, el MVO y/o el MVRATIF deberán revisar que el establecimiento cuenta con un programa microbiológico para patógenos y/o microorganismos indicadores de proceso de acuerdo a la categoría de producto, especie autorizada y la categoría de riesgo de proceso. En el caso de los establecimientos dedicados al sacrificio, el MVO/MVRATIF debe revisar que el establecimiento cuente con un programa escrito de residuos tóxicos de acuerdo a categoría de producto y especie autorizada. Cada programa se encuentran por escrito y describe claramente el número de muestras a recolectar para ser analizadas (n), el método de recolección y transporte de las muestras, la frecuencia de muestreo, el tamaño de la unidad analítica, el método analítico a utilizar, el o los límites microbiológicos establecidos, el número de unidades que se permite que estén fuera del límite (c) y las acciones correctivas a implementar en caso de que el número de muestras que no cumplen con el límite establecido sea mayor que (c).

El programa además, indica los nombres de los responsables de la implementación de los programas y su seguimiento. Los programas deben estar firmados por el personal que los desarrolla, por el responsable del área y por el Gerente General o la persona de mayor jerarquía. Para verificar todos estos elementos se programan las tareas del código de salida "A".

Posterior a la verificación del cumplimiento documental por parte del establecimiento, el Supervisor, el MVO y/o el MVRATIF deben verificar la implementación de los programas y el seguimiento a los resultados obtenidos, de acuerdo al código de salida B, y la implementación de acciones correctivas y preventivas correspondientes al código de salida C. Las tareas específicas que conforman la metodología para el desarrollo de las actividades de verificación de los Programas Microbiológicos y de residuos tóxicos se encuentran descritos en el Manual de Supervisión del Sistema Tipo Inspección Federal.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 51 de 71

IX. - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Public Health Association. 1970. Recommended procedures for the examination of seawater and shellfish, 4th ed. Washington, DC. APHA.
- Barco L, Belluco, A. Roccato, A. Ricci. 2015. A systematic review of studies on *Escherichia coli* and *Enterobacteriaceae* on beef carcasses at the slaughterhouse. *Int. J. Food microbiol.* 207:30-9.
- Baylis C., Uyttendaele, M. Joosten, H. and A. Davies. 2011. The *Enterobacteriaceae* and their significance to the food industry. International Life Sciences Institute, ILSI Europe Emerging Microbiological Issues Task Force. Brussels, Belgium.
- Beuchat, L.R., and M.A. Cousin. 2001. Yeasts and Molds. In: Pouch Downes F, Ito K, Editors. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Fourth ed. Washington, D.C. USA American Public Health Association. p. 209-215.
- Bryan, F.L. 1969. What the sanitarian should know about *Clostridium perfringens* foodborne illness. *J. Milk Food Technol.* 32:381-389.
- Buchanan, R.L. 2000. Acquisition of microbiological data to enhance food safety. *J. Food Prot.* 63(6):832-838.
- Buchanan, R.L., and R. Oni. 2012. Use of microbiological indicators for assessing hygiene controls for the manufacture of powdered infant formula. *J Food Prot.* 75(5): 989-997.
- CDC. Centers for Disease Control and Prevention. 1995. *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to commercially distributed dry-cured salami - Washington and California, 1994. *MMWR* 44(09):157-160.
- CDC. Centers for Disease Control and Prevention. 2010. *Salmonella* Montevideo infections associated with salami products made with contaminated imported black and red pepper - United States, July 2009-April 2010. *MMWR* 59(59):1647-1650.
- CEE. Comunidad Económica Europea. 2005. Reglamento No. 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. <http://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2005/2073/oj/spa>
- CEE. Comunidad Económica Europea. 1990. Reglamento No. 2377/90 del Consejo de 26 de junio de 1990 por el que se establece un procedimiento comunitario de fijación de los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos de origen animal. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1990R2377:20060408:ES:PDF>



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 52 de 71

CODEX. Codex Alimentarius. 2016. CX/PR 16/48/13: Proposed draft guidelines on performance criteria for methods of analysis for the determination of pesticide residues. 48th Session, Chongqing, 2016. P.R. China, 25-30 April 2016.

http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-718-48%252FWD%252Fpr48_13e.pdf

CODEX. Codex Alimentarius 2010. CAC/GL 33-1999: Métodos de muestreo recomendados para la determinación de residuos de plaguicidas a efectos del cumplimiento de los LMR. Enmendado en 2010.

http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCAC%2BGL%2B33-1999%252FCXG_033f.pdf

Conedera, G., Mattiazzi, E., Russo, F., Chiesa, E., Scorzato, I., Grandesso, S., Bessegato, A., Fioravanti, A., Caprioli, A. 2007. A family outbreak of *Escherichia coli* O157 haemorrhagic colitis caused by pork meat salami. *Epidemiol. Infect.* 135(2):311-314.

Davicino, R.A., 2004. Residuos de medicamentos veterinarios, anabólicos y plaguicidas en carne, leche y mieles. Universidad Nacional de Río Cuarto, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Departamento Salud Pública. Inspección Sanitaria de Productos Alimenticios, Argentina. Comunicación Personal.

Doyle, M.P., and R.L. Buchanan. 2013. Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers. Fourth ed. Washington, D.C. American Society for Microbiology Press.

Farrell, B.L., Ronner A. B., and A. C. Wong. 1998. Attachment of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef to meat grinders and survival after sanitation with chlorine and peroxyacetic acid. *J. Food Prot.* 61(7):817-822.

FDA. Food and Drug Administration. 2012. Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganism and natural toxins. Second Edition.

<http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodbornenessContaminants/UCM297627.pdf>

Feng, P., Weagant, S.D., Grant, M.A. and W. Burkhard. 2002. Chapter 4. Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. Bacteriological Analytical Manual: United States Food and Drug Administration.

<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>

Fernández Escartín E. 2008. Microbiología e Inocuidad de los Alimentos. Querétaro, México. Universidad Autónoma de Querétaro (2° Ed.). Pp. 967.

Freitag, N., Port, G.C., and M.D. Miner. 2009. *Listeria monocytogenes* – from saprophyte to intracellular pathogen. *Nat. Rev. Microbiol.* 7(9):623-628.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 53 de 71

- Gill, C. O. 2005. Sources of microbial contamination at slaughtering plants. 231-241. *In: Improving the Safety of Fresh meat*. Sofos, J.N. Ed., Woodhead Publishing Limited. CRC Press. http://ubblab.weebly.com/uploads/4/7/4/6/47469791/improving_the_safety_of_fresh_meat.pdf
- Gill, C.O., and J.C. McGinnis. 2004. Microbiological conditions of mechanically tenderized beef cuts prepared at four retail stores. *Int. J. Food Microbiol.* 95: 95-102.
- Ginson, H., Taylor, J.H., Hall, K.E. and J.T. Holah. 1999. Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. *J. Appl. Microbiol.* 87:41-48.
- Haasnoot W., and R. Schilt. 2000. Immunochemical and receptor technologies, In: *Residue analysis in food- principles and applications*, O'keefe M., Ed. Singapore, Harwood Academic Publishers, Pp. 107- 144.
- Heeschen, W.H. 1997: *Safety assessment and consumer protection*, in *Monograph on Residues and Contaminants in Milk and Milk Products*, published by FIL/IDF, Brussels, Belgium.
- Heeschen, W.H., Blüthgen, A. and R. Burt. 1997. Definitions (basic terms) in monograph on residues and contaminants in milk and milk products. FIL/IDF, Brussels, Belgium.
- Hong, C.H., Todd, J.T. and G. J., Bahk. 2008. Aerobic plate counts as a measure of hazard analysis critical control point effectiveness in a pork processing plant. *J. Food Prot.* 71(6):1248-1252.
- ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 2002. *Microorganisms in foods 7. Microbiological Testing in Food Safety Management*. Springer US. Pp. 362.
- ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 2011. *Microorganisms in foods 8. Use of data for assessing process control and product acceptance*. Springer US. Pp. 400.
- Issenhuth-Jeanjean, S., Roggentin, P., Mikoleit, M., Guibourdenche, M., Pinna, E., Nair, S., Fields, P.I. and F. Weill. 2014. Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Research in Microbiology* 165:526-530.
- Jay, J.M., Loessner, M.J. and D.A. Golden. 2005. *Modern Food Microbiology*. Seventh ed. USA. Springer.
- Johnson, E.A. 1990. *Clostridium perfringens* food poisoning. p. 229-240. *In: Foodborne diseases*. D.O. Cliver, Ed., Academic Press, Inc., San Diego, CA.
- Kaper, J.B., Nataro J.P. and L.T. Mobley. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Rev. Microbiol.* 2:123-140.
- Kornacki, J.L., and J.L. Johnson. 2001. *Enterobacteriaceae*, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Pouch Downes F, Ito K, Eds. Washington D.C., USA. American Public Health Association.

**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 54 de 71

- Korsak, N., G. Daube, Y. Ghafir, A. Chahed, S. Jolly, and H. Vindevogel. 1998. An efficient sampling technique used to detect four foodborne pathogens on pork and beef carcasses in nine Belgian abattoirs. *J. Food Prot.* 61:535-541.
- MacDonald D.M., Fyfe M., Paccagnella A., Trinidad A., Louie K., Patrick D. 2004. *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to salami, British Columbia, Canada, 1999. *Epidemiol. Infect.* 132(2):283-289.
- Maturin, L., and J. T. Peeler. 2001. Aerobic plate count. In: *Bacteriological Analytical Manual*. Chapter 3. US Food and Drug Administration.
<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>
- McDowell, S.W., R. Porter, R. Madden, B. Cooper, and S.D. Neill. 2007. *Salmonella* in slaughter pigs in Northern Ireland: prevalence and use of statistical modelling to investigate sample and abattoir effects. *Int. J. Food Microbiol.* 118:116-125.
- Montville, T.J., K. R. Matthews, and K. E. Kniel. 2008. *Food Microbiology: an Introduction*, Third ed. Washington, D.C. American Society for Microbiology Press.
- Myllyniemi, A.L., Nuotio L., Linfors E., Rannikko R, Niemi A. and Bäckman C. 2001. A microbiological six- plates method for the identification of certain antibiotic groups in incurred kidney and muscle samples, *Analyst* 126:641- 646.
- National Research Council. 1985. *An evaluation of the role of microbiological criteria for foods and food ingredients*. Washington, D.C. National Academy Press.
- Noa, M. 2013. Plaguicidas en alimentos. En: *Riesgos asociados al consume de alimentos*, María Refugio Torres Vitela, Ed., Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. ISBN 978-607-450-641-9.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Diario Oficial de la Federación.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Diario Oficial de la Federación.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Determinación de Bacterias Coliformes. Técnica del Número Más Probable. Diario Oficial de la Federación.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Diario Oficial de la Federación.



**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 55 de 71

NORMA Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009, Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba. Diario Oficial de la Federación.

Okerman L., De Walsh K., and Va-Hoof J. 2000. Detection of antibiotics in muscle tissues with microbiological inhibition test: effect of the matrix. *Analyst* 123:2361-2365.

Orsi, R.H. and M. Wiedmann. 2016. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100:5273-5287.

Paulsen, P., C. Borgetti, E. Schopf, F. J. Smulders. 2008. Enumeration of *Enterobacteriaceae* in various foods with a new automated most-probable-number method compared with petrifilm and international organization for standardization procedures. *J. Food Prot.* 71:376-379.

Payment, P., M. Waite, and A. Dufour. 2003. Introducing parameters for the assessment of drinking water quality. In: Assessing microbial safety of drinking water. Improving approaches and methods. A. Dufour MS, W. Koster, J. Bartram, E. Ronchi, and L. Fewtrell, Eds. IWA Publishing, London, UK. World Health Organization and the Organization for Economic Co-operation and Development.

PEV. Prontuario de Especialidades Veterinarias. 2016. 36ª Edición. PLM México. Disponible para consulta: <http://www.diccionarioveterinarioplmm.com/>

Pitt, J.I., and A. D. Hocking. 2009. Fungi and food spoilage Third ed. New York, USA Springer Dordrecht Heidelberg.

Rangel, J.M., Sparling P.H., Crowe, C., Griffin, P.M. and Swerdlow, D.L. 2005. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982–2002. *Emerg. Inf. Dis.* 11(4):603-609.

Ray, B., and A.K. Bhunia. 2014. Fundamental Food Microbiology, 5th ed. Boca Raton, FL. CRC Press.

Rhoades, J.R., Duffy, G., Koutsoumanis, K. 2009. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: a review. *Food. Microbiol.* 26(4):357-376.

Román, P., M. M Martínez, A. Pantoja. 2013. Manual de compostaje del agricultor. Experiencias en América Latina. Santiago de Chile Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO).

Ruby, J. R., and J. Zhu, and S. C. Ingham. 2007. Using indicator bacteria and *Salmonella* test results from three large-scale beef abattoirs over an 18-month period to evaluate intervention system efficacy and plan carcass testing for *Salmonella*. *J. Food Prot.* 70(12):2732-2740.

SAG. Servicio Agrícola y Ganadero. 2015. Programa de control de residuos en productos pecuarios, año 2015. Ministerio de Agricultura. Gobierno de Chile.
http://www.sag.cl/sites/default/files/programa_control_residuos_2015.pdf

**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 56 de 71

- Scallan, E., P.M. Griffin, F.J. Angulo, R.V. Tauxe, and R.M. Hoekstra. 2011. Foodborne illness acquired in the United States—Unspecified agents. *Emerging. Inf. Dis.* 17:16-22.
- Skarp, C.P.A., Hänninen, M.L., and H.I.K. Rautelin. 2016. Campylobacteriosis: the role of poultry meat. *Clin. Microbiol. Infect.* 22(2):103-109.
- Stolker, A.A.M., and Brinkman U.A.Th. 2005. Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents in food-producing animals—a review. *J. Chromatography A*, 1067:15-53.
- USDA. United States Department of Agriculture. 1996. Pathogen reduction; hazard analysis and critical control point (HACCP) systems; Final rule. *Fed. Regist.* 61:38806-38989.
- USDA. United States Department of Agriculture. Food Safety and Inspection Service. 1999. Performance standards for the production of certain meat and poultry products - Final rule. *Fed. Regist.* 64:732-749.
- USDA. United States Department of Agriculture. 1999. Performance standards for the production of certain meat and poultry products. Final rule. *Fed. Regist.* 64:732-749.
- USDA. United States Department of Agriculture. 2011. Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Certain Raw Beef Products. 9 CFR Parts 416, 417, and 430. Docket No. FSIS-2010-0023. *Fed. Regist.* 76(182):58157-58165.
- USDA. United States Department of Agriculture. 2013. Control of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Meat and Poultry Products; Final Rule. 9 CFR Part 430. Docket No. 97-013F. *Fed. Regist.* 68(109):34208-34254.
- USDA. United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service. 2016. Office of Public Health Science. CLG-MRM1.06. Screening and Confirmation of Animal Drug Residues by UHPLC-MS-MS. Revision: 06 Replaces: CLG-MRM1.05 Effective: 03/07/2016.
- USDA. United States Department of Agriculture. 2014. Isolation and identification of *Salmonella* from meat, poultry, pasteurized egg, and catfish products and carcass and environmental sponges. Food Safety and Inspection Service.
<https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/science/laboratories-and-procedures/guidebooks-and-methods/microbiology-laboratory-guidebook>
- USDA. United States Department of Agriculture. 2015. Changes to the *Salmonella* and *Campylobacter* verification testing program: proposed performance standards for salmonella and campylobacter in not-ready-to-eat comminuted chicken and turkey products and raw chicken parts and related agency verification procedures and other changes to agency sampling. *Fed. Regist.* 80(16):3940-3950.

**MANUAL DE VERIFICACIÓN DEL CÓDIGO DE ENTRADA 4: PROGRAMAS
MICROBIOLÓGICOS Y RESIDUOS TÓXICOS EN ESTABLECIMIENTOS TIF**

Clave: MTF-SSN-SIS-01

Versión: 00

Fecha: 6 de junio, 2019

Página: 57 de 71

USDA. United States Department of Agriculture. 2017. Sampling results for FSIS regulated products. <https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/data-collection-and-reports/microbiology/sampling-project-results>

Whiley, H. and K. Ross. 2015. *Salmonella* and eggs: from production to plate. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 12(3):2543-56.

Williams, R.C., Isaacs, S., Decou, M.L., Richardson, E.A., Buffett, M.C., Slinger, R.W., Brodsky, M.H., Ciebin, B.W., Ellis, A., Hockin, J. 2000. Illness outbreak associated with *Escherichia coli* O157:H7 in Genoa salami. *E. coli* O157:H7 Working Group. *CMAJ* 162(10):1409-1413.

Woodward, K.N. and G. Shearer. 1995. Antibiotic use in animal production in the European Union-Regulations and current methods for residue detection. In: *Antibiotics used in Agriculture*, Oka H. Nakazawa H., Eds. Arlington, AOAC International, 47-76.

**Este documento fue elaborado con la colaboración de la Universidad de Guadalajara
a través del Departamento de Salud Pública del Centro Universitario de
Ciencias Biológicas y Agropecuarias**

Colaboradores:

**Dra. Elisa Cabrera Díaz
Dr. Carlos Alberto Campos Bravo
Dr. Mario Noa Pérez
Dra. Julia Aurora Pérez Montaña**

