



Facultad de Ciencias
VETERINARIAS



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Facultad de Ciencias Veterinarias

Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar al título de

DOCTOR EN CIENCIAS VETERINARIAS

CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA CARNE BOVINA Y CUANTIFICACIÓN

DEL RIESGO EN PLANTAS DE FAENA DE LA PROVINCIA DE BUENOS

AIRES. IMPLEMENTACIÓN DE ACCIONES DE MEJORA

AUTOR: COSTA, Magdalena

DIRECTOR: LEOTTA, Gerardo Aníbal

CO-DIRECTOR: GALLI, Lucía

LUGAR DE TRABAJO

Instituto de Genética Veterinaria "Ing. Fernando Noel Dulout"

(IGEVET, FCV-UNLP-CONICET).

2019

JURADOS

Etcherverria Analia

Frizzo Laureano

Moredo Fabiana

A mis 4 abuelos,

por darme las bases para convertirme en lo que soy.

AGRADECIMIENTOS

Caminante no hay camino, se hace camino al andar, y hoy, después de algunos años caminar, toca llegar al final. Llegar a la meta implica detenerse y mirar hacia atrás, para contemplar no solo los resultados obtenidos, sino todo lo que recogimos en el mientras tanto, y eso es motivo de sobra para dar las gracias.

A la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, por haberme formado, dándome no solo los conocimientos, sino también la contención institucional. Mis honestos agradecimientos al Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires, por abrirme las puertas de los frigoríficos y de su laboratorio y a la División Higiene y Seguridad Alimentaria y Ambiental de los laboratorios Stambouliau, por recibirme y ayudarme siempre de un modo totalmente desinteresado.

A Gerardo, por haber sido como dicen las malas lenguas, un director “poco ortodoxo”. Feliz de que así haya sido. Por hacerme replantear porque no estaba haciendo investigación si era lo que me gustaba, y haberme dado la mano para que probemos suerte, a ver si funcionaba. Por sus promesas no cumplidas con los muestreos; pero a falta de eso, por haber estado en todos lados, desde las visitas, los laboratorios, picar colonias, hasta las reuniones de madrugada por Skype para poder finalizar este proyecto. Gracias por nunca haber sido egoísta conmigo, demostrando que un Director no siempre es el monstruo que algunos te venden. Gracias de verdad, por alentarme siempre a más y darme a cada rato las herramientas para que lo haga real. Gracias además por tu grupo de amigos que desde su lugar supieron colaborar, como Marcelo y Juan.

A mis compañeras del laboratorio, Lu, Ale y Toia, no hay palabras de agradecimiento que alcancen, porque si ustedes no hubiesen estado ahí, codo a codo conmigo, hoy no podría estar cerrando esta etapa. Gracias Lu, por tu colaboración como co-directora, salvándome siempre de mis líos con las PCR que enloquecían y no daban; Ale y Toia, por picar y picar y picar colonias, por correrme uno y mil geles, por

conservarme infinidad de cepas, por el laburazo de PFGE y más. Pero nada se compara con el agradecimiento que les debo por el apoyo y acompañamiento de siempre. Por ayudarme desde sus propias experiencias a disfrutar cada paso que me tocó dar. Afuera del laboratorio, también hay una “Ofi del fondo”, bastante chica pero con el corazón enorme. Gracias Albi, Eli y Mari por cada charla, cada mate y por sobre todas las cosas por el apoyo espiritual que entre tantas brujas, me han sabido dar.

En el laboratorio del Ministerio, gracias a Gabi, por confiar en mí, permitirme llegar allá y hacerme sentir como en mi casa; a Mati, por venir al lado mío desde las prácticas de la facu, hasta cada visita a los frigos; por las horas interminables del lavar y preparar material; por todas las muestras de aguas procesadas; por cada charla del Taladro y el Pincha de los lunes; al Baskito, por acompañarnos siempre y enseñarnos tanto en cada viaje; a Hernan, que sin su autorización nada de esto hubiese sido realidad; a Rafita, por los tantos kilómetros recorridos, para siempre estar los martes listo para arrancar. Intentando no olvidarme de nadie, gracias a Adriana, Vero, Mariana, Marcela, Lau, Pablo, Sergio, Fede y a todos los siempre intentaron colaborar.

El laboratorio Stambouljan es increíble, pero la gente que trabaja adentro lo supera. Gracias Adri, Jime, Yami, Agus, Mari, Bren y Nadia, por cada segundo que se distrajeron de su trabajo para ayudarme; por cada charla acompañándome para no morir en medio de una SIM; por cada “yo mato vacas” repetido hasta el llanto de las risas; por cada compañía a todo tipo de curso, jornada, congreso o lo que sea, donde sea. Gracias por hacerme sentir una más del grupo, aunque lleve ambo de otro color.

A Ariel y Caludia del Servicio Antígenos y Antisueros del Malbrán”, por su colaboración en el procesamiento de las cepas.

Gracias a cátedra de Microbiología Aplicada, especialmente Estela y Patricia, por apoyarme a seguir adelante y cubrirme en cada clase para que no interrumpa el muestreo.

Por último, aunque no menos importantes gracias a todos mis afectos por el apoyo emocional. A Stellita y Malevo, por haberme alentado siempre, a que haga lo que

me haga feliz, sabiendo que ellos iban a estar apoyándome. Que elija sin miedo, total sus brazos iban a estar para levantarme en cada caída, y así lo hicieron. A mi hermano, Santi, no solo por sus charlas llenas de calma para bajar siempre mis revoluciones, sino también por haber traído a Sofí para que acompañe mis locuras, y porque juntos me supieron dar el regalo más lindo que me dio la vida, a la Joaqui hermosa de la familia. Porque como me dijiste algún día, aunque a algunos le toque irse y nos acompañen desde arriba, llegan otros para llenarnos nuevamente el corazón de alegría. A Calu, que se bancó toda la escritura, siempre sentando a mi lado. A todos mis amigos, por siempre estar, en las buenas y las malas mucho más.

A Fran, por haber aparecido en la etapa más difícil de la tesis, pero haber dado un vuelco total en mi vida; por tu paciencia en cada madrugada de escritura; por cada comida preparada para que no pierda tiempo; por cada mate cebado, rebalsando de amor para robarme una sonrisa. Gracias por el equipo de familia que trajiste, que cada supo darme las mejores energías para no aflojar. Resumiendo, gracias por tanta felicidad.

Y gracias, a mis 4 viejos por criarme con tanto amor siempre. A los que tengo arriba, por guiarme desde allá, sabiendo que estarían orgullosos si estuvieran acá, y a Fabi, que lo debe estar mirando desde la misma platea y disfrutándolo a la par. Y a los Tatas que por suerte todavía comparten conmigo cada mate de los desayunos, guiándome para ser cada día no una mejor profesional, sino una mejor persona.

A todos, gracias!

PUBLICACIONES PARCIALES

- Comprehensive evaluation and implementation of improvement actions in bovine abattoirs to reduce pathogens exposure. Costa M, Pracca G, Sucari A, Galli L, Ibargoyen J, Gentiluomo J, Brusa V, Martinez Zugazua V, Figueroa Y, Londero A, Roge A, Silva H, Van Der Ploeg C, Signorini M, Oteiza JM, Leotta GA. Enviado a Preventive Veterinary Medicine. Ref: PREVET_2019_668.

- Comparison of six commercial systems for the detection of non-O157 STEC in meat and vegetables. Costa M, Sucari A, Epszteyn S, Oteiza JM, Gentiluomo J, Melamed C, Figueroa Y, Mingorance S, Grisaro A, Spioussas S, Buffoni Almeida M, Caruso M, Pontoni A, Signorini M, Leotta GA. Food Microbiology. 2019; 84: 103273.

TABLA DE CONTENIDOS**Página**

PORTADA.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
PUBLICACIONES PARCIALES.....	VI
TABLA DE CONTENIDOS.....	VII
INDICE.....	VIII
FIGURAS.....	XII
TABLAS.....	XIII
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	XIV
SÍMBOLOS Y UNIDADES DE MEDIDAS.....	XXI
RESUMEN Y PALABRAS CLAVES	XXI
SUMMARY AND KEYWORDS.....	XXIII

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	25
1.1. Seguridad alimentaria	25
1.2. Abordaje de cadena de producción de alimentos	28
1.3. Análisis de riesgo	29
1.4. Agua.....	32
1.4.1. Fuentes de obtención y calidad	32
1.4.2. Agua potable	34
1.4.3. Usos del agua en frigoríficos	36
1.5. Carne bovina	38
1.5.1. Calidad microbiológica	42
1.6. Menudencias	60
1.7. Sistemas de aseguramiento de la calidad	63
1.7.1. Criterios microbiológicos	66
1.8. Argentina.....	70
1.8.1. Historia de la industria frigorífica	70
1.8.2. Estándares en Argentina	74
1.8.3. Producción y consumo de carne	78

2. HIPÓTESIS	80
3. OBJETIVOS.....	81
3.1. Objetivo general	81
3.2. Objetivos específicos.....	81
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	83
4.1. Descripción del estatus sanitario y la calidad microbiológica de la carne bovina en tres plantas de faena de tránsito provincial.....	83
4.1.1. Cuantificación del riesgo de contaminación de la carne bovina durante el proceso de producción.....	83
4.1.2. Determinación de la calidad microbiológica del agua utilizada en la planta de faena.....	86
4.1.3. Determinación de la carga bacteriana de las medias reses mediante el recuento de microorganismos indicadores	89
4.1.4. Determinación de la presencia de STEC (O157:H7 y no-O157) y <i>Salmonella</i> spp. en medias reses, carne de cabeza, superficies ambientales y agua de lavado y enfriado de vísceras	91
4.1.5. Encuesta operarios	100
4.2. Promover la implementación de acciones de mejora tendientes a mejorar la calidad del producto final	100

4.2.1. Realización de capacitaciones individuales a los responsables de cada planta con base en los resultados obtenidos	100
4.2.2. Realización de capacitaciones grupales a los operarios de cada planta con base en los resultados obtenidos	101
4.3. Verificación de éxito de las acciones de mejoras implementadas	102
4.3.1. Cuantificación del riesgo de contaminación de la carne bovina durante el proceso de producción.....	102
4.3.2. Determinación de la calidad microbiológica del agua utilizada en la planta de faena.....	102
4.3.3. Determinación de la carga bacteriana de las medias reses mediante el recuento de microorganismos indicadores	103
4.3.4. Determinación de la presencia de STEC (O157:H7 y no-O157) y <i>Salmonella</i> spp. en medias reses, carne de cabeza, superficies ambientales y agua de lavado y enfriado de vísceras	103
4.3.5. Encuesta operarios	104
4.4. Caracterización de los aislamientos de STEC y <i>Salmonella</i> spp. mediante técnicas fenotípicas y genotípicas	104
4.4.1. Pruebas fenotípicas.....	104
4.4.2. Pruebas genotípicas.....	111

4.5. Determinación de la relación clonal de los aislamientos mediante técnicas moleculares	112
4.5.1. <i>Escherichia coli</i> productor de toxina Shiga.....	112
4.5.2. <i>Salmonella enterica</i>	115
5. RESULTADOS	116
6. DISCUSIÓN.....	146
7. CONCLUSIONES	167
BIBLIOGRAFÍA	169
ANEXO.....	214

FIGURAS

Figura 1: Puntos de toma de muestra de microorganismos indicadores en medias reses

Figura 2. Procesamiento de muestras con PCR GeneDisc Pall

Figura 3. Diagrama del procedimiento de SIM

Figura 4. Flujograma de trabajo para el aislamiento STEC O157 luego de la SIM

Figura 5. Flujograma de trabajo para el aislamiento STEC no-O157

Figura 6. Dendrograma obtenido a partir de patrones de bandas de *Xba*I-PFGE de aislamientos de STEC O157:H7/H21/HNM

Figura 7. Dendrograma obtenido a partir de patrones de bandas de *Bln*I-PFGE de aislamientos de STEC O157:H7 clonales por *Xba*I-PFGE

Figura 8. Dendrograma obtenido a partir de patrones de bandas de *Xba*I-PFGE de aislamientos de STEC no-O157

Figura 9. Dendrograma obtenido a partir de patrones de bandas de *Bln*I-PFGE de aislamientos de STEC no-O157 clonales por *Xba*I-PFGE

Figura 10. Dendrograma obtenido a partir de patrones de bandas de *Xba*I-PFGE de aislamientos de *Salmonella enterica*

TABLAS

Tabla 1. División de las planillas pre-operacional y operacional en bloques, cantidad de ítems y valor de importancia

Tabla 2. Número total de muestras recolectadas en las etapas I y III

Tabla 3. Recuento de microorganismos indicadores de medias reses en etapa I y III (log CFU/cm²)

Tabla 4. Aislamientos de STEC (O157:H7 y no-O157) y *Salmonella enterica* de las muestras de medias reses, carne de cabeza, ambiente y agua de lavado y enfriado de vísceras en la etapa I y III [N/N total (%)]

Tabla 5. Origen, serotipos y genotipos de STEC no-O157 aislados durante las etapas I y III

Tabla 6. Origen y serovares de *Salmonella enterica* aislados durante las etapas I y III

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

A	Aplica
A/E	Adherencia y destrucción de microvellosidades (<i>attaching and effacing</i>)
Abs	Absorbancia
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AN	Agar nutritivo
ANLIS	Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud
AP	Agua peptonada
A _w	Actividad de agua
Bact	Bacterias
BPH	Buenas prácticas de higiene
BPM	Buenas prácticas de manufactura
BSC	Buffer de suspensión celular
CAA	Código Alimentario Argentino
CB	Calificación del bloque
CCC	Caldo cerebro corazón
CH	Colitis hemorrágica
CREA	Consortios Regionales de Experimentación Agropecuaria
CVBB	Caldo verde brillante bilis
DAEC	<i>E. coli</i> de adherencia difusa (<i>diffuse-adherent E. coli</i>)
DEC	<i>E. coli</i> asociadas a infecciones gastrointestinales (<i>diarrheagenic E. coli</i>)
DFD	Carnes oscuras, firmes y secas (<i>Dark, Firm, Dry</i>)

EAEC	<i>E. coli</i> enteroagregativo (<i>enteroaggregative E. coli</i>)
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EHEC	<i>E. coli</i> enterohemorrágico (<i>enterohemorrhagic E. coli</i>)
EIEC	<i>E. coli</i> enteroinvasivo (<i>enteroinvasive E. coli</i>)
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>)
EMB	Agar Eosina Azul de Metileno (<i>Eosin Methylene Blue Agar</i>)
EPEC	<i>E. coli</i> enteropatógeno (<i>enteropathogenic E. coli</i>)
ETA	Enfermedad transmitida por los alimentos
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxigénico (<i>enterotoxigenic E. coli</i>)
ExPEC	<i>E. coli</i> extraintestinales
FAO	Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (<i>Food and Agriculture Organization</i>)
FDA	Food and Drug Administration
FSIS	Food Safety and Inspection Service
GATT	Acuerdo General de Aranceles Aduaneros y Comercio (<i>General Agreement on Tariffs and Trade</i>)
H	Antígeno flagelar
HACCP	Análisis de Peligros y los Puntos Críticos de Control (<i>Hazard Analysis and Critical Control Points</i>)
I	Inaceptable
Im	Importancia del bloque
IMS	Indol Movilidad Sulfuro

INPB	Instituto Nacional de Producción de Biológicos
INTA	Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
IPCVA	Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina
K	Sumatoria de la columna aplica
LIA	Lisina hierro agar (<i>Lysine Iron Agar</i>)
LEE	Locus de destrucción del enterocito (<i>locus for enterocyte effacement</i>)
M	Marginal
MAC	Agar MacConkey
Máx.	Máximo
MKTTn	Caldo Mueller-Kauffmann tetrionato novobiocina
N	Número
NA	No aplica
ND	No determinado
NM	No móvil
NMP	Número más probable
NT	No tipificable
NTS	<i>Salmonella</i> no-tifoidea (<i>non-typhi Salmonella</i>)
NTU	Unidades Nefelométricas de Turbidez
O	Antígeno somático
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCA	Agar de recuento en placa (<i>Plate count agar</i>)
PCC	Puntos Críticos de Control

PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (<i>polymerase chain reaction</i>)
PFGE	Electroforesis en gel de campo pulsado (<i>Pulsed-field gel electrophoresis</i>)
pH	Potencial hidrógeno
POES	Procesos operativos estandarizados de saneamiento
PPR	Programas de prerrequisitos
PSE	Carnes pálidas, blandas y exudativas (<i>Palid, Soft, Exudative</i>)
Pt-Co	Platino-cobalto
Ptos	Puntos
R	Rugosa
RFLP	Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (<i>restriction fragment length polymorphism</i>)
RM-VP	Rojo de metilo – Voges Proskauer
RSA	Red de Seguridad Alimentaria
RT	Tiempo real (<i>real time</i>)
RVS	Caldo Rappaport Vassiliadis
S	Lisa
SENASA	Servicio Nacional de sanidad y calidad agroalimentaria
SF	Solución fisiológica
SFF	Solución fisiológica formolada
SIM	Separación inmunomagnética
SMAC	Agar MacConkey sorbitol
STEC	<i>Escherichia coli</i> productor de toxina Shiga (<i>Shiga toxin-</i>

	<i>producing E. coli)</i>
Stx	Toxina Shiga (<i>Shiga toxin</i>)
SUH	Síndrome Urémico Hemolítico
TAE	Tris + acetato + EDTA
TBE	Tris + Ácido bórico + EDTA
TE	Tris + EDTA
TNA	Total de las calificaciones no aplica obtenidas
Tris	Trisaminometano
TS	Total de las calificaciones aplica y moderadas obtenidas
TSB	Caldo de tripticasa de soja (<i>Tryptic Soy Broth</i>)
TSBm	Caldo de tripticasa de soja modificado (<i>Tryptic Soy Broth modified</i>)
TSI	Agar hierro triple azucar
UE	Unión Europea
UPGMA	Análisis filogenético basado en el algoritmo (<i>Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages</i>)
UV	Ultravioleta
XLD	Agar xilosa lisina desoxicolato
XLT4	Agar xilosa lisina tergitol
y col.	y colaboradores

SÍMBOLOS Y UNIDADES DE MEDIDA

°	Grados
°C	Grados Celsius
%	Porcentaje
>	Mayor
<	Menor
=	Igual
cm	Centímetros
g	Gramos
h	Horas
kg	Kilogramos
kg/hab/año	Kilogramos habitante año
l	Litro
log	Logaritmo
mg	Miligramos
min	Minutos
ml	Mililitros
mM	Milomolar
nm	Nanomoles
<i>p</i>	Probabilidad
pb	Pares de bases
p/v	Peso/volumen
ppm	Partes por millón
rpm	Revoluciones por minuto

s	Segundos
tn/r/c/h	Toneladas de res con hueso
UFC	Unidades formadoras de colonias
μg	Microgramo
μl	Microlitro
μM	Micromolar
V	Voltios

RESUMEN Y PALABRAS CLAVES

El proceso de faena juega un rol fundamental en el bienestar animal, la calidad de la carne, la seguridad y la salud pública a través de la cadena de producción de carne. En este estudio, se realizaron evaluaciones integrales, implementación de acciones de mejora y verificación de impacto en tres frigoríficos de la provincia de Buenos Aires, Argentina. El riesgo se cuantificó en una escala de 1 a 100 y se clasificó en alto (1 a 40), moderado (41 a 70) y bajo (71 a 100). Se tomaron muestras (carcasa, n = 252; medio ambiente, n = 252; carne de cabeza, n = 21; agua de lavado y enfriamiento de vísceras, n = 105) durante el período de estudio de tres años (2016-2018), para la detección y aislamiento de *Salmonella* spp., STEC O157:H7 y no O157. También se analizaron muestras de medias reses para recuento de microorganismos mesófilos aerobios, coliformes y *Escherichia coli*. Se tomaron doscientas muestras de agua, de las cuales, el 59,3% eran no potables. Después de la implementación de acciones de mejora (edilicias, procesos, sistemas de potabilización de agua y capacitación), el riesgo de contaminación se redujo de alto a moderado en los tres frigoríficos. El recuento de microorganismos indicadores disminuyó en dos frigoríficos y también se observó una reducción importante en la presencia de patógenos. En la etapa de verificación, el 82,2% de las muestras de agua eran potables. Se detectaron clones circulantes de STEC O157:H7, no-O157 y *Salmonella enterica*, demostrando la presencia de contaminación cruzada entre los productos entre sí y con el ambiente, destacando la importancia de la aplicación correcta de los POES. Este es el primer paso dentro de un proceso de cambios. Sin embargo, es fundamental que la autoridad

sanitaria continúe trabajando, para que el riesgo de contaminación en cualquier día o momento de trabajo sea bajo.

Palabras clave: cuantificación de riesgo; *Salmonella* spp.; *Escherichia coli*; Frigoríficos provinciales; Carne

SUMMARY AND KEYWORDS

The slaughter process plays an important role in animal welfare, meat quality, safety and public health through the meat production chain. In this study, comprehensive evaluation, implementation of improvement actions and impact verification were performed in three abattoirs from the province of Buenos Aires, Argentina. Risk was quantified on a 1–100 scale and classified as high (1–40), moderate (41–70) and low (71–100). Samples (carcass, n=252; environment, n= 252; head meat, n= 21; viscera washing and chilling water, n= 105) were taken during the three-year study period (2016-2018), for detection and isolation of *Salmonella* spp., STEC O157:H7 and non-O157. Carcass samples were also analyzed for mesophilic aerobic organisms and coliforms and *Escherichia coli* enumeration. Two hundred and one water samples were taken, of which, between 53.3% were non-potable. After the implementation of improvement actions (building, processes, systems for water purification and training), the risk of contamination was reduced from high to moderate in all three abattoirs. The count of indicator microorganisms decreased in two abattoirs and an important reduction in the presence of pathogens was also observed. At the verification stage, 82.2% of water samples were potable. Circulating clones of STEC O157:H7, non-O157 and *Salmonella enterica* were detected, demonstrating the presence of cross contamination between the products with each other and with the environment, highlighting the importance of the correct application of the SSOP. This is the first step in a process of changes. However, it is essential that the health authority continues to work, so that the risk of contamination at any day or time of work is low.

Keywords: Risk quantification; *Salmonella* spp.; *Escherichia coli*; Provincial abattoirs; Meat

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Seguridad alimentaria

Según la Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, Food and Agriculture Organization) “la Seguridad Alimentaria existe cuando todas las personas tienen acceso en todo momento (ya sea físico, social y económico) a alimentos suficientes, seguros y nutritivos para cubrir sus necesidades nutricionales y las preferencias culturales para una vida sana y activa”. Esta definición plantea cuatro dimensiones primordiales de la seguridad alimentaria: la “disponibilidad física” de los alimentos, es decir la oferta en función de la producción y el comercio; el “acceso” a los alimentos, que requiere el diseño de políticas específicas orientadas en este sentido para garantizar la seguridad alimentaria a nivel de los hogares; la “utilización” de los alimentos, considerando que la ingesta de energía y nutrientes suficientes es el resultado de las buenas prácticas de salud y alimentación, de la correcta preparación de los alimentos, de la diversidad de la dieta y de la buena distribución de los alimentos dentro de los hogares; y la “estabilidad” en el tiempo de las tres dimensiones anteriores (FAO, 2011). En concordancia con esta definición, Argentina puso en marcha el Plan Nacional de Seguridad Alimentaria (Ley 25.724, 2003).

Los alimentos contaminados con microorganismos patógenos o sustancias químicas nocivas causan más de 200 enfermedades. Se estima que cada año enferman en el mundo unos 600 millones de personas -aproximadamente 1 de cada 10 habitantes- por ingerir alimentos contaminados y que 420.000 mueren por esta misma causa. Los niños menores de 5 años soportan un 40,0% de la carga

atribuible a las enfermedades de transmisión alimentaria, que provocan cada año 125.000 defunciones en este grupo de edad. Las infecciones diarreicas, son las más comúnmente asociadas al consumo de alimentos contaminados, de las cuales se enferman 550 millones de personas cada año y de los cuales 230.000 mueren (JEMRA, 2016; WHO, 2019).

Estos riesgos se acentúan con la globalización, los cambios climáticos y de comportamiento humano, la facilidad de viajar, conocer nuevas culturas y hábitos alimenticios, lo que multiplica las oportunidades para que los patógenos colonicen nuevos territorios y evolucionen bajo nuevas formas. En los últimos diez años se han registrado brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos en todos los continentes, a menudo amplificadas por el comercio (WHO, 2019).

La emergencia y reemergencia de enfermedades asociadas a los alimentos motivaron la revalorización del concepto “un mundo una salud” por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la FAO y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), para resumir una noción conocida desde hace más de un siglo, a saber que la salud humana y la sanidad animal son interdependientes y están vinculadas a los ecosistemas en los cuales coexisten. Se basa en el concepto histórico de la medicina comparativa. En la era pre-moderna, el propósito de estudiar animales era extrapolar el conocimiento sobre los animales para comprender la medicina humana; por lo tanto, no había una línea divisoria entre la medicina humana y animal (Ryu y col., 2017).

Las enfermedades de origen animal a las que el hombre es sensible, como la gripe aviar, la rabia, la brucelosis o la encefalopatía espongiforme bovina,

representan riesgos mundiales para la salud pública que es indispensable prevenir y combatir a todo nivel, incluso mundial. En la actualidad se estima que el 60,0% de las enfermedades humanas infecciosas son zoonóticas, que el 75,0% de los agentes patógenos de las enfermedades infecciosas emergentes del ser humano son de origen animal y que 5 nuevas enfermedades humanas aparecen cada año, tres de las cuales son de origen animal (OIE, 2013).

Las zoonosis inciden directamente en el sector agropecuario y en la salud pública; comprometen la seguridad alimentaria y causan un alto impacto socioeconómico en países productores de alimentos. Es por todo esto que existe la necesidad de cambiar la visión tradicional del médico veterinario, y se deben enfocar los servicios sanitarios de salud animal en la prevención de las zoonosis temprana; a través del abordaje holístico y transdisciplinario (Rojas Chavez, 2011).

1.2. Abordaje de cadena de producción de alimentos

Las actividades asociadas con el uso de la tierra se encuentran inmersas en profundas transformaciones técnicas, productivas y organizacionales. El destino de tales actividades ya no sólo se orienta a la producción de alimentos cada vez más sofisticados y diferenciados, sino que continuamente se va ampliando (Lódola y col., 2010). El enfoque de cadena productiva permite observar la totalidad de la cadena agroindustrial, desde la provisión de insumos y la unidad productiva, hasta el producto final en góndola (Córdoba, 2012). La visión ampliada de la cadena pretende abarcar, no solamente los eslabones fundamentales de la cadena de modo estanco, sino que también incluye el papel que juegan las organizaciones y servicios de apoyo que están relacionados con el sector.

En materia de seguridad alimentaria se contempla el abordaje de cadena alimentaria (del campo al plato) mediante la articulación de distintas disciplinas en busca de una salud sustentable para todos: humanos, animales y medio ambiente (RSA, 2015).

1.3. Análisis de riesgo

Según el Reglamento (CE) N° 178/2002 del Parlamento Europeo (Parlamento Europeo, 2002), el riesgo se define como la ponderación de la probabilidad de un efecto perjudicial para la salud y de la gravedad de ese efecto, como consecuencia de un factor de peligro, siendo éste, todo agente biológico, químico o físico presente en un alimento o en un pienso, o toda condición biológica, química o física de un alimento o un pienso que pueda causar un efecto perjudicial para la salud.

Los consumidores pueden tener cierta percepción de las características de riesgo en función de su conocimiento previo y la información obtenida de distintas fuentes (diarios, televisión, radio, redes sociales, entre otros) (You y Ju, 2016). La percepción sobre los riesgos alimentarios es multifactorial; además de las variables socioculturales como la edad, el género, la formación, la profesión o el hábitat, coexisten otras variables relacionadas con experiencias y vivencias de los sujetos (Zafra y col., 2016). En ocasiones, esto lleva a la existencia de un sesgo entre la percepción de riesgo y la evidencia científica (Hohl y Gaskell, 2008; Verbeke y col., 2007).

La preocupación de los consumidores sobre la seguridad alimentaria ha aumentado, junto con las demandas recurrentes de transparencia e información (Papadopoulos y col., 2012). Los estilos de vida, nuevos o modificados, para muchos grupos de personas y las repetidas ocurrencias de crisis alimentarias han afectado las relaciones entre los consumidores y los alimentos y entre los consumidores y las agencias de salud pública responsables de garantizar la

seguridad alimentaria (Tiozzo y col., 2017). Sin embargo, la mayoría de los sistemas tendientes a regular la inocuidad de los alimentos, se basan en definiciones legales de alimentos no aptos, programas de cumplimiento de normas para retirar del mercado estos alimentos y sancionar a las partes responsables una vez que el problema fue detectado. Estos sistemas tradicionales no son capaces de responder a los nuevos desafíos existentes y emergentes para la seguridad de los alimentos, debido a que no brindan ni estimulan un enfoque preventivo (RSA, 2015).

Estos cambios en la sociedad, han generado nuevas estrategias en algunos gobiernos, como por ejemplo la Unión Europea, para que los riesgos sean tratados de una manera orientada a la comunicación con el consumidor (Renn, 2005; Tiozzo y col., 2017); pero dirigido hacia el análisis de riesgo basado en un mejor conocimiento científico, estimulando así un enfoque preventivo y transdisciplinario (Aven, 2018). Surge así, el análisis de riesgo, que es un proceso estructurado y sistemático mediante el cual se examinan los posibles efectos nocivos para la salud como consecuencia de un peligro presente en un alimento o de una propiedad de éste, y se establecen opciones para mitigar esos riesgos. Consiste en la evaluación, gestión y comunicación de los riesgos. Para evaluar los riesgos es necesario identificarlos y valorar cualitativa y/o cuantitativamente sus efectos perjudiciales para la salud. Por medio de la gestión de riesgos, éstos se pueden controlar estableciendo procedimientos y prácticas de manipulación adecuados, sistemas de garantía de la calidad e inocuidad de la elaboración de los alimentos y normas sobre calidad e inocuidad de éstos. Los resultados del proceso de análisis de riesgos deberán comunicarse a la población o a los grupos

afectados. Esta comunicación ofrece al sector público y privado la información necesaria para prevenir o reducir los riesgos (FAO, 1995).

1.4. Agua

1.4.1. Fuentes de obtención y calidad

El agua cubre el 71,0% de la superficie terrestre. En nuestro planeta, se localiza principalmente en los océanos donde se concentra el 96,5% del agua total, los glaciares y casquetes polares tiene el 1,74%, los depósitos subterráneos (acuíferos), y los glaciares continentales suponen el 1,72% y el restante 0,04% se reparte en orden decreciente entre lagos, la humedad del suelo, atmósfera, embalses, ríos y seres vivos.

Solamente el 3,0% del volumen del agua es dulce. De esto un 1,0% está en estado líquido. El 2,0% restante se encuentra en estado sólido en capas, campos y plataformas de hielo o banquisas en las latitudes próximas a los polos. Fuera de las regiones polares el agua dulce se encuentra principalmente en humedales y, subterráneamente, en acuíferos (ANDA, 2015).

Las fuentes de abastecimiento de agua pueden ser:

- * subterráneas: manantiales, pozos, nacientes;
- * superficiales: lagos, ríos, canales, etc.;
- * pluviales: aguas de lluvia.

Para la selección de la fuente de abastecimiento deben ser considerados los requerimientos de la población, la disponibilidad y la calidad de agua durante todo el año, así como todos los costos involucrados en el sistema, tanto de inversión como de operación y mantenimiento.

*** Fuentes subterráneas**

La captación de aguas subterráneas se puede realizar a través de manantiales, galerías filtrantes y pozos, excavados y tubulares.

Las fuentes subterráneas protegidas generalmente están libres de microorganismos patógenos y presentan una calidad compatible con los requisitos para consumo humano. Sin embargo, previamente a su utilización es fundamental conocer las características del agua, para lo cual se requiere realizar los análisis físico-químicos y bacteriológicos correspondientes.

*** Fuentes superficiales**

Las aguas superficiales están constituidas por los ríos, lagos, embalses y arroyos, entre otros. La calidad del agua superficial puede estar comprometida por contaminaciones provenientes de la descarga de desagües domésticos, residuos de actividades mineras o industriales, uso de productos agrícolas, presencia de animales, residuos sólidos, y otros. En caso de la utilización de aguas superficiales para abastecimiento, además de conocer las características físico químicas y bacteriológicas de la fuente, es preciso definir el tratamiento requerido en caso que no atiendan a los requerimientos de calidad para consumo humano (ANDA, 2015).

El agua en la naturaleza contiene impurezas, que pueden ser de naturaleza físico-química o bacteriológica y varían de acuerdo al tipo de fuente. Cuando las impurezas presentes sobrepasan los límites recomendados, el agua deberá ser tratada antes de su consumo. Además de no contener elementos nocivos a la

salud, el agua no debe presentar características que puedan rechazar el consumo (Napuri y col., 2009).

1.4.2. Agua potable

En el Capítulo XII del Código alimentario argentino (CAA) (CAA Cap. XII, 2012), se denomina Agua potable de suministro público y Agua potable de uso domiciliario, a las aguas aptas para la alimentación y uso doméstico: no deberá contener sustancias o cuerpos extraños de origen biológico, orgánico, inorgánico o radiactivo en tenores tales que la hagan peligrosa para la salud. Deberá presentar sabor agradable y ser prácticamente incolora, inodora, límpida y transparente. El agua potable de uso domiciliario es el agua proveniente de un suministro público, de un pozo o de otra fuente, ubicada en los reservorios o depósitos domiciliarios. Ambas deben cumplir con las siguientes características físicas, químicas y microbiológicas:

Características físicas:

Turbiedad: máx. 3 Unidades Nefelométricas de Turbidez (N T U). Color: máx. 5 escala Pt-Co. Olor: sin olores extraños.

Características químicas: pH: 6,5 - 8,5; pH sat.: pH \pm 0,2.

Substancias inorgánicas:

Amoníaco (NH₄⁺) máx.: 0,20 mg/l; Antimonio máx.: 0,02 mg/l; Aluminio residual (Al) máx.: 0,20 mg/l; Arsénico (As) máx.: 0,01 mg/l; Boro (B) máx.: 0,5 mg/l; Bromato máx.: 0,01 mg/l; Cadmio (Cd) máx.: 0,005 mg/l; Cianuro (CN⁻) máx.: 0,10 mg/l; Cinc (Zn) máx.: 5,0 mg/l; Cloruro (Cl⁻) máx.: 350 mg/l; Cobre (Cu)

máx.: 1,00 mg/l; Cromo (Cr) máx.: 0,05 mg/l; Dureza total (CaCO₃) máx.: 400 mg/l; Fluoruro (F⁻): para los fluoruros la cantidad máxima se da en función de la temperatura promedio de la zona, teniendo en cuenta el consumo diario del agua de bebida.

Hierro total (Fe) máx.: 0,30 mg/l; Manganeseo (Mn) máx.: 0,10 mg/l; Mercurio (Hg) máx.: 0,001 mg/l; Niquel (Ni) máx.: 0,02 mg/l; Nitrato (NO₃⁻) máx.: 45 mg/l; Nitrito (NO₂⁻) máx.: 0,10 mg/l;

Plata (Ag) máx.: 0,05 mg/l; Plomo (Pb) máx.: 0,05 mg/l; Selenio (Se) máx.: 0,01 mg/l; Sólidos disueltos totales, máx.: 1500 mg/l; Sulfatos (SO₄⁼) máx.: 400 mg/l; Cloro activo residual (Cl) mín.: 0,2 mg/l.

Contaminantes orgánicos: Trihalometanos (THM), máx.: 100 µg/l; Aldrin + Dieldrin, máx.: 0,03 µg/l; Clordano, máx.: 0,30 µg/l; Dicloro difenil tricloroetano (DDT) (Total + Isómeros), máx.: 1,00 µg/l; Detergentes, máx.: 0,50 mg/l; Heptacloro + Heptacloroepóxido, máx.: 0,10 µg/l; Lindano, máx.: 3,00 µg/l; Metoxicloro, máx.: 30,0 µg/l; 2,4 D, máx.: 100 µg/l; Benceno, máx.: 10 µg/l; Hexacloro benceno, máx.: 0,01 µg/l; Monocloro benceno, máx.: 3,0 µg/l; 1,2 Dicloro benceno, máx.: 0,5 µg/l; 1,4 Dicloro benceno, máx.: 0,4 µg/l; Pentaclorofenol, máx.: 10 µg/l; 2, 4, 6 Triclorofenol, máx.: 10 µg/l; Tetracloruro de carbono, máx.: 3,00 µg/l; 1,1 Dicloroetano, máx.: 0,30 µg/l; Tricloro etileno, máx.: 30,0 µg/l; 1,2 Dicloro etano, máx.: 10 µg/l; Cloruro de vinilo, máx.: 2,00 µg/l; Benzopireno, máx.: 0,01 µg/l; Tetra cloro eteno, máx.: 10 µg/l; Metil Paratión, máx.: 7 µg/l; Paratión, máx.: 35 µg/l; Malatión, máx.: 35 µg/l.

Características Microbiológicas:

* Bacterias coliformes: Número Más Probable (NMP) a 37 °C- 48 h (Caldo McConkey o Lauril Sulfato), en 100 ml: igual o menor de 3.

* *Escherichia coli*: ausencia en 100 ml.

* *Pseudomonas aeruginosa*: ausencia en 100 ml.

En la evaluación de la potabilidad del agua ubicada en reservorios de almacenamiento domiciliario debe incluirse el recuento de bacterias mesófilas en agar (PCA - 24 h a 37 °C). En el caso de que el recuento supere las 500 UFC/ml y se cumplan el resto de los parámetros indicados, sólo se deberá exigir la higienización del reservorio y un nuevo recuento. En las aguas ubicadas en los reservorios domiciliarios no es obligatoria la presencia de cloro activo.

1.4.3. Usos del agua en frigoríficos

En el Capítulo II del CAA (CAA Cap. II, 2019) se establece que las industrias alimentarias deben disponer de un abundante abastecimiento de agua potable, a presión adecuada y a temperatura conveniente, con un adecuado sistema de distribución y con protección adecuada contra la contaminación; siendo imprescindible un control frecuente de la potabilidad de dicha agua. El agua juega un rol muy importante en la industria frigorífica, ya que participa en casi la totalidad del proceso. Interviene tanto de modo indirecto, como agente de calefacción y enfriamiento, en higiene del personal, esterilizado de utensilios y limpieza de equipos e instalaciones; como por medio directo, para el lavado de animales en pie, lavado de medias reses, lavado, enfriado y transporte de vísceras,

entre otros. Por tales motivos, la evaluación y el monitoreo continuo de la calidad del agua son esenciales, para evitar el riesgo potencial asociado con el consumo de agua contaminada, no solo para beber sino también para su uso en la industria alimentaria (Kayembe y col., 2018).

El agua puede ser fuente de contaminación y alteración cuando no se respetan las condiciones de higiene, saneamiento y buenas prácticas (Haijoubi y col., 2017). Se supone que el lavado de las medias reses con agua reduce el nivel de contaminación bacteriana superficial, pero en aquellas industrias que no cuenten con agua potable esto puede ser un factor para la introducción de nuevos organismos en el producto final (Bello y col., 2011). Para prevenir el uso de agua no potable en aquellos establecimientos que cuentan con agua de pozo, es fundamental la incorporación de cloro, en los tanques y/cisternas de almacenamiento, en cantidades tales que le permitan alcanzar los niveles de especificados en el CAA (CAA Cap. XII, 2012), debiendo registrarse una disponibilidad de cloro libre entre 0,2 y 1 ppm.

1.5. Carne bovina

El CAA (CAA Cap. VI, 2019) define la carne como la parte comestible de los músculos de vacunos, bubalinos, porcinos, ovinos, caprinos, llamas, conejos domésticos, nutrias de criadero, pollos, pollas, gallos, gallinas, pavitos, pavitas, pavos, pavas, patos domésticos, gansos domésticos, codornices, animales silvestres de caza o criados en cautiverio, pescados, crustáceos, moluscos y otras especies comestibles declarados aptos para la alimentación humana por la inspección veterinaria oficial antes y después de la faena. La carne será limpia, sana, debidamente preparada, y comprende a todos los tejidos blandos que rodean al esqueleto, incluyendo su cobertura grasa, tendones, vasos, nervios, aponeurosis y todos aquellos tejidos no separados durante la operación de la faena.

De acuerdo al rendimiento de un novillo promedio estimado por el IPCVA (IPCVA, 2004a), el rinde de la res corresponde al 57,2% del peso vivo, eso significa que, de un animal promedio de 400-450 kg se obtendrán entre 229 y 258 kg de carne. En un establecimiento tipo de la provincia de Buenos Aires, con una faena diaria de 200 animales, durante 20 días de producción mensual, se pueden obtener entre 916.000 kg y 1.030.140 kg de carne por mes.

No hay una definición universal de calidad de la carne, ya que ésta depende de diversas circunstancias tales como la ubicación en el tiempo o época, el lugar, los mercados, las personas, los sectores sociales, las pautas culturales y su utilidad o finalidad. De acuerdo a esto, la calidad del ganado vivo, de su res y su carne depende del grado en que posea ciertos atributos o características que lo hagan apto para satisfacer determinadas necesidades de uso. Surgen así distintos

aspectos que deben tenerse en cuenta para la definición de calidad (IPCVA, 2004):

- **Higiénicos:** Los alimentos deben ser totalmente inocuos para la salud de los consumidores. No deben contener residuos de pesticidas, hormonas o antibióticos que puedan inducir riesgo al consumirlos. Tampoco deben contener microorganismos patógenos o toxinas perjudiciales para el consumidor. Estas cualidades son garantizadas por leyes y autoridades sanitarias

- **Nutritivos:** Los alimentos son fuente de nutrientes como proteínas, lípidos y glúcidos necesarios para el organismo además de otros elementos indispensables para la salud humana: vitaminas y minerales (IPCVA, 2004).

- **Sensoriales:** percibidos directamente por el consumidor, la apariencia visual (color de la carne y de la grasa subcutánea, firmeza o consistencia, textura, cantidad de grasa extra-muscular, marmorización y exudado), calidad comestible (jugosidad, ternura, aroma, sabor) y otros factores que podrían incluir precio, tamaño de la porción, facilidad y forma de preparación (Teira y col., 2006).

Las características sensoriales de la carne, están determinadas por la composición del músculo de los mamíferos que principalmente contiene agua (75,0%) y proteínas (18,0-20,0%), las cuales explican el valor nutricional de la carne. Por su parte, el contenido de lípidos en el músculo es bajo (5,0-10,0%) y en menor proporción el de otros componentes: azúcares, aminoácidos, minerales. Aunque en poca cantidad algunos componentes tienen gran importancia en las

propiedades sensoriales, como el tejido conectivo para ternura o el pigmento sobre el color (Fernández Mayer, 2016).

El concepto de músculo define al tejido muscular *in vivo*, mientras que la carne es el resultado de una serie de transformaciones estructurales y de reacciones bioquímicas que tienen lugar en el músculo tras la muerte del animal (Sierra Sánchez, 2010).

La conversión comercial de los músculos en carne no es un suceso instantáneo. Después de ser sangrado un animal, las fibras musculares sobreviven durante algún tiempo mediante glicólisis anaerobia, aunque más tarde o más temprano agotan la energía. Puede agotarse, bien su depósito primario de carbohidratos, el glucógeno, o bien el producto final de la glucólisis anaerobia, el lactato. Es entonces cuando las fibras musculares comienzan a perder su integridad al no disponer de energía. Los hechos que deberán producirse para la conversión óptima de los músculos en carne son bastante complejos. El pH deberá descender como consecuencia de la formación de lactato por glucólisis anaerobia. La formación incorrecta de lactato puede traducirse en la obtención de carnes oscuras, firmes y secas (DFD), que son carnes con un pH último elevado de más de 6,0 unidades. Por otro lado, un exceso de lactato, formado con demasiada rapidez mientras los músculos se encuentran aún calientes, genera un descenso muy rápido del pH, y puede originar carnes pálidas, blandas y exudativas (PSE). Tras el sacrificio, debido al fenómeno conocido como rigor mortis los músculos aparecerán consistentes como resultado de la formación de enlaces cruzados entre sus filamentos gruesos y delgados. Sin embargo, la formación de un exceso de

enlaces cruzados puede provocar dureza en la carne. El largo periodo que transcurre durante la conversión de los músculos en carne es llamado acondicionamiento o maduración, y durante el mismo se liberan las propias enzimas de la carne. Así, por ejemplo, las proteinasas comienzan la digestión de las proteínas de la carne, fragmentándolas, lo que se traduce en un ablandamiento lento (Onega Pagador, 2003).

La carne fresca es altamente perecedera, su estabilidad depende de factores intrínsecos, como pH, a_w , composición y carga microbiana inicial; y extrínsecos, como el empaque y la temperatura de almacenamiento (González y col., 2014). Existen principalmente tres mecanismos para el deterioro de la carne luego de la faena y durante su procesamiento y almacenamiento: (a) deterioro por contaminación microbiana, (b) oxidación lipídica y de los pigmentos, (c) deterioro enzimático autolítico (Dave y Ghaly, 2011).

El crecimiento microbiano y el metabolismo muscular dependen de la condición de las canales al momento del sacrificio, del tipo de envasado utilizado y de las condiciones de almacenamiento. El desarrollo microbiano produce efectos deteriorativos tales como la decoloración, desarrollo de flavor y olores extraños, pérdida de nutrientes o cambios en la textura (Zhou y col., 2010).

La corta vida útil de la carne, hizo necesario el desarrollo de diferentes técnicas de conservación para transportarla a largas distancias sin que pierda calidad (Nychas y col., 2008). Los objetivos de los métodos de preservación son inhibir el deterioro microbiano y minimizar la oxidación y el deterioro enzimático. Los métodos tradicionales de conservación de la carne, como el secado, el

ahumado, la salmuera y el enlatado, han sido reemplazados por nuevas técnicas, químicas, bioconservadoras y térmicas (Addis, 2015). El control de la temperatura, el control de la actividad del agua, el uso de químicos o biopreservantes y la combinación de estas técnicas de preservación pueden usarse para disminuir el proceso de deterioro (Bagamboula y col., 2004).

1.5.1. Calidad microbiológica

La carne roja de vacunos, búfalos, cerdos, ovejas, cabras, llamas y otras especies, es un medio de cultivo excepcional para el desarrollo de la mayoría de los microorganismos (ICMSF, 2005). El tejido muscular está recubierto por sus fascias protectoras y las miofibrillas contenidas dentro del sarcolema, que una vez que han sido cuarteadas las reses, gran parte de su protección inicial se destruye, facilitando así la colonización de los microorganismos (Mossel y col., 2003). El tejido muscular es intrínsecamente estéril a menos que el animal del que proviene haya sido sistémicamente infectado o se produzca contaminación microbiana durante la faena (Huffman, 2002).

Todos los animales transportan grandes cantidades de microorganismos. Numerosas bacterias, mohos y levaduras, están presentes en el cuero, los pelos y las pezuñas de los vacunos, y son transmitidos a la media res luego de la faena. Los restos de materia fecal del cuero suelen acceder al músculo, así como el contenido intestinal si el proceso de faena no se hace cuidadosamente (McEvoy y col., 2000). Por otra parte, las bacterias también pueden proceder de los pisos, paredes, mesadas, cuchillos y manos de los operadores en la planta de faena (Bosilevac y col., 2015; Brusa y col., 2019; Cap y col., 2019; Edeza y col., 2012).

La composición de la microbiota depende de varios factores: (a) prácticas de cría previas al sacrificio (cría extensiva vs. intensiva), (b) edad del animal en el momento del sacrificio, (c) manipulación durante el sacrificio, evisceración y procesamiento, (d) controles de temperatura durante el sacrificio, procesamiento y distribución (e) métodos de preservación, (f) tipo de empaque y (g) manipulación y almacenamiento por parte del consumidor (Addis, 2015).

1.5.1.1. Microorganismos del deterioro

El deterioro causado por microorganismos es resultado de las relaciones ecológicas entre el alimento y el microorganismo. Las carnes son alimentos muy alterables debido en sus características de composición (Audisio, 2007).

Prácticamente todos los tipos de bacterias son capaces de crecer y deteriorar productos cárnicos; además, la microbiota inicial del producto, más si está procesado, puede ser muy variada. En cuanto al pH, el de la carne es compatible con la mayoría de los microorganismos permitiendo el crecimiento tanto de anaerobios, en profundidad, como de aerobios, en la superficie, del alimento. Los factores asociados con la alteración de la carne vacuna suelen ser cambios de color y textura, así como el desarrollo de malos olores y limo (Audisio, 2007).

El principal efecto selectivo es el debido al almacenamiento a bajas temperaturas en cámaras frigoríficas que selecciona psicrotrofos. Al sacrificarse el animal se producen una serie de cambios fisiológicos que dan inicio a la producción de la carne comestible, este proceso tarda entre 24 h y 36 h a la temperatura habitual de almacenamiento (2-5° C). Durante el proceso de descenso

de temperatura se inicia el deterioro interno debido, sobre todo a *C. perfringens* y enterobacterias; cuando la temperatura es baja el deterioro es predominante debido a la microbiota superficial. En las canales también se puede producir deterioro superficial debido a hongos y a levaduras.

Las bacterias psicrotróficas de la superficie de las carnes incluyen especies de *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Brochothrix thermosphacta*, y algunas bacterias de la familia Enterobacteriaceae y Lactobacillaceae (Audisio, 2007).

1.5.1.2. Patógenos transmitidos por carne

Los problemas más graves de seguridad de la carne que afectan la salud del consumidor y desencadenan retiros de productos involucran patógenos microbianos, y particularmente bacterianos (Sofos, 2008). El control de estos patógenos en todas las etapas de la cadena "de la granja a la mesa" es vital para minimizar la aparición de enfermedades transmitidas por los alimentos en la población humana (Adam y Brülisauer, 2010; Nørrung y Buncic, 2008).

Los bovinos son reservorios de muchos patógenos, tales como *Escherichia coli* productor de toxinas Shiga y *Salmonella* spp. (Heredia y García, 2018).

1.5.1.2.1. *Escherichia coli* productor de toxina Shiga: STEC

Escherichia coli pertenece al orden *Eubacteriales*, familia *Enterobacteriaceae*, tribu *Eschericheae*, género *Escherichia* (Scheutz y Strockbine, 2005) es parte de la microbiota anaerobia facultativa del tracto

intestinal del hombre y de los animales. La mayoría de las cepas son comensales, pero algunas pueden causar enfermedad tanto en el hombre como en animales.

Se puede clasificar en *E. coli* asociadas a infecciones gastrointestinales (DEC, por sus siglas en inglés diarrheagenic *E. coli*) y aquellas causantes de infecciones urinarias, septicemia y meningitis (ExPEC, *E. coli* extraintestinales). Los patotipos de DEC se clasifican en seis categorías según sus manifestaciones clínicas, patogenicidad y características epidemiológicas:

- *E. coli* enteropatógeno (EPEC, por su sigla en inglés enteropathogenic *E. coli*).
- *E. coli* enterotoxigénico (ETEC, por su sigla en inglés enterotoxigenic *E. coli*).
- *E. coli* enterohemorrágico (EHEC, por su sigla en inglés enterohemorrhagic *E. coli*).
- *E. coli* enteroinvasivo (EIEC, por su sigla en inglés enteroinvasive *E. coli*).
- *E. coli* enteroagregativo (EAEC, por su sigla en inglés enteroaggregative *E. coli*).
- *E. coli* de adherencia difusa (DAEC, por su sigla en inglés diffuse-adherent *E. coli*).

En el hombre, las cepas de ETEC, EPEC y EAEC colonizan el intestino delgado, mientras que las EIEC y EHEC colonizan el intestino grueso. Debido al gran número de cepas DAEC, la localización exacta para la colonización intestinal de esta categoría no fue definida (Williams y col., 2011). La clasificación de *E. coli* en categorías se utiliza para intentar comprender su rol como agentes

etiológicos de enfermedad en el hombre y en los animales. Sin embargo, las cepas agrupadas en diferentes categorías pueden intercambiar factores de virulencia (Donnenberg, 2013). La transferencia de genes entre cepas pertenecientes a diferentes categorías puede dar origen a nuevas cepas con un mayor potencial virulento, que no puede ser preestablecido.

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) se caracteriza por su habilidad de producir al menos un tipo citotoxina con capacidad de inhibir la síntesis proteica en células eucariotas, la toxina Shiga (o Verotoxina).

Existen 2 tipos de toxinas Shiga: Stx1 y Stx2, de las cuales a su vez hay subtipos e incluso variantes de los mismos (Scheutz y col., 2012). Dentro de Stx1 ha sido descrito un número limitado de subtipos (en *E. coli*: Stx1a, Stx1c, Stx1d). Sin embargo, existe una mayor diversidad dentro de Stx2, que comprende los subtipos Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f, Stx2g, Stx2h, este último descrito recientemente por Bai y col., (2018). El subtipo Stx2a es el que se asocia con alta frecuencia a enfermedad grave, seguido por Stx2d y Stx1a (Feng y Scheutz, 2018).

Además de la toxina Shiga, STEC presenta otros factores de virulencia que se encuentran en diferentes combinaciones dando una gran variabilidad a las cepas. Se considera que la presencia de *stx*_{2a} y genes codificantes de factores de adherencia son los mejores predictores de enfermedad severa ante una infección por STEC (Feng y Scheutz, 2018). Entre estos últimos, el que está asociado a un mayor riesgo para la salud es el gen *eae* (codificante de Intimina), que se encuentra en la isla de patogenicidad LEE (locus for enterocyte effacement) del

cromosoma y contiene todos los genes necesarios para la formación de la lesión A/E (attaching and effacing). Sin embargo, existen evidencias que la patogénesis de STEC involucra otros factores adicionales, incluyendo moléculas efectoras codificadas en diferentes islas de patogenicidad, pero no hay un patrón específico que identifique sin ambigüedad el riesgo de una cepa STEC (Franz y col., 2015). En algunas ocasiones, las cepas de STEC implicadas en la enfermedad grave en el hombre no contienen el gen *eae*. Un claro ejemplo es el brote producido en Alemania en el año 2011. El agente causal de este brote fue identificado como *E. coli* serotipo O104:H4 productor de *stx*_{2a}. Al caracterizar la cepa se determinó que era una cepa *eae* negativa, pero portaba una combinación inusual de factores de virulencia, algunos presentes en cepas STEC (*stx*₂) y otros típicos del grupo de EAEC (*aat/aggR/aap*). El serotipo O104:H4 identificado en la cepa productora de este brote había sido notificado previamente en casos aislados de Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) pero nunca reportado en alimentos ni en animales. Además de afectar a la población alemana, donde se reportaron los primeros casos, involucró a otros 12 países europeos, produciendo un total de 3.910 casos y 46 muertes. Este brote evidenció la imposibilidad de predecir la emergencia de un nuevo tipo patógeno de STEC restringiéndose solo en la presencia del gen *eae* o al serogrupo (EFSA, 2013; Tozzoli y col., 2014). Otro ejemplo, fue el brote en Australia, donde se identificó como agente causal la cepa *E. coli* O113:H21, también *eae* negativa, pero en esta oportunidad la adhesión estaba mediada por la adhesina Saa (STEC autoagglutinating adhesin, identificada en cepas LEE negativas) codificada en el gen *saa* presente en el megaplásmido pO113 (Lucchesi y col., 2006).

El gen *ehxA*, codificante de enterohemolisina, es usado como marcador de la presencia de plásmidos de gran tamaño, que pueden codificar también otros factores de virulencia como toxinas y adhesinas, que se encuentran en diferentes combinaciones (Brunner y col., 1999; Sanso y col., 2015).

Las cepas STEC se caracterizan además por antígenos de su superficie como el O y el H. Se conocen más de 180 tipos de antígeno O (serogrupos) y alrededor de 80 antígenos H (Iguchi y col., 2015, 2016). El tipo de O y H que presenta una cepa definen su serotipo. El serotipo O157:H7 es el que registra la tasa de mortalidad más alta en todo el mundo (Kaper y Karmali, 2008), siendo el prototipo de un grupo de más de 150 serotipos de STEC que poseen los mismos marcadores de virulencia. Entre ellos, Karmali y col. (2003) identificaron 5 serotipos (O26:H11, O103:H2, O111:NM, O121:H19 y O145:NM) que fueron asociados con brotes y enfermedades graves en humanos. Los mismo, coinciden con los serogrupos más aislados en Argentina, siendo su frecuencia de aislamiento: O145 [H27; H-; NT] 13,6%; O121 [H19] 2,2%; O26 [H2; 11; NT] 1,4%; O174 [H8; 21; 28; H-] 1,0%; otros serotipos, 7.2% (Galli y col., 2016).

Se ha establecido que la ruta de transmisión de *E. coli* O157:H7 es fecal-oral, con una dosis infectiva muy baja (menor de 100 UFC/g) (Bentancor, 2016). El período de incubación es de dos a diez días, con una media de tres o cuatro días, y el de transmisibilidad hasta tres semanas o más en los niños y de una semana o menos en los adultos, después del comienzo de la diarrea. La infección por STEC puede causar casos esporádicos o brotes de diarrea, colitis hemorrágica (CH) y SUH.

El SUH es una entidad clínica caracterizada por anemia hemolítica microangiopática y grados variables de afectación de la función renal, como consecuencia de una microangiopatía trombótica de localización renal predominante, con compromiso neurológico frecuente. La mortalidad en la etapa aguda es del 2,0 al 4,0%. Luego del período agudo, el 60,0% cura sin secuelas, el 25,0% persiste con proteinuria y/o hipertensión arterial, con función renal normal; el 15,0% desarrolla una enfermedad renal progresiva con disminución del filtrado glomerular y posibilidad de requerir diálisis crónica y/o trasplante renal (Caletti y col., 2006). En Argentina, el SUH constituye la principal causa de insuficiencia renal aguda y de hipertensión arterial en lactantes y niños pequeños. Además, representa la segunda causa de insuficiencia renal crónica y de trasplante renal en niños menores de 5 años (Oderiz y col., 2018).

- **STEC en la cadena de producción de la carne bovina**

Los rumiantes en general, y el ganado vacuno en particular, son los principales reservorios de STEC (Caprioli y col., 2005; Fernández y col., 2010). En contraste con lo que ocurre en el humano, los bovinos infectados con STEC se mantienen tolerantes a la enfermedad, posiblemente debido a la falta de receptores para toxinas en el intestino de los bovinos (Etcheverría y Padola, 2013).

Varios factores pueden estar asociados a la variación en la prevalencia de STEC en bovinos, entre los que se incluyen edad, destete, movimientos de hacienda, estación del año, dieta, y la capacidad de la bacteria de persistir en el medio ambiente (Cobbold y Desmarchelier, 2000). Puede ser incorporada por los terneros recién nacidos de sus madres, de otros animales y del medio ambiente.

Las condiciones climáticas son otro factor que influyen la excreción de esta bacteria en bovinos (Cobbold y Desmarchelier, 2002) siendo la excreción fecal baja en invierno, incrementándose en primavera y alcanzando niveles pico en los meses de verano. Los brotes en humanos de infecciones con estos patógenos imitan este modelo de excreción en bovinos ocurriendo principalmente en meses de verano (Edrington y col., 2006; Fernández y col., 2009).

Varios estudios han informado prevalencias de STEC de 22,0% a 67,0% en el ganado bovino de Argentina. Fernández et al. (2012) encontraron 25,0; 43,0 y 58,0% de STEC en terneros recién nacidos, terneros de guachera y terneros de recría, respectivamente. La presencia de STEC en terneros recién nacidos de menos de 24 h de edad sugiere que se exponen a esta bacteria rápidamente después del nacimiento y juegan un papel importante en la transmisión vertical de STEC. Se detectó una baja prevalencia de STEC O157 en vacas en ordeño (0,2%) y terneros (0,8%). STEC O130:H11 y O178:H19 fueron los serotipos más prevalentes aislados de vacas lecheras, de frigoríficos de carne y de ganado de engorde de Argentina. Ambos serotipos se han aislado de casos de CH y SUH en varios países (Etcheverría y col., 2016). Masana y col. (2010 y 2011) encontraron STEC O157 en 4,1% y 2,6% de las muestras de heces y medias reses, respectivamente; y STEC no-O157 en 22,0% y 9,0% en heces y muestras de medias reses de novillos respectivamente. Los novillitos provenientes de la principal zona productora de carne bovina de Argentina, por otro lado, también son un importante reservorio de STEC (Meichtri y col., 2004). En ese trabajo los serogrupos identificados, en heces y hisopados rectales, en orden de frecuencia

fueron: O8 (16 cepas), O113 (14), O103 (5), O91 (4), O171 (3), O174 (3), O25 (2), O112 (2), O145 (2), O2, O11, O104, O121, O128, O143, O146, O157.

La contaminación de los alimentos con STEC puede ocurrir en diferentes etapas desde la producción hasta el consumo (Perez-Rodriguez y col., 2010; Vogeleer y col., 2014). Durante el procesamiento de las medias reses de los animales portadores de STEC, la transferencia desde los cueros contaminados con materia fecal o el contacto directo de materia fecal con la media res del animal durante el cuereado o eviscerado, puede facilitar la contaminación de la carne (Elder y col., 2000; Edwards y Fung, 2006). Diferentes estudios han demostrado la presencia de STEC en materia fecal y cuero de los bovinos en Argentina (Tanaro y col., 2010, 2012; Parma y col., 2000; Etcheverría y col., 2016).

En un estudio realizado en 9 frigoríficos exportadores de la Argentina se obtuvo una prevalencia de STEC O157 del 4,1% en materia fecal y 2,6% en media res (Masana y col., 2010). En el mismo muestreo la prevalencia de STEC no-O157 fue de 22,3% en materia fecal y de 9,0% en media res (Masana y col., 2011). En este estudio, los serotipos de STEC no-O157 aislados con mayor frecuencia de las medias reses fueron: O8:H19, O178:H19, O130:H11 y O113:H21. Asimismo, Etcheverría y col., (2010), reportó entre 12,3-18,6% de STEC no-O157 en medias reses. Brusa y col., (2017), analizaron 3.193 pooles de muestras de cortes y recortes obtenidas en 8 frigoríficos exportadores de carne bovina de Argentina. La prevalencia de STEC no-O157 fue de 5,8%; 5,8% y 7,0%, para los pooles de media res, cortes y recortes, respectivamente. Los cinco serotipos más prevalentes agruparon el 42,5% de las cepas aisladas, siendo en

orden decreciente de frecuencia: O174:H21, O185:H7, O8:H19, O178:H19 y O130:H11 (Brusa y col., 2017).

En el mismo estudio se encontraron cepas clonales en cortes y recortes obtenidos de un mismo frigorífico en Argentina, probablemente debido a contaminación cruzada durante el desposte, aunque no se identificaron clones persistentes. También se aislaron cepas clonales provenientes de diferentes frigoríficos, lo que podría deberse al origen común del ganado (Brusa y col., 2017). Trabajos previos desarrollados en Argentina, aislaron cepas clonales persistentes a partir de medias reses de frigoríficos exportadores en diferentes fechas de muestreo (Masana y col., 2011).

Cap y col., (2019), analizaron medias reses bovinas en dos frigoríficos de tránsito federal de Argentina reportando señal positiva para el gen *stx* en el 80,0% de las muestras analizadas y una prevalencia de STEC del 8,0%. Los serotipos aislados fueron: O130:H11, O103:H2 y ONT:H7;H21.

STEC en las medias reses se puede transferir a los cortes de carne a medida que el animal se procesa más, y también se puede transferir entre animales a través del equipo de procesamiento de carne. La contaminación por STEC de cortes de carne primarios será solo contaminación de la superficie. Cuando los cortes primarios se procesan aún más (por ejemplo, carne picada / molida, embutidos crudos), los microorganismos se homogeneizan en todo el producto (Luchansky y col., 2012; Smith y col., 2013).

La carne bovina molida es un alimento de consumo masivo y es considerada un producto de riesgo por factores asociados a su proceso de

producción y a los hábitos de consumo. En nuestro país el consumo de carne molida cruda no es frecuente. Varios estudios determinaron la prevalencia de STEC O157 y no-O157 en carne bovina molida a nivel de boca de expendio en Argentina. Chinen y col. (2001), informaron una prevalencia de 3,8% de STEC O157 en carne bovina molida. Etcheverría y col. (2010), analizaron cortes y carne molida en carnicerías de la provincia de Buenos Aires obteniendo diferencias significativas en la detección de *stx* según el corte de carne analizado: nalga: 12,1%, aguja: 12,1% y carne bovina molida: 40,7%. Miccio y col. (2011), tomaron muestras en 36 locales de venta minorista de carne, aislando STEC O157 y no-O157 del 6,9% y 8,3% de las muestras de carne bovina molida, respectivamente. Otro trabajo realizado en carnicerías de la provincia de Buenos Aires reportó la detección del gen *stx* en el 18,4% de 98 muestras de carne bovina molida (Srednik y col., 2013). Llorente y col. (2014), detectaron un 36,1% de muestras de carne bovina molida positivas al gen *stx*, y aislaron STEC no-O157 en el 18,2% de las muestras. En la provincia de Tucumán se analizaron muestras de carne molida en carnicerías, obteniendo una prevalencia de STEC O157 del 2,7% (Jure y col., 2015). Salinas Ibañes y col. (2018), detectaron 12,3% de las muestras de carne molida, positivas al *stx* en la provincia de San Luis. En la provincia de Neuquén, se encontró 2,3% de STEC O157 y 6,8% de STEC no O157, también en muestras de carne picada (Barril y col., 2019).

En un estudio realizado con muestras de carne bovina molida y ambiente de carnicerías de la ciudad de Berisso, se determinó que la prevalencia de STEC O157 en carne bovina molida era del 11,6%; se aplicaron acciones de mejora basadas en buenas prácticas de higiene y de manipulación y al volver a analizar

las mismas carnicerías la prevalencia de STEC O157 bajó al 3,5%. También se aisló STEC no-O157 de dichas muestras de carne molida, obteniéndose prevalencias del 7,0% y 6,8% antes y luego de aplicar acciones de mejoras. Además, se demostró que el ambiente (mesadas, cuchillas, picadoras y manos de manipuladores) estaba contaminado con STEC O157 y no-O157. Los serotipos de STEC no-O157 más prevalentes aislados de las muestras de carne molida y ambiente fueron: O8:H19, O174:H21, O174:H28, O178:H19, ONT:H7 y ONT:H19 (Leotta y col., 2016).

1.5.1.2.2. *Salmonella* spp.

Salmonella pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, Orden *Enterobacteriales*, Clase *Gamma-Proteobacteria* (Garrity y col., 2004). Consta de dos especies, *S. enterica* y *S. bongori* (Bula-Rudas y col., 2015). La primera está dividida a su vez en seis subespecies: *S. enterica* subespecie *entérica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtanae* e *indica* (Popoff y Le Minor, 2005). *Salmonella* ha sido agrupada en base a sus antígenos somáticos (O), flagelares (H) y capsulares (Vi) en más de 2.600 serotipos/serovariedades (Issenhuth-Jeanjean y col., 2014) muchos de los cuales pueden causar enfermedad intestinal local (enteritis, diarrea) en una amplia gama de huéspedes. Por el contrario, algunos serovares también pueden diseminarse desde el intestino y causar enfermedades sistémicas. *Salmonella* causa mortalidad y morbilidad importantes en todo el mundo (Havelaar y col., 2015, Keestra-Gounder y col., 2015, LaRock y col., 2015, Wain y col., 2015). En este grupo bacteriano se incluyen comensales eficaces y patógenos que afectan tanto en el hombre como en los animales. Las

serovariedades que causan infecciones en humanos y animales de producción pertenecen a *S. enterica* subespecie *enterica* (Barreto y col., 2016). Según el grado de adaptación a un hospedador específico se puede clasificar a las serovariedades (Caffer y Terragno, 2008):

* Serovariedades adaptadas al hombre. Provocan infecciones en humanos y rara vez afectan a animales (*S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *B* y *C*, y *S. Sedai*). La infección se produce por heces de personas enfermas o de portadores asintomáticos y los vectores de transmisión generalmente son el agua, los alimentos y los insectos.

* Serovariedades adaptadas a especies animales. En este grupo se incluyen serotipos específicos de especie como *S. Gallinarum* que afecta a las aves, *S. Abortusovis* que afecta a los ovinos y ocasionalmente a los caprinos, y *S. Abortusequi* que afecta a los equinos, entre otros.

* Serovariedades no adaptadas a hospedadores específicos. Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y afectan tanto a los humanos como a los animales. Entre estas serovariedades podemos mencionar a *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*, ya que son los principales agentes etiológicos de las Salmonelosis no-Tifoideas que se registran en el mundo. En este grupo también se pueden incluir *S. Choleraesuis* y *S. Dublin*, si bien son específicos de porcinos y bovinos, pueden causar infecciones en humanos.

Los serovares de *Salmonella enterica* Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B y Paratyphi C pueden denominarse colectivamente como *Salmonella* tifoidea y paratifoidea, mientras que otros serovares se agrupan como *Salmonella* no-

tifoidea (NTS). Las cepas de *Salmonella* tifoideas causan fiebre tifoidea y fiebre paratifoidea (Crump y col., 2015).

La manifestación clínica de la Fiebre no-Tifoidea o infección causada por serotipos no tifoideos de *S. enterica* es la inflamación intestinal aguda, que puede afectar al intestino delgado y/o al grueso (enteritis o enterocolitis). La mayoría son transmitidas por alimentos, pero cada año se registran mayor cantidad de infecciones a través del contacto directo o indirecto con animales en hogares, jardines zoológicos, entornos agrícolas y entornos públicos o privados (Magwedere y col., 2015). Para la mayoría de los serotipos no-tifoideos la dosis infectiva mínima se sitúa alrededor de 10^5 - 10^6 bacterias. *Salmonella* Enteritidis es una de las causas más comunes de gastroenteritis por intoxicación de origen alimentario en humanos, considerada por algunos autores como la más importante en todo el mundo (Kirk y col., 2015) y la tercera causa de muerte humana entre las enfermedades diarreicas en todo el mundo (Ferrari y col., 2019).

Un mecanismo clave de virulencia de *S. enterica* subsp. *enterica* es su capacidad de invadir células eucariotas (Fàbrega y Vila, 2013). El gen *invA* juega un papel importante en la invasión celular, así como en la virulencia en animales infectados experimentalmente (Buehler y col., 2019). El uso de *invA* como objetivo para la detección de *Salmonella* ha sido ampliamente revisado (Andrews y Hammack, 2007; González-Escalona y col., 2012; Wolffs y col., 2006). Es común en todas las variedades invasoras, lo que significa que se puede asociar con posibles cuadros virulentos (Malorny y col., 2003; Zhang y col., 2003). Además, el gen *invA* fue utilizado en estudios para la detección de *Salmonella* spp. en

muestras de alimentos, debido a la estabilidad genética que presenta (Daum y col., 2002).

- ***Salmonella* en la cadena de producción de la carne bovina**

Los productos de carne bovina fueron implicados en varios brotes de infecciones por *Salmonella* en los EE.UU. (Laufer y col., 2015). Además, se han producido brotes de Salmonelosis no Tifoidea en varios países europeos debido al consumo de diversos productos de carne bovina contaminada con cepas resistentes a múltiples fármacos (Friesema y col., 2012; Mindlin y col., 2013; Raguenaud y col., 2012).

En diversos estudios se detectó la presencia de *Salmonella* en muestras de ganado. En Arabia Saudita (Bosilevac y col., 2015) se determinó, mediante el muestreo de materia fecal y cueros de 207 bovinos, una prevalencia de *Salmonella* de 11,1% (N=23) y 80,2% (N=166) respectivamente. Sin embargo, se describieron prevalencias menores en Irlanda (Khen y col., 2014), donde el muestreo del cuero de 400 bovinos, arrojó como resultado solo 3 (0,75%) muestras positivas. En Argentina, entre los años 2008 y 2009, Bilbao y col. (2019) analizaron muestras rectales de 726 terneros de 50 establecimientos lecheros de la provincia de Buenos Aires, y detectó 5,5% (N=40) de los terneros positivos. Los serovares detectados fueron *S. Mbandaka* (N=6), *S. Anatum* (N=6), *S. Typhimurium* (N=5), *S. Dublin* (N=5), *S. Montevideo* (N=4), *S. Meleagridis* (N=4), *S. Newport* (N=2), *S. Seftemberg* (N=1), *S. subesp. 16,7:z1* (N=1), *S. Infantis* (N=1) y *S. Give* (N=1).

La presencia de *Salmonella* en los cueros del ganado, es una de las fuentes de contaminación de medias reses en los establecimientos de faena (Arthur y col., 2008; Barkocy-Gallagher y col., 2003; Rivera-Betancourt y col., 2004; Young y col., 2016). Se describieron aislamientos de *Salmonella* con distintas prevalencias en frigoríficos de varios países del mundo. En Brasil se analizaron 120 hisopados de medias reses, de los cuales 4 (3,3%) fueron positivos para *Salmonella* y se clasificaron: *S. Newport* (N=3), *S. Saintpaul* (N= 2) y *S. Anatum* (N= 1) (Pacheco da Silva y col., 2014). En Etiopia, luego del muestreo de 448 esponjados de medias reses, se observó crecimiento de *Salmonella* spp. en 56 (12,5%) muestras (Wabeto y col., 2017). En Indonesia, sobre un muestreo invasivo, con la recolección de 100 g de carne de las medias reses 8 h posteriores a su faena por frigorífico, se confirmó solo 1 (2,5%) muestra positiva a *Salmonella* spp. (Soepranianondo y col., 2019). En Argentina, no existen trabajos publicados respecto de la prevalencia de *Salmonella* spp. en medias reses de frigoríficos. Sin embargo, se realizaron estudios que incluyeron la detección y aislamiento de *Salmonella* spp. en carne picada fresca en carnicerías de la Argentina. En el período 2010-2013, en la ciudad de Berisso, se analizaron 86 muestras de carne picada en dos etapas del estudio. En la etapa descriptiva se detectaron 9 (10,4%) muestras positivas, y luego de aplicar acciones de mejoras, 10 (11,6%) resultaron positivas. En total, se aislaron 10 serovariedades distintas *S. Anatum* (N=4), *S. Newport* (N=3), *S. Saintpaul* (N=3), *S. Derby* (N=3), *S. Give* (N=3), *S. Typhimurium* (N=2), *S. Meleagridis* (N=1), *S. Panama* (N=1), *S. Oranienburg* (N=1) y *S. Montevideo* (N=1) (Leotta y col., 2016). En la provincia de Neuquén, en el período 2015-2017, se analizaron las carnicerías de tres ciudades. Se

detectaron 3 (6,8%) de las 44 muestras de carne picada como positivas, siendo posible el aislamiento de 3 serovariedades: *S. Enteritidis* (N=1), *S. Typhimurium* (N=1) y *S. Senftenberg* (N=1) (Barril y col., 2019).

1.6. Menudencias

En el Artículo 252 del Capítulo VI del CAA (CAA Cap. VI, 2019) se entiende por menudencias a los siguientes órganos: corazón, timo (molleja), hígado, bazo (pajarilla), mondongo (rumen, librillo y redecilla), cuajar de los rumiantes, intestino delgado (chinchulines), recto (tripa gorda), riñones, pulmones (bofe), encéfalo (sesos), médula espinal (filet), criadillas, páncreas, ubre y las extremidades anteriores y posteriores (patitas de porcinos y ovinos).

En el Decreto 4238/68 de SENASA (SENASA, 1968), se denomina vísceras y menudencias a cada uno de los órganos contenidos en las principales cavidades del cuerpo de los animales. Además, se entiende por achuras al conjunto de vísceras o entrañas de los animales mamíferos. La carne de cabeza es considerada parte de las menudencias del animal.

De acuerdo al rendimiento de un novillo promedio estimado por el IPCVA (IPCVA, 2004a), el rinde de los sub-productos corresponde al 42,7% del peso vivo. Dentro de los mismos, las menudencias representan el 3,7% del peso corporal de los bovinos y se componen de lengua sin epitelio (0,3%), sesos (0,0%), quijadas (0,3%), pulmón (0,4%), corazón (0,3%), molleja de corazón (0,02%), molleja de cogote (0,02%), hígado (1,1%), riñones (0,2%), centro de entraña (0,1%), rabo (0,1%), médula (0,03%) y las diferentes “carnes chicas” (0,3%) las cuales se dividen en carne de roseta (0,01%), carne de traga-pasto (0,05%), carne de cabeza (0,24%) y carne de tráquea (0,06%).

Las vísceras representan el 2,5% del peso, compuestas por pajarilla (0,1%), mondongo (0,7%), librillo (0,1%), cuajo (0,2%), chinchulines (0,06%),

tripa gorda (0,1%), tripa orilla 1° (0,2%), tripa orilla 2° (0,4%), tripón (0,1%), tripa salame (0,2%) y vejiga (0,04%).

La carne de cabeza o “carne chica” se obtiene de la cabeza de las medias reses bovinas, compuesta por las carnes extraídas del cráneo y quijadas, excluyendo los labios y papilas gustativas (INAC, 2004). Es utilizada en la industria de los alimentos para la fabricación de embutidos y chacinados en su mayoría, pero también gran parte de ella es destinada al consumo interno en carnicerías para su venta final como carne picada.

De acuerdo al rendimiento de un novillo promedio estimado por el IPCVA (IPCVA, 2004a), el rinde las carnes chicas corresponden aproximadamente el 0,3% del peso del animal vivo, eso significa que, de un animal promedio de 400-450 kg se obtendrán entre 1,20 y 1,35 kg de carne cabeza. En un establecimiento tipo de la provincia de Buenos Aires, con una faena diaria de 200 animales, durante 20 días de producción mensual, se pueden obtener entre 4800 a 5400 kg de carne de cabeza por mes.

Los frigoríficos de consumo interno comercializan sus menudencias a través de “achureros”, quienes durante la faena venden en fresco a distintos repartidores y carniceros. Los únicos procesos de elaboración previo a la distribución, con los cuales cuenta la mercadería son seleccionar la mercadería, desgrasar, encajonar y refrigerar (Ricci, 2012).

Debido a la mayor cantidad de glucógeno y menor cantidad de grasas de revestimiento, las menudencias en general resultan más fácilmente alterables y difíciles de manejar que la carne contenida en las medias reses (Ockerman y

Hansen, 1994). Por lo tanto, deben ser rápida y adecuadamente refrigeradas. Su vida útil depende de las condiciones de higiene durante la faena, rapidez en el tratamiento de refrigeración y/o congelación, y del transporte, distribución y venta de estos productos. Gran parte de la calidad de los mismos reside en la frescura, es decir el tiempo que media entre la faena y el consumo.

Los achureros que compran los productos para distribuir en las carnicerías tienen camiones provistos de bateas o tambores con hielo en los que colocan y acondicionan la mercadería. El ciclo de las achuras en el frigorífico es de menos de un día. El achurero distribuye las menudencias a lo sumo a lo largo de dos días y los carniceros venden las menudencias que reciben en tres o cuatro días. La mercadería fresca debe rotar cada 24 o 48 h para evitar su descomposición (Ricci, 2012).

Las vísceras como el hígado y el riñón, al igual que la carne, están libres de microorganismos, pero en el proceso de faena, la superficie puede contaminarse tanto por contacto con el contenido del tracto gastrointestinal o a través de incorrectas prácticas de higiene del cuchillo o las manos del eviscerador (Samuel y col., 1980).

Respecto a las vísceras, no existen reportes o información con base científica sobre análisis microbiológicos del agua donde son lavadas y enfriadas, en frigoríficos provinciales de la Argentina.

1.7. Sistemas de aseguramiento de la calidad

Los sistemas de aseguramiento de la calidad tienen como objetivo evitar la contaminación y garantizar la inocuidad alimentaria. Los programas de prerrequisitos (PPR) consisten en aquellas tareas que se deben realizar para garantizar una producción higiénica de los alimentos. Se integra con las normativas de cada país donde se expende, elabora, almacena y distribuye el alimento en cuestión (COPAL, 2012).

Como base para la construcción de un sistema de gestión de la inocuidad de los alimentos, las buenas prácticas (de carácter obligatorio en Argentina desde 1998) deben estar implementadas y establecidas (CAA Cap. II, 2019). Estas previenen la presencia de peligros en todas las etapas de los diferentes procesos que intervienen en la obtención del producto final (COPAL, 2012).

Las buenas prácticas de manufactura (BPM) son un conjunto de medidas mínimas de higiene necesarias para la obtención de alimentos seguros. Incluyen recomendaciones sobre materia prima, producto, instalaciones, equipos y personal, siendo aplicables en todo tipo de establecimiento en el que se realice elaboración, faena, fraccionamiento, almacenamiento, o transporte de alimentos elaborados o industrializados (Ghezán y col., 2010). Mediante la aplicación de enfoques de garantía de calidad, como las BPM, se puede lograr el control de la contaminación por microorganismos persistentes en los entornos de procesamiento de alimentos (Malavi y col., 2018).

Las buenas prácticas de higiene (BPH) se centran principalmente en instalaciones, equipos, utensilios, capacitación de empleados, limpieza,

saneamiento, almacenamiento, distribución y control de plagas (Peran i Sala y col, 2015). La limpieza y desinfección son operaciones dirigidas a combatir la proliferación y actividad de los microorganismos que pueden contaminar los alimentos y ser causa de su deterioro. La limpieza es la ausencia de suciedad y su propósito es disminuir o exterminar los microorganismos mientras que la desinfección puede definirse como eliminar el número de bacterias que se encuentran en un determinado ambiente o superficie, de tal forma que no sea nocivo para las personas. En conjunto, conformar la sanitización.

Los procedimientos operativos estandarizados de saneamiento (POES) son parte de un programa escrito que el establecimiento debe desarrollar, monitorear, corregir (cuando necesario), verificar y documentar. Deben contar con registros diarios donde se documente la implementación, la supervisión y toda acción correctiva que se tome (Jiménez Moreno, 2018). Ese programa debe abarcar diversos temas: potabilidad del agua, higiene de las superficies de contacto con el producto, prevención de la contaminación cruzada, higiene personal, protección contra contaminación/adulteración del producto, identificación y almacenaje adecuado de los productos tóxicos, salud de los colaboradores, control integral de plagas, entre otros. Deben indicar el sector, los equipos y utensilios, la frecuencia, los métodos de limpieza y desinfección, los productos químicos utilizados para la limpieza y desinfección, los responsables de la limpieza y la vigilancia o verificación y los registros necesarios (Jiménez Moreno, 2018).

El análisis de peligros y los puntos críticos de control (HACCP) se centra en todos los pasos de procesamiento, a través del monitoreo de puntos críticos

para contaminación, y permitiendo procedimientos preventivos para evitar el peligro (Alvseike y col, 2019; Kafetzopoulos y col., 2013).

El sistema consta de siete principios que engloban la implementación y el mantenimiento del plan:

1: Identificar los posibles peligros relacionados con todas las etapas de producción e identificar las medidas preventivas para su control.

2: Determinar puntos críticos de control (PCC) para eliminar los peligros, minimizar su probabilidad de ocurrencia o reducirlos a un nivel aceptable.

3: Establecer límites críticos (niveles objetivo y tolerancias) que tienen que cumplirse para garantizar que los puntos críticos de control están controlados.

4: Establecer un sistema de vigilancia del control de los PCC mediante pruebas u observaciones programadas.

5: Establecer las acciones correctivas que han de adoptarse cuando la vigilancia indica que un determinado punto crítico de control no está controlado.

6: Establecer procedimientos de comprobación para confirmar que el sistema HACCP funciona eficazmente.

7: Mantener registros para demostrar que el sistema HACCP está funcionando y que se ha aplicado la acción correctiva apropiada ante cualquier desviación con respecto a los límites críticos (Cendón y Unger, 2009).

Los desafíos para programas HACCP en frigoríficos incluyen costos, mano de obra, auditorias y capacitación (Jevsnik y col., 2006; Lupin y col., 2010;

Viator y col., 2017), pero permite elaborar alimentos inocuos mediante un abordaje sistemático y racional dirigido a la prevención y control de peligros microbiológicos, químicos o físicos por medio de la anticipación y prevención, en lugar de inspección y pruebas en productos finales (Cendón y Unger, 2009).

1.7.1. Criterios microbiológicos

Un criterio microbiológico para alimentos define la aceptabilidad de un proceso, producto o lote de alimentos basándose en la ausencia o presencia o el número de microorganismos y/o la investigación de sus toxinas por unidad de masa, volumen o área (ANMAT, 2005).

Los programas de aseguramiento de la calidad pueden guiarse por criterios microbiológicos para los alimentos que incluyen parámetros de seguridad relacionados con los patógenos microbianos transmitidos por los alimentos e indicadores de higiene, como los recuentos de bacterias aerobias mesofílicas, coliformes y enterobacterias (Camargo y col., 2019). Por lo tanto, los microorganismos indicadores de higiene son esenciales para indicar que los programas de BPM y HACCP están implementados dentro de la industria (Barco y col., 2015; Buncic y col., 2014; Peran i Sala y col., 2015; Luning y col., 2011).

Varios microorganismos que van desde el deterioro a los microorganismos patógenos e indicadores son importantes para evaluar la seguridad, la higiene y la calidad sanitaria de los alimentos y los entornos de procesamiento. El recuento de microorganismos indicadores de higiene proporciona información sobre contaminación general, deterioro incipiente o vida útil reducida, es decir, la utilidad del producto (Ali y col., 2010). Coliformes, *E. coli* y Enterobacterias son

indicadores útiles de la calidad del agua, la higiene del personal y la eficacia de los programas de limpieza y saneamiento en plantas de procesamiento de alimentos (Gwida y col., 2014; Schlegelová y col., 2010; Tassew y col., 2010).

En Argentina, el CAA establece dos categorías principales en cuanto a los criterios a seguir para la elaboración de patrones microbiológicos:

- **Criterio obligatorio:** refiere a los microorganismos considerados patógenos y/o sus marcadores, considerados de importancia en salud pública y de acuerdo con la clase de alimento. En este caso su hallazgo constituye razón suficiente para imputar la infracción y proceder en consecuencia, en forma preventiva o represiva, imponiendo las sanciones que correspondan.

- **Criterio complementario** (recomendatorio): a diferencia del anterior es el criterio relativo a la evaluación del proceso tecnológico utilizado para la obtención de un producto. Puede orientar al fabricante, aconsejarlo acerca de puntos sin control, y su seguimiento permitirá inferir o determinar la “falla”, que se demuestra en los protocolos analíticos. No tiene por finalidad la inspección final, con lo que se indica que de su incumplimiento no derivarán sanciones (ANMAT, 2005).

1.7.1.1. Metodología analítica

Las metodologías convencionales de análisis de alimentos se basan, en líneas generales, en el uso de un apropiado cultivo de pre-enriquecimiento y enriquecimiento, el aislamiento en medios selectivos y la posterior confirmación mediante pruebas bioquímicas morfológicas y/o serológicas (Law y col., 2014; Palomino-Camargo y González-Muñoz, 2014). Aunque estos métodos son

relativamente económicos, sensibles y se consideran estándares de oro, el principal inconveniente que presentan es su largo tiempo de análisis y su intensidad de trabajo. El procedimiento completo suele durar entre 7 y 10 días (Mangal y col., 2016).

Las presiones regulatorias, las modernas prácticas de producción y la complejidad analítica, hacen necesaria una la respuesta más veloz que la obtenida con los métodos convencionales. Surgen así los métodos rápidos, siendo éstos, cualquier método destinado a la detección, el recuento, la caracterización y la subtipificación de microorganismos (patógenos y del deterioro) mediante el cual se obtienen resultados de manera sencilla, fiable y en menor tiempo que con los métodos convencionales. Se basan en técnicas físico-químicas (películas de medios de cultivos deshidratados generales o selectivos, sistemas para determinar el número más probable, medios cromogénicos y fluorogénicos), bioquímicas (galerías miniaturizadas y automatizadas), inmunológicas (precipitación, aglutinación, inmunofluorescencia, citometría, radioinmunoensayo, enzimoinmunoensayo, inmunocromatografía, nefelometría, inmunomicroscopía) y moleculares (hibridación, Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de punto final, PCR en tiempo real, ribotipificación, microarrays, biochips) (Leotta, 2009).

Como parte del Sistema HACCP, los métodos rápidos permiten la toma de decisiones en poco tiempo y la aplicación temprana de medidas correctoras. En la mayoría de los casos suponen, además, ahorro de material y de horas de trabajo, y pueden ser muy útiles cuando se analizan un gran número de muestras. Algunos de ellos, por su sencillez, pueden incluso ser realizados por personal no especializado. Muchos de estos métodos han sido validados por organismos

independientes, por lo que pueden ser utilizados por la Administración en el Control Oficial de alimentos (USAL, 2019).

Desde la década del 70, el desarrollo y la implementación de los métodos rápidos para la identificación de microorganismos evolucionaron en paralelo con los adelantos en otras áreas de la investigación científica, en particular con la generalización del uso de galerías de pruebas bioquímicas miniaturizadas. A partir de la década del 80, el avance en la producción de anticuerpos monoclonales hizo posible el desarrollo de pruebas inmunológicas de identificación, como el ELISA o la inmunocromatografía. En 1990, con el advenimiento de las técnicas de biología molecular comenzaron a utilizarse técnicas como la PCR, tanto para tamizaje como para la identificación de microorganismos y sus factores de virulencia. A partir del año 2000, comenzó el desarrollo de biosensores y en menor medida de biochips y microarrays (Leotta, 2009; de Santos, 2010).

Según Sorribes (2008) en 2003 del total de ensayos microbiológicos realizados por la industria en el mundo (1.136,5 millones), el 58,0% (660,5 millones) correspondieron a la industria de la alimentación (49,0%) y bebidas (9,0%). Aproximadamente, el 20,0% de los análisis se dirigieron a la detección de los microorganismos patógenos *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7 y el 80,0% restante fueron análisis rutinarios (recuento total, de coliformes, de mohos y de levaduras). En Argentina, existen actualmente, más de 30 equipos y kits comerciales que cumplen con los requisitos de control para la detección y aislamiento de STEC (Costa y col., 2019), siendo varios de ellos en combinación con la detección de *Salmonella*.

1.8. Argentina

1.8.1. Historia de la industria frigorífica

El papel de Latinoamérica, por muchos años se concretó a la producción de productos agrícolas o pecuarios y a su intercambio por bienes manufacturados y Argentina no fue una excepción, desarrolló su vinculación con el mercado mundial a través de la exportación de productos agropecuarios. En lo fundamental, la industria argentina nació estrechamente ligada a las actividades del campo y supeditada a ellas.

A finales del siglo XX uno de los principales productos de exportación de Argentina, la carne de ganado ovino y bovino, comenzó a sufrir una importante transformación, debido a la aplicación de técnicas que aseguraron su perduración para un consumo en mejores condiciones. El congelamiento de la carne, para asegurar su conservación, transformó paulatinamente la exportación y con él al país en su conjunto.

Los primeros establecimientos frigoríficos se instalaron en Argentina durante los años 1883 y 1886; fueron los Sansinena de Avellaneda y los británicos de Campana y Pampas.

Cuando en nuestro país el vacuno atravesaba una de sus crisis más significativas, al cerrarse los puertos europeos al ganado en pie, debido la existencia de aftosa, se forma una compañía francesa dispuesta a explotar un invento de Charles Tellier. “Le Frigorifique”, buque de vapor designado para transportar carne a 0°C, llega a Buenos Aires en Diciembre de 1876 con carne fresca de reses faenadas en Ruán tres meses antes. Se ofreció un banquete a bordo con esas carnes, y aunque su gusto no era muy recomendable, se habló

entusiastamente del sistema. Argentina, cedió un lote de novillos a la empresa para su viaje de retorno. Se sumaron al lote 200 capones adquiridos por la empresa. Tras un difícil viaje, el cargamento llegó en malas condiciones.

Al año siguiente (1877) arribó otro barco, “El Paraguay”, equipado según el procedimiento Carré–Jullien, de congelar a -30°C , sistema que aseguraría un mejor resultado. Esta vez el banquete a bordo fue más placentero. El buque congeló para su vuelta varios miles de carneros y unas pocas reses vacunas, el cargamento llegó bien y tuvo buenas ventas.

Los capitales franceses no pudieron usufructuar debidamente el invento, por lo que serían capitales ingleses los que desarrollarían el sistema, aplicándolo primero al comercio con Australia y luego con la Argentina. El sistema triunfante congelaba la carne hasta convertirla en un bloque de hielo, de descongelamiento lento, pero que aseguraba la conservación por más tiempo.

Para el año 1902 la Compañía Sansinena, inauguró otro establecimiento en Cuatros, próximo a Bahía Blanca; ese mismo año fue instalado el frigorífico de La Blanca en Avellaneda. Durante los años 1904 y 1905 se inauguraron también el de la Compañía Swift en Berisso, la Smithfield en Zárate y la Wilson en Avellaneda. Posteriormente en 1911 ocurrió la instalación de Swift en San Julián; en 1912 la misma compañía instaló otro en Río Gallegos y en 1914 el Armour en Berisso, entre otros, completando con esto un período de expansión y consolidación.

Esta segunda etapa de instalación de los establecimientos frigoríficos en Argentina, ocurrida entre los años 1902 y 1926, trajo consigo la diversificación de la industria en una variada producción de subproductos para el mercado interno y

externo. La descentralización de la industria fue también parte de este período, las unidades buscaron su ubicación dentro del territorio en los lugares de producción de la materia prima. Teniendo como regla de instalación contar con rutas acuáticas que permitieran la exportación del producto (Pelaez-Almengor, 1995).

El papel protagónico que tuvo Argentina en el comercio mundial, estuvo estrechamente vinculado a la evolución de la demanda británica, ya que el grueso de sus exportaciones (hasta mediados del siglo XX) estuvo dirigido a dicho mercado. Así, el comercio entre estos dos países daba cuenta hasta finales de la década de 1930 de una porción sustantiva del comercio internacional. Por lo tanto, la declinación de la demanda británica, a la cual se le sumó la falta de dinamismo de los mercados que aceptaban la importación de carne vacuna desde países con presencia de aftosa, fueron la causa determinante de la pérdida de relevancia de la ganadería pampeana en el mercado internacional (Arceo, 2017). Generando esto último, un aumento en el desarrollo del mercado interno que fuese capaz de absorber el excedente producido de carne.

Entre el 21 de julio y el 20 de agosto de 1932 en Ottawa, se llevó a cabo la Conferencia de Ottawa. Allí, ante la crisis Inglaterra se reúne con sus colonias y excolonias para reorganizar su comercio exterior. El Reino Unido, decide adquirir los productos que antes compraba a la Argentina en Canadá, Australia y Nueva Zelanda (Skupch, 2012). Por tal motivo, en 1933 viaja a Londres el vicepresidente Julio A. Roca (hijo), para llegar a un acuerdo. Es así que se firma el pacto Roca-Runciman, en el cual Inglaterra se comprometía a seguir comprando carne argentina siempre y cuando su precio fuera menor al de los demás proveedores (Rodríguez, 2001). En 1935 Lisandro de la Torre inició una investigación sobre el

comercio de carne, puesto que en el marco del Pacto Roca-Runciman esta actividad se encontraba sospechada de corrupción.

Los años transcurridos durante la Segunda Guerra Mundial se caracterizaron por una fuerte contracción del comercio exterior y por la desintegración total del sistema argentino de comercio multilateral. Se fundaron así, establecimientos de capital nacional que desplazaron al frigorífico extranjero del mercado interno, centrándose este último en cubrir las necesidades de los países involucrados en la Segunda Guerra Mundial. Esta tendencia llevo a los frigoríficos argentinos a faenar de 9,3% de las cabezas en 1955 al 65,0% en 1971 (Amurri, 2018).

En el año 1979, se firmó un acuerdo comercial dado en el marco de las Negociaciones Multilaterales Comerciales del GATT (Acuerdo General de Aranceles Aduaneros y Comercio) en la llamada Ronda Tokio. En esa rueda la entonces Comunidad Europea acordó asignar un cupo a arancel preferencial para realizar exportaciones a su mercado de cortes vacunos de alta calidad a otras naciones. Cumplido el cupo, puede seguir exportándose bajo el arancel común (UCESCI, 2004). Así, la cuota Hilton, quedó definida como un contingente arancelario de exportación de carne vacuna sin hueso de alta calidad y valor que la Unión Europea otorga a países productores y exportadores de carnes. La carne exportada de este cupo puede ser colocada en la UE con un arancel equivalente al 20,0% (Bonansea y Lema, 2006).

Durante estos años se implementaron las primeras mejoras tecnológicas. Además, se crearon organismos de control y desarrollo como el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y los Consorcios Regionales de

Experimentación Agropecuaria (CREA). Se introdujeron nuevas razas europeas para mejorar la calidad de la carne y técnicas de pastaje y cría intensiva para aumentar la producción.

Sin embargo, en adelante el campo no tendría fácil acceso al comercio internacional; diversas restricciones sanitarias, destacándose el hallazgo de aftosa (la condición de “libre aftosa” otorgada por la OIE se recupera en Marzo del 2007), formarían parte de las trabas que el mercado bovino argentino debía afrontar.

Estas restricciones, junto con una serie de políticas económicas internas, fueron un limitador del crecimiento para la actividad ganadera Argentina, reduciendo los precios, y así, los incentivos a invertir y aumentar la producción, limitando la participación en el comercio mundial (Amurri, 2018).

1.8.2. Estándares en Argentina

En Argentina existen diferentes categorías de frigoríficos, según su capacidad de faena, el área de comercialización de carne y vísceras y la autoridad sanitaria responsable de su control. Las cuatro categorías de frigoríficos identificadas son (SENASA, 1968):

- **Exportadores:** distribuyen sus productos y sub-productos mayoritariamente fuera del país, cuyos controles higiénico-sanitarios se rigen según las circulares de SENASA y las exigencias del país de destino, por ejemplo el Reglamento (CE) 2073/05 de la Unión Europea (Parlamento Europeo, 2005); los programas de reducción de patógenos del FSIS (Food Safety and Inspection Service) o las normativas de la FDA (Food and Drug Administration) de Estados Unidos.

- **Tránsito federal:** distribuyen sus productos y sub-productos dentro del país, cuyos controles higiénico-sanitarios solo se rigen según las circulares de SENASA.
- **Tránsito provincial:** distribuyen sus productos y sub-productos dentro del área correspondiente a cada provincia, y sus controles higiénicos-sanitarios son responsabilidad del Ministerio de Agroindustria o secretarías correspondientes de cada provincia.
- **Rurales:** distribuyen sus productos y sub-productos exclusivamente dentro de la localidad para la cual fueron autorizados, y sus controles higiénicos-sanitarios son responsabilidad de a la autoridad sanitaria de cada localidad.
- La **faena artesanal** para autoconsumo, es importante incorporarla como una categoría más, aunque no sea mencionada en los documentos oficiales (Decretos de SENASA, Ley Federal o Ley Provincial de Carnes), ya que en oportunidades se comercializa, convirtiéndose en un producto clandestino.

El control de los alimentos en la República Argentina, por tratarse de un país federal, se basa en la articulación entre los organismos sanitarios responsables de la aplicación del CAA del nivel nacional, provincial y, por su intermedio, municipal. Sin embargo, el CAA, solamente especifica los criterios para carne picada fresca, a través del Artículo 255.

Del análisis sectorial con la información disponible hasta el año 2013, resulta que existen unos 557 establecimientos faenadores distribuidos a lo largo del país. De esta cantidad, 173 establecimientos poseen habilitación nacional de SENASA y el resto corresponde a establecimientos provinciales y municipales. Dentro de los 173 establecimientos con habilitación de SENASA, 116 son de

ciclo completo (faena y desposte) y el resto son Ciclo I (sólo faena) (Santángelo, 2013).

Existen condiciones tecnológicas de las más diversas respecto a los procesos de producción que se emplean en las diferentes plantas, existiendo brechas bien marcadas entre los establecimientos que dedican toda o parte de su actividad para la producción de cortes para exportación y aquellas que se dedican al consumo interno (medias reses).

Esta situación genera una gran heterogeneidad en las diferentes técnicas productivas aplicadas en el proceso de faena entre las que podemos mencionar: alojamiento en corrales; sistemas o métodos de noqueo; sistema de transporte de medias reses; sistema de cuereado; la disponibilidad de salas de cuarteo, desposte, empaque y capacidad de frío (para oreo, enfriado y/o congelado de productos o cortes). Las diferencias estructurales y de procesos de los distintos tipos de establecimientos, se resumen en el siguiente cuadro.

Exigencia	Establecimiento exportador	Establecimientos Tipo A ⁽¹⁾	Establecimientos B y C ⁽¹⁾
Sistemas de calidad	BPM, POES, HACCP, Plan CREHA y Bienestar Animal	BPM y POES	No implementan
Corrales	Corrales techados y con pisos antideslizantes	Corrales techados y con pisos antideslizantes	Corrales sin techar y con pisos deficientes
Insensibilización (noqueo)	Martillo neumático	Aturdidor eléctrico	Maza
Control de cámaras	Grupo electrógeno y sistema computarizado de registro y control de temperaturas	Grupo electrógeno, o solo control de temperatura	Control manual en el oreo (no refrigeran)
Controles de laboratorio	Toma de muestras en procesos y productos de	Control de agua mensual. <i>Salmonella</i> spp.	No practican

	<i>Salmonella</i> spp., <i>E. coli</i> O157:H7, Coliformes totales, <i>L. monocitógenes</i> , Aerobios totales, Enterobacterias, <i>E. coli</i> genéricos.	semanal <i>E. coli</i> mensual	
Control de plagas	Programa de manejo integrado de plagas, registros diarios con personal específico	Programa de control de plagas	Control visual
Agua	Agua clorinada	Agua clorinada	Agua de pozo sin clorinar
Efluentes	Control periódico de funcionamiento	Sólo control estatal. Algunos poseen autorización de vuelco directo a ríos o arroyos	No poseen
Faena (Instalaciones y funcionamiento)	Adecuadas	Adecuadas	Deficiencias en piso, paredes, techos, maquinarias
Despostada (instalaciones y funcionamiento)	Adecuadas	Se observó acumulación de cortes por trabajo a destajo	No poseen
Capacitación	Programa de capacitación	Algunos cursos	No realizan

Fuente: “Análisis de diagnóstico tecnológico sectorial. Frigorífico Bovino” (Santángelo, 2013) en base a datos de la publicación “La diversidad de prácticas de calidad en la industria frigorífica de la provincia de Buenos Aires. INTA Balcarce” y entrevistas a referentes sectoriales.

(1) Definición de Establecimientos faenadores según el reglamento de inspección de productos, subproductos y derivados de origen animal. Decreto N° 4238, 1968. SENASA.

Esta amplia variedad de plantas procesadoras da lugar a múltiples estándares higiénico-sanitarios, tecnológicos e impositivos, entre aquellos frigoríficos que exportan y/o que están habilitados a realizar tránsito federal y las plantas con habilitación provincial que realizan abastecimiento provincial o municipal, que tiene sustento jurídico según la normativa vigente (Santángelo, 2013).

1.8.3. Producción y consumo de carne

La alimentación es un comportamiento cultural, establecido y mantenido a través de los hábitos adquiridos de generación en generación y se trata de un comportamiento muy arraigado en la sociedad (Díaz Méndez C y Gómez Benito C, 2001). La globalización a un ritmo cada vez más frenético de la mano de los cambios tecnológicos, el surgimiento de nuevas formas sociales y culturales y nuevos valores e ideales, sirven como telón de fondo a cambios que están modificando nuestra relación y vínculo con los alimentos, proyectándonos a nuevas formas de consumo (Bifaretti y col., 2014). En una encuesta realizada por la Red de Seguridad Alimentaria (RSA) en el 2019 se analizaron los hábitos de consumo de carne de los argentinos. El 76,0% de la población encuestada consume entre 2 y 7 veces por semana carne, 97,0% cortes de carne bovina, 66,0% carne picada y 57,0% hamburguesas (IPCVA, 2019).

La cultura y tradición hacen de nuestro país un territorio propicio para el consumo de carne. Un hecho que vale la pena resaltar es que Argentina tiene hoy en día, contabilizando la sumatoria entre las distintas carnes uno de los niveles de consumo de proteínas cárnicas más altos del mundo (Bifaretti y col., 2014).

En nuestro país, en los primeros siete meses de 2019 se produjeron 1,73 millones toneladas res con hueso (tn r/c/h) de carne vacuna. Por un lado, los envíos al mercado interno habrían sumado 1.324 millones de tn r/c/h. En función de lo expuesto, el consumo (aparente) per cápita de carne vacuna en el mercado interno, se habría ubicado en 52,8 kg/año durante julio del corriente, quedando 9,5% por debajo del promedio agosto '17-julio '18. En tanto, el consumo (aparente) correspondiente a los primeros siete meses de 2019 equivalió a 50,5

kg/hab/año. Por el otro lado, las exportaciones de carne vacuna habrían totalizado 408,1 mil tn r/c/h, lo que arrojaría una suba de 45,1% anual (+127 mil tn r/c/h). Lo que resultó diferente fue el nivel de concentración de los embarques. Mientras que en enero-junio de 2005, el primer destino fue Rusia y concentró el 32,0% del volumen total, en enero-junio de 2019, el principal mercado fue China quien adquirió 72,4% del total (CICCRA, 2019).

Estas cifras, demuestran que aunque Argentina se encuentrea entre los diez mayores proveedores de carne bovina a nivel mundial (Argentina.gob.ar, 2018), a pesar de los cambios de hábitos alimenticios que está viviendo la sociedad, el primer destino donde dirige sus amplios volúmenes de producción es el mercado interno. Esta pauta, destaca la importancia de la realización de trabajo como éste, enfocados en la mejora continua de la calidad de los productos alimenticios que se le proveen a la población argentina.

2. HIPÓTESIS

1) Las tres plantas de faena de tránsito provincial cumplen con buenas prácticas de manipulación e higiene.

2) La presencia de STEC y Salmonella spp. en los tres frigoríficos de tránsito provincial es inferior al 10,0%.

3) Los serogrupos de STEC aislados en los tres frigoríficos de tránsito provincial son los más prevalentes asociados a casos de enfermedad severa en Argentina.

4) La incorporación de un sistema de aseguramiento de la calidad mejora la calidad microbiológica de los productos finales en las tres plantas de faena de tránsito provincial.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

El objetivo general del proyecto fue mejorar la calidad microbiológica de la carne bovina proveniente de plantas de faena de tránsito provincial destinada al consumo minorista local y reducir problemas de importancia ligados a la salud pública en nuestro país. Para ello, planteamos tres etapas: I) descriptiva, II) implementación de acciones de mejora tendientes a aumentar el nivel de calidad del producto terminado, III) verificación del éxito de las mejoras implementadas. El conocimiento preciso de la implementación de acciones de mejora en el proceso de producción permitirá disminuir el riesgo de infección por consumo de carne bovina.

3.2. Objetivos específicos

1) Describir el estatus sanitario y la calidad microbiológica de la carne bovina en tres plantas de faena de tránsito provincial

- a) Cuantificar el riesgo de contaminación de la carne bovina durante el proceso de producción.
- b) Determinar la calidad microbiológica del agua utilizada en la planta de faena.
- c) Determinar la carga bacteriana de las medias reses mediante el recuento de microorganismos indicadores.
- d) Determinar la presencia de STEC (O157:H7 y no-O157) y *Salmonella* spp. en medias reses, carne de cabeza, superficies ambientales y agua de lavado y enfriado de vísceras.

2) Promover la implementación de acciones de mejora tendientes a mejorar la calidad del producto final

- a) Evaluar e implementar acciones de mejora sobre las buenas prácticas de manufactura (BPM), procesos operativos estandarizados de saneamiento (POES) y buenas prácticas de higiene (BPH).
- b) Aplicar las acciones de mejora en la línea de faena.

3) Verificar el éxito de las acciones de mejora implementadas

- a) Cuantificar el riesgo de contaminación de la carne bovina durante el proceso de producción.
- b) Determinar la calidad microbiológica del agua utilizada en la planta de faena.
- c) Determinar la carga bacteriana de las medias reses mediante el recuento de microorganismos indicadores.
- d) Determinar la frecuencia de STEC (O157:H7 y no-O157) y *Salmonella* spp. en medias reses, carne de cabeza, superficies ambientales y agua de las piletas de enfriado de vísceras.
- e) Caracterizar los aislamientos de STEC y *Salmonella* spp. mediante técnicas fenotípicas y genotípicas.
- f) Determinar la relación clonal de los aislamientos mediante técnicas moleculares.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

La provincia de Buenos Aires, cuenta con 39 plantas de faena bovina, bajo el control del Ministerio de Agroindustria Provincial. Se seleccionaron junto al personal del Ministerio, tres plantas cercanas al radio de la ciudad de La Plata, con diferentes condiciones estructurales y de procesos, para simular el estado general de todas las plantas de la Provincia.

El trabajo se dividió en tres etapas: I) descriptiva, II) implementación de acciones de mejora tendientes a mejorar la calidad del producto terminado, III) verificación del éxito de las mejoras implementadas.

4.1. Descripción del estatus sanitario y la calidad microbiológica de la carne bovina en tres plantas de faena de tránsito provincial

En la etapa I, cada una de las plantas fue visitada una vez por semana, durante diez semanas consecutivas. Se alternó una visita pre-operacional y la siguiente operacional. En cada visita se cuantificó el riesgo y se tomaron muestras de medias reses, ambiente, carne de cabeza, agua del lavado y enfriado de vísceras y del agua de cada establecimiento. Antes de finalizar la etapa se realizó una encuesta a los operarios sobre conceptos generales de manipulación de alimentos.

4.1.1. Cuantificación del riesgo de contaminación de la carne bovina durante el proceso de producción

Para la cuantificación del riesgo se tomó como modelo la planilla utilizada en el proyecto “Carnicerías Saludables” (Leotta y col., 2016). Para los frigoríficos, se utilizaron dos planillas, una antes del inicio de la faena (pre-operacional), y la otra durante el proceso de faena (operacional); para reflejar la

realidad de cada establecimiento en su jornada laboral completa. Se las dividió en seis bloques. La planilla pre-operacional (Anexo, sección 1) abarca, corrales, playa de faena, cámaras, cuarteo, menudencias y exteriores. Mientras que la operacional (Anexo, sección 2) incluye corrales, playa de faena, sector cabezas y vísceras, sector puntos de control, sector cámaras y cuarteo y sector menudencias. A los bloques, se les asignó un valor de importancia, que se encuentra correlacionado con el riesgo de contaminación que existe en cada sector del proceso, a mayor riesgo mayor puntaje.

Los bloques estaban compuestos por los ítems a evaluar en las visitas (Tabla 1). Cada uno de esos ítems, tienen 4 calificaciones cualitativas posibles, a las cuales se les asignó un valor numérico por consenso del grupo de trabajo según su relevancia. Según la condición del ítem:

- Aceptable: se encuentra en perfectas condiciones;
- Marginal: no se encuentra en las condiciones ideales;
- Inaceptable: no se encuentra en las condiciones que corresponde;
- No aplica: la variable a estudiar, no puede ser evaluada, pero eso no influye en el resultado del proceso.

El puntaje final de cada bloque se obtuvo a partir de la siguiente fórmula:

$$CB = \frac{TS \times Im}{K - TNA}$$

Donde:

CB= Calificación del bloque

TS= Total de las calificaciones “A” y “M” obtenidas

TNA= Total de las calificaciones “NA” obtenidas

K= sumatoria de la columna de A

Im = Importancia del bloque

El riesgo de cada establecimiento, al momento de la visita, se obtuvo a partir de la sumatoria del puntaje de todos los bloques. De este modo, cada planta fue clasificada en tres niveles, alto (0 - 40), medio (41 - 70) y bajo (71 - 100). Con base en el valor obtenido fue posible identificar los sectores que presentaban desvíos.

Tabla 1. División de las planillas pre-operacional y operacional en bloques, cantidad de ítems y valor de importancia

Planilla pre-operacional					
Bloque I	Bloque II	Bloque III	Bloque IV	Bloque V	Bloque VI
Sector corrales	Sector faena	Sector cámaras	Sector cuarteo	Sector menudencias	Sector exteriores
14 ítems	21 ítems	11 ítems	18 ítems	22 ítems	17 ítems
15 ptos.	35 ptos.	10 ptos.	10 ptos.	20 ptos.	10 ptos.
Planilla operacional					
Bloque I	Bloque II	Bloque III	Bloque IV	Bloque V	Bloque VI
Sector corrales	Sector faena I	Sector faena II	Sector faena III	Sector cámaras	Sector menudencias
10 ítems	42 ítems	19 ítems	8 ítems	17 ítems	16 ítems
15 ptos.	25 ptos.	10 ptos.	15 ptos.	20 ptos.	15 ptos.

4.1.2. Determinación de la calidad microbiológica del agua utilizada en la planta de faena

4.1.2.1. Toma de muestra

En cada visita se tomaron muestras del agua de cada una de las plantas. Las muestras correspondieron a las salidas de los pozos de abastecimiento individuales, las cisternas o tanques colectores, interior de la planta y los baños donde se higienizaban los operarios. Se colectaron en frascos estériles de vidrio de boca ancha con tapa a rosca, con el agregado previo de 0,3 ml de tiosulfato de sodio (Mallinckrodt Baker, Nueva Jersey, Estados Unidos). Previo a la toma de muestras, se realizó la medición de cloro libre con un kit colorimétrico (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). Se verificaron los rótulos correspondientes a cada sector y se colocaron todos los frascos en una conservadora acondicionada con refrigerantes. Antes de las dos horas de obtenida la primera muestra se transportaron al laboratorio para ser procesadas. La cantidad total de muestras correspondientes a cada etapa se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Número total de muestras recolectadas en las etapas I y III

	Etapa I		Etapa III	
	Pre operacional	Operacional	Pre operacional	Operacional
Medias reses	90	90	36	36
Ambiente	90	90	36	36
Carne de cabeza	3	6	6	6
Agua de lavado y enfriado de vísceras	15	30	30	30
Agua	73	72	28	28

4.1.2.2. Procesamiento

Las muestras fueron analizadas microbiológicamente en las instalaciones pertenecientes al Laboratorio Central del Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires, según el criterio microbiológico establecido en el capítulo XII del CAA para agua potable (CAA Cap. XII, 2012).

4.1.2.2.1. Determinación bacterias coliformes totales

Se utilizó la técnica del NMP en caldo MacConkey (Biokar, Zac de Ther, Francia), se sembraron 3 tubos de 10 ml de doble concentración con campana de Durham, con 10 ml de muestra; 3 tubos de 10 ml de simple concentración con campana de Durham, con 1 ml de muestra y 3 tubos de 10 ml de simple concentración con campana de Durham, con 0,1 ml de muestra. Se incubaron durante 48 h a 37 °C.

Los tubos positivos, se repicaron a partir de una ansada a tubos con 10 ml de caldo verde brillante bilis (CVBB) (Merck KGaA) con campana de Durham. Se incubaron durante 48 h a 37 °C.

Luego de la confirmación de la cantidad de tubos positivos, se buscó dicha combinación en la Tabla del NMP de 3 tubos y se obtuvo el número de coliformes totales.

4.1.2.2.2. Ausencia *Escherichia coli* en 100 ml

Se sembró 100 ml de cada una de las muestras en 100 ml de caldo MacConkey (Biokar) doble concentración. Se incubaron 24 h a 44,5 °C. Aquellas

muestras que presentaban turbidez y viraje del color violeta al amarillo, fueron sembradas en placas de agar EMB (Agar Eosina Azul de Metileno) (Britania, Buenos Aires, Argentina) y se incubaron 24 h a 37 °C. Se seleccionaron dos colonias de cada placa con la morfología típica y fueron sembradas en agar nutritivo (AN) (Britania) para realizar pruebas bioquímicas. Se incubaron las placas por 24 h a 37 °C. Las determinaciones bioquímicas se realizaron mediante las siguientes pruebas: producción de indol (medio IMS, Britania), rojo de metilo (caldo RM-VP, Britania), Voges-Proskauer (caldo RM-VP, Britania) y citrato (agar citrato de Simmons, Britania).

4.1.2.2.3. Ausencia *Pseudomonas aeruginosa* en 100 ml

Se sembró 100 ml de cada una de las muestras en 100 ml de caldo Asparagina (Merck KGaA) doble concentración. Se incubaron 24 h a 37 °C. Aquellas muestras que presentaban turbidez o color azul-verdoso, fueron sembradas con una ansada, en agar cetrimide (Merck KGaA) las cuales se incubaron por 24 h a 42 °C. Se consideraron positivas aquellas colonias de color verde-azulado correspondiente a la producción de piocianina, pioverdina y/o piorrubina, y fueron sembradas en AN (Britania) para realizar las pruebas bioquímicas. Se incubaron las placas 24 h a 37 °C. Se realizó la prueba de oxidasa mediante discos (Britania).

4.1.2.2.4. Recuento de bacterias mesófilas en agar

Se sembró en profundidad en dos placas de Petri estériles, 1 ml de la muestra de agua y 1 ml de la dilución 10^{-1} , se agregó sobre ellas aproximadamente

15 ml de PCA (Biokar), luego de solidificar, fueron incubadas durante 24 h a 37 °C. Posterior a la incubación, se realizó el recuento de las mismas. Se realizó el recuento, en aquellas placas que contenían entre 30 y 300 colonias.

4.1.3. Determinación de la carga bacteriana de las medias reses mediante el recuento de microorganismos indicadores

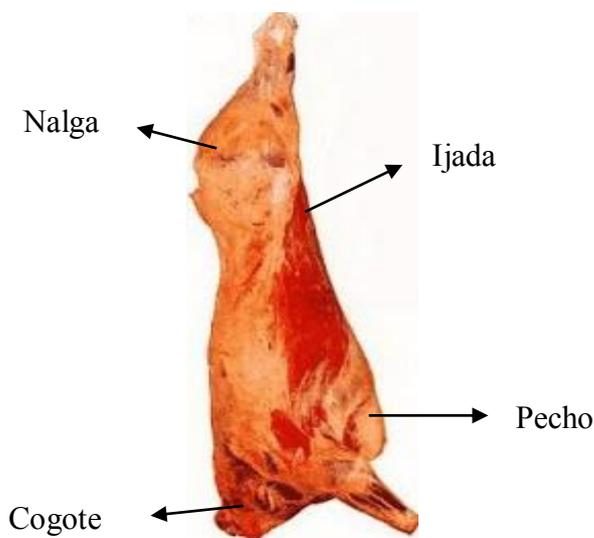
4.1.3.1. Toma de muestra

Con base en la circular 3834/08 de SENASA (SENASA, 2008), se plantearon cuatro puntos de la media res para ser esponjados dentro de la cámara frigorífica en las visitas pre-operacionales o en la cámara de oreo en las operacionales. Los mismos corresponden a nalga, ijada, pecho y cogote (Figura 1). Se seleccionaban por visita, 6 medias reses de distintas tropas, que representaran la faena de los últimos 6 días como máximo, en las visitas pre-operacionales y la faena diaria en las operacionales. Previo a la toma de muestra, se efectuó la medición y registro de la temperatura ambiente y de cada una de las medias reses seleccionadas.

La toma de muestra se efectuó con una plantilla metálica que presenta un recorte de un cuadrado de 10 cm x 10 cm. Se esterilizó mediante alcohol 96°C y se flameó. Luego de enfriarse, se colocó en uno de los cuatro puntos a muestrear y se esponjó con esponjas estériles (Whirl-Pak speci-sponge, Nasco, Estados Unidos) embebidas con 5 ml de agua peptonada (AP) (Britania), 10 veces en sentido vertical y 10 veces en sentido horizontal. Se muestrearon los dos puntos caudales (nalga e ijada) con una cara de la esponja, y los dos puntos craneales (pecho y cogote) con el otro lado de la misma. Se cerró la bolsa con sus cierres metálicos, se verificó su identificación con el número correspondiente y se colocó

en una conservadora previamente acondicionada con refrigerantes. Antes de las dos horas de obtenida la primera muestra se transportaron al laboratorio para ser procesadas.

Figura 1: Puntos de toma de muestra de microorganismos indicadores en medias reses



4.1.3.2. Procesamiento

En el laboratorio se agregó 20 ml de AP (Britania) a cada una de las esponjas. Luego de 10 s en el Stomacher®, se extrajo 1 ml del caldo de cultivo para realizar las diluciones correspondientes. Se estableció que entre los límites de dilución 10^{-4} y 10^{-5} eran contables los microorganismos mesófilos, se sembró 1 ml de cada una de las diluciones en 3M™ Petrifilms™ recuento total de aerobios (3M™, Minnesota, Estados Unidos). Se establecieron los límites de dilución 10^{-1} y 10^{-2} para ser sembrados en 3M™ Petrifilms™ *E. coli*/ coliformes (3M™). Fueron todas las placas incubadas durante 48 h a 37°C, realizándose luego el recuento de aquellas que se encontraban en los límites establecidos por el fabricante.

4.1.4. Determinación de la presencia de STEC (O157:H7 y no-O157) y *Salmonella* spp. en medias reses, carne de cabeza, superficies ambientales y agua de lavado y enfriado de vísceras

4.1.4.1. Medias reses

4.1.4.1.1. Toma de muestras

Para la toma de muestras de microorganismos patógenos, se muestrearon las mismas medias reses, seleccionadas para el recuento de microorganismos indicadores. Con otra esponja estéril (Whirl-Pak) embebidas con 5 ml de AP (Britania), se procedió a esponjar toda la superficie externa de la media res 10 veces en sentido vertical y 10 veces en sentido horizontal, y con la otra cara de la esponja, toda la parte interna en ambas direcciones. Se procedió a cerrar la bolsa, se verificó su identificación con el número correspondiente y se colocó en una conservadora previamente acondicionada con refrigerantes. Antes de las dos horas de obtenida la primera muestra se transportaron al laboratorio para ser procesadas. La cantidad total de muestras correspondientes a cada etapa se presentan en la Tabla 2.

4.1.4.1.2. Procesamiento

En el laboratorio, de forma aséptica se extrajeron las esponjas de las bolsas originales con pinzas. Se dividieron todas las esponjas, colocando una mitad en una bolsa de muestreo (Whirl-Pak) para la detección de *Salmonella* spp., donde se agregó 100 ml de AP (Britania). Luego de 10 s en el Stomacher® se incubó por 24 h a 37 °C.

La otra mitad, se colocó en otra bolsa de muestreo (Whirl-Pak) donde se agregó 100 ml de caldo de tripticasa de soja modificado (TSBm) (Acumedia, Michigan, Estados Unidos). Luego de 10 s en el Stomacher® se incubó por 24 h a 41,5 °C.

Luego de la incubación, se extrajeron 10 ml de cada uno de los caldos en tubos Falcon estériles (Tarsons Products Pvt. Ltd, Calcuta, India) y se trasladaron refrigerados hasta las instalaciones del Laboratorio de la División Higiene y Seguridad Alimentaria y Ambiental, Stamboulia Servicios de Salud. Allí se realizó, a partir del caldo de AP, la detección de los genes *stx*, *eae*, *fliC_{H7}* e *invA*, mediante los discos *Escherichia coli* O157 y *Salmonella* spp. RT-PCR GeneDisc® (Pall Corporation, Nueva York, Estados Unidos). La extracción de ADN se realizó con kit comercial incluido por el fabricante y las muestras se procesaron según sus indicaciones (Figura 2).

Figura 2. Procesamiento de muestras con PCR GeneDisc Pall.



4.1.4.1.2.1. STEC O157 y no-O157

Luego del resultado obtenido del primer disco de PCR, a partir del mismo extracto de ADN de todas las muestras positivas a los genes *stx*, *eae* y *rfb*_{O157}, se realizó un segundo análisis por PCR utilizando el disco Top7® (Pall Corporation). Con este disco se determinó la variante de los genes *eae* y los serogrupos de STEC más comúnmente asociados a enfermedad humana, incluyendo *E. coli* O157, O26, O45, O103, O111, O121 y O145. A aquellas muestras que dieron positivas al gen *eae* y a O157, se les realizó separación inmunomagnética (SIM) a partir del caldo TSBm (Acumedia) (ISO 16654, 2001). El inmunocentrado de cada muestra positiva fue sembrado en dos placas: una de agar MacConkey sorbitol (SMAC) (Biokar) y una de Fluorocult® *E. coli* O157:H7 agar (Merck KGaA) (Figura 3).

Figura 3. Diagrama del procedimiento de SIM



1) Colocación de 1 ml del enriquecido en tubo Eppendorf; 2) y 3) Incorporación de las perlas inmunomagnéticas; 4) Incubación en agitador rotatorio durante 30 min; 5) Colocación de los tubos en la gradilla imantada y agitación por inversión durante 10 min; 6) Formación del botón de perlas y eliminación del líquido; 7) Extracción del imán de la gradilla; 8) Agregado del buffer de lavado y repetición de los pasos 5-8 tres veces; 9) Siembra en agar de las perlas resuspendidas.

De las muestras que dieron positivas a los genes *stx* y *eae* solamente, se extrajo 1 ml del caldo TSBm (Acumedia), en un tubo Eppendorf que se centrifugó 5 min a 10000 rpm, se eliminó el sobrenadante y el pellet bacteriano fue sembrado por agotamiento en 3 placas de agar MacConkey (MAC) (Biokar).

Tanto las placas provenientes de la SIM, como las placas de agar MAC (Biokar), se incubaron por 24 h a 37 °C. A partir de las dos placas provenientes de la SIM, se picaron 20 colonias en placas grilladas de SMAC (Biokar), incluyendo 10 colonias típicas del SMAC (Biokar) y 10 colonias típicas del Fluorocult® *E. coli* O157:H7 agar (Merck KGaA) (Figura 4). A partir de cada triplete de placas de MAC (Biokar), se picaron 50 colonias en una placa grillada de MAC (Biokar) (Figura 5). Todas las placas fueron incubadas durante 24 h a 37 °C. Luego de la incubación se formaron 5 pooles de 10 colonias cada uno por cada placa, a los que se les realizó la extracción de ADN por ebullición en buffer Tritón (Leotta y col., 2005). Los detalles de la extracción se presentan en la sección 3 del Anexo. Los extractos de ADN de los pooles fueron analizados por PCR múltiple (Leotta y col., 2005) para la detección de los genes *stx*₁, *stx*₂ y *rfb*_{O157}. Para la identificación de la colonia *stx*-positiva, se analizó cada colonia del pool positivo nuevamente por PCR múltiple, pero de modo individual. Las colonias positivas, se estriaron en AN (Britania) para corroborar que se encontraban puras, y se conservaron a -70°C en caldo cerebro corazón (CCC) (Britania) con 30% de glicerina, para su posterior caracterización.

Figura 4. Flujograma de trabajo para el aislamiento STEC O157 luego de la SIM.

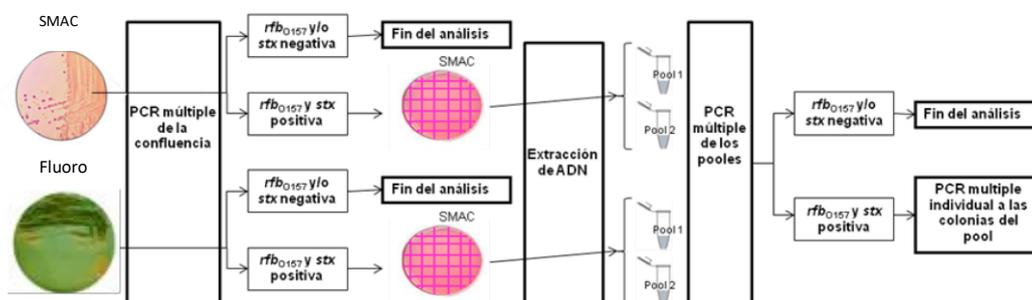
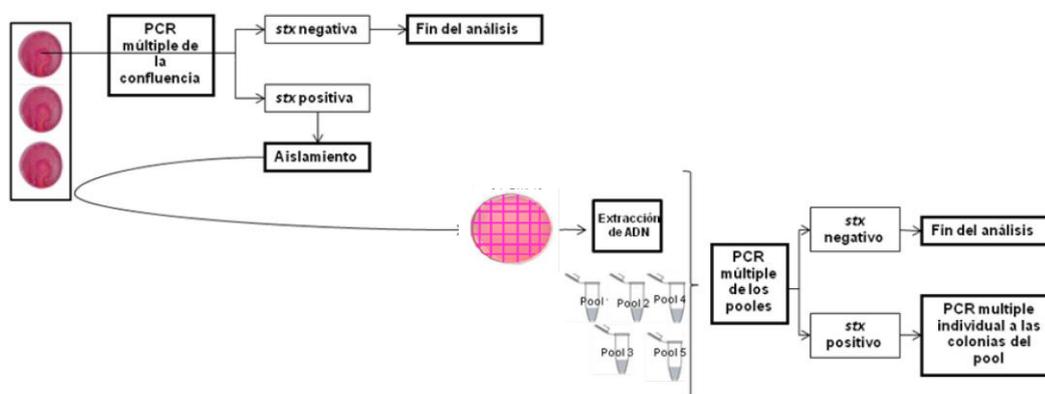


Figura 5. Flujograma de trabajo para el aislamiento STEC no-O157.



4.1.4.1.2.2. *Salmonella* spp.

Las muestras que dieron positivas al gen *invA* correspondiente a *Salmonella* spp., se procesaron a partir del caldo de AP (Britania), respetando la norma ISO 6579-1 (ISO 6579-1, 2017). A partir del caldo de pre-enriquecimiento de cada muestra positiva, se extrajo 1 ml que se colocó en un tubo con 10 ml de caldo Mueller-Kauffmann tetrionato novobiocina (MKTTn) (Biokar) para ser incubado por 24 h a 37 °C. En paralelo, se extrajo del mismo pre-enriquecimiento, 0,1 ml que se colocó en un tubo con 10 ml de caldo Rappaport Vassiliadis (RVS) (Oxoid, Hampshire, Reino Unido) y se incubó por 24 h a 41,5 °C. Luego de la incubación, se sembró dos placas por cada tubo, una de agar xilosa lisina tergitol

(XLT4) (Merck KGaA) y otra de agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) (Merck KGaA). Las placas se incubaron por 24 h a 37 °C, para luego seleccionar 5 colonias típicas de cada una ellas, las cuales fueron estriadas en AN (Britania) e incubadas durante 24 h a 37 °C. Todos los aislamientos fueron caracterizados por PCR *invA* y pruebas bioquímicas (ISO 6579-1, 2017).

4.1.4.2. Carne de cabeza

En las últimas 3 visitas a cada planta, se recolectó en 1 kg de carne de cabeza en la sala de menudencias.

4.1.4.2.1. Toma de muestras

Se recolectó 1 kg de carne de cabeza en bolsas estériles con cierre hermético (Whirl-Pak). Se colocó en una conservadora previamente acondicionada con refrigerantes. Antes de las dos horas, se transportó al laboratorio para ser procesada. La cantidad total de muestras correspondientes a cada etapa se presentan en la Tabla 2.

4.1.4.2.2. Procesamiento

Dentro de la bolsa que contenía la carne de cabeza, se colocaron 500 ml de AP (Britania) doble concentración. Se cerró nuevamente la bolsa y se homogeneizó con las manos durante 5 min. Luego de ese tiempo, se extrajo la totalidad del caldo contenido en la bolsa. Una mitad (250 ml), se colocó en una bolsa de muestreo (Whirl-Pak) y se incubó por 24 h a 37 °C. La otra mitad (250 ml), se colocó en otra bolsa de muestreo (Whirl-Pak) a la cual se le incorporó 250 ml de TSBm (Acumedia) doble concentración, y se incubó por 24 h a 44,5 °C.

Pasado ese tiempo, se colectaron en tubos Falcon 10 ml de cada bolsa, y se procesaron por RT-PCR GeneDisc (Pall Corporation), al igual que el procedimiento descrito para las esponjas provenientes de medias reses, para la detección de STEC O157, no-O157 y *Salmonella* spp.. Con aquellas muestras que dieron positivas, se llevó a cabo su aislamiento del modo previamente descrito (Sección 3.1.4.1.2.).

4.1.4.3. Ambiente

Se seleccionaron 6 muestras ambientales diferentes, estrechamente ligadas con el proceso de producción como ser: manos de los operarios, cuchillos utilizados en la planta, botas de los operarios, superficies de los palcos de trabajo dentro de la planta, paredes de las cámaras de oreo y frigoríficas y superficies de contacto de los baños de los operarios (inodoros, cadenas de descargas, puertas, canillas, picaportes, etc.).

4.1.4.3.1. Toma de muestras

Las muestras correspondientes a los operarios (manos, botas y cuchillos), se tomaron mediante esponjas estériles (Whirl-Pak) embebidas con 5 ml de AP (Britania), en pooles de 5 muestras cada uno. Se seleccionaron al azar 5 operarios por visita, variando los operarios ente cada visita. Se utilizó una esponja para cada tipo de muestra. En las manos se esponjó dorso, palma, espacios interdigitales y uñas. Las botas fueron esponjadas en su totalidad (caña, bota y suela). Los cuchillos fueron esponjados comenzando por su hoja, luego el mango y haciendo especial hincapié en la parte de unión entre la hoja y el mango, lugar donde se aloja suciedad con mayor facilidad.

Los palcos se muestrearon, esponjando las superficies que toman contacto con las medias reses durante el proceso de faena, con un mayor detenimiento en los palcos correspondientes al área de eviscerado y acerrado de las mismas.

Las paredes de las cámaras, se esponjaron intentando abarcar la mayor área posible, incorporándose paredes, columnas, puertas y picaportes, con mayor detenimiento en aquellas áreas que tenían contacto directo con las medias reses.

Las muestras de baños, se tomaron esponjando todas aquellas superficies, con las cuales tenían contacto los operarios, antes de retirarse de los mismos, previo ingreso a la planta.

Luego de la toma de muestra, se verificó su identificación correspondiente y las bolsas correctamente cerradas, se colocaron en una conservadora previamente acondicionada con refrigerantes. Antes de las dos horas de obtenida la primera muestra se transportaron al laboratorio para ser procesadas. La cantidad total de muestras correspondientes a cada etapa se presentan en la Tabla 2.

4.1.4.3.2. Procesamiento

Las esponjas provenientes del esponjado de superficies, fueron procesadas del mismo modo que aquellas provenientes de medias reses, para la detección de STEC O157, no-O157 y *Salmonella* spp. (Sección 3.1.4.1.2.). A partir de las muestras que dieron positivas, se llevó a cabo su aislamiento del modo previamente descrito (Sección 3.1.4.1.2.).

4.1.4.4. Agua de lavado y enfriado de vísceras

Se seleccionaron 5 piletas de enfriado de vísceras, las cuales fueron muestreadas en las 3 últimas visitas a cada planta. Se tomaron muestras de las piletas correspondientes a corazón, molleja, hígado, riñón y chinchulines.

4.1.4.4.1. Toma de muestras

Para la toma de muestra del agua de las piletas, se utilizaron frascos de vidrio estériles, envueltos en su totalidad para prevenir cualquier riesgo de contaminación. En el área de vísceras, se retiraron cuidadosamente los envoltorios de papel, y se sumergieron en las piletas de enfriado con las vísceras en su interior en las oportunidades que se visitaba la planta en el momento operacional. En las visitas pre-operacionales, se colectó el agua de las piletas, que ya se encontraba preparada para alojar a las mismas. De cada una de las piletas se obtuvieron 500 ml de agua. Se verificó la identificación correspondiente y se colocaron en una conservadora previamente acondicionada con refrigerantes. Antes de las dos horas de obtenida la primera muestra se transportaron al laboratorio para ser procesadas. La cantidad total de muestras correspondientes a cada etapa se presentan en la Tabla 2.

4.1.4.4.2. Procesamiento

El volumen de cada frasco se dividió en dos, una mitad (250 ml) se colocó en una bolsa de muestreo (Whirl-Pak), se le agregó 250 ml de AP (Britania) doble concentración y se incubó por 24 h a 37 °C. La otra mitad (250 ml), se colocó en otra bolsa de muestreo (Whirl-Pak) y se le incorporaron 250 ml de TSBm

(Acumedia) doble concentración. Luego se incubaron por 24 h a 44,5°C. Pasado ese tiempo, se colectaron 10 ml de cada bolsa, y se procesó por RT-PCR, al igual que el procedimiento descrito para la detección y aislamiento de STEC O157, no-O157 y *Salmonella* spp.. A partir de las muestras que dieron positivas, se llevó a cabo su aislamiento del modo previamente descrito (Sección 3.1.4.1.2.).

4.1.5. Encuesta operarios

En la última visita a cada planta, se realizó una encuesta individual (Anexo, sección 7), a los operarios de los diferentes sectores de la planta sobre conceptos básicos de BPM y BPH. A partir del análisis de las mismas, fue posible identificar los temas que debían ser reforzados en la etapa de capacitación.

4.2. Promover la implementación de acciones de mejora tendientes a mejorar la calidad del producto final

A partir de los resultados obtenidos en la etapa I, se propusieron acciones de mejoras para corregir los desvíos identificados y se realizaron capacitaciones a los operarios y el personal responsable de cada frigorífico.

4.2.1. Realización de capacitaciones individuales a los responsables de cada planta con base en los resultados obtenidos

Los contenidos abordados en las capacitaciones se basaron en temáticas como: 1) Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA); 2) Establecimiento y procesos; 3) Potabilización del agua; 4) Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Buenas Prácticas de Higiene (BPH) y Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES); 5) Control de residuos y plagas; y 6) Manipuladores de

alimentos y el Código Alimentario Argentino. Se expusieron los resultados totales de la etapa I.

Se hizo entrega de un informe con los resultados de la cuantificación del riesgo y de laboratorio obtenidos a partir de las muestras de medias reses, carne de cabeza, ambiente, agua de lavado y enfriado de vísceras y agua del establecimiento. El modelo de informe entregado a cada planta se presenta en el punto 8 del Anexo. Se entregó además al responsable del establecimiento una lista de proveedores para llevar a cabo el proceso de potabilización del agua, con diferentes opciones como equipos automatizados de cloro o agua electroactivada.

Finalmente se consensuaron medidas tendientes a mejorar y optimizar las buenas prácticas higiénico-sanitarias destinadas a asegurar la inocuidad de los productos y sub-productos comercializados, entre las propuestas por el grupo de trabajo, la autoridad sanitaria y los responsables.

4.2.2. Realización de capacitaciones grupales a los operarios de cada planta con base en los resultados obtenidos

Los contenidos abordados en las capacitaciones se basaron en las mismas temáticas que se trataron con los responsables, enfocadas a la rutina de trabajo diario. Se expusieron los resultados totales de la etapa I y se mostraron imágenes de cada establecimiento en particular, a modo de ejemplo de los desvíos identificados para poder corregirlos.

El equipo de capacitadores oficiales del Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires, dictó la capacitación para manipuladores de alimentos

en cada una de las localidades de cada planta, para de este modo, pudieran acceder todos los operarios a las libretas sanitarias, exigidas por el CAA.

4.3. Verificación de éxito de las acciones de mejoras implementadas

Para verificar el éxito de las mejoras propuestas en la etapa II, luego de un período de tiempo acordado, se visitaron nuevamente las plantas, en esta ocasión, una vez por semana durante cuatro semanas consecutivas. En cada visita se completaron las dos planillas para cuantificar riesgo (pre-operacional y operacional), se tomaron las mismas muestras que en la etapa I y se realizó la misma encuesta.

4.3.1. Cuantificación del riesgo de contaminación de la carne bovina durante el proceso de producción

La cuantificación del riesgo se realizó del mismo modo que se describió en la Sección 3.1.1., pero en estas visitas, se completaron ambas planillas en un mismo día.

El test de McNemar se utilizó para evaluar el impacto de las acciones de mejora comparando los resultados en la cuantificación del riesgo en las etapas I y III. Los análisis estadísticos se realizaron con IBM® SPSS® versión 24. La significancia se estableció en $p < 0,05$.

4.3.2. Determinación de la calidad microbiológica del agua utilizada en la planta de faena

La determinación de la calidad microbiológica del agua utilizada en la planta de faena, se realizó del mismo modo que se describió en la Sección 3.1.2.

El impacto de las acciones de mejoras, sobre la calidad del agua, fue evaluado mediante el test de χ^2 . Los análisis estadísticos se realizaron con IBM® SPSS® versión 24. La significancia se estableció en $p < 0,05$.

4.3.3. Determinación de la carga bacteriana de las medias reses mediante el recuento de microorganismos indicadores

La determinación de la carga bacteriana de las medias reses mediante el recuento de microorganismos indicadores, se realizó del mismo modo que se describió en la Sección 3.1.3.

El impacto de las acciones de mejoras, sobre la determinación de la carga bacteriana de las medias reses, fue evaluado mediante el test de Student. Los análisis estadísticos se realizaron con IBM® SPSS® versión 24. La significancia se estableció en $p < 0,05$.

4.3.4. Determinación de la presencia de STEC (O157:H7 y no-O157) y *Salmonella* spp. en medias reses, carne de cabeza, superficies ambientales y agua de lavado y enfriado de vísceras

La determinación de la presencia de STEC (O157:H7 y no-O157) y *Salmonella* spp. en medias reses, carne de cabeza, superficies ambientales y agua de lavado y enfriado de vísceras, se realizó del mismo modo que en la Sección 3.1.4., con la modificación que no se realizó la etapa de tamizaje por RT-PCR, descrita en la Sección 3.1.4.1.2. Se realizó directamente a todas las muestras, las marchas de aislamiento descritas en la Sección 3.1.4.1.2.1. y 3.1.4.1.2.2.

Además, la toma de muestra de la carne de cabeza y el agua de lavado y enfriado de vísceras, se realizó en las 4 visitas realizadas a cada planta.

El impacto de las acciones de mejoras, sobre la presencia de STEC (O157:H7 y no-O157) y *Salmonella* spp. en medias reses, carne de cabeza, superficies ambientales y agua de lavado y enfriado de vísceras, fue evaluado mediante el test de Chi². Los análisis estadísticos se realizaron con IBM® SPSS® versión 24. La significancia se estableció en $p < 0,05$.

43.3.5. Encuesta operarios

La encuesta a los operarios, se realizó del mismo modo descrito en la Sección 3.1.5.

4.4. Caracterización de los aislamientos de STEC y *Salmonella* spp. mediante técnicas fenotípicas y genotípicas

Todas las cepas de STEC y *Salmonella* spp., aisladas y confirmadas por PCR en la sección 3.1.4., fueron caracterizadas por pruebas fenotípicas y genotípicas.

4.4.1. Pruebas fenotípicas

4.4.1.1. *Escherichia coli* productor de toxina Shiga

La caracterización fenotípica se realizó por identificación bioquímica y serotipificación.

4.4.1.1.1. Pruebas bioquímicas

La identificación bioquímica de los aislamientos de STEC se realizó con las siguientes pruebas: producción de indol (medio IMS, Britania), rojo de metilo (caldo RM-VP, Britania), Voges-Proskauer (caldo RM-VP, Britania) y citrato

(agar citrato de Simmons, Britania). Las pruebas se realizaron de acuerdo a MacFaddin (MacFaddin, 2000).

4.4.1.1.2. Serotipificación

La tipificación de las cepas de *E. coli* se realizó mediante ensayos de aglutinación en microplaca, lámina y/o tubo utilizando antisueros específicos producidos en el Instituto Nacional de Producción de Biológicos (INPB) - ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán”, Argentina. Aquellos cultivos que no pudieron ser resueltos mediante la serotipificación, se sometieron a PCRs múltiples para la determinación del gen codificante del antígeno somático (O).

➤ Determinación del antígeno somático (O)

Ambas técnicas, partieron de un cultivo incubado durante 24 h a 37 °C en AN (Britania) en pico de flauta. Se levantó el crecimiento con 2 ml de solución fisiológica formolada (SFF) 0,5%.

A) Aglutinación en microplaca para el tamizaje del antígeno somático (O)

Se leyó la Abs a 600 nm y se agregó cantidad suficiente de SFF 0,5% hasta llegar a una lectura de absorbancia de 1,4 (equivalente a una concentración bacteriana de 2.109 bact/ml). La suspensión resultante se diluyó al medio.

En una placa de poliestireno de 96 hoyos con fondo en U, se colocaron 87,5 ml de violeta de genciana 0,005% p/v, 12,5 ml de cada uno de los sueros (diluidos en función de sus respectivos títulos de trabajo) y 50 ml de la suspensión antigénica. En un pocillo se colocó, en lugar de suero, SF 2% como control de autoaglutinación.

La placa se incubó a baño María durante 2 h a 50 °C y luego se conservó durante 18 h a 4 °C.

La lectura se realizó a simple vista, utilizando un soporte con espejo de aumento. Las reacciones negativas se identificaron por un botón bien definido en el fondo, mientras que las reacciones positivas se visualizaron como un manto.

B) Aglutinación en lámina para la confirmación del antígeno somático (O)

Sobre una lámina de vidrio se enfrentaron 20 µl de la suspensión bacteriana con 20 µl de SF 2% para evaluar posible autoaglutinación. Se mezclaron por rotación durante 1 min y se observó la presencia o ausencia de aglutinación bajo luz directa e intensa.

Ante un resultado negativo, se continuaron probando los sueros necesarios, utilizando el mismo procedimiento, y reemplazando la SF 2% por el antisuero a probar.

Se consideró una aglutinación positiva de 4+ o 3+ a una rápida y fuerte aglutinación con presencia de fondo límpido o turbio respectivamente.

➤ Determinación del antígeno flagelar (H)

Se partió de un cultivo sembrado en un tubo de ensayo conteniendo 6 ml de medio movilidad (AN 0,3%) y un tubo de Craigie. La siembra se realizó en el tubo interior, hasta la mitad del mismo. El cultivo debía avanzar hacia la superficie externa en 24 h de incubación a 37 °C, si esto ocurría luego de las 24 h, se sembraba nuevamente (“segundo pasaje”) y así sucesivamente hasta lograr que ocurriera en 24 h de incubación. Se tomó una ansada del crecimiento

bacteriano observado en la superficie y se sembró en 20 ml de TSB (Acumedia). El caldo se incubó por 24 h a 37 °C, luego se le añadieron 20 ml de SFF 1% y se dejó reposar por al menos una hora.

A) Aglutinación en microplaca para el tamizaje del antígeno flagelar (H)

En una placa de poliestireno de 96 hoyos con fondo en U, se colocaron 20 ml de cada uno de los sueros (diluidos en función de sus respectivos títulos de trabajo) y 100 ml de la suspensión antigénica. En un pocillo se colocó SF 2%, en vez de suero, como control de autoaglutinación.

La placa se incubó a baño María durante 2 h a 50 °C, realizando lecturas a la hora y a las dos horas.

La lectura se realizó a simple vista, utilizando un soporte con espejo de aumento. Las reacciones negativas fueron identificadas por un botón bien definido en el fondo, mientras que las reacciones positivas se visualizaron como un manto.

B) Aglutinación en tubo para la confirmación del antígeno flagelar (H)

En un tubo de ensayo se enfrentó 1 ml de la suspensión bacteriana con 20 µl de SF 2% para evaluar posible autoaglutinación. Se incubó a baño María durante 2 h a 50 °C, realizando lecturas a la hora y a las dos horas y cuidando de no agitar los tubos (y disgregar el posible flóculo). Ante un resultado negativo, se continuó probando los sueros necesarios, utilizando el mismo procedimiento, y reemplazando la SF 2% por el antisuero a probar.

La lectura se realizó a simple vista, utilizando una fuente de luz indirecta. Se consideró una aglutinación positiva de 4+ o 3+ a la presencia de un flóculo con fondo límpido o turbio respectivamente.

➤ **PCR para la detección del gen codificante del antígeno somático (O)**

La detección del gen codificante del antígeno somático O, se realizó utilizando la metodología descrita por Iguchi y col. (2015).

4.4.1.2. *Salmonella* spp.

La caracterización fenotípica se realizó por identificación bioquímica y serotipificación.

4.4.1.2.1. Pruebas bioquímicas

A partir de las colonias puras, provenientes de las placas de AN (Britania), se efectuaron las siguientes reacciones: lactosa, sacarosa, glucosa y ácido sulfhídrico (agar TSI, Britania); glucosa y lisina (LIA, Britania); urea (Christensen Medio, Britania); Voges Proskauer (caldo RM-VP, Britania); indol (medio IMS, Britania) y citrato (agar citrato de Simmons, Britania).

4.4.1.2.2. Serotipificación

Todas las cepas fueron evaluadas con el método tradicional de serotipificación acorde al esquema de Kauffmann-White utilizando antisueros polivalentes, monovalentes y factores somáticos y flagelares producidos en el Servicio de Antígenos y Antisueros, INPB, ANLIS, a partir de un cultivo en AN

(Britania) de 24 h de incubación, para determinar y confirmar las serovariedades respectivamente.

➤ **Determinación del antígeno somático (O)**

Previamente a la reacción antígeno-anticuerpo para la caracterización del serogrupo O se verificó si la cepa se encontraba en forma lisa (S) o rugosa (R), para lo cual se mezcló una ansada de la colonia con solución salina al 2% en una lámina de vidrio (portaobjetos), rotando suavemente durante 1 min. Luego se observó cuidadosamente la presencia o ausencia de aglutinación, ya que la presencia de grumos confirma que la cepa se encuentra en su forma rugosa impidiendo realizar la serotipificación somática O. A las cepas que se encontraban en forma R se les realizó cultivos sucesivos en medios enriquecidos como agar sangre 5% para revertir la forma R a la forma S.

Una vez confirmada la lisura de la cepa, se preparó una suspensión con una turbidez similar a 20 veces el tubo 3 de la escala de McFarland en SFF al 0,5%. En una placa de vidrio se enfrentaron 20 μ l de dicha suspensión con 20 μ l del antisuero correspondiente, y luego la placa se rotó durante 1 min para favorecer la reacción antígeno-anticuerpo. La interpretación de los resultados se realizó observando mediante una fuente de luz indirecta, la presencia o ausencia de aglutinación.

➤ **Determinación del antígeno flagelar (H)**

En la caracterización antigénica flagelar, mediante la técnica de aglutinación en tubo. Las cepas fueron sembradas a partir del cultivo en AN (Britania) en 6 ml del medio Movilidad (Tubo de Craigie). La siembra fue

realizada en el tubo interior, hasta la mitad del mismo. Al cabo de 24 h de incubación a 37 °C, el inóculo progresó hasta el fondo a lo largo del tubo interior y luego salió hacia la superficie. Se tomó una ansada del crecimiento bacteriano observado en la superficie y se sembró en 5 ml de TSB (Acumedia) incubado por 24 h a 37 °C. Luego se le añadió 5 ml de SFF 1% y fue mezclado usando un vortex para obtener una suspensión bacteriana formolada homogénea. En tubos de ensayo de 13x100mm se colocó 1 ml de la suspensión bacteriana formolada y se agregaron 20 µl del respectivo antisuero flagelar (H). Se incubó en baño de agua durante 1 h a 50 °C y cuidando de no agitar los tubos después de la incubación a fin de no disgregar los flóculos, se observó la presencia o ausencia de floculación mediante una fuente de luz indirecta. En aquellas cepas a las que inicialmente se les determinó una sola fase flagelar y que no expresan los antígenos flagelares de la otra fase, se realizó una inversión de fase.

➤ **Inversión de fase**

Para poner en evidencia la fase ausente es necesario inmovilizar la fase detectada con un antisuero homólogo a la misma. Para esto se utilizó un tubo con 6 ml de medio para Craigie previamente fundido a 40 °C, al cual se le adicionó 25 µl del antisuero flagelar correspondiente a la fase expresada, se homogenizó y se dejó solidificar. Luego se inoculó la cepa de *Salmonella* mediante un ansa de punción, dentro del tubo interior y se incubó a 37°C, durante 24 hs o hasta que se observara crecimiento en la parte externa del medio. Se transfirió el crecimiento de la parte externa del medio a TSB (Acumedia) para la identificación de las fases flagelares mediante la técnica de aglutinación en tubo mencionada anteriormente. Las células que poseían la fase ya identificada quedaban inmovilizadas por el

suero flagelar empleado, mientras las que tenían la fase no expresada conservaban su movilidad.

4.4.2. Pruebas genotípicas

4.4.2.1. *Escherichia coli* productor de toxina Shiga

Se completó la caracterización genotípica con la detección de otros factores de virulencia, además los genes *stx*₁, *stx*₂ y *rfb*_{O157} previamente identificados por PCR. El gen *eae* que codifica para la Intimina, fue investigado como describe Karch y col. (1993). Para la detección del gen *ehxA*, se siguieron las condiciones utilizadas por Schmidt y col. (1995). La detección del antígeno flagelar se realizó para amplificar el gen *fliC*_{H7} (Flagelina H7) según las condiciones descritas por Gannon y col. (1997). Además, se detectó el gen *saa* (Adhesina Aglutinante de STEC) utilizando las condiciones descritas por Toma y col. (2004). Las secuencias y concentraciones de los cebadores, programa de amplificación y tamaño de los amplicones de cada PCR se detallan en la Sección 4, las cepas control utilizadas se presentan en la Sección 5 y las condiciones de la electroforesis y la adquisición de imágenes en la Sección 6 del Anexo.

Se determinaron las variantes de toxina Shiga. Las variantes de *stx*₁ se determinaron de acuerdo con Scheutz y col. (2012). Las variantes de *stx*₂ se determinaron por PCR-RFLP (“restriction fragment length polymorphism”) de acuerdo con Tyler y col. (1991). Las secuencias y concentraciones de los cebadores, programa de amplificación y tamaño de los amplicones de cada PCR se detallan en la Sección 4, las cepas control utilizadas se presentan en la Sección

5 y las condiciones de la electroforesis y la adquisición de imágenes en la Sección 6 del Anexo.

4.4.2.2. *Salmonella* spp.

A las cepas de *Salmonella* spp., se realizó PCR convencional en busca del gen asociado al aparato de secreción de proteínas de invasión, *invA* (Malorny y col., 2003). Las secuencias y concentraciones de los cebadores, programa de amplificación y tamaño de los amplicones de cada PCR se detallan en la Sección 4, las cepas control utilizadas se presentan en la Sección 5 y las condiciones de la electroforesis y la adquisición de imágenes en la Sección 6 del Anexo.

4.5. Determinación de la relación clonal de los aislamientos mediante técnicas moleculares

Para determinar la relación clonal de los aislamientos de STEC y *Salmonella enterica* se analizaron fragmentos de macrorrestricción de cada cepa, separados por electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) siguiendo el protocolo estandarizado por la red PulseNet (PulseNet PFGE, 2017).

4.5.1. *Escherichia coli* productor de toxina Shiga

Los fragmentos fueron obtenidos por la digestión del ADN total por la enzima de restricción *Xba*I (Fermentas, Vilna, Lituania). Cuando las cepas resultaron 100% relacionadas al corte con *Xba*I (Fermentas), una segunda enzima de restricción, *Bln*I (Fermentas), fue utilizada bajo las mismas condiciones que *Xba*I (Fermentas).

Todas las cepas se sembraron inicialmente en AN (Britania) y se incubaron durante 18 h a 37 °C. Las bacterias de la zona de confluencia se recogieron con un hisopo estéril y se re-suspendieron en 2 ml de buffer de suspensión celular (BSC, Tris 100 mM: EDTA 100 mM, pH 8) hasta alcanzar una turbidez de 0,35-0,4 determinado en MicroScan (Dade Berhing, Atlanta, Estados Unidos). Los tacos de agarosa fueron preparados a partir de 400 µl de suspensión celular estandarizada con 400 µl de agarosa SeaKen Gold 1% fundida (SeaKen, FMC Bioproducts, Maine, Estados Unidos) y 20 µl de solución de Proteinasa K (20 mg/ml) (PB-L, Buenos Aires, Argentina). Las células dentro de los tacos de agarosa se lisaron con un buffer de lisis celular [Tris 50 mM: EDTA 50 mM, pH 8; + Sarcosina (Sigma, San Luis, Estados Unidos) 1% y Proteinasa K (0,1 mg/ml) (PB-L)], incubados a 54 °C, durante 1.5-2 h con agitación (120 rpm) y luego los tacos se lavaron dos veces con agua de calidad molecular a 50 °C, con agitación durante 10-15 min y 4 veces con buffer TE 1X estéril (Tris 10 mM: EDTA 1 mM, pH 8). Los tacos de agarosa se almacenaron en buffer TE 1X a 4 °C hasta realizar la restricción enzimática.

La digestión del ADN en los “plugs” se realizó con la endonucleasa de restricción *Xba*I (30 U) (Fermentas) en 200 µl del buffer de restricción 1X (provisto con la enzima), a 37 °C, durante 1,5 a 2 h. La enzima *Bln*I (Fermentas) se utilizó en una segunda etapa, procediendo de manera análoga, luego de obtenerse los patrones de PFGE-*Xba*I, a fin de confirmar la identidad de las cepas que resultaron idénticas con la primera enzima.

Los tacos se colocaron en un gel de agarosa SeaKem Gold (SeaKem) 1% en buffer TBE 0,5X [Tris 5,4 g; ácido bórico (Sigma) 2,75 g; 2,0 ml EDTA 0,5

M] en un molde (BioRad, California, Estados Unidos) de 150 ml de 15 calles. La electroforesis se realizó en el equipo CHEF DR III (BioRad) utilizando las siguientes condiciones: pulso inicial: 2,2 s; pulso final: 54,2 s; voltaje: 6 V/cm; ángulo: 120°; tiempo de corrida: 19 h; con temperatura de buffer de corrida (TBE 0,5X) de 14 °C. Se colocó el ADN de una cepa de *Salmonella* Braenderup H9812, digerido por las mismas enzimas, en dos calles externas y una central en cada gel, para permitir la normalización de las bandas entre los geles. Los geles fueron teñidos con bromuro de etidio 0,1 µg/ml, durante 20 a 30 min a temperatura ambiente en un agitador orbital (60 rpm), y luego se destiñó mediante 3 lavados con 400 ml de agua tridestilada en las mismas condiciones. Para la documentación de los resultados los geles fueron fotografiados en un transiluminador de UV (Slider Imager, Maestrogen, Nevada, Estados Unidos). Las imágenes fueron registradas utilizando una cámara fotográfica (Canon PowerShot G16, Tokio, Japón) y almacenadas en formato TIFF. La presencia de bandas se determinó visualmente y los patrones de PFGE obtenidos fueron analizados con el programa BioNumerics versión 4.0 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Bélgica), utilizando el coeficiente de Dice y mediante UPGMA (*Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages*) para generar un dendograma con 1,5% de valor de tolerancia. Para la separación por PFGE de las cepas de STEC no-O157 se utilizó el mismo protocolo descrito para las cepas de STEC O157, con excepción del pulso inicial y final de corrida que fueron 6,7 y 35,3 s, respectivamente (PulseNet PFGE, 2017).

4.5.2. *Salmonella enterica*

En el caso de las cepas de *Salmonella enterica*, solo se realizó el corte con la enzima *XbaI* (Fermentas), con el mismo protocolo especificado para las cepas de STEC O157, con diferencias en el pulso final de corrida: 63,8 s y el tiempo de corrida: 17-20 h (PulseNet PFGE, 2017).

5. RESULTADOS

5.1. Descripción del estatus sanitario y la calidad microbiológica de la carne bovina en tres plantas de faena de tránsito provincial.

Los tres frigoríficos que participaron del estudio, se denominaron según orden de muestreo como A, B y C.

Cada frigorífico se visitó en 10 oportunidades. El frigorífico A entre los meses de febrero y mayo de 2016; el frigorífico B entre los meses de septiembre y noviembre de 2016; y el frigorífico C entre los meses de mayo y agosto de 2017.

5.1.1. Cuantificación del riesgo de contaminación de la carne bovina durante el proceso de producción

El riesgo en los tres frigoríficos fue cuantificado entre 13 y 40 (riesgo alto), en las 5 visitas pre-operacionales, y las 5 operacionales.

A partir de las planillas pre-operacionales y operacionales se identificaron falencias comunes en los tres establecimientos, tales como la falta de un complejo sanitario en corrales; falta de POES en cada sector y en cada equipo o utensilio; falta de mantenimiento general en las áreas de vísceras y cabezas; falta de control y mantenimiento de los exteriores de la plata; falta de control de plagas; dosificación incorrecta de cloro en agua de corrales y planta; falta de instalación y/o uso de filtros sanitarios y esterilizadores; presencia de contaminación en el proceso de cuereado; falta de implementación del uso de ligaduras; inconvenientes en el proceso de extracción de cabeza; falta de mantenimiento en cámaras.

En el frigorífico A, en particular, se detectó la falta de cerramientos en puertas y ventanas; falta de mantenimiento en picos de ducha en manga de los animales; uso de tanque australiano abierto, para la colección de agua; deficiencias en la vestimenta de los operarios; uso de maza para la insensibilización de los animales; variaciones en la extracción correcta de panzas, en función de la variación de operarios; contaminación cruzada en cámaras por almacenamiento de medias y cuarto en conjunto.

En el frigorífico B, en particular, se identificó la tenencia de POES escritos, pero falta de implementación en cada sector y en cada equipo o utensilio; inconvenientes en el uso del martillo neumático de noqueo; variaciones en la extracción correcta de panzas, en función de la variación de operarios.

En el frigorífico C, en particular, se identificaron inconveniente con el diseño de la planta, habiendo paso continuo entre áreas limpias y sucias; imposibilidad de llegada de los productos de decomiso al digestor; presencia de roedores en los exteriores de la planta.

Los resultados de cada bloque en cada visita, por frigorífico, se presentan en la Sección 9 del Anexo.

5.1.2. Determinación de la calidad microbiológica del agua utilizada en la planta de faena

Sobre un total de 145 muestras de agua analizadas de los tres frigoríficos, resultaron 59 (40,7%) potables y 86 (59,3%) no potables.

Los resultados según frigorífico y tipo de muestra, se presentan en la Sección 10 del Anexo.

A- Frigorífico A

En total de las 10 visitas, se colectaron 45 muestras, de las cuales 11 (24,4%) resultaron potables y 34 (75,6%) no potables. Las mediciones de cloro realizadas, se encontraron entre 0-1 ppm.

De las muestras no potables, 9 (26,4%) dieron recuentos de bacterias mesófilas elevados y 28 (82,3%) correspondieron a detecciones de coliformes mayores a 3 NMP/100 ml. Se aisló *Escherichia coli* en 6 (17,6%) de las muestras y *Pseudomonas aeruginosa* en 7 (20,5%).

Los resultados según tipo de muestra, se presentan en la Sección 10 del Anexo.

B- Frigorífico B

En total de las 10 visitas, se colectaron 50 muestras, de las cuales 29 (58,0%) resultaron potables y 21 (42,0%) no potables. Las mediciones de cloro realizadas, se encontraron entre 0-2 ppm.

De las muestras no potables, 20 (92,2%) correspondieron a detecciones de coliformes mayores a 3 NMP/100 ml. Se aisló *Escherichia coli* en 6 (28,5%) de las muestras. No se aisló *Pseudomonas aeruginosa* en ninguna de las muestras y los recuentos de bacterias mesófilas dieron todos dentro de los límites aceptables.

Los resultados según tipo de muestra, se presentan en la Sección 10 del Anexo.

C-Frigorífico C

En total de las 10 visitas, se colectaron 50 muestras, de las cuales 19 (38,0%) resultaron potables y 31 (62,0%) no potables. Las mediciones de cloro realizadas, se encontraron entre 0-2 ppm.

De las muestras no potables, 9 (29,0%) dieron recuentos de bacterias mesófilas elevados y 29 (93,5%) correspondieron a detecciones de coliformes mayores a 3 NMP/100 ml. Se aisló *Escherichia coli* en 15 (48,3%) de las muestras y *Pseudomonas aeruginosa* en 6 (19,3%).

Los resultados según tipo de muestra, se presentan en la Sección 10 del Anexo.

5.1.3. Determinación de la carga bacteriana de las medias reses mediante el recuento de microorganismos indicadores

A partir del muestreo de los 400 cm² de las 180 medias reses, se obtuvieron los resultados que se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Recuento de microorganismos indicadores en medias reses en etapa I y III (log UFC/cm²)

Frigorífico	Mesófilos			Coliformes			<i>E. coli</i>		
	I	III	<i>p</i>	I	III	<i>p</i>	I	III	<i>p</i>
A	3,6	3,81	0,048	1,67	1,83	0,348	0,79	0,49	0,277
B	3,48	2,94	0,001	0,97	0,69	0,283	0,27	0,33	0,673
C	3,83	2,44	0,001	1,47	0,57	0,001	0,57	0,39	0,012

Las temperaturas registradas en las visitas pre-operacionales dentro de las cámaras frigoríficas, en los tres frigoríficos variaron en las medias reses entre los 0 y 7°C, mientras que las temperaturas ambientales lo hicieron entre 0,5 y 6°C.

Las temperaturas registradas en las visitas operacionales en los espacios destinados al uso como cámara de oreo, en los tres frigoríficos variaron en las medias reses entre los 3 y 23°C, mientras que las temperaturas ambientales lo hicieron entre 2,5 y 18°C.

5.1.4. Determinación de la presencia de STEC (O157:H7 y no-O157) y *Salmonella* spp. en medias reses, carne de cabeza, superficies ambientales y agua de lavado y enfriado de vísceras

De las 180 muestras de medias reses, 38 (21,1%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 175 (97,2%) fueron detectadas como STEC no-O157; 15 (8,3%) fueron detectadas como *Salmonella enterica*. Cabe destacar, que también se aislaron 8 (4,4%) *E. coli* O157 no toxigénicas.

De las 9 muestras de carne de cabeza, 1 (11,1%) fue detectada como STEC O157:H7; 9 (100,0%) fueron detectadas como STEC no-O157; 1 (11,1%) fue detectada como *Salmonella enterica*. Se aisló además 1 (11,1%) *E. coli* O157 no toxigénica.

De las 180 muestras ambientales, 37 (20,5%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 137 (76,1%) fueron detectadas como STEC no-O157; 18 (10,0%) fueron detectadas como *Salmonella enterica*. Cabe destacar, que también se aislaron 21 (11,6%) *E. coli* O157 no toxigénicas.

De las 45 muestras de agua de lavado y enfriado de vísceras, 8 (4,4%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 40 (22,2%) fueron detectadas como STEC no-O157; 6 (3,3%) fueron detectadas como *Salmonella enterica*. Se aislaron además 2 (4,4%) *E. coli* O157 no toxigénica.

Los resultados de aislamiento de los tres frigoríficos se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Aislamientos de STEC (O157:H7 y no-O157) y *Salmonella enterica* de las muestras de medias reses, carne de cabeza, ambiente y agua de lavado y enfriado de vísceras en la etapa I y III [N/N total (%)]

A- Frigorífico A

Sobre un total de 60 muestras de medias reses, 4 (6,6%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 59 (98,3%) fueron detectadas como STEC no-O157; 6 (10,0%) fueron detectadas como *Salmonella enterica*.

Sobre un total de 3 muestras de carne de cabeza, 3 (100,0%) fueron detectadas como STEC no-O157 y 1 (33,3%) detectada como *Salmonella enterica*.

Sobre un total de 60 muestras ambientales, 6 (10,0%) fueron detectadas como STEC O157:H7. Como STEC no-O157, 46 (76,6%) fueron detectadas y 7 (11,6%) aisladas, las cuales correspondieron a manos (N=2), cuchillos (N=2), botas (N=2) y palcos (N=1). Como *Salmonella enterica*, 6 (10,0%) fueron detectadas y 3 (5,0%) aisladas, manos (N=1) y botas (N=2).

Sobre un total de 15 muestras de agua de lavado y enfriado de vísceras, 1 (6,6%) fue detectada como STEC O157:H7; 13 (21,6%) como STEC no-O157; 1 (6,6%) fue detectada y aislada como *Salmonella enterica*, de la muestra proveniente del piletón de chinchulines.

Los resultados de aislamiento se presentan en la Tabla 4.

B- Frigorífico B

Sobre un total de 60 muestras de medias reses, 18 (30,0%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 56 (93,3%) fueron detectadas como STEC no-O157; 4 (6,6%) fueron detectadas como *Salmonella enterica*.

Sobre un total de 3 muestras de carne de cabeza, las 3 (100,0%) fueron detectadas como STEC no-O157.

Sobre un total de 60 muestras ambientales, 18 (30,0%) fueron detectadas y 1 (1,6%) aislada como STEC O157:H7, de la muestra de manos. Como STEC no-O157, 49 (81,6%) fueron detectadas. Como *Salmonella enterica*, 8 (13,3%) fueron detectadas y 7 (11,6%) aisladas, manos (N=5), cuchillos (N=1) y botas (N=1).

Sobre un total de 15 muestras de agua de lavado y enfriado de vísceras, 3 (20,0%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 15 (100,0%) fueron detectadas y 1 (6,6%) aislada como STEC no-O157, proveniente del piletón hígado; 2 (13,3%) fueron detectada y aislada como *Salmonella enterica*, de los piletones de molleja (N=1) y de hígado (N=1).

Los resultados de aislamiento se presentan en la Tabla 4.

C- Frigorífico C

Sobre un total de 60 muestras de medias reses, 16 (26,6%) fueron como STEC O157:H7; 60 (100,0%) fueron detectadas como STEC no-O157; 5 (8,3%) fueron detectadas como *Salmonella enterica*.

Sobre un total de 3 muestras de carne de cabeza, 1 (33,3%) fue detectada como STEC O157:H7; las 3 (100,0%) fueron detectadas como STEC no-O157.

Sobre un total de 60 muestras ambientales, 13 (21,6%) fueron detectadas y 1 (1,6%) aislada como STEC O157:H7, de una muestra de cuchillos. Como STEC no-O157, 42 (70,0%) fueron detectadas y 4 (6,6%) aisladas, manos (N=1), botas

(N=1), palcos (N=1) y baños (N=1). Como *Salmonella enterica*, 4 (6,6%) fueron detectadas y 1 (1,6%) aislada de botas.

Sobre un total de 15 muestras de agua de lavado y enfriado de vísceras, 4 (26,6%) fueron detectadas y aisladas como STEC O157:H7, piletones de corazón (N=1), riñón (N=1), hígado (N=1) y chinchulín (N=1); como STEC no-O157, 12 (80,0%) fueron detectadas y 2 (13,3%) aisladas, provenientes de los piletones de corazón y de riñón. Como *Salmonella enterica*, 3 (20,0%) fueron detectadas y 1 (6,6%) aislada proveniente del piletón de riñón.

Los resultados de aislamiento se presentan en la Tabla 4.

5.1.7. Encuesta operarios

A partir de la encuesta realizada a 87 operarios, fue posible identificar la falta de capacitación de los operarios en temas relacionados a manipuladores de alimentos, sectorización del frigorífico, implementación de POES y falta de tenencia de libreta sanitaria.

Los resultados detallados de las encuestas se presentan en la Sección 11 del Anexo.

5.2. Promover la implementación de acciones de mejora tendientes a mejorar la calidad del producto final

Entre septiembre de 2016 y noviembre de 2017, se realizó la devolución de los resultados a cada planta, las actividades de capacitación y el planeamiento del cronograma de implementación de las acciones de mejoras consensuadas.

5.2.1. Realización de capacitaciones individuales a los responsables de cada planta con base en los resultados obtenidos

Algunos de los contenidos expuestos en las capacitaciones, fueron semejantes entre los tres frigoríficos. Otras propuestas, fueron puntuales para solucionar una problemática de ese establecimiento en particular.

Potabilización. Se explicó la importancia del uso de agua potable en la producción de alimentos. Métodos de potabilización. Se hizo entrega de una lista de proveedores de equipos e insumos, para potabilizar y medir cloro. Se indicó la medición y registro diario de cloro, control periódico cada 6 meses de la calidad del agua y el control de los efluentes. En particular, en el frigorífico A que contaba con un tanque abierto para la colección de agua, se propuso el cerramiento o instalación de una cisterna cerrada. En frigorífico C, se sugirió la inhabilitación de uno de los pozos abastecedores.

Establecimiento. En este punto se dieron las recomendaciones a sobre el diseño, organización y mantenimiento del frigorífico. Mejoras de paredes, pisos, techos, ventanas y otras aberturas, iluminación, rieles y roldanas, mesadas, carros, piletones, vestuarios y exteriores. Instalación y uso de filtros sanitarios y esterilizadores. En particular en el frigorífico A, se indicó el cerramiento de aberturas. En el frigorífico C, se diseñó un nuevo plano, para corregir las conexiones entre áreas sucias y limpias, y para facilitar el acceso al digestor.

Proceso. Se abordaron conceptos de contaminación cruzada entre medias reses, operarios y el ambiente. Correcciones en el proceso de cuereado. Implementación de uso de ligaduras, tanto de esófago como de culata. Se explicó el concepto de

sanitización y la implementación de una rutina correcta pre-operacional y operacional. En aquellos establecimientos que no contaban con POES, se propuso la escritura e implementación de los mismos. Si contaban con POES escritos, se propuso la correcta implementación. En particular en el frigorífico A, se indicó el cambio de uso de maza por martillo neumático para la insensibilización de animales y en el B, se sugirió la corrección en el uso del martillo neumático.

Operarios. Se hizo hincapié en la importancia de contar con la libreta sanitaria actualizada y de establecer como requisito interno solicitar análisis periódicos para asegurar su estado de salud de los operarios. Recomendaciones sobre la vestimenta del personal y la importancia de no utilizar la misma vestimenta en el frigorífico que en sus hogares. Reglas de higiene que debe tener el manipulador y rutina para un correcto lavado de manos. Se acordó además que cada planta, se haría responsable de la realización de los exámenes médicos de todo el personal, necesarios para acceder a la libreta sanitaria, exigencia del CAA, para todos los manipuladores de alimentos.

Control de residuos y plagas. Se expusieron recomendaciones sobre: drenajes, rejillas, recipientes de descarte de residuos, proliferación de plagas (roedores, perros, gatos, insectos, y aves) y su relación con las condiciones edilicias del establecimiento y con la forma de disponer los desechos.

Manipuladores de alimentos y el Código Alimentario Argentino. Se expusieron las exigencias del CAA y el Código Penal para manipuladores y responsables de establecimientos productores de alimentos. Se sugirió la continua capacitación de operarios y responsables.

Visita. Se realizó la visita con los responsables de cada establecimiento, a un frigorífico exportador, donde se pudo observar la correcta implementación y funcionamiento de las mejoras propuestas. Fue posible conversar con los responsables de calidad, para evacuar dudas sobre situaciones puntuales de cada planta.

5.2.2. Realización de capacitaciones grupales a los operarios de cada planta con base en los resultados obtenidos

Se realizaron capacitaciones en los tres frigoríficos a aproximadamente 90 operarios. Se presentaron todos los resultados obtenidos en la etapa I. Se trabajaron los temas de higiene personal, POES y procesos, con ejemplos prácticos a partir de fotos tomadas en la rutina de trabajo.

En la capacitación posterior dictada por el Ministerio de Agroindustria, se profundizaron todos los temas para obtener la libreta sanitaria como manipuladores de alimentos.

5.3. Verificación de éxito de las acciones de mejoras implementadas

En esta etapa, cada frigorífico se visitó durante 4 semanas consecutivas. El frigorífico A en el mes de abril de 2018; el frigorífico B entre los meses de mayo y junio de 2018; y el frigorífico C en el mes de agosto de 2018.

5.3.1. Cuantificación del riesgo de contaminación de la carne bovina durante el proceso de producción

A partir de la comparación de los resultados entre las dos etapas de las planillas de cuantificación de riesgo pre-operacional, se observó que en el

frigorífico A, las diferencias fueron significativas en todos los bloques; análisis del bloque de cuarteo se realizó en este establecimiento, ya que era el único habilitado para realizar dicha actividad. En el frigorífico B, las diferencias fueron significativas en todos los bloques excepto en corrales, donde se observó una tendencia hacia la significancia ($p = 0,074$). En el frigorífico C, las diferencias fueron significativas solo en el bloque de faena ($p = 0,024$).

En el análisis de las planillas de cuantificación de riesgo operacional de los frigoríficos A y B, las diferencias fueron significativas en todos los bloques ($p < 0,05$), excepto en el área de menudencias ($p > 0,05$). En el matadero C, las diferencias fueron significativas en los bloques de faena y el área de cabeza y vísceras ($p < 0,05$).

En el frigorífico A, además de las mejoras generales se llevó a cabo el cerramiento en puertas y ventanas; se tapó el tanque australiano, para la colección de agua; instalaron un equipo automatizado de dosificación de cloro; se implementó el uso de martillo neumático para la insensibilización de los animales.

En el frigorífico B, además de las mejoras generales se implementaron los POES en cada sector y en cada equipo o utensilio; revirtieron los inconvenientes en el uso del martillo neumático de noqueo; instalaron un equipo automatizado de dosificación de cloro, con la puesta en práctica de un registro diario del mismo.

En el frigorífico C, además de las mejoras generales, al momento de las visitas correspondientes a la etapa III se realizaron parcialmente las obras de correcta sectorización de la planta; se corrigió el uso del dosificador de cloro;

mediante la contratación de una empresa se controlaron los roedores en los exteriores de la planta.

Los resultados de cada bloque en cada visita, por frigorífico, se presentan en la Sección 9 del Anexo.

5.3.2. Determinación de la calidad microbiológica del agua utilizada en la planta de faena

Sobre un total de 56 muestras de agua de los tres frigoríficos, resultaron 46 (82,2%) potables y 10 (17,8%) no potables.

Después de la implementación de acciones de mejora, se pudieron observar diferencias significativas en relación a la calidad del agua, en los tres establecimientos ($p < 0,05$).

A- Frigorífico A

En total de las 4 visitas, se colectaron 20 muestras, de las cuales 15 (75,0%) resultaron potables y 5 (25,0%) no potables. Las mediciones de cloro realizadas, se encontraron entre 0,25-2 ppm.

De las muestras no potables, las 5 (100,0%) correspondieron a detecciones de coliformes > 3 NMP/100 ml y de una de ellas, además se aisló *Escherichia coli* en (20,0%).

Los resultados según tipo de muestra, se presentan en la Sección 12 del Anexo.

B- Frigorífico B

En total de las 4 visitas, se colectaron 20 muestras, de las cuales 19 (95,0%) resultaron potables y solo 1 (5,0%) no potable. La misma provenía del pozo 1 y se detectaron coliformes mayores a 3 NMP/100 ml. Todas las mediciones de cloro realizadas, se encontraron en torno a las 2 ppm.

Los resultados según tipo de muestra, se presentan en la Sección 12 del Anexo.

C-Frigorífico C

En total de las 4 visitas, se colectaron 16 muestras, de las cuales 12 (75,5%) resultaron potables y 4 (25,0%) no potables. Las mediciones de cloro realizadas, se encontraron en 0 las dos primeras visitas, y luego de la corrección de la dosificación de cloro, las siguientes dieron 1 ppm como resultado.

De las muestras no potables, 3 (75,0%) correspondieron a detecciones de coliformes > 3 NMP/100 ml y de una de ellas (25,0%) además, se aisló *Escherichia coli*. En las 4 (100,0%) muestras, fue posible el aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa*. Las muestras no potables, correspondieron a las dos visitas en las cuales la de medición de cloro dio niveles de 0 ppm.

Los resultados según tipo de muestra, se presentan en la Sección 12 del Anexo.

5.3.3. Determinación de la carga bacteriana de las medias reses mediante el recuento de microorganismos indicadores

A partir del muestreo de los 400 cm² de las 72 medias reses, se obtuvieron los resultados que se presentan en la Tabla 3.

Luego de la implementación de acciones de mejora en el frigorífico A, las diferencias fueron significativas en los recuentos mesófilos y coliformes ($p = 0,05$). En el frigorífico B, las diferencias fueron significativas en los recuentos de microorganismos mesófilos, mientras que en el frigorífico C las diferencias fueron significativas en las tres determinaciones ($p < 0,05$).

Las temperaturas registradas en las visitas pre-operacionales dentro de las cámaras frigoríficas, en los tres frigoríficos variaron en las medias reses entre los 1 y 9°C, mientras que las temperaturas ambientales lo hicieron entre 1,5 y 9°C.

Las temperaturas registradas en las visitas operacionales en los espacios destinados al uso como cámara de oreo, en los tres frigoríficos variaron en las medias reses entre los 16 y 21°C, mientras que las temperaturas ambientales lo hicieron entre 6 y 11°C.

5.3.4. Determinación de la presencia de STEC (O157:H7 y no-O157) y *Salmonella* spp. en medias reses, carne de cabeza, superficies ambientales y agua de lavado y enfriado de vísceras

De las 72 muestras de medias reses, 26 (36,1%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 29 (40,2%) fueron detectadas como STEC no-O157. Además se aislaron 14 (19,4%) *E. coli* O157 no toxigénicas.

De las 12 muestras de carne de cabeza, 2 (16,6%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 5 (41,6%) fueron detectadas como STEC.

De las 72 muestras ambientales, 15 (20,8%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 17 (23,6%) fueron detectadas como STEC no-O157. Se aislaron también 8 (11,1%) *E. coli* O157 no toxigénicas.

De las 60 muestras de agua de lavado y enfriado de vísceras, 11 (18,3%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 21 (35,6%) fueron detectadas como STEC no-O157. Además se aislaron 8 (13,3%) *E. coli* O157 no toxigénicas.

Los resultados del aislamiento de microorganismos patógenos en las etapas I y III no fueron suficientes para encontrar significancia estadística. Los resultados totales de aislamiento de los tres frigoríficos se presentan en la Tabla 4.

A- Frigorífico A

De las 24 muestras de medias reses, 3 (12,5%) fueron detectadas como STEC O157:H7, aunque ninguna de ella fue aislada, sin embargo fue posible el aislamiento de 2 (8,3%) O157:H21 toxigénicas; 6 (25,0%) fueron detectadas como STEC no-O157.

De las 4 muestras de carne de cabeza, 1 (25,0%) fue detectada como STEC O157:H7; 3 (75,0%) fueron detectadas.

De las 24 muestras ambientales, 3 (12,5%) fueron detectadas como STEC O157:H7 y 1 (4,1%) aislada, correspondiente a una muestra de manos. Como STEC no-O157, 6 (25,0%) fueron detectadas y 3 (12,5%) aisladas, las cuales

correspondieron a botas (N=1) y palcos (N=2). Como *Salmonella enterica*, 6 (25,0%) fueron detectadas y 3 (12,5%) aisladas, cuchillos (N=1) y palcos (N=2).

De las 20 muestras de agua de lavado y enfriado de vísceras, 4 (20,0%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 6 (30,0%) fueron detectadas y 2 (10,0%) aisladas como STEC no-O157 correspondientes a dos muestras del piletón de hígado; 3 (15,0%) fueron aisladas como *Salmonella enterica*, de las muestra provenientes de los piletones de molleja, riñón y chinchulines.

Los resultados de aislamiento se presentan en la Tabla 4.

B- Frigorífico B

De las 24 muestras de medias reses, 14 (58,3%) fueron detectadas como STEC O157:H7 y 13 (54,1%) como STEC no-O157.

De las 4 muestras de carne de cabeza, solo 1 (4,16%) fue detectada como STEC no-O157.

De las 24 muestras ambientales, 5 (20,8%) fueron detectadas y 1 (4,1%) aislada como STEC O157:H7, de la muestra de manos. Como STEC no-O157, 5 (20,8%) fueron detectadas y 1 (4,1%) aislada proveniente de la muestra de cámara.

De las 20 muestras de agua de lavado y enfriado de vísceras, 4 (20,0%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 8 (40,0%) fueron detectadas y 1 (5,0%) aislada como STEC no-O157, proveniente de la muestra del piletón de hígado.

Los resultados de aislamiento se presentan en la Tabla 4.

C- Frigorífico C

De las 24 muestras de medias reses, 9 (37,5%) fueron detectadas como STEC O157:H7; 10 (41,6%) fueron detectadas como STEC no-O157.

De las 4 muestras de carne de cabeza, 1 (25,0%) fue detectada como STEC O157:H7; 1 (25,0%) fue detectada como STEC no-O157.

De las 24 muestras ambientales, 7 (29,1%) fueron detectadas como STEC O157:H7. Como STEC no-O157, 6 (25,0%) fueron detectadas y 1 (4,1%) aislada de manos.

De las 20 muestras de agua de lavado y enfriado de vísceras, 3 (15,0%) fueron detectadas como STEC O157:H7. Como STEC no-O157, 7 (35,0%) fueron detectadas y 1 (5,0%) aislada, proveniente de la muestra del piletón de molleja.

Los resultados de aislamiento se presentan en la Tabla 4.

5.1.4. Encuesta operarios

A partir de la encuesta realizada a 71 operarios, fue posible identificar que luego de las capacitaciones recibidas por los operarios, se mejoraron los conocimientos en las temáticas relacionadas con manipulación de alimentos.

Se observó mediante el análisis detallado de las respuestas, que el recambio habitual de personal, evidencia la necesidad de continuas capacitaciones en los temas de interés para los operarios.

Si bien en el momento de la realización de la encuesta en la etapa III uno de los establecimientos estaba en proceso de actualizar todas las libretas

sanitarias, se observó la regularización de la situación en los otros establecimientos.

Los resultados detallados de las encuestas se presentan en la Sección 11 del Anexo.

5.1.5. Caracterización de los aislamientos de STEC y *Salmonella* spp. mediante técnicas fenotípicas y genotípicas.

Por caracterización bioquímica se determinó que todos los aislamientos analizados (etapa I y III) fueron identificados como *E. coli* y *Salmonella* spp.

Las 18 cepas de STEC O157 fueron portadoras de los genes *rfb*_{O157}, *ehxA* y *eae*. Solo 1 (5,5%) no fue positiva al gen *fliC*_{h7}, siendo identificada como O157:NM. Nueve (50,0%) fueron positivas al gen *stx*₂, 8 (44,4%) a la combinación de *stx*₁ y *stx*₂ y 1 (5,6%) fue positiva al gen *stx*₁. Además las 2 cepas O157:H21, fueron positivas a los genes *stx*₂, *ehxA* y *saa*. El perfil de variantes *stx* detectado en las cepas de STEC O157:H7 fue *stx*_{1a}+*stx*_{2c(vh-a)} (N= 7), *stx*_{2a}+*stx*_{2c(vh-a)} (N= 6), *stx*₂ (N= 2), *stx*_{2b} (N= 1), *stx*_{2a}+*stx*_{2c(vh-b)} (N= 1), *stx*_{1a} (N= 1), *stx*_{1a}+*stx*_{2c(vh-b)} (N= 1) y *stx*_{1a}+ *stx*_{2a}+*stx*_{2c(vh-a)} (N= 1).

De las 62 cepas de *E. coli* O157 no toxigénicas, todas fueron negativas a los genes *eae*, *ehxA* y *saa*. Seis flagelos H fueron identificados, H38 (N=23; 37,0%); H29 (N=14; 22,6%); H12 (N=13; 20,9%); H42 (N=6; 9,7%); H19 (N=3; 4,8%) y H25 (N=2; 3,2%). Una (1,6%) cepa no fue determinada (HND).

Sobre un total de 68 cepas STEC no-O157 se identificaron diferentes genotipos *stx*. La presencia de los genes *stx*₂ y *stx*₁/*stx*₂ fueron detectados en 58

(85,3%) y 10 (17,7%), respectivamente. El gen *ehxA* fue detectado en 45 (66,2%), de las cuales en 38 (55,9%) también se detectó el gen *saa*. El gen *eae* fue detectado en 2 (2,9%) de las cepas que habían sido *ehxA* positivas y *saa* negativas. El perfil de variantes *stx* detectado en las cepas de STEC no-O157 fue *stx*₂ (N= 38), *stx*_{2b} (N= 15), *stx*_{2a} (N= 9), *stx*_{2a}+*stx*_{2c(vh-b)} (N= 3), *stx*_{2d} (N= 2), *stx*_{2a}+*stx*_{2c(vh-a)} (N= 1).

De las 68 cepas, 59 pertenecieron a 14 O grupos (O8, O91, O112ab, O113, O116, O120, O124, O130, O145, O163, O168, O171, O174, O178); mientras que 9 aislamientos no fueron determinados (ONT). Diez flagelos H (H2, H7, H8, H11, H19, H21, H27, H28, H46, H49) fueron identificados en 59 cepas, 7 cepas resultaron no móviles HNM y 2 aislamientos no pudieron ser determinados (HND). Las cepas de STEC no-O157, se agruparon en 25 serotipos distintos siendo O113:H21 (N=7) el más prevalente (10,3%), seguido por O91:H21, O130:H11 y O174:H21 con 6 (8,8%) aislamientos cada uno. El origen y caracterización del total de los aislamientos de STEC no-O157 se presenta en la Tabla 5.

Tabla 5. Origen, serotipos y genotipos de STEC no-O157 aislados durante las etapas I y III

Frigorífico	Etapa	Medias reses		Carne de cabeza		Ambiente		Agua de lavado y enfriado de vísceras	
		Serotipo	Genotipo	Serotipo	Genotipo	Serotipo	Genotipo	Serotipo	Genotipo
A	I	O120:H19	<i>stx1/stx2/ehxA/saa</i>			O116:H49	<i>stx2/ehxA/saa</i>		
		O113:H21 (n=3)	<i>stx2/ehxA/saa</i>			O178:H19	<i>stx2</i>		
		OND:HND	<i>stx2/ehxA/saa</i>			O8:H19	<i>stx2/ehxA</i>		
		O91:H21 (n=5)	<i>stx2/ehxA/saa</i>			O174:H21	<i>stx2</i>		
		O15:H27	<i>stx2</i>			O145:NM	<i>stx2/eah/ehxA</i>		
		O178:H19	<i>stx2/ehxA/saa</i>			O91:H21	<i>stx2/ehxA/saa</i>		
		O130:H11 (n=2)	<i>stx1/stx2/ehxA/saa</i>						
		O174:H46	<i>stx2/ehxA/saa</i>						
		O174:H21 (n=3)	<i>stx2</i>						
		O124:H19 (n=3)	<i>stx1/stx2/ehxA/saa</i>						
		O178:H19	<i>stx1/stx2/ehxA/saa</i>						
		OND:NM	<i>stx2</i>						
		O116:H49	<i>stx2/ehxA/saa</i>						
		O112:H2	<i>stx2/ehxA/saa</i>						
		O120:H7	<i>stx2</i>						
	III	O163:H19	<i>stx2/ehxA/saa</i>			O163:H19	<i>stx2/ehxA/saa</i>	O163:H19	<i>stx2/ehxA/saa</i>
		OND:H7	<i>stx2</i>			O168:H8	<i>stx2</i>	O179:H8	<i>stx2/ehxA/saa</i>
		O113:H21	<i>stx2/ehxA/saa</i>			OND:H8	<i>stx2/ehxA/saa</i>		
		O171:NM	<i>stx2</i>						
		O113:H21	<i>stx2/ehxA/saa</i>					O178:H19	<i>stx2</i>
B	I	O116:H49	<i>stx2/ehxA/saa</i>						
		O120:H7	<i>stx2</i>						
		O174:H21	<i>stx2</i>						
	III	OND:H46	<i>stx2</i>			OND:H7	<i>stx2</i>	O174:H21	<i>stx2</i>
		O171:NM	<i>stx2</i>						
C	I	O130:H11	<i>stx1/stx2/ehxA/saa</i>			O145:NM	<i>stx2/eah/ehxA</i>	O113:H21 (n=2)	<i>stx2/ehxA/saa</i>
		O116:H49	<i>stx2/ehxA/saa</i>			O8:H7 (n=2)	<i>stx2/ehxA</i>		
		O174:H28	<i>stx2/ehxA/saa</i>			O130:H11	<i>stx1/stx2/ehxA/saa</i>		
		O8:H19	<i>stx2/ehxA</i>						
	III	O120:H7	<i>stx2</i>						
		OND:H7	<i>stx2</i>	OND:NM	<i>stx2</i>	O8:H19	<i>stx2/ehxA</i>	O130:H11	<i>stx1/stx2/ehxA/saa</i>
		O171:NM (n=2)	<i>stx2</i>						

Las 32 cepas de *Salmonella enterica* fueron positivas al gen *invA*. Se obtuvieron 6 serovares distintos; 14 (43,7%) Anatum, 12 (37,5%) Montevideo, 2 (6,2%) Typhimurium, 2 (6,2%) Give, 1 (3,1%) Cerro y 1 (3,1%) Newport. El

origen serovar del total de los aislamientos de *Salmonella enterica* se presenta en la Tabla 6.

Tabla 6. Origen y serovares de *Salmonella enterica* aislados durante las etapas I y III

Frigerífico	Etapas	Medias reses	Carne de cabeza	Ambiente	Agua de lavado y enfria de vísceras
A	I	<i>S. Anatum</i> (N=3) <i>S. Give</i> <i>S.</i> <i>Typhimurium</i>	<i>S.</i> <i>Typhimurium</i>	<i>S. Anatum</i> (N=2) (Botas) <i>S. Give</i> (Manos)	<i>S. Anatum</i> (Chinchulines)
	III			<i>S.</i> Montevideo (N=2) (Palcos) <i>S. Anatum</i> (Cuchillos)	<i>S. Montevideo</i> (Chinchulines) <i>S. Newport</i> (Riñón) <i>S. Anatum</i> (Molleja)
B	I	<i>S. Cerro</i> <i>S.</i> Montevideo		<i>S. Montevideo</i> (N=3) (Manos) <i>S. Anatum</i> (N=2) (Manos) <i>S. Montevideo</i> (Cuchillos) <i>S. Montevideo</i> (Botas)	<i>S. Montevideo</i> (Molleja) <i>S. Montevideo</i> (Hígado)
	I	<i>S. Anatum</i> (N=3)		<i>S. Anatum</i> (Botas)	<i>S. Montevideo</i> (Riñón)

5.1.6. Determinación de la relación clonal de los aislamientos mediante técnicas moleculares.

5.1.6.1. STEC O157

Se analizaron por *Xba*I-PFGE 20 cepas de STEC O157, 17 de ellas fueron O157:H7, dos O157:H21 y una O157:NM (Figura 6). Se obtuvieron 17 patrones de restricción con al menos 64,7% de similitud. De ellos, 14 incluyeron una única cepa y 3 formaron clusters. Los aislamientos del cluster I se diferenciaron al ser cortados con *Bln*I (Figura 7). Los aislamientos del cluster III que resultaron clonales, fueron obtenidos a partir de muestras del agua de lavado y enfriado de hígado y carne de cabeza durante el mismo muestreo de la etapa I en el frigorífico C. Una de las cepas del cluster II se lisó durante la corrida con la segunda enzima, por lo que la clonalidad de los aislamientos no pudo confirmarse.

Figura 6. Dendrograma obtenido a partir de patrones de bandas de *Xba*I-PFGE de aislamientos de STEC O157:H7/H21/HNM

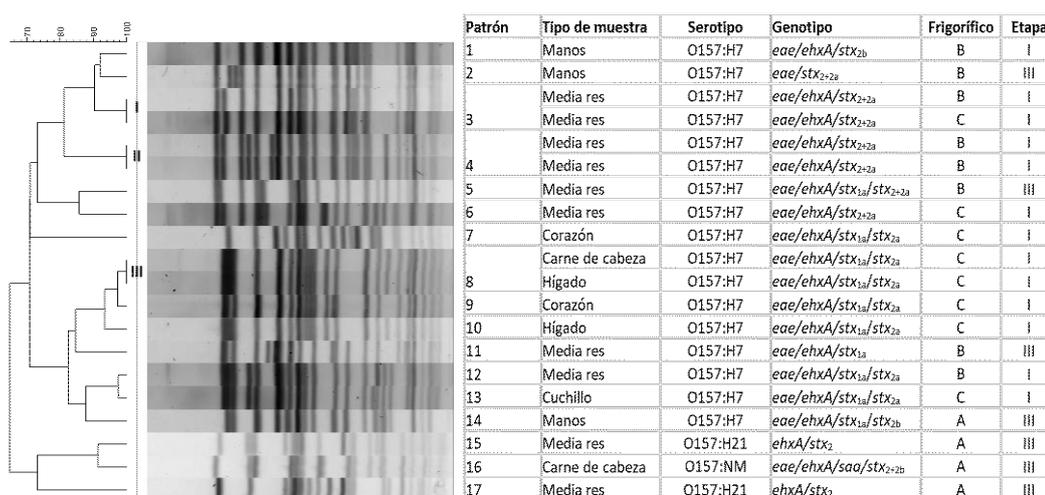


Figura 7. Dendrograma obtenido a partir de patrones de bandas de *BlnI*-PFGE de aislamientos de STEC O157:H7 clonales por *XbaI*-PFGE



5.1.6.2. STEC no-O157

Se analizaron 68 aislamientos de STEC no-O157 por *XbaI*-PFGE (Figura 8). Se obtuvieron 53 patrones de restricción con al menos 55,1% de similitud. Once cepas se lisaron. De los patrones obtenidos, 49 fueron únicos y 4 incluyeron dos aislamientos. Las cepas del cluster II se diferenciaron por la segunda enzima de restricción, mientras que los aislamientos de los clusters I, III y IV resultaron clonales (Figura 9). El cluster I comprendió 2 aislamientos O113:H21 obtenidos a partir de muestras de agua de lavado y enfriado de corazón y de riñón durante el mismo muestreo de la etapa I en el frigorífico C. Las cepas O91:H21 del cluster III se aislaron de 2 medias reses distintas en el mismo día de muestreo en el frigorífico A durante la etapa I. El cluster IV incluyó aislamientos obtenidos a partir de muestras de palco y agua de lavado y enfriado de hígado en el frigorífico A durante el mismo día de muestreo de la etapa III.

Figura 8. Dendrograma obtenido a partir de patrones de bandas de *Xba*I-PFGE de aislamientos de STEC no-O157

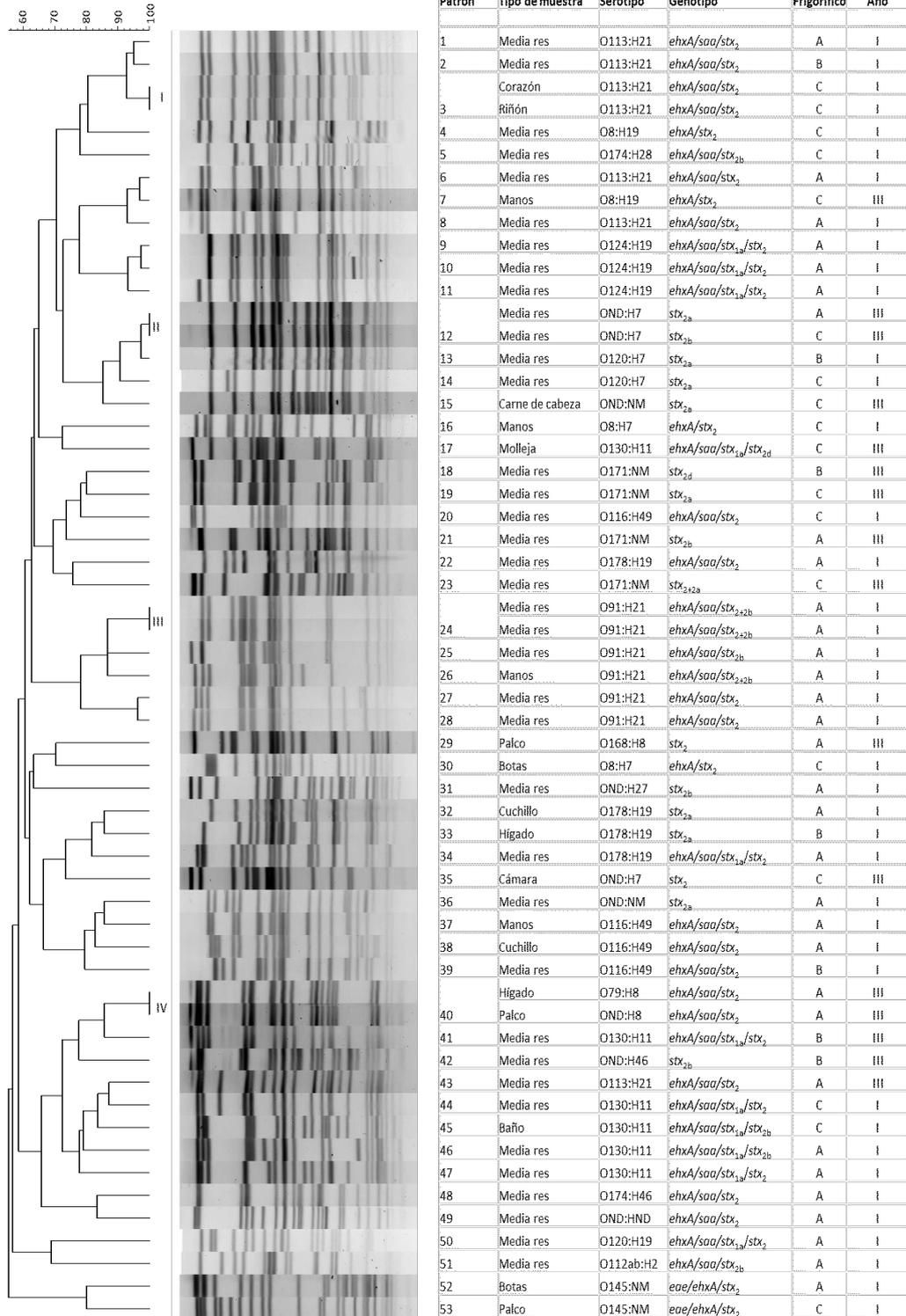
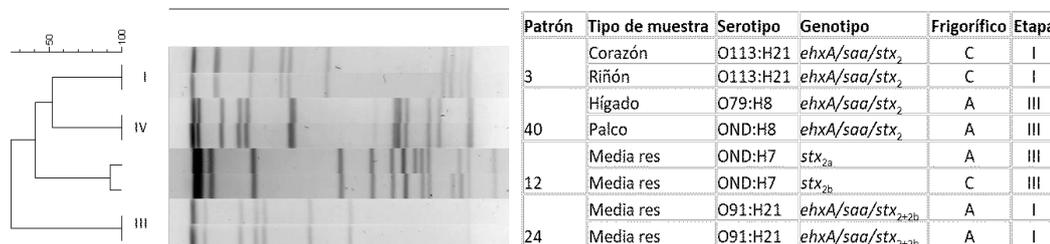


Figura 9. Dendrograma obtenido a partir de patrones de bandas de *BlnI*-PFGE de aislamientos de STEC no-O157 clonales por *XbaI*-PFGE



5.1.6.3. *Salmonella enterica*

Se analizaron por *XbaI*-PFGE 32 cepas de *Salmonella enterica* y se obtuvo dendrograma con 10 patrones de restricción con al menos 51,8% de similitud. A partir de los mismos, se obtuvieron 5 patrones únicos y 5 clusters (Figura 10).

Los aislamientos de la serovar Anatum presentaron 4 patrones de bandas, 2 de ellos se obtuvieron a partir de una única cepa y 2 se presentaron en más de un aislamiento (clusters I y II).

El cluster I incluyó 4 aislamientos obtenidos en el frigorífico A en la etapa I del estudio, 3 se aislaron en el muestreo 2 a partir de medias reses y botas de un manipulador y una en el muestreo 7 a partir de carcasa.

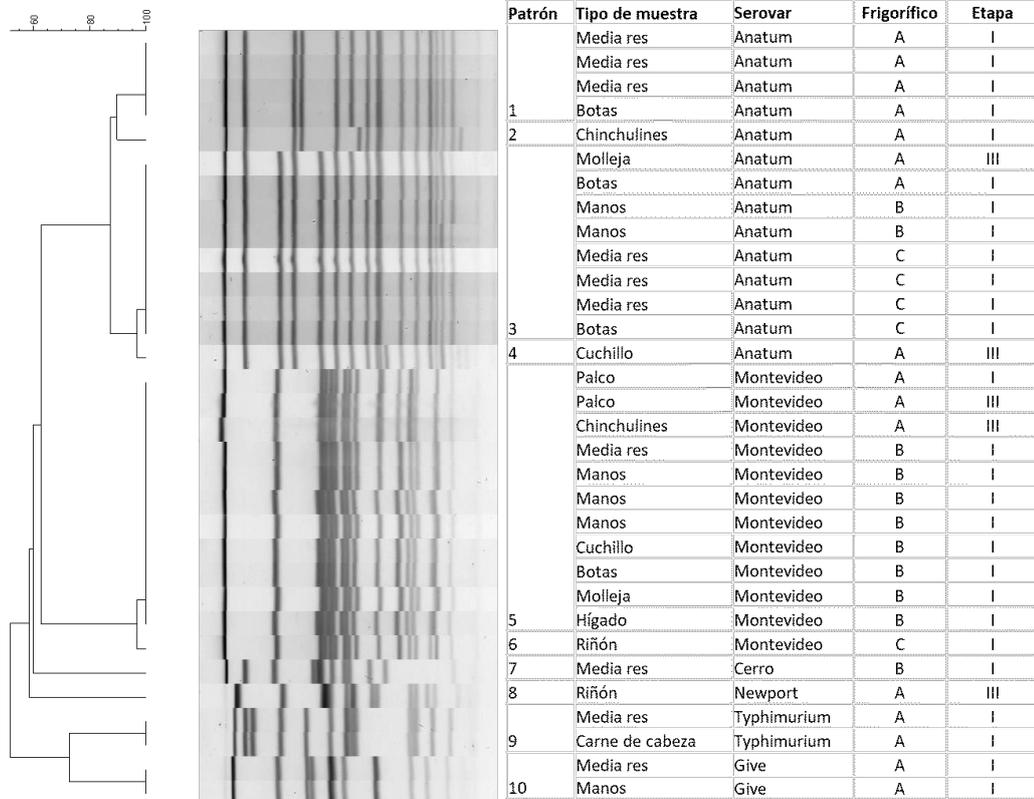
El cluster II incluyó 8 cepas aisladas de los 3 frigoríficos. En el frigorífico A se aisló una cepa en la etapa I de botas y una en la etapa III del agua de lavado y enfriado de molleja. En el frigorífico B se aislaron 2 cepas a partir de las manos de manipuladores durante 2 días de muestreo distintos en la etapa I. En el frigorífico C se obtuvieron 4 aislamientos clonales durante la etapa I del estudio

en el mismo muestreo a partir de 3 medias reses distintas y de las botas de un manipulador.

Los aislamientos correspondientes a la serovar Montevideo (n=12) se agruparon en el mismo cluster (III) excepto una cepa que dio un patrón único de bandas. Los clones se obtuvieron de los frigoríficos B en la etapa I y A en la etapa III. En el frigorífico B se aisló en el muestreo 7 de carcasa, manos y cuchillo, en el muestreo 8 de manos y botas, en el muestreo 9 de manos y en el muestreo 10 del agua de lavado y enfriado de hígado y molleja. En el frigorífico A se aisló a partir de palco en dos muestreos sucesivos (2 y 3) y del agua de lavado y enfriado de chinchulín en el muestreo 3.

El cluster IV agrupó 2 aislamientos de la serovar Typhimurium obtenidos en la etapa I en el frigorífico B a partir de carcasa y carne de cabeza en el mismo muestreo (8). En el mismo frigorífico en la etapa I se aislaron 2 cepas clonales de la serovar Give en 2 muestreos sucesivos (6 y 7) de manos y carcasa.

Figura 10. Dendrograma obtenido a partir de patrones de bandas de *Xba*I-PFGE de aislamientos de *Salmonella enterica*



6. DISCUSIÓN

De acuerdo al Codex Alimentarius, los principios esenciales de higiene de los alimentos, son aplicables a lo largo de toda la cadena alimentaria (desde la producción primaria hasta el consumidor final). A fin de lograr el objetivo de que los alimentos sean inocuos y aptos para el consumo humano se recomienda la aplicación de criterios basados en el sistema de HACCP (Codex Alimentarius, 2003). Sin embargo, la aplicación de un sistema de calidad en la industria cárnica, suele estar asociado con el tamaño de la empresa y las demandas del mercado al que se dirigen, resultando en la existencia de múltiples estándares de higiénicos sanitarios (Santángelo, 2013; Unger y col., 2007) Es así, que tanto en Argentina, como en otros países (Essendoubi y col., 2019; Festus Jaja y col., 2018), existe una amplia variedad de plantas procesadoras de carne.

En aquellos frigoríficos que se encuentran bajo la órbita de SENASA, es obligatoria la tenencia de un plan de HACCP (SENASA, 2014); pero no ocurre lo mismo en aquellos controlados por las autoridades sanitarias de la provincia a la que pertenecen, siendo las exigencias sanitarias diferentes en cada provincia (Ley 11.123, 1991). En 2017, éstos últimos fueron responsables de aproximadamente el 16,0% de la faena total del país (Consortio ABC, 2019), siendo su abastecimiento a las carnicerías locales lo que motivó el desarrollo de este trabajo.

En la primera etapa de este estudio, mediante el uso de las planillas de cuantificación de riesgo, no solo se cuantificó que el riesgo de contaminación de los productos y sub-productos era alto, sino que se identificaron ciertos desvíos: 1) del proceso, como falta de implementación de BPM y POES, falta de controles

de calidad, uso de agua sin adición de cloro, métodos inadecuados de noqueo de los animales antes del sacrificio, falta de higiene en la evisceración y falta de un plan integrado de manejo de plagas; 2) estructurales, como falta de divisiones entre áreas de faena sucias y limpias, limitaciones en las instalaciones de cámaras y equipos de esterilización; y 3) del personal, tanto por la falta de vestimenta adecuada como por la continua necesidad de capacitación en el manejo de alimentos. La mayoría de estos desvíos, habían sido identificados en frigoríficos provinciales de Argentina (Cendón y Unger, 2009), así como en frigoríficos de características similares en el resto del mundo (Adeolu y col., 2019; Bersisa y col., 2019; Douglas y col., 2013).

Sin embargo luego de la etapa II en la que se propusieron y aplicaron mejoras, muchos de estos desvíos pudieron corregirse, reduciéndose el riesgo de contaminación en los tres establecimientos en casi todas las visitas a moderado. Esto demuestra que el conocimiento adquirido por parte de los operarios de los conceptos de sanitización y de las BPM, acompañado de la implementación de mejoras edilicias en los frigoríficos, permitió obtener diferencias significativas entre las dos etapas. Según Sofos y col. (2008) la implementación completa de un plan de HACCP solo ocurrirá cuando haya educación y capacitaciones adecuadas, completas y rutinarias de la gerencia y los empleados para comprender el significado y la función de un plan HACCP, la aplicación continua de sus principios y la importancia del control de los peligros transmitidos por los alimentos.

Resulta importante de destacar, que aunque se realizaron muchas mejoras, suficientes como para reducir el riesgo de alto a moderado, aún queda mucho

trabajo por hacer, siendo fundamental que riesgo de contaminación en cualquier día o momento de trabajo sea bajo.

El éxito y la eficacia del plan HACCP para prevenir enfermedades transmitidas por alimentos y reducir los riesgos de inocuidad alimentaria a un nivel aceptable dependen de su correcta implementación, aplicación y la continua auditoría y verificación (FAO/OMS, 2007; Kafetzopoulos y col., 2013; Kök, 2009; Lawley, 2007). Esto se puede lograr mediante el desarrollo, implementación y verificación de POES completos que debe abordar lo que se debe hacer, por quién, cuándo, por qué y cómo, y también debe proporcionar orientación sobre qué hacer si se desarrolla un desvío u otro problema (Sofos, 2008). En el desarrollo de este trabajo, a partir de la comparación de las encuestas en cada una de las dos etapas, quedó demostrado que las capacitaciones y la colocación de carteles con las especificaciones de los diferentes POES por parte de las empresas en todos los sectores de los frigoríficos, favorecieron a la clarificación de las dudas de los operarios sobre los conceptos de sanitización de la planta.

A partir del análisis de las encuestas, quedó de manifiesto, que es muy fluctuante el plantel de operarios que desarrolla sus actividades en el frigorífico. En ambas etapas se registraron fechas de antigüedad laboral, menor a los 6 meses. En el análisis de la encuestas de la etapa III de los establecimientos que ya habían regularizado la situación de las libretas sanitarias, pudo verse que aquellos operarios que habían ingresado a la planta en última instancia, aún no las poseían ni habían realizado el curso de manipuladores de alimentos. Se observó también, que fueron coincidentes las respuestas incorrectas en relación a BPM y BPH, con

aquellos operarios que no habían realizado capacitaciones previas. Esto demuestra la necesidad de capacitaciones continuas, para que sean realmente efectivas (Tegegne y Phyo, 2017). Además, es recomendable desalentar la capacitación de trabajador a trabajador en todo momento y solo se debería permitir que una persona formada en el área, capacite al personal, tanto a los nuevos operarios como a los establecidos, para garantizar la uniformidad en conceptos (Nel y col., 2004).

Los procedimientos recomendados para implementar sistemas HACCP dependen de la identificación de los puntos críticos de control (PCC) para el control de los riesgos microbiológicos. Si los PCC en un proceso se identifican erróneamente, los POES probablemente no serán efectivos (Bryant y col., 2003). Es, así, que además de la cuantificación del riesgo, mediante el uso de las planillas fue posible identificar aquellos sectores con mayor cantidad de desvíos comunes para los tres frigoríficos, y determinar los PCC, para verificar en el proceso. Ejemplos fueron el cuereado, el atado de esófago y culata y todos los desvíos estructurales y de proceso en las áreas de menudencias. Los mismos PCC, había sido identificados por Rébak y col. (2011), en frigoríficos de otras provincias del país. Sin embargo, lo positivo del presente trabajo, fue que no solo si identificaron los desvíos, sino que a partir de las mejoras, pudieron ser revertidos.

Todos estos cambios, evidenciados a partir solo de la aplicación de los pre-requisitos de un plan HACCP, nos remarcen la necesidad de que en nuestro país exista un solo estándar sanitario. Sería posible así, mejorar la calidad del producto que llega a las carnicerías locales y por ende al consumidor, habida cuenta de la existencia de trabajos que plantean al frigorífico de origen, en muchos casos sin

HACCP, como una de las causas de contaminación presente en las carnicerías (Brusa, 2015).

Además, durante el transcurso del proyecto se identificó una problemática con respecto a la falta de uniformidad en la autoridad sanitaria. En una de las plantas el control estaba a cargo de veterinario provincial, en otra de un veterinario municipal y en la restante de un veterinario de registro. Esto deja de manifiesto, que si bien todos tienen la misma formación, no todos tienen la misma contención institucional ni el mismo amparo ante la ley, pudiendo influir al momento de la toma de decisiones.

Otros de los puntos a evaluar durante el trabajo fue la calidad del agua, ya que la industria alimentaria tiene uno de los mayores consumos de agua y es una de las mayores productoras de efluentes por unidad de producción (Boguniewicz-Zablocka y col., 2019), debido a que el agua se encuentra involucrada en muchos procesos, por ejemplo, lavado, enjuague, calentamiento, enfriamiento, producción de vapor, y para fines generales de limpieza, saneamiento y desinfección (Casani y col., 2005). En Argentina, la autoridad sanitaria exige el uso de agua potable en tales industrias (SENASA, 1968), ya que el agua, como los alimentos, es vehículo para la transmisión de muchos agentes causantes de enfermedad (Aziz, 2005; Kirby y col., 2003). Sin embargo, según Cendón y Unger (2009), esto no sucede en los frigoríficos provinciales de la Argentina. En la etapa I del presente estudio se identificaron estos desvíos, pero fueron rectificadas luego de la instalación de equipos dosificadores de cloro automáticos. Dicha mejora, resultó en entre un 75,0 % y 95,0 % de muestras de agua potables en la etapa III; resultando no potables, solo aquellas muestras, en las que se identificó que aún la dosificación

del cloro no estaba siendo correcta. Mediante la dosificación de cloro, realizada en el transcurso de las 4 visitas de la última etapa, fue posible corregir estos desvíos. Por tales motivos, volvió a remarcarse la necesidad de llevar a cabo un registro de dosificación de cloro diario en cada establecimiento, para poder detectar así cualquier desvío y solucionarlo a tiempo.

El agua de pozos a menudo es de mejor calidad que las fuentes de agua abiertas en la superficie (Aboh y col., 2015), sin embargo, las fuentes de contaminación alrededor de los pozos pueden afectar la calidad microbiológica del agua (Ye y col., 2013). Por tal motivo, las fuentes de agua rurales son mucho más propensas a contaminarse y generalmente sufren niveles más altos de contaminación que las fuentes de agua en áreas urbanas (Bain y col., 2014). Dichas situaciones, refuerzan la necesidad del agregado de cloro, previo a su uso en los frigoríficos y el monitoreo continuo de la calidad del agua. Al igual que en el etapa I del presente estudio, numerosos trabajos de diferentes países (Kayembe y col., 2018; Kostyla y col., 2015; Nienie y col., 2017; Sanna y col., 2016) identificaron la presencia de coliformes fecales como la principal causa de contaminación del agua, pudiendo ser las excretas de los animales uno de los orígenes. A partir de esta observación, surgió la propuesta de mejora, de realizar el control de efluentes anualmente en cada planta, por una empresa especializada para tal fin.

Las mejoras que se obtuvieron luego la clorinación del agua, respetando su correcta dosificación, tiempo de acción y protección en los tanques de colección, influyeron en la disminución de la cuantificación del riesgo de cada planta. Según

Bello y col. (2011) el uso de agua no potable en los frigoríficos podría contribuir a la contaminación de la media res en el lavado previo al ingreso a cámaras.

Además de los resultados obtenidos con ambas planillas de cuantificación de riesgo, los recuentos bacterianos de las medias reses se utilizaron como un indicador aceptable de la calidad de la higiene (Nørrung y Buncic, 2008; Ramoneda y col., 2013), ya que las características de los frigoríficos influyen en la carga bacteriana de las medias reses (Barco y col., 2015). Luego de comparar los resultados de ambas etapas, observamos una reducción en los recuentos de microorganismos indicadores en dos de los frigoríficos luego de la aplicación de BPM, BPH y POES.

En el frigorífico A, en cambio, se observaron mayores recuentos en la etapa III, los cuales se asoció a su larga estadía en cámaras, ya que ante el análisis de los datos de las medias reses muestreadas observamos que aproximadamente el 20,0% de las seleccionadas llevaban más de 6 días en cámaras. En los frigoríficos provinciales generalmente, el retiro de producto no se realiza por fecha de producción, sino por la solicitud de aquellos matarifes que solo llevan algunos animales a faenar. Esto conlleva a una manipulación continua de las medias reses, además de estar sometidas a variaciones de temperaturas, demostradas en los registros previos a la toma de muestra en este trabajo. Dichas variaciones de temperaturas fueron descritas también por Rébak y col. (2011), en frigoríficos de otras provincias del país. La temperatura de almacenamiento se considera uno de los factores más importantes que afectan el deterioro de la carne al interferir en la duración de la fase lag, la tasa de crecimiento y los recuentos de bacterias finales (Doulgeraki y col., 2012). En la práctica diaria de aquellos establecimientos que

no implementan HACCP, a menudo ocurren desviaciones significativas de las condiciones especificadas, el monitoreo y registro de la temperatura, debiendo ser un requisito para el control de la cadena alimentaria (Nychas y col., 2008).

Algunos autores han descrito recuentos de mesófilos similares a los obtenidos en este trabajo, en frigoríficos con características similares (3,96-4,81 log UFC/cm²) (Nouichi y Hamdi, 2009), mientras que otros han descrito recuentos mucho más altos de tanto en coliformes (3,70-5,50 log UFC/cm²) como en *E. coli* (3,8-5,4 log UFC/cm²) (Festus Jaja y col., 2018). En relación a los frigoríficos de exportación de Argentina que aplican planes HACCP, Signorini y col. (2018) describieron al menos dos órdenes más bajos en los recuentos de los tres indicadores; estas diferencias entre las categorías de frigoríficos destacan nuevamente la importancia de implementar un sistema de gestión de calidad en las plantas, para garantizar la seguridad de los alimentos.

La contaminación fecal de las superficies de la media res bovina durante la faena, tanto por el contacto del cuero durante el proceso de cuereado como por el contenido digestivo durante la evisceración puede incluir agentes zoonóticos (Hauge y col., 2015). Según Wilhelm y col., (2011), luego de aplicación de un plan HACCP, se suelen observar reducciones más consistentes para los microorganismos indicadores asociadas con la higiene del proceso que para los patógenos. Sin embargo, en este trabajo se observaron reducciones importantes en la presencia de patógenos en la etapa III, después de la implementación de mejoras.

Varios autores han descrito el aislamiento de microorganismos patógenos en el entorno del frigorífico y el riesgo asociado de contaminación de la carne por el medio ambiente, como delantales, cuchillos, sierras, manos, ropa y suelo del establecimiento (Aftab y col., 2012; Gun y col., 2003; Kore y col., 2017). STEC O157:H7, no-O157 y *Salmonella* spp., tienen la capacidad de perpetuarse en la planta y los equipos mediante la formación de biofilms (Galie y col., 2018). Masana y col. (2010), habían descrito previamente en frigoríficos de nuestro país, la presencia de clones de STEC en varias visitas consecutivas. En este trabajo, pudo verse en relación a los clones de *Salmonella*, su persistencia en la planta, aún entre etapas, aunque sería necesario el corte con otras enzimas de restricción o el uso de otras técnicas con mayor poder discriminatorio. Para el tratamiento de los biofilms se pueden usar varios desinfectantes químicos dependientes de la concentración y del tiempo, siendo el objetivo, reducir las poblaciones microbianas a niveles seguros para los consumidores (Schmidt y col., 2012). La desinfección del ambiente y los equipos es esencial para la prevención de la contaminación cruzada (Bayoumi y col., 2012). Esto explica una vez más la importancia de una correcta aplicación de los POES, respetando tiempos y concentraciones del desinfectante elegido para utilizar en cada establecimiento. Si bien los POES, son tan importantes los pre-operacionales como los operacionales, se trabajó en las capacitaciones, la importancia de que la jornada de trabajo, debe comenzar con las instalaciones completamente sanitizadas, ya que de las 13 cepas de O157:H7 aisladas en la etapa I, 12 (92,3%) correspondieron a aislamientos de las visitas pre-operacionales. Situación similar, se observó con los aislamientos de

Salmonella enterica, donde de los 26 obtenidos en la etapa I, 13 (50,0%) correspondieron a las visitas pre-operacionales.

En el presente estudio, se observaron clones circulantes de STEC no-O157 y de *Salmonella enterica* entre muestras de medias reses, carne de cabeza, ambiente y agua de lavado y enfriado de vísceras dentro del mismo frigorífico. Dichos hallazgos, confirman la evidencia de contaminación cruzada dentro de las plantas. Esto resalta la importancia de la implementación de POES para la reducción de riesgos.

Este estudio proporcionó la primera información bacteriológica del agua de lavado y enfriado de vísceras provenientes de frigoríficos provinciales de nuestro país. Fue posible el aislamiento de los tres grupos de patógenos buscados. Además, se observó la presencia de clones circulantes de STEC entre vísceras, carne de cabeza y ambiente, y en *Salmonella* se observaron clones circulantes entre vísceras, medias reses y ambiente. Estos hallazgos de contaminación cruzada con el mismo serovar entre los productos y ambiente del frigorífico, sugieren la posibilidad de trasladar dicha contaminación hasta el ambiente de las carnicerías (Garedew y col. 2015; Realpe-Quintero y col. 2018). Las vísceras son subproductos, que sin demasiado procesamiento previo más que el refrigerado, son conservados, exhibidos y comercializados en las carnicerías, junto con el resto de los productos cárnicos y en oportunidades otros tipos de alimentos, inclusive listos para el consumo.

Al igual que con la información disponible de vísceras, no se dispone demasiada información de la calidad microbiológica de la carne de cabeza

proveniente de los frigoríficos provinciales. La cabeza, como la parte más baja del animal durante las primeras etapas de la faena, tiene un riesgo particular de contaminación con respecto a otras partes de la media res por salpicadura, drenaje de agua superficial y contacto con operarios y superficies (Gill y col., 1999). Por tales situaciones, Rébak y col. (2011) describieron la presencia de ingesta en carne de cabeza en el 0,07% de las muestras analizadas en frigoríficos de otras provincias de nuestro país. La importancia de la calidad microbiológica de la carne de la cabeza radica, en que las carnicerías, este producto suele destinarse a la preparación de carne picada, una matriz de la cual varios autores ya han descrito el aislamiento de STEC O157:H7, no-O157, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* (Barril y col., 2019; Leotta y col., 2016; Llorente y col., 2014; Salinas Ibáñez y col., 2018; Tanaro y col., 2010). Las áreas de manipulación de vísceras, fueron los lugares en los cuales se registraron menos cambios luego de la etapa de implementación de mejoras, siendo el único sector que no presentó diferencias significativas en ninguno de los tres establecimientos al momento de comparar las dos etapas del trabajo. Revistiendo vital importancia, que la autoridad sanitaria, continúe con el control y acompañamiento, sobre las obras a realizarse en dichos sectores, que habían comenzado en algunas de las plantas, en el momento en que se realizaron las visitas correspondientes a la etapa III.

Según la FAO, el serotipo en sí no es un factor de virulencia; entre los cientos de serotipos conocidos de STEC, no todos han sido implicados en infecciones humanas (FAO/OMS, 2018). En Argentina, más del 70% de los casos

de enfermedad grave corresponden a STEC O157:H7, mientras que el resto corresponde a STEC no-O157 (Galli y col., 2016).

Luego de comparar ambas etapas, se observó que el aislamiento de STEC O157:H7 presentó una disminución en medias reses aunque no en muestras ambientales. Sin embargo, en agua de lavado y enfriado de vísceras de la etapa III, no se aisló STEC O157:H7, puede deberse esta situación, a que las cepas STEC O157:H7 de la etapa I, se asilaron de un mismo frigorífico, que en la etapa II modificó sus procesos de faena incorporando el atado de esófago y culata, dos PCC donde pueden contaminarse las vísceras. En medias reses, la prevalencia de STEC O157:H7 (3,3%) en la etapa I, fue similar a la descrita por otros autores en el resto del mundo, entre el 2,8% y el 5,0% (Loiko y col., 2016; McEvoy y col., 2003a; Nastasijevic y col., 2009; Varela-Hernandez y col., 2007). Sin embargo, al igual que en este trabajo, la mayoría de los frigoríficos muestreados, coinciden en la falta de HACCP. En aquellos establecimientos que funcionan bajo un control de calidad estricto, las prevalencias en medias reses son menores, aún que las obtenidas en nuestro trabajo luego de la implementación de las mejoras (2,7%), según la revisión realizada por Rhoades y col. (2009), las prevalencias notificadas en este tipo de plantas, fueron del 0,47% en Inglaterra, 0,0% (de 780 medias reses) en Irlanda del Norte y 0,0% (de 270 medias reses) en los Países Bajos; otros autores han descrito prevalencias similares también en frigoríficos con HACCP 0,0% (Arthur y col., 2004), 0,1% (Bohaychuk y col., 2011), 0,4% (Narvaez-bravo y col., 2013^a), 0,54% (Abdissa y col., 2017). En relación con los frigoríficos exportadores de nuestro país, la prevalencia luego de las mejoras, es similar a la descrita por Masana y col. (2010) (2,6%), hace 10 años atrás. En la actualidad, el

aumento de las exigencias de los países de destino motivaron el reconocimiento de STEC como peligro en el plan HACCP, generando mejoras en la implementación del mismo. Por tal motivo, en los últimos años, no se registran aislamientos de STEC O157:H7 en esta categoría de establecimientos (RASFF, 2019).

Un hallazgo particular, fue el aislamiento de 2 cepas O157:H21 toxigénicas, a partir de muestras de medias reses. Dicho serotipo, fue previamente descrito en animales de consumo, tanto en jabalíes en España (Sánchez y col., 2010) como en bovinos en Japón (Ministerio de Nara, 2014), sin embargo, este es el primer informe de dicho serotipo en carne de bovinos en Argentina. Sería interesante continuar estudiando estas cepas, ya que al ser *ehxA* y *saa* positivas, según la clasificación de EFSA (2013), deberían ser consideradas como de alto potencial del riesgo.

En relación a STEC no-O157, en la etapa III se observó una disminución en el aislamiento en medias reses aunque no en muestras ambientales; en agua de lavado y enfriado de vísceras, los resultados se mantuvieron sin variaciones. Aunque se observó una reducción en los aislamientos en medias reses, luego de la aplicación de las mejoras propuestas, fue aún más evidente tal reducción en el análisis de las detecciones. En la etapa I se detectaron el 97,2% de las medias reses como positivas al gen *Stx*, mientras que en la etapa III fue el 40,2% de las medias reses, las que arrojaron un resultado positivo. Sin embargo, los valores de aislamiento correspondieron al 18,8% y 13,8% en las etapas I y III, respectivamente. Estas diferencias, pueden justificarse con las limitaciones que poseen las técnicas de aislamiento actuales en relación a la sensibilidad y

especificidad que han alcanzado las técnicas de tamizajes disponibles en el mercado (Costa y col., 2019). Como muchos patógenos, las cepas de STEC generalmente están presentes en un bajo número de células en muestras de alimentos, por tal motivo, el enriquecimiento es un paso necesario para estimular el desarrollo de células potencialmente estresadas, aumentar su número, y además diluir los efectos de los inhibidores y la microbiota competitiva que pueda estar presente en la muestra (Wang y col., 2013). Sin embargo, la heterogeneidad de STEC determina que los caldos de enriquecimiento selectivos para algunos serogrupos puedan inhibir el desarrollo de otros (Drysdale y col., 2004; Feng y col., 2011). Por tales motivos, su aislamiento puede optimizarse utilizando un paso previo de inmunocentración específico para los distintos serogrupos (Rivas y col., 2015). Un inconveniente es que los métodos para detectar serogrupos no-O157 aún no se han refinado en comparación con los utilizados para la detección de O157 (Hallewell y col., 2017; Kraft y col., 2017). Sumado a esto, algunos autores han descrito dificultades para aislar ciertos serogrupos STEC no-O157 particulares (Feldsine y col., 2016; Fratamico y col., 2017; Hallewell y col., 2017). Además, la principal limitación para la detección de STEC no-O157 es la falta características fisiológicas diferenciales para distinguir entre los más de 1152 serogrupos de STEC no-O157 y las cepas de *E. coli* no patógenas (Bettelheim y Goldwater, 2014; Coombes y col., 2008; Mathusa y col., 2010; Mingle y col., 2012).

Al igual que los resultados obtenidos en ambas etapas de este trabajo, Barkocy-Gallagher y col. (2003), describieron que la prevalencia de células portadoras de genes Stx fue mayor que la de STEC O157:H7 o *Salmonella* en

medias reses. De acuerdo a una revisión realizada por Stromberg y col. (2018), el porcentaje de muestras positivas de medias reses para STEC no-O157 osciló entre 0,0% y 69,9%, encontrándose la mayoría de los resultados en menos del 10,0%. Los valores de aislamientos en medias reses del resto del mundo, variaron entre 0,8% (Varela-Hernandez y col., 2007) y 8,9% (Barkocy-Gallagher y col., 2003). En comparación a los resultados obtenidos en este trabajo, dichos aislamientos fueron menores aún que los obtenidos luego de la etapa de mejoras. Relacionando con los frigoríficos exportadores de nuestro país, los valores de detección de la etapa III fueron semejantes a los descritos por Signorini y col. (2018), encontrándose los mismos entre el 4,0% y el 57,3% según las características de las distintas plantas pero todas con sistemas de HACCP. Sin embargo, los aislamientos fueron mayores, en comparación a los resultados de Brusa y col., (2017) y Masana y col., (2011) los cuales se encontraron entre el 5,8% y 9,0%. Nuevamente estos resultados, dejan de manifiesto la importancia que reviste el control de la calidad durante el proceso de faena.

Las cepas de STEC productoras de toxina *stx*₂ a menudo están más relacionadas con el SUH que las cepas productoras de *stx*₁ (Paton y Paton, 2002). En este estudio, fue predominante el aislamiento de cepas productoras de toxina *stx*₂ sobre la combinación de *stx*₁/*stx*₂, no siendo posible el aislamiento de ninguna cepa productora de *stx*₁ solamente. Etcheverría y col. (2010), describieron la misma situación en nuestro país como de distintos países del mundo (Barkocy-Gallagher y col., 2001; Bonardi y col., 1999; Chapman y col., 2001; Johnsen y col., 2001; Keen & Elder, 2002; Sekiya, 1997; Zhao y col., 1995). Sin embargo,

no es posible asumir que las cepas aisladas en el presente trabajo sean causales de SUH, simplemente por la tenencia de toxina *stx*₂.

Las cepas aisladas de STEC no-O157 de muestras de medias reses, carne de cabeza y agua de vísceras no pertenecían a serogrupos comúnmente asociados con casos de enfermedad humana. Sin embargo, se aislaron dos cepas positivas para O145:NM (*eae*+) de muestras ambientales, siendo el segundo serogrupo responsable del SUH en Argentina (Oderiz y col., 2018). Esta situación plantea el riesgo de una posible contaminación de las medias reses a partir del ambiente contaminado. Una vez más, esto enfatiza la importancia de implementar correctamente los POES tanto pre-operacionales como operacionales. Además, varios autores, han descripto serogrupos de STEC no-O157 *eae* negativos, asociados a diarrea sanguinolenta o SUH en pacientes de Argentina, O8:H19, O91:H21, O113:H21, O174:H21, O174:H28, O178:H19 y OND:HNM (Rivas y col., 2006; Galli y col. 2010; Miko y col., 2014). En la etapa I, de las 48 cepas de STEC no-O157 aisladas, 25 (52,0%) fueron coincidentes, con estos serogrupos, provenientes mayoritariamente de muestras de medias reses (N=18), pero también de ambiente (N=4) y agua de lavado y enfriado de vísceras (N=3). En cambio, en la etapa III, luego de la implementación de mejoras, de las 20 cepas de STEC no-O157 aisladas, 4 (20,0%) correspondieron a estos serogrupos, provenientes una de cada tipo muestra de medias reses, carne de cabeza, ambiente y agua de lavado y enfriado de vísceras. Esto demuestra que las BPM, BPH y POES, implementados han sido eficientes, pero aún es necesario seguir trabajando en mejorar continuamente, para la obtención de alimentos inocuos para los consumidores.

Al igual que lo planteado por Narvaez-bravo y col., (2013^a), en la etapa I del presente trabajo, fue posible el aislamiento de mayor número de cepas de *Salmonella enterica* que de STEC O157. En dicha etapa, se aisló *Salmonella enterica* de los 4 tipos de muestras analizadas, sin embargo, luego de las mejoras propuestas no se aisló de las muestras de medias reses ni de carne de cabeza en ninguno de los tres frigoríficos, ni de ninguna de las muestras recolectadas en los frigoríficos B y C.

Existe una amplia variedad de trabajos disponibles, que detallan la problemática de la presencia de *Salmonella enterica* tanto en medias reses como en los ambientes de los frigoríficos, destacando la posibilidad de existencia de contaminación cruzada entre el cuero de los animales, materia fecal, entre las mismas medias reses y el ambiente (Aftab y col., 2012; Narvaez-bravo y col., 2013; Kore y col., 2017; Fegan y col. 2004). A partir de los resultados obtenidos en este trabajo, se observó la misma problemática, recalando continuamente la necesidad de implementar de modo correcto un plan de HACCP en todos los frigoríficos (Cossi y col., 2014).

Autores de diversos países describen distintas prevalencias de *Salmonella enterica* en medias reses, dependiendo la condición de calidad implementada en cada establecimiento, encontrándose valores entre el 0,1% (Barkocy-Gallagher y col., 2003) o 0,25% (Khen y col., 2014) y el 15,4% (Pérez-Montaña y col., 2012) o el 18,0% (Martinez-Chavez y col., 2015). Los aislamientos realizados a partir de las medias reses de este trabajo en la etapa I fueron del 6,6%, sin embargo en etapa III, no fue posible el aislamiento a partir de medias reses.

En relación a las muestras ambientales, es importante destacar que de las 14 cepas de *Salmonella enterica*, 6 (42,8%), correspondieron a aislamientos de las manos de los operarios. Estos valores fueron mucho más altos de los descriptos previamente por Sibhat y col. (2011), del 2,0%. Esto remarca la importancia las temáticas abordadas en las capacitaciones sobre BPH personales, con especial hincapié en el lavado de manos. En la etapa III, no se aisló de *Salmonella enterica* a partir de las manos de los operarios.

En este trabajo, fue posible es aislamiento de 6 serovares distintos, correspondiendo el mayor porcentaje de aislamientos a los serovares Anatum (N=14) y Montevideo (N=12). En comparación con otros trabajos, los serovares reportados como más frecuentes en medias reses y ambiente de frigoríficos han sido diferentes según la región, *S. Typhimurium* y *S. Newport* en Etiopia (Alemu y Zewde, 2011); *S. London*, *S. Cerro*, *S. Montevideo*, *S. Muenster* y *S. Agona* en Nebraska (Bosilevac y col., 2019); *S. Dublin*, *S. Typhimurium* y *S. Agona* en Irlanda (McEvoy y col., 2003).

En Argentina, *S. Typhimurium* es el serovar más frecuente aislado a partir de muestras de humanos, seguido de *S. Enteritidis* y *S. Newport* (Caffer y col., 2010), en este trabajo, fue posible aislar *S. Typhimurium* de muestras de medias reses y carne de cabeza, y *S. Newport* del agua de lavado y enfriado de vísceras. En Argentina, los casos de enfermedad humana por *S. Montevideo* son escasos; sin embargo, se destaca su alta prevalencia en la alimentación animal, por tal motivo se informó como el serovar más común en bovinos alimentados con granos (Bosilevac y col., 2019). *Salmonella* Anatum ha sido asociada con la contaminación de los alimentos para consumo humano (Caffer y col., 2010). En

este trabajo se ha descrito la presencia de *S. Anatum* y *S. Montevideo* en muestras de medias reses y ambientales, al igual que en frigoríficos de otros países (Narváez-Bravo y col., 2013; Sibhat y col., 2011). El aislamiento de estos serovares en ambiente, reviste especial importancia ya que están asociados con la capacidad de formar biofilms en diferentes superficies (Xia y col., 2009). En consecuencia, fue necesario puntualizar en las capacitaciones el uso de hipoclorito de sodio en tiempos y concentraciones apropiados y la limpieza mecánica y abrasiva para lograr su eliminación (Rodrigues y col., 2011; Wong y col., 2010). Los resultados fueron evidentes al permitir el aislamiento de solo 3 cepas de los mismos serovares en la etapa III. Sin embargo, los análisis de relación clonal, demostraron que además de existir clones circulantes dentro de un mismo frigorífico y entre frigoríficos, fue posible hallar relación entre etapas, lo que demuestra que los POES, deben seguir siendo perfeccionados acompañados de las capacitaciones continuas de los operarios.

En relación a la clonalidad obtenida de las cepas de *Salmonella enterica* proveniente de los frigoríficos provinciales, es necesario aclarar que actualmente, debido a la estabilidad de los perfiles generados, el poder discriminatorio y la reproducibilidad de los resultados, PFGE se considera el estándar de oro para el genotipado de *Salmonella* spp. y el único método molecular universal apropiado para todos los serovares de *Salmonella* spp. (Ferrari y col., 2017). Sin embargo se ha descrito que esta técnica tiene poco poder discriminatorio para algunas serovariedades altamente clonales como Enteritidis y Thiphimurium, especialmente cuando se utiliza una única enzima de restricción (Zheng y col., 2011). Tang y col. (2019) observaron que el 45,0% de los aislamientos de la

serovariedad de *S. Enteritidis* de PulseNet presentan el mismo patrón de PFGE por corte con *XbaI* aun cuando los mismos no están relacionados epidemiológicamente. En el presente estudio se observó una alta clonalidad en las serovariedades Anatum y Montevideo.

Los resultados microbiológicos, respaldaron los resultados obtenidos a partir de las planillas de cuantificación de riesgo. En la etapa I, donde el riesgo de contaminación del producto fue alto, fue posible aislar mayor cantidad de patógenos. En cambio, posterior a las mejoras que surgieron en respuesta a las problemáticas identificadas mediante el uso de las planillas, que permitieron detectar los sectores que requerían mayor atención, tanto estructural como de revisión de procesos, el riesgo disminuyó en los tres establecimientos, y con él, los aislamientos de patógenos. Esto permitió reconocer a las planillas de cuantificación de riesgo, como una herramienta útil para el control del proceso en los establecimientos.

Además de los resultados satisfactorios obtenidos en los frigoríficos, este trabajo fue una prueba piloto realizada en conjunto con la autoridad sanitaria, donde se observaron diversos cambios. En el comienzo del trabajo, una de las principales falencias que comunicaron las autoridades, fue la falta de uniformidad en los criterios para las auditorías por parte de los veterinarios oficiales. Con la validación de las planillas de cuantificación de riesgo, esta problemática podría ser resuelta. Las planillas permiten llevar un orden de auditoría, sin saltar ningún sector del establecimiento, poniendo el foco en los puntos que revisten mayor riesgo para la inocuidad del alimento producido. Luego de la finalización del trabajo, se transfirieron las planillas a los responsables del área de control del

Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires, para que puedan implementarlas para corregir la problemática por ellos mismos comunicada.

Otra problemática detectada en la etapa I, fueron inconvenientes en relación a la presencia de los veterinarios responsables del control en las visitas periódicas a las plantas. Sin embargo, para la etapa III del proyecto, se comenzó a realizar un trabajo conjunto entre el Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires y SENASA, donde se planificaron visitas conjuntas a los frigoríficos provinciales. Alentando así, a la posibilidad de tener un solo estándar sanitario en el país, entendiéndose que los consumidores deben recibir alimentos inocuos, sin importar su lugar de residencia (Argentina o exterior) y siendo responsabilidad del Estado, velar por que así sea.

Este trabajo se centró en la posibilidad de realizar un estudio integral de los frigoríficos en la provincia de Buenos Aires mediante la cuantificación de riesgos junto con su verificación bacteriológica en productos y sub-productos. Se obtuvieron resultados satisfactorios debido a la posibilidad de realizar un trabajo de investigación aplicada en conjunto con las autoridades sanitarias. Sin embargo, este proyecto es solo el comienzo de un proceso de cambios y mejoras que serán verificadas por las autoridades sanitarias a partir de ahora, aprovechando las nuevas herramientas adquiridas, mejorando así la seguridad de la carne antes de que llegue a los consumidores.

7. CONCLUSIONES

1. Este trabajo, fue una prueba piloto en conjunto con la autoridad sanitaria, para evaluar y cuantificar el riesgo de contaminación en tres frigoríficos bovinos de la provincia de Buenos Aires y a partir de ello implementar mejoras y evaluar su éxito.
2. Las mejoras propuestas se basaron en la implementación de BPM, BPH y POES, acompañado de capacitaciones para la gerencia y el personal en conceptos de manipulación de alimentos.
3. Luego de implementación de mejoras, se disminuyó el riesgo de contaminación de los productos y los sub-productos, de alto a moderado en los tres establecimientos. Sin embargo, es fundamental que la autoridad sanitaria continúe trabajando, para que el riesgo de contaminación en cualquier día o momento de trabajo sea bajo.
4. A partir de la correcta clorinación del agua y su registro, se obtuvo el 82,2% de las muestras de agua, de calidad potable.
5. Se detectaron clones circulantes de STEC O157:H7, no-O157 y *Salmonella enterica*, demostrando la presencia de contaminación cruzada entre los productos entre sí y con el ambiente, destacando la importancia de la aplicación correcta de los POES.

6. Luego de la implementación de mejoras se redujo el aislamiento de STEC O157:H7 y *Salmonella enterica* en medias reses, carne de cabeza y agua de lavado y enfriado de vísceras.
7. Ninguna de las cepas de STEC aisladas de producto, correspondieron a los serotipos asociadas a SUH en Argentina.
8. A partir de los resultados microbiológicos obtenidos, se validó el uso de las planillas pre-operacional y operacional, como herramienta para cuantificar el riesgo en cada día y etapa del proceso.
9. Luego de las capacitaciones y compromiso de las empresas, los operarios de los frigoríficos obtuvieron la libreta sanitaria, obligatoria en Argentina para todo el personal que manipule alimentos.
10. Se identificó la necesidad de establecer un único estándar sanitario fundado en la implementación de HACCP, para todos los frigoríficos del país, sin distinción de consumidores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abdissa R, Haile W, Teklu Fite A, Feyisa Beyi A, Agga GE, Mammo Edao B, Tadesse F, Geloye Korsu M, Beyene T, Jibat Beyene T, De Zutter L, Cox E, Maria Goddeeris B. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in beef cattle at slaughter and beef carcasses at retail shops in Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*. 2017; 17: 277.
2. Aboh EA, Giwa FJ, Giwa A. Microbiological assessment of well waters in Samaru, Zaria, Kaduna, State, Nigeria. *Ann Afr Med*. 2015; 14 (1): 32-38.
3. Adam K, Brülisauer F. The application of food safety interventions in primary production of beef and lamb: A review. *Int J Food Microbiol*. 2010; 141: S43–S52.
4. Addis M. Major causes of meat spoilage and preservation techniques: A review. *Food Sci Qual Manag*. 2015; 41: 101-115.
5. Adeolu AT, Opasola AO, Salami OO, Iyanda AY, Omenta RC. Sanitary Status and Compliance with the Standard Slaughter Practices in Karu Abattoir Abuja Municipal Area Council of the FCT, Nigeria. *Int J Cur Innov Advan Res*. 2019; 2(2): 1-14.
6. Aftab M, Rahman A, Qureshi MS, Akhter S, Sadique U, Sajid A, Zaman A. Level of *Salmonella* in beef of slaughtered cattle at peshawar. *J Anim Plant Sci*. 2012; 22(2): 24-27.
7. Alemu S, Zewde BM. Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella enterica* serovars isolated from slaughtered cattle in Bahir Dar, Ethiopia. *Trop Anim Health Prod*. 2012; 44: 595–600.

8. Ali NF, Farooqui A, Khan A, Khan AY, Kazmi SU. Microbial contamination of raw meat and its environment in retail shops in Karachi, Pakistan. *J Infect Dev Ctries*. 2010; 4 (6): 382-388.
9. Alvseike O, Røssvoll E, Røtterud OJ, Nesbakken T, Skjerve E, Prieto M, Sandberg M, Johannessen G, Økland M, Urdahl AM, Haugea SJ. Slaughter hygiene in European cattle and sheep abattoirs assessed by microbiological testing and Hygiene Performance Rating. *Food Control*. 2019; 101: 233-240.
10. Amurri CA. El Mercado de la Carne Bovina en Argentina - Análisis Macroeconómico de la Actividad. Monografía. Licenciatura en economía. Universidad de Belgrano. 2018.
11. ANDA (Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados). Fuentes de agua. 2015. [Online] <http://www.anda.gob.sv/calidad-del-agua/fuentes-de-agua>.
12. Andrews WA, Hammack TS. *Salmonella*. En *Bacteriological analytical manual online*. Jackson GJ y col. (ed.). 2007.
13. ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica). Guía de Interpretación de Resultados Microbiológicos de Alimentos. 2005. [Online] http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/Guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf

14. Arceo N. La evolución del ciclo ganadero argentino en la segunda fase del modelo sustitutivo de importaciones. *Am. Lat. Hist. Econ.* 2017; 24 (3): 161-192.
15. Argentina.gob.ar. Argentina se consolida como 6° exportador mundial de carne vacuna. 2018. [Online] <https://www.argentina.gob.ar/noticias/argentina-se-consolida-como-6deg-exportador-mundial-de-carne-vacuna>
16. Arthur TM, Bosilevac JM, Nou X, Shackelford SD, Wheeler TL, Kent MP, Jaroni D, Pauling B, Allen DM, Koohmaraie M. *Escherichia coli* O157 Prevalence and Enumeration of Aerobic Bacteria, Enterobacteriaceae, and *Escherichia coli* O157 at Various Steps in Commercial Beef Processing Plants. *J Food Prot.* 2004; 67 (4): 658–665.
17. Arthur TM, Brichta-Harhay DM, Bosilevac JM, Guerini MN, Kalchayanand N, Wells JE, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M. Prevalence and characterization of *Salmonella* in bovine lymph nodes potentially destined for use in ground beef. *J Food Prot.* 2008; 71 (8): 1685-1688.
18. Audisio MC. Carnes rojas. En: *Manual de Microbiología de los Alimentos*. 1ª edición. Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Agrarias. 2007, p. 102-116.
19. Aven T. An Emerging New Risk Analysis Science: Foundations and Implications. *Risk Anal.* 2018; 38 (5): 876-888.
20. Aziz JA. Management of source and drinking-water quality in Pakistan. *East. Mediterr. Health J.* 2005; 11 (5/6): 1087- 1098.

21. Bagamboula CF, Uyttendaele M, Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiol. 2004; 21: 33–42.
22. Bai X, Fu S, Zhang J, Fan R, Xu Y, Sun H, He X, Xu J, Xiong Y. Identification and pathogenomic analysis of an *Escherichia coli* strain producing a novel Shiga toxin 2 subtype. Sci. Rep. 2018; 8 (6756): 1-11.
23. Bain R, Cronk R, Hossain R, Bonjour S, Onda K, Wright J, Yang H, Slaymaker T, Hunter P, Pruss-Ustun A, Bartram J. Global assessment of exposure to faecal contamination through drinking water based on a systematic review. TM and IH. 2014; 19 (8): 917–927.
24. Barco L, Belluco S, Roccato A, Ricci A. A systematic review of studies on *Escherichia coli* and Enterobacteriaceae on beef carcasses at the slaughterhouse. Int J Food Microbiol. 2015; 207: 30–39.
25. Barkocy-Gallagher GA, Arthur TM, Rivera-Betancourt M, Nou X, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M. Seasonal Prevalence of Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and Non-O157 Serotypes, and *Salmonella* in Commercial Beef Processing Plants. J Food Prot. 2003; 66 (11): 1978–1986.
26. Barkocy-Gallagher GA, Arthur TM, Siragusa GR, Keen JE, Elder RO, Laegreid WW, Koohmaraie M. Genotypic analyses of *Escherichia coli* O157:H7 and O157 nonmotil isolates recovered from beef cattle and carcasses at processing plants in the Midwestern of the United States. Appl Environ Microbiol. 2001; 67: 3810–3818.

27. Barreto M, Castillo-Ruiz M, Retamal P. *Salmonella enterica*: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. Rev Chilena Infectol. 2016; 33 (5): 547-557
28. Barril PA, Soto SA, Jaureguiberry MV, Gottardi G, Bascur I, Leotta GA, Oteiza JM. Microbiological risk characterization in butcher shops from the province of Neuquen, Patagonia Argentina. LWT - Food Sci Technol. 2019; 107: 35–40.
29. Bayoumi MA, Kamal RM, Abd El Aal SF, Awad EI. Assessment of a regulatory sanitization process in Egyptian dairy plants in regard to the adherence of some food-borne pathogens and their biofilms. Int J Food Microbiol. 2012; 158: 225–231.
30. Bello M, Lawan MK, Kwaga JKP, Raji MA. Assessment of carcass contamination with *E. coli* O157 before and after washing with water at abattoirs in Nigeria. Int J Food Microbiol. 2011; 150: 184–186.
31. Bentancor A. Síndrome Urémico Hemolítico en áreas urbanas. Rev Argent Microbiol. 2016; 48(1): 1-4.
32. Bersisa A, Tulu D, Negera C. Investigation of Bacteriological Quality of Meat from Abattoir and Butcher Shops in Bishoftu, Central Ethiopia. Int. J. Microbiol. 2019: 1-8.
33. Bettelheim KA, Goldwater PN. Serotypes of Non-O157 Shigatoxigenic *Escherichia coli* (STEC). Adv Microbiol. 2014; 4: 377-389.
34. Bifaretti AE, Brusca EA, Jairala M. Cambios socioeconómicos y demanda de carnes: ¿Cómo se construye el mapa del consumo de proteínas cárnicas en el

- mercado argentino? Asociación Argentina de Economía Agraria XLV Reunión Anual de la AAEA y IV Congreso Regional de Economía Agraria. 2014.
35. Bilbao GN, Malena R, Passucci JA, Pinto de Almeida Castro AM, Paolicchi F, Soto P, Cantón J, Monteavaro CE. Detección de serovares de *Salmonella* en terneros de crianza artificial de la región lechera Mar y Sierras, Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 2019; 51 (3): 241-246.
36. Boguniewicz-Zablocka J, Klosok-Bazan I, Naddeo V. Water quality and resource management in the dairy industry. *Environ Sci Pollut Res.* 2019; 26: 1208–1216.
37. Bohaychuk VM, Gensler GE, King RK, Manninen KI, Sorensen O, Wu JT, Stiles ME, McMullen LM. Occurrence of Pathogens in Raw and Ready-to-Eat Meat and Poultry Products Collected from the Retail Marketplace in Edmonton, Alberta, Canada. *J Food Prot.* 2006; 69 (9): 2176–2182.
38. Bonansea J, Lema D. La asignación de la “Cuota Hilton” en Argentina: un análisis económico. *Asociación Argentina de Economía Agraria.* 2006: 1-24.
39. Bonardi S, Maggi E, Bottarelli A, Pacciarini ML, Ansuini A, Vellini G, Morabito S, Caprioli A. Isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle at slaughter in Italy. *Vet Microbiol.* 1999; 67: 203–211.
40. Bosilevac JM, Gassem MA, Al Shedly IA, Almaiman SA, Al-Mohizea IS, Alowaimer A, Koohmaraie M. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in Camels, Cattle, Goats, and Sheep Harvested for Meat in Riyadh. *J Food Prot.* 2015; 78 (1): 89-96.

41. Bosilevac JM, Zhilyaev S, Wang R, Luedtke BE, Wheeler TL, Koohmaraie M. Prevalence and Characterization of *Salmonella* Present during Veal Harvest. *J Food Prot.* 2019; 82 (5): 775-784.
42. Brunder W, Schmidt H, Frosch M, Karch H. The large plasmids of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) are highly variable genetic elements. *Microbiol.* 1999; 45: 1005–1014.
43. Brusa, V. Trabajo de Tesis desarrollo y validación intralaboratorio de una metodología para la detección y aislamiento de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en carne bovina molida. Desarrollo de estrategias de control. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. 2015.
44. Brusa V, Restovich V, Galli L, Teitelbaum D, Signorini M, Brasesco H, Londero A, García D, Padola NL, Superno V, Sanz M, Petroli S, Costa M, Bruzzone M, Sucari A, Ferreghini M, Linares L, Suberbie G, Rodríguez R, Leotta GA. Isolation and characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from beef carcasses, cuts and trimmings of abattoirs in Argentina. *PLoS One.* 2017; 12 (8).
45. Brusa V, Restovich V, Signorini M, Pugin D, Galli L, Ruíz Díaz V, Arias R, Leotta GA. Evaluation of intervention measures at different stages of the production chain in Argentinian exporting abattoirs. *Food Sci. Technol. Int.* 2019; 0 (0): 1-6.
46. Bryant J, Brereton DA, Gill CO. Implementation of a validated HACCP system for the control of microbiological contamination of pig carcasses at a small abattoir. *Can Vet J.* 2003; 44: 51–55.

47. Buehler AJ, Wiedmann M, Kassaify Z, Cheng RA. Evaluation of *invA* Diversity among *Salmonella* Species Suggests Why Some Commercially Available Rapid Detection Kits May Fail to Detect Multiple *Salmonella* Subspecies and Species. *J Food Prot.* 2019; 82 (4): 710–717.
48. Bula-Rudas FJ, Rathore MH, Maraqa NF. *Salmonella* Infections in Childhood. *Adv Pediatr.* 2015; 62: 29–58.
49. Buncic S, Nychas GJ, Lee MRF, Koutsoumanis K, Hébraud M, Desvaux M, Chorianopoulos N, Bolton D, Blagojevic B, Antic D. Microbial pathogen control in the beef chain: Recent research advances. *Meat Sci.* 2014; 97: 288–297.
50. Caffer MI, Alcain A, Panagopulo M, Moron M, Brengi S, Terragno R. Serovariedades de *Salmonella* spp. en Argentina, 2007-2009. *Rev Argent Microbiol.* 2010; 42 (1): 80.
51. Caffer MI, Terragno, R. Familia *Enterobacteriaceae*. En: *Enterobacterias: Actualización diagnóstica. Servicio de Enterobacterias. Departamento de Bacteriología. INEI-ANLIS- Dr. Carlos G. Malbrán. Buenos Aires, Argentina. 2008. p 1-5.*
52. Caletti MG, Petetta D, Jaitt M, Casaliba S, Gimenez A. Evaluacion de costos directos e indirectos del tratamiento del Síndrome Urémico Hemolítico en sus distintas etapas evolutivas. *Medicina (Buenos Aires).* 2006; 66: 22-26.
53. Camargo AC, Coutinho Cossi MV, Padilha da Silva W, dos Santos Bersot L, Landgraf M, Baranyi J, Gombossy de Melo Franco BD, Augusto NL.

- Microbiological Testing for the Proper Assessment of the Hygiene Status of Beef Carcasses. *Microorganisms*. 2019; 7 (86): 1-11.
54. Cap M, Carbonari CC, D'Astek BA, Zolezzi G, Deza N, Palladino MP, Masana M†, Chinen I, Rivas M. Frequency, characterization and genotypic analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef slaughterhouses of Argentina. *Rev Argent Microbiol*. 2019; 51 (1): 32-38.
55. Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet. Res*. 2005; 36: 289–311.
56. Casani S, Rouhany M, Knøchel S. A discussion paper on challenges and limitations to water reuse and hygiene in the food industry. *Water Res*. 2005; 39: 1134–1146.
57. Cendón ML, Unger N. La diversidad de prácticas de calidad en la industria frigorífica de la provincia de Buenos Aires. VI Jornadas Interdisciplinarias de Estudios Agrarios y Agroindustriales. Facultad de Ciencias Económicas de la Universidad de Buenos Aires. 2009.
58. Chapman PA, Cerdan Malo AT, Ellin M, Ashton R, Harkin MA. *Escherichia coli* O157 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire, UK. *Int J Food Microbiol*. 2001; 64: 139–150.
59. Chinen I, Tanaro JD, Miliwebsky E, Lound LH, Chillemi GM, Ledri S, Baschkier A, Scarpin M, Manfredi E, Rivas M. Isolation and characterization

- of *Escherichia coli* O157:H7 from retails meats in Argentina. J Food Prot. 2001; 64: 1346-1351.
60. CICCRA (Cámara de la Industria y Comercio de Carnes y Derivados de la República Argentina). Informe Económico Mensual. 2019.
61. Cobbold R, Desmarchelier P. A longitudinal study of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) prevalence in three Australian dairy herds. Vet Microbiol. 2000; 71: 125-137.
62. Cobbold R, Desmarchelier P. Horizontal Transmission of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* within Groups of Dairy Calves. Appl Environ Microbiol. 2002; 68 (8): 4148–4152.
63. Codex Alimentarius. Código internacional recomendado de prácticas principios generales de higiene de los alimentos CAC/RCP 1-1969, Rev. 4. 2003.
64. Código Alimentario Argentino (CAA). Capítulo II Condiciones generales de las Fábricas y Comercios de Alimentos. 2019. [Online] https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/capitulo_ii_establec_actualiz_2019-08.pdf.
65. Código Alimentario Argentino (CAA). Capítulo VI Alimentos cárneos y afines. 2019. [Online] https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/capitulo_vi_carneos_actualiz_2019-06_.pdf.

66. Código Alimentario Argentino (CAA). Capítulo XII Bebidas Hídricas, Agua y Agua Gasificadas. 2012. [Online] http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/CAPITULO_XII.pdf.
67. Consorcio ABC. 2019. [Online] www.abc-consorcio.com.ar.
68. Coombes BK, Wickham ME, Mascarenhas M, Gruenheid S, Finlay BB, Karmali MA. Molecular analysis as an aid to assess the public health risk of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *Appl Environ Microbiol.* 2008; 74 (7): 2153-60.
69. COPAL. Programa de Prerrequisitos para garantizar la inocuidad. 2012. [Online] <http://copal.org.ar/wp-content/uploads/2015/06/prerrequisitoshaccp.pdf>.
70. Córdoba DM. Procesos de intervención con enfoque de Cadena Productiva y su contribución a la articulación a mercados de productores de pequeña escala. En: *Las Relaciones Internacionales de la Pobreza en América Latina y el Caribe*. Buenos Aires, Argentina, CLACSO. 2012; 369-396.
71. Cossi MVC, Burin RCK, Camargo AC, Dias MR, Lanna FGPA, Pinto PSA, Nero LA. Low occurrence of *Salmonella* in the beef processing chain from Minas Gerais state, Brazil: From bovine hides to end cuts. *Food Control.* 2014; 40: 320–323.
72. Costa M, Sucari A, Epszteyn S, Oteiza JM, Gentiluomo J, Melamed C, Figueroa Y, Mingorance S, Grisaro A, Spioussas S, Buffoni Almeida M, Caruso M, Pontoni A, Signorini M, Leotta GA. Comparison of six commercial

- systems for the detection of non-O157 STEC in meat and vegetables. *Food Microbiol.* 2019; 84: 103273.
73. Crump JA, Sjölund-Karlsson M, Gordon MA, Parrye CM. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. *Clin Microbiol Rev.* 2015; 28 (4): 901-937.
74. Daum LT, Barnes WJ, McAvin JC, Neidert MS, Cooper LS, Huff WB, Gaul L, Riggins WS, Morris S, Salmen A, Lohman KL. Real-Time PCR Detection of *Salmonella* in Suspect Foods from a Gastroenteritis Outbreak in Kerr County, Texas. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40 (8): 3050–3052.
75. Dave D, Ghaly AE. Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review. *Am J Agric Biol Sci.* 2011; 6 (4): 486-510.
76. De Santos RM. Métodos rápidos y automatizados aplicados al análisis microbiológico de los alimentos. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. 2010.
77. Díaz Méndez C, Gómez Benito C. Del consumo alimentario a la sociología de la alimentación. *Revista Distribución y Consumo.* 2001: 5-23.
78. Donnenberg M. *Escherichia coli*: Pathotypes and Principles of Pathogenesis. Academic Press. 2013.
79. Douglas KE, Ovua A, Orji C, Sapira B. Health Implications of Sanitation in a Public Abattoir in Port Harcourt, Nigeria. *Nigerian Hea J.* 2013; 13(2): 91-95.

80. Doulgeraki AI, Ercolini D, Villani F, Nychas GJE. Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *Int J Food Microbiol.* 2012; 157: 130–141.
81. Drysdale M, MacRae M, Strachan NJC, Reid TMS, Ogden ID. The detection of non-O157 *E. coli* in food by immunomagnetic separation. *J Appl Microbiol.* 2004; 97: 220-224.
82. Edeza MJ, Chaidez Quiroz C, León Félix J. Calidad microbiológica de carne de res comercializada en el mercado municipal de Culiacán, Sinaloa. *Veterinaria Mexico.* 2012; 43 (4): 273-284.
83. Edrington TS, Callaway TR, Ives SE, Engler MJ, Looper ML, Anderson RC, Nisbet DJ. Seasonal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in ruminants: a new hypothesis. *Foodborne Pathog Dis.* 2006; 3: 413-421.
84. Edwards JR, Fung DC. Prevention and Decontamination of *Escherichia Coli* O157:H7 on Raw Beef Carcasses in Commercial Beef Abattoirs. *J Rapid Methods Autom Microbiol.* 2006; 14: 1–95.
85. EFSA. Scientific Opinion on VTEC-seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. *EFSA J.* 2013; 11 (4):3138 p. 1-106.
86. Elder RO, Keen JE, Siragusa GR, Barkocy-Gallagher GA, Koohmaraie M, Laegreid WW. Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *Proc Natl Acad Sci.* 2000; 97 (7): 2999-3003.

87. Essendoubi S, Stashko N, So I, Gensler G, Rolheiser D, Mainali C. Prevalence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O157:H7, six non-O157 STECs, and *Salmonella* on beef carcasses in provincially licensed Abattoirs in Alberta, Canada. *Food Control*. 2019; 105: 226-232.
88. Etcheverría AI, Lucchesi PMA, Krüger A, Bentancor AB, Padola NL. *Escherichia coli* in animals. En: *Escherichia coli* in the Americas. Torres AG (ed). Springer. 2016: 149-172.
89. Etcheverría AI, Padola NL. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* Factors involved in virulence and cattle colonization. *Virulence*. 2013; 4 (5): 1–7.
90. Etcheverría AI, Padola NL, Sanz ME, Polifroni R, Krüger A, Passucci J, Rodríguez EM, Taraborelli AL, Ballerio M, Parma AE. Occurrence of Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) on carcasses and retail beef cuts in the marketing chain of beef in Argentina. *Meat Sci*. 2010; 86: 418-421.
91. Fàbrega A, Vila J. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium skills to succeed in the host: virulence and regulation. *Clin Microbiol Rev*. 2013; 26 (2): 308-341.
92. FAO. Food, Nutrition and Agriculture - 15 - Food Safety and Trade. 1995. [Online] <http://www.fao.org/3/v9723t/v9723t00.htm>
93. FAO. Seguridad Alimentaria y Nutricional. Conceptos Básicos. Programa Especial para la Seguridad Alimentaria (PESA) en Centroamérica. 2011. [Online] <http://www.fao.org/3/a-at772s.pdf>

94. FAO/OMS. Directrices FAO/OMS para los gobiernos sobre la aplicación del sistema de APPCC en empresas alimentarias pequeñas y/o menos desarrolladas. 2007; 86.
95. FAO/OMS. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and food: attribution, characterization, and monitoring. Microbiological risk assessment series. 2018; 31.
96. Fegan N, Vanderlinde P, Higgs G, Desmarchelier P. Quantification and prevalence of *Salmonella* in beef cattle presenting at slaughter. J Appl Microbiol. 2004; 97: 892–898.
97. Feldsine P, Lienau AH, Shah K, Immermann A, Soliven K, Kaur M, Kerr DE, Jucker M, Hammack T, Brodsky M, Agin J. Comparison of assurance GDS MPX ID for Top STEC with reference culture methods for the detection of *E. coli* Top 6 STEC; direct confirmation of Top 6 STEC from isolation plates and determination of equivalence of PickPen and FSIS OctoMACS concentration protocols. J. AOAC. 2016; 99: 428–443.
98. Feng P, Scheutz F. Characterizing the health risks of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). 9th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) - Producing *Escherichia coli* infections, Florencia, Italia. 2018. p. 51.
99. Feng P, Weagant SD, Jinneman K; FDA-BAM. Chapter 4A Diarrheogenic *Escherichia coli*. Bacteriological Analytical Manual. 2011.
100. Fernández D, Irino K, Sanz ME, Padola NL, Parma AE. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from dairy cows in Argentina. J Appl Microbiol. 2010: 1-6.

101. Fernández D, Rodríguez E, Arroyo GH, Padola N, Parma A. Seasonal variation of Shiga toxin-encoding genes (stx) and detection of *E. coli* O157 in dairy cattle from Argentina. *J Applied Microbiol.* 2009; 106: 1260-1267.
102. Fernández D, Sanz M, Parma A, Padola N. Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from newborn, milk-fed, and growing calves in Argentina. *J Dairy Sci.* 2012; 95: 5340–5343.
103. Fernández Mayer A. Calidad de la carne vacuna. *Revista Veterinaria Argentina.* 2016.
104. Ferrari RG, Panzenhagen PHN, Conte-Junior CA. Phenotypic and Genotypic Eligible Methods for *Salmonella* Typhimurium Source Tracking. *Front Microbiol.* 2017; 8: 2587.
105. Ferrari RG, Rosario DKA, Cunha-Neto A, Mano SB, Figueiredo EES, Conte-Juniora CA. Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. *Appl Environ Microbiol.* 2019; 85 (14): 1-21.
106. Festus Jaja IF, Green E, Muchenje V. Aerobic Mesophilic, Coliform, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* Counts of Raw Meat from the Formal and Informal Meat Sectors in South Africa. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2018; 15 (4).
107. Franz E, van Hoek AH, Wuite M, van der Wal FJ, de Boer AG, Bouw EI, Aarts HJ. Molecular hazard identification of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). *PLoS One.* 2015; 10: 1-21.

108. Fratamico PM, Bagi LK, Abdul-Wakeel A. Detection and isolation of the "Top seven" Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in ground beef: comparison of RapidFinder kits to the U.S. Department of agriculture microbiology laboratory guidebook method. *J. Food Prot.* 2017; 829–836.
109. Friesema IJ, Schimmer B, Ros JA, Ober HJ, Heck ME, Swaan CM, de Jager CM, Peran i Sala RM, van Pelt W. A regional *Salmonella enterica* serovar Typhimurium outbreak associated with raw beef products, The Netherlands, 2010. *Foodborne Pathog Dis.* 2012; 9 (2): 102-107.
110. Galie S, Garcia-Gutierrez C, Miguelez EM, Villar CJ, Lombo F. Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods. *Front Microbiol.* 2018; 9: 898.
111. Galli L, Brusa V, Rodríguez R, Signorini M, Oteiza JM, Leotta GA. *Escherichia coli* in Food Products. En: *Escherichia coli* in the Americas. Torres AG (Ed). Springer. 2016.
112. Galli L, Miliwebsky E, Irino K, Leotta GA, Rivas M. Virulence profile comparison between LEE-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) strains isolated from cattle and humans. *Vet Microbiol.* 2010; 143: 307–313.
113. Gannon VP, D'Souza S, Graham T, King RK, Rahn K, Read S. Use of the flagellar H7 gene as a target in multiplex PCR assays and improved specificity in identification of enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains. *J Clin Microbiol.* 1997; 35 (3): 656-62.

114. Garedew L, Hagos Z, Addis Z, Tesfaye R, Zegeye B. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of *Salmonella* isolates in association with hygienic status from butcher shops in Gondar town, Ethiopia. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2015; 4: 21.
115. Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG. Taxonomic outline of Prokariotes *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2º Edición. Release 5.0., springer- verlag. New York 2004; p. 9-122.
116. Ghezán G, Cendón ML, Castro M. La cadena global del limón: su dinámica y formas de coordinación en torno a las exigencias de calidad. *Asociación Argentina de Economía Agraria*. 2010: 1-23.
117. Gill CO, Bryant J, Bedard D. The effects of hot water pasteurizing treatments on the appearances and microbiological conditions of beef carcass sides. *Food Microbiol*. 1999; 16: 281-289.
118. González MI, Mesa CA, Quintero OA. Estimación de la vida útil de almacenamiento de carne de res y de cerdo con diferente contenido graso. *Vitae*. 2014; 21 (3): 201-210.
119. González-Escalona N, Zhang G, Brown EW. Multiplex TaqMan Real-Time PCR (qPCR) Assay Targeting *prot6E* and *invA* Genes for Fast and Accurate Detection of *Salmonella* Enteritidis. *Salmonella-A diversified superbug*, InTech. Mr. Yashwant Kumar (Ed.). 2012. 541-562.
120. Gun H, Yilmaz A, Turker S, Tanlasi A, Yilmaz H. Contamination of bovine carcasses and abattoir environment by *Escherichia coli* O157:H7 in Istanbul. *Int J Food Microbiol*. 2003; 84 (3): 339-344.

121. Gwida M, Hotzel H, Geue L, Tomaso H. Occurrence of *Enterobacteriaceae* in Raw Meat and in Human Samples from Egyptian Retail Sellers. *Int Sch Res Notices*. 2014: 1-6.
122. Haijoubi EH, Benyahya F, Bendahou A, Essadqui FZ, Behhari ME, Mamoune AFE, Ghailani NN, Mechita MB, Barakat A. Etude de la qualité bactériologique de l'eau utilisée dans l'industrie agroalimentaire dans le Nord du Maroc. *Pan Afr Med J*. 2017; 26:13.
123. Hallewell J, Alexander T, Reuter T, Stanford K. Limitations of immunomagnetic separation for detection of the Top seven serogroups of Shiga toxinproducing *Escherichia coli*. *J. Food Prot*. 2017; 80: 598–603.
124. Hauge SJ, Nesbakken T, Moen B, Rotterud OJ, Dommersnes S, Nesteng O, Ostensvik O, Alvseike O. The significance of clean and dirty animals for bacterial dynamics along the beef chain. *Int J Food Microbiol*. 2015; 214: 70-76.
125. Havelaar AH, Kirk MD, Torgerson PR, Gibb HJ, Hald T, Lake RJ, Praet N, Bellinger DC, de Silva NR, Gargouri N, Speybroeck N, Cawthorne A, Mathers C, Stein C, Angulo FJ, Devleesschauwer B. World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010. *PLoS Med*. 2015; 12(12): 1-23.
126. Heredia N, García S. Animals as sources of food-borne pathogens: A review. *Anim Nutri*. 2018; 4: 250-255.
127. Hohl K, Gaskell G. European Public Perceptions of Food Risk: Cross-National and Methodological Comparisons. *Risk Anal*. 2008; 28 (2): 311-324.

128. Huffman RD. Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. *Meat Sci.* 2002; 62: 285–294.
129. ICMSF. *Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities*. Second edition. 2005.
130. Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Morita-Ishihara T, Scheutz F, Ohnishi M. Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan. *Escherichia coli* O-genotyping PCR: a comprehensive and practical platform for molecular O serogrouping. *J Clin Microbiol.* 2015; 53 (8): 2427-2432.
131. Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Nishii H, Ohnishi M, Mekata H, Ogura Y, Hayashi T. Six Novel O Genotypes from Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 2016; 7: 765.
132. INAC (Instituto Nacional de Carnes). *Manual de carnes bovina y ovina*. Uruguay. 2004.
133. IPCVA. *Calidad organoléptica de la carne vacuna*. 2004. [Online] <http://www.ipcva.com.ar/vertext.php?id=100>
134. IPCVA. *La integración del novillo*. 2004a. [Online] <http://www.ipcva.com.ar/vertext.php?id=163>
135. IPCVA. *Encuesta sobre hábitos de consumo de carne vacuna en la argentina*. 2019. [Online] <http://www.ipcva.com.ar/vertext.php?id=2029>

136. ISO 6579-1. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp. 2017.
137. ISO 16654. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O157. 2001.
138. Issenhuth-Jeanjean S, Roggentin P, Mikoleit M, Guibourdenche M, de Pinna E, Nair S, Fields PI, Weill F-X. Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor Scheme. Res. Microbiol. 2014; 165: 526-530.
139. JEMRA. Joint FAO/WHO Core Expert Group Meeting on VTEC/STEC. 2016.
140. Jevsnik M, Hlebec V, Raspor P. Meta-analysis as a tool for barrier identification during HACCP implementation to improve food safety. Acta Aliment 2006; 35: 319–353.
141. Jiménez Moreno JS. Planes operativos estandarizados de saneamiento (POES) para la distribuidora de carnes vaqueiros JS S.A.S. Monografía. Universidad Distrital Francisco José de Caldas Facultad De Medio Ambiente Y Recursos Natiurales. Tecnología En Saneamiento Ambiental. Bogotá D.C. 2018.
142. Johnsen G, Yngvild W, Heir E, Berget OI, Herikstad H. *Escherichia coli* O157:H7 in faeces from cattle sheep and pigs in the southwest part of Norway during 1998 and 1999. Int J Food Microbiol. 2001; 65: 193–200.

143. Jure MA, Condorí MS, Pérez Terrazzino G, Catalána MG, López Campo A, Zolezzi G, Chinen I, Rivas M, Castillo M. Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* O157 en productos cárnicos bovinos y medias reses en la provincia de Tucumán. *Rev Argent Microbiol.* 2015; 47: 125-131.
144. Kafetzopoulos DP, Psomas EL, Kafetzopoulos PD. Measuring the effectiveness of the HACCP Food Safety Management System. *Food Control.* 2013; 33: 505-513.
145. Kaper JB, Karmali MA. The continuing evolution of a bacterial pathogen. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105 (12): 4535–4536.
146. Karch H, Bohm H, Schmidt H, Gunzer F, Aleksic S, Heesemann J. Clonal structure and pathogenicity of Shiga-like toxin-producing, sorbitol-fermenting *Escherichia coli* O157:H-. *J Clin Microbiol.* 1993; 31: 1200-1205.
147. Karmali MA, Mascarenhas M, Shen S, Ziebell K, Johnson S, Reid-Smith R, Isaac-Renton J, Clark C, Rahn K, Kaper JB. Association of Genomic O Island 122 of *Escherichia coli* EDL 933 with Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* Seropathotypes That Are Linked to Epidemic and/or Serious Disease. *J Clin Microbiol.* 2003; 41 (11): 4930–4940.
148. Kayembe JM, Thevenon F, Laffite A, Sivalingam P, Ngelinkoto P, Mulaji CK, Otamonga JP, Mubedi JI, Poté J. High levels of faecal contamination in drinking groundwater and recreational water due to poor sanitation, in the sub rural neighbourhoods of Kinshasa, Democratic Republic of the Congo. *Int J Hyg Environ Health.* 2018; 221 (3): 400-408.

149. Keen EJ, Elder RO. Isolation of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157 from hide surface and the oral cavity of finished beef feedlot cattle. *JAMA*. 2002; 220: 756–763.
150. Keestra-Gounder AM, Tsolis RM, Bäumler AJ. Now you see me, now you don't: the interaction of *Salmonella* with innate immune receptors. *Nat Rev Microbiol*. 2015; 13: 206–216.
151. Khen BK, Lynch OA, Carroll J, McDowell DA, Duffy G. Prevalence and Characteristics of *Salmonella* in the Beef Chain in the Republic of Ireland. *Zoonoses Public Health*. 2014; 61: 534–536.
152. Kirby RM, Bartram J, Carr R. Water in food production and processing: quantity and quality concerns. *Food Control*. 2003; 14: 283–299.
153. Kirk MD, Pires SM, Black RE, Caipo M, Crump JA, Devleeschauwer B, Döpfer D, Fazi A, Fischer-Walker CL, Hald T, Hall AJ, Keddy KH, Lake RJ, Lanata CF, Torgerson PR, Havelaar AH, Angulo FJ. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. *PLoS Med*. 2015; 12 (12): 1-21.
154. Kök MS. Application of Food Safety Management Systems (ISO 22000/HACCP) in the Turkish Poultry Industry: A Comparison Based on Enterprise Size. *J Food Prot*. 2009; 72 (10): 2221–2225.
155. Kore K, Asrade B, Demissie K, Aragaw K. Characterization of *Salmonella* isolated from apparently healthy slaughtered cattle and retail beef in Hawassa, southern Ethiopia. *Prev Vet Med*. 2017; 147: 11-16.

156. Kostyla C, Bain R, Cronk R, Bartram J. Seasonal variation of fecal contamination in drinking water sources in developing countries: A systematic review. *Sci Total Environ.* 2015; 514: 333–343.
157. Kraft AL, Lacher DW, Shelver WL, Sherwood JS, Bergholz TM. Comparison of immunomagnetic separation beads for detection of six non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serogroups in different matrices. *Letts. Appl. Microbiol.* 2017; 65: 213–219.
158. LaRock DL, Chaudhary A, Miller SI. Salmonellae interactions with host processes. *Nat Rev Microbiol.* 2015; 13 (4): 191–205.
159. Laufer AS, Grass J, Holt K, Whichard JM, Griffin PM, Gould LH. Outbreaks of *Salmonella* infections attributed to beef – United States, 1973–2011. *Epidemiol. Infect.* 2015; 143: 2003–2013.
160. Law JWF, Ab Mutalib NS, Chan KG, Lee LH. Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations. *Front Microbiol.* 2015; 5: 1-19.
161. Lawley R. Hygiene by design. Food Safety Watch. 2007. [Online] <http://www.foodsafetywatch.com/public/609.cfm>.
162. Leotta GA. Métodos rápidos: una herramienta útil y práctica para el análisis microbiológico de los alimentos. *Rev Argent Microbiol.* 2009; 41: 63-64.
163. Leotta GA, Brusa V, Galli L, Adriani C, Linares L, Etcheverría A, Sanz M, Sucari A, Peral García P, Signorini M. Comprehensive Evaluation and

- Implementation of Improvement Actions in Butcher Shops. PLoS One. 2016; 12; 1-16.
164. Leotta GA, Chinen I, Epszteyn S, Miliwebsky E, Melamed IC, Motter M, Ferrer M, Marey E, Rivas M. Validación de una técnica de PCR múltiple para la detección de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. Rev Argent Microbiol. 2005; 37: 1-10.
165. Ley 11.123. Ley Provincial Sanitaria de Carnes. Ministro de la Producción Provincia de Buenos Aires. 1991.
166. Ley 25.724. Programa de Nutrición y Alimentación Nacional. Ministerio de Justicia y Derechos Humanos. Presidencia de la Nación. 2003.
167. Llorente P, Barnech L, Irino K, Rumi MV, Bentancor A. Characterization of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolated from Ground Beef Collected in Different Socioeconomic Strata Markets in Buenos Aires, Argentina. BioMed Res Int. 2014; 1-9.
168. Lódola A, Brigo R, Morra F. Mapa de cadenas agroalimentarias de Argentina. En: Cambios estructurales en las actividades agropecuarias. CEPAL – Colección Documentos de proyectos. 2010; 53-78.
169. Loiko MR, de Paula CM, Langone AC, Rodrigues RQ, Cibulski S, Rodrigues RO, Camargo AC, Nero LA, Mayer FQ, Tondo EC. Genotypic and antimicrobial characterization of pathogenic bacteria at different stages of cattle slaughtering in southern Brazil. Meat Sci. 2016; 116: 193-200.

170. Lucchesi PMA, Krüger A, Parma AE. Distribution of *saa* gene variants in verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from cattle and food. Res Microbiol. 2006; 157 (3): 263-266.
171. Luchansky JB, Porto-Fett ACS, Shoyer BA, Call JE, Schlosser W, Shaw W, Bauer N, Latimer H. Fate of Shiga toxin-producing O157:H7 and non-O157:H7 *Escherichia coli* cells within blade-tenderized beef steaks after cooking on a commercial open-flame gas grill. J Food Prot. 2012; 75: 62-70.
172. Luning PA, Jacxsens L, Rovira J, Osés SM, Uyttendaele M, Marcelis WJ. A concurrent diagnosis of microbiological food safety output and food safety management system performance: Cases from meat processing industries. Food Control. 2011; 22: 555-565.
173. Lupin H, Parin M, Zagarramurdi A. HACCP economics in fish processing plants. Food Control. 2010; 21: 1143-1149.
174. MacFaddin JF. Pruebas Bioquímicas para la Identificación de Bacterias de Importancia Clínica. 3° Edición. Editorial Médica Panamericana. 2000.
175. Magwedere K, Rauff D, De Klerk G, Keddy KH, Dziva F. Incidence of Nontyphoidal *Salmonella* in Food-Producing Animals, Animal Feed, and the Associated Environment in South Africa, 2012–2014. Clin Infect Dis. 2015; 61 (S4): S283–289.
176. Malavi DN, Muzhingi T, Ooko Abong G. Good Manufacturing Practices and Microbial Contamination Sources in Orange Fleshed Sweet Potato Puree Processing Plant in Kenya. Int J Food Sci. 2018: 1-11.

177. Malorny B, Hoorfar J, Bunge C, Helmuth R. Multicenter Validation of the Analytical Accuracy of *Salmonella* PCR: towards an International Standard. *Appl Environ Microbiol.* 2003; 69 (1): 290–296.
178. Mangal M, Bansal S, Sharma SK, Gupta RK. Molecular Detection of Food Borne Pathogens: A Rapid and Accurate Answer to Food Safety. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2016; 56 (9): 1568-1584.
179. Martínez-Chávez L, Cabrera-Díaz E, Pérez-Montaña JA, Garay-Martínez LE, Varela-Hernández JJ, Castillo A, Lucía L, Ávila-Novoa MG, Cardona-López MA, Gutiérrez-González P, Martínez-González NE. Quantitative distribution of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* on beef carcasses and raw beef at retail establishments. *Int J Food Microbiol.* 2015; 210: 149–155.
180. Masana MO, D’astek BA, Palladino PM, Galli L, Del Castillo LL, Carbonari C, Leotta GA, Vilacoba E, Irino K, Rivas M. Genotypic Characterization of Non-O157 Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* in Beef Abattoirs of Argentina. *J Food Prot.* 2011; 74 (12): 2008–2017.
181. Masana MO, Leotta GA, Del Castillo LL, D’astek BA, Palladino PM, Galli L, Vilacoba E, Carbonari C, Rodríguez HR, Rivas M. Prevalence, Characterization, and Genotypic Analysis of *Escherichia coli* O157:H7/NM from Selected Beef Exporting Abattoirs of Argentina. *J Food Prot.* 2010; 73 (4): 649–656.
182. Mathusa EC, Chen Y, Enache E, Hontz LJ. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods. *Food Prot.* 2010; 73 (9): 1721-36.

183. McEvoy JM, Doherty AM, Finnerty M, Sheridan JJ, McGuire L, Blair IS, McDowell DA, Harrington D. The relationship between hide cleanliness and bacterial numbers on beef carcasses at a commercial abattoir. *J Appl Microbiol.* 2000; 30: 390-395.
184. McEvoy JM, Doherty AM, Sheridan JJ, Blair IS, McDowell DA. The prevalence of *Salmonella* spp. in bovine faecal, rumen and carcass samples at a commercial abattoir. *J Appl Microbiol.* 2003; 94: 693–700.
185. McEvoy JM, Doherty AM, Sheridan JJ, Thomson-Carter FM, Garvey P, McGuire L, Blair IS, McDowell DA. The prevalence and spread of *Escherichia coli* O157:H7 at a commercial beef abattoir. *J Appl Microbiol.* 2003a; 95: 256–266.
186. Meichtri L, Miliwebsky E, Gioffré A, Chinen I, Baschkier A, Chillemi G, Guth BEC, Masana MO, Cataldi A, Rodríguez R, Rivas M. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in healthy young beef steers from Argentina: prevalence and virulence properties. *Int J Food Microbiol.* 2004; 96: 189–198.
187. Miccio L, Rumi MV, Llorente P, Bentancor AB. Contaminación de carne molida con cepas de *Escherichia coli* shigatoxigénico (STEC) provenientes de comercios minoristas de San Martín, Buenos Aires, categorizados según nivel socioeconómico. *InVet.* 2011; 13: 37-44.
188. Miko A, Rivas M, Bentancor A, Delannoy S, Fach P, Beutin L. Emerging types of Shigatoxin-producing *E. coli* (STEC) O178 present in cattle, deer,

- and humans from Argentina and Germany. *Front Cell Infect Microbiol.* 2014; 4 (78): 1-14.
189. Mindlin MJ, Lang N, Maguire H, Walsh B, Verlander NQ, Lane C, Taylor C, Bishop LA, Crook PD. Outbreak investigation and case-control study: penta-resistant *Salmonella* Typhimurium DT104 associated with biltong in London in 2008. *Epidemiol Infect.* 2013; 141 (9): 1920-1927.
190. Mingle LA, Garcia DL, Root TP, Halse TA, Quinlan TM, Armstrong LR, Chiefari AK, Schoonmaker-Bopp DJ, Dumas NB, Limberger RJ, Musser KA. Enhanced identification and characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: a six-year study. *Foodborne Pathog Dis.* 2012; 9 (11): 1028-1036.
191. Ministerio de Nara. Encuesta de Higiene Alimentaria y Ambiental. Faena. 2014. Disponible en: <http://www.pref.nara.jp/secure/88265/H26jigyougaiyou.pdf>
192. Mossel DAA, Moreno B, Struijk CB. *Microbiología de los Alimentos*. Second edition, Acribia, Zaragoza. 2003.
193. Napuri CB, Ruiz RT, Lampoglia TC, Pittman RA. Guías de orientación en saneamiento básico para alcaldías de municipios rurales y pequeñas comunidades. 2009. [Online] http://www.bvsde.paho.org/bvsacg/guialcalde/0gral/078_guia_alcaldes_SB/Guia_alcaldes_2009.pdf
194. Narvaez-Bravo C, Miller MF, Jackson T, Jackson S, Rodas-Gonzalez A, Pond K, Echeverry A, Brashears MM. *Salmonella* and *Escherichia coli*

- O157:H7 prevalence in cattle and on carcasses in a vertically integrated feedlot and harvest plant in Mexico. *J Food Prot.* 2013^a; 76 (5): 786-795.
195. Narváez-Bravo C, Rodas-González A, Fuenmayor Y, Flores-Rondon C, Carruyo G, Moreno M, Perozo-Mena A, Hoet AE. *Salmonella* on feces, hides and carcasses in beef slaughter facilities in Venezuela. *Int J Food Microbiol.* 2013; 166: 226–230.
196. Nastasijevic I, Mitrovic R, Buncic S. The occurrence of *Escherichia coli* O157 in/on faeces, carcasses and fresh meats from cattle. *Meat Sci.* 2009; 82: 101–105.
197. Nel S, Lues JFR, Buys EM, Venter P. The personal and general hygiene practices in the deboning room of a high throughput red meat abattoir. *Food Control.* 2004; 15: 571–578.
198. Nienie AB, Sivalingam P, Laffite A, Ngelinkoto P, Otamonga JP, Matand A, Mulaji CK, Biey EM, Mpiana PT, Pote J. Microbiological quality of water in a city with persistent and recurrent waterborne diseases under tropical sub-rural conditions: The case of Kikwit City, Democratic Republic of the Congo. *Int J Hyg Environ Health.* 2017; 220 (5): 820-828.
199. Nørrung B, Buncic S. Microbial safety of meat in the European Union. *Meat Sci.* 2008; 78: 14–24.
200. Nouichi S, Hamdi TM. Superficial Bacterial Contamination of Ovine and Bovine Carcasses at El-Harrach Slaughterhouse (Algeria). *Eur J Sci Res.* 2009; 38 (3): 474-485.
201. Nychas GJE, Skandamis PN, Tassou CC, Koutsoumanis KP. Meat spoilage during distribution. *Meat Sci.* 2008; 78: 77–89.

202. Ockerman HW, Hansen CL. Industrialización de subproductos de Origen Animal. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 1994.
203. Oderiz S, Leotta GA, Galli L. Detección y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en niños atendidos en un hospital pediátrico interzonal de la ciudad de La Plata. Rev Argent Microbiol. 2018; 50 (4): 341-350.
204. OIE. El concepto “Una sola salud”: enfoque de la OIE. Boletín N° 2013-1. 2013. [Online]
http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Publications_%26_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull_2013-1-ESP.pdf.
205. Onega Pagador ME. Evaluación de la calidad de carnes frescas: Aplicación de técnicas analíticas, Instrumentales y sensoriales. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. 2003.
206. Pacheco da Silva FF, Bandeira Horvath M, Guedes Silveira J, Pieta L, Tondo EC. Occurrence of *Salmonella* spp. and generic *Escherichia coli* on beef carcasses sampled at a brazilian slaughterhouse. Braz J Microbiol. 2014; 45 (1): 17-23.
207. Palomino-Camargo C, González-Muñoz Y. Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2014; 31 (3): 535-546.

208. Papadopoulos A, Sargeant JM, Majowicz SE, Sheldrick B, McKeena C, Wilson J, Dewey CE. Enhancing public trust in the food safety regulatory system. *Health Policy*. 2012; 107: 98– 103.
209. Parlamento Europeo. Reglamento (CE) N 178/2002. Principios y requisitos generales de la legislación alimentaria. 2002.
210. Parlamento Europeo. Reglamento (CE) N 2073/05. Relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. 2005.
211. Parma AE, Sanz ME, Blanco JE, Blanco J, Viñas MR, Blanco M, Padola NL, Etcheverría AI. Virulence genotypes and serotypes of verotoxigenic *Escherichia coli* isolated from cattle and foods in Argentina. *Eur J Epidemiol*. 2000; 16: 757-762.
212. Paton AW, Paton JC. Direct detection and characterization of shiga toxigenic *Escherichia coli* by multiplex PCR for *stx*₁, *stx*₂, *eae*, *ehxA* and *saa*. *J Clin Microbiol*. 2002; 40: 271–274.
213. Pelaez- Almengor OG. Los frigoríficos argentinos, 1880-1930. *Estudios Digital*. 1995; 3: 37-49.
214. Peran i Sala RM, Cedeño de Balabarca V, Etoundi JM, Odame-Darkwah J, Oppong-Otoo J, Tossougbo Hinson DC, Wouafo M. Establishment of Good Hygiene Practice-Based Microbiological Criteria in Food Industries: Guidelines Using an Example for Meat Preparations. *Food control*. 2015; 58: 7-11.

215. Perez-Montaña JA, Gonzalez-Aguilar D, Barba J, Pacheco-Gallardo C, Campos-Bravo CA, Garcia S, Heredia NL, Cabrera-Diaz E. Frequency and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Serotypes on Beef Carcasses at Small Abattoirs in Jalisco State, Mexico. *J Food Protec.* 2012; 75 (5): 867-873.
216. Pérez-Rodríguez F, Castro R, Posada-Izquierdo GD, Valero A, Carrasco E, García-Gimeno RM, Zurera G. Evaluation of hygiene practices and microbiological quality of cooked meat products during slicing and handling at retail. *Meat Sci.* 2010; 86: 479–485.
217. Popoff MY, Le Minor L. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition. Volume II, Editorial Board. 2005; p. 786.
218. PulseNet PFGE Standard Operating Procedure of *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* non-O157 (STEC), *Salmonella* serotypes, *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. 2017. [Online] <http://www.cdc.gov/pulsenet/PDF/ecoli-Shigella-Salmonella-pfge-protocol-508c.pdf>.
219. Raguenaud ME, Le Hello S, Salah S, Weill FX, Brisabois A, Delmas G, Germonneau P. Epidemiological and microbiological investigation of a large outbreak of monophasic *Salmonella* Typhimurium 4,5,12:i:- in schools associated with imported beef in Poitiers, France, October 2010. *Euro Surveill.* 2012; 17 (40): 1-7.
220. RASFF – the Rapid Alert System for Food and Feed. Disponible en: https://ec.europa.eu/food/safety/rasff_en

221. Ramoneda M, Foncuberta M, Simón M, Sabaté S, Ferrer MD, Herrera S, Landa B, Musté N, Martí R, Trabado V, Carbonell O, Vila M, Espelt M, Ramírez B, Durán J. Prevalence of verotoxigenic *Escherichia coli* O157 (VTEC O157) and compliance with microbiological safety standards in bovine carcasses from an industrial beef slaughter plant. *J Appl Microbiol.* 2013; 56: 408-413.
222. Realpe-Quintero M, Barba-León J, Pérez-Montaña JA, Pacheco-Gallardo C, González-Aguilar D, Dominguez-Arias RM, Cabrera-Diaz E. Genetic diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes recovered throughout the beef production chain and from patients with salmonellosis. *Peer J.* 2018; 6.
223. Rébak G, Fernández W, Nuñez N, Molina K. Aplicación del sistema HACCP en un frigorífico de bovinos de Corrientes. Comunicación. *Rev Argentina Prod Anim.* 2011; 31 (2): 155-159.
224. Renn O. Risk perception and communication: Lessons for the Food and Food Packaging Industry. *Food Addit Contam.* 2005; 22(10): 1061-1071.
225. Rhoades JR, Duffy G, Koutsoumanis K. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: A review. *Food Microbiol.* 2009; 26 (4): 357-376.
226. Ricci OE. Achuras. Consumo y comercialización de menudencias enfriadas en Argentina. *Sitio Argentino de Producción Animal.* 2012.

227. Rivas L, Mellor GE, Gobius K, Fegan N. Detection and typing strategies for pathogenic *Escherichia coli*. Springer Briefs in Food and Nutrition Book. 2015.
228. Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, Deza N, Leotta GA. Epidemiologia del Síndrome Uremico Hemolítico en Argentina. Diagnostico del Agente Etiológico, Reservorios y Vías de Transmisión. Medicina (Buenos Aires). 2006; 66 (Supl. III): 27-32.
229. Rivera-Betancourt M, Shackelford SD, Arthur TM, Westmoreland KE, Bellinger G, Rossman M, Reagan JO, Koohmaraie M. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* in two geographically distant commercial beef processing plants in the United States. J Food Prot. 2004; 67 (2): 295-302.
230. Rodrigues D, Cerca N, Teixeira P, Oliveira R, Ceri H, Azeredo J. *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica enteritidis* biofilms susceptibility to different disinfectants and stress-response and virulence gene expression of surviving cells. Microbial Drug Resistance. 2011; 17 (2): 181-189.
231. Rodríguez O. Fundamentos del estructuralismo latinoamericano. En: Comercio Exterior, México. 2001: 100-112.
232. Rojas Chavez JA. Un paradigma holístico y transdisciplinario para el estudio de las zoonosis: medicina de la conservación. Rev. Fac. Med. 2011; 59 (1): 68-78.
233. RSA (Red de Seguridad Alimentaria). Avanzar hacia un nuevo enfoque preventivo: "Un mundo, una salud". 2015. [Online]

<https://rsa.conicet.gov.ar/avanzar-hacia-un-nuevo-enfoque-preventivo-un-mundo-una-salud/>

234. Ryu S, Kim BI, Lim JS, Tan CS, Chun BC. One Health Perspectives on Emerging Public Health Threats. *J Prev Med Public Health*. 2017; 50: 411-414.
235. Salinas Ibañez AG, Estrada CL, Favier GI, Vega AE, Stagnitta PV, Mattar MA, Zolezzi G, Carbonari C, Miliwebsky E, Cortiñas TI, Escudero MA. Characterization of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* isolated from meat products sold in San Luis, Argentina. *J Food Saf*. 2018: 1-10.
236. Samuel JL, O'boyle DA, Mathers WJ, Frost AJ. The Contamination With *Salmonella* Of Bovine Livers In An Abattoir. *Australian Veterinary*. 1980; 56: 526-528.
237. Sánchez S, Martínez R, García A, Vidal D, Blanco J, Blanco M, Blanco JE, Mora A, Herrera-Leon S, Echeita A, Alonso JM, Rey J. Detection and characterisation of O157:H7 and non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in wild boars. *Vet Microbiol*. 2010; 143: 420-423.
238. Sanna A, Meloni B, Ruggeri A, Succa S, Sanna C, Carraro V, Coroneo V. Microbiological Quality of the Water used in Agriculture in Sardinia. *Ann Ig*. 2016; 28(2): 158-170.
239. Sanso AM, Bustamante AV, Franci T, González J, Cadona JS, Lucchesi PMA. Serotype distribution of plasmid-encoded virulence profiles, and identification of espP and subAB alleles in verotoxigenic *Escherichia coli*. *Br Microbiol Res J*. 2015; 5: 396-404.

240. Santángelo F. Análisis de Diagnóstico Tecnológico Sectorial. Frigorífico bovino. Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. 2013.
241. Scheutz F, Strockbine NA. Genus I. *Escherichia*. En: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2^oed. 2005. Springer. USA p. 607-624.
242. Scheutz F, Teel LD, Beutin L, Piérard D, Buvens G, Karch H, Mellmann A, Caprioli A, Tozzoli R, Morabito S, Strockbine NA, Melton-Celsa GR, Sanchez M, Persson S, O'Brien AD. Multicenter Evaluation of a Sequence-Based Protocol for Subtyping Shiga Toxins and Standardizing Stx Nomenclature. *J Clin Microbiol*. 2012; 50 (9): 2951–2963.
243. Schlegelová J, Babák V, Holasová M, Konstantinová L, Necedová L, Šišák F, Vlková H, Roubal P, Jaglic Z. Microbial Contamination after Sanitation of Food Contact Surfaces in Dairy and Meat Processing Plants. *Czech J. Food Sci*. 2010; 28 (5): 450–461.
244. Schmidt H, Beutin L, Karch H. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL933. *Infect Immun*. 1995; 63:1055-1061.
245. Schmidt JW, Arthur TM, Bosilevac JM, Kalchayanand N, Wheeler TL. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in Air and Droplets at Three U.S. Commercial Beef Processing Plants. *J Food Prot*. 2012; 75 (12): 2213–2218.

246. Sekiya J. *Escherichia coli* O157:H7 in livestock in Japan. *Revue Scientifique et Technique* (International Office of Epizootics). 1997; 16: 391–394.
247. SENASA. Circular 3834/08. Prevención y control de *E. coli* O157:H7.
248. SENASA. Decreto N° 4238/68. Accessed: 2015. En: <http://www.senasa.gob.ar/decreto-423868>. 1968.
249. SENASA. Resolución 205/2014. [Online] <http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-205-2014-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>
250. Sibhat B, Molla Zewde B, Zerihun A, Muckle A, Cole L, Boerlin P, Wilkie E, Perets A, Mistry K, Gebreyes WA. *Salmonella* Serovars and Antimicrobial Resistance Profiles in Beef Cattle, Slaughterhouse Personnel and Slaughterhouse Environment in Ethiopia. *Zoonoses Public Health*. 2011; 58: 102–109.
251. Sierra Sánchez V. Evolución post-mortem de parámetros indicativos de calidad en la carne de vacuno: efecto de la raza y el gen de la hipertrofia muscular. Tesis doctoral. Universidad de Oviedo. 2010.
252. Signorini M, Costa M, Teitelbaum D, Restovich V, Brasesco H, Garcia D, Superno V, Petroli S, Bruzzone M, Arduini V, Vanzini M, Sucari A, Suberbie G, Maricel T, Rodriguez R, Leotta GA. Evaluation of decontamination efficacy of commonly used antimicrobial interventions for beef carcasses against Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Meat Sci*. 2018; 142: 44-51.

253. Skupch PR. La conferencia de Ottawa: el imperio británico y la Argentina. III Congreso Latinoamericano de Historia Económica y XXIII Jornadas de Historia Económica. Mesa general 12: Relaciones Económicas Internacionales. 2012.
254. Smith BA, Fazil A, Lammerding AM. A risk assessment model for *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef and beef cuts in Canada: Evaluating the effects of interventions. *Food Control*. 2013; 29: 364-381.
255. Soepranianondo K, Wardhana DK, Budiarto, Diyantoro. Analysis of bacterial contamination and antibiotic residue of beef meat from city slaughterhouses in East Java Province, Indonesia. *Veterinary World*. 2019; 12 (2): 243-248.
256. Sofos JN. Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat Sci*. 2008; 78: 3–13.
257. Sorribes SH. Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria. VI Workshop MRAMA. 2008.
258. Srednik ME, Rumi MV, Bentancor A. Inocuidad de carne molida y presencia de cepas de *Escherichia coli* causantes de lesiones de adherencia y esfacelación. *InVet*. 2013; 15: 123-130.
259. Stromberg ZR, Redweik GAJ, Mellata M. Detection, Prevalence, and Pathogenicity of Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Cattle Hides and Carcasses. *Foodborne Pathog Dis*. 2018; 15 (3): 119-131.

260. Tanaro JD, Galli L, Lound LH, Leotta GA, Piaggio MC, Carbonari CC, Irimi K, Rivas M. Non-O157:H7 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in bovine rectums and surface water streams on a beef cattle farm in Argentina. *Foodborne Pathog Dis.* 2012; 9: 878-884.
261. Tanaro JD, Leotta GA, Lound LH, Galli L, Piaggio MC, Carbonari CC, Araujo S, Rivas M. *Escherichia coli* O157 in Bovine Feces and Surface Water Streams in a Beef Cattle Farm of Argentina. *Foodborne Pathog Dis.* 2010; 7: 475-457.
262. Tang S, Orsi RH, Luo H, Ge C, Zhang G, Baker RC, Stevenson A, Wiedmann M. Assessment and Comparison of Molecular Subtyping and Characterization Methods for *Salmonella*. *Front Microbiol.* 2019; 10.
263. Tassew H, Abdissa A, Beyene G, Gebre-Selassie S. Microbial flora and food borne pathogens on minced meat and their susceptibility to antimicrobial agents. *Ethiop J Health Sci.* 2010; 20 (3): 137-143.
264. Tegegne HA, Phyto HWW. Food safety knowledge, attitude and practices of meat handler in abattoir and retail meat shops of Jigjiga Town, Ethiopia. *J Prev Med Hyg.* 2017; 58: E320-E327.
265. Teira G, Perlo F, Bonato P, Tisocco O. Calidad de carnes bovinas. Aspectos nutritivos y organolépticos relacionados con sistemas de alimentación y prácticas de elaboración. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, vol. XVII. 2006; 33; 173-193

266. Tiozzo B, Mari S, Ruzza M, Crovato S, Ravarotto L. Consumers' perceptions of food risks: A snapshot of the Italian 1 Triveneto area. *Appetite*. 2017; 111: 105-115.
267. Toma C, Martínez Espinosa E, Song T, Miliwebsky E, Chinen I, Iyoda S, Iwanaga M, Rivas M. Distribution of putative adhesins in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* of different seropathotypes. *J Clin Microbiol*. 2004; 42, 4937-4946.
268. Tozzoli R, Grande L, Michelacci V, Ranieri P, Maugliani A, Caprioli A, Morabito S. Shiga toxin-converting phages and the emergence of new pathogenic *Escherichia coli*: a world in motion. *Front Cell Infect Microbiol*. 2014; 4 (80): 1-8.
269. Tyler SD, Johnson WM, Lior H, Wang G, Rozee KR. Identification of Verotoxin type 2 variant B subunit genes in *Escherichia coli* by the polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol*. 1991; 29: 1339-43.
270. UCESCI (Unidad de Coordinación y Evaluación de Subsidios al consumo interno). Cuota Hilton. 2004. [Online] https://web.archive.org/web/20120309063404/http://www.ucesci.gob.ar/chilton_quees.htm
271. Unger N, Mateos M, Ghezán G, Acuña A. Diferencias entre Concepción y Práctica de la Calidad en las Empresas Agroalimentarias. En: V Jornadas Interdisciplinarias de Estudios Agrarios y Agroindustriales: UBA.

272. USAL (Universidad de Salamanca). 26° Curso en Métodos Rápidos en Microbiología de Alimentos y Agua. 2019. [Online] <https://fundacion.usal.es>
273. Varela-Hernandez JJ, Cabrera-Diaz E, Cardona-Lopez MA, Ibarra-Velazquez LM, Rangel-Villalobos H, Castillo A, Torres-Vitela MR, Ramirez-Alvarez A. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 and non-O157 from beef carcasses at a slaughter plant in Mexico. *Int J Food Microbiol.* 2007; 113 (2): 237-241.
274. Verbeke W, Frewer LJ, Scholderer J, De Brabander F. Why consumers behave as they do with respect to food safety and risk information. *Analytica Chimica Acta.* 2007; 586: 2–7.
275. Viator CL, Muth MK, Brophy JE, Noyes G. Costs of Food Safety Investments in the Meat and Poultry Slaughter Industries. *J Food Sci.* 2017; 82 (2): 260-269.
276. Vogeeler P, Tremblay YDN, Mafu AA, Jacques M, Harel J. Life on the outside: Role of biofilms in environmental persistence of Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. *Front Microbiol.* 2014; 5: 317.
277. Wabeto W, Abraham Y, Anjulo AA. Detection and identification of antimicrobial-resistant *Salmonella* in raw beef at Wolaita Sodo municipal abattoir, Southern Ethiopia. *J Health Popul Nutr.* 2017; 36 (52): 1-7.
278. Wain J, Hendriksen RS, Mikoleit ML, Keddy KH, Ochiai RL. Typhoid fever. *Lancet.* 2015; 385: 1136–1145.

279. Wang F, Yang Q, Kase JA, Meng J, Clotilde LM, Lin A, Ge B. Current Trends in Detecting Non-O157 Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* in Food. *Foodborne Pathog Dis.* 2013; 10, 665-677.
280. WHO. Inocuidad de los alimentos. [Online] <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. Accessed 04 de Junio 2019.
281. Wilhelm B, Rajic´A, Greig JD, Waddell L, Harris J. The Effect of Hazard Analysis Critical Control Point Programs on Microbial Contamination of Carcasses in Abattoirs: A Systematic Review of Published Data. *Foodborne Pathog Dis.* 2011; 8 (9); 949-960.
282. Williams ND, Torres AG, Lloyd SJ. Evolution and epidemiology of diarrheagenic *Escherichia coli*. En: *Pathogenic Escherichia coli in Latin America*. Torres AG (Ed). Bentham Books. 2011. p. 8-24.
283. Wolffs PFG, Glencross K, Thibaudeau R, Griffiths MW. Direct Quantitation and Detection of Salmonellae in Biological Samples without Enrichment, Using Two-Step Filtration and Real-Time PCR. *Appl Environ Microbiol.* 2006; 72 (6): 3896–3900.
284. Wong HS, Townsend KM, Fenwick SG, Maker G, Trengove RD, O'Handley RM. Comparative susceptibility of *Salmonella* Typhimurium biofilms of different ages to disinfectants. *Biofouling.* 2010; 26 (7): 859-864.
285. Xia S, Hendriksen RS, Xie Z, Huang L, Zhang J, Guo W, Xu B, Ran L, Aarestrup FM. Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates from infections in humans in Henan Province, China. *J Clin Microbiol.* 2009; 47 (2): 401-409.

286. Ye B, Yang L, Li Y, Wang W, Li H. Water Sources and Their Protection from the Impact of Microbial Contamination in Rural Areas of Beijing, China. *Int J Environ Res Public Health*. 2013; 10: 879-891.
287. You M, Ju Y. A Comprehensive Examination of the Determinants for Food Risk Perception: Focusing on Psychometric Factors, Perceivers' Characteristics, and Media Use. *J Health Commun*. 2016; 1-10.
288. Young I, Wilhelm BJ, Cahill S, Nakagawa R, Desmarchelier P, Rajić A. A Rapid Systematic Review and Meta-Analysis of the Efficacy of Slaughter and Processing Interventions to Control Non-Typhoidal *Salmonella* in Beef and Pork. *J Food Prot*. 2016; 79 (12): 2196–2210.
289. Zafra Aparici E, Muñoz García A, Larrea-Killinger C. ¿Sabemos lo que comemos?: Percepciones sobre el riesgo alimentario en Cataluña, España. *Salud Colectiva*. 2016; 12 (4): 505-518.
290. Zhang S, Kingsley RA, Santos RL, Andrews-Polymenis H, Raffatellu M, Figueiredo J, Nunes J, Tsolis RM, Adams LG, Bäumlér AJ. Molecular Pathogenesis of *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium-Induced Diarrhea. *Infect Immun*. 2003; 71 (1): 1–12.
291. Zhao T, Doyle MP, Shere J, Garber L. Prevalence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in a survey of dairy herds. *Appl Environ Microbiol*. 1995; 61: 1290–1293.
292. Zheng J, Keys CE, Zhao S, Ahmed R, Meng J, Brown EW. Simultaneous Analysis of Multiple Enzymes Increases Accuracy of Pulsed-Field Gel

Electrophoresis in Assigning Genetic Relationships among Homogeneous *Salmonella* Strains. J Clin Microbiol. 2011; 49 (1): 85–94.

293. Zhou GH, Xu XL, Liu Y. Preservation technologies for fresh meat – A review. Meat Sci. 2010; 86: 119–128.

ANEXO

1- Planilla cuantificación de riesgo pre-operacional

Verificación de POES - PRE OPERACIONAL

Fecha:...../...../.....

BLOQUE I CORRALES						
	15	A	M	I	NA	Observaciones
1	Higiene del complejo sanitario	10	2	0	10	
2	Control de utensilios	10	2	0	10	
3	Presencia de condensación	10	2	0	10	
4	Manga descarga de hacienda	10	2	0	10	
5	Higiene de corrales	10	2	0	10	
6	Abastecimiento de agua	10	2	0	10	
7	Condiciones edilicias	10	2	0	10	
8	Manga de acceso a noqueo	10	2	0	10	
9	Ducha y baño por aspersión	10	2	0	10	
10	Lavadero de camiones	10	2	0	10	
11	Desagües (general y en particular sala de necropsias y corral de aislamiento)	10	2	0	10	
12	Luminarias	10	2	0	10	
13	Bienestar animal (edilicio, espacio en corrales, tiempo en descanso, comida)	10	2	0	10	
14	Bienestar animal (manejo)	10	2	0	10	
FINAL BLOQUE I		140	28	0	140	#¡DIV/0!
		168				

riesgo alto: 0 a 7

riesgo moderado: 8 a 11

riesgo bajo: 12 a 15

BLOQUE II PLAYA DE FAENA						
	35	A	M	I	NA	Observaciones
15	Sierras	10	2	0	10	
16	Noria / roldanas	10	2	0	10	
17	Contenedores / carros	10	2	0	10	
18	Tubo vísceras / zorra / bandejas (identificar)	10	2	0	10	
19	Matambra / cuereadora / manual (identificar)	10	2	0	10	
20	Descornadora	10	2	0	10	
21	Control de utensilios	10	2	0	10	
22	Delantales	10	2	0	10	
23	Lavado y desinfección de manos	10	2	0	10	
24	Presencia de condensación	10	2	0	10	

25	Presencia de peligros físicos (vidrio, metal, madera)	10	2	0	10	
26	Filtro sanitario	10	2	0	10	
27	Esterilizadores	10	2	0	10	
28	Cielorrasos y paredes	10	2	0	10	
29	Luminarias	10	2	0	10	
30	Pisos, desagües y rejillas	10	2	0	10	
31	Estructuras y rieles	10	2	0	10	
32	Palcos y lavamanos	10	2	0	10	
33	Cajón de noqueo	10	2	0	10	
34	Martillo neumático / insensibilización eléctrica (identificar)	10	2	0	10	
35	Disposición de residuos	10	2	0	10	
FINAL BLOQUE II		210	42	0	210	#¡DIV/0!
		252				

riesgo alto: 0 a 20

riesgo moderado: 20 a 27

riesgo bajo: 28 a 35

BLOQUE III CAMARAS						
	10	A	M	I	NA	Observaciones
36	Columnas	10	2	0	10	
37	Control de utensilios	10	2	0	10	
38	Lavado y desinfección de manos	10	2	0	10	
39	Presencia de condensación	10	2	0	10	
40	Presencia de peligros físicos (vidrio, metal, madera)	10	2	0	10	
41	Cielorrasos y paredes	10	2	0	10	
42	Luminarias	10	2	0	10	
43	Pisos, puertas, desagües y rejillas	10	2	0	10	
44	Estructuras, rieles y cambios	10	2	0	10	
45	Equipos de frío (temperatura)	10	2	0	10	
46	Disposición de residuos (tambores de vísceras)	10	2	0	10	
FINAL BLOQUE III		110	22	0	110	#¡DIV/0!
		132				

riesgo alto: 0 a 4

riesgo moderado: 5 a 7

riesgo bajo: 8 a 10

BLOQUE IV CUARTEO						
	10	A	M	I	NA	Observaciones
47	Sierras	10	2	0	10	
48	Roldanas	10	2	0	10	
49	Guinches	10	2	0	10	
50	Control de utensilios	10	2	0	10	
51	Contenedores / carros	10	2	0	10	
52	Delantales	10	2	0	10	
53	Lavado y desinfección de manos	10	2	0	10	
54	Presencia de condensación	10	2	0	10	
55	Presencia de peligros físicos (vidrio, metal, madera)	10	2	0	10	

56	Esterilizadores	10	2	0	10	
57	Cielorrasos y paredes	10	2	0	10	
58	Balanzas	10	2	0	10	
59	Equipos de frío	10	2	0	10	
60	Pisos, desagües y rejillas	10	2	0	10	
61	Estructuras, rieles y cambios	10	2	0	10	
62	Palcos y lavamanos	10	2	0	10	
63	Luminarias	10	2	0	10	
64	Disposición de residuos	10	2	0	10	
FINAL BLOQUE IV		180	36	0	180	#¡DIV/0!
		216				

riesgo alto: 0 a 4

riesgo moderado: 5 a 7

riesgo bajo: 8 a 10

BLOQUE V MENUENCIAS						
	20	A	M	I	NA	Observaciones
65	Mesadas	10	2	0	10	
66	Lavadora de mondongos	10	2	0	10	
67	Lavadora de librillos	10	2	0	10	
68	Cocinas	10	2	0	10	
69	Balanzas	10	2	0	10	
70	Bateas de enfriado	10	2	0	10	
71	Bandejas y gancheras	10	2	0	10	
72	Contenedores / carros	10	2	0	10	
73	Hacha de cabeza	10	2	0	10	
74	Control de utensilios	10	2	0	10	
75	Delantales	10	2	0	10	
76	Lavado y desinfección de manos	10	2	0	10	
77	Presencia de condensación	10	2	0	10	
78	Presencia de peligros físicos (vidrio, metal, madera)	10	2	0	10	
79	Filtro sanitario y lavamanos	10	2	0	10	
80	Esterilizadores	10	2	0	10	
81	Cielorrasos y paredes	10	2	0	10	
82	Luminarias	10	2	0	10	
83	Pisos, desagües y rejillas	10	2	0	10	
84	Cámaras	10	2	0	10	
85	Tambores (higiene e integridad)	10	2	0	10	
86	Disposición de residuos	10	2	0	10	
FINAL BLOQUE V		220	44	0	220	#¡DIV/0!
		264				

riesgo alto: 0 a 8

riesgo moderado: 9 a 14

riesgo bajo: 15 a 20

BLOQUE VI EXTERIORES						
	10	A	M	I	NA	Observaciones
87	Vestuarios	10	2	0	10	
88	Baños y sanitarios	10	2	0	10	
89	Oficinas	10	2	0	10	
90	Elementos de limpieza	10	2	0	10	

91	Depósito de tóxicos	10	2	0	10	
92	Depósito de químicos	10	2	0	10	
93	Digestores	10	2	0	10	
94	Lavadero de roldanas	10	2	0	10	
95	Contenedores	10	2	0	10	
96	Decantadores	10	2	0	10	
97	Depósito de sangre	10	2	0	10	
98	Playa de carga	10	2	0	10	
99	Patio externo y parques	10	2	0	10	
100	Escaleras	10	2	0	10	
101	Luminarias	10	2	0	10	
102	Disposición de residuos	10	2	0	10	
103	Análisis efluentes (ver registros)	10	2	0	10	
FINAL BLOQUE VI		170	34	0	170	#¡DIV/0!
		204				

riesgo alto: 0 a 4

riesgo moderado: 5 a 7

riesgo bajo: 8 a 10

A	aceptable
M	marginal
I	inaceptable
NA	no aplica

CALIFICACION	#¡DIV/0!
---------------------	-----------------

Riesgo ALTO	0 a 40
-------------	--------

Riesgo MODERADO	41 a 70
-----------------	---------

Riesgo BAJO	71 a 100
-------------	----------

Marcar con una cruz

Mejor a la clasificación anterior	SI		NO	
-----------------------------------	----	--	----	--

Igual a la clasificación anterior	SI		NO	
-----------------------------------	----	--	----	--

Peor a la clasificación anterior	SI		NO	
----------------------------------	----	--	----	--

2- Planilla cuantificación de riesgo operacional

Verificación de BPM y POES - OPERACIONAL

Fecha:...../...../.....

BLOQUE I SECTOR CORRALES						
	Importancia Sector: 15	A	M	I	NA	Observaciones
1	COMPLEJO SANITARIO DE EMERGENCIA (necropsia, faena, cámara) - Limpieza	10	2	0	10	
2	COMPLEJO SANITARIO DE EMERGENCIA (necropsia, faena, cámara) - Instalaciones	10	2	0	10	
3	LIMPIEZA	6	4	0	6	
4	CONTROL DE ROEDORES (TUBO Y CEBO)	6	4	0	6	
5	BEBEDEROS	6	4	0	6	
6	ROPA DEL PERSONAL	6	4	0	6	
7	LAVADO EN MANGA	10	2	0	10	
8	PRESIÓN DE AGUA Y CAUDAL (subjetivo: picos tapados, presión, distribución)	6	4	0	6	
9	COLOR EN AGUA DE MANGA	10	2	0	10	
10	INSTALACIONES	6	4	0	6	
FINAL BLOQUE I		76	32	0	76	#¡DIV/0!
		108				

riesgo alto: 0 a 7

riesgo moderado: 8 a 11

riesgo bajo: 12 a 15

BLOQUE II SECTOR PLAYA DE FAENA						
Noqueo y Degüello						
	Importancia Sector: 25	A	M	I	NA	Observaciones
11	LIMPIEZA	6	4	0	6	
12	INSTALACIONES, CAJÓN, PARED, PISO, TECHO ⁽¹⁾	6	4	0	6	
13	NOQUEO EFECTIVO (N=10)	6	4	0	6	
14	USO CORRECTO DE CUCHILLO DEGÜELLO	10	2	0	10	
15	TEMPERATURA ESTERILIZADOR (82 - 85 °C)	6	4	0	6	
16	VESTIMENTA DEL PERSONAL	6	4	0	6	
		40	22	0	40	

Filtro sanitario						
		A	M	I	NA	Observaciones
17	LIMPIEZA	10	2	0	10	
18	FUNCIONAMIENTO RODILLOS	10	2	0	10	
19	TEMPERATURA DE AGUA	10	2	0	10	
20	JABÓN DE MANOS	10	2	0	10	
21	TOALLAS DESCARTABLES	10	2	0	10	
22	LIMPIA-DELANTALES	10	2	0	10	
		60	12	0	60	

Remoción de ubre o verga						
		A	M	I	NA	Observaciones
23	TEMP. y CAUDAL ESTERILIZADOR (82 - 85 °C)	10	2	0	10	

24	LAVADO Y ESTERILIZADO DE UTENSILIOS	10	2	0	10	
25	INSTALACIONES (PARED, PALCO, PISO, TECHO)	6	4	0	6	
26	VESTIMENTA DEL PERSONAL	6	4	0	6	
27	PROVOCA CONTAMINACIÓN	10	2	0	10	
		42	14	0	42	

Cuereado						
		A	M	I	NA	Observaciones
28	INSTALACIONES (PARED, PALCO, PISO, TECHO)	6	4	0	6	
29	TEMP. y CAUDAL ESTERILIZADOR (82 - 85 °C)	10	2	0	10	
30	LAVADO Y ESTERILIZADO DE UTENSILIOS	10	2	0	10	
31	CONDENSACIÓN	6	4	0	6	
32	VESTIMENTA DEL PERSONAL	6	4	0	6	
33	CONTAMINACIÓN EN EL MÚSCULO	10	2	0	10	
34	CUEREADO MANUAL / MECANICO (identificar)	10	2	0	10	
		58	20	0	58	

Ligaduras						
		A	M	I	NA	Observaciones
35	INSTALACIONES (PARED, PALCO, PISO, TECHO)	6	4	0	6	
36	TEMP. y CAUDAL ESTERILIZADOR (82 - 85 °C)	10	2	0	10	
37	LAVADO Y ESTERILIZADO DE UTENSILIOS	10	2	0	10	
38	ENUCLEACIÓN DEL ANO	10	2	0	10	
39	LIGADURA	10	2	0	10	
40	LIGADURA DE ESÓFAGO	10	2	0	10	
41	TIRABUZÓN	6	4	0	6	
42	LIGADURA DE VEJIGA	6	4	0	6	
43	LIGADURA DE DUODENO	10	2	0	10	
44	VESTIMENTA DEL PERSONAL	6	4	0	6	
		84	28	0	84	

Aserrado de pecho y res						
		A	M	I	NA	Observaciones
45	LIMPIEZA PALCO	6	4	0	6	
46	INSTALACIONES, PARED, PISO, TECHO	6	4	0	6	
47	CONDENSACIÓN	6	4	0	6	
48	VESTIMENTA DEL PERSONAL	6	4	0	6	
49	TEMP. y CAUDAL ESTERILIZADOR (82 - 85 °C)	10	2	0	10	
50	LAVADO Y ESTERILIZADO DE SIERRAS	10	2	0	10	
51	MAMPARA ASERRADO	6	4	0	6	
52	CONTAMINACIÓN 1/2 RES	6	4	0	6	
		56	28	0	56	
FINAL BLOQUE II		340	124	0	340	#¡DIV/0!
		464				

riesgo alto: 0 a 11

riesgo moderado: 12 a 18

riesgo bajo: 19 a 25

BLOQUE III SECTOR CABEZA Y VISCERAS						
	Importancia Sector: 10	A	M	I	NA	Observaciones
Cabezas						
53	LIMPIEZA	4	2	0	4	
54	INSTALACIONES, PARED, PISO, TECHO	4	2	0	4	
55	CONDENSACIÓN	4	2	0	4	
56	LAVADO GANCHOS NORIA CABEZAS, BANDEJA, TUNEL	4	2	0	4	

57	VESTIMENTA DEL PERSONAL	4	2	0	4	
58	TEMP. y CAUDAL ESTERILIZADOR (82 - 85 °C)	10	2	0	10	
59	LAVADO Y ESTERILIZADO DE UTENSILIOS	10	2	0	10	
60	EXTRACCIÓN CORRECTA (N=10)	4	2	0	4	
61	LAVADO DE CABEZA (N=10)	10	2	0	10	
		54	18	0	54	

Evisceración y transporte vísceras						
		A	M	I	NA	Observaciones
62	LIMPIEZA	6	4	0	6	
63	INSTALACIONES, PARED, PISO, TECHO, TUBOS	6	4	0	6	
64	NORIA VÍSCERAS, BANDEJA, TUBO, TRONERA, ZORRAS	6	4	0	6	
65	LAVADO DE NORIA VÍSCERAS	6	4	0	6	
66	VESTIMENTA DEL PERSONAL	6	4	0	6	
67	TEMP. y CAUDAL ESTERILIZADOR (82 - 85 °C)	10	2	0	10	
68	LAVADO Y ESTERILIZADO DE UTENSILIOS	10	2	0	10	
69	PRESENCIA DE CONTAMINACIÓN 1/2 RES (N=10)	10	2	0	10	
70	ROTURA DE PANZAS (N=10)	20	2	0	20	
71	ROCE CON SUPERFICIES CONTAMINADAS**	10	2	0	10	
		90	30	0	90	
BLOQUE III		144	48	0	144	#¡DIV/0!
		192				

riesgo alto: 0 a 8

riesgo moderado: 9 a 12

riesgo bajo: 13 a 18

BLOQUE IV SECTOR PUNTOS DE CONTROL						
	Importancia Sector: 15	A	M	I	NA	Observaciones
72	LIMPIEZA	6	4	0	6	
73	INSTALACIONES, PARED, PISO, TECHO, TUBOS	6	4	0	6	
74	VESTIMENTA DEL PERSONAL	6	4	0	6	
75	TEMP. y CAUDAL ESTERILIZADOR (82 - 85 °C)	10	2	0	10	
76	DRESSING	6	4	0	6	
77	LAVADO CORRECTO (N=10)	10	2	0	10	
78	CLORINACIÓN AGUA (ppm)	10	2	0	10	
79	SELLADO E IDENTIFICACION (N=10)	6	4	0	6	
BLOQUE IV		60	26	0	60	#¡DIV/0!
		86				

riesgo alto: 0 a 7

riesgo moderado: 8 a 11

riesgo bajo: 12 a 15

BLOQUE V SECTOR CÁMARAS						
	Importancia Sector: 20	A	M	I	NA	Observaciones
80	FILTRO SANITARIO	10	2	0	10	
81	LIMPIEZA	10	2	0	10	
82	INSTALACIONES, PARED, PISO, TECHO	10	2	0	10	
83	CONDENSACIÓN	10	2	0	10	
84	VESTIMENTA DEL PERSONAL	10	2	0	10	
85	USO DE GANCHOS Y GUANTE EN CÁMARAS	10	2	0	10	
86	LAVADO DE MANOS	10	2	0	10	
87	ALMACENAMIENTO DE MEDIAS Y CUARTOS	10	2	0	10	
		80	16	0	80	

BLOQUE V SECTOR CUARTEO						
		A	M	I	NA	Observaciones
88	LIMPIEZA	10	2	0	10	

89	INSTALACIONES, PARED, PISO, TECHO	10	2	0	10	
90	TEMP. y CAUDAL ESTERILIZADOR (82 - 85 °C)	10	2	0	10	
91	VESTIMENTA DEL PERSONAL	10	2	0	10	
92	USO DE GANCHOS Y GUANTE EN CUARTEO	10	2	0	10	
93	CONDENSACIÓN	10	2	0	10	
94	LAVADO Y ESTERILIZADO DE UTENSILIOS	10	2	0	10	
95	ALMACENAMIENTO DE MEDIAS Y CUARTOS	10	2	0	10	
96	SIERRAS	10	2	0	10	
		90	18	0	90	
FINAL BLOQUE V		170	34	0	170	#¡DIV/0!
		204				

riesgo alto: 0 a 8

riesgo moderado: 9 a 14

riesgo bajo: 15 a 20

BLOQUE VI SECTOR MENUENCIAS (TRIPERÍA - ZONA SUCIA)						
	Importancia Sector: 15	A	M	I	NA	Observaciones
97	LIMPIEZA	10	2	0	10	
98	INSTALACIONES, PARED, PISO, TECHO	6	4	0	6	
99	TEMP. y CAUDAL ESTERILIZADOR (82 - 85 °C)	10	2	0	10	
100	VESTIMENTA DEL PERSONAL	6	4	0	6	
101	CONDENSACIÓN	6	4	0	6	
102	LAVADO Y ESTERILIZADO DE UTENSILIOS	10	2	0	10	
103	FILTRO SANITARIO PARA SALIR DEL SECTOR	6	4	0	6	
		54	22	0	54	

BLOQUE VI SECTOR MENUENCIAS (ZONA LIMPIA)						
		A	M	I	NA	Observaciones
104	LIMPIEZA	10	2	0	10	
105	INSTALACIONES, PARED, PISO, TECHO	6	4	0	6	
106	TEMP. y CAUDAL ESTERILIZADOR (82 - 85 °C)	10	2	0	10	
107	VESTIMENTA DEL PERSONAL	6	4	0	6	
108	CONDENSACIÓN	6	4	0	6	
109	LAVADO Y ESTERILIZADO DE UTENSILIOS	10	2	0	10	
110	TEMPERATURA COCINAS 80 A 90 °c	10	2	0	10	
111	TEMP Y ESTADO CÁMARA	6	4	0	6	
112	FILTRO SANITARIO PARA SALIR DEL SECTOR	6	4	0	6	
		70	28	0	70	
FINAL BLOQUE VI		124	50	0	124	#¡DIV/0!
		174				

riesgo alto: 0 a 7

riesgo moderado: 8 a 11

riesgo bajo: 12 a 15

**Superficies a considerar: bordes de palcos, borde bandeja de vísceras.

(1) En instalaciones, se refiere a observar el correcto mantenimiento.

A	aceptable
M	marginal
I	inaceptable
NA	no aplica
CALIFICACION	#¡DIV/0!

Riesgo ALTO	0 a 40
-------------	--------

Riesgo MODERADO	41 a 70
-----------------	---------

Riesgo BAJO	71 a 100
-------------	----------

3- Protocolo de extracción de ADN utilizado a partir de placa

Se toma con ansa en punta material bacteriano del agar de cultivo (colonia aislada o crecimiento confluyente) y se coloca en un tubo tipo Eppendorf previamente identificado, con 150 μ l de buffer Tritón X-100 al 1% en buffer TE 1X [10 mM Tris-HCl (pH 8,0); 1 mM EDTA (pH 8,0)]. La mezcla se lleva a 100°C durante 15 min. Posteriormente, el tubo se centrifuga nuevamente a 10000 rpm durante 5 min para sedimentar los restos celulares (Leotta y col., 2005). De esta manera se obtiene un pellet correspondiente al debris bacteriano y un sobrenadante con el ADN. Este extracto de ADN se utiliza como molde en la reacción de PCR.

4. Secuencias de los oligonucleótidos cebadores y condiciones de ciclado para las PCR realizadas en este trabajo

Nombre	Secuencia (5'-3')	Blanco	[μ M]	Tamaño de amplicón (pb)	Programa de amplificación	Referencia
Stx1a	GAAGAGTCCGTGGGATTACG	<i>stx₁</i>	2	130	94°C, 5 min; 94°C, 30 s, 58°C, 30 s, 72°C, 30 s (30 ciclos); 72°C, 2 min	Leotta y col. 2005
Stx1b	AGCGATGCAGCTATTAATAA					
Stx2a	TTAACCACACCCCACCGGGCAGT	<i>stx₂</i>	0,4	346	94°C, 5 min; 94°C, 30 s, 58°C, 30 s, 72°C, 30 s (30 ciclos); 72°C, 2 min	Leotta y col. 2005
Stx2b	GCTCTGGATGCATCTCTGGT					
O157F	CGGACATCCATGTGATATGG	<i>rfb_{O157}</i>	0,4	259	94°C, 5 min; 94°C, 30 s, 58°C, 30 s, 72°C, 30 s (30 ciclos); 72°C, 2 min	Leotta y col. 2005
O157R	TTGCCTATGTACAGCTAATCC					
SK1	CCCGAATTCGGCACAAGCATAAGC	<i>eae</i>	0,4	864	95°C, 5 min; 95°C, 30 s, 54°C, 1 min, 72°C, 2 min (30 ciclos); 72°C, 2 min	Karch y col., 1993
SK2	CCCGGATCCGTCTCGCCAGTATTCCG					
hlyA1	GGTGCAGCAGAAAAAGTTGTAG	<i>exhA</i>	0,4	1551	94°C, 5 min; 94°C, 30 s, 58°C, 90 s, 72°C, 90 s (30 ciclos); 72°C, 3 min	Schmidt y col., 1995
hlyA4	TCTCGCCTGATAGTGTTTGTA					
fliCH7-F	GCGCTGTCGAGTTCTATCGAGC	<i>fliC_{H7}</i>	0,2	625	94°C, 1 min; 94°C, 15 s, 60°C, 15 s, 72°C, 75 s (35 ciclos); 72°C, 5 min	Gannon y col., 1997
fliCH7-R	CAACGGTGACTTTATCGCCATTCC					
SAADF	CGTGATGAACAGGCTATTGC	<i>saa</i>	0,5	119	93°C, 5 min; 93°C, 1 min, 55°C, 1 min, 72°C, 1 min (25 ciclos); 72°C, 2 min	Toma y col., 2004
SAADR	ATGGACATGCCTGTGGCAAC					
stx1a-F1	CCTTCCAGGTACAACAGCGGTT	<i>stx_{1a}</i>	0,4	478	94°C, 3 min; 94°C, 50 s, 64°C, 40 s, 72°C, 1 min (35 ciclos); 72°C, 3 min	Scheutz y col., 2012
stx1a-R2	GGAAACTCATCAGATGCCATTCTGG					
stx1c-F1	CCTTCCCTGGTACAACAGCGGTT	<i>stx_{1c}</i>	0,2	252	94°C, 3 min; 94°C, 50 s, 64°C, 40 s, 72°C, 1 min (35 ciclos); 72°C, 3 min	Scheutz y col., 2012
stx1c-R1	CAAGTGTTGTACGAAATCCCCTCTGA					

stx1d-F1	CAGTTAATGCGATTGCTAAGGAGTTTACC				
stx1d-R2	CTCTTCCTCTGGTTCTAACCCCATGATA	<i>stx1d</i>	0,2	203	
Stx2v1	CATTCACAGTAAAAGTGGCC				94°C, 5 min;
Stx2v2	GGGTGCCTCCCGGTGAGTTC	<i>stx2vh-a</i> , <i>stx2vh-b</i>	0,2	385	94°C, 30 s, 55°C, 30 s, Tyler y col., 72°C, 30 s 1991 (30 ciclos); 72°C, 2 min
Stx2vc	AAGAAGATGTTTATGGCGGT				94°C, 5 min;
Stx2vd	CACGAATCAGGTTATGCCTC	<i>stx2</i> , <i>stx2vh-a</i> , <i>stx2vh-b</i>	0,3	285	94°C, 30 s, 55°C, 30 s, Tyler y col., 72°C, 30 s 1991 (30 ciclos); 72°C, 2 min
InvA 139F	GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA				95°C, 1 min;
InvA 141R	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	<i>invA</i>	0,5	284	95°C, 30 s, 64°C, 30 s, 72°C, 30 s Malorny y (38 ciclos); col., 2003 72°C, 5 min

5. Cepas utilizadas como controles positivos en las PCR

Cepa	Caracterización genotípica	Control PCR
IGEVET 40	<i>stx</i> ₁ / <i>stx</i> ₂ / <i>rfb</i> _{O157} / <i>eae</i> / <i>fliC</i> _{H7}	Múltiple (<i>stx</i> ₁ , <i>stx</i> ₂ , <i>rfb</i> _{O157}), <i>eae</i> , <i>fliC</i> _{H7} , PCR-RFLP variante <i>stx</i> ₂
IGEVET 92	<i>exhA</i>	<i>exhA</i>
IGEVET 98	<i>stx</i> _{2vh-b}	PCR-RFLP variante <i>stx</i> ₂
IGEVET 1304	<i>stx</i> _{1a}	Variante <i>stx</i> ₁
IGEVET 1305	<i>stx</i> _{1c}	Variante <i>stx</i> ₁
IGEVET 1306	<i>stx</i> _{1d}	Variante <i>stx</i> ₁
IGEVET 1148	<i>saa</i>	<i>saa</i>
ATCC 32511	<i>stx</i> _{2vh-a}	PCR-RFLP variante <i>stx</i> ₂

Para todas las PCR se utilizó la cepa ATCC 25922 como control negativo y agua calidad biología molecular con control de reactivos

6- Electroforesis de los productos de PCR y adquisición de imágenes

Se agregó al ADN amplificado una solución de xilene cianol 0,25% y glicerol 30% en agua, a razón de 1:5 (solución: ADN), sembrándose 10 µl en un gel de agarosa (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EE.UU.) a la concentración recomendada por cada autor en buffer TAE 1X [40 mM tris-acético; 1mM EDTA (pH 8,0)] y adicionado con 0,5 g/ml de bromuro de etidio (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, EE.UU.). Para la electroforesis se utilizó una fuente de poder PowerPac (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EE.UU.). Para documentar los geles se utilizó un transiluminador modelo 2000 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EE.UU.) y el sistema Olympus C-5060, 5,1 MP (Olympus, Japón). El análisis de los geles se realizó con el programa DIGI Doc-It versión 2.4.0 (UVP, Upland, CA, EE.UU.).

7. Encuesta operarios

1. **Edad: AÑOS Antigüedad Laboral: AÑOS**

2. **Actividad que desarrolla (marcar con una cruz el sector que pertenece):**

Sector Corrales	<input type="checkbox"/>	Salas de Vísceras	<input type="checkbox"/>
Playa de Faena-Z Sucia	<input type="checkbox"/>	Sector Cámaras	<input type="checkbox"/>
Playa de Faena-Z Limpia	<input type="checkbox"/>	Mantenimiento	<input type="checkbox"/>

3. **Si trabaja en una zona limpia (faena zona limpia o cámaras) ¿ingresa a zonas sucias (corrales, faena zona sucia, sala de vísceras o mantenimiento) durante las horas de trabajo?**

SI NO

4. **Si trabaja en una zonas sucias (corrales, faena zona sucia, sala de vísceras o mantenimiento) ¿ingresa a zonas limpias (faena zona limpia o cámaras) durante las horas de trabajo?**

SI NO

5. **¿Posee Libreta Sanitaria?: SI NO**

6. **Si posee Libreta Sanitaria, la misma se encuentra:**

ACTUALIZADA

VENCIDA

7. **¿Realizó el examen médico?: SI NO**

8. **¿Ha realizado cursos previos de Manipulación de Alimentos?:**

SI NO

9. **¿Qué función deben cumplir los baños y vestuarios para el personal del frigorífico?: Marcar la opción correcta**

- ¿Posibilitar cambiar ropa de calle por ropa de trabajo?

- ¿Posibilitar la higiene del personal?
- ¿Posibilitar comer en horas de descanso?

10. El agua del establecimiento frigorífico debe ser potable: Marcar la opción correcta

- ¿Solo para el consumo del personal?
- ¿Solo para el proceso de faena?
- ¿Solo para lavar y desinfectar palcos y equipos?
- Siempre

11. Para realizar un proceso de limpieza y desinfección, cuáles de las siguientes preguntas debo realizarme: Marcar la opción correcta

- ¿Qué necesito limpiar y desinfectar?
- ¿Cómo lo voy a hacer?
- ¿Con qué frecuencia?
- Todas las anteriores son correctas.
- Nada

12. ¿Conoce qué es un filtro sanitario? ¿Qué es?

SI

NO

8. Modelo de informe entregado a cada planta

CUANTIFICACIÓN DEL RIESGO Y CALIDAD MICROBIOLÓGICA INTEGRAL EN UNA PLANTA DE FAENA DE BOVINOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

Instituciones participantes:

1. Ministerio de Agroindustria de la Provincia de Buenos Aires
2. Instituto de Genética Veterinaria “Ing F. Dulout”, CONICET-UNLP (IGEVET)
3. Centro Estudios Infectológicos “Dr. D. Stamboulian” (CEI)

INTRODUCCION

En la Provincia de Buenos Aires existen XX plantas de faena de tránsito provincial controladas por el Ministerio de Agroindustria de la provincia de Buenos Aires. Hasta el presente no se realizaron análisis descriptivos de riesgos asociados con dichos frigoríficos. Esta carencia de datos a lo largo de la cadena de producción-comercialización de carne bovina en la Provincia de Buenos Aires dificulta la implementación de medidas efectivas de prevención. Por lo tanto, es necesario evaluar la condición actual del proceso de producción de la carne bovina destinada a consumo minorista local para luego implementar acciones de mejora y estrategias de intervención tendientes a mejorar la calidad del producto final.

El objetivo de este trabajo fue cuantificar el riesgo y realizar un estudio microbiológico integral sobre carne bovina y superficies ambientales en una planta de faena de tránsito provincial.

METODOLOGIA

Entre los meses de mayo y agosto de 2017, se realizaron 10 visitas a una planta faenadora de bovinos en la Provincia de Buenos Aires. Se diseñaron dos planillas para cuantificación del riesgo de los procesos pre-operacional y operacional. En cada visita se calificó a la planta según el riesgo (alto, moderado y bajo). En total se tomaron 63 muestras de carne, correspondientes a 60

esponjados de medias reses y tres muestras de carne de cabeza de 1 kg cada una. Además, se tomaron 15 muestras de agua de las piletas de enfriado de vísceras (3 corazón, 3 hígado, 3 riñón, 3 molleja y 3 chinchulines), 60 esponjados de superficies ambientales (manos, cuchillos, botas, palcos, cámaras frigoríficas y baños) y 50 muestras de agua de las diferentes bocas de abastecimiento (pozos, faena, baños). La determinación de la carga bacteriana de las medias reses se realizó mediante el recuento de mesófilos, coliformes y *Escherichia coli* utilizando Petrifilm® (3M). A partir de superficies ambientales, carne y agua de las piletas de enfriado de vísceras se realizó la detección de *Salmonella* spp., *E. coli* O157 y STEC no-O157, mediante RT-PCR GeneDisc® (Pall Corporation). Las muestras de agua fueron analizadas según Código Alimentario Argentino (CAA): mesofilos, coliformes, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Para la detección de Cloro se utilizó un kit comercial (Merck). Además, se realizó una encuesta a los operarios de la planta para evaluar sus conocimientos sobre buenas prácticas de manipulación de alimentos.

RESULTADOS

Cuantificación de Riesgo. En las 10 visitas se cuantificó el riesgo, 5 visitas fueron pre-operacionales y 5 operacionales.

En pre-operacional se obtuvo un valor de riesgo entre XX y XX (valor consenso XX) sobre un total de 100. Estos valores corresponden a un riesgo XX. Se adjunta la evaluación consensuada de todas las visitas en el anexo I.

En operacional se obtuvo un valor de riesgo entre XX y XX (valor consenso XX) sobre un total de 100. Estos valores corresponden a un riesgo XX. Se adjunta la evaluación consensuada de todas las visitas en el anexo II.

Microorganismos indicadores. La mediana obtenida con microorganismos indicadores fue: mesófilos XX UFC/400 cm², coliformes XX UFC/400 cm² y *E. coli* XX UFC/400 cm². No se encontraron diferencias significativas entre las etapas pre-operacional y operacional.

***Salmonella* spp.** se detectó en XX muestras de carne y aisló en XX. Se detectó la presencia de *Salmonella* spp. en XX muestras ambientales, aislándose en XX

muestras. Además se detectó *Salmonella* spp. en XX muestras de agua de lavado y enfriado de vísceras, siendo posible su aislamiento en XX.

***E. coli* O157:H7** fue detectada en XX muestras de carne y aislada en XX. Fue detectada en XX muestras ambientales, siendo aislada en XX. Además se detectó en XX muestras de agua de lavado y enfriado de vísceras, siendo posible su aislamiento en XX de ellas.

De las mismas muestras que dieron positivas al tamizaje, se aisló *E. coli* O157 no toxigénica de XX muestras de medias reses, XX muestras ambientales y en XX muestra de agua del piletón de lavado de vísceras.

***Escherichia coli* productor de toxina Shiga.** El gen *stx* fue detectado en XX muestras de carne. Asimismo se detectó el gen *stx* XX superficies ambientales y XX muestras de piletones de lavado y enfriado de vísceras. De las XX muestras *stx* positivas, se aislaron XX cepas de STEC no-O157.

Respecto de la detección de *Salmonella* spp., *E. coli* O157:H7 y STEC no-O157 no se encontraron diferencias significativas entre las etapas pre-operacional y operacional.

AGUA. Sobre un total de XX muestras de agua, XX no fueron potables según CAA.

- El agua de XX muestras de los pozos en forma individual no fue potable.
- El agua de XX muestras colectadas en planta de faena no fue potable.
- El agua de XX muestras colectadas en los baños y vestuarios de los operarios no fue potable.

Cloro en agua. Se detectó XX ppm de cloro en los diferentes sitios de toma de muestra, variable en cada una de las visitas.

Encuesta realizada a los operarios de la planta. Se realizó una encuesta a XX operarios (XX% del total de empleados). Los resultados se presentan en el anexo III.

ACCIONES DE MEJORA

Considerando que el riesgo fue XX, tanto en la etapa pre-operacional como operacional, y que estos resultados fueron verificados mediante los análisis microbiológicos, se sugieren las siguientes acciones de mejora:

1) AGUA

- a. Inhabilitar el pozo N°2.
- b. Instalar sistema para la dosificación de Cloro en la cisterna. Implementar un registro de verificación de cloro libre diario.
- c. Implementar un procedimiento operativo estandarizado de sanitización (POES) en el tanque de la planta cada 6 meses, incluyendo un registro.
- d. Realizar análisis microbiológicos y físico-químicos del agua cada 6 meses.
- e. Verificar y registrar la eliminación de efluentes a la laguna.

2) INSTALACIONES, EQUIPAMIENTO Y OPERARIOS

- a) Se identifican como principales desvíos estructurales:
 - comunicación directa entre playa de faena zona limpia y sala de vísceras
 - comunicación directa entre sala vísceras verdes zona sucia y sala de vísceras verdes zona limpia
 - salida de decomiso desde sector de inspección veterinaria y digestor
 - implementar 2 filtros sanitarios, uno en el ingreso de sala de faena zona sucia y en otro en el ingreso de sala de vísceras verdes zona sucia
- b) Planificar el mantenimiento continuo de las instalaciones.
- c) Diseñar, mantener por escrito e implementar procedimientos operativos estandarizados de sanitización (POES): limpieza usando detergente y agua caliente, enjuague y desinfección en la planta luego de la faena: manga, corrales, cajón de noqueo, faena, menudencias y cámaras. En el POES se debe incluir pisos, paredes, techos, columnas, rejillas, palcos, puertas, zorras, troneras, cuchillos, chairas, delantales, sierras, desolladoras, botas, etc.
- d) Implementar el uso de filtros sanitarios.

- e) Implementar el uso de esterilizadores en toda la línea de faena.
- f) Reforzar el sistema integral para el manejo y control de plagas.

3) PROCEDIMIENTOS Y CAPACITACION

Se recomienda:

- a) implementar el atado de culata y esófago.
- b) utilizar correctamente el martillo noqueador.
- c) capacitar a los responsables de calidad de la planta (profesionales y paratécnicos). El grupo de trabajo Ministerio de Agroindustria-IGEVET-CEI ofrece el dictado de cursos en la planta y coordinar una visita a un frigorífico exportador.
- d) capacitar a los operarios y empleados de la planta con base en los resultados obtenidos en el presente estudio.
- e) fortalecer los hábitos en buenas prácticas de higiene (BPH) y buenas prácticas de manipulación (BPM). El grupo de trabajo Ministerio de Agroindustria-IGEVET-CEI ofrece el dictado de los cursos en la planta.

9. Cuantificación de riesgo obtenida a partir de las planillas de cuantificación de riesgo pre-operacional y operacional en los tres frigoríficos

Planilla pre-operacional									
Frigorífico	Etapa	Visita	Bloque I	Bloque II	Bloque III	Bloque IV	Bloque V	Bloque VI	Total
A	I	2	7	5	3	2	3	1	20
		4	3	5	3	2	4	1	18
		6	6	8	4	2	5	1	25
		8	5	9	4	2	3	1	24
		10	5	11	5	2	4	1	27
	III	2	7	16	5	6	9	3	41
		3	8	18	6	6	6	4	42
4		7	18	6	5	6	4	40	
B	I	1	8	13	3	0	4	4	32
		3	7	11	2	0	5	4	29
		5	7	11	2	0	5	4	29
		7	6	13	2	0	5	2	28
	III	1	10	24	6	0	13	7	60
		2	9	23	6	0	11	5	55
		3	10	22	5	0	10	7	54
		4	7	23	6	0	6	6	48
C	I	2	5	16	5	0	5	2	35
		4	5	17	7	0	8	3	39
		6	5	16	7	0	6	3	37
		8	5	15	6	0	6	3	36
		10	5	13	7	0	5	2	33
	III	1	7	21	5	0	8	3	44
		2	5	18	6	0	7	3	38
		4	6	18	6	0	7	4	40
Planilla operacional									
A	I	1	7	3	0	2	1	7	19
		3	5	3	0	2	2	6	17
		5	2	2	0	2	1	6	13
		7	2	2	0	2	4	4	14
		9	5	3	1	3	3	4	20
	III	1	9	8	6	14	4	7	48
		2	6	6	4	9	7	6	39
		3	8	7	2	11	9	4	41
4		9	6	2	11	6	6	40	
B	I	2	5	6	4	2	4	5	25
		4	5	5	2	2	4	4	22

		6	5	4	4	2	4	4	22
		8	5	5	2	2	4	4	25
		10	6	4	1	3	6	3	24
	III	1	10	19	10	12	11	5	66
		2	10	19	7	11	13	6	66
		3	10	17	9	14	14	5	69
		4	10	19	7	14	14	4	68
C	I	1	6	4	4	11	11	4	40
		3	2	5	3	9	9	4	32
		5	6	5	5	12	6	5	38
		7	6	4	4	12	9	4	38
		9	5	4	3	11	9	4	36
	III	1	7	16	7	11	12	3	56
		2	4	15	7	9	9	4	48
		3	7	15	7	11	5	4	48
		4	5	13	7	14	12	5	56

10. Resultados de las diferentes muestras de agua en los tres frigoríficos

etapa I

Frigorífico	Semana	Muestra	Mesófilos	Coliformes	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i>
A	1°	Pozos	<500	3	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Faena	<500	75	1	0
		Baño	<500	<3	0	0
	2°	Pozos	<500	<3	0	1
		Tanque	<500	7	0	0
		Faena	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
	3°	Pozos	<500	4	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Faena	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
	4°	Pozos	<500	43	1	0
		Tanque	<500	4	0	0
		Faena	>500	4	0	0
		Baño	>500	<3	0	0
	5°	Pozos	>500	4	0	0
		Tanque	>500	4	0	1
		Faena	>500	9	0	0
		Baño	>500	15	0	0
	6°	Pozo 1	<500	460	1	0
		Pozos	<500	240	1	0
		Tanque	>500	<3	0	0
		Faena	>500	<3	0	0
		Baño	>500	<3	0	0
	7°	Pozo 2	<500	15	0	0
		Pozos	<500	23	0	0
		Tanque	<500	4	0	1
		Faena	<500	4	0	1
		Baño	<500	<3	0	1
	8°	Pozo 3	<500	1100	1	0
		Pozos	<500	23	0	0
Tanque		<500	<3	0	0	
Faena		<500	43	1	1	
Baño		<500	23	0	1	

	9°	Pozo 1	<500	4	0	0
		Pozos	<500	4	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Faena	<500	<3	0	0
		Baño	<500	4	0	0
	10°	Pozo 3	<500	7	0	0
		Pozos	<500	21	0	0
		Tanque	<500	21	0	0
		Faena	<500	<3	0	0
		Baño	<500	23	0	0
B	1°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
		Pozo 2	<500	9	1	0
		Filtro	<500	<3	0	0
	2°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Baño	<500	4	0	0
		Pozo 3	<500	<3	1	0
		Filtro	<500	<3	0	0
	3°	Pozo 2	<500	9	1	0
		Tanque	<500	14	1	0
		Baño	<500	23	1	0
		Pozo 3	<500	4	0	0
		Filtro	<500	<3	0	0
	4°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Baño	<500	3	0	0
		Pozo 2	<500	<3	0	0
		Filtro	<500	<3	0	0
	5°	Pozo 2	<500	4	0	0
		Tanque	<500	4	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
		Pozo 3	<500	<3	0	0
		Filtro	<500	<3	0	0
	6°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
Pozo 3		<500	<3	0	0	
Filtro		<500	4	0	0	
7°	Pozo 1	<500	<3	0	0	

		Tanque	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
		Pozo 2	<500	4	0	0
		Filtro	<500	<3	0	0
	8°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Tanque	<500	15	0	0
		Baño	<500	4	0	0
		Pozo 3	<500	<3	0	0
		Filtro	<500	7	0	0
	9°	Pozo 2	<500	23	0	0
		Tanque	<500	4	0	0
		Baño	<500	7	1	0
		Pozo 1	<500	<3	0	0
		Filtro	<500	15	0	0
	10°	Pozo 3	<500	<3	0	0
		Tanque	<500	4	0	0
		Baño	<500	9	0	0
		Pozo 1	<500	<3	0	0
		Filtro	<500	9	0	0
C	1°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	<500	23	1	1
		Pozo 3	<500	9	0	0
		Planta	<500	<3	0	0
		Baño	<500	4	0	0
	2°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	>500	1100	1	0
		Pozo 3	<500	15	0	0
		Planta	<500	23	1	0
		Baño	<500	23	0	0
	3°	Pozo 1	<500	9	0	0
		Pozo 2	>500	1100	1	0
		Pozo 3	<500	4	0	0
		Planta	<500	1100	0	0
		Baño	<500	23	1	0
	4°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	<500	240	1	0
		Pozo 3	<500	<3	0	0
		Planta	<500	9	0	0
		Baño	>500	1100	1	1
5°	Pozo 1	<500	<3	0	0	
	Pozo 2	<500	460	1	0	

		Pozo 3	<500	4	0	0
		Planta	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
	6°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	>500	1100	1	1
		Pozo 3	<500	43	0	0
		Planta	<500	120	0	0
		Baño	<500	43	1	0
	7°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	>500	<3	0	0
		Pozo 3	<500	<3	0	0
		Planta	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
	8°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	<500	240	1	0
		Pozo 3	<500	43	0	0
		Planta	>500	21	1	0
		Baño	<500	75	0	0
	9°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	<500	<3	0	0
		Pozo 3	<500	<3	0	0
		Planta	<500	24	1	0
		Baño	<500	<3	0	0
	10°	Pozo 1	<500	<3	0	1
		Pozo 2	>500	9	1	0
Pozo 3		<500	<3	0	0	
Planta		>500	4	0	1	
Baño		>500	240	1	1	

0= ausencia; 1= presencia.

11- Respuestas de las encuestas realizadas a los operarios en las etapas I y III

Pregunta	Opciones	Respuestas etapa I	Respuestas etapa III
Edad		18-71	19-70
Antigüedad		2 m - 25 a	5 m - 33 a
Total		87	71
Actividad	Corrales	4	2
	Faena sucia	34	35
	Faena limpia	12	16
	Vísceras	23	14
	Cámaras	7	2
	Mantenimiento	6	2
	Capataz	1	0
Si trabaja en una zona limpia ¿ingresa a zonas sucias durante las horas de trabajo? O viceversa	SI	20 (23,0%)	7 (9,9%)
	NO	67 (77,0%)	64 (90,1%)
¿Posee Libreta Sanitaria?	SI	49 (56,3%)	44 (62,0%)
	NO	38 (43,7%)	27 (38,0%)
¿Actualizada?	SI	38 (77,5%)*	37 (84,1%)*
	NO	11 (22,5%)*	7 (15,9%)*
¿Realizó el examen médico?	SI	54 (62,1%)	46 (64,8%)
	NO	33 (37,9%)	25 (35,2%)
¿Realizó cursos previos de Manipulación de Alimentos?	SI	2 (2,3%)	59 (83,1%)
	NO	85 (98,7%)	12 (16,9%)
¿Qué función deben cumplir los baños y vestuarios para el personal del frigorífico?	¿Posibilitar cambiar ropa de calle por ropa de trabajo?	65 (74,7%) **	56 (78,8%) **
	¿Posibilitar la higiene del personal?	52 (59,8%) **	51 (71,8%) **
	¿Posibilitar comer en horas de descanso?	25 (28,7%) **	9 (16,6%) **
El agua del establecimiento frigorífico debe ser potable	¿Solo para el consumo del personal?	5 (5,7%)	2 (2,8%)
	¿Solo para el proceso de faena?	9 (10,4%)	1 (1,4%)
	¿Solo para lavar y desinfectar palcos y equipos?	8 (9,2%)	3 (4,2%)
	Siempre	65 (74,7%)	65 (91,6%)

Para realizar un proceso de limpieza y desinfección, ¿cuáles de las siguientes preguntas debo realizarme?	¿Qué necesito limpiar y desinfectar?	7 (8,0%)	3 (4,2%)
	¿Cómo lo voy a hacer?	3 (3,4%)	2 (2,8%)
	¿Con qué frecuencia?	4 (4,7%)	1 (1,4%)
	Todas	39 (44,8%)	59 (83,0%)
	Ninguna	34 (39,1%)	6 (8,4%)
¿Conoce qué es un filtro sanitario?	SI	19 (21,8%)	61 (85,9%)
	NO	68 (78,2%)	10 (14,1%)

* Pregunta realizada, solo a aquellos operarios que respondieron de modo

afirmativo a la pregunta de sobre si poseía libreta sanitaria.

** Preguntas con múltiples opciones de respuestas. Los encuestados pudieron seleccionar más de una respuesta.

**12. Resultados de las diferentes muestras de agua en los tres frigoríficos
etapa III**

Frigorífico	Semana	Muestra	Mesófilos	coliformes	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas</i>
A	1°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	<500	23	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Planta	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
	2°	Pozo 2	<500	9	0	0
		Pozo 3	<500	20	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Planta	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
	3°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 3	<500	28	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Planta	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
	4°	Pozo 2	<500	43	1	0
		Pozo 3	<500	<3	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Planta	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
B	1°	Pozo 1	<500	43	0	0
		Pozo 2	<500	<3	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Filtro	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
	2°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 4	<500	<3	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Filtro	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
	3°	Pozo 2	<500	<3	0	0
		Pozo 4	<500	<3	0	0
Tanque		<500	<3	0	0	
Filtro		<500	<3	0	0	

	4°	Baño	<500	<3	0	0
		Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	<500	<3	0	0
		Tanque	<500	<3	0	0
		Filtro	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
C	1°	Pozo 1	<500	4	0	1
		Pozo 2	<500	<3	0	0
		Planta	<500	<3	0	1
		Baño	<500	3	0	1
	2°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	<500	<3	0	0
		Planta	<500	4	1	1
		Baño	<500	<3	0	0
	3°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	<500	<3	0	0
		Planta	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0
	4°	Pozo 1	<500	<3	0	0
		Pozo 2	<500	<3	0	0
		Planta	<500	<3	0	0
		Baño	<500	<3	0	0

0= ausencia; 1= presencia.