

# MICROAL 2012



“La inocuidad microbiológica de las carnes: un desafío desde la granja hasta el plato”.  
“Avance en los controles microbiológicos en la industria de la carne en Argentina”

David Teitelbaum, JBS Argentina



# SITUACIÓN DE LA INDUSTRIA CÁRNICA

REGULACIONES  
&  
INTERPRETACIONES

TECNOLOGÍAS DE  
INTERVENCIÓN

STEC

MÉTODOS  
ALTERNATIVOS  
VALIDADOS



# REGULACIONES



- **FSIS-USDA - 04/06/2012 - 9 CFR Parts 416, 417, and 430 - Shiga Toxin-Producing E.coli in Certain Raw Beef Products**
- **Unión Europea - Directiva 2003/99/CE del 17/11/2003 sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos.**
- **SENASA - CIRCULAR 4032A - 19/10/2012 Monitoreo de E.coli verotoxigénica en establecimientos faenadores de rumiantes domésticos (bovinos, ovinos y cabras)**

# FSIS-USDA

4 junio de 2012



Serogrupos STEC NO-O157 reportados al CDC entre 2003 y 2009 caracterizados por el Laboratorio Nacional de Referencia de *Escherichia coli* sobre un total de 3928 aislamientos.

SEROGRUPO	PREVALENCIA
O26	23,2 %
O103	20,4 %
O111	16,3 %
O45	7,3 %
O121	6,3 %
O145	4,5 %
TOTAL	78 %

# Non-O157 STEC (by serogroup) and *E. coli* O157:H7 YTD



## Raw Ground Beef Components (RGBC)

As of Oct 28, 2012



Federal Plants

Import

Follow-up to RGBC  
Positive  
Percent Positive  
(Number)

Verification/  
Intensified  
Percent Positive  
(Number)

Target STEC

Trim Verification  
Percent Positive  
(Number)

0.80%  
(15/1,881)

1.07%  
(4/374)

1.26%  
(8/637)

O157:H7

1.04%  
(12/1,159)

8.48%  
(24/283)

0.00%  
(0/149)

Total non-O157 STEC

O26

0.09%  
(1/1,159)

1.77%  
(5/283)

0.00%  
(0/149)

O45

0.09%  
(1/1,159)

0.71%  
(2/2583)

0.00%  
(0/149)

O103

0.52%  
(6/1,159)

4.95%  
(14/283)

0.00%  
(0/149)

O111

0.26%  
(3/1,159)

0.35%  
(1/283)

0.00%  
(0/149)

O121

0.00%  
(0/1,159)

0.00%  
(0/283)

0.00%  
(0/149)

O145

0.09%  
(1/1,159)

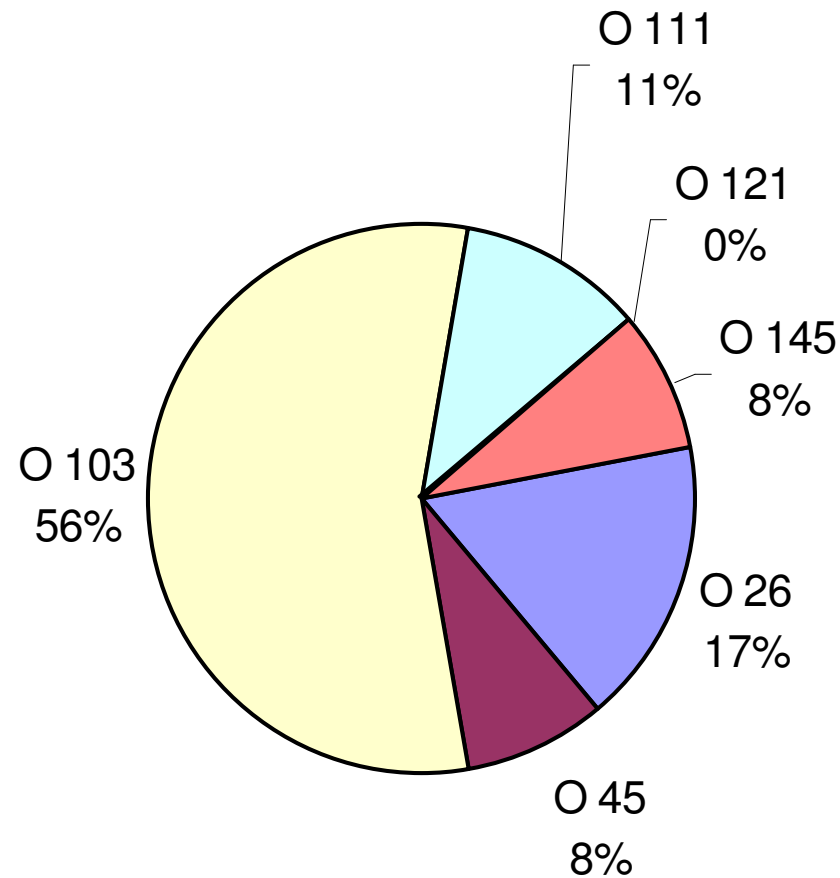
0.71%  
(2/2483)

0.00%  
(0/149)

RECORTES DE CARNE	CARNE MOLIDA	TOTAL
1.04% (12/1,159)	8.48% (24/283)	2.50% (36/1,442)



DREAMSTIME.COM



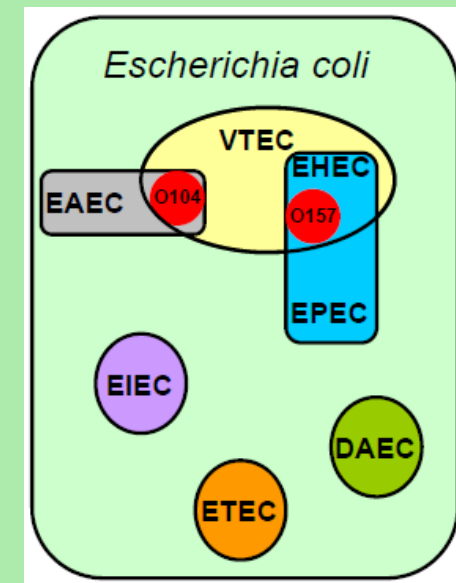
**FSIS – Hallazgos de STEC No 0157 al 28-10-2012**

# DIRECTIVA 2003/99/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO ANEXO I



## A. Zoonosis y agentes zoonóticos que deben ser objeto de vigilancia

- Brucelosis y sus agentes causales
- Campilobacteriosis y sus agentes causales
- Equinococosis y sus agentes causales
- Listeriosis y sus agentes causales
- Salmonelosis y sus agentes causales
- Triquinosis y sus agentes causales
- Tuberculosis por *Mycobacterium bovis*
- *Escherichia coli* verotoxigénica.



# RASFF Portal RASFF - Rapid Alert System for Food and Feed

Notifications List New Search

## Notifications list : 12 results

**Search criteria** | Subject \*STX\* OR \*SHIGATOXIN\* | Year 2012 | Product type food | Hazard category pathogenic micro-organisms | Origin country ARGENTINA (AR)



<< First << << Previous 100 << Notifications 1 to 12 of 12 >> Next 100 >> >> Last >>

	Classification	Date of case	Last change	Reference	Country	Subject	Product Category	Type	
1.	border rejection	09/10/2012	16/10/2012	<a href="#">2012.BZK</a>	NL	shigatoxin-producing Escherichia coli (presence /25g) in chilled bovine meat from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	
2.	border rejection	09/10/2012	16/10/2012	<a href="#">2012.BZE</a>	NL	shigatoxin-producing Escherichia coli (presence /25g) in chilled bovine meat from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	
3.	border rejection	11/10/2012	11/10/2012	<a href="#">2012.BZU</a>	NL	shigatoxin-producing Escherichia coli (presence) in beef meat from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	
4.	border rejection	29/06/2012	08/10/2012	<a href="#">2012.BIN</a>	DE	shigatoxin-producing Escherichia coli in chilled beef from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	
5.	border rejection	22/06/2012	14/09/2012	<a href="#">2012.BHJ</a>	DE	shigatoxin-producing Escherichia coli (presence /25g) in chilled boneless beef from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	
6.	border rejection	29/06/2012	05/09/2012	<a href="#">2012.BIQ</a>	DE	shigatoxin-producing Escherichia coli (stx1, stx2 positive) in chilled boneless beef meat from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	
7.	border rejection	22/06/2012	23/07/2012	<a href="#">2012.BHM</a>	DE	shigatoxin-producing Escherichia coli (presence /25g) in chilled boneless beef from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	
8.	border rejection	22/06/2012	16/07/2012	<a href="#">2012.BHN</a>	DE	shigatoxin-producing Escherichia coli (presence /25g) in chilled boneless beef from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	
9.	border rejection	22/06/2012	16/07/2012	<a href="#">2012.BHL</a>	DE	shigatoxin-producing Escherichia coli (presence /25g) in chilled boneless beef from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	
10.	border rejection	22/06/2012	16/07/2012	<a href="#">2012.BHK</a>	DE	shigatoxin-producing Escherichia coli (presence /25g) in chilled boneless beef from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	
11.	border rejection	19/06/2012	04/07/2012	<a href="#">2012.BGL</a>	DE	shigatoxin-producing Escherichia coli in chilled beef (Bos Taurus) from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	
12.	alert	30/05/2012	21/06/2012	<a href="#">2012.0738</a>	DE	shigatoxin-producing Escherichia coli (stx1 and stx2 positive; presence /25g) in rump steak from Argentina	meat and meat products (other than poultry)	food	





# SENASA - CIRCULAR 4032A - 19/10/2012

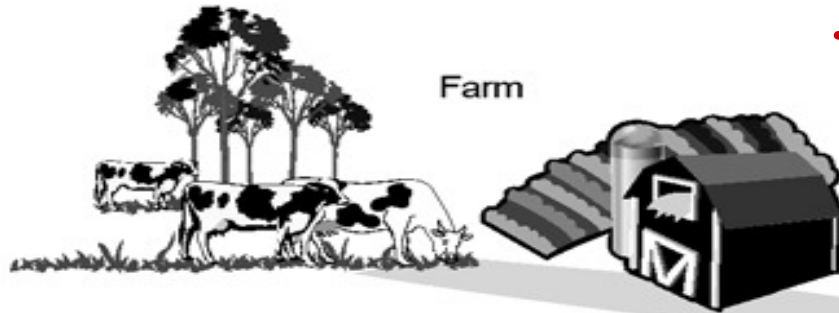
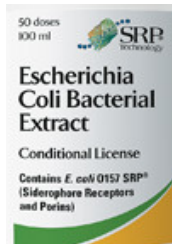
## MONITOREO DE *E. COLI* VEROTOXIGÉNICA / SHIGATOXIGÉNICA (VTEC/STEC) EN ESTABLECIMIENTOS FAENADORES DE RUMIANTES DOMÉSTICOS (BOVINOS. OVINOS Y CABRAS)

- Muestreo Oficial de 30 establecimientos por semana en medias reses recién faenadas (75% UE, 22% consumo y 3% ovinos)
- Se extraen 100 gramos de cogote, brazuelo, lomo, pecho y nalga (500 g) que se envían congelados al DILAB.
- **Muestra negativa:** ausencia de genes *stx/vtx*.
- **Muestra positiva:** presencia de genes *stx/vtx* (+) y *eae* (+) y algunos de los serogrupos prevalentes: O45, O26, O103, O111, O121, O145, O157  
CON o SIN AISLAMIENTO

*Resultados positivos originarán un relevamiento completo de las BPM del establecimiento, instalaciones, análisis de la capacidad operativa, orígenes de la materia prima (campos proveedores, feed lot).*

*Deberá informarse a los proveedores de los animales y derivar las carcasas involucradas para la elaboración de productos termoprocesados*

# TECNOLOGÍAS DE INTERVENCIÓN



PRE FAENA

→ CLORATO DE SODIO  
PROBIÓTICOS  
VACUNAS

↓  
LAVADO PREFAENA  
FAGOS

Feedlot

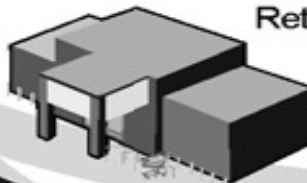


ESTERCOLERAS

Slaughter Plant



Retail



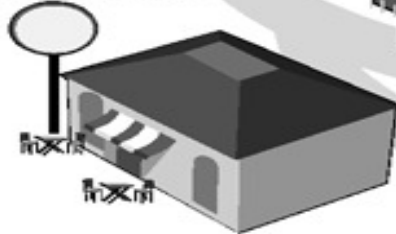
Home Preparation



Home Consumers



Restaurant



Restaurant Preparation



Restaurant Consumers



## Programa de Intervención por aplicación de Barreras Múltiples



### PRIMER BARRERA LAVADO DEL CUERO

LA PIEL DE LOS ANIMALES VIVOS ES UNA DE LAS FUENTES PRINCIPALES DE CONTAMINACIÓN, EL LAVADO REDUCE LA CARGA MICROBIANA QUE INGRESA A LA FAENA.



### SEGUNDA BARRERA ASPIRADO CON VACÍO

SE USA SOBRE LAS SUPERFICIES CÁRNICAS EN CONTACTO CON CUCHILLOS O CON LAS MÁQUINAS PELADORAS DURANTE EL PROCESO DE FAENA.



### TERCER BARRERA PRELAVADO CON ÁCIDOS ORGÁNICOS

LAVADO CON AGUA Y ÁCIDOS ÓRGANICOS SOBRE LAS CARCASAS PREVIO AL PASO DE EVISCERACIÓN.



### CUARTA BARRERA PASTEURIZACIÓN

LUEGO DE LA EVISCERACIÓN LAS CARCASAS PASAN POR UNA CÁMARA DONDE SON TRATADAS CON VAPOR A 170°C DURANTE 5 SEGUNDOS PARA LUEGO SER ENFRÍADAS AGUA FRÍA DE MODO DE PRESERVAR EL COLOR Y LA CALIDAD DE LA CARNE.



### QUINTA BARRERA APLICACIÓN ÁCIDOS ORGÁNICOS

LAVADO CON ÁCIDOS ÓRGANICOS SOBRE LAS CARCASAS PREVIO AL INGRESO A CÁMARA.



### SEXTA BARRERA ROCIADO DE LA CARCASA FRÍA

LAVADO CON ÁCIDOS ÓRGANICOS PREVIO AL PROCESAMIENTO DE LA CARCASA ENFRIADA.

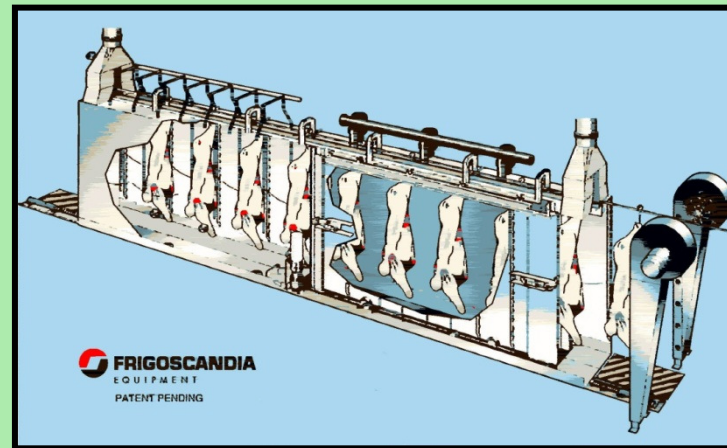
# Intervenciones post-Faena

- Aspiración superficial y vapor
- Pasteurización
- Aplicación de ácidos orgánicos (láctico, acético, cítrico, peroxiácidos)
- Aplicaciones de ácidos y sales inorgánicas
- Aplicaciones de cloro como hipercloración, ácido hipocloroso electrolíticamente generado, cloro gaseoso, ACS (hipoclorito de sodio acidificado)
- Aplicación de CPC (Cetylpyridinium chloride)
- Aplicación de aceites esenciales
- Aplicación de lauroil-L-arginato de etilo (LAE)
- Ozonización, radiación UV



## PARÁMETROS MEDIBLES

- CONCENTRACIÓN
- TEMPERATURA
- PRESIÓN
- TIEMPO DE APLICACIÓN



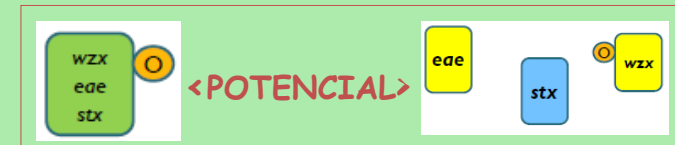
# Métodos de Referencia



- **ISO 13136:2012** - Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups
- **FSIS MLG 5B.03** - Detection and Isolation of non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) from Meat Products
- **BAM - FDA** - Chapter 4A - Diarrheagenic *Escherichia coli*
- **DIN 10118:2004-06** - Detection of verotoxine-forming *Escherichia coli*-strains (VTEC) in food derived from animals
- **POMIZA 01.002** - Ricerca di *E. coli* produttore di Verocitotossina (VTEC)
- **INEI-ANLIS - 2011** - Manual de Procedimientos "Detección de STEC O157 y no-O157 en alimentos por SIM y PCR"

# Etapas analíticas preliminares y de aislamiento y confirmación para las seis STEC no-O157

FSIS MLG 5B.03



# BAX® System Real-Time PCR STEC Suit



Alineado con el enfoque USDA FSIS, el ensayo detecta los genes de virulencia *stx* & *eae*.

Utilizando el mismo lisado, los ensayos de paneles determinan si las muestras que dieron positivas incluyen al menos uno de los BIG SIX.



## Especificaciones

- STEC Screening: *stx* & *eae*
- STEC Panel 1: *E. coli* O26, O111, O121
- STEC Panel 2: *E. coli* O45, O103, O145

Matrices: Recortes de carne, carne molida, productos frescos

Medio de Enriquecimiento: TSB+n o Medio MP

Tiempo de Enriquecimiento: Mínimo 9-12 horas

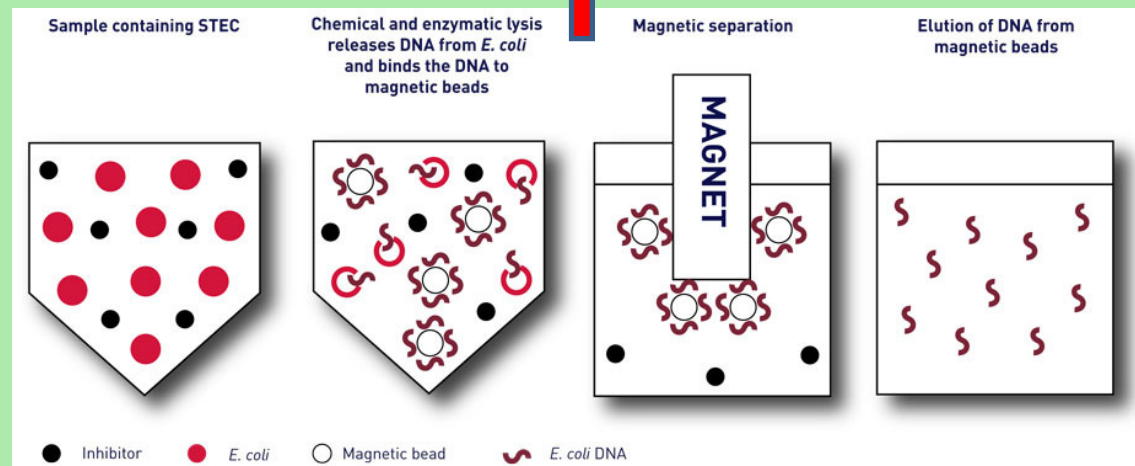
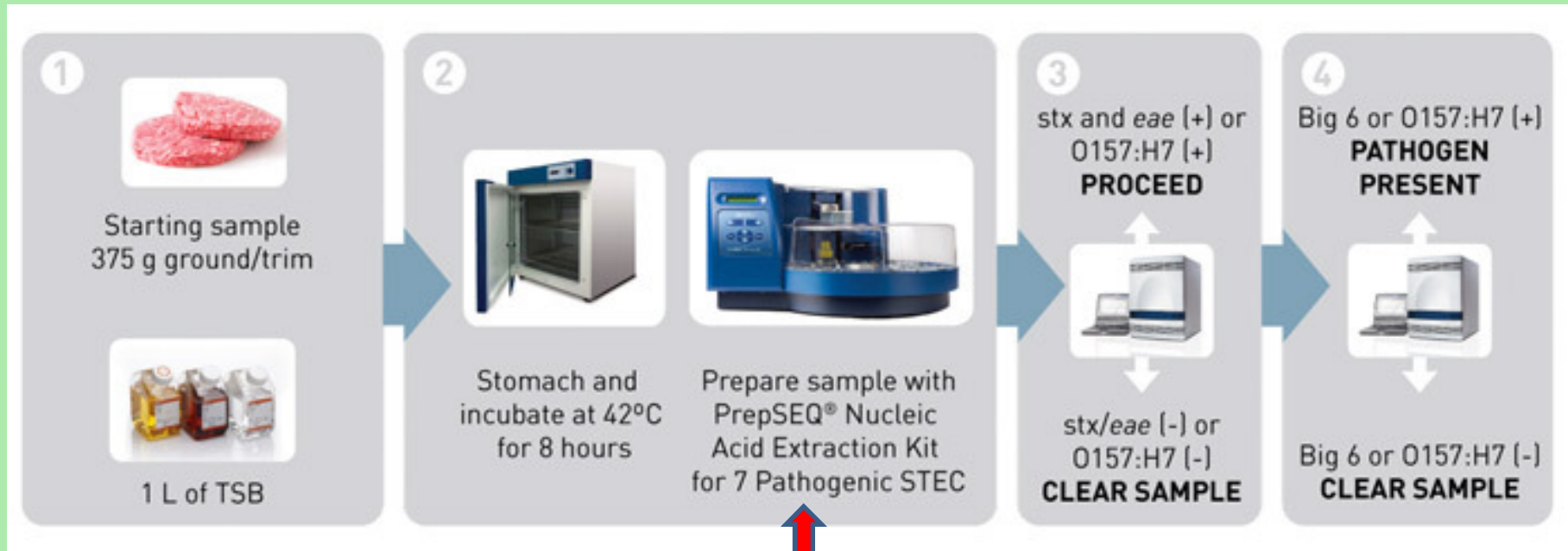
Tiempo de PCR: 55 minutos

Instrumental: Q7

Nivel de Detección:  $10^4$  ufc/mL



# The RapidFinder STEC Detection Workflow





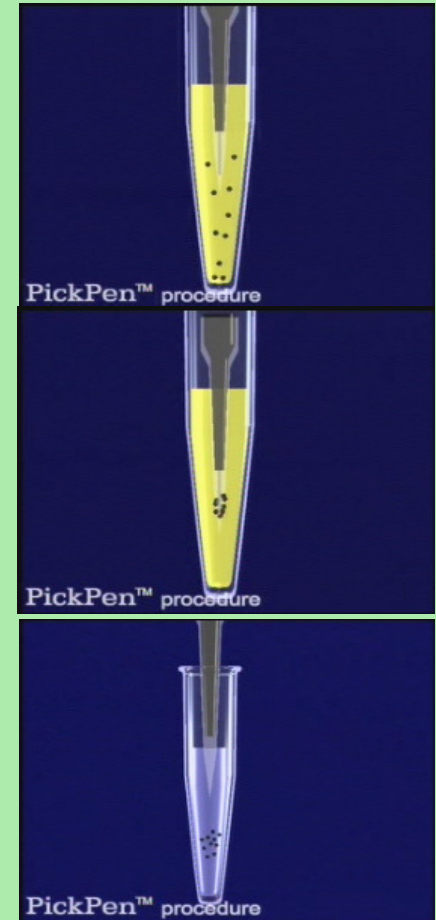
# BioControl



Los anticuerpos revestidos de partículas magnéticas se combinan con una alícuota de muestra enriquecida.

El imán PickPen captura las partículas con el organismo ligado.

Las partículas se extraen, se resuspenden en un buffer limpio y se transfiere al sistema de detección GDS.





## GeneDisc® Rapid Microbiology System

Detección simultánea « Top 6 » non-O157  
STEC (O26, O103, O111, O145, O45, O121)



Well #	FAM detection	ROX detection
1	Negative CTRL	Inhibition CTRL
2	<i>E. coli</i> O145	<i>E. coli</i> O45
3	<i>E. coli</i> O121	<i>E. coli</i> O111
4	<i>E. coli</i> O121	<i>E. coli</i> O111
5	<i>E. coli</i> O26	<i>E. coli</i> O103
6	<i>E. coli</i> O26	<i>E. coli</i> O103



POMIZA 01.002



Sample



mTSB without antibiotics

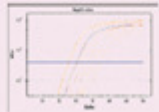


41.5°C  
10-15 hr

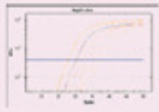
Bacterial Lysis & DNA Extraction



Real-time PCR amplification and detection  
with **iQ-Check™ STEC VirX**  
(Automatic results analysis and interpretation)

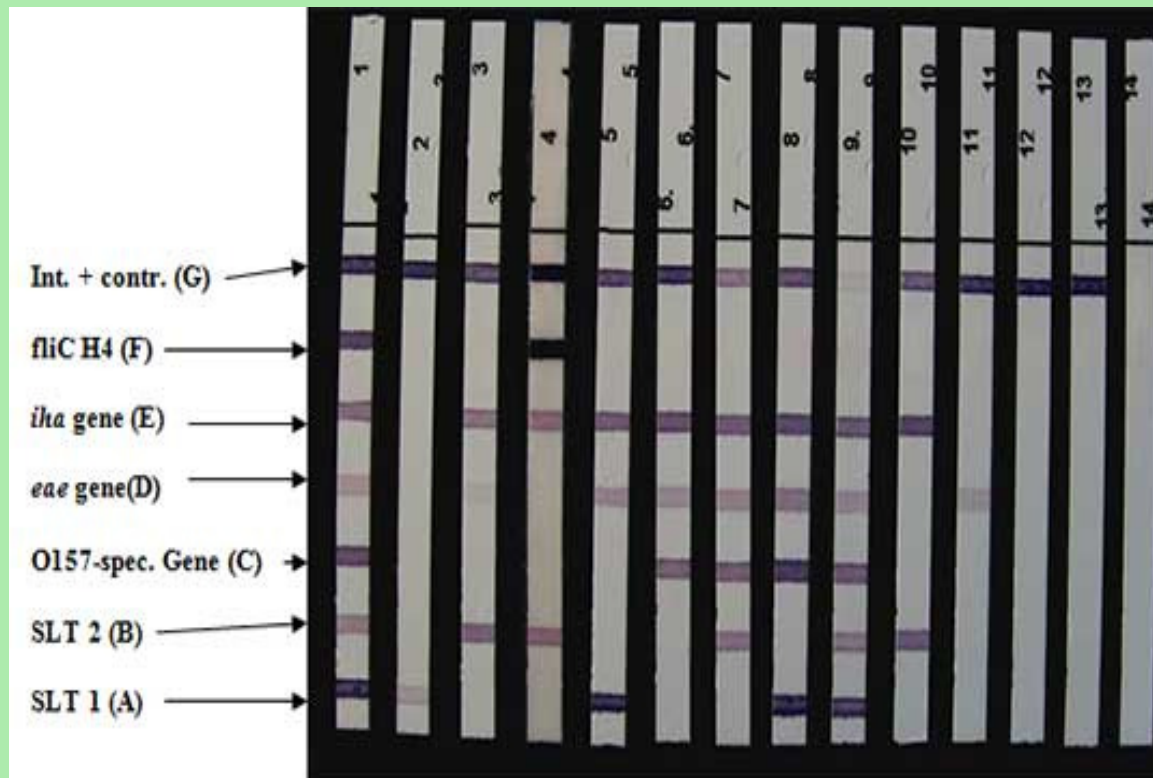


Real-time PCR amplification and detection  
with **iQ-Check™ STEC SerO**  
(Automatic results analysis and interpretation)



# SY-LAB

www.sylab.com



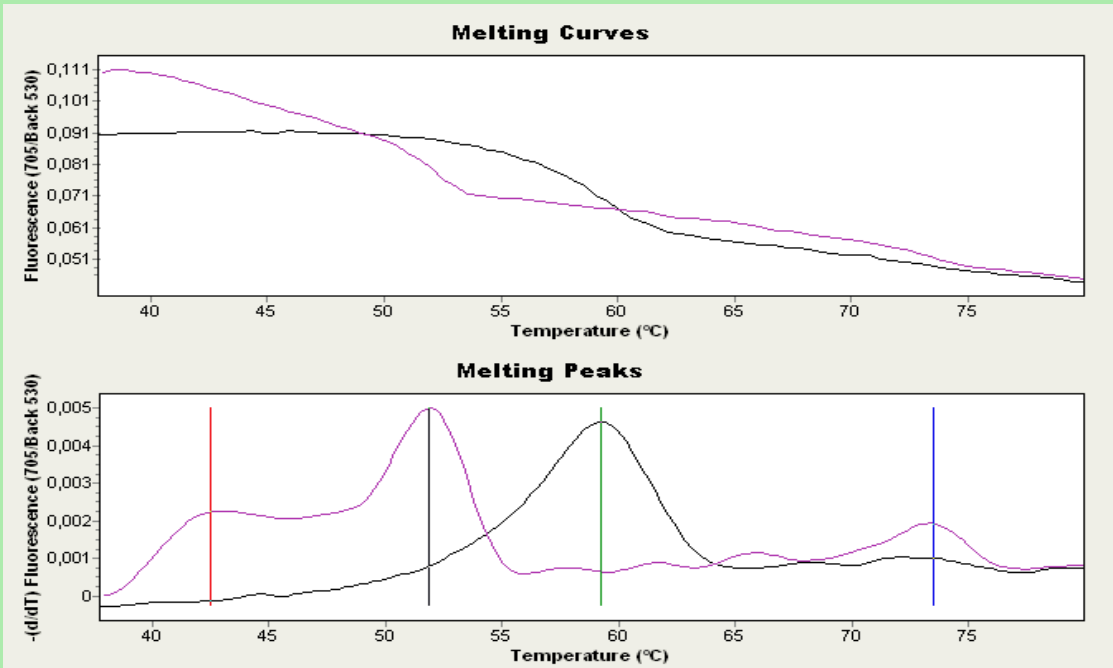
Sistema PCR Multiplex que detecta 8 serotipos:  
O26, O45, O103, O104, O111, O121, O145 y O157

## MUESTRAS:

1. Control positivo-DNA GeneGen® EHECplus Kit (all targets+)
2. EHEC (SLT 1+)
3. EHEC (SLT 2+, *eae+*, *iha+*)
4. German Outbreak isolate STEC O104:H4 (SLT 2+, *iha+*, *fliC H4+*)
5. EHEC (SLT 1+, *eae+*, *iha+*)
6. *E. coli*, serotype O157, non-toxinogen (O157+, *eae+*, *iha+*)
7. EHEC, serotype O157 (SLT 2+, O157+, *eae+*, *iha+*)
8. EHEC, serotype O157 (SLT 1+, O157+, *eae+*, *iha+*)
9. EHEC EDL933, serotype O157 (SLT 1+, SLT 2+, O157+, *eae+*, *iha+*)
10. *Escherichia coli*, aislado de cerdo (SLT 2+, *iha+*)
11. *E. coli* enteropatógeno (*eae+*)
12. *Escherichia coli* (no patógeno)
13. Control de reactivo (agua)
14. Resultado invalido (control positivo interno: negativo)

# foodproof® Kit Identificación STEC

Sistema PCR Multiplex que detecta 8 serotipos:  
 O26, O45, O103, O104, O111, O121, O145 y O157

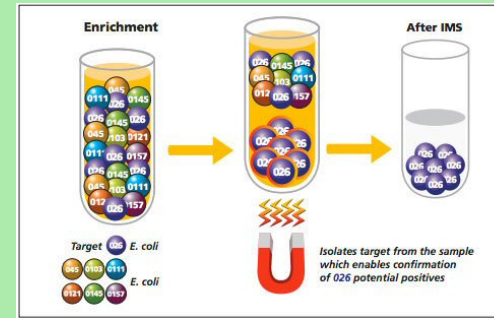


# Análisis de 5 sistemas comerciales de detección, n=550

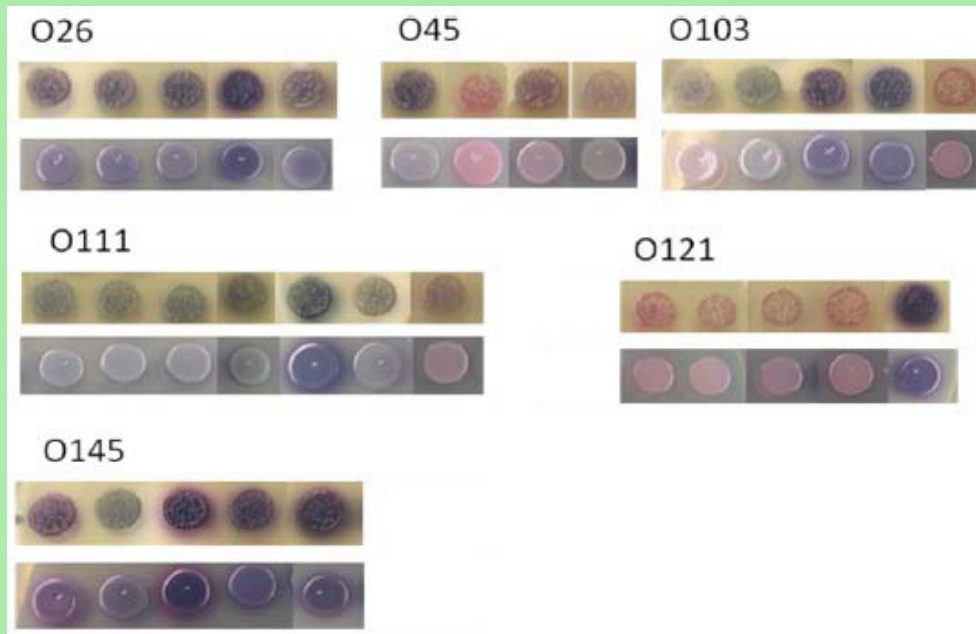
Paired Samples	System 001	System 002	System 003	System 004	System 005	USDA 5B.01
Reactive (%)	2.91	2.36	2.36	0.36	2.18	1.64
Potential Positive (%)	1.09	0.73	0.36	0.36	1.09	1.27
Confirmed Positive (%)	0.36	0.36	0.36	0.18	0.18	0.18
Unpaired Samples	System 001	System 002	System 003	System 004	System 005	USDA 5B.01
Reactive (%)	2.18	1.45	0.55	0.73	N/A	N/A
Potential Positive (%)	0.91	1.09	0.18	0.73	N/A	N/A
Confirmed Positive (%)	0.18	0.18	0.18	0.18	N/A	N/A

# SEPARACIÓN INMUNOMAGNÉTICA

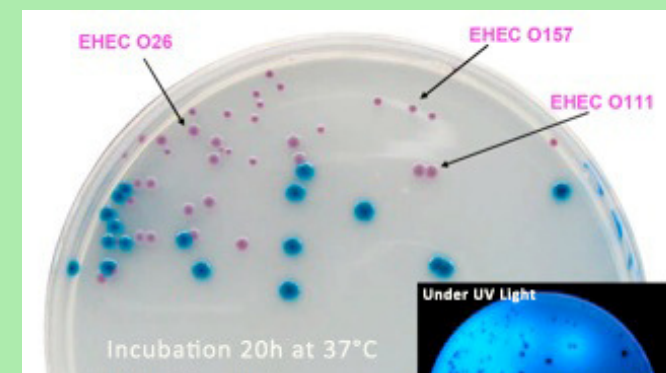
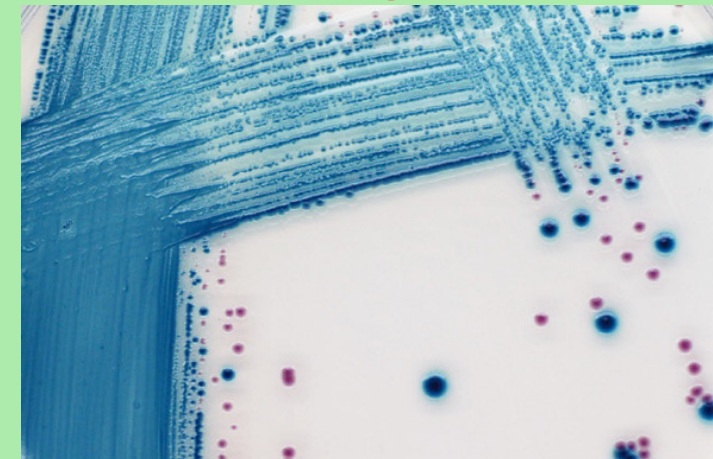
- *Lab M - Captivate O26, O103, O111, O145*
- *Life Technologies dynabeads, BedRetriever, Pathatrix*
- *RapidChek® CONFIRM™ non-O157 STEC*
- *ABRAXIS - O26, O45, O103, O111, O121, O145*



## RAINBOW AGAR

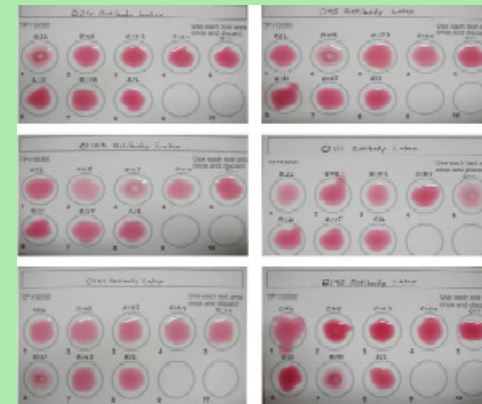


## CHROMagar™ STEC



## CONFIRMACIÓN SEROLÓGICA

- *Dryspot™ E. coli Serocheck O26, O103, O111, O145, Seroscreen*
- *Denka Seiken Agglutinating Sera O26, O103, O111, O121, O145*
- *BacTrace Anti-Escherichia coli O26, O45, O103, O111, O121, O145*
- *ABRAXIS - O26, O45, O103, O111, O121, O145*



## PRESENCIA DE TOXINAS SHIGA

- *Duopath - Merck*
- *ImmunoCard STAT!® EHEC - Meridian*
- *Premier EHEC - Meridian*
- *ProSpecT™ Shiga Toxin E. coli (STEC) Microplate - Oxoid*
- *VTEC-RPLA "SEIKEN" tests for shigatoxin 1 and 2*



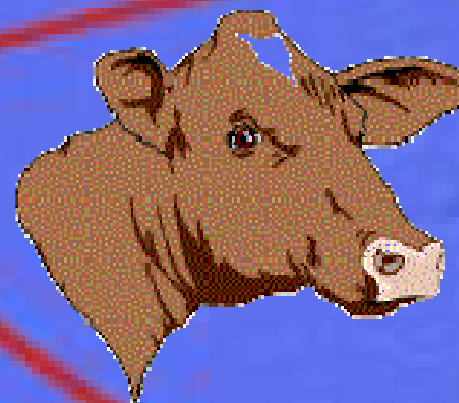
## OTROS MÉTODOS DE CONFIRMACIÓN





**Florida**

**Bermudas**



**Muchas Gracias!**

**Puerto  
Rico**