



**27459**

**Manual toma de muestras de  
*Salmonella* spp y *Escherichia coli* biotipo I  
en canales porcinas**



## TABLA DE CONTENIDO

Introducción .....	▫ 3
Definiciones .....	▫ 4
<b>1. Condiciones de seguridad previas a la toma de las muestras en canales porcinas .....</b>	<b>▫ 5</b>
1.1 Materiales requeridos para la toma de muestras .....	▫ 6
1.1.1 Indumentaria de quien toma la muestra .....	▫ 6
1.2. Para toma de muestras .....	▫ 7
<b>2. Muestreo .....</b>	<b>8</b>
2.1. Postura de guantes .....	▫ 10
2.2. Toma de muestra (método no destructivo) .....	▫ 14
2.2.1. Puntos de muestreo en canales porcinas .....	▫ 14
2.2.2. Método no destructivo (método de esponja) .....	▫ 15
<b>3. Identificación, transporte y envío de muestras .....</b>	<b>▫ 21</b>
Bibliografía .....	▫ 22

Introducción 28 NOV 2016

La industria porcina colombiana ha presentado un desarrollo importante en la última década, asociado a las exigencias del mercado tanto local como internacional. Esto ha sido determinante en el establecimiento de controles a lo largo de la cadena, reduciendo el riesgo de peligros a los consumidores y garantizando la inocuidad de los productos.

Con la globalización y los sistemas de información actuales (internet, redes sociales) los consumidores son más conscientes de la importancia que tiene la inocuidad de los alimentos, esto ha generado un cambio en la industria pues ya no basta con la evaluación del producto final, exigiendo que los procesos se hagan de manera transversal a lo largo de la cadena alimentaria, con el enfoque de la FAO de la “granja a la mesa”.

En la industria porcina uno de los procesos donde puede presentarse contaminación microbiana es el beneficio, en este punto la canal de carne puede contaminarse con *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* biotipo I por fallas el proceso de evisceración, contaminación cruzada o fallas en el proceso de desinfección, por esta razón es necesario realizar muestreos al final del beneficio para hacer seguimiento a la presencia de estos microorganismos.

Uno de los aspectos más importantes para la toma de muestras es contar con una técnica estandarizada que permita a la industria homologar sus resultados. Esta cartilla ofrece una guía para la toma de muestras en canales de cerdo que permitan realizar el análisis microbiológico con base en los lineamientos de entidades internacionales. Debe tenerse en cuenta que la muestra debe ser representativa (en función del número de animales beneficiados) y debe garantizarse el cumplimiento de condiciones asépticas durante la toma de muestra, transporte y llegada al laboratorio.

Un aspecto importante es el entrenamiento del personal encargado de la toma de muestras, de tal manera que se reduzca el error, debe conocer las normas de bioseguridad así como los materiales usados para este fin.

# Definiciones

**Buenas prácticas de Laboratorio (BPL):** Todas las prácticas concernientes a las condiciones y medidas necesarias para garantizar los resultados de los análisis de laboratorio.

**Canal:** Cuerpo del animal sacrificado, desangrado, sin pelo o cerdas, eviscerado, con cuero y extremidades, abierto a lo largo de la línea media. Astillado o no. Flameado, de color rosado característico.

***Escherichia coli* biotipo I:** también conocida como *Escherichia coli* genérica o biotipo 1 no patógena, es habitante normal del intestino. Pertenecen a este grupo todas las variedades serológicas que no son patógenas para el hombre ni para los animales.

**Eponja:** material empleado para toma de muestras, hecho de poliuretano suave y poroso con un mango plástico estéril. Usado como herramienta para toma de la muestra en un área definida de la canal.

**Gel refrigerante:** Es un polímero artificial sustituto práctico del hielo.

**Inspección pos mortem:** Cualquier procedimiento o prueba realizada por una persona competente (médico veterinario) en todas las partes relevantes de los animales sacrificados con el propósito de juzgar su inocuidad, idoneidad o disposición.

**Inspector oficial:** Persona competente que ha sido nombrada, acreditada o bien, reconocida por la autoridad para realizar actividades oficiales inspección de la carne a nombre de, o bajo la supervisión de la autoridad competente.

**Laboratorio acreditado:** Es aquel laboratorio privado u oficial autorizado para realizar cierto tipo de análisis y que ha cumplido toda la reglamentación vigente.

**Laboratorio oficial:** Laboratorio que pertenece a la red de laboratorios de *Secretarías* departamentales, distritales y el INVIMA.

**Médico veterinario inspector oficial:** médico veterinario inscrito al INVIMA o empresa privada si es el caso.

**Patógeno:** Un agente causal específico (usualmente una bacteria) de enfermedad.

**Plantilla:** Marco de material esterilizable y/o desechable, con un área interna descubierta. El área descubierta debe tener las dimensiones 10x10 cm<sup>2</sup> y en ella se realizarán los hisopados de arrastre.

# 1. Condiciones de seguridad previas a la toma de las muestras en canales porcinas

Antes de iniciar el muestreo la persona encargada de este debe verificar las siguientes condiciones:

1. Escoger un área para la preparación y disposición de los materiales para el muestreo.
2. Contar con un carro o mesón de acero inoxidable donde pueda poner el material de toma de muestra.
3. Contar con una nevera portátil para mantener los materiales previos al muestreo y las muestras hasta su envío al laboratorio, y un contenedor isotérmico con geles refrigerantes para transportar las muestras a una temperatura entre 4 y 6°C, hasta la recepción en laboratorio.
4. Usar instrumentos y guantes estériles para la toma de muestras.
5. Asegurar que los únicos artículos que deben contactar la superficie externa del guante estéril son las superficies que se deben muestrear de la carcasa, el utensilio estéril para el muestreo y plantillas estériles suficientes.
6. Recordar que la superficie exterior del envase para la recolección de la muestra no está estéril, por lo cual se deberá evitar su contacto.
7. En lo posible conseguir una escalera para poder tomar las muestras.





## 1.1 Materiales requeridos para la toma de muestras

### 1.1.1 Indumentaria de quien toma la muestra



Overol desechable

Guantes desechables estériles  
(un par por cada toma de muestra).

Botas

## 1.2. Para toma de muestras:



- 1 Plantillas estériles o bolsa estéril
- 2 Cinta para embalaje
- 3 Esponjas estériles con asa
- 4 Rótulos indelebles
- 5 Marcador
- 6 Solución desinfectante
- 7 Geles refrigerantes
- 8 Nevera para transporte de muestras
- 9 Bolsas para desechar el material usado
- 10 Servilletas de papel
- 11 Agua peptonada bufferada (25 ml) para *Salmonella*
- 12 Guante estéril en latex

Algunas entidades recomiendan el uso de buffer butterfield para *Escherichia coli* (25 ml)



## 2. Muestreo

**Durante el muestreo debe considerar las siguientes recomendaciones:**

1. Una vez ingrese al área de toma de muestra en planta de beneficio se deben lavar y desinfectar las botas (es importante seguir las instrucciones de la planta de beneficio), la mesa de trabajo y las manos.
2. Recuerde que usted debe ingresar a la zona de muestreo sin reloj y sin joyas.
3. Preparados los materiales de toma de muestra se procede a colocar la mascarilla y/o tapabocas.
4. Culminada la toma de muestras, éstas deben ser envasadas y transportadas de acuerdo a lo señalado en: Identificación, transporte y envío de muestras.



## Muestreo

Transcurrida media jornada de beneficio y antes de comenzar la refrigeración (post lavado final, previo al enfriado, cámara de oreo) se seleccionarán las canales para el muestreo.



A continuación seguir las siguientes instrucciones de trabajo:

1. Colocarse mascarilla o tapa bocas.
2. La muestra debe ser tomada antes de someter la canal al frío.
3. Se debe identificar el origen de la muestra en la etiqueta. (Marcar si la muestra va para *Salmonella* o *E. coli*).
4. El muestreador podrá contar con la ayuda de personal de la planta.
5. Lavar, secar y desinfectar las manos y posteriormente colocarse los guantes estériles.



## 2.1. Postura de guantes.

A continuación se describe el procedimiento para la postura de los guantes, ya que esta etapa puede ser crítica y generar contaminación cruzada.

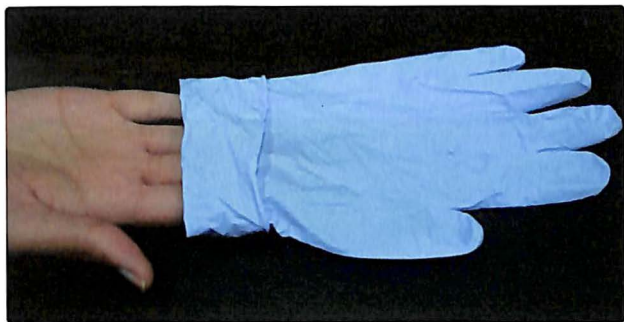
1. Lave y desinfecte sus manos. Seque sus manos usando toallas desechables de papel. Luego siga este procedimiento para ponerse los guantes estériles.



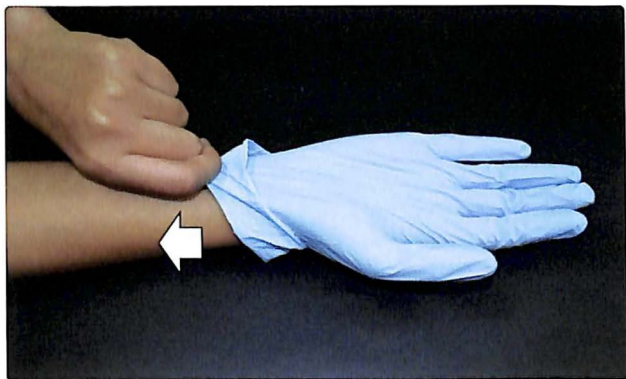
2. Coloque sobre la mesa el paquete del guante de tal forma que queden visibles las letras I y D (I = izquierda, D = derecha).



3. Para extraer el guante de su envase, inserte su mano palma arriba dentro del guante por el extremo doblado.



4. Inserte totalmente el guante ayudándose con la mano no enguantada, tirando firmemente desde la zona interior del guante doblada como puño de camisa. Levante este borde sin tocar la superficie exterior del guante con su mano no enguantada.





5. Repita este procedimiento con el otro guante, con una excepción crucial: **No manipule el segundo guante por el puño de camisa interior.** Si no se toma esta precaución, podría ocurrir contaminación, ya que a pesar de que sus manos están desinfectadas no se encuentran estériles. Por lo tanto, la forma correcta sería colocar su mano no enguantada, palmas arriba, dentro del segundo guante.



BIBLIOTECA AGROPECUARIA  
DE COLOMBIA

6. Introduzca los dedos de su mano enguantada en el pliegue del segundo puño de camisa y ayúdese empujando hacia atrás.



7. Una vez que ambos guantes están colocados, se puede tocar cualquier parte exterior del guante con la otra mano enguantada para ajustarlo.



**Nota:** Si sospecha que pudo haber ocurrido contaminación de algún guante en cualquiera de los pasos anteriores, descártelo inmediatamente y repita el procedimiento descrito para ponerse guantes estériles.



## 2.2. Toma de muestra (método no destructivo).

Los métodos no destructivos se realizan mediante frotis del área a muestrear, en el caso de cerdos se toman en 4 zonas (figura 1). No requiere de cortes de piezas o invasión de tejidos de la canal a muestrear. Este es el método más aceptado internacionalmente.

### 2.2.1. Puntos de muestreo en canales porcinos

A continuación se indican los puntos de muestreo en canales de cerdo. Se usará media canal para el muestreo de *Salmonella* spp y la otra media canal para *E. coli* biotipo I.

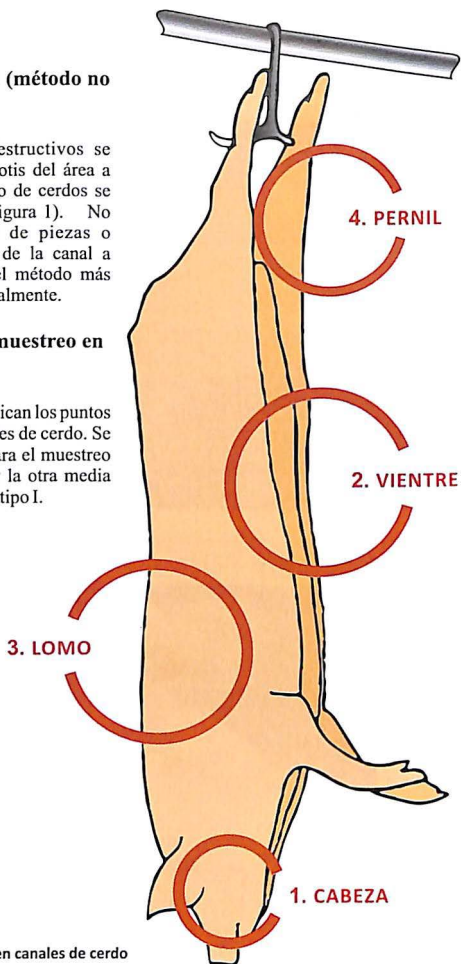


Fig. 1 Puntos de muestreo en canales de cerdo

## 2.2.2. Método no destructivo (método de esponja)

1. Humedecer durante 5 segundos la esponja estéril con 10 mL de agua peptonada tamponada, asegúrese que toda la esponja haya quedado humedecida.

**Nota:** Existen variaciones en cuanto al diluyente utilizado para el muestreo.

En el caso de Chile, se emplea agua peptonada tamponada estéril para *Salmonella* y *E. coli* la Unión Europea recomienda el uso de agua peptonada al 0,1% + NaCl al 0,85%, para los dos análisis, mientras que Estados Unidos recomienda uso de agua peptonada tamponada para *Salmonella* spp y Buffer Butterfield's para *Escherichia coli*.





2. Frotar una superficie de al menos de 100 cm<sup>2</sup> de cada uno de los diferentes puntos de la canal, empleando una plantilla estéril para delimitar el área de toma de muestras (10x10 cm<sup>2</sup>), primero frotar en sentido vertical, después horizontal y finalmente en diagonal durante 20 segundos por superficie, durante la toma se debe aplicar la mayor presión posible. La toma de muestra se hará comenzando por el área de menor probabilidad de contaminación a la de mayor (como señala la flecha de la figura).

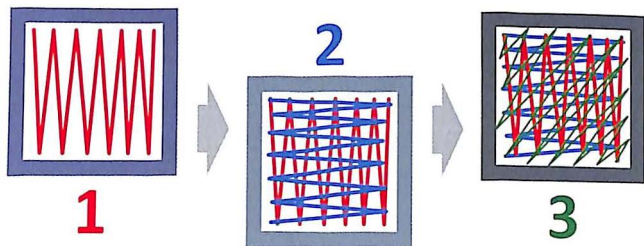
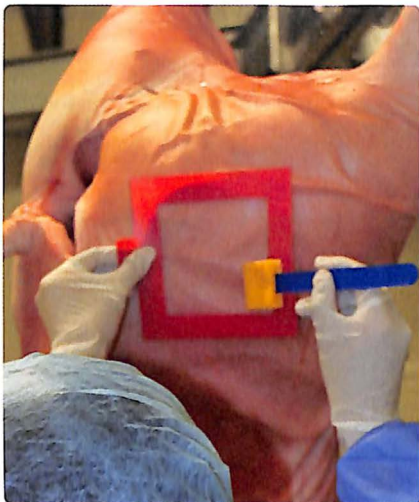


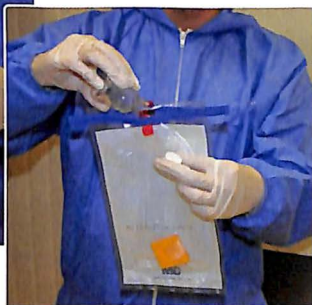
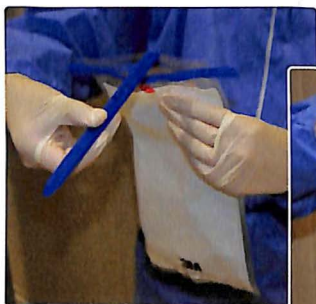
Fig. 2 Secuencia de frotación

3. Utilizar una esponja por tipo de análisis (*Salmonella* o *Escherichia coli*) para canales porcinas se debe muestrear cabeza, vientre, lomo y pernil. (Como aparece en las figuras 2, 3, 4 y 5). Las cuatro áreas se muestrearán con una misma esponja y constituirán una sola muestra, las dos primeras áreas se muestrearán con una superficie de la esponja y las dos siguientes con la superficie restante.



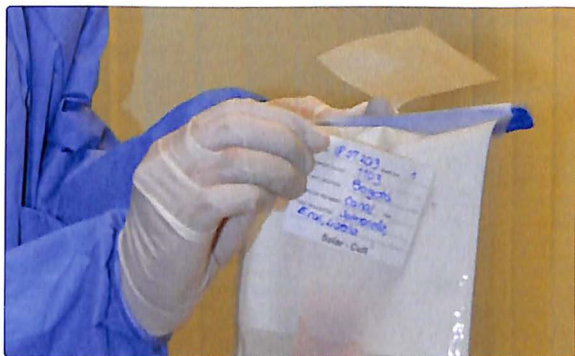


4. Depositar las esponjas del muestreo en una bolsa estéril para su transporte al laboratorio y adicionar los 15 ml de agua peptonada bufferada restante, doblar la bolsa y cerrar.



5. Coloque el rótulo en la parte externa de la bolsa con los datos necesarios para su identificación.

Tenga en cuenta la siguiente información: registre la fecha y hora del muestreo, registre el número de la planta y el análisis solicitado.



6. Repita este procedimiento con la otra media canal para la toma de *Escherichia coli*.



7. Coloque la bolsa dentro de la nevera de tal manera que no se vaya a regar, asegúrese que tiene suficientes geles para garantizar que las muestras se mantienen por debajo de los 6°C.
8. Si va a tomar otra muestra, debe quitarse los guantes que empleó, desinfectarse las manos y colocarse un par de guantes nuevos.
9. Una vez terminado el muestreo, selle la nevera con cinta para embalaje y envíe las muestras al laboratorio de procesamiento.

**Por último no olvide recoger todo el material sobrante y guardarlo en la bolsa de basura, este también debe enviarse al laboratorio para que sea descartado de la manera adecuada.**

### 3. Identificación, transporte y envío de muestras

- Asegure que cada muestra esté debidamente identificada, mediante un rótulo o etiqueta que sea indeleble.
- Las muestras, además, deben ser identificadas y enviadas de acuerdo a las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL).
- Se recomienda el empleo de recipientes con gel refrigerante para conservación de las muestras, en caso de utilizar hielo potable empacarlo en bolsas de plástico impermeables para minimizar la posibilidad de contaminación cruzada.
- El transporte de las muestras debe asegurar que se mantienen las condiciones originales, estableciendo una cadena de custodia que permita acceder a toda la información relacionada con éstas, recuerde que el tiempo máximo entre la toma de muestra y el tiempo de procesamiento no debe exceder las 24 horas.



## Bibliografía

CFR 9, Capítulo III, Pathogen Reduction/HACCP, FSIS/USDA, Estados Unidos.

Federal Register, Sección II, CFR 9 Parte 304 et. al. Volumen 61, 144, 25 de julio de 1996, Reglas y Regulaciones. Estados Unidos.

FAO. Producción y sanidad animal. Manual Buenas Practicas para la Industria de la Carne. ONU, FUNDACION INTERNAL. CARREFOUR, Roma. 2007. ISBN 878-92-5-305146-5.

Guía para el cliente muestreo microbiológico de canales en matadero. Primus labs. de México, Consultado en Junio de 2013, Disponible en <http://www.primuslabs.com/Spanish/Services/MicroAnalysis.aspx>.

Malandrini, J., Sirena J., Santa Cruz R., De la Veja Tapia, R. Pizarro C. Toma de muestras de las superficies de carcasas bovinas en el frigorífico municipal. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, INTA, Argentina.

Manual de procedimientos para el muestreo microbiológico oficial en carnes faenadas en mataderos de exportación. Gobierno de Chile, MIN. de Agricultura, SAG. 2007.

Michaine, S. Escherichia coli O157:H7. La bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne. Énfasis Alimentos 2003, 11 (3):pp. 1-7

Vázquez L., Villoch A., Ramos G. La inocuidad como estrategia de la competitividad para la producción de carne de cerdo. Primera edición. 2012, Red Porcina Iberoamericana.

SAGARPA. Manual de Buenas prácticas Pecuarias en el sistema de producción de Ganado productor de carne en confinamiento. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, , Disponible en [www.sagarpa.senasica.gov.mx](http://www.sagarpa.senasica.gov.mx).

BIBLIOTECA AGROPECUARIA  
DE COLOMBIA - BAC.



010100037822

**Autores:**

Deyci Rodríguez Cordero M. Sc.  
Profesora Asistente  
Departamento de Microbiología  
Facultad de Ciencias  
Pontificia Universidad Javeriana

Ana Karina Carrascal Camacho M. Sc.  
Profesora Asociada.  
Departamento de Microbiología  
Facultad de Ciencias  
Pontificia Universidad Javeriana

**Revisado por:**

Alejandro Castillo A. Ph. D.  
Profesor Asociado adscrito al Departamento de Ciencia de los Alimentos.  
Universidad de Texas A&M

Corina Zambrano M.Sc. Ph. D (c).  
Directora Área de Investigación y Transferencia Tecnológica.  
Asoporcicultores - FNP - Ceniporcino.

Proyecto: Diseño de un plan integral para reducir la prevalencia de *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes* en plantas de beneficio, desposte y puntos de venta en la cadena cárnica porcina. Código: 1203-586-35758



Pontificia Universidad  
**JAVERIANA**  
Bogotá



**COLCIENCIAS**  
C O L O M B I A



**Asociación  
Colombiana  
de Porcicultores**

**FONDO NACIONAL  
DE LA PORCICULTURA**

**Ceniporcino**

Centro de investigación y transferencia  
de tecnología del sector porcícola