



**INSTRUCTIVO DE VERIFICACIÓN OFICIAL
DE LISTERIA MONOCYTOGENES EN PREPARADOS
CÁRNICOS LISTOS PARA EL CONSUMO Y PRODUCTOS
LÁCTEOS DE EXPORTACIÓN**

**MINISTERIO DE AGRICULTURA
SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO**

CHILE

MAYO 2017

ÍNDICE

	Página
1.- Responsabilidades	3
2.- Introducción	4
3.- Alcance	4
4.- Objetivo	4
5.- Frecuencia	4
6.- Marco legal	4
7.- Materiales	5
8.- Metodología de muestreo	5
9.- Identificación y transporte de las muestras	6
10.- Interpretación de resultados	7
11.- Envío de resultados	8
12.- Criterios de decisión y acciones correctivas	8
13.- Técnicas analíticas para verificación oficial y verificación analítica Por el Sistema de Aseguramiento de Calidad del establecimiento	9
14.- Anexos	11
14.1.- Anexo 1. Protocolo de muestreo	11
14.2.- Anexo 2. Clasificador de centros de responsabilidad	12
14.3.- Anexo 3. Informe de causalidad frente a hallazgo de <i>Listeria monocytogenes</i>	13

1. RESPONSABILIDADES

Establecimiento

Todos los establecimientos de exportación, que elaboren quesos y preparados cárnicos listos para el consumo (cecinas y otros), en el marco de su Sistema de Autocontrol, tendrán que incluir dentro de su análisis de peligros del Plan HACCP, el peligro microbiológico de *Listeria monocytogenes* para las líneas de los productos incluidos en el alcance de este Instructivo y por otra parte, evaluar permanentemente sus SOP y SSOP en relación al proceso.

Médico Veterinario Oficial

El MVO deberá realizar el muestreo de *Listeria monocytogenes* según los procedimientos descritos en este documento. Además deberá efectuar una verificación semanal de la planilla Excel de los resultados obtenidos. Los resultados deben contar con el respectivo timbre, fecha y firma de verificación. Entregar al Supervisor Regional de Inspección y Certificación el informe de seguimiento de acciones correctivas verificadas.

Técnico Inspector Oficial

Realizar o asistir la toma de muestra del MVO en caso que sea solicitada.

Laboratorio Central SAG

Realizar los análisis microbiológicos oficiales y enviar los resultados según lo descrito en el acápite 10 de este documento.

2. INTRODUCCIÓN

Este Instructivo de muestreo dicta las pautas y procedimientos para realizar la Verificación Oficial de *Listeria monocytogenes* en preparados cárnicos listos para el consumo (cecinas y otros) y quesos semiduros y blandos, en los establecimientos habilitados para exportar, a fin de dar respaldo al sistema de certificación de exportaciones.

3. ALCANCE

Establecimientos habilitados para exportar, a nivel nacional, que elaboren quesos semiduros y blandos y preparados cárnicos listos para el consumo (cecinas y otros), independiente del mercado de destino que tengan.

4. OBJETIVO

Realizar una Verificación Oficial, mediante muestreos microbiológicos para *Listeria monocytogenes*, en establecimientos exportadores de preparados cárnicos listos para el consumo (cecinas y otros) y productos lácteos (quesos semiduros y blandos).

5. FRECUENCIA

La frecuencia establecida para la Verificación Oficial de *Listeria monocytogenes* en los establecimientos habilitados para exportar, que elaboren preparados cárnicos listos para el consumo (cecinas y otros) y lácteos (quesos), será mensual.

En cada muestreo se tomarán 5 muestras de un tipo de producto, según los procedimientos señalados en el capítulo "Metodología de muestreo" de este Instructivo.

6. MARCO LEGAL

-Ley Orgánica del Servicio Agrícola y Ganadero N° 18.755, 1989, en su letra "m" del Artículo 3.

-Resolución Exenta N° 2592, del 15 de septiembre de 2003, de la Dirección Nacional del Servicio Agrícola y Ganadero, en su Artículo 27.

7. MATERIALES

Los materiales podrán ser provistos por el laboratorio de análisis o en su defecto el establecimiento para la toma de muestras, deberán estar en condiciones estériles, además de efectuar la toma de cada muestra en forma aséptica, y por otra parte, realizar la identificación y transporte de éstas, siguiendo las Buenas Prácticas de Toma de Muestra (BPTM).

1. Guantes quirúrgicos estériles.
2. Bolsas plásticas estériles.
3. Bolsas plásticas colectivas.
4. Bisturí estéril, tijera estéril u otro material que sea utilizado debe estar en condiciones estériles.
5. Etiquetas.
6. Plumón indeleble.
7. Contenedor isotérmico.
8. Elementos refrigerantes.
9. Material aislante de primer uso.

8. METODOLOGÍA DE MUESTREO

1. Las muestras deberán ser tomadas por un Médico Veterinario Oficial (MVO) o un Técnico Inspector Oficial que éste designe. En su defecto, las muestras podrán ser tomadas por un Médico Veterinario Sectorial SAG del sector correspondiente al establecimiento.
2. Se deben seleccionar en forma aleatoria las 5 unidades de muestreo en el lote seleccionado, mediante la Norma Chilena NCh 43. Of.61.
3. La fecha de muestreo debe ser programada con el Laboratorio Central del SAG, con a lo menos 72 horas hábiles de antelación. La recepción de las muestras será de acuerdo al calendario anual vigente, considerando los días y semanas asignados para cada establecimiento. La recepción de muestras refrigeradas podrá anticiparse a los días Jueves y Viernes de la semana anterior a la asignada de acuerdo al calendario.
4. Las muestras corresponderán a quesos semiduros y blandos y preparados cárnicos listos para el consumo (cecinas y otros), según corresponda, en una cantidad mínima de 100 gramos cada unidad muestral.
5. Para el caso de los quesos, se deberá elegir en cada oportunidad un tipo de queso y para el caso de los preparados cárnicos listos para el consumo también se deberá elegir un tipo distinto de producto cárnico elaborado en cada muestreo.

6. Cada muestra se deberá colocar en forma aséptica (guantes estériles) en la cantidad descrita, dentro de una bolsa estéril en caso de no tener envoltorio, utilizando material de toma de muestra aséptico. En caso de que el producto a muestrear posea un empaque sellado al vacío, se dejará este envase primario sin alterar. Las muestras pueden ser agrupadas en bolsas comunitarias cuidando de dar las condiciones requeridas según el tipo de producto. Cada muestra deberá ser rotulada según lo descrito en el acápite Identificación y transporte de muestras.
7. Las muestras deben ser enviadas por el MVO adjuntando el “Protocolo de Toma de Muestra *Listeria monocytogenes*” (Anexo 14.1), el que será impreso por el MVO y completado con la información correspondiente.
8. El protocolo **deberá ser colocado fuera del contenedor**, en sobre cerrado, a fin de que no sufra deterioro.
9. Las muestras deben ser enviadas al Laboratorio Central SAG, Unidad Bacteriología Pecuaria, bajo el concepto de “Verificación Microbiológica Oficial”.
10. Si un protocolo es rechazado en 1 o más de sus muestras, el Médico Veterinario Oficial deberá programar una nueva toma de muestra, dentro de las 48 horas hábiles posteriores a la comunicación del laboratorio de análisis.
11. El MVO deberá entregar al establecimiento una copia del protocolo que acompaña las muestras.

9. IDENTIFICACIÓN Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

- a. Las muestras deben estar identificadas con la siguiente información: Identificación de la muestra, fecha de muestreo, hora de muestreo, N° Registro del Establecimiento y Análisis solicitado.
- b. Los protocolos deben llevar la siguiente información: N° Protocolo (N° Registro LEEPP seguido por un guión, N° Sector según clasificación en Anexo 14.2, seguido por un guión N° Correlativo anual para cada establecimiento), Región, Sector, Fecha de Muestreo, Nombre y dirección del establecimiento, Nombre del Médico Veterinario Oficial SAG que toma la muestra, Especie/Tipo Muestra, Lote muestreado, Fecha del muestreo, Hora de la toma de muestra, Identificación de la muestra (Compuesto por el N° Registro LEEPP, seguido por un guión de las letras LM, seguido por un guión N° Correlativo anual para cada establecimiento), Hora de término toma muestra, Firma y sello Médico Veterinario Oficial y dirección de correo electrónico y fax.

- c. La información a llenar por el Laboratorio corresponde a: Nombre y dirección del Laboratorio, N° Protocolo Laboratorio, Método Analítico, Resultado (Ausencia/Presencia), Temperatura, Observaciones, Fecha recepción de muestra en laboratorio, Hora recepción de muestra en laboratorio, Fecha de envío resultado y Firma y sello Jefe del Laboratorio.
- d. Las muestras, una vez incluidas en bolsas individuales estériles según lo descrito en el punto N° 4, podrán ser enviadas en una bolsa comunitaria rotulada con la siguiente información: N° Protocolo (según clasificación en Anexo 14.2), Nombre del establecimiento, Nombre del Médico Veterinario Oficial que toma la muestra, Fecha de toma de muestra, Tipo de muestra y Análisis solicitado.
- e. Las bolsas comunitarias no deben exceder una cantidad de muestra tal, que se permitan las condiciones de refrigeración requeridas, entre 2 y 8 °C.
- f. El envío de las muestras deberá ser coordinado con 72 horas hábiles de antelación por el MVO con el Laboratorio Central SAG Lo Aguirre, Unidad de Bacteriología Pecuaria. La recepción de las muestras será de acuerdo al calendario anual vigente, considerando los días y semanas asignados para cada establecimiento. La recepción de muestras refrigeradas podrá anticiparse a los días Jueves y Viernes de la semana anterior a la asignada de acuerdo al calendario.
- g. Las muestras deberán ser enviadas al Laboratorio dentro de un plazo de 24 horas hábiles.
- h. El transporte de las muestras debe ser en un contenedor isotérmico apropiado, que mantenga la temperatura de refrigeración (2 a 8 °C), adjuntando la cantidad suficiente de "ice pack".o elementos refrigerantes. Se debe colocar un material aislante, por ejemplo plumavit u otro de primer uso, entre las muestras y el elemento refrigerante.
- i. No se podrá enviar hielo o refrigerantes a granel alrededor de las muestras, éste deberá estar dentro de un envase hermético.

10. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los resultados microbiológicos de *Listeria monocytogenes* serán expresados en términos cualitativos, es decir, Ausencia o Presencia.

En el laboratorio deberá existir un registro de los resultados emitidos. Estos registros deben ser supervisados por personal responsable del laboratorio y deberán estar disponibles dentro del recinto a solicitud de la autoridad sanitaria.

Los registros se conservarán en el laboratorio durante al menos 48 meses y deben estar disponibles para ser presentados a petición del Nivel Central.

Los valores de Aceptación, para *Listeria monocytogenes*, será la Ausencia de este patógeno.

El Nivel Central del SAG, mantendrá una base de datos de los resultados diagnósticos la cual debe contemplar los datos contenidos en el protocolo de toma de muestra con los resultados.

11. ENVÍO DE RESULTADOS

Todos los resultados de los análisis del laboratorio (formulario papel), deberán ser enviados al Médico Veterinario Inspector Oficial con copia a la División Protección Pecuaria, dentro del plazo de 72 horas hábiles de obtenido el resultado.

En caso de resultados positivos a *Listeria monocytogenes*, el laboratorio de análisis debe comunicar vía correo electrónico en forma inmediata a la Dirección Regional SAG (Director (a) Regional correspondiente), a la División Protección Pecuaria (propec@saq.gob.cl) y al Ministerio de Salud (Dra. Silvia Baeza sbaeza@minsal.cl, Dra. Alejandra Vaquero avaquero@minsal.cl y Sra. Patricia Miranda pmiranda@minsal.cl). De igual forma comunicará al MVO a su correo electrónico y Fax señalado en el protocolo.

De igual forma, la Dirección Regional comunicará a la SEREMI de Salud correspondiente al área del establecimiento en caso de cualquier hallazgo de *Listeria monocytogenes*, y por otra parte, la División Protección Pecuaria comunicará a la Subsecretaría de Salud Pública del MINSAL los resultados oficiales positivos a *Listeria monocytogenes*.

El MVO entregará una copia de los resultados recibidos al Jefe de Aseguramiento de Calidad del establecimiento.

Todo comunicado vía correo electrónico será respaldado por el envío del protocolo vía oficial al MVIO y una copia al Nivel Central (Oficio, Hoja de Envío u otros documentos por conducto regular).

12. CRITERIOS DE DECISIÓN Y ACCIONES CORRECTIVAS

Frente a un hallazgo de *Listeria monocytogenes* en la Verificación Oficial, el MVO deberá comunicar en un plazo no mayor a 24 horas hábiles el resultado al establecimiento, el que deberá elaborar un "Informe de Causalidad Frente a Hallazgo de *Listeria monocytogenes*" dentro de un plazo de 48 horas hábiles, siguiendo la pauta descrita en el Anexo 14.3.

El MVO deberá aplicar el Criterio de Proceso, procediendo a realizar nuevos muestreos microbiológicos (muestreo de contingencia), 2 veces por semana, durante 2 semanas consecutivas, siguiendo los pasos descritos en el acápite 8 de este documento. Al momento de presentarse un hallazgo en la contingencia, se suspenderán los muestreos y se reanudarán una vez que el establecimiento haya implementado nuevas acciones correctivas.

El muestreo de contingencia frente a un hallazgo, es independiente de la programación anual de muestreo, y deberá ejecutarse según lo especificado en el Instructivo vigente.

El criterio de proceso significa que el objetivo de este chequeo oficial es realizar una verificación al Sistema de Aseguramiento de Calidad del establecimiento, y no constituye una verificación al producto o lotes de producción en sí. Los muestreos de contingencia aplican sobre el mismo tipo de producto afectado y los correspondientes a planificación mensual sobre otro tipo de productos.

13. TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA VERIFICACIÓN OFICIAL Y VERIFICACIÓN ANALÍTICA POR EL SAC DEL ESTABLECIMIENTO

13.1 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA VERIFICACIÓN OFICIAL

El Servicio Agrícola y Ganadero realizará la verificación oficial de *Listeria monocytogenes* por medio de metodologías analíticas que cuentan con el reconocimiento internacional de organismos de referencia técnica como la ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). Estas son:

Matriz	Etapas	Metodología de Detección, Aislamiento e Identificación
Quesos y productos cárnicos preparados listos para el consumo (cecinas y otros).	Screening	Método inmunoenzimático automatizado, que utiliza técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay), según Validación AFNOR BIO 12/11-03/04
	Confirmación	Método tradicional de cultivo ISO 11290-1

13.2 METODOLOGÍA DE DETECCIÓN, AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN PARA VERIFICACIÓN ANALÍTICA POR EL SISTEMA DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD (SAC) DEL ESTABLECIMIENTO

Los establecimientos no estarán obligados a utilizar las metodologías implementadas por el Servicio para la ejecución de la verificación analítica de su SAC (autocontrol). Las empresas tendrán libertad para seleccionar aquellas metodologías analíticas que estimen pertinentes, siempre y cuando estas sean equivalentes, cumplan con los parámetros de eficiencia y cuenten con un procedimiento de validación reconocido internacionalmente.

Entre ellas podemos mencionar a modo de ejemplo, metodología de detección molecular para *Listeria monocytogenes*, método inmunoenzimático automatizado que utiliza técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay), etc.

14.2 CLASIFICADOR DE CENTROS DE RESPONSABILIDAD

CLASIFICADOR DE CENTROS DE RESPONSABILIDAD 2008										
I	Sede Arica - Parinacota	01000	VIII	Sede Bio Bío	08000	XII	Sede Magallanes	12000		
	C.P.L.E.	01002		Laboratorio	08001		Magallanes	12101		
	Arica	01201		Concepción	08101		Pto. Williams	12201		
	Cent. Cp.	01207		Talcahuano	08110		T. Fuego	12301		
	Parinacota	01301		Arauco	08201		U. Esperanza	12401		
II	Sede Antofagasta	02000	VIII	Los Angeles	08301	XIII	Sede Metropolitana	13000		
	Antofagasta	02101		Mulchén	08305		Sect. Metrop.	13126		
	Calama	02201		Chillán	08401		Maipo	13401		
III	Sede Atacama	03000	VIII	Bulnes	08402		Melipilla	13501		
	Copiapó	03101		San Carlos	08416		Talagante	13601		
IV	Huasco	03301	IX	Sede Arica	09000	XIV	Com. Ex. AMB	13124		
	Sede Coquimbo	04000		Temuco	09101		C. Front.AMB	13003		
	Elqui	04101		Nva.Imperial	09111		Sec. Graf	14001		
	Choapa	04201		Villarica	09120		Jurídica	14002		
V	Limarí	04301	X	Angol	09201	XIV	Diplades	14004		
	Sede Valparaíso	05000		Victoria	09211		Adm. y Fin.	14005		
	Laboratorio	05001		Sede Los Lagos	10000		Informática	14006		
	El Sauce	05002		Lab. Reg.	10001		A.P.C.	14007		
	Valparaíso	05101		Pto. Montt	10101		A. Internac.	14008		
	L. Pascua	05201		Pto. Varas	10109		Auditoría Int.	14009		
	Los Andes	05301		Castro	10201		Dpto. Personas	14010		
	Petorca	05401		Ancud	10202		Lab y Est C. LA	14011		
	Quillota	05501		Osorno	10301		Semillas	14012		
San Antonio	05601	Río Negro	10305	Rec. Nat. Ren.	14013					
VI	San Felipe	05701	X	Palena	10401	XIV	P. Pecuaria	14014		
	Sede L. B. O'Higgins	06000		XI	Sede Aisén		11000	XV	P. Agrícola	14015
	Rancagua	06101			Coihaique		11101		Sede Los Ríos	15000
	San Vicente	06117			Pto. Aisén		11201		Valdivia	15501
San Fernando	06301	Cochrane	11301		Puñuco	15510				
VII	Sta Cruz	06310	XI	Chile Chico	11401	XVI	Río Bueno	15512		
	Sede Maule	07000		XVI	Sede Tarapacá		16000	XVI	Iquique	16101
	Talca	07101								
	Cauquenes	07201								
	Curicó	07301								
	Linares	07401								
Parral	07404									

14.3 INFORME DE CAUSALIDAD FRENTE A HALLAZGO DE LISTERIA MONOCYTOGENES

1. El MVO informará a Aseguramiento de Calidad del establecimiento de los resultados de hallazgo de *Listeria monocytogenes* dentro de las 24 horas hábiles de recibido los resultados.
2. Una vez recibida la notificación la empresa debe presentar un plan de contingencia, el que deberá incluir el “Informe de Causalidad Frente a Hallazgo de *Listeria monocytogenes*”, dentro de las 48 horas hábiles y entregarlo al MVO.
3. El Médico Veterinario Oficial debe realizar el seguimiento a las acciones correctivas inmediatas especificadas en este Informe.
4. El MVO deberá volver a tomar muestras (muestreo intensivo), según lo descrito en el Acápite 8 de este documento, 48 horas hábiles posteriores a la aplicación de las acciones correctivas inmediatas implementadas por el establecimiento. La frecuencia de la toma de muestras será dos veces a la semana, con dos muestreos en cada semana, durante dos semanas consecutivas. Al momento de presentarse un hallazgo en la contingencia, se suspenderán los muestreos y se reanudarán una vez que el establecimiento haya implementado nuevas acciones correctivas.

Todo hallazgo *Listeria monocytogenes*, es inaceptable, y debe generar acciones que determinen y corrijan el origen del diagnóstico.

a. Del Establecimiento:

- i. Una vez que el Médico Veterinario Oficial ha notificado al establecimiento del hallazgo (dentro de las 24 horas hábiles del recibo del diagnóstico), ésta debe realizar dentro de las 48 horas hábiles posteriores a la comunicación, un Informe de Causalidad Frente a Hallazgo de *Listeria monocytogenes*, cuyo objetivo es determinar la o las causa (s) de la presencia de este patógeno y señalar las acciones correctivas inmediatas.
- ii. A lo menos el establecimiento debe **verificar**:
 - La operación de todos los Procesos Preoperacionales.
 - Registros de limpieza y desinfección (30 días anteriores, mismo día y días posteriores al hallazgo).

- Los resultados microbiológicos de superficie de los últimos 30 días u otro que realice de rutina la planta (Ejemplo: RAM, Enterobacterias, etc.).
 - Sistema de manipulación de productos en todas las etapas.
 - Higiene de los manipuladores.
 - Los controles que se realizan en el plan HACCP.
 - Resultados microbiológicos de *Listeria monocytogenes* en productos (30 días anteriores, mismo día y días posteriores al hallazgo).
 - Revisión de los productos utilizados como desinfectantes (dosis de uso, modo de aplicación, dilución, temperatura y tiempo de aplicación, etc).
- iii. El Informe de Causalidad que elabora el establecimiento, a lo menos debe contener los siguientes apartados:
- Objetivo.
 - Alcance.
 - Procedimiento usado.
 - Verificaciones y análisis realizados:
 - Quien lo realizó.
 - Como lo realizó.
 - Cuando lo realizó.
 - Que encontró.
 - Recomendaciones.
 - Evaluación de las causas probables de la presencia de este patógeno.
 - Medidas Correctivas:
 - Que medidas de corrección recomendó.
 - Como se realizarán.
 - Carta Gantt.
 - Responsable de realizarla y hacer el seguimiento.
 - Metodología de levantamiento de no conformidades.

b. Del Médico Veterinario Oficial:

- i. Notificar al establecimiento del hallazgo de *Listeria monocytogenes* dentro de las 24 horas hábiles del recibo de los resultados de laboratorio.
- ii. Inspeccionar y verificar la operación de todos los Procesos Preoperacionales.
- iii. Análisis del perfil microbiológico de limpieza y desinfección del establecimiento (ver registros estandarizados en gráficos u otra herramienta que demuestre el desempeño).
- iv. Evaluar el Informe de causalidad y comprobar el cumplimiento de las acciones correctivas.
- v. Evaluar los resultados microbiológicos de *Listeria monocytogenes* posteriores al hallazgo tanto los oficiales como los del establecimiento y posterior a la implementación de las acciones correctivas inmediatas.

Todo lote de producción cuyo resultado de análisis para *Listeria monocytogenes* sea positivo, debe ser segregado e identificado como “**No certificable para ser exportado**”. El destino de los lotes afectados será determinado por la autoridad de salud pública.

En caso que en el muestreo de contingencia se encuentre 1 o más resultados positivos, la Dirección Regional correspondiente notificará al establecimiento de la suspensión de certificación de exportación, en cumplimiento a lo establecido en la Resolución Exenta SAG N° 2592, del 15/009/2003, de la Dirección Nacional, en su artículo 27.

La suspensión de certificación de exportación afectará sólo a los lotes producidos de aquel o aquellos productos que presentaron hallazgos de *Listeria monocytogenes* en los muestreos del plan de contingencia.

Para poder volver a certificar para exportación aquellos productos afectados por la suspensión, se establece una situación condicional, en donde el establecimiento deberá presentar al Médico Veterinario Oficial junto con el Informe de Aprobación de Partida (IAP), resultados negativos a *L. monocytogenes* de los lotes de productos a certificar y un certificado de libre venta en Chile para los productos a certificar emitido por la Secretaría Regional Ministerial de Salud correspondiente.

Una vez implementado un nuevo plan de contingencia, se procederá a los muestreos según lo indicado en el acápite 12 de este Instructivo. Si la totalidad de los análisis entrega resultados negativos, se levanta la situación condicional para certificar la exportación de los productos afectados y vuelve a la verificación mensual normal.

En caso de presentarse uno o más hallazgos de *L. monocytogenes* en el segundo plan de contingencia, el establecimiento se mantendrá en la situación condicional, por lo que el establecimiento deberá presentar al Médico Veterinario Oficial junto con el Informe de Aprobación de Partida (IAP), resultados negativos a *L. monocytogenes* de los lotes de productos a certificar y un certificado de libre venta en Chile para los productos a certificar emitido por la Secretaría Regional Ministerial de Salud correspondiente.

Nuevas situaciones condicionales podrán levantarse una vez de aplicado un nuevo plan de contingencia y los respectivos muestreos de verificación negativos, y así sucesivamente en el tiempo, de reiterarse los análisis positivos a *Listeria monocytogenes*.